

UJI AKTIVITAS BIODEGRADASI PADA PLASTIK LDPE (*Low Density Polyethylene*) MENGGUNAKAN *Bacillus subtilis* DAN *Aspergillus niger*

SKRIPSI

**Oleh:
SAIFA APRILIA SIDQUNI
NIM. 18630098**



**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2023**

UJI AKTIVITAS BIODEGRADASI PADA PLASTIK LDPE (*Low Density Polyethylene*) MENGGUNAKAN *Bacillus subtilis* DAN *Aspergillus niger*

SKRIPSI

**Oleh:
SAIFA APRILIA SIDQUNI
NIM. 18630098**

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

**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2023**

UJI AKTIVITAS BIODEGRADASI PADA PLASTIK LDPE (*Low Density Polyethylene*) MENGGUNAKAN *Bacillus subtilis* DAN *Aspergillus niger*

SKRIPSI

Oleh:
SAIFA APRILIA SIDQUNI
NIM. 18630098

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal: 26 Mei 2023

Pembimbing I



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

Pembimbing II



Lulu'atul Hamidatu Ulya, M.Sc
NIDT. 19900906 20180201 2 239

Mengetahui,
Ketua Program Studi




Rachmawan Singem, M.Si
NIP. 19810311 200801 2 010

UJI AKTIVITAS BIODEGRADASI PADA PLASTIK LDPE (*Low Density Polyethylene*) MENGGUNAKAN *Bacillus subtilis* DAN *Aspergillus niger*

SKRIPSI

Oleh:
SAIFA APRILIA SIDQUNI
NIM. 18630098

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan untuk
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 26 Mei 2023

| | | |
|--------------------|--|---|
| Penguji Utama | : Dr. Suci Amalia, M.Sc NIP. 19821104 200901 2 007 |  |
| Ketua Penguji | : Dr. Anik Maunatin, M.P NIDT. 19760105 20180201 2 248 |  |
| Sekretaris Penguji | : Dr. Akyunul Jannah, S.Si, M.P NIP. 19750410 200501 2 009 |  |
| Anggota Penguji | : Lulu'atul Hamidatu Ulya, M.Sc NIDT. 19900906 20180201 2 239 |  |

Mengesahkan,
Ketua Program Studi


Rachmawati Ningsih, M.Si
NIP. 19810911 200801 2 010

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Saifa Aprilia Sidquni
NIM : 18630098
Program Studi : Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Uji Aktivitas Biodegradasi pada Plastik LDPE
(*Low Density Polyethylene*) Menggunakan
Bacillus subtilis dan *Aspergillus niger*

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini adalah benar-benar hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai 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 perbuatan tersebut.

Malang, 26 Mei 2023
Yang Membuat Pernyataan,



Saifa Aprilia Sidquni
NIM. 18630098

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirabbil 'alamiin

Segala puji bagi Allah Swt. yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya kepada penulis. Sholawat serta salam semoga tetap tercurahkan kepada Nabi Muhammad Saw. beserta keluarga dan para Sahabat

Karya ilmiah ini, penulis persembahkan kepada orang-orang tersayang yaitu Bapak Sadikun, Ibu Lis Shalehati dan adik penulis, Salwa Yulia Sidquni atas segala do'a dan semangat yang diberikan kepada penulis selama penyelesaian tugas akhir ini. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada keluarga penulis, kakek, tante, sepupu dan keponakan yang selalu memberikan semangat. Penulis mengucapkan terima kasih kepada Ibu Dr. Akyunul Jannah, S.Si, M.P dan Ibu Lulu'atul Hamidatu Ulya, M.Sc, selaku dosen pembimbing yang telah sabar memberikan arahan, nasehat dan motivasi sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Ibu Dr.Suci Amalia, M.Sc dan Ibu Dr.Anik Maunatin, M.P selaku dosen penguji yang dengan sabar memberikan masukan dan arahan, serta kepada seluruh Ibu Bapak dosen dan laboran Prodi Kimia atas segala ilmu yang telah diberikan. Terima kasih penulis ucapkan kepada sahabat-sahabat (Indi, Riris, Rara, Elok, Fitaz, Eka, Amel, Shofi, Kak Ilfa, Lilis), sahabat dari kecil (Mbak Tata dan Icha), teman-teman puslitkoka (Ainur, Majidah, Ipit, Santi,Zia), rekan kos (Irma, Putri, Venera, Ana, Diajeng), dan rekan di lab biokim (Pitul, Mbak Intan, Mbak Sisi, Mbak Shofi, Rista, dan semua) yang memberikan semangat selama penyelesaian tugas akhir ini. Seventeen (Scoups, Jeonghan, Shua, Jun, Hoshi, Wonu, Woozi, The8, Mingyu, DK, Seungkwon, Vernon, Dino) yang menjadi *booster* semangat. Terkhusus, penulis persembahkan tugas akhir ini kepada mendiang kakak sepupu penulis, Almh Masitoh Khairul Ummah yang semasa hidupnya selalu memberikan motivasi dan memberikan buku-buku kuliahnya sehingga memudahkan penulis semasa perkuliahan. Semoga Allah Swt. mengumpulkanmu bersama orang-orang beriman.

MOTTO

“Yakinlah ada sesuatu yang menantimu setelah sekian banyak kesabaran yang kau jalani, yang akan membuatmu terpana hingga kau lupa betapa pedihnya rasa sakit” –Ali bin Abi Thalib r.a

الَّذِينَ ءَامَنُوا وَتَطْمَئِنُّ قُلُوبُهُمْ بِذِكْرِ اللَّهِ أَلَا بِذِكْرِ اللَّهِ تَطْمَئِنُّ الْقُلُوبُ

“(yaitu) orang-orang yang beriman dan hati mereka menjadi tenteram dengan mengingat Allah. Ingatlah, hanya dengan mengingat Allah-lah hati menjadi tenteram” (Q.S Ar-Ra’d: Ayat 28)

너는 네가 너만의 세상이 멋있다고 생각하고, 앞으로도 계속 갔으면 좋겠어
-세븐틴의 명호-

“Aku ingin kamu berpikir bahwa duniamu sendiri itu indah dan terus melangkah seperti itu” – *Seventeen*’s Myeongho-

KATA PENGANTAR

Assalamu 'alaikum warahmatullahi wabarakatuhu

Alhamdulillah, puji syukur atas kehadiran Allah Swt. Tuhan semesta alam, yang telah melimpahkan Rahmat, Taufiq, serta HidayahNya sehingga penulis dapat menyelesaikan proposal yang berjudul **“Uji Aktivitas Biodegradasi pada Plastik LDPE (*Low Density Polyethylene*) Menggunakan *Bacillus subtilis* dan *Aspergillus niger*”**.

Penulisan skripsi ini dapat disusun dengan baik berkat pihak-pihak yang telah memberikan bimbingan dan dukungan dalam bentuk apapun. Oleh karena itu, penulis ingin memberikan ucapan terima kasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. M. Zainuddin, MA, selaku rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Ibu Dr. Sri Harini, M.Si, selaku dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Rachmawati Ningsih, M.Si selaku ketua Program Studi Kimia dan seluruh dosen Program Studi Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, yang telah memberikan ilmu pengetahuan, pengalaman dan wawasan sebagai bekal bagi penulis
4. Ibu Dr. Akyunul Jannah, S.Si., M.P, selaku dosen pembimbing yang dengan penuh kesabaran membimbing, memberikan saran, nasehat selama proses penulisan skripsi.
5. Ibu Lulu'atul Hamidatu Ulya, M.Sc selaku dosen pembimbing agama yang dengan sabar memberikan arahan dan saran dalam penulisan skripsi.
6. Segenap Bapak/Ibu Dosen serta Laboran Prodi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, yang telah memberikan ilmu serta akses sarana selama penyusunan skripsi ini.
7. Kedua orang tua penulis, Bapak Sadikun dan Ibu Lis Shalehati yang selalu mendoakan dan memberikan semangat, selalu memberikan motivasi

ketika berada di titik terendah. Tanpa do'a-do'a yang beliau langitkan, tidak mungkin penulis bisa berada pada titik ini.

