

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PENDEGRADASI
PLASTIK *LOW DENSITY POLYETHYLENE* (LDPE) DARI
TEMPAT PEMROSESAN AKHIR SUPIT URANG, MALANG**

SKRIPSI

Oleh:
ROUDLOTUS SOLICHA
NIM. 16620082



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2021**

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PENDEGRADASI
PLASTIK *LOW DENSITY POLYETHYLENE* (LDPE) DARI
TEMPAT PEMROSESAN AKHIR SUPIT URANG, MALANG**

SKRIPSI

Oleh:
ROUDLOTUS SOLICHA
NIM. 16620082

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

JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2021

PERSETUJUAN

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PENDEGRADASI PLASTIK
LOW DENSITY POLYETHYLENE (LDPE) DARI TEMPAT PEMROSESAN
AKHIR SUPIT URANG, MALANG**

SKRIPSI

Oleh:

ROUDLOTUS SOLICHA

NIM. 16620082

Telah Diperiksa dan Disetujui :

Tanggal 02 April 2021

Dosen Pembimbing I

Prillya Dewi Fitriasari, M.Sc
NIP. 1990042820160801 2 062

Dosen Pembimbing II

Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I
IP. 19890113 20180201 1 244

Mengetahui,

Ketua Program Studi Biologi

Dr. Evika Sandi Savitri, M. P
NIP. 19741018 200312 2 002

PENGESAHAN

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PENDEGRADASI PLASTIK LOW DENSITY POLYETHYLENE (LDPE) DARI TEMPAT PEMROSESAN AKHIR SUPIT URANG, MALANG SKRIPSI

Oleh:

ROUDLOTUS SOLICHA
NIM: 16620082

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi Dan Dinyatakan
Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan untuk Memperoleh Gelar Sarjana
(S.Si)

Tanggal : 18 Mei 2021

Susunan Dewan Penguji

Penguji Utama: Ir. Liliek Harianie AR, M.P
NIP. 19620901199803 2 001

Tanda Tangan
()

Ketua Penguji: Dr. Nur Kusmiyati, M. Si
NIP. 19890816 20160108 2 061

()

Sekretaris Penguji: Prilya Dewi Fitriasari, M.Sc
NIP. 1990042820160801 2 062

()

Anggota Penguji: Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I
NIP. 19890113 20180201 1 244

()



HALAMAN PERSEMPAHAN

Alhamdulillahi rabbil 'alamin...

Tiada kata yang mampu menggambarkan kebahagiaanku saat ini, rasa syukur kepada Allah SWT yang telah memberikan kekuatan dan kesabaran sehingga mampu mengerjakan skripsi ini sampai selesai. Skripsi ini saya persembahkan untuk orang-orang tersayang dan yang berjasa dalam hidup saya, tanpa mereka saya tidak mungkin berada pada titik ini.

Terima kasih untuk kedua orang tua Purwo Eko Hadi Santoso dan Yunanik

yang telah berjuang dengan penuh ketulusan, memberikan cinta dan doanya. Semoga setelah lulus ini saya mampu bermanfaat untuk sesama sesuai keinginan kalian. Terima kasih untuk keluarga besarku tercinta dan Fian yang selalu bersedia membantu dan memberi semangat untuk mengerjakan skripsi ini. Terimakasih untuk teman-teman spesialku Hurin 'In (Ayu, Mada dan Gita) serta teman satu tim penelitian (Ayu dan Dimas) yang telah memberikan banyak pelajaran hidup selama kuliah. Terima kasih buat Almarhum Bapak Romaidi dan Ibu Prilya Dewi selaku dosen pembimbing yang tanpa jasa beliau berdua saya tidak bisa menyelesaikan skripsi ini.

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Roudlotus Solicha
NIM : 16620082
Program Studi : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Isolasi dan Identifikasi Bakteri
Pendegradasi Plastik Low Density
Polyethylene (LDPE) dari Tempat
Pemrosesan Akhir Supit Urang, Malang

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi akademik maupun hukum atas perbuatan tersebut.

Malang, 03 April 2021
Yang membuat pernyataan



Roudlotus Solicha
NIM. 16620082

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seisin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.

Isolasi dan Identifikasi Bakteri Pendegradasi Plastik Low Density Polyethylene (LDPE) dari Tempat Pemrosesan Akhir Supit Urang, Malang

Roudlotus Solicha, Prilya Dewi Fitriasari, Oky Bagas Prasetyo

Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

ABSTRAK

Sampah plastik menjadi masalah lingkungan terbesar yang dihadapi masyarakat global. Jenis sampah plastik yang paling banyak terakumulasi di alam adalah polietilen berdensitas rendah atau LDPE. LDPE sulit terdegradasi sehingga berakhir mencemari lingkungan baik darat maupun perairan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas degradasi bakteri hasil isolasi dari tanah TPA Supit Urang, Malang dan mengetahui jenis bakteri pendegradasi LDPE berdasarkan gen 16S rRNA sebagai upaya untuk mengurangi jumlah sampah plastik LDPE di alam. Isolasi bakteri diambil dari tanah dengan tiga tingkat pengenceran yang berbeda yaitu 10^{-4} , 10^{-5} dan 10^{-6} . Tiga puluh lima isolat diseleksi kemampuan tumbuhnya dalam media *Mineral Salt Medium Agar* (MSMA) yang telah ditambah dengan bubuk LDPE selama masa inkubasi 7 hari. Uji Zona Bening dilakukan selama 7 hari terhadap 12 isolat yang mampu melewati tahap seleksi. Pengukuran zona bening yang dihasilkan oleh tiap-tiap isolat dilakukan untuk mengetahui ukuran zona bening paling lebar. Zona bening paling lebar mengindikasikan adanya enzim ekstraseluler yang digunakan untuk mengkatalis proses metabolisme isolat bakteri yang diduga memiliki kemampuan dalam memanfaatkan bubuk LDPE sebagai sumber karbon. Isolat Kode IS 2 dan IS 3 merupakan bakteri yang memiliki rata-rata ukuran zona bening paling lebar yaitu 1,33 mm. Proses Identifikasi kedua isolat dilakukan secara makroskopis dihasilkan bahwa IS 2 memiliki karakteristik bentuk *Irregular*, tepian *Lobate* dan elevasi *raised*. Sedangkan IS 3 memiliki karakteristik bentuk *round*, tepian *entire* dan elevasi *umbonate*. Secara mikroskopis kedua isolat memiliki bentuk yang sama yaitu batang, gram positif dan masing-masing memiliki panjang 20,59 nm dan 22,81 nm. Setelah dilakukan direct PCR dan sekuensing pada kedua isolat bakteri. Hasil BLAST pada IS 2 menunjukkan bahwa isolat ini

memiliki kemiripan sekuens sebesar 97.25% dengan bakteri jenis *Bacillus tequilensis* strains 10b. Sedangkan IS 3 memiliki kemiripan sekuens sebesar 98.75% dengan bakteri jenis *Bacillus subtilis* strain NRRL NRS-744 dan *Bacillus subtilis* strain NRRL B-4219.

Kata kunci: *Bakteri, Biodegradasi, LDPE, Supit Urang*

Isolation and Identification Bacteria Degrading Plastic Low Density Polyethylene (LDPE) From Supit Urang Landfill, Malang Regency

Roudlotus Solicha, Prilya Dewi Fitriasari, Oky Bagas Prasetyo

Biology Program Study, Faculty Science and Technology, The State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim Malang

ABSTRACT

Plastic waste is the biggest environmental problem that global community facing. The type of plastic waste that mostly accumulates in nature is low density polyethylene (LDPE). LDPE is difficult to degrade so that it ends up polluting the environment both land and water. This study aims to determine the activity of bacterial degradation resulting from isolation from the soil of Supit Urang landfill, Malang and to determine the types of LDPE-degrading bacteria based on the 16S rRNA gene as an effort to reduce the amount of LDPE plastic waste. Bacterial isolation was taken from the soil with three different levels of dilution, namely 10^{-4} , 10^{-5} and 10^{-6} . Thirty-five isolates were selected for their growth ability in Mineral Salt Medium Agar (MSMA) media which had been added with LDPE powder for an incubation period of 7 days. The clear zone test was carried out for 7 days on 12 isolates that were able to pass the selection stage. Measurement of the clear zone produced by each isolate was carried out to determine the size of the clear zone at the widest. The widest clear zone indicates the presence of extracellular enzymes which are used to catalyze the metabolic process of bacterial isolates which are thought to have the ability to utilize LDPE powder as a carbon source. Isolates of IS 2 and IS 3 codes are bacteria that have the widest average size of the clear zone, namely 1.33 mm. The identification process of the two isolates was carried out macroscopically, resulting in that IS 2 has the characteristics of an Irregular shape, lobate edges and raised elevation. Meanwhile, IS 3 has the characteristics of a round shape, entire edge and umbonate elevation. Microscopically, the two isolates had the same shape, namely rods, gram-positive and each had a length of 20.59 nm and 22.81 nm. After direct PCR and sequencing were carried out on the two bacterial isolates. The BLAST results on IS 2 showed that this isolate had a 97.25%

similarity sequence to the bacterium *Bacillus tequilensis* strains 10b. Meanwhile, IS 3 has a 98.75% similarity sequence with the bacterium *Bacillus subtilis* strain NRRL NRS-744 and *Bacillus subtilis* strain NRRL B-4219.

Keywords: *Bacteria, Biodegradation, LDPE, Supit Urang*

معزولة البكتيريا منخفضة الشخانة وتحليلها من مكان الإجراءة الأخيرة سوبيت أوراغ مالانج

روضة الصالحة، فريليا دوي فطرية ساري، أوقي باكس فراسطيو

قسم علم الإحياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية
مالانج

ملخص البحث

إن الزبالة البلاستيكية أكبر مشكلة عالمية يواجهها المجتمع العالمي. أنواعها أكثرها عدة في العالم هي بوليتيين منخفضة الشخانة أو (LDPE). تصعب منخفض الشخانة (LDPE) للتحقيق حتى تؤدي إلى تلوث البيئة في البر والبحر. أما هدف هذا البحث معرفة الأشطة من تحفظ البكتيريا المعزولة من مكان الإجراءة الأخيرة سوبيت أوراغ مالانج ومعرفة أنواع البكتيريا المحفّرة على منخفض الشخانة بناء على مورثة 16S rRNA لتنقیل عدة الزبالة البلاستيكية منخفضة الشخانة في العالم. كانت عزلة البكتيريا التي تم أحذتها من الطين بثلاثة طبقات مختلفة مختلقة هي 4-10، 5-10، و 10-6. اختيرت قدرة نشأة 35 عزلة في وسيلة معدن الملح الواسطة (MSMA) مما زيدت فيها مسحوق منخفضة الشخانة (LDPE) سبعة أيام. تم تجربة المكان الصافي سبعة أيام على 12 عزلة تمكن أن تتجاوز المرحلة الاختيار. وإن إجراء قياس المكان الصافي الذي تم الحصول عليه من كل عزلة لمعرفة معيار المكان الصافي الأوسع. يدل المكان الصافي الأوسع على وجود إنزيمات خارج الخلية المستخدمة لتحفيز عمليات استقلاب العزلات البكتيرية التي يظن أن لها قدرة في استخدام مسحوق (LDPE) كمصدر الكربون. العزلة 2 IS 2 و 3 بكتيريا لديها حجم متوسط معيار المكان الصافي الأوسع هي 1.33 mm. يعمل عملية تحديد عزلتين بشكل مجهر ويحصل على أن 2 IS لديها خصائص ذات شكل غير منتظم، حواضن الفصوص (lobate) و رفع الارتفاع (raised). وأما 3 IS فلديها خصائص ذات شكل دائري، حواضن كامل (entire)، حفض الارتفاع (umbonate). في الشكل 20,59 nm المجهري كانت العزلتان لديهما حجم مماثل هو قضيب وغرام موجب ولكل منها طول 22,81 nm. بعد أن يتم إجراء direct PCR والتسلسل على عزلتي بكتيريا

كانت نتائج BLAST في IS 2 تدل على أن هذه العزلة لها متشابهة التسلسل IS 3 بقدر 97.25% بكتيريا من أنواع *Bacillus tequilensis* strains 10b. أما 3 *Bacillus subtilis* strain لها متشابهة التسلسل بقدر 98.75% بكتيريا من أنواع *Bacillus subtilis* strain NRRL B-4219, NRRL NRS-744.

الكلمات الرئيسية : التحقيق البيولوجي، منخفضة الشخانة ، البكتيريا، سوبيت أوراغ

KATA PENGANTAR

Puj syukur Allhamdulillah penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, taufiq dan hidah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian sekaligus tugas akhir ini dengan judul “Isolasi dan Identifikasi Bakteri Pendegradasi Plastik *Low Density Polyethylene (LDPE)* dari Tempat Pemrosesan Akhir Supit Urang, Malang”. Shalawat serta salam semoga tercurahkan kepada Rasulullah Muhammad SAW. Penyusunan skripsi ini tentunya tidak terlepas dari bantuan, bimbingan dan dukungan dari berbagai pihak. Ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Abdul Haris, M.Ag, selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M.Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P selaku Ketua Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Romaidi, M.Si (Alm), D.Sc, Prilya Dewi Fitriasari, M.Sc dan Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I, selaku dosen pembimbing yang penuh dengan kesabaran dan keikhlasan yang senantiasa memberikan bimbingan, arahan dan motivasi dalam penyusunan skripsi ini.
5. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P, selaku dosen wali yang memberikan saran dan nasehat yang berguna.
6. Ir.Liliek Harianie AR, M.P dan Dr. Nur Kusmiyati, M. Si, selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik dan saran yang membangun guna terselainya skripsi ini.
7. Seluruh dosen, Laboran Jurusan Biologi dan Staf Administrasi yang telah membantu dan memberikan kemudahan, terimakasih atas semua ilmu dan bimbngannya.
8. Ayah Purwo Eko H.S dan Ibu Yunanik, Adik Magfur H.S, Rofi Anas dan segenap keluargaku lainnya yang tak pernah lelah untuk tetap mendukung baik secara moril, materil serta ketulusan doa sehingga skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik.
9. Teman-teman bimbingan Pak Romaidi (Alm) dan Bu Prilya khususnya Tim Plastik (Dimas dan Ayu) yang selalu

- berjuang bersama dalam suka maupun duka selama berjalannya penelitian.
10. Keluarga besar biologi, terkhusus untuk angkatan 2016 dan teman-teman di Lab Mikrobiologi, terimakasih atas semua dukungan, semangat, dan pertemanan yang terjalin.

Semoga Allah memberikan balasan atas segala bantuan yang telah diberikan kepada penulis. Akhir kata, penulis berharap semoga karya sederhana ini dapat bermanfaat dan menjadi inspirasi bagi peneliti lain serta menambah khasanah ilmu pengetahuan bagi semua pembaca, Amiiin.

Malang, 03 April 2021

Penulis

DAFTAR ISI

PERSETUJUAN	ii
PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	v
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI.....	vi
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
مختصر البحث.....	ix
KATA PENGANTAR	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	7
1.3 Tujuan	7
1.4 Batasan Masalah	8
1.5 Manfaat	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	9
2.1 Bakteri.....	9
2.2 Isolasi Bakteri	10
2.3 Polietilen	12
2.4 Polietilen Densitas Rendah atau <i>Low Density Polyethylene</i> (LDPE)	13
2.5 Biodegradasi Polimer Plastik	14
2.6 Uji Zona Bening	18
2.7 Identifikasi Bakteri.....	19
2.7.1 Ribosomal RNA.....	19
2.7.2 Direct PCR	22
BAB III METODE PENELITIAN	23
3.1 Rancangan Penelitian.....	23
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	23
3.3 Alat	23
3.4 Bahan.....	24
3.5 Prosedur Penelitian	24
3.5.1 Pengambilan Sampel Tanah	24
3.5.2 Pembuatan Bubuk LDPE.....	25
3.5.3 Pembuatan Media Seleksi Bakteri.....	25

3.5.4 Isolasi Bakteri Tanah	25
3.5.5 Seleksi Bakteri Pendegradasi LDPE	25
3.5.6 Uji Zona Bening	26
3.5.7 Identifikasi Bakteri Pendegradasi LDPE	27
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	29
4.1 Potensi Isolat Bakteri Tanah TPA Sutip Urang sebagai Pendegradasi Plastik LDPE	29
4.2 Identifikasi Jenis Bakteri Tanah Pendegradasi Plastik LDPE berdasarkan Gen 16S rRNA	32
BAB V PENUTUP	39
5.1 Kesimpulan	39
5.2 Saran	39
DAFTAR PUSTAKA.....	41
DAFTAR LAMPIRAN	53

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Sifat-sifat LDPE	14
4.1 Hasil isolasi bakteri.....	29
4.2 Rata-rata ukuran zona bening	30
4.5 Hasil <i>blast</i> isolat bakteri.....	34

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Struktur rantai LDPE	14
2.2 Mekanisme biodegradasi plastik dalam kondisi aerob dan anaerob	16
2.3 <i>hypervariable region</i>	20
4.1 Gambar zona bening yang terbentuk pada isolat.....	32
4.3 Elektrofotogram hasil PCR	33

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
Lampiran 1. Hasil Isolasi	53
Lampiran 2. Tabel Hasil Seleksi Bakteri pada Media MSMA.....	54
Lampiran 3. Hasil Uji Zona Bening Ulangan 1	55
Lampiran 4. Hasil Uji Zona Bening Ulangan 2	61
Lampiran 5. Hasil Uji Zona Bening Ulangan 3	67
Lampiran 6. Rumus Pengukuran Zona Bening	73
Lampiran 7. Rumus Standar Deviasi.....	74
Lampiran 8. Pengamatan Makroskopis.....	75
Lampiran 9. Pengamatan Mikroskopis	76
Lampiran 10. Hasil Sekuensing IS 2	77
Lampiran 11. Hasil Sekuensing IS 3	78

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Produksi plastik secara luas dan terus menerus telah memposisikan plastik sebagai salah satu penyebab pencemaran lingkungan darat maupun perairan (Eriksen *et al.*, 2014). Setiap tahunnya sekitar 140 juta ton plastik menjadi limbah (Hussein *et al.*, 2015), hal ini menjadikan sampah plastik sebagai masalah lingkungan terbesar di seluruh dunia (Koushal *et al.*, 2014). Bahkan, Indonesia sendiri merupakan negara penyumbang sampah plastik terbanyak nomor dua setelah China (Jambeck *et al.*, 2015). Berdasarkan data tersebut hanya 9% dari total plastik yang didaur ulang, 12% dibakar dan sisanya sebanyak 79% ditimbun (Geyer *et al.*, 2017).

