

**UJI BIODEGRADASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PENDEGRADASI
PLASTIK LDPE DENGAN METODE *PROFIL MATCHING*
BERDASARKAN *BERGEY'S MANUAL OF DETERMINATIVE
BACTERIOLOGY***

SKRIPSI

Oleh:

**NISWATUL AZIZAH
NIM. 16630002**



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

**UJI BIODEGRADASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PENDEGRADASI
PLASTIK LDPE DENGAN METODE *PROFIL MATCHING*
BERDASARKAN *BERGEY'S MANUAL OF DETERMINATIVE
BACTERIOLOGY***

SKRIPSI

Oleh:

**NISWATUL AZIZAH
NIM. 16630002**

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**

**UJI BIODEGRADASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PENDEGRADASI
PLASTIK LDPE DENGAN METODE *PROFIL MATCHING*
BERDASARKAN *BERGEY'S MANUAL OF DETERMINATIVE
BACTERIOLOGY***

SKRIPSI

Oleh:
NISWATUL AZIZAH
NIM. 16630002

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal: 23 Desember 2020

Pembimbing I


Dr. Akyunul Jannah, S.Si, MLP
NIP. 19750410 200501 2 009

Pembimbing II


Ach. Nasichuddin, MLA
NIDT. 19730705 200003 1 002

Mengesahkan,
Ketua Jurusan

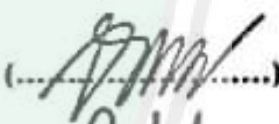
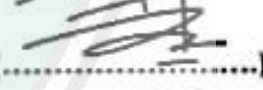

Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002

**UJI BIODEGRADASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PENDEGRADASI
PLASTIK LDPE DENGAN METODE *PROFIL MATCHING*
BERDASARKAN *BERGEY'S MANUAL OF DETERMINATIVE
BACTERIOLOGY***

SKRIPSI

Oleh:
NISWATUL AZIZAH
NIM. 16630002

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 23 Desember 2020

Penguji Utama	: Diana Candra Dewi, M.Si NIP. 19770720 200312 2 001	(..... )
Ketua Penguji	: Fadilah Nor Laili Lutfia, M.Biotech NIP/NIDT. 63033	(..... )
Sekretaris Penguji	: Dr. Akyunul Jannah, S.Si., M.P NIP. 19750410 200501 2 009	(..... )
Anggota Penguji	: Ach. Nasichuddin, MA NIDT. 19730705 200003 1 002	(..... )

**Mengesahkan,
Ketua Jurusan**


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

PERNYATAAN ORISINALITAS PENELITIAN

Saya yang bertandatangan dibawah ini:

Nama : Niswatul Azizah

NIM : 16630002

Jurusan : Kimia

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : Uji Biodegradasi dan Identifikasi Bakteri Pendegradasi Plastik LDPE dengan Metode *Profil Matching* berdasarkan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi ini merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan data, tulisan atau pikiran orang lain saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya, kecuali dengan mencantumkan sumber kutipan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia mempertanggungjawabkannya sesuai peraturan yang berlaku.

Malang, 23 Desember 2020
Yang Membuat Pernyataan,



Niswatul Azizah
NIM. 16630002

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirabbil‘alamiin. Sujud syukur kupersembahkan kepada-Mu Ya Allah. Atas kehendak-Mu saya bisa sejauh ini dalam menuntut ilmu dengan berbagai rintangan yang telah dihadapi. Dalam susah dan senang, Engkau memberkati setiap langkahku dalam meraih apa yang hamba-Mu inginkan. Karya ini saya persembahkan kepada orangtua, Ayahanda M. Ali Mustajib dan Ibu Fadhilatin atas segala dukungan dari materiil dan non-materiil. Terimakasih atas limpahan do‘anya yang telah kalian panjatkan untuk saya dalam setiap perjalanan menuntut ilmu dimanapun saya berada. Terimakasih kepada bu Akyunul Jannah dan pak Nasichuddin yang telah membimbing saya dalam menyelesaikan penelitian dan menyusun skripsi ini.

Terimakasih kepada seluruh dosen kimia yang telah berjasa memberikan ilmunya kepada kami, serta teman-teman Kimia A yang telah menemani proses belajar, berbagi ilmu dan bertukar pikiran selama masa kuliah ini. Terimakasih telah memberikan kebahagiaan dan semangat. Semoga kita semua akan sukses kedepannya dengan cara masing-masing.

MOTTO

“Nothing last forever, you only live once.

So live your life, not any other lives.

Takes chances and never regret. Never.

Never be late to do what you wanna do right now.

*Because at one point someday,
everything you do would be exactly what you will be”*

~ 방탄 소년단 ~



KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, segala puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat, Taufiq dan Hidayah-Nya tiada henti kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan hasil penelitian ini yang berjudul **“Uji Biodegradasi dan Identifikasi Bakteri Pendegradasi Plastik LDPE dengan Metode Profil Matching berdasarkan Bergey’s Manual of Determinative Bacteriology”**.

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 terima kasih kepada :

1. Orang tua dan saudara yang senantiasa selalu melantunkan doa baik, nasihat dan dukungan baik moral maupun material kepada penulis.
2. Ibu Dr. Akyunul Jannah, S.Si, M.P., selaku dosen pembimbing I yang telah memberikan bimbingan, pengarahan dan nasehat kepada penulis dalam menyelesaikan proposal ini.
3. Bapak Ach. Nasichuddin, M.A., selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan arahan dan bimbingan dalam penulisan integrasi sains dan islam dalam skripsi.
4. Segenap sivitas akademika Jurusan Kimia, terutama seluruh dosen, terimakasih atas segenap ilmu dan bimbingannya.
5. Teman-teman kelompok penelitian biokimia: Dwi Yulia Isti dan Hanif Nur Rozaq atas dukungan, semangat dan bertukar pikiran selama proses penelitian.
6. Teman-teman kelas KIMIA-A yang telah menemani belajar dan berjuang dari awal sampai akhir.
7. Sahabat: Alfi Auliyana Purnama Dhewi dan Rizqia Rahmatul Umami atas banyak waktunya menemani selama masa-masa kuliah, berbagi cerita, canda dan tawa yang telah diberikan.

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, 06 Oktober 2020

Penulis



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN ORISINALITAS PENELITIAN.....	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
المُلخَص.....	xvii
 BAB I PENDAHULUAN.....	 1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan	7
1.4 Batasan Masalah	7
1.5 Manfaat	7
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	 9
2.1 Plastik Polietilen Berdensitas Rendah.....	9
2.2 Bakteri Pendegradasi Plastik LDPE.....	11
2.3 Karakterisasi Bakteri.....	13
2.3.1 Pewarnaan Gram	14
2.3.2 Pewarnaan Endospora	14
2.3.3 Fermentasi Karbohidrat	15
2.3.4 Uji Hidrolisis Pati	16
2.3.5 Uji Katalase.....	16
2.3.6 Uji MR (<i>Methyl red</i>)	17
2.3.7 Uji Urease	17
2.3.8 Uji Hidrolisis Kasein.....	17
2.3.9 Uji Gelatin.....	18
2.3.10 Uji Motil.....	18
2.4 Identifikasi Bakteri secara Fenotip berdasarkan Pedoman <i>Bergey's Manual of Determinative Bacteriology</i>	18
2.5 Biodegradasi	19
2.5.1 Pengertian Biodegradasi	19
2.5.2 Mekanisme Biodegradasi.....	20
2.6 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Degradasi.....	22
2.7 Analisis Gugus Fungsi menggunakan FTIR	23
2.8 Manusia sebagai Khalifah dalam Perspektif Islam	26

BAB III METODOLOGI PENELITIAN	29
3.1 Waktu dan Tempat	29
3.2 Alat dan Bahan	29
3.2.1 Alat	29
3.2.2 Bahan	29
3.3 Rancangan Penelitian	30
3.4 Tahapan Penelitian	30
3.5 Cara Kerja	31
3.5.1 Pengambilan Sampel	31
3.5.2 Preparasi Plastik LDPE	31
3.5.3 <i>Treatment</i> Fisikokimia Plastik LDPE	31
3.5.4 Isolasi Bakteri Pendegradasi Plastik LDPE	32
3.5.5 Pemurnian Inokulum Bakteri	32
3.5.6 Produksi Inokulum	33
3.5.7 Identifikasi Bakteri secara Fenotip	33
3.5.7.1 Pewarnaan Gram	33
3.5.7.2 Pewarnaan Endospora	33
3.5.7.3 Fermentasi Karbohidrat	34
3.5.7.4 Uji Hidrolisis Pati	34
3.5.7.5 Uji Katalase	34
3.5.7.6 Uji MR (<i>Methyl Red</i>)	35
3.5.7.7 Uji Urease	35
3.5.7.8 Uji Hidrolisis Kasein	35
3.5.7.9 Uji Hidrolisis Gelatin	35
3.5.7.10 Uji Motil	36
3.5.7.11 Suhu	36
3.5.7.12 pH	36
3.5.8 Uji Biodegradasi LDPE oleh Isolat Bakteri	36
3.5.9 Identifikasi Analisis Gugus Fungsi Menggunakan FTIR	37
3.5.10 Analisis Data	37
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	38
4.1 Isolasi Bakteri Pendegradasi Plastik LDPE	38
4.2 Identifikasi Fenotip Bakteri	40
4.2.1 Pewarnaan Gram	40
4.2.2 Pewarnaan Endospora	42
4.2.3 Uji Fermentasi Karbohidrat	42
4.2.4 Hidrolisis Pati	43
4.2.5 Uji Katalase	45
4.2.6 Uji MR (<i>Methyl Red</i>)	45
4.2.7 Uji Urease	46
4.2.8 Uji Hidrolisis Kasein	47
4.2.9 Uji Hidrolisis Gelatin	48
4.2.10 Motil	49
4.2.11 Suhu	50
4.2.12 pH	51

4.2.13 Identifikasi secara Manual menggunakan buku pedoman <i>Bergey's Manual of Determinative Bacteriology</i> dan Klasifikasi Fenotip dengan Program MVSP (<i>Multivariate Statistical Package</i>)	51
4.3 <i>Treatment</i> Plastik LDPE	55
4.4 Uji Biodegradasi Plastik LDPE	58
4.5 Pengolahan Sampah Plastik dalam Pandangan Islam	63
BAB V PENUTUP	68
5.1 Kesimpulan	68
5.2 Saran	68
DAFTAR PUSTAKA	69
LAMPIRAN	74



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 (a) polietilen berdensitas rendah (b) struktur percabangan polietilen	9
Gambar 2.2 Degradasi polimer dibawah kondisi aerobik dan anaerobik	21
Gambar 2.3 Spektra FTIR dari polietilena terdegradasi oleh konsorsium bakteri selama 120 hari: (a) spektrum FTIR dari strip LDPE (kontrol); (b) spektrum FTIR dari strip LDPE yang terdegradasi	24
Gambar 2.4 (a) strip LDPE <i>untreated</i> ; (b) strip LDPE yang <i>ditreatment</i> dengan UV dan asam nitrat	25
Gambar 2.5 Strip LDPE <i>treatment</i> UV dan asam nitrat setelah perlakuan mikroba	26
Gambar 4.1 Hasil Isolasi (a) Isolat PDB1 (b) Isolat PDB2	40
Gambar 4.2 Hasil uji pewarnaan Gram dibawah perbesaran 1000x (a) isolat bakteri PDB1 (b) isolat bakteri PDB2.....	40
Gambar 4.3 Hasil pewarnaan endospora dibawah perbesaran 1000x (a) isolat bakteri PDB1 (b) isolat bakteri PDB2.....	42
Gambar 4.4 Hasil uji fermentasi (a) glukosa (b) sukrosa (c) laktosa.....	43
Gambar 4.5 Hasil uji hidrolisis pati (a) isolat bakteri PDB1 (b) isolat bakteri PDB2.....	44
Gambar 4.6 Hasil uji katalase (a) isolat bakteri PDB1 (b) isolat bakteri PDB2.	45
Gambar 4.7 Hasil uji methyl red (MR) (a) isolat bakteri PDB1 (b) isolat bakteri PDB2.....	46
Gambar 4.8 Hasil uji urease (a) isolat bakteri PDB1 (b) isolat bakteri PDB2....	47
Gambar 4.9 Hasil uji hidrolisis kasein (a) isolat bakteri PDB1 (b) isolat bakteri PDB2.....	48
Gambar 4.10 Hasil uji gelatin	49
Gambar 4.11 Hasil uji motil (a) isolat bakteri PDB1 (b) isolat bakteri PDB2 ...	50
Gambar 4.12 Pertumbuhan optimum isolat bakteri pada variasi suhu	50
Gambar 4.13 Pertumbuhan optimum isolat bakteri pada variasi pH	51
Gambar 4.14 Dendogram yang menunjukkan hubungan antar bakteri dengan tipe strain berdasarkan indeks similaritas menggunakan <i>Simple Matching Coefficient</i> (a) isolat bakteri PDB1 (b) isolat bakteri PDB2.....	54
Gambar 4.15 Spektra IR dari hasil <i>treatment</i> plastik LDPE.....	56
Gambar 4.16 Penampakan uji biodegradasi oleh isolat PDB1 dan PDB2 setelah 53 hari masa inkubasi.....	58
Gambar 4.17 Spektra IR dari hasil biodegradasi LDPE oleh isolat bakteri.....	61

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Sifat – sifat polietilen berdensitas rendah (LDPE)	10
Tabel 2.2 Jenis – jenis bakteri dengan aktivitas degradasi tertinggi.....	12
Tabel 2.3 Perbedaan relatif sifat bakteri gram positif dan gram negative	14
Tabel 4.1 Suhu dan pH tanah.....	39
Tabel 4.2 Hasil uji pewarnaan Gram	41
Tabel 4.3 Hasil uji fenotip dengan pedoman <i>Bergey's Manual of Determinative Bacteriology</i>	53
Tabel 4.4 Matriks similaritas Simple Matching Coefficient Isolat PDB1	55
Tabel 4.5 Matriks similaritas Simple Matching Coefficient Isolat PDB2	55
Tabel 4.6 Hasil uji biodegradasi oleh isolat PDB1	59
Tabel 4.7 Hasil uji biodegradasi oleh isolat PDB2	59

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Rancangan Penelitian	74
Lampiran 2 Diagram Alir.....	75
Lampiran 3 Perhitungan.....	84
Lampiran 4 Data Hasil Penelitian	86
Lampiran 5 Dokumentasi.....	87
Lampiran 6 Karakter pada <i>Bergeys Manual of Determinative Bacteriology</i>	89
Lampiran 7 Hasil MVSP	90



ABSTRAK

Azizah, N. 2020. **Uji Biodegradasi dan Identifikasi Bakteri Pendegradasi Plastik LDPE dengan Metode Profil Matching berdasarkan Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**. Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Dr. Akyunul Jannah, S.Si., M.P; Pembimbing II: Achmad Nasichuddin, M.A

Kata kunci: Isolat bakteri, karakteristik fenotip, metode *profil matching*, *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, *treatment* fisikokimia, biodegradasi, FTIR.

Plastik merupakan bahan organik yang terbuat dari senyawa polimer. Plastik ini menimbulkan beberapa masalah pada lingkungan karena sifatnya yang sulit terdegradasi di alam, salah satunya yaitu kantong plastik yang memiliki komposisi utama *Low Density Polyethylene* (LDPE). Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi isolat bakteri pendegradasi plastik dan menentukan aktivitas degradasi isolat bakteri terhadap plastik *LDPE treated*.

Identifikasi bakteri berdasarkan karakter fenotip yang meliputi morfologi, fisika dan biokimia. Uji biokimia yang dilakukan adalah uji pewarnaan Gram, pewarnaan endospora, fermentasi karbohidrat, hidrolisis pati, hidrolisis kasein, hidrolisis gelatin, katalase, *methyl red*, urease dan motilitas. Karakteristik fenotip isolat bakteri dianalisis dengan metode *profil matching* berdasarkan pedoman *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Klasifikasi bakteri menggunakan program MVSP dengan algoritma UPGMA. *Treatment* fisikokimia dilakukan terhadap plastik dengan penyinaran selama 72 jam dan perendaman asam nitrat 65% selama 6 hari. Aktivitas degradasi bakteri pada plastik LDPE yang telah di *treatment* fisikokimia dilakukan menggunakan media MSM dan diinkubasi selama 53 hari. Analisis perubahan gugus fungsi sebelum dan sesudah degradasi menggunakan spektrofotometer FTIR.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolasi bakteri diperoleh 2 isolat berbeda yang diberi kode isolat PDB1 dan PDB2. Hasil analisis isolat bakteri dengan program MVSP menunjukkan isolat PDB1 memiliki kemiripan sebesar 94% dengan bakteri *Bacillus bataviensis* dan isolat PDB2 memiliki kemiripan sebesar 96% dengan bakteri *Bacillus subtilis*. Penentuan aktivitas degradasi plastik LDPE berdasarkan perhitungan *weight loss* menunjukkan nilai persen degradasi oleh isolat PDB1 sebesar 1,53% dan isolat PDB2 sebesar 1,96%. Hasil spektra FTIR pada plastik dengan *treatment* fisikokimia terdapat puncak baru pada bilangan gelombang 1637 dan 1557 cm^{-1} yang menunjukkan vibrasi ulur dari gugus karbonil, sedangkan hasil spektra pada plastik setelah biodegradasi terdapat puncak baru pada bilangan gelombang 1728 dan 1807 cm^{-1} .

ABSTRACT

Azizah, N. 2020. **Biodegradation Test and Identification of LDPE Plastic Degradation Bacteria using Profile Matching Method based on Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**. Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor I: Dr. Akyunul Jannah, S.Si., M.P; Supervisor II: Achmad Nasichuddin, M. A

Keywords: Isolate bacteria, phenotype character, *profil matching* method, *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, physicochemical treatment, biodegradation, FTIR

Plastics are organic materials made from polymer compounds. This plastic causes several problems in the environment because of its nature that is difficult to degrade in nature, one of which is a plastic bag which has the main composition of Low Density Polyethylene (LDPE). This study aims to identify plastic-degrading bacterial isolates and to determine the degradation activity of bacterial isolates on LDPE-treated plastic.

Identification of bacteria based on phenotypic characters which includes morphology, physics and biochemistry. The biochemical tests carried out were Gram staining, endospore staining, carbohydrate fermentation, starch hydrolysis, casein hydrolysis, gelatin hydrolysis, catalase, methyl red, urease and motility. The phenotypic characteristics of bacterial isolates were analyzed using a profile matching method based on Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. The classification of bacteria used the MVSP program with the UPGMA algorithm. Physicochemical treatment was carried out on plastics with irradiation for 72 hours and soaking 65% nitric acid for 6 days. Bacterial degradation activity on LDPE plastics was carried out using MSM media and incubated for 53 days. Analysis of functional group changes before and after degradation using a FTIR spectrophotometer.

The results showed that the isolates of bacteria obtained 2 different isolates coded PDB1 and PDB2 isolates. The results of the analysis of bacterial isolates with the MVSP program showed that PDB1 isolate was 94% similar to *Bacillus bataviensis* and PDB2 isolates had 96% similarities to *Bacillus subtilis* bacteria. The determination of LDPE plastic degradation activity based on the weight loss calculation shows the percentage value of degradation by PDB1 isolates of 1.53% and PDB2 isolates of 1.96%. FTIR spectra results on plastics with physicochemical treatment there were new peaks at wave numbers 1637 and 1557 cm^{-1} which showed stretching vibrations of the carbonyl groups, while the spectra results on plastics after biodegradation had new peaks at wave numbers 1728 and 1807 cm^{-1} .

الملخص

العزيزة، ن. 2020. اختبار التحلل البيولوجي وتحديد البكتيريا المعلقة البلاستيكية (LDPE) باستخدام طريقة (profil matching) على أساس (Manual of Determinative Bacteriology Bergey). قسم الكيمياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، جامعة الدولة الإسلامية مولانا مالك إبراهيم مالانج. المشرقة الأولى: أعين الجنة، الماجستير. المشرف الثاني: احمد نسخ الدين، الماجستير.

الكلمات المفتاحية: العزلة البكتيرية، وتوصيف النمط الظاهري، طريقة توصيف مطابق، دليل بيرجي لعلم الجراثيم المحدد، LDPE التحلل البيولوجي، FTIR

البلاستيك عبارة عن مواد عضوية مصنوعة من مركبات البوليمر. يسبب هذا البلاستيك العديد من المشاكل في البيئة بسبب طبيعته التي يصعب تحليلها بطبيعتها، أحدها عبارة عن كيس بلاستيكي يحتوي على التركيب الأساسي للبولي إيثيلين منخفض الكثافة (LDPE). تهدف هذه الدراسة إلى تحديد العزلات البكتيرية المهنية للبلاستيك وتحديد نشاط تحلل العزلات البكتيرية على البلاستيك المعالج ب-LDPE.

تحديد البكتيريا على أساس الصفات المظهرية والتي تشمل التشكل والفيزياء والكيمياء الحيوية. الاختبارات الكيميائية الحيوية التي تم إجراؤها كانت تلوخ الجرام، تلوخ البوغ، تخمير الكربوهيدرات، التحلل المائي للنشا، التحلل المائي للكازين، التحلل المائي للجيلاتين، الكاتلاز، الميثيل الأحمر، اليورياز والحركة. تم تحليل الخصائص المظهرية للعزلات البكتيرية باستخدام طريقة مطابقة المظهر الجانبي بناءً على دليل بيرجي لعلم الجراثيم المحدد. تصنيف البكتيريا يستخدم برنامج MVSP مع خوارزمية UPGMA. تم إجراء نشاط التحلل البكتيري على بلاستيك البولي إيثيلين المنخفض الكثافة الذي تم معالجته بالإشعاع الفيزيائي الكيميائي للأشعة فوق البنفسجية والنقع بحمض النيتريك باستخدام وسائط MSM وحضنت لمدة 53 يومًا. تحليل تغييرات المجموعة الوظيفية قبل وبعد التدهور باستخدام مقياس الطيف الضوئي FTIR.

أظهرت النتائج أن عزلات البكتيريا حصلت على عزلتين مختلفتين مشفرتين PDB1 و PDB2. وأظهرت نتائج التحليل من العزلات البكتيرية مع برنامج MVSP أن PDB1 عزل كان 94% على غرار bataviensis العصوية وكان العزلات PDB2 96% التشابه للبكتيريا العصوية subtilis. تحديد LDPE النشاط تدهور البلاستيك على أساس يظهر حساب فقدان الوزن قيمة النسبة المئوية للتدهور من قبل PDB1 يعزل من 1.53% و PDB2 يعزل من 1.96%. نتائج أطياف FTIR على البلاستيك مع المعالجة الفيزيائية والكيميائية، كانت هناك قمم جديدة عند أرقام الموجات 1637 و 1557 سم⁻¹ والتي أظهرت اهتزازات تمدد لمجموعات الكربونيل، في حين أن النتائج على البلاستيك بعد التحلل البيولوجي كانت لها قمم جديدة بأرقام موجية 1728 و 1807 سم⁻¹.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Salah satu permasalahan di negara Indonesia adalah sampah yang semakin tahun semakin bertambah seiring dengan penambahan penduduk dan penambahan tingkat konsumsi masyarakat. Berdasarkan data Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan (KLHK), jumlah timbunan sampah di Indonesia pada tahun 2016 mencapai 65,2 juta ton per tahun. Proyeksi penduduk Indonesia menunjukkan pertumbuhan penduduk yang semakin meningkat dan tentunya menyebabkan meningkatnya jumlah timbunan sampah akibat tingkat konsumsi penduduk. Berdasarkan data Jambeck (2015), Indonesia merupakan negara penghasil sampah plastik kedua yang mencapai 187,2 juta ton setelah Tiongkok yang mencapai 262,9 juta ton.

Plastik merupakan bahan organik yang terbuat dari senyawa polimer sintetik yang terdiri dari karbon, hidrogen, silikon, oksigen, klorida dan nitrogen serta memiliki nilai yang ekonomis, fleksibel, dan ringan (Purwaningrum, 2016). Sifat plastik yang fleksibel, ringan, kuat dan transparan ini membuat plastik dijadikan bahan untuk kemasan makanan atau produk lainnya. Plastik yang sering digunakan adalah jenis polietilen. Bentuk plastik polietilen ini termasuk tas belanja, botol, gelas sekali pakai, kemasan produk dan mainan. Salah satu bentuk polietilen yang digunakan di kehidupan sehari-hari yaitu kantong plastik. Komponen utama penyusun kantong plastik adalah polietilen berkepadatan rendah atau yang dikenal dengan *low density polyethylene* (LDPE) (Al-Jailawi, et al., 2015).

Penggunaan plastik jenis LDPE yang sangat luas mengakibatkan limbah plastik semakin meningkat. Sampah plastik tersebut memberikan beban yang sangat besar pada lingkungan, karena tidak mudah terurai dan tidak dapat membusuk, sehingga membutuhkan waktu 200 sampai 1000 tahun untuk dapat terurai. Sampah plastik dapat menimbulkan pencemaran terhadap tanah, air dan makhluk dibawah tanah (Qodriyatun, 2018). Sampah plastik yang terkubur dalam tanah menyebabkan penyumbatan air dan merusak tanah untuk budidaya pertanian. Sampah plastik yang terbuang di lautan dapat mengganggu keseimbangan kehidupan di laut, menyebabkan hewan di dalamnya mati karena terperangkap dalam sampah plastik atau menelan puing-puing sampah plastik. Sampah plastik yang terbuang di sungai dapat menyebabkan banjir.

Melihat beberapa masalah diatas, kerusakan lingkungan tidak jauh dari perbuatan tangan manusia seperti membuang sampah sembarangan dan penggunaan plastik yang berlebihan. Hal ini telah dijelaskan didalam Q.S. Ar-Rum (30): 41 tentang kerusakan yang disebabkan oleh tangan manusia:

ظَهَرَ الْفَسَادُ فِي الْبَرِّ وَالْبَحْرِ بِمَا كَسَبَتْ أَيْدِي النَّاسِ لِيُذِيقَهُمْ بَعْضَ الَّذِي عَمِلُوا لَعَلَّهُمْ
يَرْجِعُونَ

“Telah nampak kerusakan di darat dan di laut disebabkan karena perbuatan tangan manusia, supaya Allah merasakan kepada mereka sebagian dari (akibat) perbuatan mereka, agar mereka kembali (ke jalan yang benar)”. (Q.S. Ar-Rum(30): 41).