8. Adik saya, Salwa Yulia Sidquni, yang selalu memberikan dorongan semangat.

Terlepas dari segala hal, penulis menyadari bahwa dalam penulisan ini masih banyak terdapat kekurangan, maka dari itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun, baik dari segi isi maupun dalam penyusunan kepenulisan. Penulis berharap, tulisan ini dapat memberikan manfaat dan menambah khazanah ilmu bagi seluruh pihak.

Malang, Mei 2023

Penulis

DAFTAR ISI

| | |
|---|-----------|
| HALAMAN JUDUL | ii |
| LEMBAR PERSETUJUAN | iii |
| HALAMAN PENGESAHAN | iv |
| PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN | v |
| HALAMAN PERSEMBAHAN..... | vi |
| MOTTO..... | vii |
| KATA PENGANTAR | viii |
| DAFTAR ISI..... | x |
| DAFTAR GAMBAR | xii |
| DAFTAR TABEL..... | xiii |
| DAFTAR LAMPIRAN | xiv |
| ABSTRAK..... | xv |
| ABSTRACT | xvi |
| مستخلص البحث | xvii |
| | |
| BAB I PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1 Latar Belakang | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah..... | 6 |
| 1.3 Tujuan | 6 |
| 1.4 Batasan Masalah | 6 |
| 1.5 Manfaat | 7 |
| | |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA..... | 8 |
| 2.1 Plastik <i>Low Density Polyethylene</i> (LDPE)..... | 8 |
| 2.2 Biodegradasi Plastik oleh Bakteri dan Fungi | 10 |
| 2.3 Biodegradasi Plastik LDPE oleh <i>Bacillus subtilis</i> | 14 |
| 2.4 Biodegradasi Plastik LDPE oleh <i>Aspergillus niger</i> | 16 |
| 2.5 <i>Bacillus Subtilis</i> | 18 |
| 2.6 <i>Aspergillus niger</i> | 19 |
| 2.7 Identifikasi Gugus Fungsi Plastik LDPE Menggunakan FTIR | 21 |
| 2.8 Identifikasi Topografi Plastik LDPE Menggunakan SEM | 23 |
| | |
| BAB III METODOLOGI PENELITIAN | 25 |
| 3.1 Waktu dan Tempat Penelitian..... | 25 |
| 3.2 Alat dan Bahan Penelitian | 25 |
| 3.2.1 Alat..... | 25 |
| 3.2.2 Bahan | 25 |
| 3.3 Tahapan Penelitian | 26 |
| 3.4 Cara Kerja..... | 26 |
| 3.4.1 Peremajaan Isolat <i>Bacillus subtilis</i> | 26 |
| 3.4.2 Peremajaan Isolat <i>Aspergillus niger</i> | 27 |
| 3.4.3 Pembuatan Inokulum dan Pengukuran Optical Density (OD) <i>Bacillus subtilis</i> | 27 |
| 3.4.4 Pembuatan Inokulum <i>Aspergillus niger</i> | 27 |
| 3.4.5 Pembuatan Media Nutrien Basal | 28 |

| | |
|--|-----------|
| | xi |
| 3.4.6 Preparasi Plastik LDPE..... | 28 |
| 3.4.7 Uji Aktivitas Biodegradasi pada Plastik LDPE Menggunakan <i>Bacillus subtilis</i> dan <i>Aspergillus niger</i> | 28 |
| 3.4.8 Penentuan Persentase Biodegradasi Plastik LDPE | 29 |
| 3.4.9 Identifikasi Gugus Fungsi Plastik LDPE Menggunakan FTIR..... | 29 |
| 3.4.10 Identifikasi Topografi Plastik LDPE Menggunakan SEM | 29 |
| 3.5 Analisis Data..... | 30 |
| BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN..... | 31 |
| 4.1 Pembuatan Inokulum <i>Bacillus subtilis</i> dan <i>Aspergillus niger</i> | 31 |
| 4.2 Uji Aktivitas Biodegradasi pada Plastik LDPE Menggunakan <i>Bacillus</i> <i>subtilis</i> dan <i>Aspergillus niger</i> | 33 |
| 4.3 Identifikasi Gugus Fungsi Plastik LDPE Menggunakan FTIR | 38 |
| 4.4 Identifikasi Topografi Plastik LDPE Menggunakan SEM | 40 |
| 4.5 Kajian Hasil Penelitian dalam Perspektif Islam | 42 |
| BAB V PENUTUP..... | 47 |
| 5.1 Kesimpulan..... | 47 |
| 5.2 Saran | 47 |
| DAFTAR PUSTAKA | 49 |
| LAMPIRAN..... | 56 |

DAFTAR GAMBAR

| | |
|--|----|
| Gambar 2. 1 Monomer etilena menjadi polietilena (Oxtoby et al., 2008) | 8 |
| Gambar 2. 2 Struktur plastik LDPE (Temporiti et al., 2022)..... | 9 |
| Gambar 2. 3 Skema ilustrasi biodegradasi plastik (Lucas et al., 2008) | 13 |
| Gambar 2. 4 Mekanisme biodegradasi pada PE (Arutchelvi et al., 2008) | 16 |
| Gambar 2. 5 Mekanisme biodegradasi LDPE oleh fungi (Ghatge et al., 2020). 18 | |
| Gambar 2. 6 Pewarnaan gram Bacillus subtilis (Sarcevic et al., 2019) | 19 |
| Gambar 2. 7 Koloni fungi Aspergillus niger pada proses biodegradasi..... | 20 |
| Gambar 2. 8 Spektra FTIR pada plastik degradasi Pseudomonas putida (Muhonja et al., 2018)..... | 22 |
| Gambar 2. 9 Spektra FTIR pada plastik degradasi isolat Aspergillus nidulans (Muhonja et al., 2018)..... | 22 |
| Gambar 2. 10 (a) SEM sebelum biodegradasi (b) SEM setelah biodegradasi (Bhave dan Sachin, 2017) | 24 |
| | |
| Gambar 4. 1 Isolat Bacillus subtilis setelah regenerasi | 31 |
| Gambar 4. 2 Isolat Aspergillus niger setelah regenerasi | 32 |
| Gambar 4. 3 Inokulum Bacillus subtilis..... | 33 |
| Gambar 4. 4 (a) Kekeruhan pada media dengan penambahan inokulum (b) Biofilm pada permukaan plastik | 35 |
| Gambar 4. 5 Spektra FTIR plastik LDPE pada masing-masing variasi inkubasi | 39 |
| Gambar 4. 6 Analisa SEM pada plastik LDPE kontrol (a)1.000x (b)2.000x (c)3.000x (d)4.000x | 41 |
| Gambar 4. 7 Analisa SEM pada plastik LDPE sesudah biodegradasi (a)1.000x (b)2.000x (c)3.000x (d)4.000x..... | 41 |