Pertumbuhan penduduk dan gaya hidup praktis masyarakat secara langsung memengaruhi peningkatan jumlah sampah plastik. Sampah plastik tersebut jika tidak dikelola dengan baik akan memberi dampak buruk terhadap ekosistem. Di Kota Malang sampah ditimbun di Tempat Pemrosesan Akhir (TPA) Supit Urang yang terletak di Kelurahan Mulyorejo dengan total luas 25,2 Ha. Sekitar kurang lebih 400 ton sampah masuk ke TPA Supit Urang tiap harinya (Saleh & Purnomo, 2014). Berdasarkan data Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan, komposisi sampah plastik di Kota Malang yang dihasilkan pada tahun 2017 sampai 2018 yaitu 17.50% dibandingkan dengan

sampah jenis lain. Sampah plastik tersebut akan terus menerus bertambah dan tertimbun di dalam tanah sehingga mengakibatkan kerusakan lingkungan tanah apabila tidak dilakukan pengelolaan secara tepat.

Lingkungan tanah yang rusak dapat mengakibatkan bencana dan dapat menimbulkan banyak kerugian bagi manusia itu sendiri. Allah SWT berfirman dalam surat al A'Raf (7):56 sebagai berikut:

وَلَا تُفْسِدُوا فِي الْأَرْضِ بَعْدَ إِصْلَاحِهَا وَادْعُوهُ خَوْفًا وَطَمَعًا إِنَّ رَحْمَةَ اللَّهِ قَرِيبٌ مَّنْ أَنْجَاهُ
الْمُحْسِنُونِ

Artinya: “Dan janganlah kamu berbuat kerusakan di bumi setelah (diciptakan) dengan baik. Berdoalah kepada-Nya dengan rasa takut dan penuh harap. Sesungguhnya rahmat Allah sangat dekat kepada orang yang berbuat kebaikan”

Ayat ini mengandung larangan untuk tidak berbuat kerusakan di bumi setelah adanya perbaikan melalui tauhid dan ketaatan. Perbuatan merusak yang dimaksud mencakup segala hal yang melampaui batas seperti kemosyrikan, kekufturan, merusak akal pikiran, merusak tanaman, membunuh makhluk hidup tanpa ada kebermanfaatan, merusak lingkungan dan segala perbuatan buruk lainnya sehingga menyebabkan keadaan di bumi tidak seimbang. Alam raya telah diciptakan oleh Allah SWT dengan keadaan sempurna untuk memenuhi kebutuhan makhluk. Allah telah menciptakan segalanya dengan baik, kita sebagai manusia diperintahkan untuk menjaganya agar tidak rusak (Shihab, 2002). Menurut Nurhayati dkk., (2018) berdasarkan uraian diatas solusi untuk memperbaiki alam yang

ditawarkan Al-quran diantarnya iman, takwa, tidak melampaui batas, sadar lingkungan dan pengelolaan yang berkelanjutan.

Plastik merupakan polimer sintesis yang tersusun atas materi anorganik dan orgnaik, seperti karbon, silikon, hidrogen, nitrogen, oksigen, dan klorida. Bahan dasar yang digunakan untuk membuat biji plastik diekstraksi dari minyak, batu bara dan gas alam (Shah *et al.*, 2008). Jenis polimer plastik yang paling banyak diproduksi adalah polietilen dengan total produksi 100 juta ton tiap tahunnya (Paulik *et al.*, 2019). Polietilen adalah polimer termoplastik yang tersusun dari rantai hidrokarbon panjang. Polietilen secara umum terbagi menjadi dua macam berdasarkan densitasnya yaitu *Low Density Polyethylene* (LDPE) dan *High Density Polyethylene* (HDPE) (Kumar & Raut, 2015)

Sebanding dengan tingginya angka produksi polietilen tiap tahun, limbah polimer jenis ini merupakan yang paling besar jumlahnya di alam. Jenis limbah polietilen yang paling mendominasi adalah kantong plastik. Komponen utama penyusun kantong plastik adalah polietilen berkepadatan rendah atau LDPE (Achilia *et al.*, 2007; Riandi *et al.*, 2013). Pemanfaatan LDPE sebagai komposisi utama kantong plastik didasarkan pada sifatnya yang fleksibel, mudah dibentuk, inert pada suhu ruang dan dapat dipanaskan hingga suhu 95°C tanpa mengalami kerusakan (Esmaeili *et al.*, 2013; Shah *et al.*, 2008). Sifat-sifat tersebut mengakibatkan LDPE sulit terdegradasi. Berbagai upaya telah dilakukan untuk mengurangi jumlah sampah kantong plastik di alam,

diantaranya dengan cara dibakar, ditimbun, didaur ulang dan didegradasi. Namun, semua metode memiliki keterbatasan tertentu. Contohnya, efek pembakaran plastik menghasilkan gas beracun sehingga dapat memengaruhi lingkungan dan menyebabkan timbulnya penyakit pernafasan. Sedangkan metode penimbunan membutuhkan waktu lebih lama untuk mengurai polietilen karena lingkungan yang anaerob serta dapat pula menghasilkan polutan dalam bentuk senyawa beracun. Selanjutnya, metode daur ulang juga bukan merupakan sebuah solusi yang tepat karena plastik hasil daur ulang akan memiliki kualitas yang lebih rendah dibandingkan bahan baku plastik sehingga dinilai tidak efisien (Gupta *et al.*, 2016; Liestiono *et al.*, 2017). Oleh karena itu, beberapa peneliti lebih memilih penguraian dengan cara degradasi.

Berbagai upaya degradasi plastik telah dilakukan dalam penelitian sebelumnya diantaranya dengan metode *thermal degradation* (Volke-Seplveda *et al.*, 2002), *photo-induced degradation* (Ali *et al.*, 2016), *mechanical degradation* (Waldman & De Paoli, 1998), dan *ultrasonic degradation* (Desai *et al.*, 2008). Namun, sebagian besar metode degradasi plastik tersebut tidak bisa diterapkan dalam skala besar karena tingginya biaya yang harus dikeluarkan serta polutan yang dihasilkan. Metode degradasi secara biologis lebih banyak dipilih untuk mengatasi limbah LDPE karena metode tersebut dinilai lebih aman, murah dan ramah lingkungan (Bhatia *et al.*, 2014; Shah *et al.*, 2008). Metode ini memanfaatkan mikroorganisme dan enzim tertentu sebagai agen pendegradasinya (Premraj & Doble, 2005).

Penelitian tentang degradasi limbah plastik oleh mikroorganisme terutama LDPE sampai saat ini terus berkembang. Beberapa mikroorganisme telah terbukti menghasilkan enzim yang mampu mendegradasi plastik LDPE seperti *Pseudomonas* sp. (Kyaw *et al.*, 2012), *Rhodococcus* sp. (Gilan., 2004) dan *Bacillus* sp. (Vimala & Mathew, 2016). Beberapa peneliti telah mencoba untuk meningkatkan degradasi mikroba plastik dengan mengubah kondisi fisik dan kimia pertumbuhan mikroba, ataupun berusaha meningkatkan produksi enzim pendegradasi plastik dalam mikroorganisme eksogen. Strategi penting lainnya yaitu menemukan potensi dari jenis mikroba baru pendegradasi LDPE dari lingkungan yang berbeda (Montazer, *et al.*, 2018).

Secara alami mikroba tanah ada di dalam tanah, hidup dan memanfaatkan bahan disekitar sebagai sumber karbon untuk kelangsungan hidupnya (Lucas *et al.*, 2008). Sumber karbon tersebut dapat diperoleh dari kantong plastik yang berada dan tertimbun di dalam tanah dalam waktu yang cukup lama. Mikroba akan mengubah susunan polimer plastik dengan cara merombak susunan polimer menjadi monomer sehingga dapat masuk kedalam sel mikroba. Penggunaan mikroba tanah dianggap sebagai agen pengurai dipilih karena mudah dan tidak berbahaya bagi lingkungan. Adanya potensi dari mikroorganisme inilah yang kemudian membuka kesempatan untuk dilakukannya degradasi sampah plastik secara alami dengan bantuan mikroorganisme.

Mikroorganisme seperti fungi dan bakteri termasuk komponen utama dari biosfer yang berperan memecah suatu

substrat. Jenis mikroorganisme yang paling dominan berada di dalam tanah adalah bakteri. Jumlahnya diperkirakan setengah dari seluruh biomassa mikroba tanah. Oleh karena itu, bakteri memiliki peran utama dalam aktivitas yang ada di tanah. Pengambilan bakteri dari alam dapat dilakukan melalui teknik isolasi bakteri. Teknik isolasi bakteri merupakan teknik pemisahan bakteri dari suatu lingkungan dan menumbuhkannya dalam media buatan (Irianto, 2006). Penggunaan bakteri sebagai agen biodegradasi dipilih karena bakteri memiliki keanekaragaman sangat tinggi baik secara morfologi, fisiologi, maupun potensinya. Salah satu potensi yang dimiliki bakteri adalah mampu menggunakan material yang ada di habitatnya sebagai sumber nutrien termasuk polutan yang mencemari lingkungan (Jekti, 2018).

Berdasarkan latar belakang diatas, penelitian ini berfungsi untuk mengetahui jenis bakteri yang mampu mendegradasi LDPE. Salah satu sumber yang paling potensial ditemukannya bakteri-bakteri pendegradasi polimer LDPE adalah di TPA Supit Urang, Malang karena disana sampah anorganik seperti plastik LDPE ditimbun dan terdegradasi secara alami oleh mikroorganisme. Hal ini dijelaskan dalam (Hariyani, 2013) bahwa pengelolaan sampah plastik di TPA Supit Urang hanya sebatas kumpul, angkat dan buang.

Bakteri yang berpotensi mendegradasi LDPE dapat diketahui melalui teknik pelat agar menggunakan indikator terbentuknya zona bening di sekitar koloni bakteri. Zona bening yang terbentuk mengindikasikan bahwa bakteri memanfaatkan LDPE sebagai sumber karbon dalam proses

metabolismenya (Gupta *et al.*, 2016). Identifikasi jenis bakteri yang digunakan pada penelitian ini yaitu identifikasi secara molekuler berdasarkan gen 16S rRNA. Menurut (Janda & Abbott, 2007) analisis gen 16S rRNA dipilih karena gen ini terdapat pada semua sel bakteri yang fungsinya tetap dalam kurun waktu yang lama. Selain itu panjang gen 16s rRNA cukup besar untuk keperluan analisis bioinformatika yaitu sekitar 1500bp. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang spesies bakteri yang mampu mendegradasi LDPE berdasarkan gen 16S rRNA.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana potensi degradasi plastik LDPE oleh isolat bakteri tanah yang berasal dari TPA Supit Urang, Malang?
2. Jenis bakteri apakah yang berpotensi mendegradasi plastik LDPE berdasarkan gen 16s rRNA?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengetahui aktivitas degradasi bakteri hasil isolasi dari tanah TPA Supit Urang terhadap plastik LDPE.
2. Mengetahui jenis bakteri yang memiliki kemampuan mendegradasi plastik LDPE berdasarkan gen 16S rRNA.

1.4 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini meliputi:

1. Sampel tanah diambil pada tiga titik berbeda di TPA Supit Urang, Malang
2. Sampel tanah yang diambil merupakan tanah yang tertimbun dan melekat pada plastik LDPE
3. Pengujian dilakukan terhadap LDPE pada skala laboratorium.
4. Potensi bakteri pendegradasi LDPE ditumbuhkan pada media MSMA diketahui melalui munculnya zona bening disekitar isolat
5. Identifikasi bakteri dilakukan secara makroskopis, mikroskopis, dan molekuler berdasarkan gen 16s rRNA
6. Primer yang digunakan pada proses amplifikasi adalah primer 27F dan 1492R

1.5 Manfaat

Manfaat penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Memberi informasi tentang kemampuan isolat bakteri dalam mendegradasi LDPE
2. Memberi informasi tentang spesies bakteri yang mampu mendegradasi LDPE secara molekuler berdasarkan gen 16S rRNA.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bakteri

Kata bakteri berasal dari Bahasa Yunani “Bakterion” yang artinya batang kecil. Bakteri merupakan mikroorganisme yang memiliki banyak jenis dan bentuk seperti: bulat, batang, spiral dan koma. Bakteri memainkan peran penting dalam ekosistem di bumi. Mikroorganisme ini merupakan pemain kunci dalam beberapa proses *recycler* kimia seperti: mensintesis, menghancurkan, dan membuat kembali senyawa kimia untuk makhluk hidup (Thomas, 2004).

Peran mikroorganisme di alam khususnya bakteri yaitu sebagai dekomposer kosmopolit yang artinya pengurai yang dapat dijumpai di berbagai jenis lingkungan. Bakteri akan mentransformasikan bahan kimia sintetik dan alami sebagai sumber energi dan materi esensial untuk pertumbuhannya. Bakteri memiliki peran penting dalam mendegradasi limbah pencemar di lingkungan baik limbah organik maupun anorganik. Banyak jenis mikroorganisme yang efisien dan ramah lingkungan telah diidentifikasi untuk mengurangi jumlah limbah di alam. Misalnya, bakteri digunakan sebagai agen remediasi tanah tercemar (Yolantika *et al.*, 2015), sebagai agen pembersih tumpahan minyak (Puspitasari *et al.*, 2020) serta logam berat seperti arsen, merkuri, cadmium, dan timbal (Jekti, 2018).

Salah satu contoh jenis limbah anorganik lainnya adalah plastik. Meskipun plastik memiliki komponen penyusun yang sulit ditransformasi, bakteri tetap dapat hidup di habitat tersebut dan

memanfaatkannya sebagai sumber energi (Jekti, 2018). Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa bakteri mampu hidup di habitat limbah anorganik seperti plastik dan memanfaatkannya sehingga jumlahnya berkurang. Seperti yang telah dilakukan diantaranya oleh Chee *et al.*, (2010) yang melakukan penelitian terhadap beberapa bakteri yang memiliki kemampuan mendegradasi plastik. Isolat yang digunakan meliputi *Bacillus megaterium*, *Pseudomonas* sp., *Azotobacter*, *Ralstonia eutropha*, dan *Halomonas* sp.. Talkad *et al.*, (2014) dalam penelitiannya menyimpulkan bahwa *Pseudomonas putida* dapat mengurangi massa LDPE dengan total massa hilang 20.54%. Selanjutnya Al-Jailawi *et al.*, (2015) menyatakan bahwa *Pseudomonas putida* dapat mendegradasi limbah plastik LDPE optimum pada nilai keasaman (pH) 7 dan temperatur 37 °C.

2.2 Isolasi Bakteri

Mikroorganisme dalam suatu lingkungan alami terdiri dari komunitas yang beragam. Pemisahan mikroorganisme diperlukan untuk mengetahui jenis dan karakteristik mikroorganisme tersebut. Teknik pemisahan mikroorganisme tertentu dari suatu lingkungan dan menumbuhkannya dalam medium buatan disebut teknik isolasi. Tujuan dilakukannya isolasi adalah untuk diperoleh isolat atau biakan murni suatu mikroorganisme dari lingkungan tertentu. Menumbuhkan bakteri pada medium biakan tertentu diperlukan ketelitian peneliti, kesterilan alat-alat serta ketepatan jenis media tumbuh yang dipilih (Irianto, 2006).

Berdasarkan Stolp dan Starr (1981), ada beberapa cara untuk isolasi mikroba, yaitu:

1. Cara Penuangan

Metode isolasi dengan cara tuang memiliki tujuan untuk memperkirakan jumlah bakteri yang hidup dalam suatu suspensi. Hasil isolasi dengan metode ini dinyatakan dalam satuan koloni. Metode ini dilakukan dengan cara menuang suspensi bakteri dalam agar yang masih cair, selanjutnya dihomogenkan hingga memadat. Teknik ini akan menghasilkan bakteri yang tidak hanya tumbuh pada permukaan, tetapi di dalam atau di dasar agar.

2. Cara Penggoresan

Metode gores diperlukan untuk mendapatkan koloni terpisah dan murni. Prinsip dasar metode ini yaitu menggoreskan suspensi bahan yang mengandung mikroba pada permukaan medium agar. Setelah masa inkubasi akan diperoleh koloni bakteri yang tumbuh pada bekas goresan. Teknik gores yang sempurna akan menghasilkan koloni murni yang terpisah. Metode ini dilakukan dengan memadatkan media terlebih dahulu pada cawan petri. Selanjutnya jarum ose steril disentuhkan pada koloni bakteri yang akan diisolasi, kemudian digoreskan pada medium yang tersedia.

3. Cara Penyebaran

Teknik isolasi sebar dilakukan dengan menyebarkan suspensi bakteri di permukaan agar. Teknik ini bertujuan untuk diperoleh kultur murni. Prosedur kerjanya yaitu diambil suspensi bakteri sebanyak 0,1 ml dengan mikropipet kemudian diteteskan diatas permukaan agar yang telah memadat. Selanjutnya drigalsky steril digunakan untuk

meratakan dengan cara memutar drugalsky pada permukaan agar.