Kata “al-fasad” menurut bahasa berarti kerusakan. Tafsir yang ditulis oleh M. Quraish Shihab menjelaskan bahwa telah terjadi al-fasad di daratan dan lautan. Al-Fasad adalah segala bentuk pelanggaran atas sistem atau hukum yang dibuat Allah, yang diterjemahkan dengan "perusakan". Perusakan itu bisa berupa

pencemaran alam sehingga tidak layak lagi didiami, atau bahkan penghancuran alam sehingga tidak bisa lagi dimanfaatkan. Di daratan, misalnya, hancurnya flora dan fauna, dan di laut seperti rusaknya biota laut. Juga termasuk al-fasad adalah perampokan, perompakan, pembunuhan, pemberontakan, dan sebagainya (Shihab, 2002). Laut telah tercemar, sehingga akan mati dan hasil laut berkurang. Daratan semakin panas sehingga terjadi kemarau panjang. Oleh karena itu, keseimbangan lingkungan menjadi kacau. Banyak sekali terjadi kerusakan alam, seperti longsor, banjir, kekeringan dan lain sebagainya. Peristiwa-peristiwa tersebut terjadi atas campur tangan manusia, bukan hanya fenomena alam semata atau kehendak Allah SWT (Abdurrahman, 2011).

Sebagai khalifah yang ditugaskan untuk menjaga keseimbangan alam, sudah semestinya mematuhi dan mengikuti semua hukum Allah, termasuk tidak melakukan kerusakan terhadap sumber daya alam yang ada. Mereka memiliki tanggung jawab yang besar terhadap keberlanjutan kehidupan di bumi. Bumi diciptakan Allah untuk menjadi tempat kediaman manusia. Namun manusia yang seharusnya bersyukur dan menjaga apa yang telah diserahkan Allah kepada mereka malah menjadi makhluk yang paling banyak berbuat kerusakan pada alam.

Salah satu penyebab kerusakan alam semesta adalah banyaknya sampah plastik yang dibuang oleh manusia. Maka dari itu, perlu adanya sebuah solusi untuk mengurangi sampah plastik dengan menguraikannya atau biasa disebut dengan degradasi. Beberapa metode yang telah diterapkan diantaranya degradasi secara foto-oksidatif, *thermal*, *mechanochemical*, *catalytic* dan biodegradasi (Sangeetha, et al., 2015). Dari beberapa metode tersebut, degradasi secara biologis

(biodegradasi) lebih banyak diterapkan karena dinilai lebih aman, murah dan ramah lingkungan. Biodegradasi ini merupakan proses penguraian dengan melibatkan mikroorganisme (bakteri dan jamur) yang memiliki kemampuan untuk memecahkan rantai panjang polimer LDPE menjadi monomernya, sehingga keberadaannya dapat tereduksi di lingkungan.

Mikroorganisme yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri hasil isolasi dari Tempat Pembuangan Akhir (TPA). Tempat Pembuangan Akhir (TPA) merupakan tempat dimana banyak tertimbun sampah plastik dari waktu ke waktu dan sebagian sudah bercampur dengan tanah, sehingga pada tanah timbunan plastik tersebut terdapat aktivitas bakteri yang mampu mendegradasi plastik. Banyak isolat bakteri *indigenous* yang telah dilaporkan mampu mendegradasi plastik. Beberapa penelitian terdahulu telah mengisolasi bakteri pendegradasi plastik dari TPA di Indonesia, antara lain dalam penelitian Octavianda (2016), mengisolasi bakteri dari TPA Benowo Surabaya dan didapatkan empat isolat bakteri yang memiliki potensi sebagai pendegradasi plastik dengan masing-masing aktivitas degradasinya sebesar $0,003 \pm 0,051\%$; $0,143 \pm 0,061\%$; $0,043 \pm 0,075\%$; dan $0,247 \pm 0,138\%$ dengan masa inkubasi selama 30 hari. Pada penelitian Amaliya (2019) telah mengisolasi mikroorganisme dari TPA daerah Paras, Poncokusumo Malang yang mampu mendegradasi plastik LDPE dengan aktivitas yang dihasilkan sebesar $13,33 \pm 0,9428\%$.

Maka dari itu, dalam penelitian ini dilakukan isolasi bakteri dari TPA Jl. Kipas Kota Malang, dimana tempat ini belum pernah dijadikan sebagai tempat pengambilan sampel tanah untuk isolasi bakteri. Pada TPA ini terdapat banyak tumpukan sampah plastik dan banyak yang sudah tertimbun didalam tanah,

sehingga dapat dijadikan tempat isolasi untuk mendapatkan bakteri pendegradasi plastik.

Isolasi bakteri dilakukan dengan metode kolom *winogradsky* yang merupakan metode yang mendukung suatu konsorsium mikroorganisme memodifikasi lingkungan membentuk biofilm (Ainiyah & Shovitri, 2014) dan metode cawan tuang. Setelah didapatkan isolat bakteri, dilakukan permurnian kemudian identifikasi bakteri secara fenotip. Identifikasi fenotip dilakukan berdasarkan pengamatan morfologi, uji biokimia dan uji fisiologis. Pengamatan morfologi mencakup bentuk, elevasi, tepian dan warna koloni, sedangkan uji biokimia meliputi fermentasi karbohidrat, uji katalase, uji MR, uji urease, hidrolisis pati, hidrolisis kasein, hidrolisis gelatin dan uji motil, serta uji fisiologis meliputi pertumbuhan bakteri pada variasi pH dan suhu.

Berdasarkan hasil uji fenotip isolat bakteri dilakukan identifikasi dengan metode *profil matching* yang mengacu pedoman *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* dan pengelompokan bakteri serta nilai similaritas menggunakan program MVSP (*Multivariate Statistical Package*).

Penelitian-penelitian terdahulu telah melaporkan beberapa jenis bakteri yang mampu mendegradasi plastik. Menurut Kunlere, dkk. (2019), jenis bakteri yang mampu mendegradasi plastik LDPE yaitu *Pseudomonas* sp., *Acinetobacter* sp., *Bacillus* sp. dan *Staphylococcus* sp. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Jumaah (2017), isolat bakteri *Pseudomonas putida* mampu mendegradasi plastik sebesar 30% dan *Bacillus putida* sebesar 22% dengan waktu inkubasi selama 1 bulan. Pada penelitian Patil (2018), didapatkan isolat bakteri *Bacillus amylolyticus*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas fluroscence* dan *Bacillus*

subtilis dengan masing-masing mampu mendegradasi plastik sebesar 32%, 18%, 22% dan 14% selama 1 bulan inkubasi. Pada penelitian Shrestha (2019), didapatkan isolat *Bacillus* spp., yang mampu mendegradasi plastik LDPE dengan rentang 16-20% selama 2 bulan inkubasi.

Dalam proses biodegradasi plastik, dibutuhkan beberapa degradasi non-biotik sebelum degradasi menggunakan bakteri, karena plastik memiliki sifat hidrofobisitas dan dimensi molekul yang besar, sehingga dibutuhkan beberapa *treatment* agar proses biodegradasinya lebih cepat. *Treatment* tersebut dilakukan pada plastik LDPE sebelum biodegradasi dengan bakteri. Dalam beberapa penelitian, ada beberapa *treatment* yang telah dilakukan, seperti iradiasi UV dan asam nitrat. Perbedaan nyata yang dihasilkan dari *treatment* tersebut adalah hasil analisis menggunakan FTIR. Selain itu dapat dilihat dari hasil berat plastik setelah degradasi. Pada penelitian Sowmya, et al. (2014), didapatkan isolat *Bacillus cereus* mampu mendegradasi PE dengan *treatment* UV dan asam lebih efisien daripada yang *non-treatment*. Penurunan berat untuk *treatment* UV dan asam adalah 14%, sedangkan *non-treatment* sebesar 7,2%.

Berdasarkan pernyataan diatas, penting untuk dilakukan penelitian isolasi bakteri untuk menambah keragaman bakteri dan mengetahui tingkat aktivitas bakteri tersebut dalam mendegradasi plastik. Selain itu dilakukan *treatment* terhadap plastik yang akan didegradasi untuk mempercepat kinerja bakteri dalam mendegradasi plastik tersebut. Sehingga dari penelitian ini, diharapkan dapat dikembangkan lebih lanjut dan diaplikasikan dalam lingkungan guna membantu menangani permasalahan sampah di Indonesia.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dari penelitian ini adalah:

1. Bagaimana hasil identifikasi isolat bakteri berdasarkan uji fenotip dengan metode *profil matching*?
2. Bagaimana aktivitas isolat bakteri dalam mendegradasi plastik LDPE?

1.3 Tujuan

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengetahui hasil identifikasi isolat bakteri berdasarkan uji fenotip dengan metode *profil matching* berdasarkan pedoman *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*.
2. Mengetahui aktivitas bakteri hasil isolasi dalam mendegradasi plastik LDPE.

1.4 Batasan Masalah

Adapun batasan masalah dari penelitian ini, antara lain:

1. Sampel tanah diambil dari tempat pembuangan akhir (TPA) di Jl Pisang Kipas, Jatimulyo, Lowokwaru, Kota Malang.
2. Plastik yang digunakan adalah plastik industri yang mengandung komponen utama LDPE.
3. *Treatment* plastik menggunakan sinar UV dan asam nitrat.
4. Analisis gugus fungsi LDPE terdegradasi menggunakan FTIR.

1.5 Manfaat

Adapun manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bagi Peneliti

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat bagi peneliti, antara lain: memberikan informasi mengenai aktivitas degradasi bakteri hasil isolasi dari tanah TPA terhadap plastik LDPE dan mengetahui keragaman jenis bakteri yang mampu mendegradasi plastik LDPE.

2. Bagi Institusi

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai rujukan untuk proses pengembangan berkelanjutan bagi mahasiswa UIN Maulana Malik Ibrahim Malang yang akan melakukan penelitian dengan topik yang berhubungan dengan judul penelitian ini.

3. Bagi Masyarakat

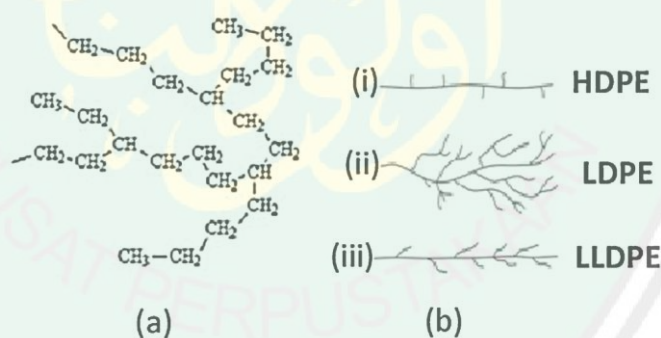
Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat dalam masyarakat dalam upaya pengurangan jumlah limbah plastik yang ada di lingkungan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Plastik Polietilen Berdensitas Rendah

Polietilen densitas rendah atau *low density polyethylene* (LDPE) adalah polimer yang terbuat dari monomer etilena. LDPE merupakan kelas pertama polietilena yang diproduksi pada 1933 oleh Imperial Chemical Industries (ICI) menggunakan proses tekanan tinggi melalui polimerisasi radikal bebas (Malpass, 2010). LDPE mengandung banyak percabangan pada strukturnya (sekitar 2% dari atom karbon) daripada HDPE, sehingga kekuatan antarmolekulnya lebih lemah, kekuatan tariknya lebih rendah, dan ketahanannya lebih tinggi. Juga, karena molekul kurang padat dan kurang kristal karena cabang samping, densitasnya rendah. Struktur dari polietilen ditunjukkan pada gambar dibawah ini (Sen, et al., 2015).



Gambar 2.1 (a) polietilen berdensitas rendah
(b) struktur percabangan polietilen

Polietilen densitas rendah adalah padatan kristalin yang tidak lengkap dengan derajat kristalinitas pada kisaran 50-60% yang mengarah ke beberapa sifat seperti yang ditunjukkan pada tabel 2.1 dibawah ini (Sen, et al., 2015):

Tabel 2.1 Sifat – sifat polietilen berdensitas rendah (LDPE)

Sifat	Nilai	Range
Densitas, g/cc	0.91	0.910 – 0.925
Kekerasan, shore D	44	41 – 46 shore D
Kekuatan tekanan, yield MPa	10	4 – 16 MPa
Elastisitas, GPa	0.2	0.07 – 0.3 GPa
Kelenturan, GPa	0.4	0 – 0.7 GPa
Koefisien ekspansi termal, linier 20°C, pm/m-°C	30	20 – 40 $\mu\text{m/m } ^\circ\text{C}$
Titik lebur, °C	115	

Low Density Polyethylene (LDPE) merupakan salah satu jenis PE dibawah kondisi polimerisasi dengan suhu dan tekanan yang tinggi. Densitas/kepadatannya rendah karena kondisi polimerisasi ini memberikan pembentukan banyak cabang, yang seringkali cukup panjang dan mencegah molekul saling berdekatan untuk membuat struktur kristal. Karenanya, LDPE memiliki kristalinitas rendah (biasanya dibawah 40%) dan strukturnya sebagian besar amorf. Densitas rendah dan sifat struktur yang sangat amorf mempengaruhi sifat fisik LDPE. Oleh karena itu, LDPE digunakan dalam aplikasi yang membutuhkan fleksibilitas, ketangguhan dan ketahanan retak. LDPE memiliki titik leleh terendah dan paling mudah untuk diproses dari jenis PE lainnya, sehingga digunakan secara luas dalam aplikasi volume tinggi (Strong, et al., 2000).

Polietilen adalah salah satu polimer sintetik tingkat hidrofobik tinggi dan berat molekul tinggi. Dalam bentuk alami, itu tidak terurai secara hayati. Dengan demikian, penggunaannya dalam produksi bahan pembuangan atau pengepakan menyebabkan masalah lingkungan yang berbahaya. Untuk membuat PE terurai secara hayati, diperlukan modifikasi tingkat kristalnya, berat molekul, dan sifat mekanik yang bertanggung jawab atas ketahanan PE terhadap degradasi. Ini dapat dicapai dengan meningkatkan tingkat hidrofilik PE dan / atau mengurangi panjang

rantai polimernya dengan oksidasi agar dapat diakses untuk degradasi mikroba. Begitu dengan LDPE yang paling banyak digunakan sebagai material packaging yang tahan terhadap bahan kimia dan pemanasan, bersifat inert pada suhu ruang dan tidak mudah sobek saat diregangkan (Shah, et al., 2008).

2.2 Bakteri Pendegradasi Plastik LDPE

Mikroorganisme di lingkungan alami merupakan campuran dari berbagai jenis populasi atau spesies. Perlu dilakukan suatu pemisahan untuk mengetahui jenis, mempelajari kultural, morfologi, fisiologi dan karakteristik mikroorganisme tersebut. Teknik pemisahan ini disebut dengan isolasi yang disertai dengan pemurnian. Isolasi bakteri merupakan teknik untuk memisahkan satu jenis bakteri dengan mikroba lain yang berasal dari campuran bermacam-macam mikroba. Isolasi bakteri dilakukan dengan menumbuhkannya dalam media padat, sel-sel mikroba akan membentuk koloni sel yang tetap pada tempatnya. Beberapa metode untuk memperoleh biakan murni yang sering digunakan adalah metode cawan gores dan cawan tuang, yang didasarkan pada prinsip pengenceran untuk memperoleh spesies individu. Dengan anggapan bahwa setiap koloni dapat terpisah dari satu jenis sel yang dapat diamati (Sabbathini, et al., 2017).

Proses identifikasi juga perlu dilakukan setelah proses isolasi. Proses identifikasi bakteri secara konvensional berdasarkan karakteristik fenotip bakteri meliputi pewarnaan gram dan morfologi koloni, sedangkan berdasarkan genotip meliputi identifikasi molekuler menggunakan gen 16s rRNA.

Bakteri termasuk salah satu komponen utama biosfer yang berperan dalam memecah senyawa organik dan siklus lingkungan. Bakteri sangat adaptif terhadap lingkungan dan mengeluarkan endoenzim dan eksoenzim yang mendegradasi

substrat menjadi komponen yang lebih sederhana. Komponen tersebut dimanfaatkan sebagai sumber karbon dan energi oleh bakteri. Degradasi polimer akan membentuk formasi biofilm pada permukaan polimer. Proses tersebut dapat dikatakan proses biodegradasi yang merupakan salah satu upaya untuk mengatasi limbah plastik secara biologi (Sriningsih, et al., 2015).

Beberapa penelitian sebelumnya telah membuktikan potensi bakteri *indigenous* dari tempat pembuangan sampah pendegradasi plastibacter sp., k. berikut ini kelompok bakteri yang dilaporkan memiliki aktivitas degradasi terhadap LDPE.

Tabel 2.2 Jenis – jenis bakteri dengan aktivitas degradasi tertinggi

Mikroorganisme	Aktivitas degradasi (%)	Referensi
<i>Bacillus</i> sp.	Inkubasi : suhu 30°C selama 2 bulan 16% - 26% 8% - 25%	(Shrestha, et al., 2019)
<i>Bacillus amylolyticus</i>	32% /bulan	(Patil R.C., 2018)
<i>Pseudomonas putida</i>	18%	
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	22%	
<i>Bacillus subtilis</i>	14%	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Inkubasi : 2 bulan 10,32%	(Nourollahi, et al., 2018)
<i>Pseudomonas putida</i>		(Jumaah, 2017)
<i>Bacillus subtilis</i>	30% (1 bulan) 22% (1 bulan)	
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	16% (2 bulan)	

Salah satu jenis bakteri yang disebutkan diatas adalah *Pseudomonas*. Bakteri *Pseudomonas* sendiri memiliki karakteristik seperti, gram negatif, berbentuk batang (*rods*) atau kokus (*coccus*), aerob obligat, motil mempunyai

flagel polar. Bakteri ini oksidase positif, katalase positif, dan tumbuh dengan baik pada suhu 4°C atau dibawah 43°C. Beberapa spesies *Pseudomonas* seperti *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas* sp, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas syringae* dan lain-lain (Suyono, et al., 2011).

Selain itu, bakteri *Bacillus* spp. yang memiliki karakteristik membentuk endospora, merupakan gram positif, bergerak dengan adanya flagel peritrikus, dapat bersifat aerobik atau fakultatif anaerobik serta bersifat katalase positif. Endospora yang dihasilkan bakteri *Bacillus* berbentuk bulat, oval, elips atau silinder, yang terbentuk di dalam sel vegetatif (Hatmanti, 2000).

2.3 Karakterisasi Bakteri

Karakterisasi bakteri dapat dilakukan secara fenotip maupun genotip. Analisis fenotip mempelajari sifat fisik dan biokimianya, sedangkan analisis genotip merupakan analisis secara molekular. Hasil uji fisik dan biokimia sering berbeda-beda karena adanya perbedaan ekspresi gen.

Pada tahap awal identifikasi bakteri dilakukan uji morfologi dengan pewarnaan gram dan pewarnaan endospora. Kemudian dilakukan uji biokimia, seperti : uji hidrolisis pati, uji hidrolisis kasein, uji katalase, uji MRVP, uji SIM, uji urease, dan sebagainya. Hasil uji fisik dan biokimia diidentifikasi berdasarkan sistem *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* yang merupakan panduan untuk menentukan identitas bakteri dengan memanfaatkan setiap karakter yang ada. Pendekatan umum yang digunakan dalam penggunaan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* dengan membuat skema ciri-ciri bakteri. Kemudian diklasifikasikan menggunakan program MVSP (*multivariate statistical package*).

2.3.1 Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram adalah salah satu teknik pewarnaan yang paling penting untuk mengidentifikasi bakteri. Metode ini diberikan nama berdasarkan penemunya, ilmuwan *Denmark Hans Christian Gram* (1853-1938) yang mengembangkan teknik ini pada tahun 1884 untuk membedakan antara *Pneumokokus* dan *Klebsiella pneumoniae*. Dalam proses pewarnaan gram, olesan bakteri yang sudah terfiksasi dikenai larutan – larutan berikut: zat pewarna kristal violet, larutan yodium, larutan alkohol (bahan pemucat), dan zat pewarna tandingannya berupa zat warna safranin. Bakteri yang terwarnai dibagi menjadi dua kelompok, yaitu bakteri Gram Positif dan bakteri Gram Negatif. Bakteri Gram Positif akan mempertahankan zat warna kristal violet, sehingga tampak berwarna ungu tua di bawah mikroskop. Sedangkan bakteri Gram Negatif akan tampak berwarna merah (Putri, et al., 2017).

Tabel 2.3 Perbedaan relatif sifat bakteri gram positif dan gram negative

Sifat	Bakteri Gram positif (+)	Bakteri Gram negatif (-)
Komposisi dinding sel	Kandungan lipid rendah (1-4%)	Kandungan lipid tinggi
Ketahanan terhadap penisilin	Lebih sensitive	Lebih tahan
Penghambatan oleh pewarna basa	Lebih dihambat	Kurang dihambat
Kebutuhan nutrisi	Kebanyakan spesies relatif kompleks	Relatif sederhana
Ketahanan terhadap perlakuan fisik	Lebih tahan	Kurang tahan

2.3.2 Pewarnaan Endospora

Endospora adalah struktur yang tidak aktif, keras dan non-reproduktif yang dihasilkan oleh beberapa bakteri. Pembentukan endospora biasanya dipicu

oleh kekurangan nutrisi dan biasanya terjadi pada gram positif. Dalam pembentukan endospora, bakteri membelah di dalam dinding selnya dan satu sisi kemudian menelan sisi lainnya. Endospora dapat bertahan hidup dalam keadaan kekurangan nutrisi, tahan terhadap panas dan unsur-unsur fisik lainnya seperti pembekuan, kekeringan, radiasi ultraviolet serta terhadap bahan-bahan kimia yang dapat menghancurkan bakteri yang tidak dapat membentuk spora. Kelompok bakteri pembentuk spora biasanya berbentuk bulat atau batang dan mempunyai filament. Jenis-jenis bakteri utama yang membentuk endospora tergolong dalam genus *Bacillus* dan *Clostridium* (Hadioetomo, 1993).

Prinsip pewarnaan spora yaitu suatu metode pewarnaan yang menggunakan *malachite green* dan safranin, yang dalam hasil pewarnaannya akan muncul warna hijau pada sporanya dan warna merah pada sel vegetatifnya. Pada pewarnaan spora digunakan *malachite green* dikarenakan endospora tidak dapat diwarnai dengan pewarnaan biasa. Dalam pewarnaan endospora perlu dilakukan pemanasan agar pori-pori bakteri membesar sehingga zat warna *malachite green* dapat masuk ke dalam spora dan dilakukan pencucian agar pori-pori kembali mengecil yang menyebabkan *malachite green* tidak dapat dilepas walau dilunturkan dengan alkohol. Sedangkan pada badan bakteri zat warna dilepaskan dan mengambil warna merah dari safranin (Mestarina, 2015).

2.3.3 Fermentasi Karbohidrat

Uji fermentasi karbohidrat digunakan untuk mengetahui bakteri yang dapat memfermentasi karbohidrat jenis tertentu dan menghasilkan asam serta gas CO₂. Uji ini menggunakan media cair yang mengandung karbohidrat (seperti glukosa, laktosa, sukrosa dan maltose) serta indikator *phenol red*. Saat proses

fermentasi, karbohidrat akan diubah oleh bakteri menjadi asam organik seperti asam asetat atau asam laktat. Suasana asam dalam media cair akan mengubah warna indikator *phenol red* menjadi kuning (Cappucino, et al., 2005).

2.3.4 Uji Hidrolisis Pati

Pati adalah karbohidrat yang terdiri atas amilosa dan amilopektin. Pati memiliki berat molekul yang tinggi, karena ukurannya yang besar, tidak mampu diserap oleh membran sel. Hidrolisis pati merupakan proses pemecahan molekul amilum menjadi bagian-bagian penyusunnya yang lebih sederhana seperti dekstrin, isomaltosa, maltosa dan glukosa (Purba, 2010).

Uji hidrolisis pati ini digunakan untuk melihat kemampuan bakteri dalam menghidrolisis pati dengan adanya enzim amilase yang dihasilkan. Uji ini dilakukan menggunakan media pati agar pada cawan petri. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya zona bening berwarna kuning disekitar daerah pertumbuhan bakteri setelah penambahan larutan iodin. Hal ini menunjukkan bahwa amilum telah terhidrolisis menjadi sakarida yang lebih sederhana (Ferdiaz, 1992).

2.3.5 Uji Katalase

Uji katalase digunakan untuk mengetahui adanya enzim katalase pada bakteri yang diuji. Katalase merupakan enzim yang mengkatalisa penguraian H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 . Hidrogen peroksida (H_2O_2) ini bersifat toksik terhadap sel karena dapat menginaktifkan enzim dalam sel. Hidrogen peroksida terbentuk sewaktu metabolisme aerob, sehingga mikroorganisme yang tumbuh di lingkungan aerob pasti menguraikan H_2O_2 (Dewi, 2013). Uji ini sangat penting dilakukan untuk mengetahui sifat dari suatu bakteri terhadap kebutuhan oksigen (Yulvizar, 2013). Uji ini bersifat positif dengan terbentuknya gelembung gas.

2.3.6 Uji MR (*Methyl Red*)

Uji *methyl red* dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri memproduksi campuran asam dengan menambahkan reagen *methyl red*. Suspensi MR mengandung glukosa, pepton dan *buffer phosphate*. Beberapa bakteri dapat memfermentasikan glukosa dan menghasilkan berbagai produk yang bersifat asam sehingga dapat menurunkan pH media pertumbuhannya. Apabila hasil uji didapatkan warna merah (+) maka bakteri dapat memfermentasi campuran asam sehingga menurunkan pH menjadi $\leq 4,4$ dan apabila hasil uji didapatkan warna kuning (-) maka bakteri memfermentasi bahan lain sehingga menyebabkan pH menjadi ≥ 6 (Ginting, et al., 2018).