DAFTAR TABEL

| | |
|---|----|
| Tabel 2. 1 Jenis bakteri dalam biodegradasi plastik..... | 14 |
| Tabel 2. 2 Jenis fungi dalam biodegradasi plastik | 14 |
| Tabel 4. 1 Persentase biodegradasi plastik LDPE..... | 35 |
| Tabel 4. 2 Interpretasi FTIR plastik LDPE pada masing-masing variasi inkubasi..... | 38 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | |
|---|----|
| Lampiran 1. Rancangan Penelitian..... | 56 |
| Lampiran 2. Diagram Alir | 57 |
| Lampiran 3. Pembuatan Larutan dan Perhitungan | 60 |
| Lampiran 4. Tabel Perubahan pH | 61 |
| Lampiran 5. Hasil FTIR | 62 |
| Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian | 64 |

ABSTRAK

Sidquni, Saifa . A. 2023. **Uji Aktivitas Biodegradasi Pada Plastik LDPE (*Low Density Polyethylene*) Menggunakan *Bacillus subtilis* dan *Aspergillus niger***. Skripsi. Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Dr.Akyunul Jannah, S.Si, M.P. Pembimbing II: Lulu'atul Hamidatu Ulya, M.Sc

Kata Kunci: Biodegradasi, Plastik LDPE, *Bacillus subtilis*, *Aspergillus niger* , Inkubasi, FTIR,SEM.

Plastik menjadi permasalahan lingkungan yang sampai saat ini berusaha diatasi. Pertumbuhan populasi manusia yang semakin meningkat berdampak pada peningkatan kebutuhan dan konsumsi plastik sehingga produksi plastik juga semakin meningkat. Hal ini menyebabkan adanya timbunan plastik dan menjadi penyebab pencemaran lingkungan. Salah satu jenis plastik yang banyak digunakan dalam berbagai aktivitas manusia adalah LDPE (*Low Density Polyethylene*). Salah satu cara yang dapat dilakukan untuk mengatasi permasalahan lingkungan ini adalah dengan biodegradasi. Pada penelitian ini, proses biodegradasi plastik LDPE menggunakan kultur tunggal dan kultur campuran *Bacillus subtilis* yang telah diisolasi dari TPA Pisang Kipas Jatimulyo, Kota Malang dan *Aspergillus niger*. Bakteri dan fungi disubkultur dan dibuat inokulum, kemudian kultur tunggal dan kultur campuran keduanya diinokulasikan ke dalam media nutrisi basal. Plastik LDPE yang telah dipreparasi ditambahkan ke dalam media yang berisi inokulum dan diinkubasi selama 60 hari . Kemudian, dihitung persentase biodegradasi plastik LDPE dan dikarakterisasi menggunakan FTIR dan SEM.

Persentase biodegradasi yang didapat pada kultur tunggal *Bacillus subtilis*, *Aspergillus niger* dan kultur campuran masing-masing 0,84%, 0,99% dan 0,81%. Hasil FTIR pada plastik LDPE sebelum dan sesudah biodegradasi menunjukkan adanya penambahan spektra pada plastik LDPE setelah diinkubasi dengan *Bacillus subtilis*, *Aspergillus niger* dan kultur campuran berturut-turut pada bilangan gelombang 1646 cm^{-1} , 1575 cm^{-1} dan 1541 cm^{-1} yang mengindikasikan adanya gugus C=C (*stretch*). Pada hasil analisa SEM, menunjukkan struktur permukaan plastik LDPE sesudah biodegradasi mengalami keretakan, berlubang dan saling tumpang tindih.

ABSTRACT

Sidquni, Saifa . A. 2023. **Biodegradation Activity Test of LDPE (*Low Density Polyethylene*) Plastic Using *Bacillus subtilis* and *Aspergillus niger*.** Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, The State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor I: Dr.Akyunul Jannah, S.Si, M.P. Supervisor II: Lulu'atul Hamidatu Ulya, M.Sc

Keywords : Biodegradation, LDPE Plastic, *Bacillus subtilis*, *Aspergillus niger*, Incubation, FTIR, SEM.

Plastics being an environmental problem that is still trying to be overcome. The growth of the human population which is increasing has an impact on the increase in the need and consumption of plastics, so that the production of plastics also increase. This cause a pile of plastics and cause of environmental pollution. One type of plastics that is widely used in various human activities is LDPE (*Low Density Polyethylene*). One of the ways that can be done to overcome this environmental problem is biodegradation. In this research, the biodegradation process of LDPE plastic using the single culture and mixed culture of *Bacillus subtilis* that isolated from Pisang Kipas Jatimulyo dumpsite, Malang City and *Aspergillus niger*. Bacteria and fungi were subcultured and made inoculum, then the single culture and mixed culture of both were inoculated to the nutrient basal medium. Prepared LDPE plastic was added to the media containing the inoculum and incubated for 60 days. After that, the percentage of LDPE plastic biodegradation was calculated and characterized using FTIR and SEM.

The biodegradation percentages obtained in single culture of *Bacillus subtilis*, *Aspergillus niger* and mixed culture were 0.84%, 0.99% and 0.81%, respectively. FTIR results on LDPE plastic before and after biodegradation showed an addition of spectra on LDPE plastic after incubation with *Bacillus subtilis*, *Aspergillus niger* and mixed culture at wave numbers 1646 cm⁻¹, 1575 cm⁻¹ and 1541 cm⁻¹ respectively which indicated the presence of the C=C group (*stretch*). The results of SEM analysis show that the surface structure of LDPE plastic after biodegradation is cracked, holes and overlaps.

مستخلص البحث

صدقني، صيفة. أ. ٢٠٢٣. اختبار نشاط التحلل الحيوي على بلاستيك بولي إيثيلين منخفض الكثافة باستخدام ثقافة مختلطة من عصوية رقيقة ورشاشية سوداء. البحث الجامعي. قسم الكيمياء، كلية العلوم والتكنولوجيا بجامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرف الأول: د. أعين الجنة، الماجستير. المشرف الثاني: لؤلؤة حميدة العليا، الماجستير.

الكلمات الرئيسية: التحلل الحيوي، بلاستيك بولي إيثيلين منخفض الكثافة، عصوية رقيقة، رشاشية سوداء، احتضان، SEM ، FTIR.

يعد بلاستيك مشكلة بيئية تحاول حتى الآن التغلب عليها. يؤثر النمو المتزايد للسكان على زيادة الحاجة إلى بلاستيك واستهلاكه بحيث يزداد إنتاجه أيضا. هذا يسبب رواسب بلاستيكية ويسبب التلوث البيئي. أحد أنواع البلاستيك المستخدمة على نطاق واسع في الأنشطة البشرية المختلفة هو LDPE (بولي إيثيلين منخفض الكثافة). إحدى الطرق التي يمكن القيام بها للتغلب على هذه المشكلة البيئية هي التحلل الحيوي. في هذه الدراسة، استخدمت عملية التحلل الحيوي للبلاستيك LDPE تهذيب واحد وتهذيب مختلط من عصوية رقيقة (*Bacillus subtilis*) التي تم عزلها من ردم النفايات فيسانج كيفاس جاتي موليو بمدينة مالانج و رشاشية سوداء (*Aspergillus niger*). يتم تهذيب البكتيريا والفطريات وصنع اللقاح، ثم يتم تلقيح كل من التهذيب الفردي والتهذيب المختلط في وسائط المغذيات القاعدية. تمت إضافة بلاستيك LDPE المحضر إلى الأداة التي تحتوي على اللقاح وتم اختضانه لمدة ٦٠ يوما. بعد ذلك، تم حساب النسبة المئوية للتحلل الحيوي لبلاستيك LDPE وتوصيفها باستخدام جهاز تحويل فورييه للطيف بالأشعة تحت الحمراء (FTIR) والمجهر الإلكتروني الماسح (SEM).