2.3 Polietilen

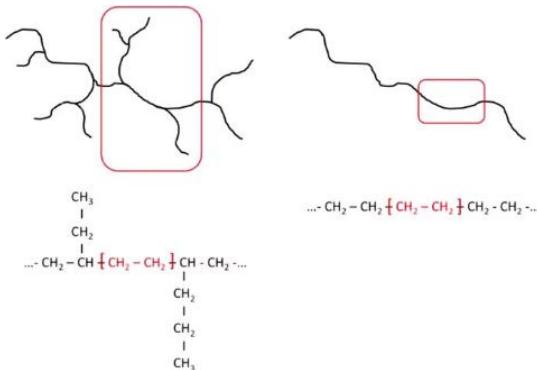
Polietilen merupakan salah satu jenis polimer sintetis hasil polimerisasi etilena, memiliki karakteristik yaitu berupa padatan putih, *thermoplastic*, hidrofobisitasnya tinggi, tahan panas, tahan terhadap pengaruh bahan kimia, daya regangnya tinggi, sifat elektrisnya baik, tidak menguap serta tidak beracun. Berdasarkan sifat-sifatnya yang menguntungkan ini polietilen mempunyai kegunaan cukup luas diantarnya botol kemasan air minum, tas plastik, plastik pembungkus makanan serta dapat ditemukan dalam berbagai aplikasi industri (Paulik *et al.*, 2019). Kebutuhan akan polietilen yang tinggi, menyebabkan jumlah produksi yang tinggi pula sehingga menjadikan plastik ini penyumbang utama limbah domestik (Bockhorn *et al.*, 1999). Produksi dan konsumsi tahunan polietilen saat ini lebih tinggi dari 100 juta ton di seluruh dunia, atau sekitar 40% dari konsumsi semua bahan termoplastik (Paulik *et al.*, 2019).

Polietilen secara umum dibagi menjadi dua kategori yaitu Polietilen Densitas Rendah atau *Low Density Polyethylene* (LDPE) ($< 0.94\text{g/cm}^3$) dan Polietilen Densitas Tinggi atau *High Density Polyethylene* (HDPE) ($> 0.94\text{g/cm}^3$). Perbedaan dalam densitas keduanya dikarenakan adanya perbedaan struktur rantai cabang. HDPE secara esensial merupakan polimer linier dan LDPE merupakan polimer bercabang (Gambar 2.1) Banyaknya rantai cabang membuat rantai molekul LDPE tidak terkemas dengan rapat atau erat dalam bentuk kristal. Hal ini yang menyebabkan LDPE memiliki densitas yang lebih rendah

jika dibandingkan dengan HDPE (Kumar & Raut, 2015).

2.4 Polietilen Densitas Rendah atau *Low Density Polyethylene (LDPE)*

Menurut American Chemistry Council LDPE diklasifikasikan ke dalam jenis plastik kode resin 4 yang didasarkan pada tingkat daur ulangnya. Plastik jenis ini merupakan plastik yang paling jarang dilakukan proses daur ulang. LDPE merupakan salah satu golongan polietilen yang paling banyak digunakan sebagai material *packaging*, karena memiliki sifat mekanik dan optik yang relatif baik serta harga pasar yang kompetitif (Dilara & Briassoulis, 2000). LDPE diproduksi dari gas etilen pada tekanan dan suhu tinggi dalam reaktor yang berisi pelarut hidrokarbon dan katalis logam yaitu *ziegler catalysts* (Malpass, 2010). LDPE memiliki hidrofobisitas polimer yang tinggi akibat rantai hidrokarbonnya yang panjang dan kompleks (Gambar 2.1.), dengan densitas antara 0,910-0,925 g/cm³, kristalinitas 25-30 %Xtal (Tabel 2.1). Kristalinitas dan modulus young LDPE memiliki nilai rendah, hal ini yang menyebabkan LDPE tahan meskipun pada suhu rendah. LDPE tahan terhadap reaksi-reaksi asam, basa serta beberapa cairan kimia. Memiliki warna putih transparan dan dapat dengan mudah diwarnai (Jordan *et al.*, 2016).



Gambar 2.1. Perbedaan struktur rantai penyusun LDPE (kiri) dan HDPE (kanan) (Paulik *et al.*, 2019)

LDPE banyak digunakan terutama karena ketangguhan, fleksibilitas, daya proteksi yang baik terhadap uap air dan transparansi relatifnya, membuat polimer ini banyak dimanfaatkan dalam berbagai aplikasi seperti kantong plastik, pembungkus kawat dan kabel, botol minuman, *wrap* makanan, bahan pembuatan mainan dan sebagainya.

Tabel 2.1 Sifat LDPE (Dilara & Briassoulis, 2000)

Karakteristik LDPE	
Densitas, kg/m ³	910-925
Titik leleh, °C	95-130
Kekuatan tarik, Mpa	4,1-15,9
Modulus Young, Mpa	96,5-262
Tingkat kekerasan, shore D	41-50
Kristalinitas, %Xtal	25-30

2.5 Biodegradasi Polimer Plastik

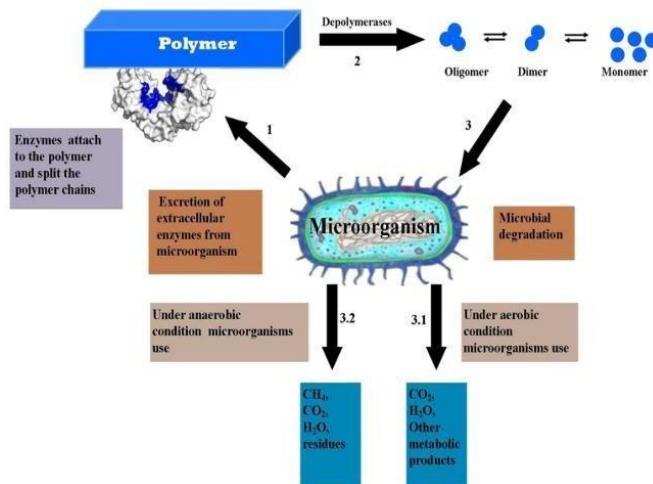
Degradasi adalah perubahan sifat material meliputi perubahan mekanik, elektrik, optik dengan cara *crazing* (penggiliran), *cracking* (peretakan), perubahan warna,

delaminasi atau pemisahan fasa dan erosi. Perubahan yang terjadi dapat berupa pemotongan rantai penyusun polimer, transformasi kimia dan pembentukan gugus fungsi baru. Pada degradasi polimer terjadi perpendekan rantai polimer melalui pemutusan ikatan antar monomer. Erosi polimer adalah proses hilangnya bobot polimer akibat kehilangan monomer, oligomer ataupun bagian kecil lain dari polimer. Berdasarkan definisinya dapat diartikan bahwa degradasi polimer merupakan bagian dari proses erosi polimer (Shah, *et al.*, 2008).

Degradasi sebagian besar plastik sintetis di alam terjadi sangat lambat dan kompleks karena melibatkan unsur abiotik dan biotik. Proses degradasi oleh aktivitas agen biotik di lingkungan disebut juga biodegradasi. Biodegradasi merupakan salah satu alternatif pengurangan jumlah limbah saat ini, karena pada prosesnya yang murah, jauh lebih efisien dan tidak menghasilkan polutan sekunder yang berbahaya. Tujuan dari biodegradasi adalah untuk mengubah polutan menjadi metabolit yang dapat dimasukkan dalam jalur metabolisme organisme atau agar termineralisasi menjadi H_2O , CH_4 dan CO_2 . Hal ini dapat terjadi dalam kondisi yang berbeda karena tiap mikroorganisme masing-masing memiliki kondisi optimal dan juga perbedaan respon pada tiap jenis polutan (Loredo-Treviño *et al.*, 2012).

Mikroorganisme tidak dapat mengangkut polimer plastik langsung dari luar membran sel ke dalam sel, hal ini disebabkan oleh sifat polimer plastik yang hidrofobik serta rantai polimer yang panjang. Saat proses biodegradasi berlangsung, mikroba akan mengeksresikan enzim ekstraseluler yang akan menempel pada substrat polimer dan mengkatalis proses pemecahan rantai

polimer panjang menjadi oligomer, dimer, kemudian menjadi monomer yang cukup kecil sehingga dapat masuk kedalam membran sel dan dimanfaatkan untuk proses metabolisme sel. Proses pemecahan polimer ini disebut depolimerisasi (Mohan & Srivastava, 2010). Dalam penelitian Premraj & Doble (2005) degradasi polimer dapat terjadi pada kondisi aerob dan anaerob. Pada kondisi aerob, produk degradasi yang dihasilkan adalah karbondioksida dan air, sedangkan degradasi pada kondisi anaerob dihasilkan karbondioksida, air dan metana (gambar 2.2). Fenomena biodegradasi terhadap polimer, terlihat dari fakta bahwa secara langsung maupun tidak, cepat atau berangsur-angsur, material yang ada di alam akan berkurang jumlahnya, artinya material inilah yang sebagian atau seluruhnya digunakan sebagai sumber nutrisi oleh mikroorganisme untuk tetap hidup.



Gambar 2.2 Mekanisme biodegradasi plastik dalam kondisi aerob dan anaerob (Ahmed et al., 2018).

Beberapa jenis enzim telah teridentifikasi mampu mengkatalis biodegradasi polimer plastik. Telah diteliti oleh Bhardwaj *et al.*, (2012) enzim *laccase* mampu mengoksidasi rantai hidrokarbon pada polietilen dengan cara mengurai berat molekul dan jumlah molekul rata-rata polietilen masing-masing sebesar 20% dan 15% serta *polyurethane* esterase pada *Comamonas acidovorans* mampu mendegradasi *polylactid acid* yang memiliki berat molekul rendah. Dalam penelitian Sivan (2011) polietilen mampu didegradasi oleh spesies bakteri *Brevibacillus* spp. dan *Bacillus* spp. menggunakan bantuan enzim protease.

Analisis biodegradasi dapat dilakukan melalui analisis kuantitatif dengan teknik gravimetrik, perubahan gugus fungsi, sifat termal dan kristalinitasnya (Bonhomme *et al.*, 2003). Selain itu analisis biodegradasi dapat dilakukan pada lingkungan sebenarnya yaitu ditimbun di dalam tanah atau dengan metode simulasi. Metode simulasi lebih mudah diterapkan karena dapat diamati secara berkala dan dapat dilakukan penyesuaian parameter. Pendekrasi yang digunakan pada metode ini dapat berupa mikroorganisme campuran atau mikroorganisme tertentu yang telah diketahui jenis dan kemampuannya. Hasil yang ada menunjukkan bahwa laju biodegradasi oleh mikroorganisme campuran umumnya berlangsung lebih cepat, namun sulit untuk memperkirakan mekanisme degradasi yang terjadi (Rohaeti, 2009).

Terdapat dua jenis metode pengujian biodegradasi, yang pertama adalah inkubasi mikroorganisme pada lingkungan kondusif. Pengujian yang kedua adalah pengukuran tingkat degradasi, baik pengukuran perubahan kimia maupun

mekanisme kerja yang terjadi. Metode yang paling banyak diterapkan untuk mengetahui biodegradasi pada polimer plastik adalah inkubasi mikroorganisme pada media homogenisasi plastik menggunakan teknik pelat agar. Metode ini merupakan pencampuran polimer plastik yang akan diuji dengan media berbasis agar atau cair sehingga polimer plastik membentuk emulsi transparan atau buram. Organisme yang mampu mendegradasi polimer akan menunjukkan zona bening di sekitar area tumbuh (Aminabhavi *et al.*, 1990).

2.6 Uji Zona Bening

Uji zona bening pada media padat adalah teknik yang cukup umum diterapkan dalam pengujian antibiotik atau biostatik maupun seleksi. Zona bening juga dapat digunakan untuk mengestimasi kemampuan degradasi polimer. Uji ini memiliki sejumlah keuntungan diantaranya; cepat, relatif sederhana, murah, dan memungkinkan untuk mengetahui kinerja suatu bakteri. Media padat yang mengandung polimer digunakan untuk mengetahui kemampuan degradasi isolat mikroba. Media tersebut dapat digunakan untuk memperbanyak isolat, dan dapat membantu dalam mengetahui aktivitas inokulum. Terbentuknya zona bening pada media agar menunjukkan degradasi partikel polimer menjadi molekul larut di sekitar koloni. Zat-zat ini akan berfungsi sebagai nutrisi bagi mikroorganisme. Berdasarkan zona bening yang terbentuk, pemecahan rantai polimer oleh mikroba dapat digunakan sebagai langkah penentuan degradasi. Beberapa persyaratan dasar untuk melakukan uji zona bening yaitu zona yang terbentuk harus jelas, melingkar, dan menghasilkan bentuk, area, dan tampilan yang konsisten. Bahan

uji yang digunakan harus dipastikan merupakan satu-satunya sumber karbon untuk pertumbuhan mikroba. Hilangnya partikel polimer tidak dipengaruhi oleh cahaya, bahan kimia, suhu dan lainnya (Augusta *et al.*, 1993).

2.7 Identifikasi Bakteri

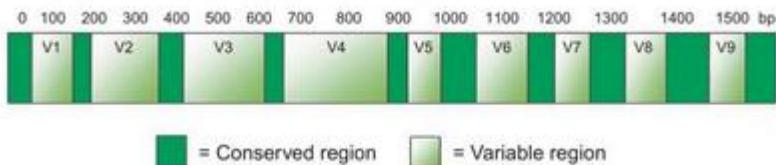
Identifikasi bakteri berdasarkan fenotip dinilai kurang akurat sehingga dipilih identifikasi secara molekuler. Metode identifikasi secara molekuler dengan amplifikasi asam nukleat dan sequencing memiliki kelebihan dari segi waktu, sensitivitas dan akurasi (Bosshard *et al.*, 2004). Teknik identifikasi bakteri secara molekuler menggunakan informasi berupa gen pengkode spesifik. Teknik identifikasi RNA ribosomal (rRNA) merupakan teknik yang paling banyak digunakan sebagai penanda molekuler karena gen yg mengkode RNA ribosomal merupakan gen yang paling *conservate*, panjang sekuen dan urutan basa nukleotida pada setiap organisme memiliki hubungan kekerabatan yang relatif sama. Sehingga lebih mudah untuk menentukan kekerabatan bakteri berdasarkan sekuen rRNA (Emerson *et al.*, 2008).

2.7.1 Ribosomal RNA

rRNA merupakan satu dari tiga jenis molekul hasil transkripsi (Trna, mRNA dan rRNA). rRNA tersebar secara universal, terkonversi dengan baik dan memiliki fungsi yang sama pada tiap organisme (Madigan *et al.*, 2000). Ribosom organisme prokariotik terdiri atas dua sub unit besar dan subunit kecil. Sub unit besar berukuran 70S, sedangkan subunit kecil berukuran 30S dan 50S. Huruf S menyatakan satuan sentrifugasi yang artinya *svedberg*. Subunit kecil 30S

mengandung rRNA berukuran 16S dan protein sebanyak 21 buah. Sedangkan pada ukuran 50S mengandung rRNA berukuran 5S, 23S dan protein berjumlah 34 buah (Wulandari, 2011).

Sekuen gen 16S rRNA menjadi gen yang paling banyak digunakan untuk identifikasi bakteri (Yang, 2016). Sekuen gen 16S rRNA memiliki sembilan daerah yang disebut *hypervariable region* (V1-V9), *hypervariable region* panjangnya sekitar 30 hingga 100 bp (Gopinath & Lakshmipriya, 2019). *hypervariable region* menunjukkan keragaman sekuen spesifik pada setiap jenis bakteri. Sekuen spesifik tersebut merupakan target yang digunakan untuk uji diagnostik (Chakravorty, et al., 2008).



Gambar 2.3 *hypervariable region* (Gopinath & Lakshmipriya, 2019)

Beberapa penelitian identifikasi bakteri pendegradasi plastik telah dilakukan menggunakan gen 16S rRNA. Seperti pada penelitian biodegradasi polietilen yang dilakukan oleh Muhonja., et al (2018) menggunakan penajaran gen 16s rRNA pada sampel tanah di Nairobi, Kenya menunjukkan bahwa spesies *Bacillus cereus* memiliki kemampuan lebih tinggi dalam mendegradasi polietilen dibandingkan bakteri jenis lain. Penelitian Ploux (2018) menyatakan bahwa gen ini

digunakan untuk mengidentifikasi bakteri pendegradasi LDPE yang diisolasi dari tempat pembuangan di Mashhad, Iran. Penelitian lain oleh Balasubramanian *et al.*, (2001) menggunakan analisis sekuensing gen 16S rRNA untuk menentukan strain bakteri yang memiliki kemampuan mendegradasi polietilen.

Dalam bidang biologi lain, gen 16s rRNA juga dipilih untuk mengidentifikasi spesies bakteri. Kuppeveld *et al.*, (1992) menggunakan sekuensing 16S rRNA untuk menentukan spesies Mycoplasma yang secara klinis sulit serta membutuhkan waktu lama untuk ditumbuhkan atau dikultivasi. Selain dari sekuensing gen 16S rRNA juga dapat digunakan untuk mengidentifikasi bakteri patogen yang terdapat dilingkungan. Magray *et al.*, (2011) melakukan identifikasi bakteri patogen dari sumber air minum di Srinagar, India dan menemukan spesies *Escherichia coli*. Sekuensing gen 16S rRNA juga digunakan untuk mengidentifikasi bakteri tertentu yang tidak dapat diidentifikasi lagi secara fenotip. Dijelaskan oleh Ochman (2005) bahwa identifikasi bakteri yang didasarkan pada sifat fenotip banyak memiliki kekurangan, sehingga sering terjadi kesalahan dalam penentuan spesies bakteri. Hal ini disebabkan oleh adanya karakter fenotip bakteri yang khusus serta karakter yang selalu berubah-ubah dikarenakan oleh perubahan kondisi organisme dan lingkungan.