2.3.7 Uji Urease

Uji urease digunakan untuk melihat bakteri yang mampu menghasilkan enzim urease. Beberapa bakteri mampu menghasilkan enzim urease yang berfungsi menguraikan mikromolekul urea ((NH_2)₂CO) menjadi karbondioksida (CO_2) dan ammonia (NH_3). Ammonia yang dihasilkan akan meningkatkan pH media menjadi basa dan terjadi perubahan warna media dari orange menjadi merah (Sari, 2014).

2.3.8 Uji Hidrolisis Kasein

Kasein adalah protein pokok susu, suspensi koloid yang menyebabkan susu berwarna putih mengilat. Hidrolisis kasein digunakan untuk memperlihatkan adanya aktivitas hidrolitik enzim protease dan peptidase yang berperan dalam proses hidrolisis kasein menjadi peptida-peptida dan asam-asam amino yang larut. Uji ini menggunakan media *Skim Milk Agar* yang mengandung kasein sebagai

substrat enzim. Apabila mikroba mampu menghidrolisis protein ini, maka akan tampak zona bening disekitar koloni mikroba (Hastuti, et al., 2017).

2.3.9 Uji Gelatin

Uji gelatin digunakan untuk mengetahui kemampuan bakteri menghasilkan enzim gelatinase dalam menghidrolisis gelatin menjadi asam amino. Hidrolisis gelatin terdapat enzim-enzim yang menguraikan golongan protein yaitu enzim protease. Gelatin akan terurai oleh mikroba yang menghasilkan enzim protease. Larutan gelatin bersifat cair pada suhu ruang dan padat apabila di dalam refrigator. Apabila gelatin sudah dihidrolisis oleh mikroba, maka akan tetap bersifat cair (Hadioetomo, 1993).

2.3.10 Uji Motilitas

Motilitas adalah salah satu ciri makhluk hidup, begitu juga mikroorganisme, namun dengan alat gerak sederhana berupa silia atau flagella. Motilitas ditandai dari gerak pertumbuhan dalam agar tegak (bekas tusukan pada media, yang telah diinokulasi oleh biakan dan diinkubasi). Bakteri non-motil hanya tumbuh pada garis inokulum, sedangkan bakteri motil tumbuh keluar dari media dan keruh (Chasanah, 2018).

2.4 Identifikasi Bakteri secara Fenotip berdasarkan Pedoman *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*

Klasifikasi berarti penyusunan organisme kedalam grup taksonomi berdasarkan kemiripan atau hubungannya. Tata nama adalah penamaan suatu organisme melalui aturan internasional menurut ciri khasnya. Secara keseluruhan, yakni tentang pengklasifikasian, penamaan dan pengidentifikasian

mikroorganisme disebut sebagai sistematika mikroba. Untuk klasifikasi dan determinasi bakteri dipakai buku *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* yang menggambarkan sifat-sifat bakteri secara terperinci.

Bergey's Manual of Determinative Bacteriology adalah pedoman untuk mengidentifikasi bakteri yang belum diketahui menggunakan setiap aspek karakterisasi. Pendekatan umum yang digunakan yaitu membuat skema ciri-ciri bakteri. Pada buku *Bergey's* ini membagi prokariota dalam 4 divisi utama, berdasarkan ciri khas dinding selnya yaitu: bakteri Gram Negatif, bakteri Gram Positif, bakteri tanpa dinding sel dan archaeobacteria.

Didalam buku pedoman *Bergey's* ini tersedia masing-masing kategori dan ciri-ciri mendetail dari setiap kelompok. Kelompok jenis bakteri tersaji dalam tabel untuk petunjuk karakteristik yang digunakan untuk membedakan genera dalam kelompok. Kelompok spesies apa, dari deskripsi genus disertai oleh satu atau lebih tabel mengikuti perbedaan spesies yang terdapat dalam genus (Waluyo, 2010).

2.5 Biodegradasi

2.5.1 Pengertian Biodegradasi

Biodegradasi adalah proses penguraian zat organik oleh mikroorganisme (terutama bakteri aerob) menjadi zat yang lebih sederhana seperti karbon dioksida, air dan amonia. Senyawa hidrokarbon tidak dapat terdegradasi sempurna jika hanya dilakukan oleh satu jenis mikroba tetapi harus dilakukan oleh beberapa jenis mikroba yang memiliki sifat sinergisme dalam bentuk konsorsium (Islami, A.N., 2016). Biodegradasi juga merupakan proses dimana mikroorganisme mampu mendegradasi atau memecah polimer alam (seperti lignin dan selulosa)

dan polimer sintetik (seperti polietilen dan polistiren). Mikroorganisme mendegradasi polietilen dan polistiren dengan memanfaatkannya sebagai sumber karbon untuk pertumbuhan mikroorganisme (Sriningsih, et al., 2015).

Biodegradasi merupakan proses alami oleh mikroba yang mengkonsumsi hidrokarbon dan menghasilkan air, karbondioksida. Proses biodegradasi adalah suatu oksidasi dasar, enzim dari bakteri mengkatalisasi penempatan oksigen ke dalam hidrokarbon sehingga molekul dapat digunakan dalam metabolisme seluler (Bragg, et.al., 2012).

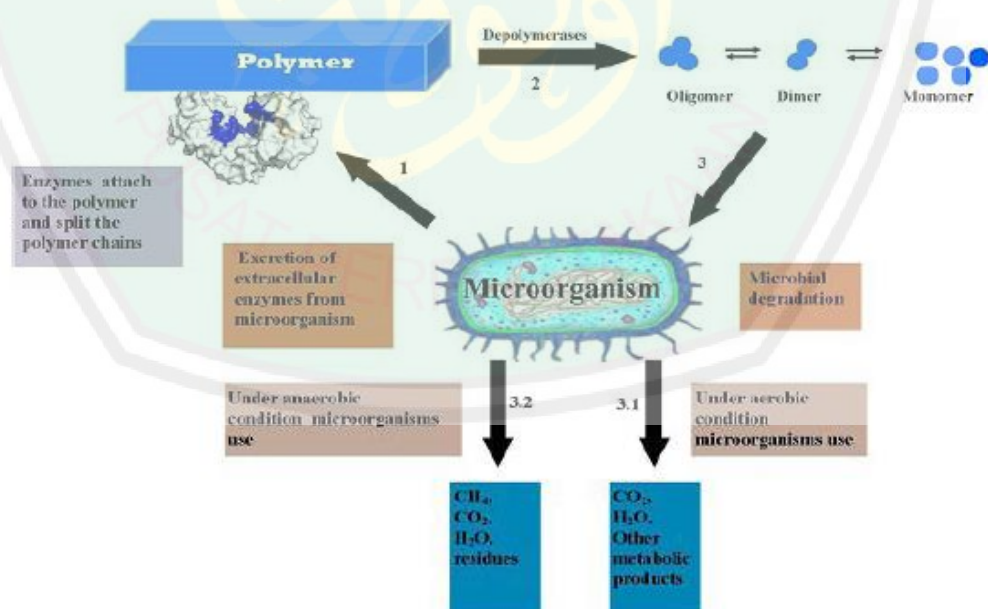
2.5.2 Mekanisme Biodegradasi

Dalam proses biodegradasi terjadi konversi dari bahan-bahan kimia yang kompleks menjadi produk yang tereliminasi seperti H_2O dan CO_2 . Proses biodegradasi senyawa karbon melibatkan suatu kumpulan mikroba yang saling berinteraksi dalam bentuk konsorsium. Mekanisme biodegradasi diawali dengan degradasi secara biotik yaitu fotodegradasi yang mengubah gugus rantai utama dengan adanya gugus karbonil ($C = O$), sehingga terjadi oksidasi karbon pada rantai polimer polietilen (Leja, et al., 2010). Selama proses biodegradasi polimer, terdapat dua kategori aktivitas enzim yang terlibat diantaranya depolimerase ekstraseluler dan intraseluler (Gultom, et al., 2017).

Selama degradasi, polimer pertama-tama dikonversi menjadi monomer-monomernya, kemudian monomer-monomer ini termineralisasi. Sebagian besar polimer terlalu besar untuk melewati membran seluler, sehingga mereka harus didepolimerisasi terlebih dahulu ke monomer yang lebih kecil sebelum dapat diserap dan diurai dalam sel mikroba. Kerusakan awal suatu polimer dapat disebabkan oleh berbagai kekuatan fisik dan biologis. Kekuatan fisik, seperti

pemanasan /pendinginan, pembekuan / pencairan, atau pembasahan / pengeringan, dapat menyebabkan kerusakan mekanis seperti retaknya bahan polimer. Selama degradasi, eksoenzim dari mikroorganisme memecah polimer kompleks yang menghasilkan molekul rantai pendek yang lebih kecil (oligomer, dimer, dan monomer) yang cukup kecil untuk melewati membran bakteri luar semi permeabel, dan kemudian digunakan sebagai sumber karbon dan energi. Proses awal pemecahan polimer ini disebut depolimerisasi (Shah, et al., 2008).

Jalur degradatif yang terkait dengan degradasi polimer sering ditentukan oleh kondisi lingkungan. Ketika O_2 tersedia (dalam keadaan aerobik), mikroorganisme memecah polimer menjadi biomassa mikroba, CO_2 dan H_2O . Pada kondisi anaerobik, mikroorganisme memecah polimer menjadi biomassa mikroba, CO_2 , CH_4 dan H_2O dalam kondisi metanogenik (anaerobik) (Shah, et al., 2008).



Gambar 2.2 Degradasi polimer dibawah kondisi aerobik dan anaerobik (Fesseha, et al., 2019).

2.6 Faktor – faktor yang Mempengaruhi Biodegradasi

Biodegradasi dipengaruhi oleh faktor-faktor berbeda yang terdiri dari karakteristik polimer, jenis organisme dan sifat pretreatment. Karakteristik polimer bersama dengan mobilitasnya, kristalinitas, berat molekul, dan substituen yang ada dalam strukturnya dan *plasticizer* atau komponen yang dikirim ke polimer semua memainkan peran penting dalam degradasinya (Fesseha, et al., 2019).

Sifat kimia dan fisik plastik berperan penting dalam biodegradasi. Polimer yang memiliki rantai samping sulit untuk terdegradasi dibandingkan dengan polimer tanpa rantai samping. Juga polimer dengan berat molekul yang tinggi sulit untuk didegradasi. Faktor-faktor lain dalam biodegradasi polimer adalah morfologinya, suhu leleh dan derajat kristalinitas. Jika polimernya amorf, maka ia akan terdegradasi lebih mudah dibandingkan dengan polimer kristalin. Polimer dengan suhu leleh yang tinggi sulit terurai (Fesseha, et al., 2019).

Biodegradabilitas suatu polimer pada dasarnya ditentukan oleh 8 karakteristik fisik dan kimia berikut ini (Fesseha, et al., 2019):

1. Adanya kelompok fungsional yang meningkatkan hidrofilik (degradasi hidrofilik lebih cepat daripada hidrofobik).
2. Berat molekul dan kerapatan polimer (berat molekul yang rendah lebih cepat daripada yang tinggi).
3. Morfologi plastik polimer yang tergantung pada jumlah daerah kristal dan amorf (degradasi amorf lebih cepat dari kristal).
4. Kompleksitas struktural, seperti linearitas atau keberadaan percabangan dalam polimer.

5. Adanya ikatan yang mudah pecah seperti ikatan ester atau amida. Kopling rantai (ester> eter> amida> uretan).
6. Komposisi molekul (campuran).
7. Sifat dan bentuk fisik polimer (mis., Film, pelet, bubuk atau serat).
8. Hardness (Tg) (*soft* polimer lebih cepat terdegradasi daripada yang keras)

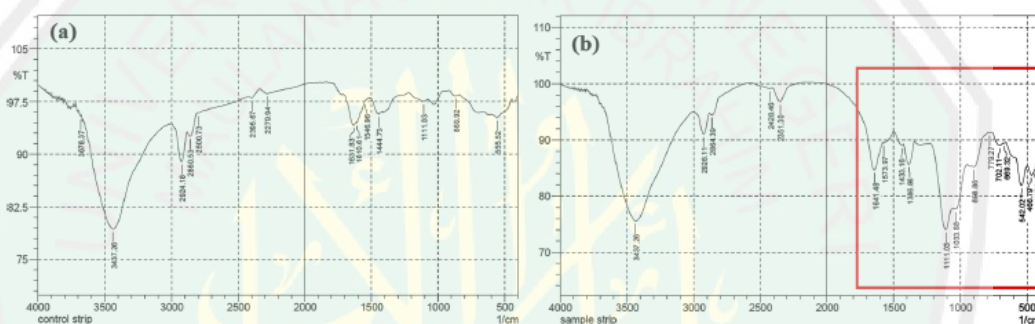
Biodegradabilitas polimer juga dipengaruhi oleh dua faktor utama seperti kondisi paparan dan fitur karakteristik polimer. Kondisi paparan lebih lanjut dapat dikategorikan sebagai faktor abiotik dan biotik. Faktor abiotik seperti suhu, pH, dan kelembaban dapat mempengaruhi laju reaksi hidrolisis selama degradasi. Peningkatan suhu dan kelembaban menyebabkan peningkatan laju reaksi hidrolisis dan aktivitas mikroba. Dalam kondisi lingkungan dengan kelembaban tinggi, terdapat peningkatan reaksi hidrolisis, yang menghasilkan lebih banyak pemotongan rantai dan mengarah pada peningkatan lokasi yang tersedia bagi mikroorganisme untuk menyerang rantai polimer, sehingga menyebabkan degradasi yang lebih cepat. Di antara faktor-faktor biotik, enzim ekstraseluler yang dihasilkan oleh mikroorganisme yang berbeda mungkin memiliki situs aktif dengan bentuk yang berbeda dan karenanya lebih mampu untuk mendegradasi polimer tertentu (Devi, et al., 2016).

2.7 Analisis Gugus Fungsi menggunakan FT-IR

Fourier Transform Infra Red (FT-IR) merupakan suatu metode analisis yang digunakan untuk mengetahui adanya perubahan pada gugus fungsi sampel plastik melalui sebuah spektrum. Alat FTIR ini menggunakan prinsip spektroskopi dengan mengukur jumlah radiasi infra red yang diserap atau dipancarkan oleh sampel sebagai fungsi dari panjang gelombang. Hasil spektrum inframerah yang

diperoleh kemudian diplot sebagai panjang gelombang (μm) atau bilangan gelombang (cm^{-1}). Karakterisasi *Fourier Transform Infra Red* (FTIR) perlu dilakukan untuk mengetahui atau menunjukkan adanya perubahan kimia fisika. Perubahan kimia diperlihatkan dengan munculnya gugus baru, sedangkan perubahan fisika diperlihatkan dengan penurunan dan atau peningkatan bilangan gelombang (cm^{-1}) (Dwicania, 2017).

Beberapa hasil karakterisasi plastik LDPE yang sudah terdegradasi oleh bakteri ditunjukkan pada gambar 2.2 dan 2.3 dibawah ini:

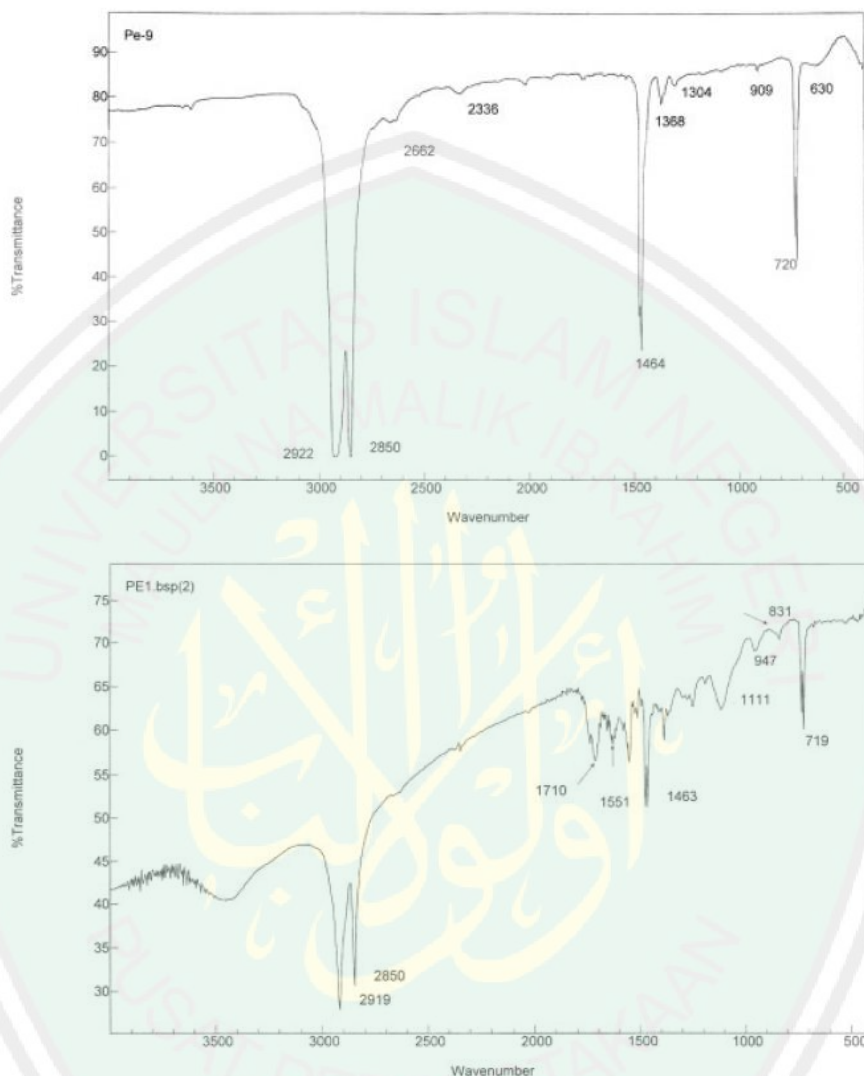


Gambar 2.3 Spektra FTIR dari polietilena terdegradasi oleh konsorsium bakteri selama 120 hari: (a) spektrum FTIR dari strip LDPE (kontrol); (b) spektrum FTIR dari strip LDPE yang terdegradasi

Hasil spektra FTIR pada gambar 2.3 diatas merupakan hasil dari penelitian Skariyachan, S., et.al. (2016) yang menunjukkan bahwa spektra FTIR dari salah satu strip LDPE terdegradasi menunjukkan beberapa puncak dalam kisaran 500 - 1.700 cm^{-1} dibandingkan dengan kontrol. Ini menunjukkan bahwa berbagai bentuk LDPE yang didegradasi oleh bakteri mengalami perubahan struktural besar yang merupakan indikasi langsung dari biodegradasi.

Sesuai dengan penelitian ini yang melakukan *treatment* pada plastik LDPE sebelum didegradasi menggunakan bakteri. Penelitian yang dilakukan Hasan, et.al

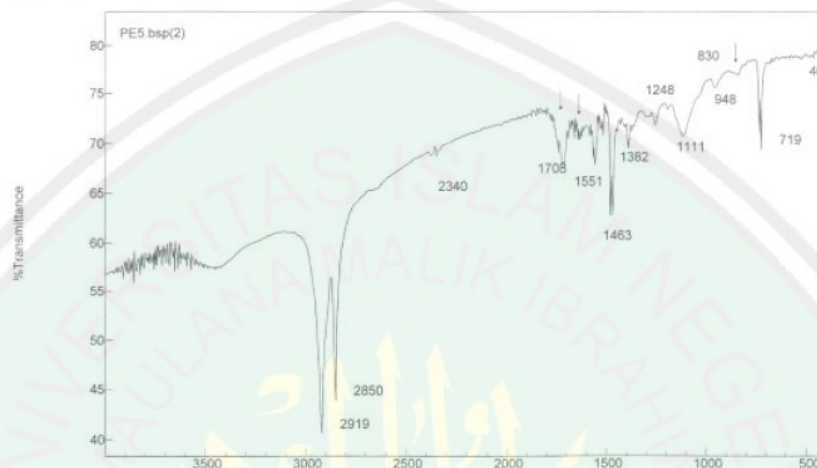
(2007) yang menunjukkan hasil FTIR pada LDPE *treated* dan *untreated* seperti pada gambar dibawah ini:



Gambar 2.4 (a) strip LDPE *untreated*; (b) strip LDPE yang ditreatment dengan UV dan asam nitrat

Gambar 2.4 dapat diamati bahwa dalam strip LDPE yang ditreatment dengan UV dan asam nitrat, muncul puncak pada 1710 dan 831 cm^{-1} . Dua puncak tersebut berhubungan dengan adanya gugus karbonil dan pembentukan ikatan rangkap sebagai akibat dari putusnya rantai polimer. Puncak-puncak tersebut

kemudian berkurang menjadi 1708 dan 830 cm^{-1} setelah perlakuan mikroba, menunjukkan kerusakan rantai polimer dan adanya produk oksidasi LDPE. Hasil FTIR setelah perlakuan dengan mikroba ditunjukkan pada gambar 2.5 dibawah ini:



Gambar 2.5 Strip LDPE *treatment* UV dan asam nitrat setelah perlakuan mikroba

2.8 Manusia sebagai Khalifah di Bumi

Keberadaan manusia memiliki peranan penting dalam menjalankan fungsinya sebagai khalifah dimuka bumi ini, dalam mewujudkan tujuan kita untuk melestarikan alam dan lingkungan agar terhindar dari kerusakan dan bahaya. Kata khalifah dalam bentuk tunggal terulang dua kali dalam Al-Qur'an yaitu pertama dalam surah Al-Baqarah ayat 30:

وَإِذْ قَالَ رَبُّكَ لِلْمَلَائِكَةِ إِنِّي جَاعِلٌ فِي الْأَرْضِ خَلِيفَةً قَالُوا أَتَجْعَلُ فِيهَا مَن يُفْسِدُ فِيهَا وَيَسْفِكُ

الدِّمَاءَ وَنَحْنُ نُسَبِّحُ بِحَمْدِكَ وَنُقَدِّسُ لَكَ قَالَ إِنِّي أَعْلَمُ مَا لَا تَعْلَمُونَ ﴿٣٠﴾

Artinya: "Ingatlah ketika Tuhanmu berfirman kepada para Malaikat: "Sesungguhnya Aku hendak menjadikan seorang khalifah di muka bumi." Mereka

berkata: "Mengapa Engkau hendak menjadikan (khalifah) di bumi itu orang yang akan membuat kerusakan padanya dan menumpahkan darah, padahal kami senantiasa bertasbih dengan memuji Engkau dan mensucikan Engkau?" Tuhan berfirman: "Sesungguhnya Aku mengetahui apa yang tidak kamu ketahui." (QS. Al-Baqarah: 30).

Muhammad Baqir al-Sadar sebagaimana yang dikutip oleh Quraish Shihab mengemukakan bahwa kekhalifahan yang terkandung dalam ayat diatas mempunyai tiga unsur yang sangat terkait ditambahkan unsur keempat yang berada diluar, namun dapat menentukan arti kekhalifahan dalam pandangan Al-Qur'an. Ketiga unsur tersebut yaitu (Shihab, 2013):

1. Manusia, yang dalam hal ini dinamai khalifah
2. Alam raya, yang ditunjuk oleh ayat Al-Baqarah sebagai *ardh*
3. Hubungan antara manusia dan alam dan segala isinya
4. Yang berada diluar, yaitu yang memberi penugasan, yakni Allah swt.

Ayat yang kedua yaitu QS. As-Shad ayat 26:

يٰۤدَاوُدُ اِنَّا جَعَلْنٰكَ خَلِيْفَةً فِى الْاَرْضِ فَاَحْكُم بَيْنَ النَّاسِ بِالْحَقِّ وَلَا تَتَّبِعِ الْهَوٰى فَيُضِلَّكَ عَنْ سَبِيْلِ اللّٰهِ اِنَّ الَّذِيْنَ يَضِلُّوْنَ عَنْ سَبِيْلِ اللّٰهِ لَهُمْ عَذَابٌ شَدِيْدٌۢ بِمَا نَسُوْا يَوْمَ الْحِسَابِ

Artinya: "Hai Daud, sesungguhnya Kami menjadikan kamu khalifah (penguasa) di muka bumi, maka berilah keputusan (perkara) di antara manusia dengan adil dan janganlah kamu mengikuti hawa nafsu, karena ia akan menyesatkan kamu dari jalan Allah. Sesungguhnya orang-orang yang sesat dari jalan Allah akan mendapat azab yang berat, karena mereka melupakan hari perhitungan." (QS. As-Shad: 26).

Pada ayat ini terdapat isyarat yang menunjukkan pengangkatan Daud sebagai rasul dan tugas-tugas apa yang seharusnya dilakukan oleh seorang rasul yang mengandung pelajaran bagi para pemimpin sesudahnya dalam melaksanakan kepemimpinannya.

Seperti yang telah di sampaikan di atas, ayat-ayat yang berbicara tentang pengangkatan khalifah dalam Alquran ditujukan kepada Nabi Adam dan Nabi Daud. Khalifah pertama adalah manusia pertama (Adam) dan ketika itu belum ada masyarakat manusia, berbeda dengan keadaan pada masa Nabi Daud. Beliau menjadi khalifah setelah berhasil membunuh Jalut.

Alquran dalam ungkapannya yang sederhana namun tegas menekankan individualitas dan uniknya manusia, dan mempunyai pandangan yang pasti tentang peran dan nasib manusia sebagai suatu kesatuan hidup. Adalah akibat dari pandangan bahwa manusia adalah suatu individualitas yang unik yang menjadikan mustahil bagi individu itu untuk menanggung beban orang lain, dan ia hanya berhak menerima buah atau akibat dari perbuatannya sendiri (Ilyas, 2016).

Sebagai khalifah, manusia diberi tanggung jawab pengelolaan alam semesta untuk kesejahteraan umat manusia, karena alam semesta memang diciptakan Tuhan untuk manusia. Sebagai wakil Tuhan manusia juga diberi otoritas ketuhanan; menyebarkan rahmat Tuhan, menegakkan kebenaran, membasmi kebatilan, menegakkan keadilan, dan bahkan diberi otoritas untuk menghukum mati manusia (Ilyas, 2016).