كانت النسب المئوية هو التحلل الحيوي التي تم الحصول عليها في التهذيب المفرد من عصوية رقيقة ورشاشية سوداء وأيضا التهذيب المختلط لكل منهما ٠,٨٤%، ٠,٩٩%، ٠,٨١% على التوالي. أظهرت نتائج FTIR على بلاستيك بولي إيثيلين منخفض الكثافة قبل وبعد التحلل الحيوي إضافات طيفية لبلاستيك بولي إيثيلين منخفض الكثافة بعد الاحتضان مع عصوية رقيقة ورشاشية سوداء بتهذيب مختلط على التوالي عند أرقام موجية ١٦٤٦ سم^{-١} و ١٥٧٥ سم^{-١} و ١٥٤١ سم^{-١} مما يشير إلى وجود مجموعات C = C (التمدد). في نتائج تحليل SEM، يظهر أن البنية السطحية لبلاستيك LDPE بعد التحلل الحيوي بها شقوق و ثقوب وتتداخل مع بعضها البعض.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Plastik menjadi permasalahan lingkungan yang sampai saat ini berusaha diatasi. Sejak tahun 1950, plastik diproduksi di dunia dan sekitar 9% sampah plastik didaur ulang, 12% dibakar dan sisanya dibuang ke lingkungan sebagai limbah. Pertumbuhan populasi manusia yang meningkat tiap tahunnya berdampak pada peningkatan kebutuhan dan konsumsi plastik sehingga produksi plastik semakin meningkat. Hal ini menyebabkan adanya timbunan plastik dan menjadi penyebab pencemaran lingkungan (Alabi *et al.*, 2019).

Berdasarkan data yang diperoleh dari Asosiasi Industri Plastik Indonesia (INAPLAS) dan Badan Pusat Statistik, Indonesia menduduki peringkat kedua sebagai negara penyumbang sampah plastik terbesar di dunia. Indonesia menghasilkan sekitar 64 juta ton sampah plastik dan sebanyak 3,2 juta ton plastik dibuang ke perairan laut. Berdasarkan sumber yang sama, sebanyak 85.000 ton kantong plastik atau sekitar 10 miliar lembar plastik dibuang ke lingkungan setiap tahunnya. Menurut Susi Pudjiastuti, mantan Menteri Kelautan dan Perikanan Republik Indonesia, menyatakan bahwa sampah yang dibuang ke laut akan menjadi mikroplastik yaitu plastik yang terurai menjadi partikel-partikel kecil dengan ukuran 0,3-5 mm yang mengakibatkan hewan laut akan mengkonsumsi mikroplastik ini (Priliantini *et al.*, 2020). Hal tersebut merupakan salah satu bukti kerusakan alam yang terjadi dan disebabkan oleh manusia sebagaimana firman Allah Swt. dalam surah Ar-Rum Ayat 41:

ظَهَرَ الْفَسَادُ فِي الْبَرِّ وَالْبَحْرِ بِمَا كَسَبَتْ أَيْدِي النَّاسِ لِيُذِيقَهُمْ بَعْضَ الَّذِي عَمِلُوا لَعَلَّهُمْ يَرْجِعُونَ
(٤١)

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).” (Q.S Ar-Rum (30) : 41).

Menurut Tafsir Al-Mishbah, sikap yang diuraikan dalam ayat tersebut mengacu pada sikap-sikap yang mempersekutukan Allah Swt., mengabaikan tuntunan-tuntunan agama yang berdampak buruk terhadap diri mereka, masyarakat dan lingkungan. Kata (ظَهَرَ) *zhahara* mulanya diartikan sebagai “*terjadinya sesuatu di permukaan bumi*”, sehingga menjadi tampak dan terang karena terjadi di permukaan. Menurut al-Ashfahani, kata (الْفَسَادُ) *al-fasad* berarti “*keluarnya dari keseimbangan baik sedikit maupun banyak*”. Beberapa ulama kontemporer memahami kata *al-fasad* ini sebagai kerusakan lingkungan karena ayat di atas mengkaitkan *fasad* dengan kata darat dan laut.

Manusia seringkali lalai dalam melaksanakan tugasnya. Manusia memanfaatkan kekayaan alam namun tidak diiringi dengan usaha pelestariannya. Kerusakan alam akibat perlakuan buruk dan keserakahan manusia mengakibatkan kesengsaraan pada manusia sendiri. Kerusakan terjadi di darat maupun di laut, seperti banjir, tanah longsor, kekeringan, pencemaran air dan udara, dan masih banyak lagi (Ariyadi, 2018). Berdasarkan penjelasan dari surah Ar-Rum ayat 41, manusia seharusnya menjaga apa yang telah Allah Swt. amanahkan salah satunya adalah pencemaran plastik yang akan berdampak pada pencemaran tanah, air dan udara.

Plastik merupakan polimer sintesis yang banyak digunakan karena stabilitas dan ketahanannya (Ogunbayo *et al.*, 2019). Terdapat tiga jenis polietilen yaitu *Low Density Polyethylene* (LDPE), *Linear Low Density Polyethylene* (LLDPE) dan *High Density Polyethylene* (HDPE) (Susanto, 2010). *Low Density Polyethylene* atau LDPE merupakan polietilena yang fleksibel dan keras namun mudah pecah. Karakteristik dari plastik jenis ini yaitu tahan panas, transparan dan buram. Plastik ini banyak dijumpai dalam pengemasan *frozen food* dan kemasan jus serta karton susu. Plastik LDPE tidak mengandung komponen yang berbahaya bagi tubuh manusia sehingga aman digunakan sebagai kemasan pada produk makanan atau minuman (Proshad *et al.*, 2018).

Terdapat beberapa metode yang berbeda dalam pemusnahan plastik seperti pengabuan, daur ulang, dan penimbunan. Proses biodegradasi plastik berperan penting dalam mengurangi berat molekul dari polimer plastik secara alami, dimana pada proses biodegradasi plastik menggunakan mikroba seperti bakteri, fungi dan *actinomycetes* yang diisolasi dari berbagai sumber di lingkungan (Deepika dan Madhuri, 2015). Metode degradasi plastik menggunakan mikroba akan meningkatkan laju biodegradasi dengan memanfaatkan enzim yang terkandung dalam mikroba tanpa menimbulkan kerusakan lingkungan (Jayasiri *et al.*, 2013).

Bakteri dan fungi merupakan mikroorganisme yang dapat digunakan dalam biodegradasi plastik karena kemampuannya dalam mensekresikan beberapa jenis enzim yang membantu proses biodegradasi. *Bacillus subtilis* diketahui mampu menghasilkan enzim jenis alkana oksidase dan lakase yang dapat terlibat dalam degradasi plastik LDPE (Yao *et al.*, 2022). Alkana

hidroksilase yang mampu dihasilkan *Bacillus subtilis* dan merupakan salah satu enzim kunci dalam degradasi alkana yang dapat menghidroksilasi ikatan C-C menjadi alkohol primer atau sekunder dan selanjutnya diubah menjadi asam karboksilat dengan bantuan enzim-enzim yang lain. Melalui jalur β -oksidasi, molekul asam lemak akan dimetabolisme dan diubah menjadi CO₂ dan energi (Mohanani *et al.*, 2020).