2.7.2 Direct PCR

Identifikasi bakteri secara molekuler menggunakan metode *direct PCR* dinilai efektif karena mengamplifikasi DNA

tanpa melalui proses isolasi DNA. Amplifikasi metode *direct* PCR digunakan untuk mengidentifikasi sampel yang masih belum diketahui jenisnya. Hal ini dilakukan untuk menghindari proses ekstraksi DNA dan pemurnian, dengan demikian akan mempertahankan DNA yang biasanya hilang selama prosedur tersebut. Metode ini memungkinkan untuk mendapatkan DNA target dengan jumlah yang maksimal. Selain itu, metode ini meminimalisir peluang terjadinya kesalahan dan kontaminasi (Cavanaugh *et al.*, 2018)

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan yaitu penelitian eksperimental dan deskriptif kuantitatif. Penelitian bersifat deskriptif kuantitatif karena data hasil pengamatan berupa zona bening yang terbentuk pada masing-masing isolat serta identifikasi spesies bakteri berdasarkan gen 16S rRNA. Penelitian bersifat eksperimental dilakukan untuk mengetahui kemampuan masing-masing isolat bakteri dalam mendegradasi LDPE.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada Desember 2019 sampai Desember 2020. Bertempat di Laboratorium Biokimia, Laboratorium Genetika Molekuler dan Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang. Uji analisis hasil PCR (*sequencing*) dilakukan oleh PT. Bioneer di Korea Selatan.

3.3 Alat

Alat-alat yang dibutuhkan pada saat pengambilan sampel tanah diantaranya *polybag* steril, sendok steril, pH meter dan *icebox*. Uji aktivitas biodegradasi LDPE dan isolasi bakteri membutuhkan alat gelas (*Iwaki*), cawan petri, jarum ose, neraca analitik, botol flakon 10 mL, spatula, *hotplate* (*Thermo scientific*), *vortex* (*Maxi Mix II*), autoklaf (*ALP*), oven (*Thermo scientific*) dan inkubator (*Mammert*). Alat yang dibutuhkan

pada tahap seleksi dan uji zona bening yaitu penggaris. Peralatan yang dibutuhkan pada tahap isolasi DNA meliputi tusuk gigi, mikropipet (*Bio-Rad*), tip mikropipet, centrifuge (*Thermo scientific*), tube PCR ukuran 1.5 ml, elektroforesis (*Bio-Rad*) dan UV *transluminator* (*Bio-Rad*). Alat *Polymerase Chain Reaction* (PCR) (*Bio-Rad*) digunakan pada tahap amplifikasi DNA.

3.4 Bahan

Sampel tanah didapatkan dari Tempat Pemrosesan Akhir (TPA) Supit Urang, Malang. Bahan yang dibutuhkan dalam proses isolasi antara lain alkohol 70%, aquades, *nutrient agar* (NA) dan *nutrient broth* (NB). Bahan-bahan yang digunakan dalam tahap seleksi dan uji degradasi antara lain *mineral salt medium* (MSM), bubuk LDPE, spiritus, kapas, kasa, kertas label serta isolat masing-masing bakteri. Proses identifikasi bakteri dibutuhkan *nuclease free water*, PCR mix, GeneRulerTM 1 Kb Ladder, *ethidium bromide* (EtBr), gel agarosa 1 %, primer 27 forward (5' AGAGTTTGATCMTGGCTCAG 3') dan primer 1492 reverse (5' CGGTTACCTTGTACGACTT 3').

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Pengambilan Sampel Tanah

Sampel tanah diambil dari TPA Supit Urang, Malang dengan metode *purposive sampling* dari tanah yang melekat pada sampah plastik LDPE yang sedang terurai pada kedalaman 3-5 cm (Yolantika, 2015). Sampel tanah sebanyak lima gram diambil pada tiga titik yang berbeda menggunakan metode komposit pola acak

(Hidayat, 2020). Pada tiap-tiap titik diukur tingkat keasaman tanah menggunakan pH meter. Selanjutnya, sampel dimasukkan ke dalam *icebox* yang telah diisi dengan *blue ice* dan dibawa ke Laboratorium Mikrobiologi (Hussein *et al*, 2015).

3.5.2 Pembuatan Bubuk LDPE

Butir LDPE sebanyak lima gram dihaluskan dengan blender sampai menjadi bubuk. Selanjutnya disterilisasi menggunakan autoklaf suhu 121 °C, 1 atm selama 15 menit, kemudian dikeringkan di dalam oven suhu 35 °C selama 30 menit.

3.5.3 Pembuatan Media Seleksi Bakteri

Media selektif yang digunakan adalah media MSM yang dicampur dengan 2 gram bubuk LDPE. MSM dibuat dengan komposisi antara lain 1,8 gram K₂HPO₄; 4 gram NH₄Cl; 0,2 gram MgSO₄.7H₂O, 0,01 gram FeSO₄.7H₂O, 0,1 gram NaCl dan 15 gram agar kemudian dilarutkan dalam 1 liter akuades. Media distrerilisasi menggunakan autoklaf suhu 121 °C, 1 atm selama 15 menit. (Mukred *et al.*, 2008).

3.5.4 Isolasi Bakteri Tanah

Satu gram sampel tanah digunakan untuk proses pengenceran bertingkat dengan cara dimasukkan 1 gram sampel tanah ke dalam 10 mL akuades steril dalam tabung erlenmeyer dilakukan homogenisasi menggunakan vortex (Singh *et al.*, 2016). Pengenceran 10⁻⁴, 10⁻⁵ dan 10⁻⁶ digunakan untuk mendapatkan isolat bakteri tanah. Sebanyak 20µL dari masing-masing hasil pengenceran

dipindahkan dalam media NA dengan metode *spread plate* (Riandi dkk., 2013). Diinkubasi selama 48 jam kemudian setiap koloni tunggal ditransfer ke media NB dan dimurnikan kembali pada NA sampai memperoleh isolat murni.

3.5.5 Seleksi Bakteri Pendegradasi LDPE

Tiap-tiap isolat murni ditumbuhkan dalam media MSM agar yang telah ditambah bubuk LDPE menggunakan metode gores. Semua cawan petri diinkubasi dalam suhu 37°C selama 7 hari, setelah masa inkubasi selesai, dipilih bakteri yang mampu tumbuh dalam media MSM agar untuk dilakukan uji zona bening (Kunlere, *et al.*, 2019).

3.5.6 Uji Zona Bening

Isolat bakteri yang telah terseleksi selanjutnya ditumbuhkan kembali pada MSMA yang telah tercampur bubuk LDPE menggunakan metode titik, semua isolat diinkubasi selama 7 hari dalam suhu 37°C. Setelah masa inkubasi selesai, tiap-tiap cawan petri ditambah dengan 0,1% (w/v) larutan Coomassie blue R-250 dalam 40% (w/v) metanol dan asam asetat 10% (w/v) selama 20 menit. Larutan comassie blue kemudian dituang, dan cawan petri ditambah dengan 40% (w/v) metanol dan 10% (w/v) asam asetat selama 20 menit (Gupta *et al.*, 2016). Selanjutnya diukur zona bening tiap isolat menggunakan penggaris (Hudzicki, 2016). Cawan petri yang menghasilkan diameter zona bening paling lebar pada latar belakang biru dipilih untuk identifikasi lanjut

3.5.7 Identifikasi Bakteri Pendegradasi LDPE

3.5.7.1 Amplifikasi dengan direct PCR

Gen 16S rRNA dari bakteri pendegradasi LDPE diamplifikasi menggunakan metode *direct PCR amplification*. Tahapan yang dilakukan yaitu mengambil satu koloni bakteri menggunakan tusuk gigi steril, selanjutnya yaitu dipindahkan ke dalam tube PCR kemudian ditambahkan PCR mix sebanyak 12,5 μL , primer forward 27F 1 μL 10 pmol, primer reverse 1492R 1 μL 10 pmol, *nuclease free water* 9,5 μL . Tahap ini menggunakan pengaturan suhu 95°C selama 2 menit untuk proses denaturasi awal, selanjutnya denaturasi 95°C selama 30 detik, *annealing* dengan suhu 50°C selama 30 detik, elongasi dengan suhu 72°C selama 2 menit dan *extension* 72° C selama 7 menit. Proses ini dilakukan selama 30 siklus (Hoque, 2020).

3.5.7.2 Uji Kualitas Produk PCR

Larutan *buffer TAE 1X* 250 ml dibuat dengan mencampurkan 5 ml *TAE 50X* ke dalam 245 mL aquades. Gel agarosa 1% dibuat dengan melarutkan 0,3 g agarosa dalam *TAE 1X* volume 30 mL di dalam erlenmeyer. Dipanaskan menggunakan *microwave* selama 60 detik. Dituang ke dalam cetakan gel kemudian ditunggu sampai memadat. Dimasukkan gel agarose ke dalam tempat elektroforesis, dituang *TAE 1X* sampai gel agarose terendam, Selanjutnya, sampel DNA 5 μL dan ladder sebanyak 2 μL dimasukkan ke dalam sumuran gel yang berbeda. Proses uji kualitas

dilakukan dengan menggunakan elektroforesis 100 V selama 30 menit. Kemudian hasil elektroforesis dilihat dengan menggunakan alat *Geldoc*.

3.5.7.3 Sekuensing gen penyandi 16S rRNA

Hasil amplifikasi yang diperoleh kemudian dilakukan tahap *sequencing* menggunakan jasa PT. Bioneer, Korea Selatan. Hasil sekuens yang diterima selanjutnya dianalisis menggunakan web NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/) menu BLAST (*Basic Local Allignment Search Tools*) secara online (Haddad *et al.*, 2014). Data dianalisis dengan cara mencocokkan sekuens isolat bakteri yang diperoleh dengan sekuens bakteri yang telah tersedia di GenBank NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Potensi Isolat Bakteri Tanah TPA Supit Urang sebagai Pendekrasi Plastik LDPE

Hasil isolasi sampel tanah di TPA Supit Urang ditemukan dalam bentuk populasi bakteri campuran. Diperoleh total 35 koloni isolat bakteri. 19 isolat diperoleh dari pengenceran 10^{-4} , 10 isolat diperoleh dari pengenceran 10^{-5} dan pengenceran 10^{-6} didapatkan total 6 isolat (Tabel 4.1). Tiap-tiap isolat ditumbuhkan kembali pada media NA dengan metode *streak plate* agar diperoleh koloni bakteri. Menurut (Madigan, 1991) Metode *streak plate* dipilih sebagai metode untuk memperoleh koloni bakteri murni karena mudah dan cepat.

Tabel 4.1. Tabel hasil isolasi bakteri

No.	Pengenceran Sampel	Jumlah isolat yang ditemukan
1.	10^{-4}	19
2.	10^{-5}	10
3.	10^{-6}	6
Total		35

Bakteri yang ditemukan pada tanah tercemar sampah plastik LDPE dari TPA Supit Urang dapat dilihat aktivitas tumbuhnya melalui berkembang atau tidaknya tiap-tiap koloni bakteri pada media MSMA termodifikasi plastik. Bakteri yang mampu tumbuh dan berkembang pada media ini mengindikasikan kemampuannya dalam melakukan proses metabolisme (Gilan, *et al.*, 2004). Pada hasil seleksi tidak semua isolat dapat tumbuh dalam media MSMA termodifikasi plastik. Setelah dilakukan inkubasi selama 7 hari pada 35 isolat, 12 isolat mampu tumbuh melebar pada media ini. Sedangkan, 13 isolat

lainnya tidak mampu berkembang atau tidak ada pertambahan lebar isolat (tabel hasil seleksi dapat dilihat pada lampiran 2). 12 Isolat bakteri yang mampu tumbuh pada media modifikasi plastik dipilih untuk dilakukan uji lanjut.

Berdasarkan hasil inkubasi 12 isolat bakteri pada suhu 35°C diperoleh hasil ukuran zona bening yang tidak terlalu berbeda pada masing-masing isolat. Dapat dilihat pada tabel 4.2 bahwa rata-rata ukuran zona bening yang terbentuk memiliki kisaran angka yang tidak terpaut jauh antara 0.67 sampai 1.33 mm. Menurut Susanto., dkk (2012) perhitungan luas zona bening pada media dikategorikan lemah apabila kurang dari 5 mm. Berdasarkan nilai standar deviasi juga dapat diketahui bahwa variasi data relatif kecil karena nilai standar deviasi yang diperoleh lebih rendah jika dibandingkan dengan nilai rata-rata masing-masing isolat. Namun dari semua isolat, kode IS 2 dan IS 3 memiliki ukuran rata-rata zona bening paling lebar jika dibandingkan dengan isolat lainnya yaitu sebesar 1,33 mm (Gambar 4.1). Oleh sebab itu, isolat IS 2 dan IS 3 dipilih sebagai isolat yang diidentifikasi lebih lanjut untuk diketahui jenis dan karakteristiknya.

Tabel 4.2 Rata-rata ukuran zona bening pada masing-masing isolat uji setelah masa inkubasi 7 hari (3 kali ulangan)

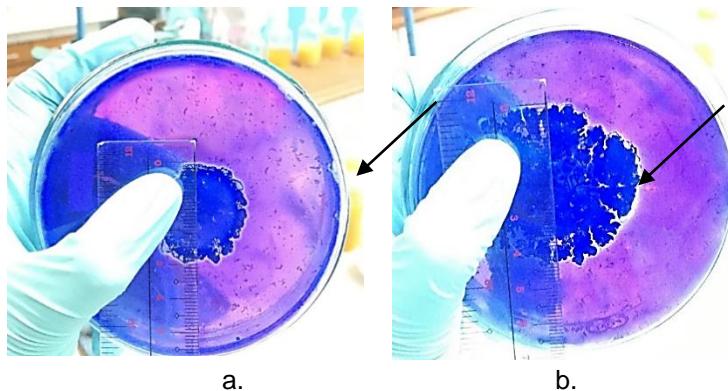
Kode isolat	Rata-rata ukuran zona bening (mm)	Standar deviasi
IS 1	1.17	0.38
IS 2	1.33	0.41
IS 3	1.33	0.72
IS 4	0.83	0.14
IS 5	0.67	0.38
IS 6	1.13	0.22

Kode isolat	Rata-rata ukuran zona bening (mm)	Standar deviasi
IS 7	1.17	0.29
IS 8	1.25	0.39
IS 9	1.17	0.29
IS 10	0.83	0.29
IS 11	0.91	0.40
IS 12	0.91	0.52

Isolat bakteri yang memiliki zona bening disekitar koloni menunjukkan adanya potensi dan efisiensi bakteri dalam menghasilkan enzim ekstraseluler yang digunakan untuk mengkatalis proses biodegradasi. Usha (2011) melaporkan bahwa zona bening yang tumbuh disekitar koloni merupakan enzim hidrolisis-plastik ekstraseluler yang dihasilkan oleh organisme target dalam media agar yang telah dimodifikasi. Diperkuat oleh Mohan (2010) bahwa biodegradasi oleh bakteri dapat terjadi karena adanya aktivitas enzim ekstraseluler yang dimiliki oleh masing-masing bakteri. Melalui proses enzimatis, bakteri dapat melakukan transformasi substansi hidrokarbon menjadi bentuk yang lebih sederhana yang dapat diserap oleh bakteri sebagai nutrisi bagi pertumbuhannya.

Kemampuan masing-masing isolat uji dalam mendegradasi LDPE dapat diketahui melalui perbedaan ukuran zona bening yang dihasilkan. Semakin besar ukuran zona bening yang dihasilkan maka semakin besar pula dugaan bahwa isolat tersebut mampu mendegradasi LDPE lebih cepat. Pengamatan zona bening pada tiap-tiap koloni bakteri diketahui setelah masing-masing koloni diwarnai dengan pewarna *comassie blue*. Menurut Rafiq *et al.*, (2018) dan Howard & Hilliard (1999) penggunaan *comassie blue* sebagai indikator degradasi polimer

oleh bakteri pada media padat dinilai cepat dan sensitif. Deteksi dilakukan berdasarkan pada kemampuan enzim untuk depolimerisasi polimer sehingga komposisi polimer disekitar koloni akan terpecah dan atau berkurang. Saat proses pewarnaan terjadi interaksi antara pewarna *comassie blue* dengan polimer pada cawan petri. Sehingga area yang berada disekitar koloni akan menghasilkan daerah bening karena komposisi polimer pada daerah tersebut sedikit bahkan tidak ada.



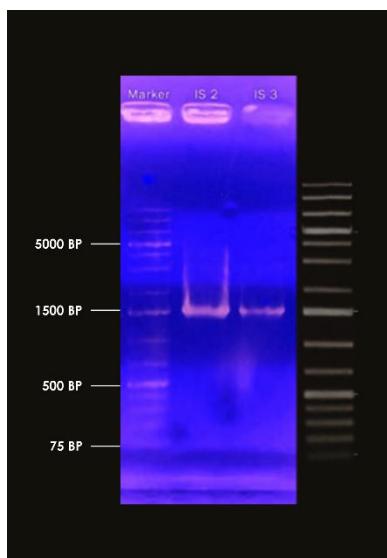
Gambar 4.1 Zona bening yang terbentuk pada kedua isolat.

- Zona bening pada IS 2
- Zona bening pada IS 3 (tanda panah)

4.2 Identifikasi Jenis Bakteri Tanah Pendegradasi Plastik LDPE berdasarkan Gen 16S rRNA

Berdasarkan hasil amplifikasi fragmen DNA gen 16S rRNA pada kedua isolat menunjukkan hasil yang baik, dapat diketahui melalui terlihatnya pita DNA pada sampel IS 2 dan IS 3 dengan kisaran *amplicon* 1500 bp sesuai marker (Gambar 4.3). Pita hasil PCR yang terlihat

menyindikasikan konsentrasi DNA yang dihasilkan cukup tinggi sehingga tervisualisasikan dengan jelas pada UV-transluminator. Ketentuan proses amplifikasi yang telah dilakukan menggunakan primer 27F dan 1492R menurut (Galkiewicz & Kellogg, 2008) merupakan pilihan yang tepat karena primer ini merupakan primer spesifik dan akurat jika digunakan untuk mengidentifikasi gen bakteri 16S rRNA dengan ukuran panjang sekitar 1.5 Kbp.