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April-November 2020 di Laboratorium Bioteknologi, Mikrobiologi dan Genetika Jurusan Kimia serta Laboratorium Genetika Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang dibutuhkan dalam pengambilan sampel antara lain sendok steril, *ziplog* steril, kertas pH, termometer dan *icebox*. Preparasi plastik LDPE membutuhkan *laminar air flow*, oven, lemari asam dan neraca analitik. Isolasi bakteri dan uji biodegradasi membutuhkan seperangkat alat gelas, jarum ose, autoklaf, cawan petri, pembakar bunsen, tabung mikro, mikropipet, *vortex*, *shaker*, *hotplate*, inkubator. Identifikasi fenotip bakteri membutuhkan jarum ose, kaca preparat, pembakar bunsen, pipet tetes, mikroskop. Identifikasi dengan FTIR membutuhkan spektroskopi FTIR.

3.2.2 Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri hasil isolasi dari sampel tanah kawasan Tempat Pembuangan Akhir (TPA). Media-media yang digunakan adalah media garam mineral (MSM), *nutrient agar*, *nutrient broth*, media *methyl red*, media *phenol red*, media *skim milk agar*, media gelatin, media pati, media agar semi solid. Bahan-bahan kimia yang digunakan antara lain asam nitrat 65%, aquades, kristal violet, iodin, alkohol 95%, safranin,

larutan H₂O₂ 3%, *methyl red*, *plastic wrap*, glukosa, sukrosa, laktosa, *malachite green*, buffer pH 6,7,8 dan 9.

3.3 Rancangan Penelitian

Pada penelitian ini dilakukan isolasi bakteri pendegradasi plastik dan uji biodegradasi LDPE. Adapun tahap penelitian yang dilakukan antara lain isolasi bakteri, pemurnian bakteri, identifikasi bakteri, preparasi plastik, uji biodegradasi dan karakterisasi FTIR. Identifikasi dilakukan uji uji biokimia yang meliputi fermentasi karbohidrat, katalase, motil, *methyl red* (MR), hidrolisis pati, hidrolisis kasein, hidrolisis gelatin, urease, pH dan suhu. Identifikasi bakteri dilakukan dengan metode *profil matching* yang mengacu pada pedoman *Bergey's Manual Determinative Bacteriology* 1984. Preparasi plastik dilakukan *treatment* menggunakan pemaparan sinar UV dan perendaman asam nitrat 65%. Uji biodegradasi dilakukan selama 53 hari. Karakterisasi LDPE sebelum dan sesudah biodegradasi menggunakan spektrofotometer FTIR.

3.4 Tahapan Penelitian

Pada penelitian ini dilakukan dengan tahapan-tahapan berikut:

1. Pengambilan Sampel
2. Preparasi Plastik LDPE
3. *Treatment* Fisikokimia Plastik LDPE
4. Isolasi Bakteri Pendegradasi LDPE
5. Pemurnian Isolat Bakteri
6. Produksi Inokulum Isolat Hasil Isolasi
7. Identifikasi Bakteri secara Fenotip
8. Uji Biodegradasi LDPE

9. Analisis gugus fungsi LDPE menggunakan FTIR

10. Analisis Data

3.5 Cara Kerja

3.5.1 Pengambilan Sampel

Sampel tanah diambil dari tempat pembuangan akhir (TPA), dengan metode komposit pola acak sebanyak 3 titik dengan kedalaman tanah 5 – 10 cm. Masing-masing tanah dari ketiga titik tersebut diambil sebanyak 100 g. Pengambilan titik sampel dilakukan berdasarkan terdapatnya plastik yang sudah mulai terurai. Kemudian ketiga sampel tanah dimasukkan ke dalam *icebox* dan dibawa ke laboratorium. Faktor lingkungan seperti suhu dan pH tanah diukur secara in situ (Gultom, et al., 2017 ; Hussein et.al., 2015; Riandi dkk., 2017).

3.5.2 Preparasi Plastik LDPE

Preparasi sampel plastik dilakukan dengan dipotong menjadi ukuran 2 x 2 cm. Kemudian disterilisasi dengan cara dimasukkan kedalam larutan alkohol 70 % selama kurang lebih 30 menit dan dikeringanginkan dibawah lampu UV pada *laminar air flow* selama 30 menit. Untuk mengetahui berat awal, plastik steril dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 80°C selama 24 jam. Selanjutnya sampel ditimbang menggunakan neraca analitik (Gultom dkk., 2017; Riandi dkk., 2017).

3.5.3 *Treatment* Fisikokimia Plastik LDPE

Treatment ini dilakukan untuk meningkatkan biodegradasi plastik. Dilakukan dua *treatment* pada penelitian ini. *Treatment* pertama, strip LDPE disinari UV selama 72 jam. Kedua, disuspensikan strip LDPE kedalam asam nitrat

65% selama 6 hari. Setelah pre-treatment selesai, strip LDPE secara aseptik dipindahkan ke media untuk uji biodegradasi (Hasan, et al., 2007; Mahalaksmi, et al., 2012; Rajandas, et al., 2012).

3.5.4 Isolasi Bakteri Pendegradasi LDPE

Sampel tanah sebanyak 10 gram dimasukkan dalam botol kaca steril. Kemudian ditambahkan 30 mL *Mineral Salt Media* (MSM) dengan kadar glukosa 1%. Potongan plastik dimasukkan dalam botol dengan menggunakan pinset steril hingga dipastikan potongan plastik tertanam secara keseluruhan dalam tanah. Selanjutnya, media diinkubasi selama 7 hari pada suhu 37°C. Setelah masa inkubasi selesai, plastik diambil menggunakan pinset dan diencerkan dengan aquades dan didapatkan inokulum yang kemudian diencerkan sebanyak tujuh kali (10^{-7}). Hasil pengenceran kemudian dipindahkan dalam cawan petri yang telah berisi medium *Mineral Salt Media* (MSM) secara *pour plate* dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C (Vignesh *et al*, 2016; Ainiyah, 2014).

3.5.5 Pemurnian Inokulum Bakteri

Pemurnian bertujuan agar diperoleh biakan murni yang diinginkan tanpa ada kontaminan dari mikroba lain. Pemilihan koloni mikroba yang dimurnikan berdasarkan perbedaan kenampakan morfologi koloni, baik dari segi warna, bentuk koloni dan permukaan koloni. Pemurnian isolat bakteri dilakukan dengan cara memindahkan 1 ose isolat bakteri menggunakan metode garis yang kemudian ditumbuhkan pada media NA dalam cawan petri dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pemurnian ini dilakukan secara berulang-ulang sampai terindikasi isolat bakteri murni (Elyza, et al., 2015).

3.5.6 Produksi Inokulum

Produksi inokulum dilakukan dengan cara memindahkan dua ose biakan bakteri kedalam 100 mL NB, lalu dishaker selama 18 jam pada suhu ruang dengan kecepatan 150 rpm. Kemudian diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C.

3.5.7 Identifikasi Bakteri secara Fenotip

3.5.7.1 Pewarnaan Gram

Koloni yang diduga murni tersebut dilakukan pewarnaan gram untuk memastikan bahwa koloni benar-benar murni. Pewarnaan gram dilakukan dengan 1-2 tetes aquades steril diletakkan di atas kaca preparat, koloni bakteri diambil 1 ose dari media diletakkan diatas aquades steril dan disebarakan hingga merata, kemudian difiksasi di atas lampu spiritus. Setelah dingin ditetaskan cat Gram A (kristal violet) 2-3 tetes selama 1 menit, kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan di udara. Setelah itu ditetesi dengan Gram B (Iodium) selama 1 menit, dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan di udara. Kemudian ditetesi dengan Gram C (alkohol 95%) selama 30 detik, lalu dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan di udara. Terakhir ditetesi dengan Gram D (safranin) selama 45 detik, lalu dicuci dengan air mengalir dan kelebihan air dihilangkan dengan kertas serap. Pengamatan ini dilakukan dengan melihat bentuk dan warna sel di bawah mikroskop dengan perbesaran tertentu (Sari, 2014). Bakteri Gram negatif akan berwarna merah, sedangkan Gram positif akan berwarna ungu.

3.5.7.2 Pembentukan Endospora

Biakan murni bakteri diambil satu ose dan disuspensikan dengan aquadest pada gelas objek. Preparat difiksasi diatas bunsen, kemudian ditetesi malachit green dan dibiarkan diatas penangas air selama 10 menit. Preparat diangkat dan

dibiarkan dingin, selanjutnya dibilas dengan air mengalir. Kemudian ditambahkan 1 tetes safranin, dibiarkan selama 30 detik, lalu dicuci menggunakan air mengalir dan dikeringkan. Preparat diamati dengan mikroskop. Uji positif jika sel vegetatif berwarna merah dan spora berwarna hijau (Chasanah, 2018).

3.5.7.3 Fermentasi Karbohidrat

Uji ini dilakukan dengan menggunakan tiga jenis karbohidrat yang berbeda, diantaranya sukrosa, glukosa dan laktosa. Inokulum bakteri diinokulasikan ke dalam masing-masing jenis karbohidrat dalam tabung reaksi yang ditambahkan tabung durham sebelumnya. Selanjutnya, tabung-tabung tersebut diinkubasi selama 24 jam dengan menggunakan suhu 37°C. Hasil positif ditandai dengan adanya perubahan warna menjadi kuning disertai gelembung gas yang ada di dalam tabung durham (Dewi, 2013; Chasanah, 2018).

3.5.7.4 Uji Hidrolisis Pati

Hidrolisis pati menggunakan medium agar pati. Medium agar pati dicairkan dalam penangas air, dinginkan suhunya, kemudian dituangkan ke dalam cawan petri steril. Setelah medium membeku, masing-masing isolat diinokulasikan ke dalam medium agar pati dan diinkubasi pada suhu 25-27°C selama 24 jam. Setelah terlihat adanya pertumbuhan, ditetaskan larutan iodium disekitar koloni bakteri pada medium tumbuh dan dibiarkan selama beberapa menit, lalu diamati (Arifin, 2013).

3.5.7.5 Uji Katalase

Uji katalase dilakukan dengan menggoreskan isolat bakteri pada kaca preparat, kemudian ditetaskan larutan H₂O₂ 3% dan dibiarkan selama beberapa

menit. Jika terdapat gelembung udara berarti katalase positif, sedangkan bila tidak ada gelembung berarti katalase negatif (Chasanah, 2018).

3.5.7.6 Uji MR (*Methyl Red*)

Uji MR menggunakan media *methyl red*. Isolat bakteri sebanyak 1 ose diambil dan diinokulasikan pada media dalam tabung reaksi dan diinkubasi selama 5 x 24 jam pada suhu 37°C. Kemudian ditambahkan 5 tetes reagen *methyl red*. Hasil positif apabila terbentuk kompleks berwarna merah yang menandakan bahwa mikroba tersebut menghasilkan asam (Chasanah, 2018).

3.5.7.7 Uji Urease

Uji urease menggunakan medium Urea Base. Masing-masing isolate bakteri diinokulasi ke dalam medium urea base, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam. Reaksi positif ditunjukkan dengan adanya perubahan warna medium dari kuning menjadi pink yang sangat pekat (Arifin, 2013).

3.5.7.8 Uji Hidrolisis Kasein

Hidrolisis kasein menggunakan medium *Skim Milk Agar*. Medium susu skim agar dicairkan dalam penangas air dan didinginkan suhunya, kemudian dituangkan ke dalam cawan petri steril. Setelah medium membeku, diinokulasikan masing-masing isolate bakteri dan diinkubasi pada suhu 25-27°C selama 24 jam. Reaksi positif apabila terdapat zona bening disekitar koloni (Arifin, 2013).

3.5.7.9 Uji Hidrolisis Gelatin

Masing-masing isolat diinokulasikan ke dalam media gelatin dalam tabung reaksi, kemudian diinkubasi selama 72 jam. Selanjutnya tabung reaksi dimasukkan ke dalam kulkas dengan suhu 10°C selama 60 menit. Diamati tekstur

gelatin. Hasil positif ditunjukkan dengan tekstur gelatin yang tidak membeku pada suhu rendah, sedangkan hasil negatif ditunjukkan dengan gelatin yang membeku pada suhu rendah.

3.5.7.10 Uji Motil

Uji motil dilakukan dengan diambil 1 ose isolate bakteri, kemudian ditanam dalam media agar tegak dengan metode stab (tusuk) kuang lebih $\frac{3}{4}$ tinggi tabung reaksi. Lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan diamati perubahannya (Arifin, 2013).

3.5.7.11 Suhu

Isolat bakteri murni diinokulasi ke dalam media NB (*Nutrient Broth*) pada pH 7. Kultur bakteri diinkubasi selama 24 jam pada suhu 10, 27, 37 dan 50°C. Pertumbuhan sel ditentukan berdasarkan absorbansi menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 620 nm.

3.5.7.12 pH

Media yang digunakan adalah media NB (*Nutrient Broth*) yang diatur pada pH 5,6,7 dan 8 dengan menggunakan buffer. Masing-masing isolat diinokulasikan ke dalam media dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pertumbuhan sel ditentukan berdasarkan absorbansi menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 620 nm (Chasanah, 2018).

3.5.8 Uji Biodegradasi LDPE oleh Isolat Bakteri

Media MSM 50 mL yang telah disterilisasi dimasukkan dalam erlenmeyer 250 mL. Bakteri hasil isolasi masing- masing diambil 1 mL dan diinokulasikan ke dalam masing- masing media yang mengandung 0,5% glukosa. Plastik steril

yang telah dipreparasi sebelumnya dimasukkan ke dalam media kultivasi hingga keseluruhan terendam dalam media. Selanjutnya ditutup menggunakan *plastic wrap* dan diinkubasi pada inkubator shaker 150 rpm pada suhu 30°C selama 53 hari. Setelah masa inkubasi selesai, plastik LDPE diambil, dicuci, dan dikeringkan pada suhu 60°C kemudian ditimbang untuk mengetahui berat akhir plastik setelah mengalami biodegradasi dan dihitung persentase degradasi plastik dengan menggunakan persamaan: (Amaliya, 2019; Riandi, 2017):

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

3.5.9 Identifikasi Analisis Gugus Fungsi Menggunakan FTIR

Identifikasi FTIR dilakukan dengan cara memotong sampel plastik dengan ukuran 2 x 2 cm, kemudian dimasukkan ke dalam instrumen FTIR dan disesuaikan dengan spektrum yang ada. Selanjutnya dilakukan pengambilan data spektrum IR dengan komputer (Satriawan, et al., 2017).

3.5.10 Analisis Data

Data yang dihasilkan dari uji morfologi dan biokimia dibentuk dalam tabel dan digunakan untuk menentukan spesies bakteri berdasarkan buku *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Selanjutnya dianalisis menggunakan program Multivariate Statistical Package (MVSP). Menentukan similaritas antara isolat-isolat menggunakan *Simple Matching Coefficient*. Pengelompokan dilakukan dengan algoritma UPGMA dan hasilnya disajikan dalam bentuk dendrogram (Sembiring, 2002).

Hasil identifikasi FTIR dianalisis secara deskriptif dengan penyajian data hasil yang didapatkan dan dibandingkan dengan referensi literatur.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Plastik merupakan salah satu limbah yang sering digunakan dalam kehidupan sehari-hari. Salah satu komponen utama penyusun plastik adalah LDPE (*Low Density Polyethyene*) yang sifatnya sulit terurai dengan sendirinya. Penguraian LDPE di alam melibatkan peran mikroorganisme, salah satunya adalah bakteri. Bakteri ini banyak diisolasi dari area penimbunan sampah plastik karena memiliki potensi yang besar ditemukannya bakteri pendegradasi plastik. Identifikasi bakteri dilakukan secara fenotip dan dianalisis berdasarkan pedoman *Bergeys Manual of Determination Bacteriology* untuk mengetahui spesifikasi bakteri pendegradasi plastik.

4.1 Isolasi Bakteri Pendegradasi Plastik LDPE

Sampel tanah yang digunakan untuk isolasi bakteri diambil dari TPA Jl. Kipas Kota Malang. Pengambilan sampel tanah dilakukan dari tiga titik yang berbeda, titik sampling ini dipilih berdasarkan kedalaman dan kepadatan timbunan sampah plastik. Hal ini dikarenakan tanah dengan timbunan plastik yang padat lebih banyak untuk mendapatkan bakteri pendegradasi plastik yang memanfaatkan plastik sebagai sumber makanan utama. Pengukuran suhu dan pH dilakukan untuk mengetahui karakter tanah media tumbuh bakteri. Hasil pengukuran suhu dan pH disajikan pada Tabel 4.1 dibawah ini:

Tabel 4.1 Suhu dan pH sampel tanah

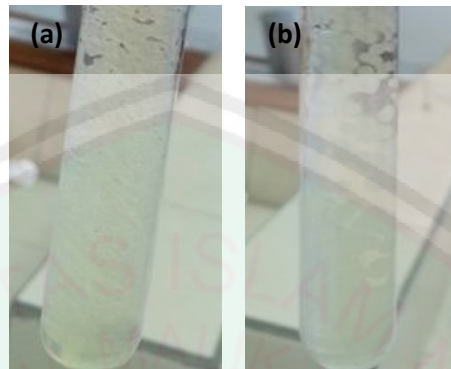
Titik Sampling	Suhu (°C)	pH
1	32	6
2	30	6
3	36	6

Media yang digunakan untuk isolasi bakteri pendegradasi plastik adalah media MSM (*mineral salt medium*) yang memiliki kandungan karbon minimal. Isolasi dilakukan dengan mensuspensikan sampel tanah ke dalam media MSM dengan kandungan glukosa 1%. Kemudian dimasukkan plastik LDPE yang berfungsi sebagai substrat guna mendapatkan isolat bakteri yang memanfaatkan plastik LDPE sebagai sumber karbon. Hasil suspensi diinkubasi selama 7 hari untuk memastikan spesies yang tumbuh merupakan spesies pendegradasi LDPE.

Plastik yang telah disuspensikan diambil dan diencerkan dengan aquades. Kultur cair yang didapatkan, diencerkan sebanyak 14 kali (10^{-14}) untuk mengurangi kepadatan koloni. Masing-masing pengenceran dipindahkan ke dalam media agar melalui metode tuang (*pour plate*) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Purifikasi isolat bakteri dilakukan dengan metode streak sebanyak tiga kali tahap pemurnian. Kemudian dilakukan pengamatan morfologi koloni masing-masing isolat bakteri, meliputi bentuk, tepi, elevasi dan warna koloni. Koloni tersebut kemudian dimurnikan dengan metode *streak kuadran* pada media agar miring dan digunakan sebagai stok isolat untuk uji selanjutnya.

Berdasarkan hasil isolasi didapatkan dua jenis isolat bakteri berbeda yang diberi kode nama PDB1 dan PDB2, kemudian dilakukan pengamatan morfologi meliputi bentuk, elevasi, tepian dan warna koloni. Isolat PDB1 mempunyai bentuk dan tepian yang berfilamen, elevasi rata dengan media, ukuran kecil dan

warna koloni krem, sedangkan isolat PDB2 mempunyai bentuk bulat, tepian rata, elevasi yang rata dengan media, ukuran sedang dan warna koloni krem, seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.1 dibawah ini:

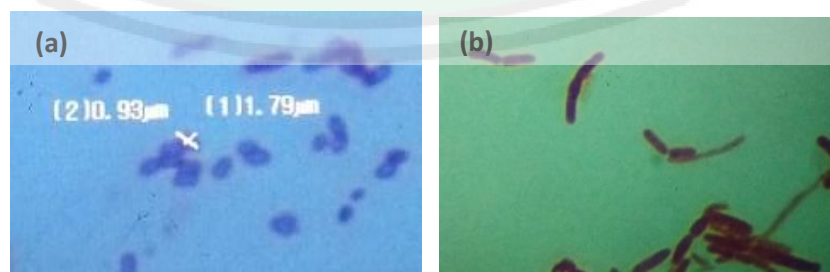


Gambar 4.1 Hasil Isolasi (a) Isolat PDB1 (b) Isolat PDB2

4.2 Identifikasi Fenotip Bakteri

4.2.1 Pewarnaan Gram

Uji pewarnaan Gram dilakukan untuk mengetahui karakter isolat berdasarkan perbedaan struktur dinding sel bakteri Gram positif dan Gram negatif. Bakteri Gram positif akan mempertahankan zat warna kristal violet, sehingga tampak berwarna ungu tua di bawah mikroskop. Sedangkan bakteri Gram negatif mengikat zat safranin yang terserap pada dinding sel, sehingga tampak berwarna merah di bawah mikroskop.



Gambar 4.2 Hasil uji pewarnaan Gram di bawah perbesaran 1000x
(a) isolat bakteri PDB1 (b) isolat bakteri PDB2

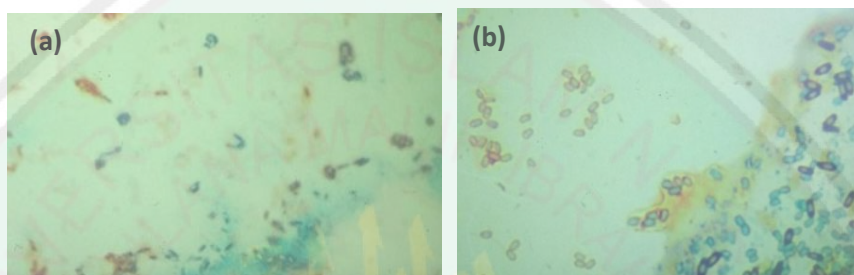
Tabel 4.2 Hasil uji pewarnaan Gram

No.	Bakteri	Gram	Bentuk
1.	PDB1	Positif	Basil
2.	PDB2	Positif	Basil

Hasil uji pewarnaan Gram yang ditunjukkan pada Gambar 4.6 dan Tabel 4.1 diatas menunjukkan bahwa isolat bakteri PDB1 bersifat Gram positif dan berbentuk basil dengan ditandai dengan warna ungu, dan isolat bakteri PDB2 bersifat Gram positif dan basil dengan ditandai warna ungu kemerahan. Keduanya merupakan gram positif yang memiliki warna ungu meskipun dari hasil pengamatan terlihat berbeda. Perbedaan warna ini disebabkan oleh perbedaan dalam struktur kimiawi dinding selnya. Setiap spesies bakteri memiliki karakteristik dinding sel yang berbeda, sehingga pada bakteri gram positif kemampuan dinding selnya dalam mempertahankan zat warna kristal violet (ungu) berbeda. Menurut Ferdiaz (1989), pada saat proses pewarnaan, bakteri gram negatif lebih konstan sedangkan bakteri gram positif sering berubah sifat pewarnaannya sehingga akan tampak warna yang berbeda atau biasa disebut dengan gram *variable* (terlihat campuran sel merah muda dan ungu). Pada kultur *Bacillus*, *Butyrivibrio* dan *Clostridium*, penurunan ketebalan peptidoglikan selama pertumbuhan bertepatan dengan jumlah sel yang mewarnai gram positif. Secara umum, hasil pewarnaan bakteri gram positif terlihat warna ungu tua. Namun pada isolat bakteri PDB2 terlihat berwarna ungu kemerahan, hal ini dimungkinkan adanya penurunan ketebalan peptidoglikan (komponen utama dinding sel bakteri) selama pertumbuhan.

4.2.2 Pewarnaan Endospora

Pewarnaan endospora bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menghasilkan endospora. Spora akan berwarna hijau, sedangkan sel vegetatif akan berwarna merah ketika dilihat dengan mikroskop. Uji pewarnaan endospora menggunakan reagen *malachite green* yang berfungsi untuk mewarnai endospora yang ada di dalam sel bakteri.



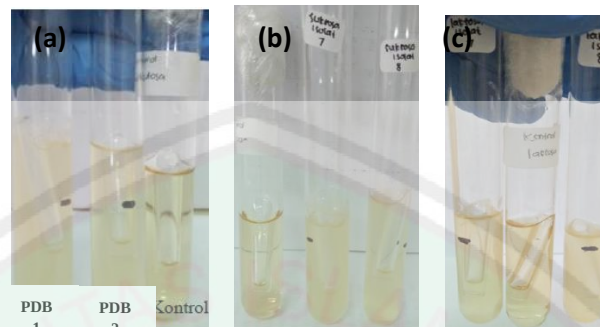
Gambar 4.3 Hasil pewarnaan endospora dibawah perbesaran 1000x
(a) isolat bakteri PDB1 (b) isolat bakteri PDB2

Hasil pewarnaan endospora yang ditunjukkan pada Gambar 4.2 diatas menunjukkan bahwa kedua isolat bakteri mampu menghasilkan endospora yang ditunjukkan dengan warna hijau pada endospora dan warna merah pada sel vegetatifnya. Pembentukan endospora biasanya dipicu oleh kekurangan nutrisi dan biasanya terjadi pada gram positif. Menurut Hadioetomo (1993), jenis-jenis bakteri utama yang membentuk endospora tergolong dalam genus *Bacillus* dan *Clostridium*.

4.2.3 Uji Fermentasi Karbohidrat

Uji fermentasi karbohidrat dilakukan untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri dalam memfermentasi karbohidrat dan memproduksi CO₂. Uji fermentasi karbohidrat meliputi glukosa, sukrosa dan laktosa. Hasil positif ditandai dengan

perubahan tampilan warna yang terlihat di dalam media serta gelembung gas pada tabung durham yang menunjukkan bahwa bakteri mampu memfermentasi karbohidrat dan menghasilkan produk yang berupa asam dan CO₂.

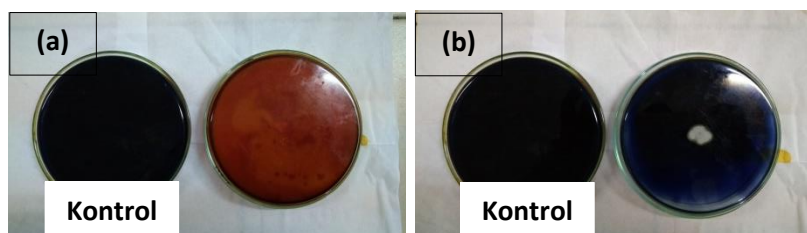


Gambar 4.4 Hasil uji fermentasi (a) glukosa (b) sukrosa (c) laktosa

Berdasarkan Gambar 4.4 diatas dapat diketahui bahwa isolat PDB1 dan PDB2 mampu memfermentasi tiga jenis karbohidrat yang diberikan. Hal ini dibuktikan dengan adanya perubahan warna pada media dari merah menjadi kuning keruh dan terbentuknya gelembung gas pada tabung durham. Hasil fermentasi karbohidrat ini digunakan oleh bakteri sebagai sumber energi. Bakteri dapat langsung memfermentasi glukosa, sedangkan pada sukrosa dan laktosa terlebih dahulu diubah menjadi monosakarida.