Aspergillus niger mampu menghasilkan eksoenzim yang mampu memecah polimer plastik. Enzim hidrolase yang dihasilkan fungi seperti lipase, karboksilesterase dan protease dapat meningkatkan hidrofilitas plastik. Enzim dalam kelas oksidoreduktase seperti lakase dan peroksidase terlibat dalam degradasi molekul plastik dengan memotong rantai panjang polimer menjadi molekul yang lebih kecil seperti oligomer, dimer dan monomer (Temporiti *et al.*, 2022). Protein *hydrophobin* yang dihasilkan oleh *Aspergillus niger* dapat meningkatkan hidrofilitas dan efektivitas degradasi oleh fungi (Suharpina *et al.*, 2021). Hifa yang dimiliki oleh *Aspergillus niger* memungkinkan fungi memperluas jaringan miselium untuk mensekresikan eksoenzim seperti peroksidase dan oksidase yang membantu oksidasi dan hidrolisis pada rantai panjang alkana.

Degradasi plastik LDPE yang memiliki berat molekul tinggi memungkinkan dapat berjalan lebih efektif apabila dilakukan menggunakan kultur campuran bakteri dan fungi. Berdasarkan uraian sebelumnya, diketahui *Bacillus subtilis* dan *Aspergillus niger* menghasilkan enzim-enzim yang dapat mendegradasi rantai panjang alkana. Selain itu, adanya protein hidrofobin fungi dapat menurunkan sifat hidrofobik plastik LDPE sehingga bakteri dan fungi dapat

lebih mudah mensekresikan enzim-enzim pendegradasi. Adanya kerja sama antara *Bacillus subtilis* dan *Aspergillus niger* dalam memanfaatkan enzim-enzimnya untuk mendegradasi plastik LDPE dapat menghasilkan persentase biodegradasi yang lebih tinggi dibandingkan dengan kultur tunggal.

Aspergillus niger memiliki kemampuan biodegradasi hingga 30,6% dan *Bacillus subtilis* 9,26%. Beberapa penelitian telah dilakukan terkait degradasi plastik menggunakan kultur campuran. Dwicania *et al.*, (2019) melakukan penelitian terkait biodegradasi plastik LLDPE menggunakan kultur campuran *Pseudomonas Aeruginosa* dan *Brevibacterium sp* dan setelah 30 hari masa inkubasi, persentase degradasi plastik LLDPE yang dihasilkan adalah 7,31% . Ogunbayo *et al.*, (2019) membandingkan antara kultur tunggal *Pseudomonas sp* dan *Aspergillus niger* dengan kultur campuran keduanya. Setelah 60 hari masa inkubasi, didapat persentase biodegradasi plastik LDPE pada kultur tunggal *Pseudomonas sp*, *Aspergillus niger* serta kultur campuran berturut-turut adalah 7,2%, 12,4%, dan 15%. Bhave dan Sachin (2017), menggunakan kultur campuran *Aspergillus spp*, *Pseudomonas spp* dan *Rhizopus arrhizus* untuk mendegradasi plastik LDPE selama 42 hari masa inkubasi. Berdasarkan hasil pengamatan topografi plastik LDPE menggunakan SEM, terlihat permukaan plastik LDPE mengalami retakan, berlubang dan terjadi penumpukan polimer.

Berdasarkan uraian diatas, dapat diketahui bahwa bakteri dan fungi dalam kultur tunggal memiliki potensi dalam mendegradasi plastik LDPE. Pada penelitian sebelumnya, kultur campuran antara bakteri dan fungi memberikan persentase biodegradasi cukup tinggi. Oleh karena itu, pada penelitian ini akan dilakukan uji aktivitas biodegradasi pada plastik LDPE menggunakan *Bacillus*

subtilis yang telah diisolasi dari TPA Pisang Kipas Jatimulyo, Kota Malang dan *Aspergillus niger*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan pada uraian latar belakang, maka rumusan masalah yang diambil dalam penelitian ini antara lain:

1. Berapa persentase biodegradasi plastik LDPE menggunakan kultur tunggal dan kultur campuran *Bacillus subtilis* dan *Aspergillus niger*?
2. Bagaimana perubahan gugus fungsi pada plastik LDPE sebelum dan sesudah dilakukan proses biodegradasi menggunakan FTIR?
3. Bagaimana topografi pada plastik LDPE dengan persentase biodegradasi terbaik menggunakan SEM?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini antara lain:

1. Untuk mengetahui persentase biodegradasi plastik LDPE menggunakan kultur tunggal dan kultur campuran *Bacillus subtilis* dan *Aspergillus niger*.
2. Untuk mengetahui perubahan gugus fungsi pada plastik LDPE sebelum dan sesudah dilakukan proses biodegradasi menggunakan FTIR.
3. Untuk mengetahui topografi pada plastik LDPE dengan persentase biodegradasi terbaik menggunakan SEM.

1.4 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini antara lain:

1. Bakteri yang digunakan adalah *Bacillus subtilis* yang terdapat di Laboratorium Biokimia Program studi Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, yang sebelumnya telah diisolasi dari TPA Pisang Kipas Jatimulyo, Kota Malang.
2. Fungi yang digunakan adalah *Aspergillus niger* yang didapat dari Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
3. Jenis plastik yang digunakan adalah *Low Density Polyethylene* (LDPE) berukuran 3 cm x 3 cm.
4. Proses identifikasi gugus fungsi pada plastik LDPE sebelum dan sesudah proses biodegradasi menggunakan instrumen *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR).
5. Proses identifikasi topografi pada plastik LDPE dengan persentase biodegradasi terbaik menggunakan SEM.

1.5 Manfaat

Penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi mengenai perbandingan aktivitas biodegradasi menggunakan kultur tunggal dan kultur campuran dari *Bacillus subtilis* dan *Aspergillus niger* pada plastik LDPE, serta mengetahui perubahan gugus fungsi dan topografi yang terjadi pada plastik LDPE sebelum dan sesudah dilakukannya proses biodegradasi. Selain itu, dari penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi mengenai upaya yang dapat dilakukan untuk mengatasi pencemaran lingkungan yang diakibatkan oleh sampah plastik menggunakan metode yang ramah lingkungan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Plastik *Low Density Polyethylene* (LDPE)

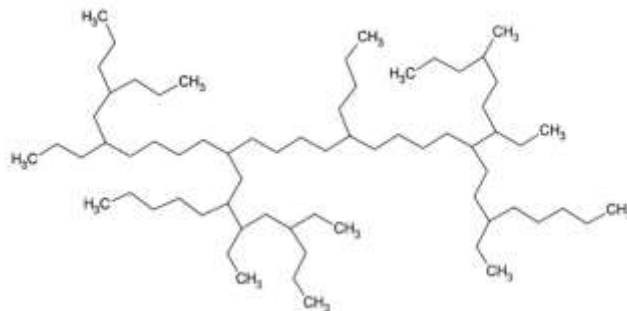
Salah satu polimer kimia yang banyak digunakan oleh manusia dalam berbagai aktivitas adalah plastik. Banyak produk di pasaran menggunakan plastik sebagai pembungkus produk maupun sebagai bahan dasar dalam pembuatan produk seperti gelas, piring dan alat-alat lain. Hal ini didasarkan pada sifat plastik yang ringan, transparan, kuat, tahan terhadap air serta harganya relatif murah, sehingga dapat dijangkau oleh semua kalangan masyarakat. Polietilena (PE) merupakan salah satu jenis plastik yang banyak dimanfaatkan dalam kehidupan sehari-hari (Susilawati *et al.*, 2011).