Gambar 4.2 Elektrofotogram hasil PCR IS 2 dan IS 3 pada gel agarose 1%

Hasil sekuensing kedua jenis isolat pendegradasi LDPE disejajarkan pada web server NCBI. Berdasarkan hasil penjajaran menunjukkan bahwa kode IS 2 memiliki kemiripan dengan jenis bakteri yaitu *Bacillus tequilensis* strain 10b yang memiliki tingkat kemiripan 97.25%. Sedangkan pada IS 3 memiliki kemiripan dengan jenis bakteri *Bacillus subtilis* strain NRRL NRS-744 dan

Bacillus subtilis strain NRRL B-4219 yang keduanya memiliki persentase kemiripan 98.75% (Tabel 4.3). Persentase minimum tingkat similaritas penjajaran sekuens bakteri dari golongan Firmicutes menurut Ibal et al., (2019) sebesar 95,57 %. Berdasarkan hasil sekuensing kedua isolat diketahui keduanya telah memenuhi ketentuan minimum persentase kesamaan.

Tabel 4.3 Hasil *blast* isolat bakteri

No.	Sampel Bakteri	Jenis Identik	Bakteri	NCBI Accession	% Kesamaan
1.	IS 2	<i>Bacillus tequilensis</i> strain 10b		NR_104919.1	97.25 %
2.	IS 3	<i>Bacillus subtilis</i> strain NRRL NRS-744		NR_116192.1	98.75%
		<i>Bacillus subtilis</i> strain NRRL B-4219		NR_116183.1	98.75%

Berdasarkan hasil penelitian bakteri mendegradasi LDPE yaitu isolat IS 2 dan IS 3 keduanya termasuk dalam golongan *Bacillus*. Kemampuan genus *Bacillus* dalam mendegradasi LDPE juga dikonfirmasi oleh penelitian-peneliti lain seperti dalam penelitian Balasubramanian, et al (2001) yang menyimpulkan bahwa *Bacillus cereus* yang diisolasi dari tanah TPA memiliki kemampuan mendegradasi LDPE. Dijelaskan bahwa spesies ini mampu memanfaatkan LDPE sebagai sumber karbon. Selanjutnya dalam Sudhakar (2008) melaporkan bahwa *Bacillus sphaericus* dan *B. cereus* mampu mendegradasi LDPE dan HDPE baik yang sudah maupun yang belum dimodifikasi dengan pati. Dalam penelitian Vimala & Mathew (2016) *Bacillus subtilis* dijelaskan mampu mendegradasi polietilen sebesar 9.26% dalam

waktu 30 hari dengan menghitung pengurangan berat polietilen. Sedangkan informasi mengenai kemampuan spesies *Bacillus tequilensis* dalam mendegradasi LDPE belum ada. Sehingga tidak dapat diketahui data penunjang mengenai kemampuan spesies ini dalam mendegradasi LDPE. Namun menurut penelitian Gatson, *et al* (2006) spesies *B. Tequilensis* memiliki kemiripan karakteristik dengan *B.subtilis* setelah dilakukan identifikasi secara biokimia maupun molekuler. Sehingga dapat diasumsikan bahwa *B.tequilensis* memiliki kemampuan yang sama dengan *B.subtilis*.

Menurut penelitian Devi *et al* (2015) Bakteri mampu memanfaatkan kontaminan untuk pertumbuhan dan reproduksi selnya sendiri. substrat tersebut akan menyediakan sumber karbon yang merupakan bahan utama untuk pembentukan sel baru. Selain itu, substrat juga menyediakan elektron yang dapat diekstraksi oleh bakteri untuk mendapatkan energi. Peran enzim ekstraseluler dibutuhkan untuk mengkatalis reaksi kimia yang melibatkan pemutusan rantai ikatan kimia dan transfer elektron dari substrat ke sel bakteri. Energi yang diperoleh dari transfer elektron akan bekerja sama dengan karbon untuk memproduksi sel baru.

Korelasi antara hasil penelitian ini dengan islam dilatar belakangi semakin bertambahnya jumlah sampah plastik di Indonesia khususnya di Kota Malang yang disebabkan oleh perilaku yang disengaja oleh manusia. Hal ini menimbulkan masalah yang sangat serius bagi lingkungan karena belum adanya solusi yang tepat. Allah SWT telah menyampaikan dalam Al-quran Surat Ar-rum ayat 41 yang isinya:

ظَهَرَ الْفَسَادُ فِي الْبَرِّ وَالْبَحْرِ بِمَا كَسَبَتْ أَيْدِي النَّاسِ لِيُذِيقُهُمْ بَعْضَ الَّذِي عَمِلُوا لَعْلَهُمْ
يَرْجِعُونَ

Artinya: "Telah tampak kerusakan di darat dan di laut disebabkan perbuatan tangan manusia; Allah menghendaki agar mereka merasakan sebagian dari (akibat) perbuatan mereka, agar mereka kembali (ke jalan yang benar)"

Tafsir Shihab (2002) pada ayat tersebut Allah mengehendaki untuk memberi hukuman kepada manusia di dunia atas perbuatan mereka yang tujuannya agar mereka bertaubat dan bertanggung jawab atas kerusakan alam yang telah diperbuat seperti kebakaran, kekeringan dan kerusakan alam lainnya. Sebagaimana sampah plastik yang terakumulasi di alam menyebabkan kerusakan. Dilain sisi, Allah menciptakan alam semesta sebagai rahmat untuk manusia. Manusia berhak memanfaatkannya untuk kelangsungan hidupnya. Dalam surat Al-Baqarah ayat 26 Allah berfirman:

إِنَّ اللَّهَ لَا يَسْتَحِي أَنْ يَضْرِبَ مَثَلًا مَا بَعْوَذَةً فَمَا فَوْقَهَا فَأَمَّا الَّذِينَ آمَنُوا فَيَعْلَمُونَ أَنَّهُ
الْحُقُّ مِنْ رَبِّهِمْ وَأَمَّا الَّذِينَ كَفَرُوا فَيَقُولُونَ مَاذَا أَرَادَ اللَّهُ بِهِمْ إِنَّمَا يُضْلِلُ بِهِ كَثِيرًا
وَيَهْدِي بِهِ كَثِيرًا وَمَا يُضْلِلُ بِهِ إِلَّا الْفَاسِقِينَ

Artinya: " Sesungguhnya Allah tidak segan membuat perumpamaan seekor nyamuk atau yang lebih kecil dari itu. Adapun orang-orang yang beriman, mereka tahu bahwa itu kebenaran dari Tuhan. Tetapi mereka yang kafir berkata, "Apa maksud Allah dengan perumpamaan ini?" Dengan (perumpamaan) itu banyak orang yang dibiarkan-Nya sesat, dan dengan itu banyak (pula) orang yang diberi-Nya petunjuk. Tetapi tidak ada yang Dia sesatkan dengan (perumpamaan) itu selain orang-orang fasik.

Allah memberikan perumpamaan kepada manusia untuk menjelaskan segala hakikat dengan bermacam makhluk hidup dan benda, baik kecil maupun besar. Orang yang tidak beriman

menganggap remeh makhluk kecil seperti nyamuk ini. Perumpamaan pada ayat ini merupakan sebab datangnya petunjuk bagi orang mukmin yang mencari-cari kebenaran (Shihab, 2002). Pada ayat tersebut menyebutkan bahwa ada makhluk hidup yang lebih kecil atau rendah daripada nyamuk. Dalam kajian biologis, suatu makhluk dikatakan lebih kecil atau rendah bukan hanya dilihat dari fisik atau sistem morfologis namun dapat diartikan juga secara fisiologis. Adapun makhluk hidup yang dimaksud salah satunya adalah bakteri. Bakteri merupakan makhluk hidup tingkat rendah karena melakukan aktivitas hidupnya hanya dengan satu sel saja. Namun demikian, bakteri merupakan salah satu organisme yang memiliki jumlah paling banyak dan lebih tersebar luas di seluruh alam jika dibandingkan dengan makhluk hidup lain.

Bakteri yang mampu mendegradasi plastik LDPE pada penelitian ini merupakan jenis bakteri yang menguntungkan dan dapat dimanfaatkan oleh manusia sebagai agen perbaikan alam. Dalam hal ini kerusakan lingkungan yang disebabkan oleh manusia memiliki solusi untuk proses pengelolaan dan pemeliharaan lingkungan sebagai media untuk beribadah kepada Allah SWT.

Allah Swt berfirman dalam surat Al-baqarah ayat 30 yang isinya:

وَإِذْ قَالَ رَبُّكَ لِلْمَلَائِكَةِ إِنِّي جَاعِلٌ فِي الْأَرْضِ خَلِيفَةً قَالُوا أَتَجْعَلُ فِيهَا مَنْ يُسْدِدُ فِيهَا
وَيَسْفِكُ الدَّمَاءَ وَنَحْنُ نُسَبِّحُ بِحَمْدِكَ وَنُقَدِّسُ لَكَ قَالَ إِنِّي أَعْلَمُ مَا لَا تَعْلَمُونَ

Artinya: "Dan (ingatlah) ketika Tuhanmu berfirman kepada para malaikat, "Aku hendak menjadikan khalifah di bumi." Mereka berkata, "Apakah Engkau hendak menjadikan orang yang merusak dan menumpahkan darah di sana, sedangkan kami

bertasbih memuji-Mu dan menyucikan nama-Mu?" Dia berfirman, "Sungguh, Aku mengetahui apa yang tidak kamu ketahui." Berdasarkan Shihab (2003) ayat tersebut diatas dapat dipahami bahwa Allah Swt telah menerangkan bahwa dia adalah yang menghidupkan manusia dan menempatkannya di bumi. Lalu Dia menerangkan asal penciptaan manusia dan apa-apa yang diberikan kepadanya berupa pengetahuan tentang berbagai hal. Allah menempatkan Adam dan cucu-cucunya di bumi sebagai khalifah untuk membangun bumi. Manusia sebagai khalifah dan juga makhluk berakal dituntut untuk memecahkan masalah yang ada di sekitar. Dalam penelitian ini, manusia memiliki misi ekologis untuk penyeimbang dan pemakmur lingkungan di bumi dari segala kerusakan.

Tujuan dilakukannya identifikasi pada kedua jenis bakteri pendegradasi LDPE tersebut yaitu agar digunakan sebagai referensi dan solusi dalam menanggulangi pencemaran sampah plastik. Hal ini sesuai dengan tugas khalifah yaitu penyeimbang bumi.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilaksanakan disimpulkan sebagai berikut:

1. Isolat bakteri kode IS 2 dan IS 3 berpotensi mendegradasi LDPE lebih cepat dibandingkan dengan 33 isolat lainnya didasarkan pada ukuran zona bening yang terbentuk. Zona bening yang terbentuk mengindikasikan adanya enzim ekstraseluler yang dikeluarkan oleh bakteri untuk mengakatalis proses pemanfaatan LDPE sebagai sumber karbon.
2. Identifikasi isolat IS 2 dan IS 3 berdasarkan gen 16S rRNA disimpulkan bahwa IS 2 memiliki persentase kemiripan sebesar 97.25% dengan bakteri jenis *Bacillus tequilensis* strain 10b. Selanjutnya bakteri IS 3 memiliki persentase kemiripan sebesar 98.75% dengan bakteri *Bacillus subtilis* strain NRRL NRS-744 dan *Bacillus subtilis* strain NRRL B-4219.

5.2 Saran

Saran untuk penelitian selanjutnya adalah:

1. Penelitian selanjutnya sebaiknya ditambahkan parameter lain untuk uji biodegradasi LDPE oleh isolat bakteri sebagai pembanding hasil uji.
2. Sebaiknya dilakukan karakterisasi enzim pendegradasi

LDPE sehingga diketahui jenis enzim yang berperan dalam proses biodegradasi. Enzim pendegradasi yang telah diidentifikasi nantinya diharapkan dapat dimanfaatkan secara langsung untuk mengurangi jumlah sampah plastik LDPE di lingkungan.

DAFTAR PUSTAKA

- Achilias, D. S., Roupakias, C., Megalokonomos, P., Lappas, A. A., & Antonakou, V. 2007. Chemical Recycling of Plastic Wastes Made from Polyethylene (LDPE and HDPE) and Polypropylene (PP). *Journal of Hazardous Materials*, 149(3), 536–542. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.06.076>
- Ahmed, T., Shahid, M., Azeem, F., Rasul, I., Shah, A. A., Noman, M., Muhammad, S. 2018. Biodegradation of plastics: current scenario and future prospects for environmental safety. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(8), 7287–7298. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-1234-9>
- Al-Jailawi, M. H., Ameen, R. S., & Al-Saraf, A. A. 2015. International Journal of Advanced Research in Biological Sciences Polyethylene degradation by *Pseudomonas putida* S3A. *Journal of International Environmental Application and Science*. 2(1), 90–97. Retrieved from www.ijarbs.com
- Al-Jailawi, M. H., Ameen, R. S., & Al-Saraf, A. A. 2015. International Journal of Advanced Research in Biological Sciences Polyethylene degradation by *Pseudomonas putida* S3A. *Int.J. Adv. Res. Biol.Sci.*, 2(1), 90–97. Retrieved from www.ijarbs.com
- Ali, S. S., Qazi, I. A., Arshad, M., Khan, Z., Voice, T. C., & Mehmood, C. T. 2016. Photocatalytic degradation of low density polyethylene (LDPE) films using titania nanotubes. *Environmental Nanotechnology, Monitoring and Management*, 5, 44–53. <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2016.01.001>
- Al-Quranul Karim dan Terjemah versi Kemenag RI. Bekasi: Dinamika Cahaya Pustaka
- Aminabhavi, T. M., Balundgi, R. H., & Cassidy, P. E. 1990. A Reviewed on Biodegradable Plastics. *Polymer-Plastics*

- Technology and Engineering*, 29(3), 235–262.
<https://doi.org/10.1080/03602559008049843>
- Augusta, J., Müller, R. J., & Widdecke, H. 1993. A Rapid Evaluation Plate-test for the Biodegradability of Plastics. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 39(4–5), 673–678. <https://doi.org/10.1007/BF00205073>
- Balasubramanian, S., Palanisamy, N., Ragunathan, R., & Pandiyaraj, N. (2001). *Investigation on biodegradability of polyethylene by Bacillus cereus strain Ma-Su isolated from compost.* (March 2015).
- Balasubramanian, V., Natarajan, K., Rajeshkannan, V., & Perumal, P. (2014). Enhancement of in Vitro High-Density Polyethylene (HDPE) Degradation by Physical, Chemical, and Biological Treatments. *Environmental Science and Pollution Research*, 21(21), 12549–12562. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3191-2>
- Bhardwaj, H., Gupta, R., & Tiwari, A. (2012). Microbial Population Associated With Plastic Degradation. *Open Access Scientific Reports*, 1(5), 10–13. <https://doi.org/10.4172/scientificreports>
- Bhatia, M., Girdhar, A., Tiwari, A., & Nayarisseri, A. 2014. Implications of a Novel *Pseudomonas* Species on Low Density Polyethylene Biodegradation: an in Vitro to in Silico Approach. *SpringerPlus*, 3(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-3-497>
- Bockhorn, H., Hornung, A., Hornung, U., & Schawaller, D. 1999. *Kinetic Study on the Thermal Degradation of Polypropylene and Polyethylene.* 48, 93–109.
- Bonhomme, S., Cuer, A., Delort, A. M., Lemaire, J., Sancelme, M., & Scott, G. 2003. Environmental Biodegradation of

- Polyethylene. *Polymer Degradation and Stability*, 81(3), 441–452. [https://doi.org/10.1016/S0141-3910\(03\)00129-0](https://doi.org/10.1016/S0141-3910(03)00129-0)
- Bosshard, P. P., Abels, S., Altwegg, M., Böttger, E. C., & Zbinden, R. 2004. Comparison of Conventional and Molecular Methods for Identification of Aerobic Catalase-Negative Gram- Positive Cocci in the Clinical Laboratory. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(5), 2065– 2073. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.5.2065-2073.2004>
- Boucher, Y., Dahllof, I., Holmstrom, C., & Doolittle, W. F. 2001. *Phylum XIII . Firmicutes Gibbons and Murray 1978 , 5 (Firmacutes [sic] Gibbons and Murray 1978 , 5). 5.*
- Cavanaugh, S. E., & Bathrick, A. S. 2018. Direct PCR amplification of forensic touch and other challenging DNA samples: A review. *Forensic Science International: Genetics*, 32(July 2017), 40–49. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2017.10.005>
- Chakravorty, S., Helb, D., Burday, M., Connell, N., & Alland, D. 2008. *16s rDNA Based Identification of Bacteria in the Organophosphates Treated Agricultural Soil.* 69(3), 330–339.
- Chee, J., Yoga, S., Lau, N., Ling, S., & Abed, R. M. M. 2010. *Bacterially Produced Polyhydroxyalkanoate (PHA): Converting Renewable Resources into Bioplastics.* 1395– 1404.
- Clarridge, J. E. 2004. Impact of 16S rRNA Gene Sequence Analysis for Identification of Bacteria on Clinical Microbiology and Infectious Diseases Impact of 16S rRNA Gene Sequence Analysis for Identification of Bacteria on Clinical Microbiology and Infectious Diseases. *Clinical Microbiology Reviews*, 17(4), 840–862. <https://doi.org/10.1128/CMR.17.4.840>

- Desai, V., Shenoy, M. A., & Gogate, P. R. 2008. Ultrasonic degradation of low-density polyethylene. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 47(9–10), 1451–1455. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2008.02.003>
- Devi, R., Kannan, V., Natarajan, K., Nivas, D., Kannan, K., Chandru, S., & Antony, A. 2015. The Role of Microbes in Plastic Degradation. In *Environmental Waste Management*. <https://doi.org/10.1201/b19243-13>
- Dilara, P. A., & Briassoulis, D. 2000. Degradation and Stabilization of Low-Density Polyethylene Films used as Greenhouse Covering Materials. *Journal of Agricultural and Engineering Research*, Vol. 76, pp. 309–321. <https://doi.org/10.1006/jaer.1999.0513>
- Dwijoseputro. 1994. Dasar-Dasar Mikrobiologi. Jakarta: Djembata
- Emerson, David, Agulto, L., Liu, H., dan Liu, L. 2008. Identifying and Characterizing Bacteria in an Era of Genomics and Proteomics. *BioScience*. 58 (10): 925-936.
- Eriksen, M., Lebreton, L. C. M., Carson, H. S., Thiel, M., Moore, C., J., Bornerro, J. C., Reisser, J. 2014. Plastic Pollution in the World's Oceans: More than 5 Trillion Plastic Pieces Weighing over 250,000 Tons Afloat at Sea. *PLoS ONE*, 9(12), 1–15. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111913>
- Esmaeili, A., Pourbabaee, A. A., Alikhani, H. A., Shabani, F., & Esmaeili, E. 2013. Biodegradation of Low-Density Polyethylene (LDPE) by Mixed Culture of *Lysinibacillus xylanilyticus* and *Aspergillus niger* in Soil. *PLoS ONE*, 8(9). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0071720>

Galkiewicz, J. P., & Kellogg, C. A. 2008. *Cross-Kingdom Amplification Using Bacteria -Specific Primers: Complications for Studies of Coral Microbial Ecology*. *□.* 74(24), 7828–7831. <https://doi.org/10.1128/AEM.01303-08>

Gatson JW, Benz BF, Chandrasekaran C, Satomi M, Venkateswaran K, Hart ME. *Bacillus tequilensis* sp. nov., isolated from a 2000-year-old Mexican shaft-tomb, is closely related to *Bacillus subtilis*. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2006 Jul;56(Pt 7):1475-1484. doi: 10.1099/ijsm.0.63946-0. PMID: 16825615.