4.2.4 Hidrolisis Pati

Uji hidrolisis pati ini digunakan untuk melihat kemampuan bakteri dalam menghidrolisis pati dengan adanya enzim amilase yang dihasilkan. Pada uji ini digunakan larutan iodin sebagai indikator adanya pemecahan pati menjadi monomer yang lebih sederhana dalam bentuk glukosa, dekstrosa, fruktosa atau maltosa yang dihasilkan dari proses hidrolisis substrat oleh enzim α -amilase (Adnan, et al., 2017).

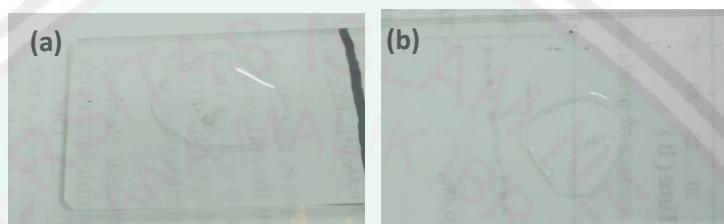


Gambar 4.5 Hasil uji hidrolisis pati
(a) isolat bakteri PDB1 (b) isolat bakteri PDB2

Hasil uji menunjukkan bahwa kedua isolat bakteri PDB1 dan PDB2 menghasilkan enzim α -amilase. Hasil positif pada isolat PDB1 ditandai dengan adanya perubahan warna menjadi coklat setelah ditetesi dengan larutan iodin. Hasil positif pada isolat PDB2 ditandai dengan terbentuknya zona bening yang muncul setelah penambahan larutan iodin. Perubahan warna coklat tersebut merupakan hasil hidrolisis parsial pati menjadi oligomernya yaitu dekstrin oleh enzim α -amilase (Zufahair, 2012). Terbentuknya zona bening pada isolat PDB2 disebabkan pati yang ditumbuhi bakteri sudah terhidrolisis oleh enzim α -amilase menjadi glukosa. Menurut Adnan, et.al (2017), hidrolisis pati oleh bakteri terjadi karena sumber karbon dibutuhkan bagi pertumbuhannya, sehingga menghasilkan enzim amilase ekstraselular yang memecah ikatan polimer pati menjadi senyawa yang lebih sederhana. Identifikasi diperkuat dengan penggunaan larutan iodin untuk mewarnai amilosa yang menunjukkan warna biru gelap yang terjadi karena pembentukan kompleks. Kompleks tersebut terjadi akibat amilosa membentuk kumparan heliks disekeliling molekul iodin. Apabila polimer amilosa terputus menjadi lebih pendek maka terjadi perubahan ikatan kompleks dengan iodin sehingga warna menjadi lebih muda, merah atau coklat.

4.2.5 Uji Katalase

Uji katalase digunakan untuk mengidentifikasi bakteri yang menghasilkan enzim katalase yang digunakan untuk memecah hidrogen peroksida (H_2O_2) yang terbentuk dari proses aerob dan bersifat toksik pada bakteri, menjadi dihidrogen oksida (H_2O) dan oksigen (O_2). Hasil positif dari uji katalase apabila terbentuknya gelembung gas.



Gambar 4.6 Hasil uji katalase (a) isolat bakteri PDB1
(b) isolat bakteri PDB2

Hasil uji katalase yang ditunjukkan pada Gambar 4.6 menunjukkan bahwa hasil positif pada kedua isolat dengan terbentuknya gelembung udara. Pembentukan gelembung udara menunjukkan bahwa adanya gas O_2 hasil dari penguraian H_2O_2 oleh enzim katalase. Hidrogen peroksida (H_2O_2) merupakan senyawa yang terbentuk saat metabolisme aerob, sehingga bakteri yang bersifat aerob pasti menguraikan senyawa tersebut. Reaksi penguraian H_2O_2 terjadi sebagai berikut:

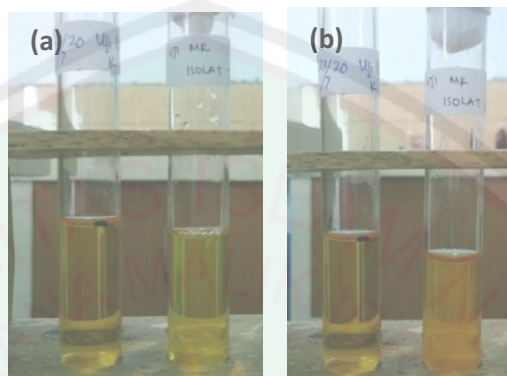


(Pelczar, 2008)

4.2.6 Uji MR (*Methyl Red*)

Uji *Methyl Red* digunakan untuk mengetahui kemampuan organisme dalam memproduksi dan mempertahankan produk akhir asam stabil dari

fermentasi glukosa. Beberapa bakteri menghasilkan beberapa produk yang bersifat asam, sehingga dapat menurunkan pH media pertumbuhan menjadi 5,0. *Methyl Red* adalah indikator pH dengan hasil positif berwarna merah yang menunjukkan perubahan pH menjadi asam (Wahyuni, et al., 2018).

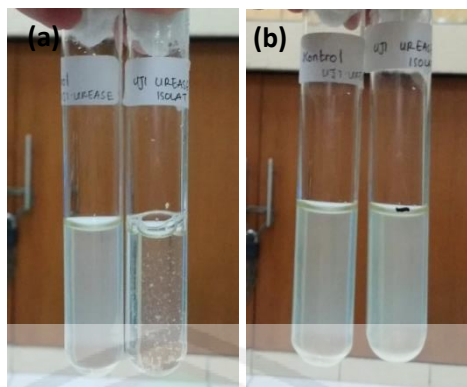


Gambar 4.7 Hasil uji *methyl red* (MR)
(a) isolat bakteri PDB1 (b) isolat bakteri PDB2

Hasil uji MR pada Gambar 4.7 diatas, menunjukkan bahwa isolat PDB1 negatif dengan tidak adanya perubahan warna, sedangkan hasil positif pada isolat PDB2 dengan adanya perubahan warna menjadi kemerahan. Perubahan warna tersebut menunjukkan suasana asam, sedangkan warna tetap kuning menunjukkan suasana basa.

4.2.7 Uji Urease

Uji urease digunakan untuk mengetahui kemampuan mikroorganisme dalam mendegradasi urea dengan menghasilkan enzim urease. Reaksi positif ditandai dengan perubahan warna medium menjadi merah muda.



Gambar 4.8 Hasil uji urease (a) isolat bakteri PDB1 (b) isolat bakteri PDB2

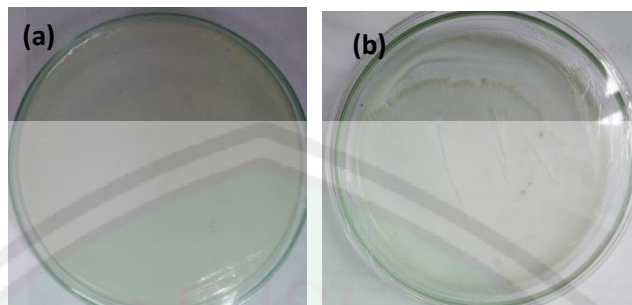
Berdasarkan gambar diatas ditunjukkan bahwa hasil uji aktivitas enzim urease oleh isolat PDB1 dan PDB2 adalah negatif. Pada uji urease oleh isolat PDB1 menghasilkan perubahan menjadi tak berwarna, Hal ini dimungkinkan adanya inhibitor yang mengganggu reaksi degradasi urea dengan indikator *phenol red*, sehingga NH_3 tidak dapat dideteksi. Sedangkan pada isolat PDB2 dihasilkan negatif karena tidak ada perubahan warna yang terjadi.

Urease merupakan enzim yang menghidrolisis urea menjadi karbondioksida dan ammonia. Ammonia yang dihasilkan akan meningkatkan pH medium menjadi semakin basa. Dengan adanya indikator *phenol red*, hasil positif dari uji urease akan menunjukkan adanya perubahan warna menjadi merah yang disebabkan pH media semakin basa.

4.2.8 Uji Hidrolisis Kasein

Uji hidrolisis kasein digunakan untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri dalam menghasilkan enzim protease. Pada uji ini digunakan kasein untuk hidrolisis substrat yang terkandung dalam media padat oleh enzim protease. Kasein merupakan protein susu yang terdiri dari fosfoprotein yang berikatan dengan kalsium membentuk garam kalsium yang disebut kalsium kalsinat.

Suspensi ini berwarna putih dan mampu diamati secara langsung saat disuspensikan ke dalam media padat (Adnan, et al., 2017).



Gambar 4.9 Hasil uji hidrolisis kasein
(a) isolat bakteri PDB1 (b) isolat bakteri PDB2

Hasil uji menunjukkan bahwa hasil negatif pada isolat PDB1 dan positif pada isolat PDB2 yang mampu menghidrolisis kasein agar dapat berdifusi ke dalam sel bakteri. Menurut Adnan, et.al (2017), zona bening yang terbentuk merupakan tanda hilangnya partikel kasein pada media. Adanya enzim proteolitik ekstraselular bakteri, kasein terhidrolisis menjadi peptida-peptida dan asam amino, sehingga menyebabkan perubahan warna dari putih kecoklatan menjadi tidak berwarna.

4.2.9 Uji Hidrolisis Gelatin

Uji hidrolisis gelatin dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam mengubah struktur protein gelatin menjadi monomer penyusunnya. Reaksi positif ditunjukkan dengan perubahan fisik gelatin dimana gelatin yang telah mengalami hidrolisis akan tetap mencair pada suhu rendah, sedangkan hasil negatif gelatin membeku pada suhu rendah.

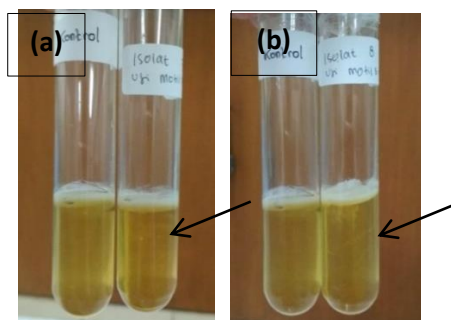


Gambar 4.10 Hasil uji gelatin

Berdasarkan Gambar 4.10 ditunjukkan bahwa kedua isolat mampu menghidrolisis gelatin yang ditandai dengan media nutrient gelatin yang tetap berwujud cair pada saat diinkubasi pada suhu 10°C selama 30 menit. Perubahan wujud gelatin ini dikatalisis oleh enzim gelatinase yang disekresi oleh bakteri. Struktur kuarterner gelatin yang terdiri dari asam aspartat, arginine, alanine, glisin, prolin, hidroksi prolin, asam glutamat dan asam amino yang lain akan dirombak oleh enzim gelatinase.

4.2.10 Motil

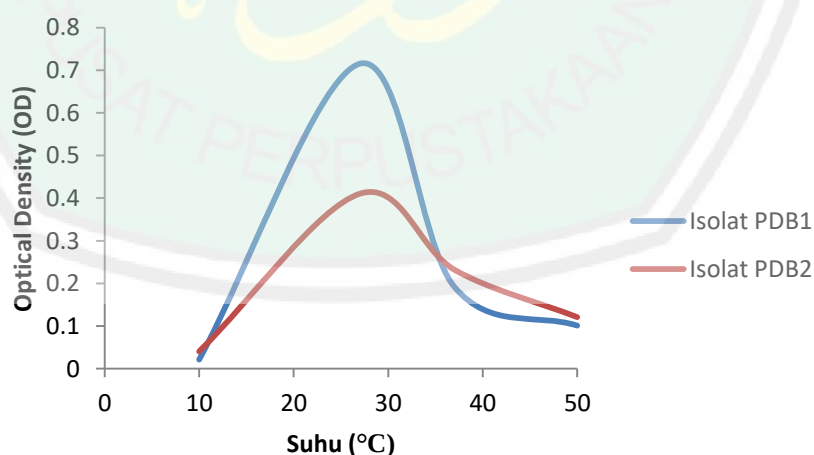
Uji motil digunakan untuk menentukan pergerakan bakteri atau organisme yang berflagella. Metode yang digunakan dalam uji ini adalah tusukan ke dalam media semi padat untuk mempersulit pergerakan bakteri. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya penyebaran warna putih disekitar inokulasi yang menunjukkan bahwa bakteri berflagella (Pattuju, 2014). Hasil uji yang didapatkan yaitu positif pada pada isolat PDB1 dan PDB2 yang ditandai dengan adanya penyebaran berwarna putih disekitar inokulasi seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.11 dibawah ini:



Gambar 4.11 Hasil uji motil
(a) isolat bakteri PDB1 (b) isolat bakteri PDB2

4.2.11 Suhu

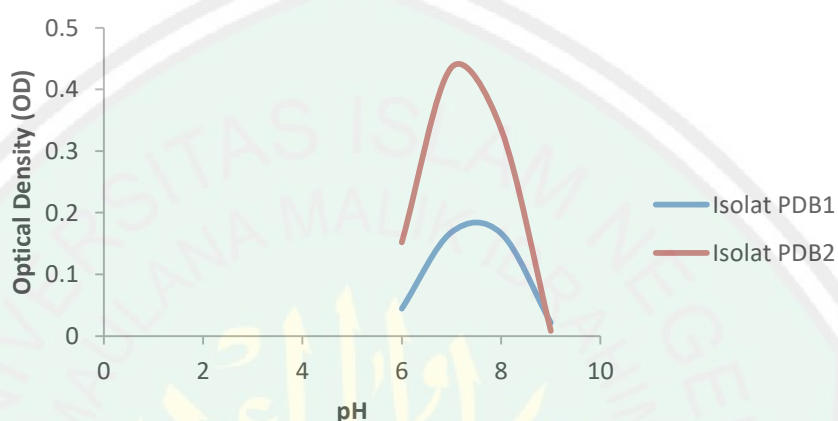
Uji pertumbuhan bakteri menggunakan variasi suhu dilakukan untuk mengetahui suhu optimum yang dibutuhkan sel bakteri untuk berkembang biak. Uji ini dilakukan dengan menggunakan media kultur cair yang diinkubasi dalam empat suhu yang berbeda yaitu suhu 10, 27, 37 dan 50°C. Masing-masing kultur kemudian diukur nilai kekeruhan (*optical density*) menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Berdasarkan Gambar 4.12 dapat diketahui bahwa kedua isolat tumbuh secara optimal pada suhu 27°C.



Gambar 4.12 Pertumbuhan optimum isolat bakteri pada variasi suhu

4.2.12 pH

Untuk mengetahui pH optimum dalam bakteri dengan perhitungan kuantitas sel bakteri pada kultur cair menggunakan nilai kekeruhan. Pada uji ini menggunakan variasi pH 6, 7, 8 dan 9. Nilai pH mempengaruhi pertumbuhan bakteri.



Gambar 4.13 Pertumbuhan optimum isolat bakteri pada variasi pH

Berdasarkan Gambar 4.13 diatas menunjukkan bahwa pH optimum pertumbuhan bakteri isolat PDB1 dan PDB2 terdapat pada pH 7. Menurut Hamdiyanti, Y. (2019), rentang pH bagi pertumbuhan bakteri antara 4 – 9 dengan pH optimum 6,5 – 7,5.

4.2.13 Identifikasi secara Manual menggunakan buku pedoman *Bergey's*

***Manual of Determinative Bacteriology* dan Klasifikasi Fenotip dengan Program MVSP (Multivariate Statistical Package)**

Identifikasi bakteri isolat PDB1 dan PDB2 dilakukan berdasarkan nilai similaritas karakteristik pada buku pedoman *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Teknik identifikasi ini merupakan teknik secara konvensional yaitu

membandingkan bakteri yang sedang diidentifikasi dengan bakteri yang telah teridentifikasi sebelumnya. Salah satu teknik secara konvensional yaitu menggunakan metode taksonomi numerik yang merupakan proses penataan organisme ke dalam suatu kelompok (takson) berdasarkan hubungan kemiripan (nilai similaritas) secara kuantitatif. Prinsip dasar dalam taksonomi numerik adalah taksonomi yang menggunakan sebanyak-banyaknya karakter biologis suatu organisme. Semakin banyak karakteristik yang ada maka akan dihasilkan pengelompokan yang bersifat teliti dan padat informasi.

Nilai similaritas didapatkan dari perbandingan persamaan karakteristik taksonomi yang dimiliki oleh masing-masing takson. Karakteristik tersebut meliputi karakter morfologi, fisiologi dan biokimia. Semakin banyak jumlah karakter yang mirip antara dua takson yang dibandingkan, semakin dekat hubungan kekerabatannya. Hasil perbandingan antara karakter yang mirip dengan semua karakter yang digunakan berupa nilai rata-rata kemiripan dan digunakan untuk membuat dendogram (Lartillot & Phillippe, 2008).

Prosedur kerja taksonomi numerik yaitu memasukkan data ke dalam matriks $t \times n$ dengan t adalah karakteristik dan n adalah isolat. Data tersebut dimasukkan ke dalam Excel. Selanjutnya mengedit data dengan mengubah simbol (+) menjadi 1, sedangkan simbol (-) menjadi 0. Data tersebut dianalisis menggunakan program MVSP dengan fungsi similaritas *Simple Matching Coefficient*. Tahap penggabungan kluster ditentukan dengan beberapa ukuran similaritas antar kluster menggunakan metode UPGMA (Hamzah et al., 2007). Hasil taksonomi numerik ditunjukkan pada Tabel 4.3 dibawah ini:

Tabel 4.3 Hasil Uji Fenotip dengan pedoman *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*

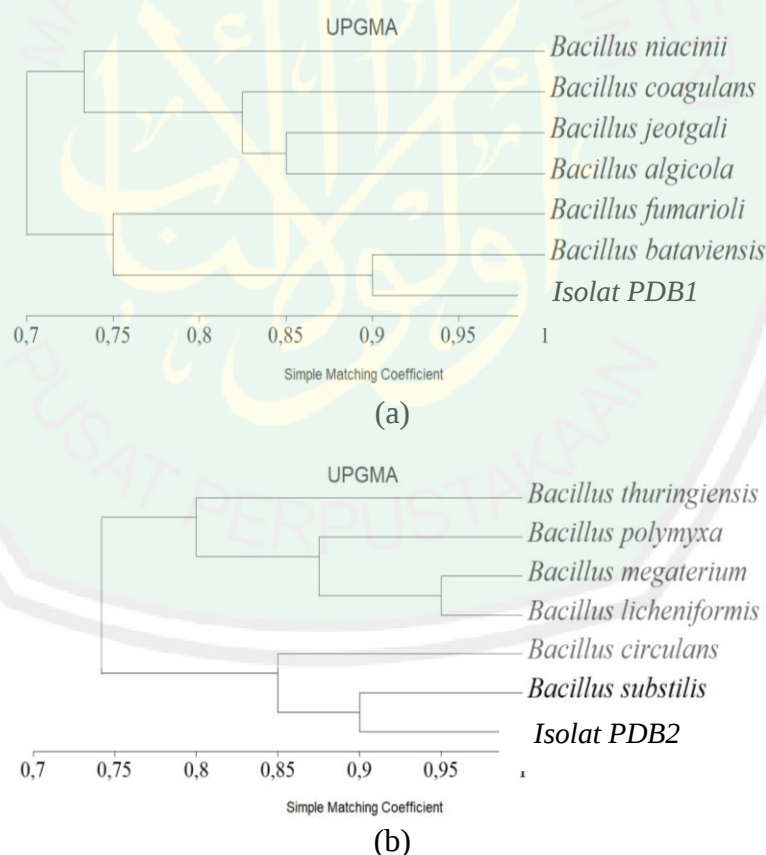
No.	Identifikasi Bakteri	Isolat PDB1	Isolat PDB2	<i>Bergey's Manual of Determination Bacteriology</i>	
				<i>Bacillus bataviensis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
1.	Bentuk Sel	Basil	Basil	Basil	Basil
2.	Gram	+	+	+	+
3.	Endospora	+	+	+	+
4.	Panjang sel	1,79 μm	2,03 μm	0,7 – 1,2 μm	1,0 – 2,0 μm
5.	Diameter Sel	0,93 μm	1,33 μm	0,5 – 1,0 μm	0,5 – 1,0 μm
6.	Katalase	+	+	+	+
7.	MR	–	+	D	D
8.	Urease	–	–	–	–
9.	Hidrolisis Pati	+	+	W	+
10.	Hidrolisis Kasein	–	+	–	+
11.	Hidrolisis gelatin	+	+	+	+
12.	Fermentasi karbohidrat				
	Glukosa	+	+	+	+
	Sukrosa	+	+	+	+
	Laktosa	+	+	+	+
13.	Motil	+	+	+	+
14.	Suhu ($^{\circ}\text{C}$)				
	10	+	+	–	+
	27	+	+	+	+
	37	+	+	+	+
	50	+	+	+	+
15.	pH				
	6	+	+	+	+
	7	+	+	+	+
	8	+	+	+	+
	9	+	+	+	D

Ket : d = occasionally strain difference ; w= weak

Pembacaan didalam buku pedoman *Bergeys Manual of Determinative Bacteriology* didasarkan dari hasil uji-uji fenotip yang tersaji. Hasil uji pada isolat PDB1 dan PDB2 yang paling dasar untuk mencari kemiripan bakteri di dalam buku pedoman adalah pewarnaan gram, pembentukan endospora, hidrolisis pati,

hidrolisisi kasein dan hidrolisis gelatin. Didalam buku pedoman Bergeys ada 4 simbol untuk menyajikan hasil karakterisasi bakteri, antara lain: (+) *positive*; (-) *negative*; (w) *weak*; dan (d) *different strain give different reaction*. Dimana simbol (w) menyatakan bahwa dalam uji tersebut positif tetapi kemampuannya lemah, sedangkan untuk simbol (d) menyatakan bahwa hasil uji tersebut bisa menunjukkan hasil yang positif atau negatif.

Berdasarkan data hasil karakterisasi diatas dilakukan perhitungan nilai similaritas antar isolat. Hasil identifikasi isolat PDB1 dan PDB2 dari hasil nilai similaritas dilakukan konstruksi dendogram dengan menggunakan algoritma UPGMA pada program MVSP ditunjukkan pada Gambar 4.14 dibawah ini:



Gambar 4.14 Dendogram yang menunjukkan hubungan antar bakteri dengan tipe strain berdasarkan indeks similaritas menggunakan *Simple Matching Coefficient* (a) Isolot PDB1 (b) Isolot PDB2

Tabel 4.4 Matriks similaritas *Simple Matching Coefficient* Isolat PDB1

	Bakteri	Similaritas
1	<i>Bacillus bataviensis</i>	94%
2	<i>Bacillus fumarioli</i>	89%
3	<i>Bacillus algicola</i>	86%
4	<i>Bacillus jeotgali</i>	82%
5	<i>Bacillus coagulans</i>	78%
6	<i>Bacillus niacinii</i>	77%

Tabel 4.5 Matriks similaritas *Simple Matching Coefficient* Isolat PDB2

	Bakteri	Similaritas
1	<i>Bacillus substilis</i>	96%
2	<i>Bacillus circulans</i>	94%
3	<i>Bacillus licheniformis</i>	91%
4	<i>Bacillus megaterium</i>	91%
5	<i>Bacillus polymyxa</i>	86%
6	<i>Bacillus thuringiensis</i>	79%

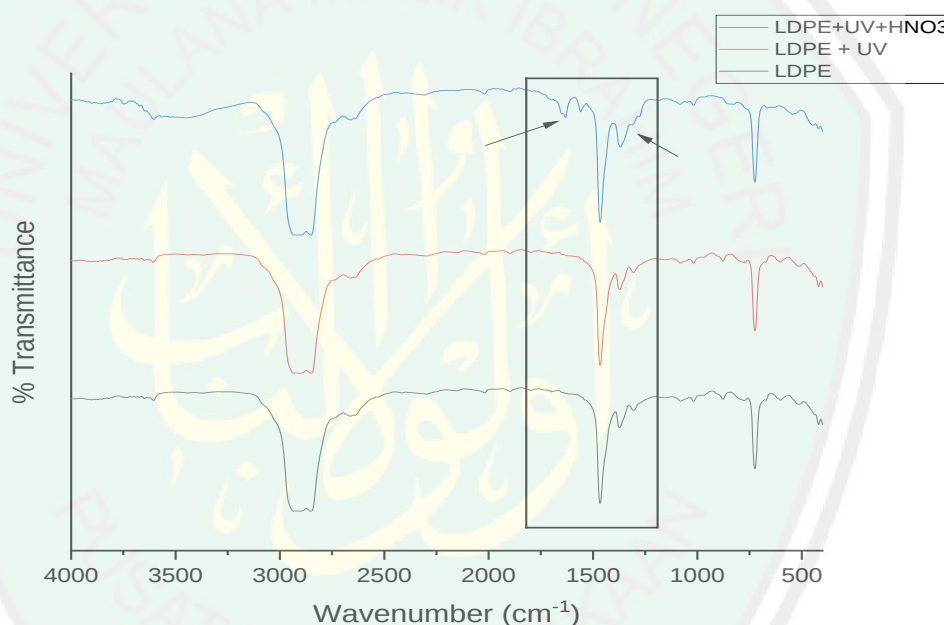
Hasil analisis kluster dengan metode *Simple Matching Coefficient* pada Tabel 4.4 menunjukkan bahwa isolat yang memiliki hubungan kekerabatan paling dekat yaitu isolat PDB1 dan *Bacillus bataviensis* dengan nilai similaritas 94%, sedangkan pada Tabel 4.5 bahwa isolat PDB2 dan *Bacillus substilis* memiliki hubungan kekerabatan paling dekat dengan nilai similaritas 96%.

4.3 Treatment Plastik LDPE

Treatment plastik ini dilakukan dengan tujuan untuk mempermudah proses degradasi. Dengan *treatment* ini dicurigai mampu mengubah permukaan plastik LPDE, sehingga dapat membantu mempercepat proses degradasi oleh bakteri. *Treatment* yang dilakukan adalah fisikokimia yaitu penyinaran UV dan

perendaman dengan larutan asam nitrat 65%. Setiap perubahan pada *treatment* yang dilakukan, dibuktikan dengan adanya perubahan puncak pada spektra FTIR.