Selama bertahun-tahun, jumlah sampah plastik semakin meningkat seiring meningkatnya penggunaan plastik. Plastik merupakan polimer yang resisten dan tahan terhadap aktivitas mikroba sehingga keberadaan plastik akan tetap ada dalam jangka waktu lama. Jenis plastik yang banyak dipakai adalah polietilena (PE) yang mengandung rantai panjang monomer etilena (C₂H₄). Terdapat beberapa jenis plastik polietilena yaitu, HDPE (*High Density Polyethylene*), LLDPE (*Linear Low Density Polyethylene*), dan LDPE (*Low Density Polyethylene*) (Dwicania *et al.*, 2019). Etilena (CH₂ = CH₂) merupakan bentuk monomer sederhana yang apabila dilakukan proses polimerisasi melalui adisi inisiasi radikal bebas pada tekanan 1000 atm – 3000 atm pada suhu antara 300°C - 500°C akan menjadi suatu polietilena.



Gambar 2. 1 Monomer etilena menjadi polietilena (Oxtoby *et al.*, 2008)

Low Density Polyethylene (LDPE) banyak digunakan sebagai pembungkus, plastik sampah dan botol plastik karena sifat dari plastik LDPE yang lembut. Sifat lembut dari plastik LDPE dikarenakan ketidakberaturan susunan plastik LDPE yang memiliki banyak rantai cabang dengan rantai samping berupa hidrokarbon, sehingga densitas plastik LDPE lebih rendah (Oxtoby *et al.*, 2008). Plastik LDPE merupakan monomer dari polietilena dan secara umum dianggap sebagai plastik *non-biodegradable* di alam karena memiliki berat molekul yang tinggi serta ikatan hidrofobik dan formula kimia yang melibatkan ikatan C-C dan C-H padat (Gupta dan Deepa, 2019). Plastik LDPE diproduksi menggunakan metode polimerisasi radikal bebas pada suhu antara 80°C-300°C di bawah tekanan 150-350 MPa.



Gambar 2. 2 Struktur plastik LDPE (Temporiti *et al.*, 2022)

Karakteristik utama pada plastik LDPE adalah ketangguhan dan ketahanan terhadap suhu rendah dan bahan kimia. Namun kekurangan plastik LDPE yaitu mudah terbakar (Pham, 2021). Plastik LDPE merupakan jenis plastik yang tangguh dan fleksibel dengan rantai panjang yang dikemas tidak beraturan dan memiliki tingkat kristalinitas yang cukup rendah dengan densitas antara 0,910 g/cm³ – 0,925 g/cm³ (Jordan *et al.*, 2016).

2.2 Biodegradasi Plastik oleh Bakteri dan Fungi

Pencemaran yang disebabkan oleh plastik menjadi permasalahan lingkungan secara global. Data menunjukkan peningkatan produksi plastik pada tahun 2015 sekitar 322 ton menjadi 335 ton pada tahun 2016. Walaupun beberapa tahun terakhir telah terjadi peningkatan plastik yang didaur ulang yaitu sekitar 40,9%, namun jumlah plastik yang dibuang ke tempat pembuangan akhir dan tidak dibuang dengan benar masih 1/5 dari produksi tahunan global. Pembuangan plastik ke TPA maupun ke lingkungan masih menjadi suatu masalah besar yang harus diatasi (Puglisi *et al.*, 2019). Berdasarkan hal ini, mikroorganisme dapat dimanfaatkan dalam upaya biodegradasi plastik.

Allah Swt. menciptakan alam semesta beserta isinya dengan manfaat yang terkandung di dalamnya. Bahkan hal-hal sekecil apapun telah Allah Swt. atur. Seperti firman Allah Swt. dalam Surah An-Nahl ayat 8, sebagai berikut:

وَالْخَيْلِ وَالْبِغَالِ وَالْحَمِيرِ لِنَرْكَبُوهَا وَزِينَةً وَيَخْلُقُ مَا لَا تَعْلَمُونَ

Artinya : "dan (Dia telah menciptakan) kuda, bagal, dan keledai, untuk kamu tunggangi dan (menjadi) perhiasan. Allah menciptakan apa yang tidak kamu ketahui."(Q.S An-Nahl : 8)

Dalam ayat disebutkan “Allah menciptakan apa yang tidak kamu ketahui” yang menunjukkan bahwa Allah Swt. menciptakan suatu bentuk yang kehidupan manusia sebelumnya tidak ketahui. Dalam Tafsir Al-Mishbah dijelaskan bahwa Allah Swt. secara terus-menerus “menciptakan” aneka ciptaan “apa yang kamu tidak mengetahuinya” sekarang, tetapi kelak kamu akan mengetahui dan menggunakannya jika kamu mau berpikir dan mengarahkan segala potensi yang ada hingga ciptaan itu dapat kamu lihat dan ketahui. Perkembangan zaman dan teknologi menjadikan manusia dapat membuat alat yang mampu melihat benda

tak kasat mata yaitu mikroskop, sehingga makhluk kecil seperti mikroorganisme dapat diamati dan diketahui manfaatnya.

Mikroorganisme tersebar luas di muka bumi, 20 kali lebih banyak dibandingkan dengan spesies yang masih dalam kategori binatang. Mikroorganisme terdiri atas bakteri, virus, fungi, alga dan tungau. Keberadaan mikroorganisme ini tidak serta merta tanpa jasa yang tidak bisa dimanfaatkan, justru mikroorganisme memiliki banyak peranan penting dalam siklus kehidupan di bumi, misalnya bakteri yang berperan dalam proses siklus nitrogen yang merupakan komponen dalam pembentukan kehidupan di bumi, kemudian fungi sebagai unsur penyerapan mineral tanah oleh tumbuhan.

Penggunaan plastik yang terus meningkat berdampak pada lingkungan. Berdasarkan data yang dilaporkan oleh Asosiasi Plastik Amerika (*American Plastic Association*), rata-rata akumulasi plastik di lingkungan adalah 25 juta ton per tahun, dimana pada 2004 konsumsi plastik LDPE mencapai 8,2%. Penggunaan plastik yang tidak bisa dicegah mengharuskan manusia untuk memikirkan berbagai cara untuk mengatasi permasalahan lingkungan akibat plastik. Arutchelvi *et al.*, (2008) menjelaskan ada 3 cara yang dapat dilakukan untuk mengatasi limbah plastik. Pertama, meningkatkan biodegradabilitas dengan mencampurkan polimer dengan polimer alami yang dapat mendegradasi seperti pati atau selulosa. Kedua, mencampurkan polimer dengan pro-oksidan sehingga dapat terdegradasi lebih mudah. Ketiga, menggunakan isolat dan meningkatkan efisiensi mikroorganisme dalam mendegradasi polimer.

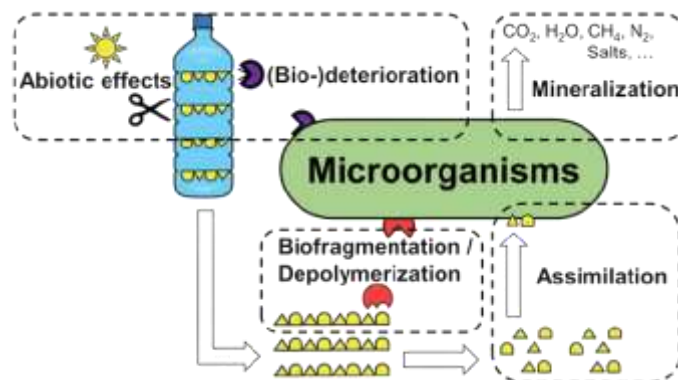
Penelitian mengenai peranan mikroorganisme dalam mendegradasi plastik LDPE telah mengalami perkembangan. Bakteri dan fungi merupakan

mikroba yang diidentifikasi dapat menguraikan polimer plastik LDPE. Beberapa spesies bakteri yang dapat menguraikan polimer plastik antara lain: *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Streptococcus*, *Staphylococcus* dan *Micrococcus*, sedangkan untuk spesies fungi antara lain: *Aspergillus niger*, *Aspergillus Glaucus* dan *Trichoderma*. Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mengetahui kemampuan enzim yang dikeluarkan oleh mikroorganisme dalam mengoksidasi hidrokarbon pada polimer. Enzim dari mikroorganisme menginduksi kecepatan laju biodegradasi plastik LDPE dengan sangat efektif tanpa mengakibatkan kerusakan pada lingkungan (Gajendiran *et al.*, 2016).