Geyer, R., Jambeck, J. R., & Law, K. L. 2017. Production, Use, and Fate of All Plastics Ever Made. *Science Advances*, 3(7), 25–29. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1700782>

Gilan, I., Hadar, Y., & Sivan, A. 2004. Colonization, Biofilm Formation and Biodegradation of Polyethylene by a Strain of *Rhodococcus ruber*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 65(1), 97–104. <https://doi.org/10.1007/s00253-004-1584-8>

Gopinath, S. C., & Lakshmipriya, T. 2019. *Nanobiosensors For Biomolecular Targetin*. Netherlands: Elsevier.

Gultom, E., Nasution, M., & Ayu, A. 2017. *Seleksi Bakteri Pendegradasi Plastik dari Tanah*. 10(2).

Gupta, K., Deepa, D., & Deepanshu, R. 2016. *Isolation and Screening of Low Density Polyethylene (Ldpe) Degrading Bacterial Strains from Waste Disposal Sites*. 5(11), 1633–1643. <https://doi.org/10.20959/wjpr201611-7377>

Hidayat, T., Indrawati, I. 2020. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Pendegradasi Styrofoam asal Tanah Tempat Pembuangan Akhir Sarimukti Bandung. *Jurnal Pendidikan dan Biologi*. 12(2).

- Howard, G. T., & Hilliard, N. P. 1999. Use of Coomassie blue-polyurethane interaction in screening of polyurethanase proteins and polyurethanolytic bacteria. *International Biodegradation and Biodegradation*, 43(1–2), 23–30. [https://doi.org/10.1016/S0964-8305\(98\)00062-6](https://doi.org/10.1016/S0964-8305(98)00062-6)
- Hoque, M. 2020. Re: Best Protocol for 16S rRNA PCR using 27F and 1492R primers. Retrieved from: [https://www.researchgate.net/post/Best-protocol_for_16s_rRNA_PCR_using_27F_and_1492R_primers/5ec3ea2d05e0a136e5b9055/citation/download](https://www.researchgate.net/post/Best_protocol_for_16s_rRNA_PCR_using_27F_and_1492R_primers/5ec3ea2d05e0a136e5b9055/citation/download)
- Hudzicki, Jan. 2009. Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol. *American Society for Microbiology*.
- Hussein, A. A., Al-mayaly, I. K., & Khudeir, S. H. 2015. Isolation , Screening and Identification of Low Density Polyethylene (LDPE) Degrading Bacteria from Contaminated Soil with Plastic Wastes. *Mesopotamia Environmental Journal*, 1(4), 1–14.
- Ibal, J. C., Pham, H.Q., Park, C.E., Shing, J. 2019. Information about Variations in Multiple Copies of Bacterial 16S Rna Genes may aid in Species Identification. *PLOS One*. 14(2). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0212090>
- Jambeck, J. R., Wilcox, C., Siegler, T. R., Perryman, M., Narayan, R., & Lavender, K. 2015. Saving the Ocean From Plastic Waste. *The McKinsey Quarterly*, (November), 5–7.
- Janda, J. M., & Abbott, S. L. 2007. 16S rRNA Gene Sequencing for Bacterial Identification in the Diagnostic Laboratory: Pluses, Perils, and Pitfalls. *Journal of Clinical Microbiology*, 45(9), 2761–2764. <https://doi.org/10.1128/JCM.01228-07>
- Jekti, D. S. D. 2018. Peranan Mikroba Dalam Pengelolaan Lingkungan. *Prosiding Seminar Nasional Pendidikan*

Biologi, Program Studi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Mataram, 1–9.

Jordan, J. L., Casem, D. T., Bradley, J. M., Dwivedi, A. K., Brown, E. N., & Jordan, C. W. 2016. Mechanical Properties of Low Density Polyethylene. *Journal of Dynamic Behavior of Materials*, 2(4), 411–420.
<https://doi.org/10.1007/s40870-016-0076-0>

Koushal, V., Sharma, R., & Sharma, M. 2014. Plastics: Issues Challenges and Remediation. *International Journal of Waste Resources*, 04(01), 1–6.
<https://doi.org/10.4172/2252-5211.1000134>

Kumar Sen, S., & Raut, S. 2015. Microbial Degradation of Low Density Polyethylene (LDPE): A review. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 3(1), 462–473.
<https://doi.org/10.1016/j.jece.2015.01.003>

Kunlere, I. O., Fagade, O. E and Nwadike, B. I. 2019. Biodegradation of Low Density Polyethylene (LDPE) by Certain Indigenous Bacteria And Fungi. *International Journal of Environmental Studies*,
<https://doi.org/10.1080/00207233.2019.1579586>

Kuppeveld, F. J. M., Logt, J. T. M., Angulo, A. F., Zoest, M. J., Quint, W. G. V., Niesters, H. G. M., Galama, J. M. D., and Melchers, W. J. G. 1992. Genus- and Species-Specific Identification of Mycoplasmas by 16S rRNA Amplification. *Appl. Environ. Microbiol.* 58(8): 15-2606.

Kyaw, B. M., Champakalakshmi, R., Sakharkar, M. K., Lim, C. S., & Sakharkar, K. R. 2012. Biodegradation of Low Density Polythene (LDPE) byPseudomonas Species. *Indian Journal of Microbiology*, 52(3), 411–419.
<https://doi.org/10.1007/s12088-012-0250-6>

Liestiono, R. P., Cahyono, M. S., Widyawidura, W., Prasetya, A., & Syamsiro, M. 2017. Karakteristik Minyak dan Gas Hasil Proses Dekomposisi Termal Plastik Jenis Low Density Polyethylene (LDPE). *Jurnal Offshore: Oil, Production*

Facilities and Renewable Energy, 1(2), 1.
<https://doi.org/10.30588/jo.v1i2.288>

Loredo-Treviño, A., Gutiérrez-Sánchez, G., Rodríguez-Herrera, R., & Aguilar, C. N. 2012. Microbial Enzymes Involved in Polyurethane Biodegradation: A Review. *Journal of Polymers and the Environment*, 20(1), 258–265.
<https://doi.org/10.1007/s10924-011-0390-5>

Lucas, N., Bienaime, C., Belloy, C., Queneudec, M., Silvestre, F., & Nava-Saucedo, J. E. 2008. Polymer Biodegradation: Mechanisms and Estimation Techniques - A review. *Chemosphere*, 73(4), 429–442.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.06.064>

Magray, M. S. U. D, Kumar, A., Rawat, A. K., and Srivastava S. 2011. Identification of Escherichia coli through Analysis of 16S rRNA and 16S-23S rRNA Internal Transcribed Spacer Region Sequences. *Bioinformation*. 6(10): 370-371

Malpass, D. B. (2010). Introduction to Industrial Polyethylene: Properties, Catalysts, and Processes. In *Introduction to Industrial Polyethylene: Properties, Catalysts, and Processes*. <https://doi.org/10.1002/9780470900468>

Mohan, S. K., & Srivastava, T. 2010. Microbial Deterioration and Degradation of Polymeric Materials. *Journal of Biochemical Technology*, 2(4), 210–215.

Montazer, Z., Habibi-Najafi, M. B., Mohebbi, M., & Oromiehei, A. 2018. Microbial Degradation of UV-Pretreated Low-Density Polyethylene Films by Novel Polyethylene-Degrading Bacteria Isolated from Plastic-Dump Soil. *Journal of Polymers and the Environment*, 26(9), 3613–3625.
<https://doi.org/10.1007/s10924-018-1245-0>

Muhonja, C. N., Makonde, H., Magoma, G., & Imbuga, M. 2018. Biodegradability of Polyethylene by Bacteria and Fungi from Dandora Dumpsite Nairobi-Kenya. *PLoS ONE*, 13(7),

1–17. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0198446>

Mukred, A. M., Hamid, A. A., Hamzah, A., & Wan Yusoff, W. M. 2008. Enhancement of Biodegradation of Crude Petroleum-oil in Contaminated Water by the Addition of Nitrogen Sources. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 11(17), 2122–2127. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2008.2122.2127>

Nurhayati, A., Ummah, Z.I dan Shobron, S. 2018. Kerusakan Lingkungan dalam Al-quran. *Suhuf*. 30(2)

Ochman, H. 2005. Genomes on the Shrink. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)*. 102(34): 11959–11960

Paulik, C., Spiegel, G., & Jeremic, D. 2019. Bimodal Polyethylene: Controlling Polymer Properties by Molecular Design. *Multimodal Polymers with Supported Catalysts*, 243–265. https://doi.org/10.1007/978-3-03476-4_7

Ploux, L., Beckendorff, S., Nardin, M., Neunlist. (2018). Microbial Degradation of UV-Pretreated Low-Density Polyethylene Films by Novel Polyethylene-Degrading Bacteria Isolated from Plastic-Dump Soil. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 57(2), 174–181. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2007.01.018>

Pratiwi, and Sylvia, T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga,

Premraj, R., & Doble, M. 2005. *Biodegradation of Polymers*. 4(April), 186–193.

Puspitasari, I., Trianto, A., & Suprijanto, J. 2020. Eksplorasi Bakteri Pendegradasi Minyak dari Perairan Pelabuhan Tanjung Mas, Semarang. *J. of Marine Research*, 9(3), 281–288.

Rafiq, S., Fahmida, F & Shahina, S.K. 2018. Biodegradation of Low Density Polyethylene (LDPE) by Halophilic Bacteria Isolated from Solar Saltpans Kovalam, Chennai. *An International Quarterly Scientific Journal.* 17(4).

Riandi, I., Retno, K., & Sang, K. S. 2013. 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). *Journal of Chemical Information and Modeling,* 53(9), 1689–1699. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>

Rohaeti, E. 2009. Karakterisasi Biodegradasi Polimer. *Prosiding Seminar Nasional Penelitian, Pendidikan Dan Penerapan MIPA,* 47, 248–257.

Saleh, C., & Purnomo, H. 2014. Analisis Efektifitas Instalasi Pengolahan Lindi TPA Supit Urang Semarang. *Jurnal Teknik Pengairan,* 5(1), 103–109.

Shah, A. A., Hasan, F., Hameed, A., & Ahmed, S. 2008. Biological Degradation of Plastics: A Comprehensive Review. *Biotechnology Advances,* 26(3), 246–265. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2007.12.005>

Shihab, Q. 2002. *Tafsir Al-Misbah Pesan, Kesan, dan Keserasian AlQur'an.* Jakarta: Lentera Hati Press.

Sihombing, M. C. H., Simbala, H. E. I., & Yudistira, A. 2018. Isolasi, Identifikasi Secara Molekuler Menggunakan Gen 16s rRNA dan Uji Aktivitas Antibakteri dari Bakteri Simbion Endofit Alga *Padina sp.* *Jurnal Ilmiah Farmasi.* 7(2), 41–52.

Singh, G., Singh, A. K., & Bhatt, K. 2016. Biodegradation of Polyethylene by Bacteria Isolated from Soil. *Int. J. Res. Dev. Pharm. L. Sci. International Journal of Research and*

Development in Pharmacy and Life Sciences, 5(2), 2056–2062.

Sivan, A. 2011. New Perspectives in Plastic Biodegradation. *Current Opinion in Biotechnology*, 22(3), 422–426. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2011.01.013>

Slonczewski, J. L and Foster, J.W. 2009. *Microbiology: an Envolving Science*. London: W.W Norton & company, Inc

Stolp H and Starr MP., 1981. *Principle of Isolation, Cultivation, and Conservation of Bacteria: The Prokaryots*, Springer, Verlag Berlin Heidleberg

Sudhakar, A.J., M., Arkatkar, A., Doble, M., Bhaduri, S., & Uppara, P. V. (2008). Biodegradation of polyethylene and polypropylene. *Indian Journal of Biotechnology*, 7(1), 9–22.

Suendra. 1991. *Buku pedoman mata ajaran mikrobiologi lingkungan*. Jakarta: Pusat pendidikan tenaga kesehatan Depkes RI.

Susanto, D., Sudradjat, dan Ruga, R. 2012. Studi Kandungan Bahan Aktif Tumbuhan Meranti Merah (*Shorea leprosula Miq*) sebagai Sumber Senyawa Antibakteri. 11(2).

Talkad, M. S., C, C., S, K., S, Q. S., Maria, S., Raj, A., & Javed, A. 2014. Microbial Degradation of Plastic (LDPE) & Domestic Waste by Induced Mutations in *Pseudomonas putida*. *International Journal of Ethics in Engineering & Management Education Website: Wwww.ijeee.In*, 1(5), 2348–4748.

Thomas, P. 2004. Bacteria and Viruses. In *Physician Assistant Clinics* (Vol. 4). <https://doi.org/10.1016/j.cpha.2018.11.003>

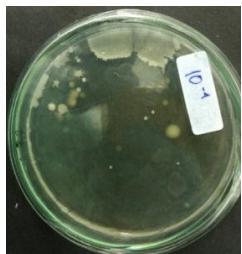
Usha, R., Sangeetha, M & Palaniswamy. 2011. Screening of Polyethylene Degrading Microorganisms from Garbage Soil. *Libyan Agriculture Research Center Journal*

International. 2(4).199

- Vimala, P. P., & Mathew, L. 2016. Biodegradation of Polyethylene using *Bacillus subtilis*. *Procedia Technology*, 24, 232–239. <https://doi.org/10.1016/j.protcy.2016.05.031>
- Volke-Seplveda, T., Saucedo-Castaeda, G., Gutierrez-Rojas, M., Manzur, A., & Favela-Torres, E. 2002. Thermally treated low density polyethylene biodegradation by *Penicillium pinophilum* and *Aspergillus niger*. *Journal of Applied Polymer Science*, 83(2), 305–314. <https://doi.org/10.1002/app.2245>
- Waldman, W. R., & De Paoli, M. A. 1998. Thermo-mechanical Degradation of Polypropylene, Low-density Polyethylene and their 1:1 Blend. *Polymer Degradation and Stability*, 60(2–3), 301–308. [https://doi.org/10.1016/s0141-3910\(97\)00083-9](https://doi.org/10.1016/s0141-3910(97)00083-9)
- Wulandari, Rita. 2011. Analisis Gen 16s rRNA pada Bakteri Penghasil Enzim Fitase. *Thesis*. Surakarta: Universitas Sebelas Maret
- Yang, B., Wang, Y., & Qian, P. Y. 2016. Sensitivity and correlation of hypervariable regions in 16S rRNA genes in phylogenetic analysis. *BMC Bioinformatics*, 17(1), 1–8.
- Yolantika, H., Periadnadi, & Nurmiati. 2015. Isolasi Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon di Tanah Tercemar Lokasi Perbengkelan Otomotif. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*, 4(September), 153–157.
- Yuwono, T. 2009. *Biologi Molekuler*. Jakarta: Erlangga

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Isolasi



10^{-4}



10^{-5}



10^{-6}

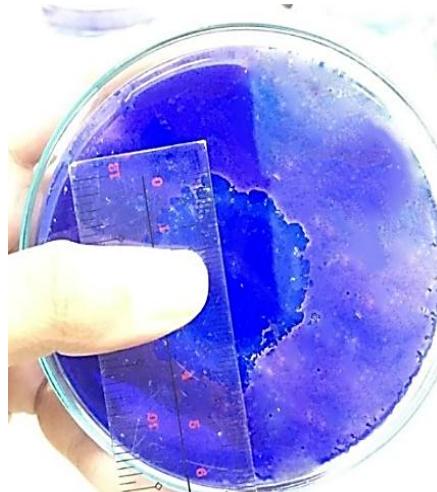
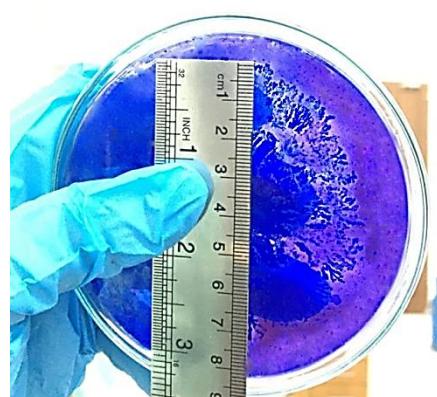
Lampiran 2. Tabel Hasil Seleksi Bakteri pada Media MSMA