Setelah *treatment* penyinaran UV dan perendaman asam nitrat 65% dapat dilihat dari spektra IR pada Gambar 4.12 bahwa terdapat puncak baru yang muncul pada bilangan gelombang 1637 dan 1557 cm^{-1} yang menunjukkan vibrasi ulur dari gugus karbonil ($\text{C}=\text{O}$) yang dapat dikarakterisasikan disini seperti asam, aldehid, keton, amida, ester dan anhidrida. Selain itu juga tampak perubahan puncak pada bilangan gelombang 1328 cm^{-1} yang menunjukkan C-H bending.



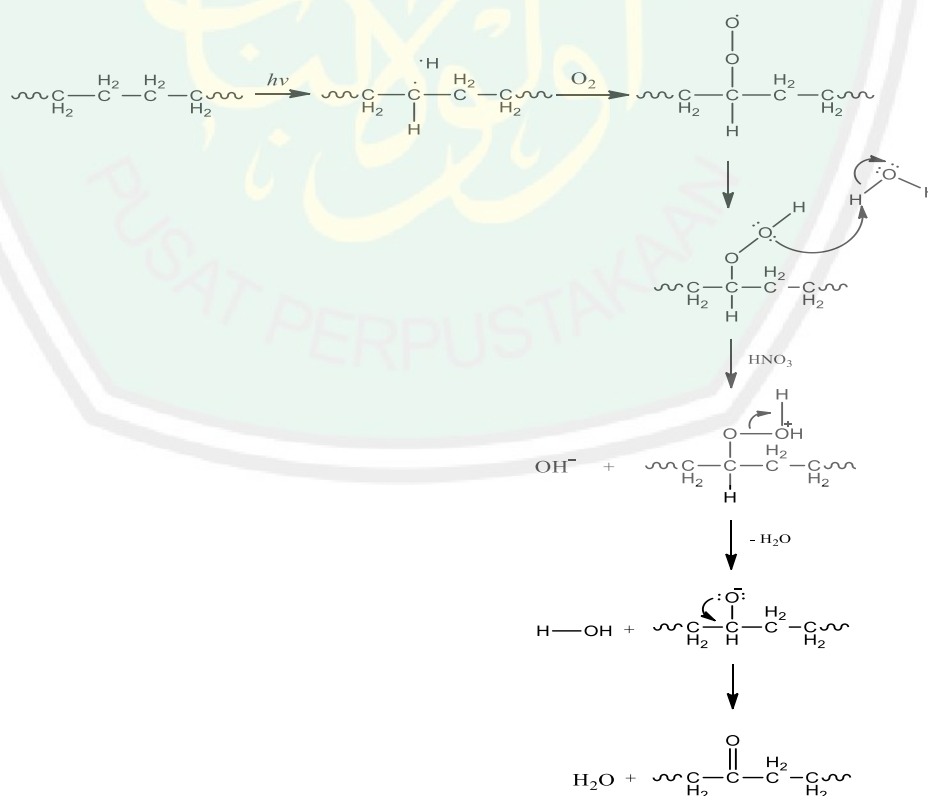
Gambar 4.15 Spektra IR dari hasil *treatment* plastik LDPE

Berdasarkan hasil FTIR diatas terlihat bahwa terdapat puncak baru yang memperlihatkan gugus karbonil. Pembentukan senyawa karbonil ini merupakan tanda oksidasi dari LDPE setelah diberi perlakuan UV dan perendaman asam, sehingga dapat membantu meningkatkan proses biodegradasi. Sinar UV dikenal sebagai inisiator oksidasi polietilen dan dapat meningkatkan proses degradasi oleh

bakteri. Sedangkan asam nitrat berperan dalam proses hidrolisis asam pada modifikasi permukaan plastik.

Hipotesis dari perlakuan fisikokimia (UV dan asam nitrat) adalah terjadinya oksidasi pada senyawa polimer yang dapat mengubah senyawa LDPE yang bersifat hidrofobik menjadi senyawa yang bersifat hidrofilik. Perlakuan fisikokimia mengubah gugus rantai utama dengan adanya gugus karbonil, sehingga terjadi oksidasi karbon pada rantai polimer. Gugus fungsional yang terbentuk akan menyebabkan sifat polimer yang awalnya hidrofobik menjadi hidrofilik, sehingga permukaan polimer dapat menyerap air dan memudahkan mikroorganisme untuk melakukan proses degradasi. Perlakuan fisikokimia pada plastik ini hanya mengubah permukaan LDPE dan tidak menurunkan berat LDPE.

Reaksi yang terjadi saat proses *treatment* UV dan asam nitrat sebagai berikut:



Oksidasi dimulai pada atom karbon tersier karena radikal bebas yang terbentuk disini lebih stabil dan tahan lama, sehingga lebih rentan terhadap serangan oksigen. Apabila terkena sinar UV, rantai polimer (C – H) akan membentuk radikal polimer (C•) yang kemudian bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksida (COO•). Dengan memisahkan hidrogen dari polimer (C – H), maka radikal peroksida akan menjadi gugus hidroperoksida (COOH) yang tidak stabil terhadap panas, asam dan sinar. Kemudian gugus hidroperoksida akan masuk ke dalam proses hidrolisis oleh asam nitrat dan menghasilkan gugus karbonil.

4.4 Uji Biodegradasi Plastik LDPE

Pengujian dilakukan untuk menentukan kemampuan isolat bakteri yang telah didapatkan dalam mendegradasi plastik. Media yang digunakan adalah media MSM *broth* dengan kandungan glukosa 0,5%. Hal ini bertujuan untuk memaksimalkan substrat LDPE sebagai sumber karbon oleh isolat bakteri. Pengamatan dilakukan setelah 53 hari masa inkubasi, didapatkan seperti yang ditunjukkan pada gambar dibawah ini:



Gambar 4.16 Penampakan uji biodegradasi oleh isolat PDB1 dan PDB2 setelah 53 hari masa inkubasi

Berdasarkan gambar diatas, dapat dilihat bahwa pada hasil uji biodegradasi lebih keruh dibandingkan kontrolnya dan sedikit menghitam dikarenakan efek dari perendaman asam pada plastik LDPE. Keruhnya media membuktikan bahwa kerapatan sel bakteri pada hasil uji biodegradasi lebih besar dan bakteri tumbuh dengan memanfaatkan plastik sebagai sumber karbonnya.

Penentuan persentase degradasi LDPE oleh kedua isolat bakteri berdasarkan *weight loss* pada plastik setelah masa inkubasi. Hasil uji biodegradasi ditunjukkan pada Tabel 4.6 dan 4.7. Analisis kemampuan biodegradasi menunjukkan bahwa isolat PDB2 lebih tinggi dibandingkan isolat PDB1 dengan nilai persen degradasi rata-rata sebesar $1,96 \pm 0.412189\%$. Pada kemampuan degradasi oleh isolat PDB1 memiliki persen degradasi rata-rata sebesar $1,53 \pm 0.740203\%$.

Tabel 4.6 Hasil uji biodegradasi oleh isolat PDB1

Isolat Bakteri	Berat awal (g)	Berat akhir (g)	Weigh loss (g)	Persen degradasi (%)
Ulangan 1	0,0133	0,0130	0,0003	2,26
Ulangan 2	0,0128	0,0127	0,0001	0,78
Ulangan 3	0,0129	0,0127	0,0002	1,55
Persen degradasi rata-rata				$1,53 \pm 0.740203$

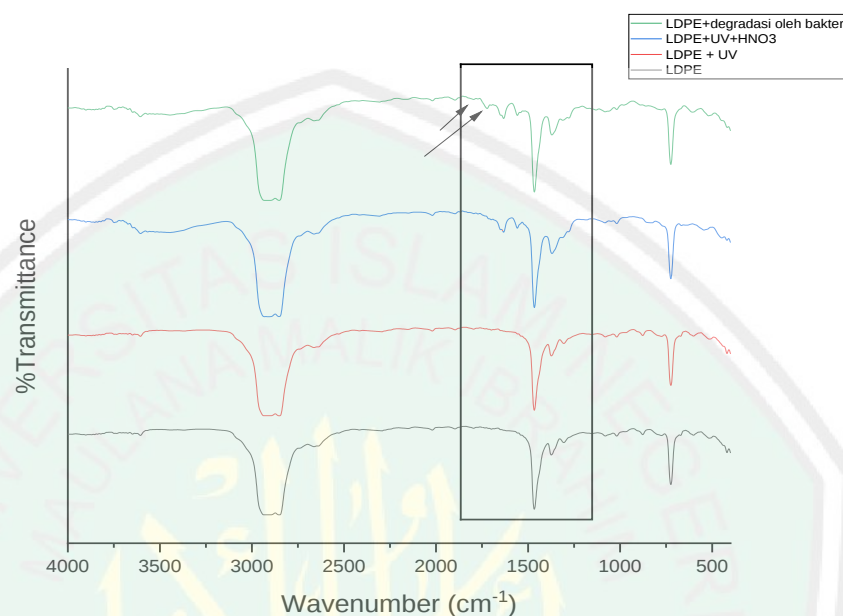
Tabel 4.7 Hasil uji biodegradasi oleh isolat PDB2

Isolat Bakteri	Berat awal (g)	Berat akhir (g)	Weigh loss (g)	Persen degradasi (%)
Ulangan 1	0,0134	0,0132	0,0002	1,49
Ulangan 2	0,0133	0,0130	0,0003	2,26
Ulangan 3	0,0141	0,0138	0,0003	2,13
Persen degradasi rata-rata				$1,96 \pm 0.412189$

Dari hasil persen degradasi diatas, kemampuan isolat bakteri yang dihasilkan dalam mendegradasi plastik LDPE termasuk kedalam aktivitas yang rendah dibandingkan penelitian-penelitian sebelumnya. Berdasarkan identifikasi dihasilkan isolat PDB1 adalah *Bacillus bataviensis* dan isolat PDB2 adalah *Bacillus substilis*. Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan pengujian degradasi LDPE menggunakan bakteri *Bacillus substilis* yang memiliki aktivitas degradasi sebesar 14% dengan lama inkubasi 1 bulan (Patil, 2018) dan 22% dengan lama inkubasi 2 bulan (Juma'ah, 2017).

Aktivitas degradasi yang rendah dikarenakan banyak faktor-faktor yang mempengaruhi pada saat proses biodegradasi, terutama faktor lingkungan yaitu kelembapan, suhu, pH dan nutrient. Faktor-faktor tersebut berpengaruh terhadap sekresi enzim oleh bakteri. Biodegradasi senyawa organik oleh bakteri memerlukan kondisi lingkungan yang sesuai dengan pertumbuhan dan perkembangbiakan bakteri. Pada penelitian ini, sebelum proses biodegradasi dilakukan *treatment* menggunakan asam nitrat terhadap plastik LDPE yang akan didegradasi. Setelah proses *treatment*, plastik tidak dicuci terlebih dahulu. Hal ini dimungkinkan dapat mempengaruhi kondisi medium menjadi lebih asam. Dalam proses degradasi pH merupakan faktor yang sangat penting karena enzim-enzim tertentu hanya akan mengurai suatu substrat pada pH tertentu. Apabila pH sesuai dengan aktivitas enzim, dapat dipastikan kerja enzim ekstraseluler dalam mendegradasi substrat lebih optimal. Islami (2019) mengatakan bahwa sebagian besar bakteri dapat tumbuh optimal pada pH 7 atau pH netral.

Setelah proses degradasi, plastik LDPE dikarakterisasi menggunakan FTIR kembali untuk membuktikan perbedaannya dengan sebelum degradasi. Hasil karakterisasi FTIR ditunjukkan pada Gambar 4.17 dibawah ini:



Gambar 4.17 Spektra IR dari Hasil Biodegradasi LDPE oleh Isolat Bakteri

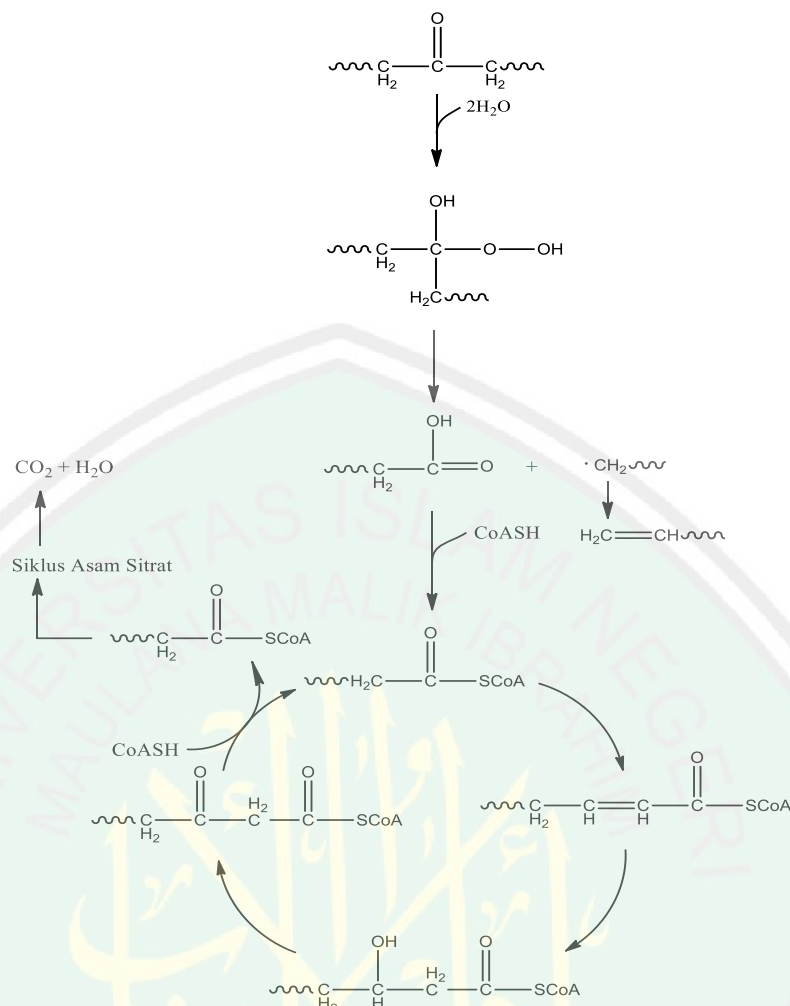
Berdasarkan spektra IR dari hasil biodegradasi LDPE diatas, dapat dilihat bahwa muncul puncak baru pada bilangan gelombang 1728 dan 1807 cm⁻¹. Dua puncak tersebut berhubungan dengan adanya gugus karbonil dan pembentukan ikatan rangkap sebagai akibat dari putusnya rantai polimer. Puncak-puncak tersebut menunjukkan kerusakan rantai polimer dan adanya produk oksidasi dari plastik LDPE. Semakin tinggi degradasi polimer plastik, semakin banyak puncak yang akan muncul dalam spektra.

Mekanisme proses degradasi LDPE dengan memanfaatkan karbon sebagai sumber energi oleh mikroorganisme. Mikroorganisme melakukan proses degradasi pada polimer plastik melalui 4 tahap, yaitu: Biodeteriorasi,

Biofragmentasi, Asimilasi dan Mineralisasi. Proses biodeteriorasi dimulai dengan bakteri menempel pada permukaan plastik yang akan digunakan sumber karbonnya sebagai sumber energi untuk pertumbuhan dan memproduksi molekul sederhana. Pertumbuhan bakteri yang meningkat menyebabkan ukuran pori dan menimbulkan keretakan pada polimer plastik, sehingga strukturnya tidak stabil. Selanjutnya proses biofragmentasi yaitu bakteri akan mensekresikan enzim untuk memotong ikatan polimer. Polimer akan terpecah menjadi campuran oligomer atau monomer. Dua jenis enzim yang terlibat dalam pemecahan polimer yaitu depolimerase ekstraseluler dan intraseluler (Badriyah, 2015).

Ikatan antar monomer dalam rantai polimer plastik adalah ikatan antar karbon-karbon yang dinamakan dengan ikatan kovalen. Degradasi polimer plastik memerlukan kompleks enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme. Kemungkinan enzim-enzim yang berperan dalam pemecahan polimer plastik menjadi monomernya adalah enzim ekstraseluler dan intraseluler yang berperan dalam hidrolisis atau pemecahan rantai karbon.

Proses selanjutnya adalah asimilasi yaitu monomer plastik akan diserap oleh bakteri dan digunakan sebagai sumber karbon dan sumber energi. Produk akhir dari metabolisme bakteri menghasilkan biomassa, CO_2 , H_2O dan CH_4 . Dan proses terakhir adalah mineralisasi yaitu produk akhir yang dikeluarkan ke lingkungan (Badriyah, 2015). Mekanisme biodegradasi plastik oleh bakteri digambarkan sebagai berikut:



Dari proses diatas, oksidasi mikroba menurunkan jumlah gugus karbonil karena pembentukan asam karboksilat. Kemudian asam karboksilat di katabolisme oleh bakteri melalui jalur sistem β -oksidasi. 2 asetil CoA-SH akan memasuki siklus asam sitrat atau TCA (*Tricarboxyl Acid*) didalam sel bakteri dan menghasilkan CO_2 dan H_2O (Montazer, et.al., 2020).

4.5 Pengolahan Sampah Plastik dalam Pandangan Islam

Manusia memiliki kebebasan dalam memanfaatkan lingkungan. Akan tetapi, dalam memanfaatkan lingkungan tersebut, manusia tidak diperbolehkan berbuat tanpa aturan, melainkan harus tetap menjamin kualitas lingkungan. Oleh karena itu, lingkungan yang kini telah mengalami berbagai kerusakan harus

diberikan upaya penanganan yang serius dalam memperbaikinya atau mencegahnya dari kerusakan yang lebih parah. Hal ini menjadi tugas manusia yang harus memperbaiki dan menjaga keseimbangan lingkungan alam. Allah berfirman dalam QS. Al-A'raf 56-58 yang berbunyi:

وَلَا تُفْسِدُوا فِي الْأَرْضِ بَعْدَ إِصْلَاحِهَا وَادْعُوهُ خَوْفًا وَطَمَعًا إِنَّ رَحْمَتَ اللَّهِ قَرِيبٌ مِّنَ الْمُحْسِنِينَ
 {٥٦} وَهُوَ الَّذِي يُرْسِلُ الرِّيَّحَ بُشْرًا بَيْنَ يَدَيْ رَحْمَتِهِ ۖ حَتَّىٰ إِذَا أَقْلَّتْ سَحَابًا ثِقَالًا سُفِنَهُ لِبَلَدٍ
 مَّيِّتٍ فَأَنْزَلْنَا بِهِ الْمَاءَ فَأَخْرَجْنَا بِهِ مِنْ كُلِّ الثَّمَرَاتِ ۚ كَذَٰلِكَ نُخْرِجُ الْمَوْتَىٰ لَعَلَّكُمْ تَذَكَّرُونَ ﴿٥٧﴾
 وَالْبَلَدُ الطَّيِّبُ يَخْرِجُ نَبَاتُهُ بِإِذْنِ رَبِّهِ ۖ وَالَّذِي خَبثَ لَا يَخْرِجُ إِلَّا نَكِدًا ۚ كَذَٰلِكَ نُصَرِّفُ الْآيَاتِ
 لِقَوْمٍ يَشْكُرُونَ ﴿٥٨﴾

Artinya: “Dan janganlah kamu membuat kerusakan di muka bumi, sesudah (Allah) memperbaikinya dan berdoalah kepada-Nya dengan rasa takut (tidak akan diterima) dan harapan (akan dikabulkan). Sesungguhnya rahmat Allah amat dekat kepada orang-orang yang berbuat baik (56) Dan Dia-lah yang meniupkan angin sebagai pembawa berita gembira sebelum kedatangan rahmat-Nya (hujan); hingga apabila angin itu telah membawa awan mendung, Kami halau ke suatu daerah yang tandus, lalu Kami turunkan hujan di daerah itu, maka Kami keluarkan dengan sebab hujan itu berbagai macam buah-buahan. Seperti itulah Kami membangkitkan orang-orang yang telah mati mudah-mudahan kamu mengambil pelajaran (57) Dan tanah yang baik, tanaman-tanamannya tumbuh subur dengan seizin Allah dan tanah yang tidak subur, tanaman-tanamannya tumbuh merana. Demikianlah Kami mengulangi tanda-tanda kebesaran (Kami) bagi orang-orang yang bersyukur (58)”

Berdasarkan ayat diatas, disebutkan dalam tafsir Al-Misbah beberapa kandungan didalamnya yaitu larangan berbuat kerusakan, serta kewajiban menjaga dan melestarikan lingkungan. Kerusakan adalah bentuk pelampauan batas. Alam raya diciptakan Allah swt untuk memenuhi kebutuhan makhluk dan memerintahkan untuk memperbaikinya. Allah mengutus para nabi untuk memperbaiki kehidupan yang kacau, sehingga merusak setelah memperbaiki lebih

buruk daripada sebelum diperbaiki (Shihab, 2013). Merusak berarti melanggar kehendak Allah SWT, memperhatikannya berarti memenuhi kehendak-Nya. Karena kedudukan manusia sebagai khalifah berarti harus memiliki perhatian dan tanggung jawab terhadap lingkungan hidup, bukan merusak.

Berdasarkan penelitian ini, pengolahan sampah plastik dengan menggunakan media bakteri adalah salah satu upaya menjaga lingkungan agar terhindar dari kerusakan. Bakteri merupakan kelompok organisme yang berukuran sangat kecil dan ditemukan di hampir semua tempat yaitu di tanah, air, udara, bahkan dalam tubuh manusia. Dengan ukurannya yang sangat kecil, bakteri tidak dapat dilihat dengan mata telanjang, sehingga untuk melihatnya kita menggunakan bantuan mikroskop. Meskipun memiliki ukuran yang sangat kecil, bakteri memiliki peranan yang sangat besar dalam kehidupan di Bumi ini. Makhluk Allah SWT terkecil ini disebutkan didalam QS. Al-Baqarah ayat 26 yang berbunyi:

إِنَّ اللَّهَ لَا يَسْتَحْيِي أَنْ يَضْرِبَ مَثَلًا مَّا بَعُوضَةً فَمَا فَوْقَهَا فَأَمَّا الَّذِينَ آمَنُوا فَيَعْلَمُونَ أَنَّهُ الْحَقُّ مِنْ رَبِّهِمْ وَأَمَّا الَّذِينَ كَفَرُوا فَيَقُولُونَ مَاذَا أَرَادَ اللَّهُ بِهَذَا مَثَلًا يُضِلُّ بِهِ كَثِيرًا وَيَهْدِي بِهِ كَثِيرًا وَمَا يُضِلُّ بِهِ إِلَّا الْفَاسِقِينَ

Artinya : “Sesungguhnya Allah tiada segan membuat perumpamaan berupa nyamuk atau **yang lebih rendah dari itu**. Adapun orang-orang yang beriman, maka mereka yakin bahwa perumpamaan itu benar dari Tuhan mereka. Dan adapun mereka yang kafir mengatakan : "Apakah maksud Allah menjadikan ini untuk perumpamaan?." dengan perumpamaan itu banyak orang yang disesatkan Allah, dan dengan perumpamaan itu (pula) banyak orang yang diberi-Nya petunjuk. Dan tidak ada yang disesatkan Allah kecuali orang-orang yang fasik.”

Berdasarkan ayat diatas, terdapat makna “yang lebih rendah dari itu”, dimana yang dimaksud adalah mikroorganisme seperti bakteri. Ibnu Katsir menafsirkan bahwa kata “yang lebih rendah dari itu” menunjukkan bahwa Allah SWT kuasa untuk menciptakan apa saja, baik yang besar maupun yang lebih kecil. Allah SWT tidak pernah menganggap remeh sesuatu pun yang Dia ciptakan meskipun sekecil apapun itu. Orang-orang yang beriman meyakini bahwa dalam perumpamaan penciptaan oleh Allah SWT memiliki manfaat bagi kehidupan manusia, seperti hal nya Dia menciptakan bakteri dengan ukuran yang kecil namun keberadaannya memiliki manfaat yang besar bagi kehidupan manusia.

Keberadaan bakteri sangat penting dalam kehidupan di muka bumi ini. Selain menciptakan sesuatu yang sangat kecil, keagungan dan kekuasaan Allah SWT juga disampaikan bahwa segala sesuatu yang diciptakan bukanlah untuk sesuatu yang sia-sia yang dijelaskan dalam QS. As-Shaad ayat 27 berbunyi:

وَمَا خَلَقْنَا السَّمَاءَ وَالْأَرْضَ وَمَا بَيْنَهُمَا بَاطِلًا ۚ ذَٰلِكَ ظَنُّ الَّذِينَ كَفَرُوا ۚ فَوَيْلٌ لِلَّذِينَ كَفَرُوا مِنَ

النَّارِ

Artinya: “Dan Kami tidak menciptakan langit dan bumi dan apa yang ada diantara keduanya dengan sia-sia. Itu anggapan orang-orang kafir, maka celakalah orang-orang kafir itu karena mereka akan masuk neraka.”

Berdasarkan ayat diatas, sungguh Allah tidak menciptakan segala sesuatu tanpa arti atau dengan sia-sia. Menurut tafsir Ibnu Katsir, Allah SWT menceritakan bahwa tidak sekali-kali Dia menciptakan makhluk-Nya dengan main-main, pasti ada manfaat dan hikmahnya. Hal ini sebagai bukti bahwa Allah SWT menciptakan bakteri yang memiliki berbagai manfaat dan berperan besar

dalam kehidupan. Seperti halnya bakteri yang berperan besar dalam pengolahan sampah plastik sebagai upaya untuk melestarikan lingkungan.



BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Hasil identifikasi bakteri secara fenotip yang dianalisis menggunakan metode *profil matching* yang mengacu pada *Bergey's Manual Determinative of Bacteriology* dan dianalisa indeks similaritas menggunakan program MVSP (*Multivariate Statistical Package*) menunjukkan bahwa bakteri isolat PDB1 termasuk dalam *Bacillus bataviensis* dengan tingkat kemiripan sebesar 94% dan bakteri isolat PDB2 termasuk dalam *Bacillus subtilis* dengan kemiripan sebesar 96%.
2. Hasil penentuan aktivitas degradasi menunjukkan bahwa isolat PDB1 memiliki aktivitas degradasi sebesar 1,53% dan isolat PDB2 memiliki aktivitas degradasi sebesar 1,96%. Analisis gugus fungsi menggunakan spektrofotometer FTIR menunjukkan bahwa plastik setelah *treatment* fisikokimia terdapat puncak baru pada bilangan gelombang 1637 dan 1557 cm^{-1} dan plastik setelah biodegradasi terdapat puncak baru pada bilangan gelombang 1728 dan 1807 cm^{-1} .

2.1 Saran

1. Perlu dilakukan optimasi kondisi lingkungan seperti pH dan suhu dalam proses uji biodegradasi agar dapat meningkatkan aktivitas degradasi terhadap plastik.
2. Perlu adanya karakterisasi hasil biodegradasi plastik menggunakan SEM untuk melihat perubahan morfologi dan topografi plastik.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdurrahman, M. 2011. *Memelihara Lingkungan dalam Ajaran Islam*. Bandung: Menteri Koordinator Bidang Perekonomian RI.
- Adnan, N. S., Wahyuni, S., & Khaeruni, A. 2017. Pengujian Sifat Amilolitik dan Proteolitik dari Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) Hasil Fermentasi Air Cucian Beras Merah (*Oryza nivara*) Kultivar Wakawondu. *Jurnal Sains dan Teknologi Pangan (JSTP)*, 2(5).
- Ainiyah, D. N., & Shovitri, M. 2014. Bakteri Tanah Sampah Pendegradasi Plastik dalam Kolom Winogradsky. *Jurnal Sains dan Seni Pomits Vol.3 No.2*.
- Al-Jailawi, M., Rasha, & Ali. 2015. Polyethylene Degradation by *Pseudomonas putida* S3A. *International Jurnal Advance Res. Biological Science* 2 (1).
- Amaliya, C. F. 2019. Uji Biodegradasi dan Identifikasi Jamur Pendegradasi Plastik LDPE Secara Genotip Menggunakan Gen ITS rDNA. *Skripsi*. UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Arifin, M. I. 2013. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Pendegradasi Senyawa Fenol dari Limbah Cair Industri Kertas.
- Cappucino, J., & Sherman, N. 2005. *Microbiology: A Laboratory Manual*. California: Benjamin/Cummings Science Publishing.
- Chasanah, E. 2018. Identifikasi Fenotip Bakteri Amilolitik dan Selulolitik dari Isolat Bekatul dengan Metode *Profile Matching* Berdasarkan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. SKRIPSI.
- Cowan, S.T. 1974. *Manual for the Identification of Medical Bacteria*. Great Britain: Cambridge University Press.
- Das, M. P., & Kumar, S. 2015. An Approach to Low Density Polyethylene Biodegradation by *Bacillus amyloliquefaciens*. *3 Biotech*, 81-86.
- Devi, R. S., Kannan, V. R., Natarajan, K., Nivas, D., Kannan, K., Chandru, S., et al. 2016. The Role of Microbes in Plastic Degradation. *Environmental Waste Management*.
- Dewi, A. K. 2013. Isolasi, Identifikasi dan Uji Sensitivitas *Staphylococcus aureus* terhadap Amoxcillin dari Sampel Susu Kambing Peranakan Ettawa (PE) Penderita Mastitis di Wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta. *Jurnal Sain Veteriner* 31 (2).
- Elyza, F., Gofar, N., & Munawar. 2015. Identifikasi dan Uji Potensi Bakteri Lipolitik dari Limbah SBE (*Spent Bleaching Earth*) sebagai Agen Bioremediasi. *Jurnal Ilmu Lingkungan*.
- Ferdiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.

- Fesseha, H., & Abebe, F. 2019. Degradation of Plastic Materials Using Microorganisms: A Review. *Public Health Open J.* 4(2).
- Ginting, S. T., Helmi, Z., Darmawi, Dewi, M., Hennivanda, Erina, et al. 2018. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Gram Negatif Pada Ambing Kambing Peranakan Etawa (PE). *JIMVET E-ISSN: 2540-9492*, 2(3).
- Gultom, E. S., Nasution, M. Y., & Ayu, A. 2017. Seleksi Bakteri Pendegradasi Plastik dari Tanah. *Jurnal Generasi Kampus Volume 10 Nomor 2*.
- Hadioetomo, R. 1993. *Mikrobiologi Dasar pada Praktek Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*. Jakarta: PT. Gramedia.
- Hadioetomo, R. 1993. *Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium Mikrobiologi*. Jakarta: Gramedia.
- Hamzah, A., Adhi S., Soesianto & Jazi E.I. 2007. Studi Komparasi Algoritma Hierarchical dan Partitional untuk Clustering Dokumen Teks Berbahasa Indonesia. *Jurnal Terakreditasi. ACADEMIA ISTA*
- Hasan, F., Shah, A. A., Hameed, A., & 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*, 105.
- Hastuti, U. S., Nugraheni, F. S., & Asna, P. M. 2017. Identifikasi dan Penentuan Indeks Hidrolisis Protein pada Bakteri Proteolitik dari Tanah Mangrove di Margomulyo, Balikpapan. *Proceeding Biology Education Conference*, 14(1).
- Hatmanti, A. 2000. Pengenalan *Bacillus* spp. *Oseana*, Volume XXV, No 1.
- Hussein, A., Khudhair, S., & Al-Mayaly, I. 2015. Optimum Conditions for LDPE Strips Biodegradation by Local Bacterial Isolates. *J. Int. Environmental Application & Science*, 10(4).
- Ilyas, R. 2016. Manusia sebagai Khalifah dalam Perspektif Islam. *Mawa'izh*, Vol. 1 No.7.
- Jambeck, J.R., et.al. 2015. Plastic Waste Inputs From Land Into The Ocean. *Science*. Vol. 347 No. 6223
- Jumaah, O. S. 2017. Screening of Plastic Degrading Bacteria from Dumped Soil Area. *IOSR Journal of Environment Science, Toxicology and Food Technology (IOSR-JESTFT)*, 93-98.
- Kunlere, I.O., Obasola E.F., & Blessing I.N. 2019. Biodegradation of Low Density Polyethylene (LDPE) by Certain Indigenous Bacteria and Fungi. *International Journal of Environemental Studies*.
- Lartillot N. & Philippe H. 2008. Improvement of Molecular Phylogenetics Inference and The Phylogeny of Bilateria. *Phil. Trans. R. Soc.*, 363.

- Mahalakshmi & Andrew, N. 2012. Assessment of Physicochemically treated plastic by fungi. *Annals of Biological Research*, 3(9).
- Malpass, D. 2010. Pengantar Polietilen Industri: Properti, Katalisator, dan Proses. ISBN 978-0-470-62598-9.
- Mestarina. 2015. Studi Morfologi Mikroba Nosokomial Asal Udara Pada Ruang Instalasi Penyakit Dalam Rumah Sakit Umum Daerah Kabupaten di Provindi Sumatera Selatan dan Pengajarannya di SMA Negeri 4 Palembang. *SKRIPSI*.
- Nourollahi, A., Khavidak, S. S., Mokhtari, M., Eslami, G., & Shiranian, M. 2018. Isolation and Identification of Low Density Polyethylene (LDPE) Biodegrading Bacteria From Waste Landfill in Yazd. *International Journal of Environmental Studies Vol. 76 No.2*, 236-250.
- Patil R.C. 2018. Screening and Characterization of Plastic Degrading Bacteria from Garbage Soil. *British Journal of Environmental Sciences*.
- Pattuju, S.M., Fatimawali, & Menampiring. 2014. Identifikasi Bakteri Resisten Merkuri pada Urine, Feses dan Kalkulus Gigi pada Individu di Kecamatan Malang Raya, Manado, Sulawesi Utara. *Jurnal e-Biomedik*, 2
- Pelczar, A.D. dan Clark, E.R. 1998. *Dasar-Dasar Mikrobiologi 2*. Jakarta: Universitas Indonesia
- Purba, E. 2010. Hidrolisis Pati Ubi Kayu (*Manihot Esculenta*) dan Pati Ubi Jalar (*Ipomonea batatas*) menjadi Glukosa secara Cold Process dengan Acid Fungal Amilase dan Glukoamilase.
- Purwaningrum, P. 2016. Upaya Mengurangi Timbunan Sampah Plastik di Lingkungan. *JTL Vol. 8 No. 2*.
- Putri, M. H., Sukini, & Yodong. 2017. *Mikrobiologi. Bahan Ajar Keperawatan Gigi*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Qodriyatun, S. N. 2018. Sampah Plastik : Dampaknya Terhadap Pariwisata dan Solusi. *Kajian Singkat Terhadap Isu Aktual dan Strategis Vol. X No. 23*.
- Rajandas, H., Paramannan, S., Sathasivam, K., Ravichandran, M., & Yin, L. S. 2012. A Novel FTIR-ATR Spectroscopy Based Technique for the Estimation of Low Density Polyethylene Biodegradation. *Polymer Testing* 31.
- Riandi, M. I., Kawuri, R., & Sudirgo, S. K. 2017. Potensi Bakteri *Pseudomonas* sp. dan *Ochrobactrum* sp. yang di Isolasi dari Berbagai Sampel Tanah dalam Mendegradasi Limbah Polimer Plastik Berbahan Dasar High Density Polyethylene (HDPE) dan Low Density Polyethylene (LDPE). *Jurnal Simbiosis V* (2).

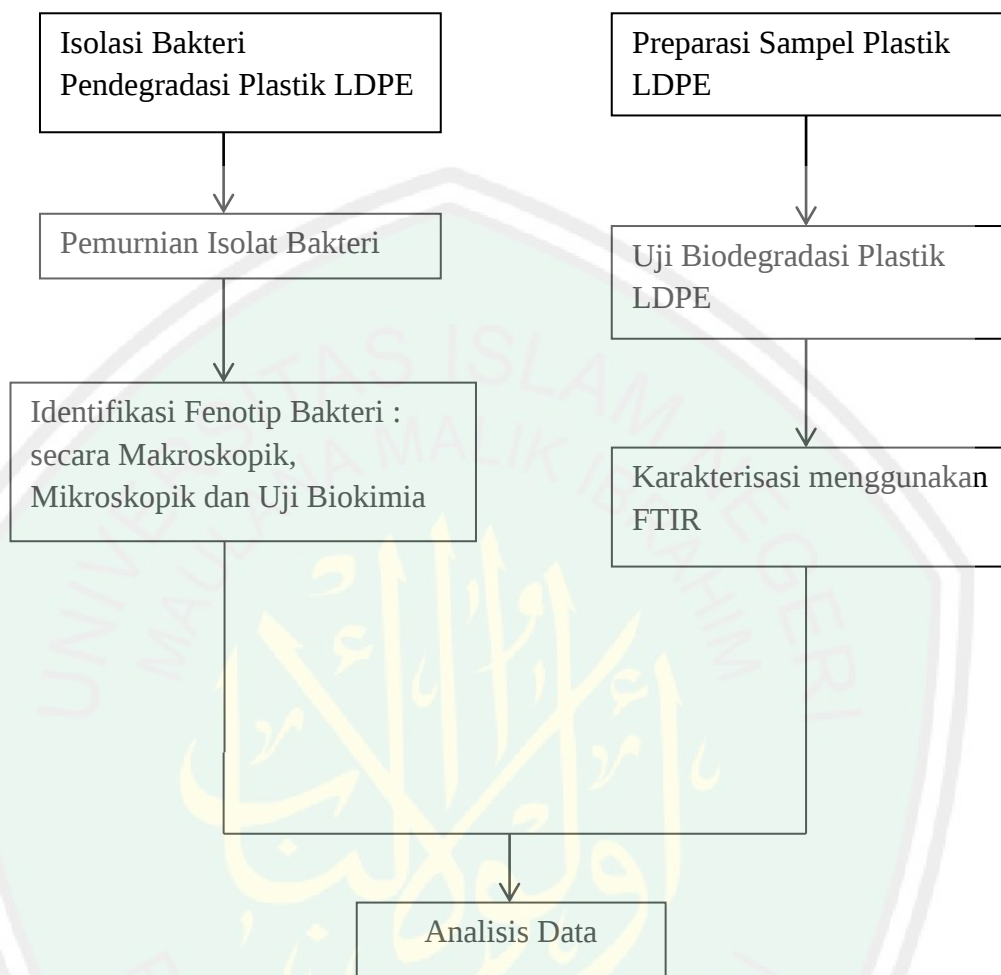
- Sabbathini, G. C., Pujiyanto, S., Wijanarka, & Lisdiyanti, P. 2017. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Genus *Sphingomonas* dari Daun Padi (*Oryza Sativa*) di Area Persawahan Cibinong. *Jurnal Biologi*, Volume 6 No.1.
- Sangeetha, R., Kannan, V. R., Natarajan, K., Nivas, D., Kannan, K., Chandru, S., et al. 2015. The Role of Microbes in Plastic Degradation. *Environmental Waste Management*.
- Sari, N. I. 2014. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Tanah di Kecamatan Pattallassang Kabupaten Gowa. *SKRIPSI*.
- Satriawan, & Illing, I. 2017. Uji FTIR Bioplastik dari Limbah Ampas Sagu dengan Penambahan Variasi Konsentrasi Gelatin. *Jurnal Dinamika*, 08(2).
- Sembiring, L. 2002. Identifikasi Bakteri Batang Gram Negatif pada Darah Widal Positif berdasarkan Karakter Fenotipik. *Journal University Research Colloquium* 3 (1).
- Sen, S. K., & Raut, S. 2015. Microbial Degradation of *Low Density Polyethylene* (LDPE): A Review. *Journal of Environmental Chemical Engineering*.
- Shah, A. A., Hasan, F., Hameed, A., & Ahmed, S. 2008. Biological Degradation of Plastic: A Comprehensive Review. *Biotechnology Advances* 26.
- Shihab, M.Q. 2012. *Tafsir Al-Misbah Vol 1*. Jakarta: Lentera Hati
- Shihab, M. Q. 2013. Kaidah Tafsir. Tangerang: Lentera Hati
- Shrestha, J. K., Joshi, D. R., Regmi, P., & Badahit, G. 2019. Isolation and Identification of *Low Density Polyethylene* (LDPE) Degrading *Bacillus* spp. from a Soil of Landfill Site. *Acta Scientific Microbiology Volume 2 Issue 4*.
- Skariyachan, S., Vishal M., Subiya S., Chandana J., Vidya B., & Kiran S. 2016. Novel Bacterial Consortia Isolated from Plastic Garbage Processing Areas Demonstrated Enhanced Degradation for Low Density Polyethylene. *Environmental Science Pollut R*.
- Sowmya, Ramalingappa, Krishnappa, & Thippeswamy. 2014. Biodegradation of Polyethylene by *Bacillus cereus*. *Advances in Polymer Science and Technology: An International Journal* 4 (2)
- Sriningsih, A., & Shovitri, M. 2015. Potensi Isolat Bakteri *Pseudomonas* sebagai Pendegradasi Plastik. *Jurnal Sains dan Seni ITS Vol.4 No.2*.
- Strong, A., & Brent. 2000. Plastic: Materials and Processing. *Prentice Hall*.
- Suyono, Y., & Salahudin, F. 2011. Identifikasi dan Karakterisasi Bakteri *Pseudomonas* pada Tanah yang Terindikasi Terkontaminasi Logam. *Jurnal Biopropal Industri*, Volume 02 No.01.

- UNEP. 2009. Converting Waste Plastic Into a Resource, Division of Technology, Industry and Economics International Environmental Technology Centre. *Osaka/Shiga*.
- Wahyuni, R. M., Sayuti, A., Abrar, M., Erina, Hasan, M., & Zainuddin. 2018. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Enterik Patogen pada Badak Sumatera (*Dicerorhinus sumatrensis*) di Suaka Rhino Sumatera (SRS), Taman Nasional Way Kambas (TNWK), Lampung. *JIMVET E-ISSN : 2540-9492*, 2(4).
- Zusfahair & Dian R.N. 2012. Pembuatan Dekstrin dari Pati Ubi Kayu Menggunakan Katalis Amilase Hasil Fraksinasi dari *Azospirillum* sp. JG3. *Molekul*. Vol. 7 No. 1.



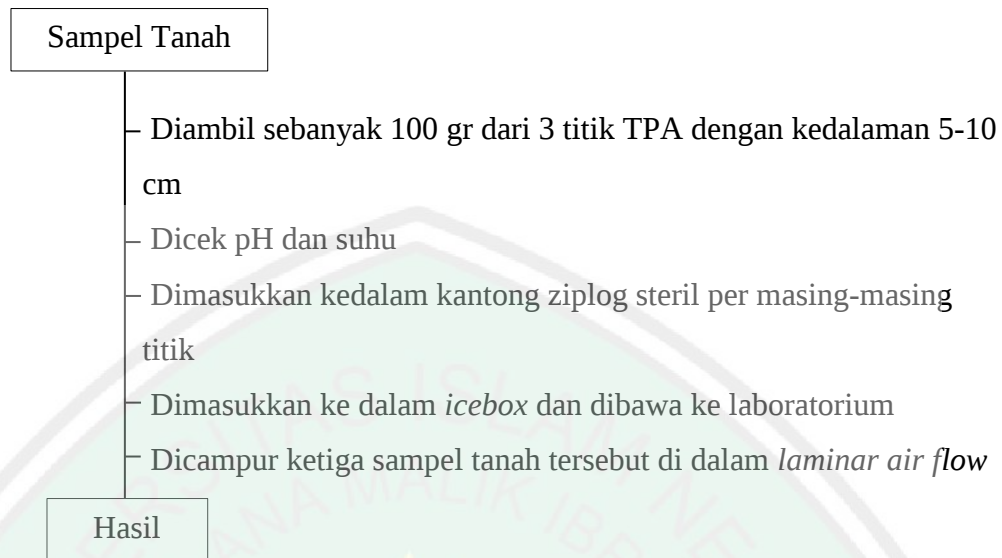
LAMPIRAN

Lampiran 1 Rancangan Penelitian

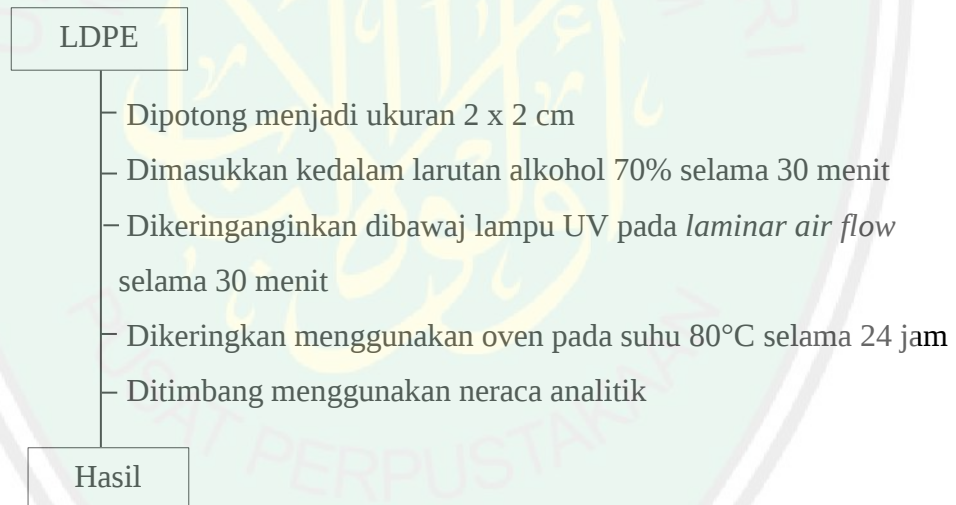


Lampiran 2 Diagram Alir

1. Pengambilan Sampel



2. Preparasi Plastik LDPE



3. *Treatment* Fisikokimia Plastik LDPE

LDPE

- Dilakukan dua *treatment* strip LDPE yang telah dipreparasi
- *Treatment* pertama, disinari strip LDPE dibawah lampu UV selama 72 jam
- *Treatment* kedua, disuspensikan strip LDPE kedalam asam nitrat 65% pada 80°C selama 6 hari
- Dipindahkan secara aseptik ke media untuk uji biodegradasi

Hasil

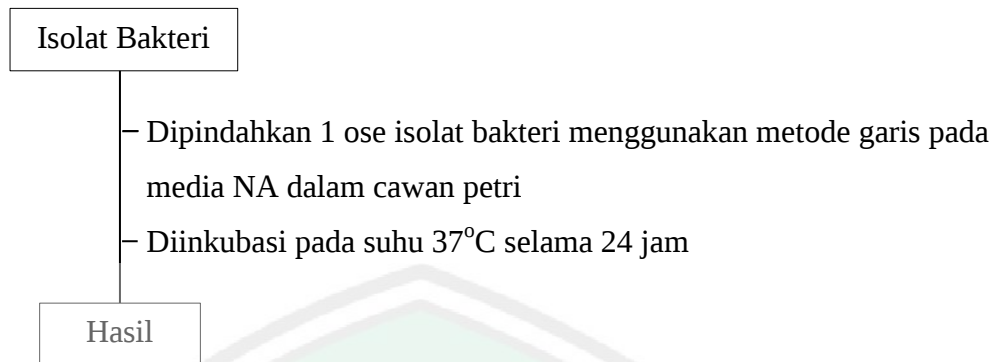
4. Isolasi Bakteri Pendegradasi LDPE

Sampel Tanah

- Dimasukkan 10 gr sampel tanah kedalam botol kaca steril
- Ditambahkan 30 mL MSM dengan kadar glukosa 1%
- Dimasukkan plastik LDPE kedalam tanah hingga tertanam seluruhnya
- Diinkubasi selama 7 hari pada suhu 37°C
- Diambil plastik yang tertanam dalam tanah, dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan aquades
- diencerkan inokulum yang didapatkan sebanyak 7 kali
- dipindahkan kedalam cawan petri yang telah berisi medium MSM secara *pour plate*
- Diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C

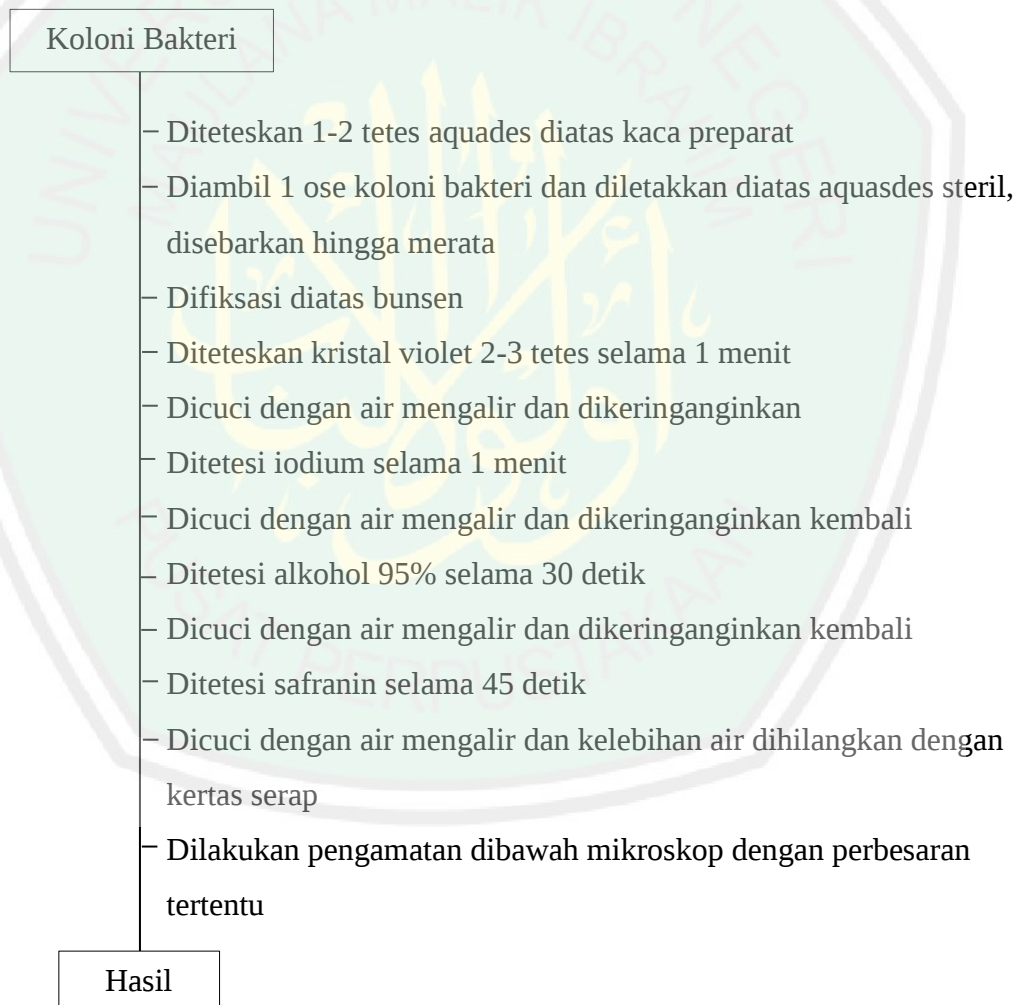
Hasil

5. Pemurnian Inokulum Bakteri



6. Identifikasi Bakteri Hasil Isolasi

6.1 Pewarnaan Gram



6.2 Pewarnaan Endospora

Biakan murni bakteri

- Diambil satu ose dan disuspensikan dengan aquades pada gelas objek
- Difiksasi di atas bunsen
- Ditetesi malachite green dan dibiarkan di atas penangas air selama 10 menit
- Diangkat dan dibiarkan dingin
- Dibilas dengan air mengalir
- Ditambahkan 1 tetes safranin dan dibiarkan selama 30 detik
- Dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan
- Diamati dengan mikroskop perbesaran 1000x

Hasil

7. Uji Biokimia Bakteri Hasil Isolasi

7.1 Uji Hidrolisis Pati

Isolat bakteri

- Dituang media agar pati ke dalam cawan petri
- Didiamkan sampai membeku
- Diinokulasikan isolat bakteri pada media agar pati
- Diinkubasi pada suhu 25-27°C selama 24 jam
- Ditetaskan larutan iodin sampai merata dan didiamkan
- Diamati zona bening