Biodegradasi merupakan suatu proses rusaknya suatu zat oleh aktivitas mikroorganisme. Biodegradasi meliputi beberapa proses, antara lain: biodeteriorasi, biofragmentasi, asimilasi dan mineralisasi. Biodeteriorasi berlangsung pada permukaan polimer dimana terjadi perubahan sifat mekanik, fisik dan kimia. Bakteri, fungi, protozoa, alga dan *lichen* merupakan organisme yang terlibat dalam proses biodeteriorasi karena mampu merubah permukaan material. Proses biodeteriorasi meningkat seiring berkembangnya mikroba yang memfasilitasi produksi molekul sederhana. Polimer merupakan sumber karbon dan nitrogen serta stimulator pertumbuhan bagi mikroorganisme. Mikroba mengeluarkan suatu lem yang terbuat dari polisakarida dan protein, dan akan menempel pada permukaan polimer. Zat ini akan menembus ke dalam struktur pori yang akan meningkatkan ukuran pori-pori sehingga akan memicu retakan. Hal ini mengakibatkan struktur material menjadi tidak stabil (Guzman *et al.*, 2011).

Biofragmentasi merupakan proses yang penting dan diperlukan untuk proses asimilasi. Selama proses biofragmentasi, polimer yang memiliki berat molekul besar akan dipecah menjadi campuran oligomer dan/atau monomer. Energi yang dibutuhkan dalam proses fragmentasi polimer berasal dari energi termal, cahaya, mekanik, kimia dan/atau biologi. Mikroorganisme mengeluarkan enzim tertentu atau menghasilkan suatu radikal bebas untuk memotong polimer. Oksidoreduktase dan hidrolase merupakan enzim utama yang terlibat dalam proses biofragmentasi (Guzman *et al.*, 2011).

Proses terakhir dalam biodegradasi adalah asimilasi. Senyawa dari proses fragmentasi diasimilasi oleh spesies mikroorganisme tertentu. Proses asimilasi ini dapat merangsang atau bahkan menghambat pertumbuhan dari mikroorganisme. Melalui membran khusus, monomer plastik akan ditransfer ke dalam sel mikroorganisme. Mikroorganisme akan menyerap molekul dimana molekul yang diserap ini dapat digunakan sebagai sumber karbon dan energi. Metabolisme mikroorganisme akan menghasilkan produk akhir berupa biomassa, CO_2 , H_2O , dan CH_4 . Sedangkan proses mineralisasi merupakan produk akhir yang dikeluarkan ke lingkungan seperti CO_2 , H_2O , dan CH_4 (Guzman *et al.*, 2011).



Gambar 2. 3 Skema ilustrasi biodegradasi plastik (Lucas *et al.*, 2008)

Material polimer dilepaskan ke lingkungan dan akan terdegradasi baik secara kimia, fisika maupun kombinasi keduanya (fisika-kimia) yang bergantung pada udara, suhu, kelembapan, cahaya (fotodegradasi), radiasi energi tinggi (UV atau radiasi γ) atau pada jenis mikroorganisme seperti bakteri dan fungi (Arutchelvi *et al.*, 2008). Berikut beberapa contoh jenis bakteri (Tabel 2.1) dan fungi (Tabel 2.2) yang berperan dalam proses biodegradasi plastik berdasarkan penelitian yang telah dilakukan:

Tabel 2. 1 Jenis bakteri dalam biodegradasi plastik

| Bakteri | % Degradasi | Inkubasi | Sumber |
|--|---|----------|--------------------------------|
| <i>Pseudomonas Aeruginosa</i> | 1,6684% | 60 hari | Damayanti <i>et al.</i> , 2020 |
| <i>Bacillus</i> | 1,9% (plastik putih) dan 2,3% (plastik hitam) | 4 bulan | Fadlilah dan Shovitri, 2014 |
| <i>Pseudomonas Aeruginosa</i> dan <i>Brevibacterium sp</i> (kultur campuran) | 7,31% | 30 hari | Dwicania <i>et al.</i> , 2019 |
| <i>Bacillus Subtilis</i> | 9,26% | 30 hari | Vimala and Mathew, 2016 |

Tabel 2. 2 Jenis fungi dalam biodegradasi plastik

| Fungi | % Degradasi | Inkubasi | Sumber |
|---|-------------------------------|----------|------------------------------|
| <i>Trichoderma viride</i> | 5,13% | 45 hari | Munir dkk, 2018 |
| <i>Aspergillus Nomius</i> | 6,63% | 45 hari | Munir dkk, 2018 |
| Spesies <i>Aspergillus</i> (<i>A.niger, A. flavus, A. oryzae</i>) | 26,15 % (maximum weight loss) | 55 hari | Dsouza <i>et al.</i> , 2021 |
| <i>Aspergillus Oryzae</i> | 36,4±5,53% | 4 bulan | Muhonja <i>et al.</i> , 2018 |

2.3 Biodegradasi Plastik LDPE oleh *Bacillus subtilis*

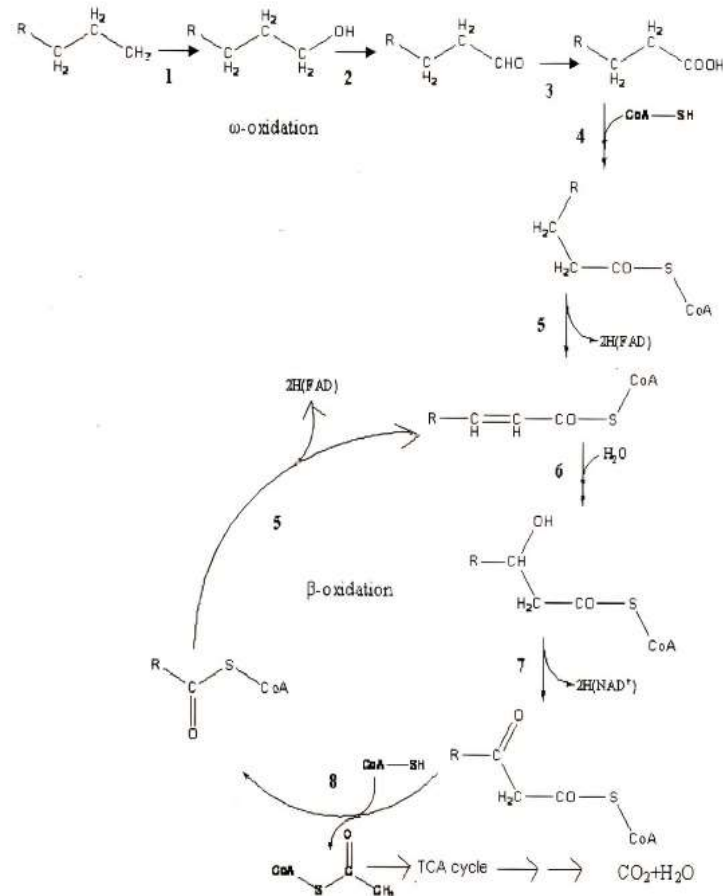
Bacillus subtilis merupakan salah satu jenis bakteri yang berpotensi mampu mendegradasi plastik LDPE. Polimer hidrokarbon yang menyusun plastik LDPE tahan terhadap biodegradasi karena ikatan kovalen pada ikatan C-C dan C-H yang menyusunya memiliki kestabilan yang tinggi (Leja dan Lewandowicz, 2010). *Bacillus subtilis* mampu membentuk *biofilm* pada

permukaan plastik LDPE. Hal ini merupakan proses awal dalam rangkaian biodegradasi. *Biofilm* yang terbentuk pada permukaan plastik LDPE akan menghasilkan surfaktan, yaitu molekul yang dapat menjadi media pelekatan mikroorganisme pada permukaan plastik LDPE yang bersifat hidrofobik (Restrepo-Florez *et al.*, 2014).