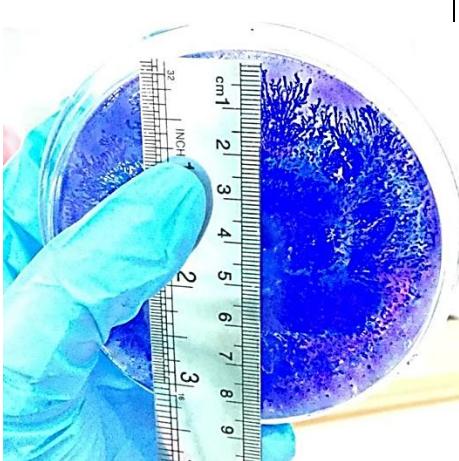
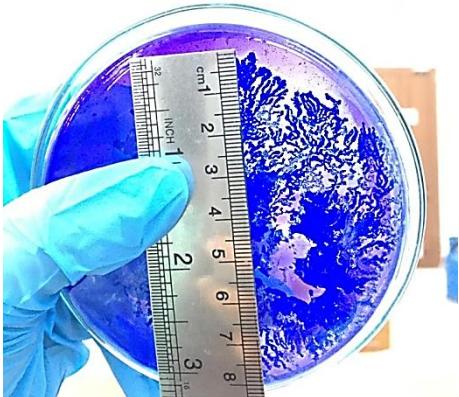
Kode Isolat	Hasil Uji
IS 1	++
IS 2	++
IS 3	++
IS 4	++
IS 5	++
IS 6	++
IS 7	++
IS 8	++
IS 9	++
IS 10	+++
IS 11	++
IS 12	++
IS 13	+
IS 14	+
IS 15	+
IS 16	+
IS 17	+
IS 18	-
IS 19	+
IS 20	+
IS 21	+
IS 22	-
IS 23	+
IS 24	+
IS 25	+
IS 26	+
IS 27	+
IS 28	+
IS 29	+
IS 30	+
IS 31	-
IS 32	+
IS 33	+
IS 34	+
IS 35	+

Keterangan:

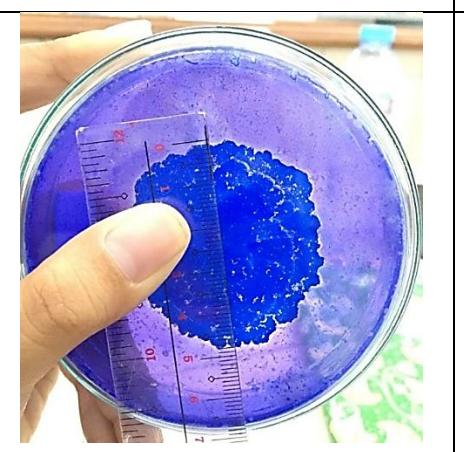
- : Tidak mampu tumbuh pada media MSMA
- + : Isolat tumbuh sedikit (sesuai lokasi gores)
- ++ : Isolat tumbuh banyak (berkembang)
- +++ : Isolat tumbuh sangat banyak

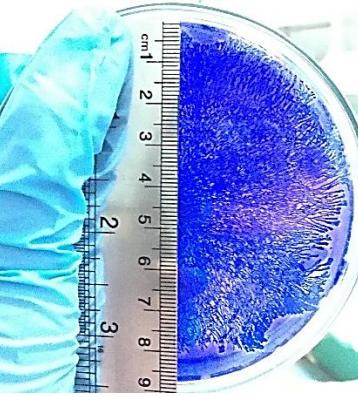
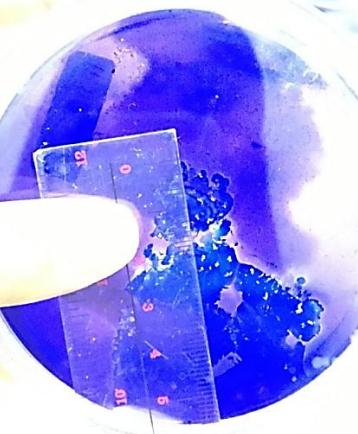
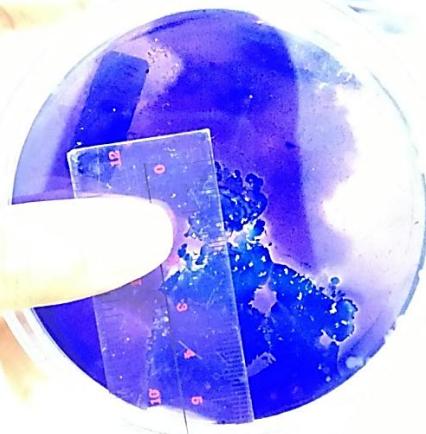
Lampiran 3. Hasil Uji Zona Bening Ulangan 1

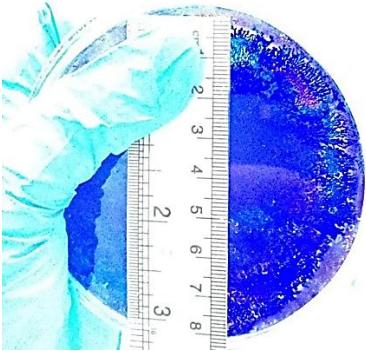
No.	Kode Isolat	Gambar Zona Bening	Ukuran Zona bening (mm)
1.	IS 1		1.5
1.	IS 2		1.5

2.	IS 3	 A petri dish containing a dense, granular bacterial culture, likely Staphylococcus aureus, is shown next to a metric ruler. The ruler is marked in centimeters (cm) from 1 to 9 and inches (INCH) from 1 to 3. A blue-gloved hand is visible on the left side of the dish. <p>1.75</p>
3.	IS 4	 A petri dish containing a dense, granular bacterial culture, likely Staphylococcus aureus, is shown next to a metric ruler. The ruler is marked in centimeters (cm) from 1 to 9 and inches (INCH) from 1 to 3. A blue-gloved hand is visible on the left side of the dish. <p>1</p>

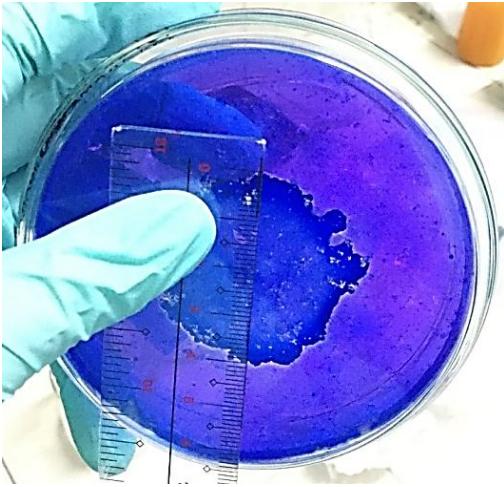
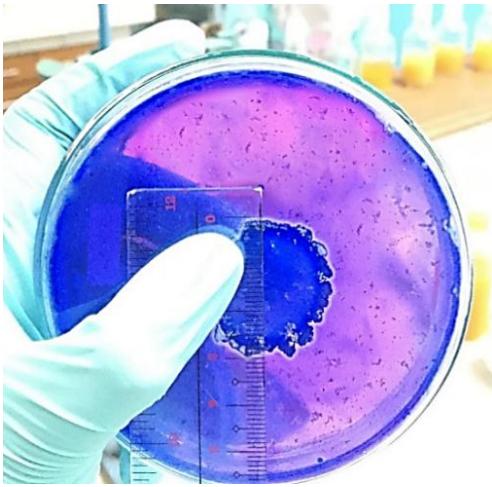
4.	5	 A photograph of a petri dish containing a bacterial culture. A clear ruler is placed across the dish, showing markings from 0 to 15 mm. A yellow circular marker is positioned at the 0 mm mark. A white circular marker is positioned at approximately 11.5 mm. The bacterial growth appears as a dense, white, fuzzy area.	1
5.	6	 A photograph of a petri dish containing a bacterial culture. A clear ruler is placed across the dish, showing markings from 0 to 15 mm. A yellow circular marker is positioned at the 0 mm mark. A white circular marker is positioned at approximately 11.5 mm. The bacterial growth appears as a dense, white, fuzzy area.	1.375

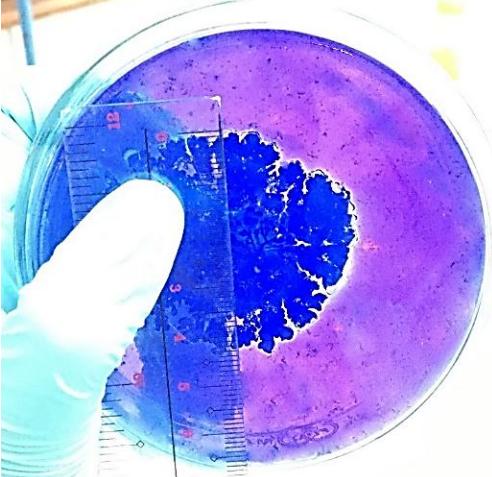
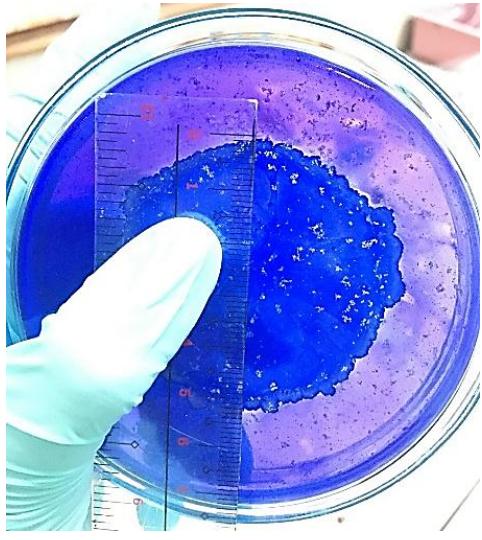
6.	7	 A petri dish containing a dense, blue-colored bacterial culture. A metric ruler is placed across the culture to measure its diameter. The ruler shows markings from 0 to 7 cm, with the 0 mark at the edge of the culture.	1.5
7.	8	 A petri dish containing a dense, blue-colored bacterial culture. A metric ruler is placed across the culture to measure its diameter. The ruler shows markings from 0 to 7 cm, with the 0 mark at the edge of the culture.	

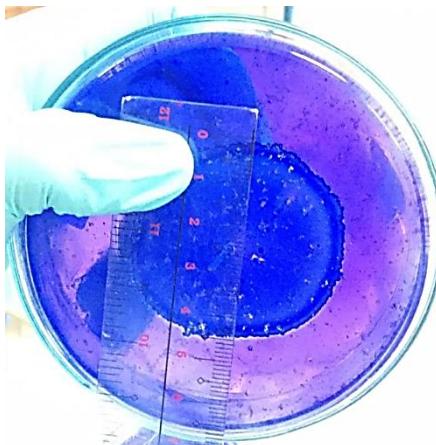
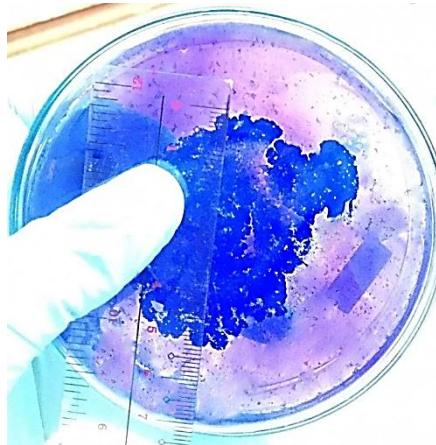
8.	9	 A petri dish containing a dense, blue-colored bacterial culture. A clear ruler is placed across the dish to measure the diameter of the growth. The ruler is marked in centimeters (cm) from 0 to 10.	1
9.	10	 A petri dish containing a dense, blue-colored bacterial culture. A clear ruler is placed across the dish to measure the diameter of the growth. The ruler is marked in centimeters (cm) from 0 to 10.	1
10.	11	 A petri dish containing a dense, blue-colored bacterial culture. A clear ruler is placed across the dish to measure the diameter of the growth. The ruler is marked in centimeters (cm) from 0 to 10.	1

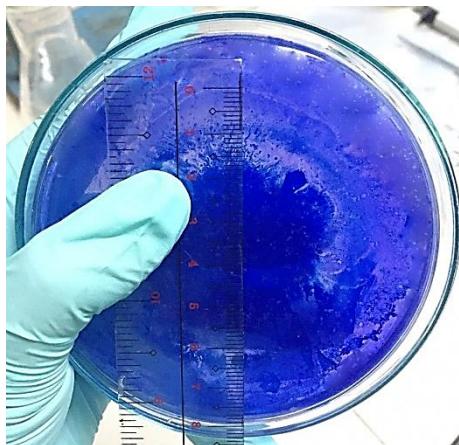
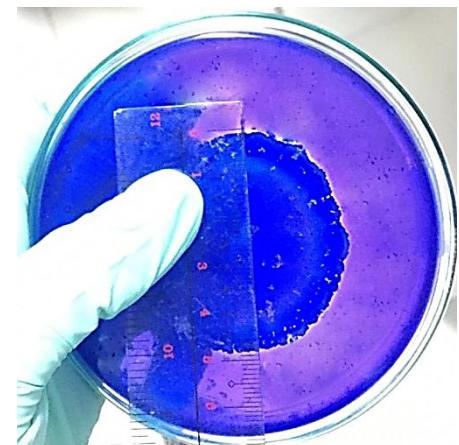
11.	12		0.5
-----	----	---	-----

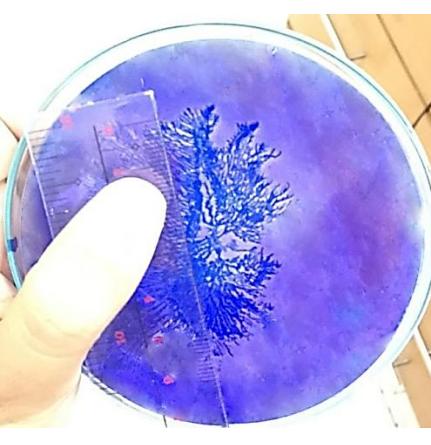
Lampiran 4. Hasil Uji Zona Bening Ulangan 2

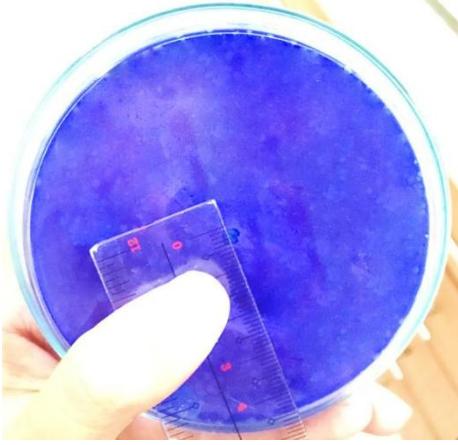
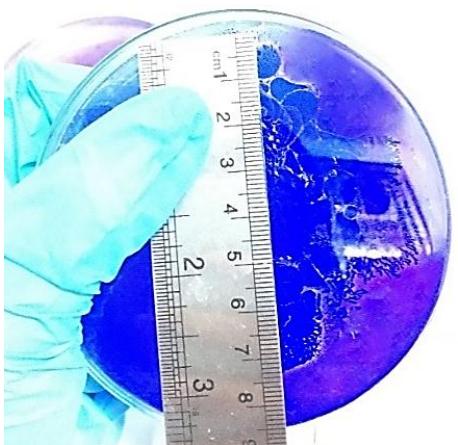
No.	Kode Isolat	Gambar	Ukuran Zona Bening (mm)
1.	IS 1		0.75
2.	IS 2		1

3.	IS 3		1.75
4.	IS 4		0.75

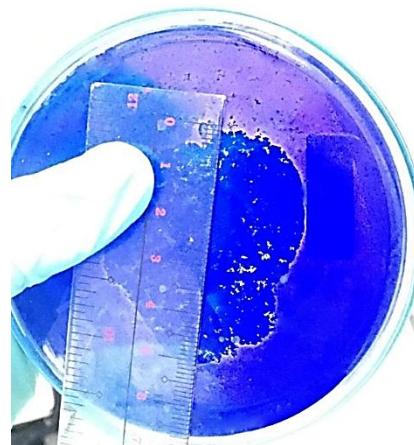
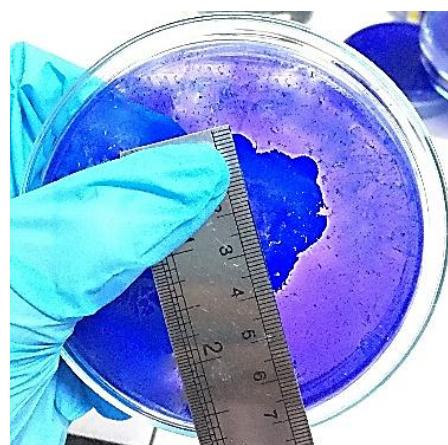
5.	IS 5	 A petri dish containing a bacterial culture. A white ruler is placed across the dish, showing markings from 1 to 12. The bacterial growth is visible as a dark purple, irregularly shaped area.	0.75
6.	IS 6	 A petri dish containing a bacterial culture. A white ruler is placed across the dish, showing markings from 1 to 12. The bacterial growth is visible as a dark purple, irregularly shaped area.	1