Hasil

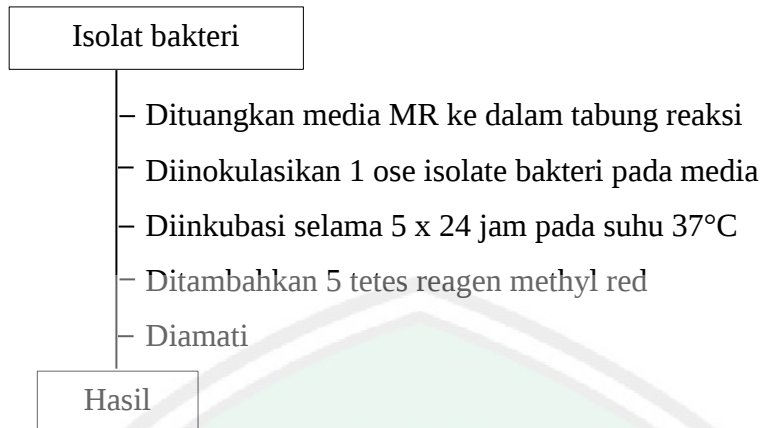
7.2 Uji Katalase

Isolat bakteri

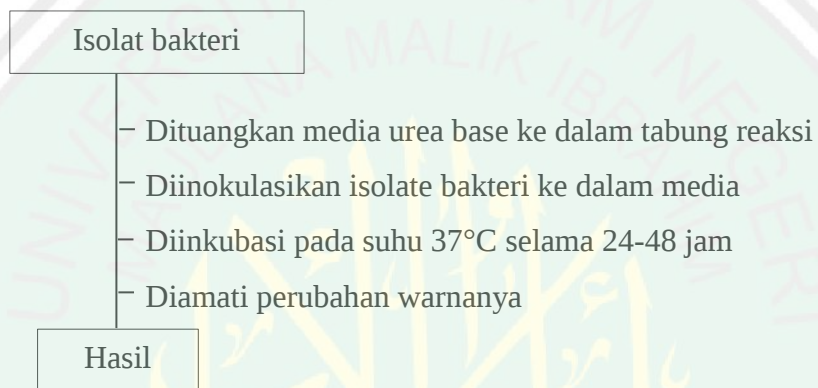
- Digoreskan isolat bakteri pada kaca preparat
- Ditetaskan larutan H₂O₂ 3% dan dibiarkan beberapa menit
- Diamati terbentuknya gelembung

Hasil

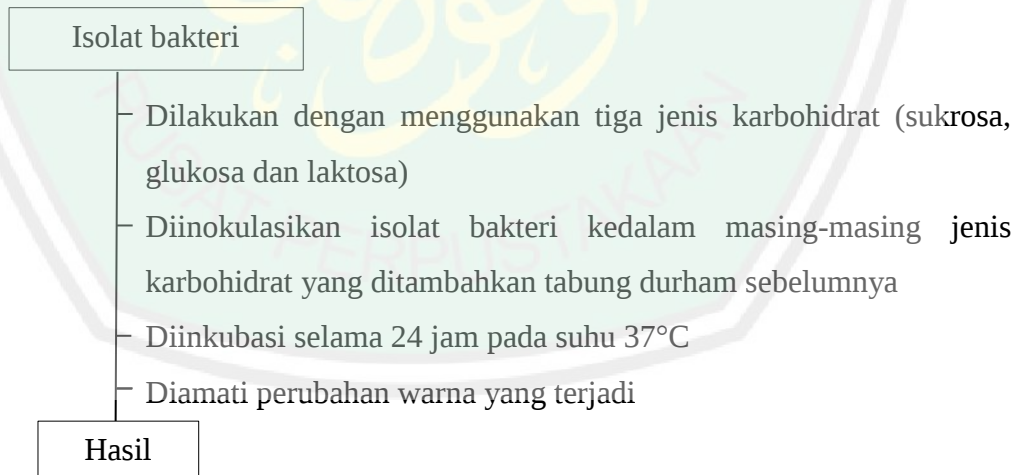
7.3 Uji MR



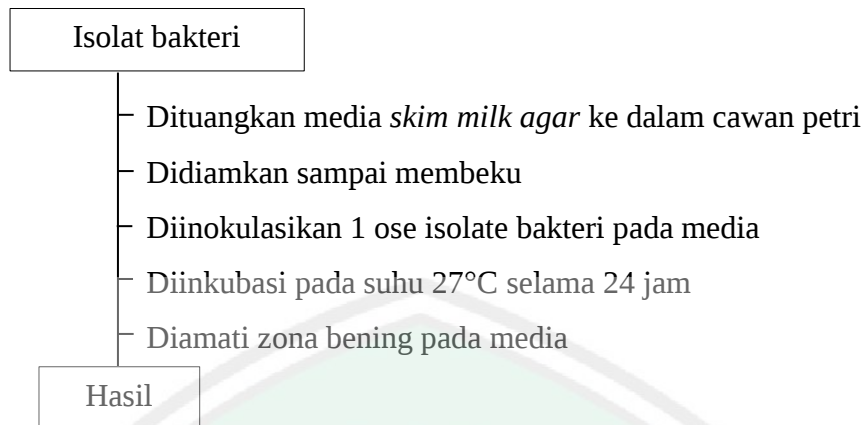
7.4 Uji Urease



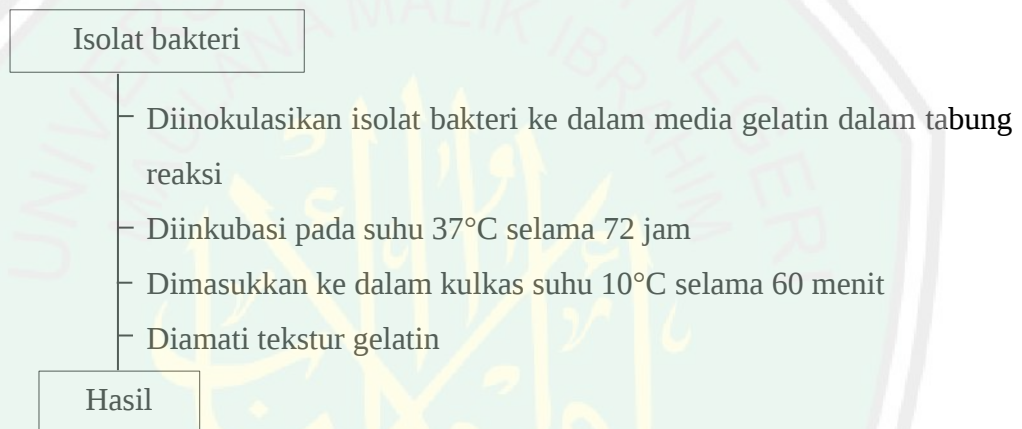
7.5 Uji Fermentasi Karbohidrat



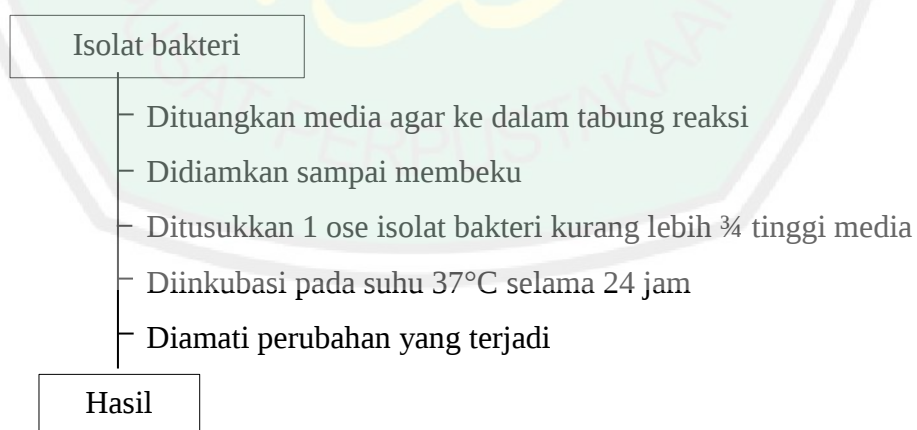
7.6 Uji Hidrolisis Kasein



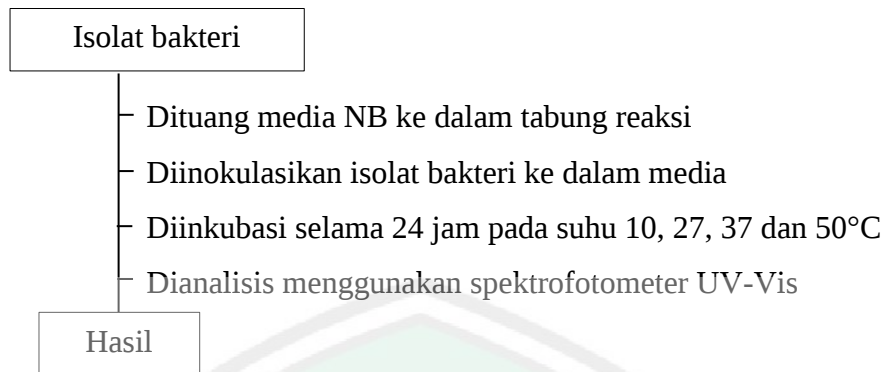
7.7 Uji Hidrolisis Gelatin



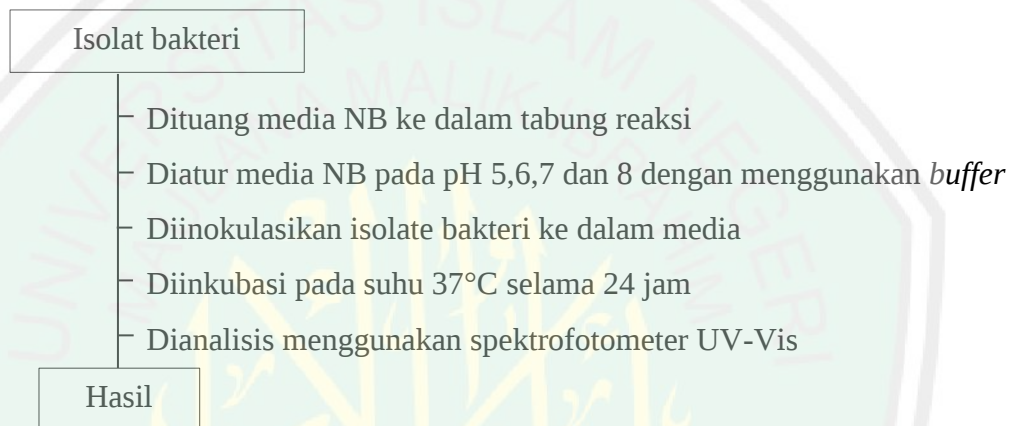
7.8 Uji Motilitas



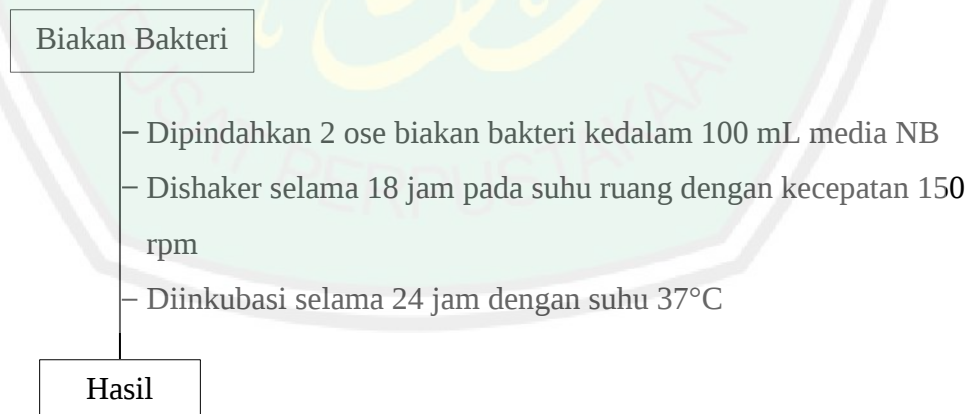
7.9 Suhu



7.10 pH



8. Produksi Inokulum



9. Uji Biodegradasi LDPE oleh Isolat Bakteri

Plastik LDPE

- Dimasukkan 50 mL media MSM kedalam Erlenmeyer 250 mL dan disterilisasi menggunakan autoklaf
- Diinokulasikan 1 mL isolat bakteri kedalam media
- Dimasukkan plastik LDPE *treated* kedalam media hingga terendam seluruhnya
- Ditutup erlenmeyer menggunakan *plastic wrap*
- Diinkubasi pada inkubator shaker 150 rpm pada suhu 30°C selama 53 hari
- Diambil plastik LDPE ketika inkubasi telah selesai, dicuci dan dikeringanginkan
- Ditimbang berat plasti setelah degradasi
- Dihitung presentase degradasi plastik

Hasil

10. Identifikasi Analisis Gugus Fungsi Menggunakan FTIR

Plastik LDPE terdegradasi

- Dipotong plastik menjadi 2 x 2 cm
- Dimasukkan ke dalam instrumen FTIR
- Dilakukan pengambilan data spektrum IR dengan komputer

Hasil

11. Analisis Data

Hasil Uji Fenotip

- Hasil uji fenotip disajikan dalam bentuk matriks $n \times t$ dan dikonversi dengan nilai negatif dan positif
- Dianalisis menggunakan program *Multivariate Statistical Package* (MVSP)
- Ditentukan similaritas antar isolat menggunakan Simple Matching Coefficient
- Dikelompokkan dengan algoritma UPGMA dan disajikan hasilnya dalam bentuk dendogram

Hasil

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

Ditimbang serbuk NA sebanyak 11,5 gr dan dilarutkan dengan 500 mL aquades. Dihomogenkan larutan dengan bantuan pemanas. Setelah larut sempurna, disterilkan menggunakan autoklaf dengan suhu $121^\circ C$ selama 15 menit.

3. Pembuatan Media NB

Ditimbang 3,25 gr serbuk NB dan dilarutkan dengan 250 mL aquades. Dihomogenkan larutan dengan bantuan pemanas. Setelah larut sempurna, disterilkan menggunakan autoklaf dengan suhu $121^\circ C$ selama 15 menit.

4. Pembuatan Media Agar Pati

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 $121^\circ C$ selama 15 menit. Medium SA yang sudah steril diturunkan suhunya hingga $38-40^\circ C$. Medium tersebut kemudian dituang ke dalam cawan Petri steril masing-masing sebanyak 15-20 ml.

5. Pembuatan Media Methyl Red (MR)

Komposisi media MR dalam 100 mL yaitu 0,7 gr pepton; 0,5 gr dextrose agar; dan 0,5 gr dipotassium fosfat. Masing-masing komposisi ditimbang dan dimasukkan ke dalam gelas beker 250 mL. Kemudian ditambahkan aquades hingga volume mencapai 100 mL, dihomogenkan dengan bantuan pemanas.

Setelah larut sempurna, disterilkan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit.

6. Pembuatan Media *Urea Broth*

Komposisi media *urea broth* dalam 100 mL yaitu pepton 0,1 gr; dextrose 0,1 gr; disodium fosfat 0,12 gr; potassium dihidrogen fosfat 0,08 gr; NaCl 0,5 gr; dan phenol red 0,0008 gr. Masing-masing komposisi ditimbang dan dimasukkan ke dalam gelas beker 250 mL. Kemudian ditambahkan aquades hingga volume mencapai 100 mL, dihomogenkan dengan bantuan pemanas. Setelah larut sempurna, disterilkan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit.

7. Pembuatan Media *Skim Milk Agar*

Sebanyak 10 gram susu skim dilarutkan dalam 10 mL aquadest, dipanaskan hingga larut menggunakan hot plate, dan disterilisasi autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Sebanyak 18 gram NA dilarutkan dalam 90 mL aquadest, dididihkan menggunakan hot plate dan dihomogenkan menggunakan magnetic stirrer, kemudian disterilisasi autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Medium NA dicampur hingga homogen dengan media susu skim dalam keadaan panas.

Lampiran 4 Data Hasil Penelitian

L.4.1 Nilai OD pertumbuhan isolat pada suhu berbeda

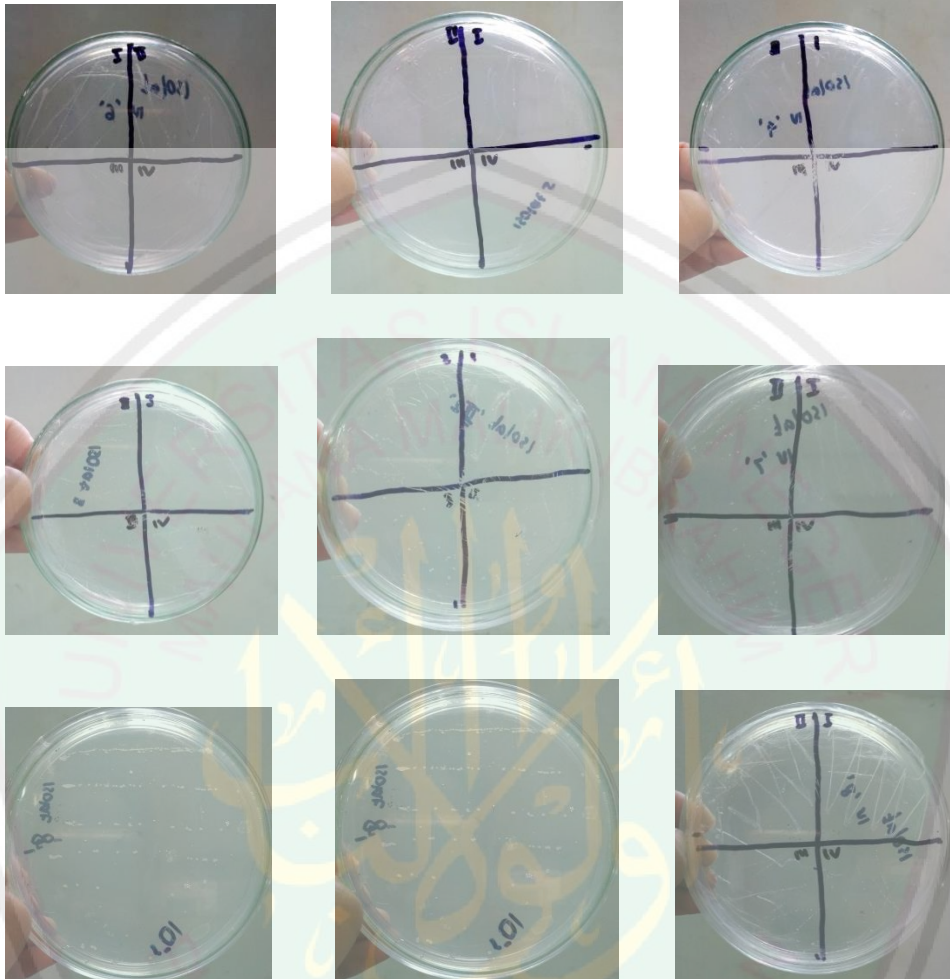
Suhu (°C)	Nilai OD	
	Isolat PDB1	Isolat PDB2
10	0,0214	0,0405
27	0,7152	0,4103
37	0,1921	0,2322
50	0,1011	0,1210

L.4.2 Nilai OD pertumbuhan isolat pada pH berbeda

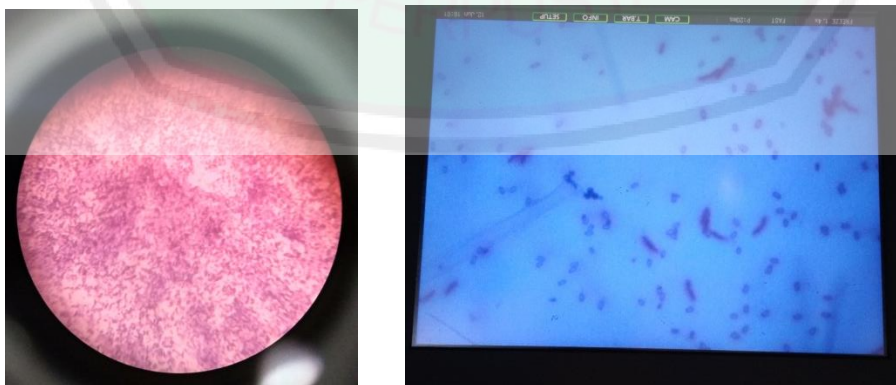
pH	Nilai OD	
	Isolat PDB1	Isolat PDB2
6	0,0445	0,1520
7	0,1684	0,4357
8	0,1665	0,3356
9	0,0217	0,0084

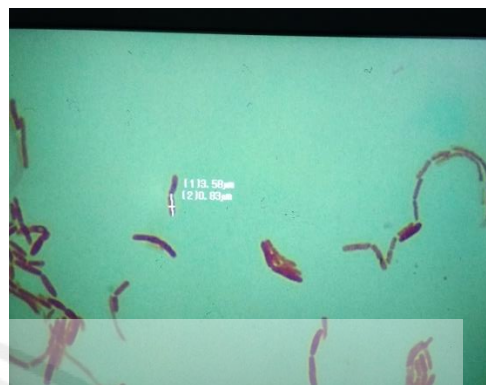
Lampiran 5 Dokumentasi

L5.1 Isolasi Bakteri



L5.2 Pewarnaan Gram





Lampiran 6 Karakter pada *Bergeys Manual of Determinative Bacteriology*

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Gram	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	v	v	v	v	V	+	—	V	+	v
Motil	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Lebar sel $\leq 1,5 \mu\text{m}$	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Panjang sel $\geq 1,5 \mu\text{m}$	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+
Gelatin	w	+	W	D	+	+	D	+	w	—	w	w	w	—	W	d	w	+	d	—
Hidrolisis Kasein	+	+	+	+	+	+	W	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+	Nd	+	D
Fermentasi																				
Karbohidrat	+	+	+	+	+	+	+	—	W	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
Glukosa	+	+	+		+	+	D	—	W	D	+	+	+	+	+	D	+	+	+	—
Sukrosa	+	—	—		+	+	D	—	W	D	+	+	—	D	Nd	D	—	+	D	—
Laktosa																				
Hidrolisis pati	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	—	—	—	+	+	—
Reduksi Nitrat	—	+	+	+	+	+	—	—	+	—	+	+	—	D	+	+	D	+	D	—
Suhu maks (°C)	45	48	43		56	50	60	50	45	40	40	50	45	45	40	45	50	45	50	45
pH	5,2					5-8,6					4,8-7,2			4,8-6,0	6,0-7,4	5,0-5,8	8,0-8,9			

Ket :

- | | | | |
|----------------------------------|------------------------------|--|-----------------------------------|
| 1. <i>Bacillus megaterium</i> | 6. <i>Bacillus subtilis</i> | 11. <i>Bacillus polymyxa</i> | 16. <i>Bacillus pulvifaciens</i> |
| 2. <i>Bacillus cereus</i> | 7. <i>Bacillus coagulans</i> | 12. <i>Bacillus macerans</i> | 17. <i>Bacillus brevis</i> |
| 3. <i>Bacillus anthracis</i> | 8. <i>Bacillus badius</i> | 13. <i>Bacillus alvei</i> | 18. <i>Bacillus larvae</i> |
| 4. <i>Bacillus thuringiensis</i> | 9. <i>Bacillus firmus</i> | 14. <i>Bacillus stearothermophilus</i> | 19. <i>Bacillus pantothenicus</i> |
| 5. <i>Bacillus licheniformis</i> | 10. <i>Bacillus lentus</i> | 15. <i>Bacillus laterosporus</i> | 20. <i>Bacillus Sphaericus</i> |

Lampiran 7 Hasil MVSP

L7.1 Hasil MSVP Isolat PDB1

UPGMA

Percent Similarity

Similarity matrix

	Isolat PDB1	Bacillus algalicola	Bacillus bataviensis	Bacillus coagulans	Bacillus fumarioli	Bacillus jeotgali	Bacillus niacinii
Isolat PDB1	100						
Bacillus algalicola	83.871	100					
Bacillus bataviensis	93.75	75.862	100				
Bacillus coagulans	82.759	84.615	81.481	100			
Bacillus fumarioli	78.571	64	84.615	69.565	100		
Bacillus jeotgali	86.667	88.889	78.571	88	75	100	
Bacillus niacinii	78.571	80	76.923	69.565	72.727	83.333	100

	Isolat PDB1	Bacillus algalicola	Bacillus bataviensis	Bacillus coagulans	Bacillus fumarioli	Bacillus jeotgali	Bacillus niacinii
Node	Group 1	Group 2	Simil.	Objects in group			
1	Isolat PDB1	Bacillus bataviensis	93.75	2			
2	Bacillus algalicola	Bacillus jeotgali	88.889	2			
3	Node 2	Bacillus coagulans	86.308	3			
4	Node 1	Bacillus fumarioli	81.593	3			
5	Node 3	Bacillus niacinii	77.633	4			
6	Node 4	Node 5	77.167	7			

L7.2 Hasil MSVP Isolat PDB2

UPGMA

Percent Similarity

Similarity matrix

	Isolat PDB2	Bacillus subtilis	Bacillus licheniformis	Bacillus megaterium	Bacillus circulans	Bacillus polymyxa	Bacillus thuringiensis
Isolat PDB2	100						
Bacillus subtilis	94.444	100					
Bacillus licheniformis	88.235	93.75	100				
Bacillus megaterium	84.848	90.323	96.552	100			
Bacillus circulans	91.429	90.909	83.871	80	100		
Bacillus polymyxa	84.848	90.323	89.655	92.857	80	100	
Bacillus thuringiensis	73.333	78.571	84.615	88	66.667	80	100
	Isolat PDB2	Bacillus subtilis	Bacillus licheniformis	Bacillus megaterium	Bacillus circulans	Bacillus polymyxa	Bacillus thuringiensis
Node	Group 1 Bacillus	Group 2 Bacillus	Simil.	Objects in group			
1	licheniformis	megaterium	96.552	2			
2	Isolat PDB2	Bacillus subtilis	94.444	2			
3	Node 1	Bacillus polymyxa	91.256	3			
4	Node 2	Bacillus circulans	91.169	3			
5	Node 4	Node 3	86.244	6			
6	Node 5	Bacillus thuringiensis	78.531	7			