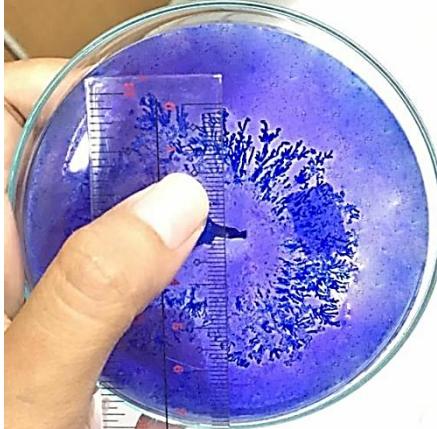
7.	IS 7	 A petri dish containing a blue bacterial lawn. A circular zone of inhibition is visible in the center, surrounded by a clear area. A ruler is placed vertically across the dish to measure the diameter of the inhibition zone.	1
8.	IS 8	 A petri dish containing a purple bacterial lawn. A large, irregularly shaped zone of inhibition is visible in the center, surrounded by a clear area. A ruler is placed vertically across the dish to measure the diameter of the inhibition zone.	1.25

9.	IS 9	 A petri dish containing a bacterial culture. The bacteria have formed a dense, irregular, dark blue-grey colony on a purple agar medium. A ruler is placed across the dish to measure the diameter of the colony.	1.5
10.	IS 10	 A petri dish containing a bacterial culture. The bacteria have formed a dense, branching, dark blue-grey colony on a purple agar medium. A ruler is placed across the dish to measure the diameter of the colony.	1

11.	IS 11		1.25
12.	IS 12		1.5

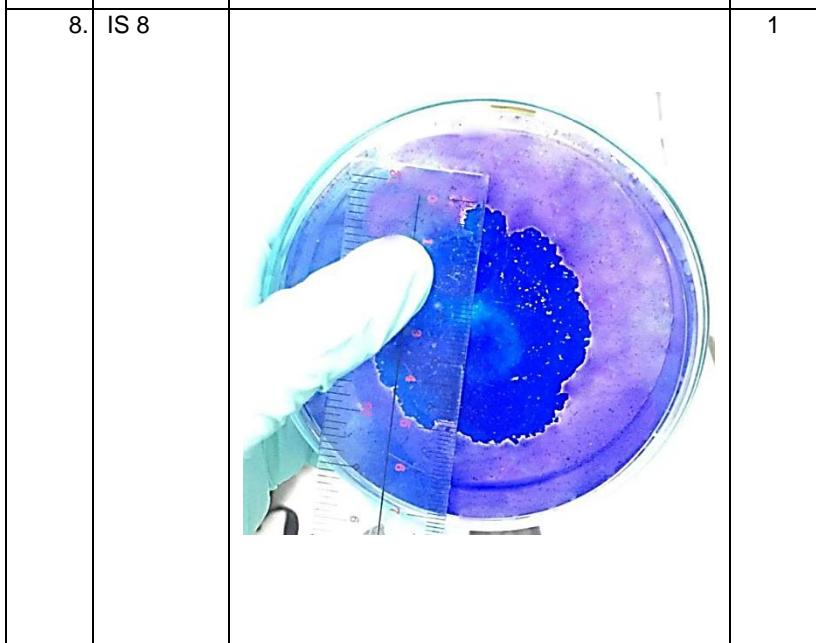
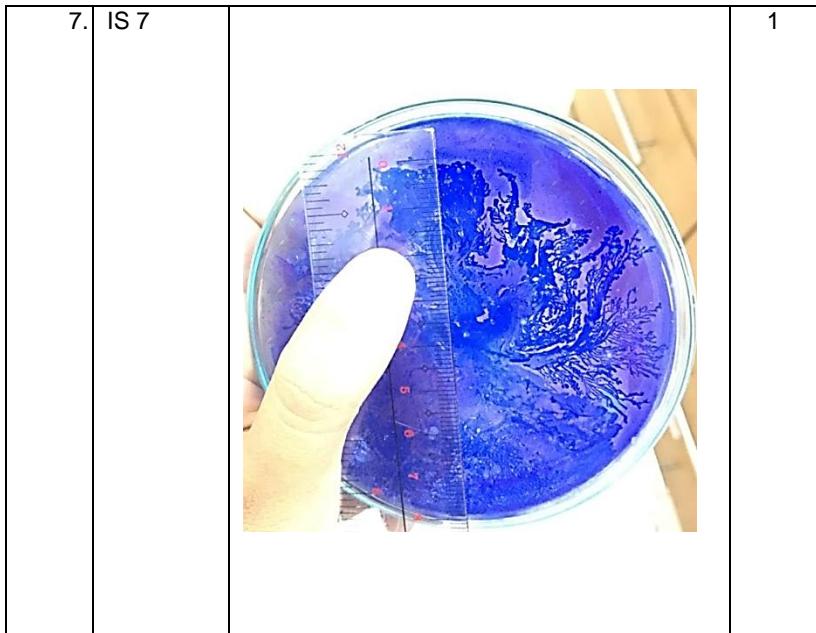
Lampiran 5. Hasil Uji Zona Bening Ulangan 3

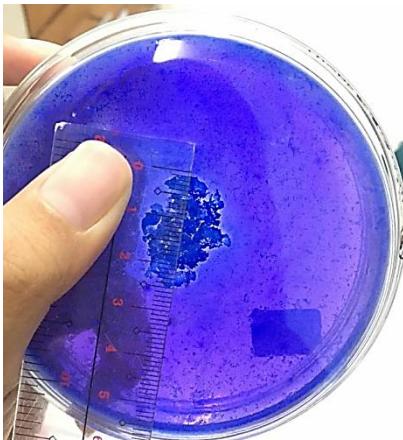
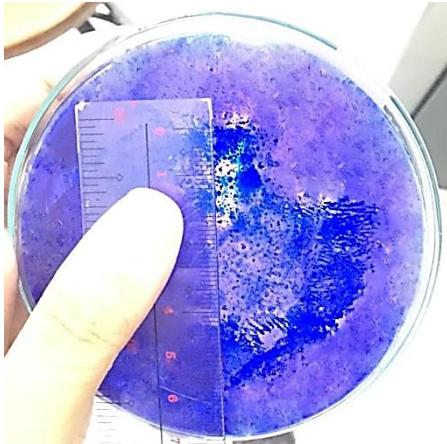
No.	Kode Isolat	Gambar	Ukuran Zona Bening (mm)
1.	IS 1		1.25
2.	IS 2		1.5

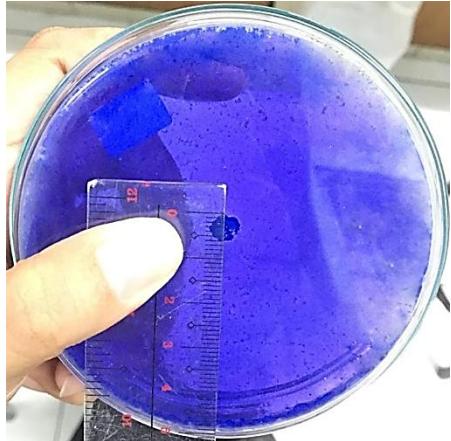
3.	IS 3		0.5
4.	IS 4		0.75

5.	IS 5	 A Petri dish containing a dense, granular bacterial culture, likely Staphylococcus aureus, stained purple. A ruler is placed across the dish to measure the diameter of the growth. The ruler scale is visible from 0 to 12 mm.	0.25
6.	IS 6	 A Petri dish containing a sparse, granular bacterial culture, likely Staphylococcus aureus, stained purple. A ruler is placed across the dish to measure the diameter of the growth. The ruler scale is visible from 0 to 12 mm.	1

70



9.	IS 9	 A petri dish containing a blue bacterial culture. A ruler is placed across the dish, showing measurements from 0 to 10 mm. A finger points to the ruler for scale.	1
10	IS 10	 A petri dish containing a blue bacterial culture. A ruler is placed across the dish, showing measurements from 0 to 10 mm. A finger points to the ruler for scale.	0.5

11	IS 11	 A photograph of a petri dish containing a uniform blue bacterial lawn. A clear ruler is placed across the dish, showing markings from 0 to 12 mm. A person's finger is visible on the left side of the dish.	0.5
12	IS 12	 A photograph of a petri dish containing a blue bacterial lawn with several irregular, white, and textured colonies. A clear ruler is placed across the dish, showing markings from 0 to 12 mm. A person's finger is visible on the left side of the dish.	0.75

Lampiran 6. Rumus Pengukuran Zona Bening

$$Zb = \frac{(d_1+d_2)-(b_1+b_2)}{2}$$

Keterangan:

- Zb : Ukuran zona bening
- d1 : Diameter vertikal koloni
- d2 : Diameter horizontal koloni
- b1 : Diameter vertikal zona bening
- b2 : Diameter horizontal zona bening

Lampiran 7. Rumus Standar Deviasi

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

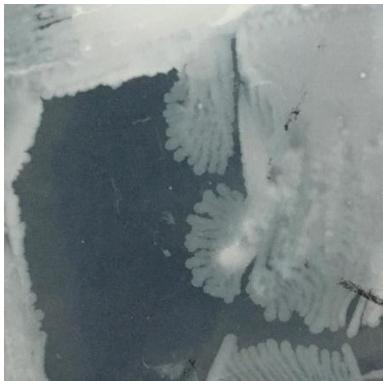
Keterangan:

S = Standar deviasi

n = jumlah data

x = nilai data

\bar{x} = nilai rata-rata data

Lampiran 8. Pengamatan Makroskopis

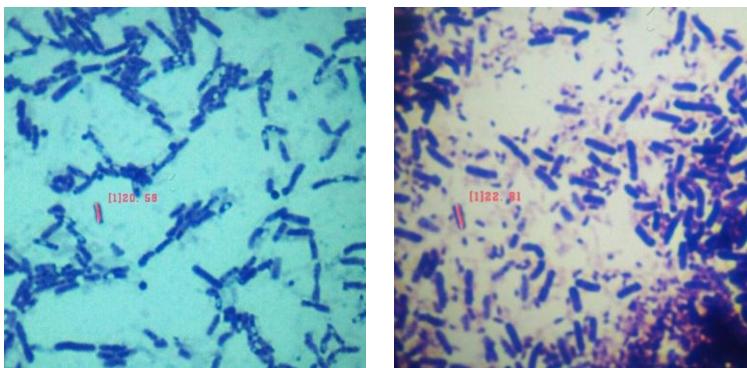
IS 2



IS 3

Tabel Hasil Pengamatan Makroskopis

Kode isolat	Bentuk	Warna	Tepian	Elevasi
IS 2	<i>Irregular</i>	Putih	<i>lobate</i>	<i>raised</i>
IS 3	<i>Round</i>	Putih	<i>Entire</i>	<i>Umbonate</i>

Lampiran 9. Pengamatan Mikroskopis

A.

B.

Tabel Karakteristik Hasil Cat Gram Pada Bakteri

Koloni Bakteri	Ukuran	Bentuk Sel	Jenis Gram
IS 2	20.59 nm	Batang	Positif
IS 3	22.81 nm	Batang	Positif

Lampiran 10. Hasil Sekuensing IS 2

CTAACATCTGGTTCACTTCGGCGCTGGCTCTAAAGGTTACCTCACCGACTTCGGGTGT
TACAAACTCTCGTGGTGTGACGGGCGGTGTGACAAGGCCGGAACGTATTACCGCGG
CATGCTGATCCCGATTACTAGCGATTCCAGCTCACGCAGTCGAGTTGCAGACTGCGAT
CCGAACGTGAGAACAGATTGTGGGATTGGCTTAACCTCGCGGTTCGCTGCCCTTGTTC
TGTCCATTGTAGCACGTGTAGGCCAGGTCTAAGGGCATGATGATTGACGTCATCC
CCACCTTCCTCCGGTTGTCAACCGCAGTCACCTTAGAGTGCCCACACTGAATGCTGGCAA
CTAAGATCAAGGGTGTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGA
CGACAACCATGCACCCACCTGTCACTCTGCCCCGAAGGGGACGTCCTATCTTAGGATTG
TCAGAGGATGTCAGAACCTGTAAGGTTCTCGCGTTGCTCGAATTAAACCATGCTC
CACCGTTGTGCGGGCCCCGTCAATTCTTGAGGTTAGCTTGCGACCGTACTCCCC
AGGCAGGTGCTTAATCGCTTAGCTGAGCACTAAGGGCGGAAACCCCTAACACTTAG
CACTCATCGTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCTGTCGCTCCCCACGCTT
CGCTCCTCAGCGTCACTACAGACCAGAGACTGCCCTCGCACTGGTGTCCACAT
CTCTACGATTTACCGCTACACGTGAAATTCACTCTCTCTGCACACTCAAGTTCCC
CAGTTTCAAATGACCCCTCCCGGTTGAGCCGGGGCTTCACATCAGACTTAAGAAACCG
CCTGCGAGCCCTTACGCCAATAATTCCGGACAACGCTTGCCACCTACGTATTACCGC
GGCTGCTGGCCACGTAGTTAGCCGTGGCTTCTGGTAAGTACCGTCAAGTACGCCCTAT
TCGAACGGTACTGTCTTCCCTAACAAACAGAGCTTACGATCCGAAAACCTCATCACCT
CCACGGCGGCGTGCCTCCGGTCAGACTTCGTCAATTGCGAGGATTCTACTGCCCTGCCT
CCGTAGAGTCTGGGCCGTCTCCAGTTCCAGTTGTCGATCACCCCTCTCAGTCGCTAG
CATCGTTGCCGTGTGAACGATACTCACCAACTAGGCTTATATGCCCTCG

Lampiran 11. Hasil Sekuensing IS 3

CTAAATGATTGGCGGCTTGTCTATACATGCAAGTCGAGCGGACAGATGGGAGCTTGCTCCC
TGATGTTAGCGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTGCCTGTAAGACTGGGATAA
CTCCGGAAACCGGGCTAATACCGGATGGTGTGTTGAACCGCATGGTCAAACATAAAA
GGTGGCTCGGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCCATTAGCTAGTTGGTAGGGTAA
CGGCTACCAAGGCAACGATCGTAGCCACCTGAGAGGGTGTACGCCACACTGGGACT
GAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTCCGCAATGGACGAAA
GTCTGACGGAGCAACGCCGCGTAGGTGATGAAGGTTTCGGATCGTAAAGCTGTGTT
AGGGAAGAACAAAGTACCGTTCGAATAGGGCGTACCTTGACGGTACCTAACAGAAAGCC
ACGGCTAACTACGTGCCAGCCGCGGTAAACGTAGGTGGCAAGCGTTGCCGAATT
ATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGCGGTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCGGCTCAA
CCGGGGAGGGTCAATTGAAACTGGGAACTTGAGTGAGAAGAGGAGAGTGGAAATCCAC
GTGTAGCGGTGAAATCGTAGAGATGTGGAGAACCCAGTGGCGAAGGCGACTCTCTGG
TCTGTAACTGACGCTGAGGAGCAGCGGAGGAGCAGGATTAGATAACCTGGTA
GTCCACGCCGTAACGATGAGTGCTAAAGTGTAGGGGTTCCGCCCTTAGTGTGAG
CTAACGCATTAAGCACTCCGCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATT
GACGGGGGCCGACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATCGAAGCACGCGAAGAACCAT
ACCAGGTTCTTGACATCCTTGACAATCTAGAGATAGGACGTCCCTTCGGGCAGAGT
GACAGTGGTGCATGGTGTGTCGTCAGCTCGTGGTCTGAGAATGTCTGG



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp (0341) 558933, Fax. (0341) 558933

KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama	: Roudlotus Solicha
NIM	: 16620082
Program Studi	: SI Biologi
Semester	: Genap TA 2019/2020
Pembimbing	: Priya Dewi Fitriasari, M.Sc
Judul Skripsi	: Isolasi dan Identifikasi Bakteri Pendegradasi Plastik <i>Low Density Polyethylene</i> (LDPE) dari Tempat Pemrosesan Akhir Supit Urang, Malang

No	Tanggal	Urutan Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	13 Januari 2020	Konsultasi BAB I	
2.	17 Januari 2020	Finalisasi BAB I	
3.	28 Januari 2020	Konsultasi BAB II	
4.	7 Februari 2020	Revisi BAB II	
5.	24 Februari 2020	Finalisasi BAB II	
6.	4 Maret 2020	Konsultasi BAB III	
7.	11 Maret 2020	Finalisasi BAB III	
8.	13 Mei 2020	Review BAB I, II, III	
9.	24 Februari 2021	Konsultasi BAB IV	
10.	10 Maret 2021	Revisi BAB IV dan Konsultasi BAB V	
11.	15 Maret 2021	Finalisasi BAB IV dan Revisi BAB V	
12.	28 Maret 2021	Finalisasi BAB V	

Malang, 2 April 2021

Ketua Program Studi,

Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP.197410182003122002

Pembimbing Skripsi,

Priya Dewi Fitriasari, M.Sc
 NIP. 19900428201608012062



KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama	:	Roudlotus Solicha
NIM	:	16620082
Program Studi	:	S1 Biologi
Semester	:	Genap Th 2020/2021
Pembimbing	:	Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I
Judul Skripsi	:	Isolasi dan Identifikasi Bakteri Pendegradasi Plastik <i>Low Density Polyethylene</i> (LDPE) dari Tempat Pemrosesan Akhir Supit Urang, Malang

No	Tanggal	Urutan Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	31 Januari 2020	Konsultasi Integrasi BAB I	
2.	06 Februari 2020	Revisi BAB I	
3.	10 Februari 2020	Acc BAB I Proposal	
4.	18 Maret 2021	Konsultasi Integrasi BAB IV	
5.	25 Maret 2021	Acc BAB IV Skripsi	

Pembimbing Skripsi,

Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I
NIP. 19890113 20180201 1 244

Malang, 25 Maret 2021
Ketua Program Studi,

Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP.19741018 200312 2 002