Beberapa jenis enzim mampu diproduksi oleh *Bacillus subtilis* seperti alkana oksidase dan lakase. Enzim ini diperkirakan mampu mendegradasi polietilena (Yao *et al.*, 2022). Salah satu enzim kunci yang terlibat dalam degradasi alkana yang dapat dihasilkan oleh *Bacillus subtilis* adalah alkana hidroksilase. Tahapan awal yang menjadi inisiasi degradasi plastik LDPE oleh alkana hidroksilase adalah hidroksilasi ikatan C-C menjadi alkohol primer atau sekunder. Kemudian dengan bantuan alkohol dehidrogenase, alkohol primer atau sekunder dioksidasi menjadi aldehid atau keton. Aldehid atau keton yang terbentuk akan teroksidasi menjadi asam karboksilat dengan bantuan enzim aldehid dehidrogenase (Mohanani *et al.*, 2020).

Alkana hidroksilase, alkohol dehidrogenase dan aldehid dehidrogenase merupakan enzim dalam kelas oksidoreduktase yang mengkatalisis reaksi oksidasi-reduksi. Alkohol dehidrogenase memiliki nomor EC 1.1.1.1 yang mengkatalisis oksidasi alkohol menjadi aldehid atau keton dengan reduksi NAD^+ menjadi NADH. Oksidasi mikroba akan menurunkan jumlah gugus karbonil karena pembentukan asam karboksilat. Rantai n-alkana yang terkarboksilasi akan dipecah menjadi asam lemak yang lebih kecil yang akan dikatabolisme oleh bakteri melalui jalur β -oksidasi yang selanjutnya masuk ke dalam siklus trikarboksilat (TCA *cycle*) dan menghasilkan produk berupa CO_2 dan energi (Dey

et al., 2020; Mohanan *et al.*, 2020; Yoon *et al.*, 2021). Mekanisme degradasi oleh bakteri dan siklus trikarboksilat dapat dilihat pada Gambar 2.4.



Gambar 2. 4 Mekanisme biodegradasi pada PE (Arutchelvi *et al.*, 2008)

2.4 Biodegradasi Plastik LDPE oleh *Aspergillus niger*

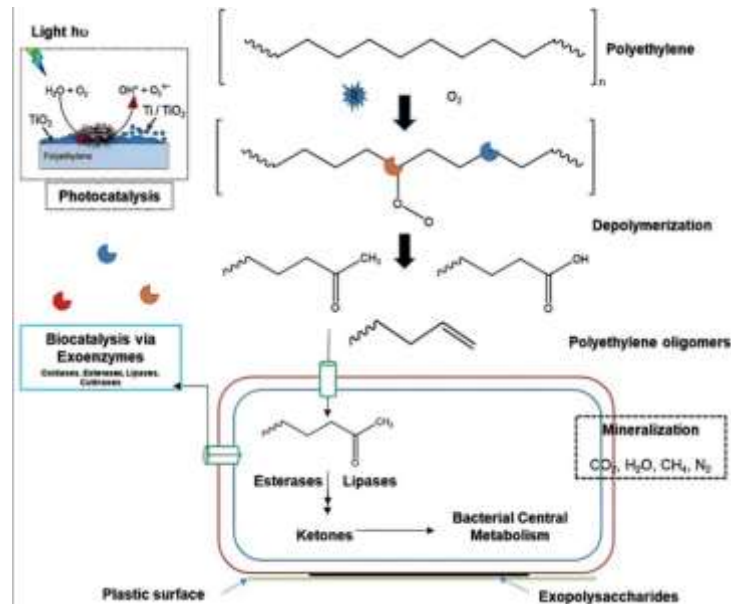
Karakteristik kimia dan fisika seperti berat molekul tinggi, hidrofobisitas dan tidak dapat larut, menjadi alasan kerumitan dalam mendegradasi polietilena salah satunya adalah jenis plastik LDPE. Berat molekul tinggi yang dimiliki oleh plastik LDPE dapat membatasi jumlah reaksi enzimatik. Sistem enzimatik dari mikroorganisme menggunakan sekitar 10-50 karbon sebagai substrat (Temporiti *et al.*, 2022). Secara umum, fungi dianggap lebih efisien dalam mendegradasi plastik LDPE bila dibandingkan dengan bakteri. Fungi berfilamen

memungkinkan hifa memperluas jaringan miseliumnya pada permukaan plastik LDPE untuk meningkatkan daya rekat pada permukaan plastik LDPE yang hidrofobik (Ghatge *et al.*, 2020; Temporiti *et al.*, 2022).

Salah satu fungi yang dapat dimanfaatkan dalam proses biodegradasi LDPE adalah *Aspergillus niger*. *Aspergillus niger* merupakan fungi berfilamen yang mampu memproduksi protein *hydrophobin* serta enzim-enzim hidrolase seperti lipase (EC 3.1.1.3), karboksilesterase (EC 3.1.1.1) dan protease (EC 3.4) yang dapat menurunkan sifat hidrofobik pada plastik LDPE. Enzim-enzim tersebut merupakan enzim dalam kelas hidrolase yang ditandai dengan angka “3” pada digit pertama penomoran EC. Enzim hidrolase dapat mengkatalisis reaksi pemisahan hidrolisis ikatan C-C dan C-O sehingga dapat meningkatkan hidrofilitas polimer dan mengakibatkan polimer dengan berat molekul tinggi akan terdegradasi menjadi polimer dengan berat molekul rendah (Ghatge *et al.*, 2020; Temporiti *et al.*, 2022; Srikanth *et al.*, 2022).

Enzim utama lainnya yang berperan dalam proses biodegradasi plastik LDPE adalah enzim dalam kelas oksidoreduktase. *Aspergillus niger* dapat mensekresikan enzim oksidoreduktase seperti lakase (EC 1.10.3.2) dan peroksidase (EC 1.11.1) yang dapat mendegradasi polimer menjadi oligomer, dimer atau monomer (Temporiti *et al.*, 2022). Degradasi secara aerobik pada plastik LDPE terjadi melalui hidrolisis oleh enzim-enzim seperti esterase, lakase, lipase dan peroksidase. Difusi enzim yang meningkat sebagai akibat dari transformasi polimer menjadi rantai yang lebih pendek akan mengakibatkan terjadinya oksidasi dimana molekul yang tersisa akan diubah menjadi asam

karboksilat yang selanjutnya akan dimetabolisme dalam β -oksidasi dan siklus krebs (Temporiti *et al.*, 2022; Saenz *et al.*, 2019; Restrepo-Florez *et al.*, 2014).



Gambar 2. 5 Mekanisme biodegradasi LDPE oleh fungi (Ghatge *et al.*, 2020)

2.5 *Bacillus Subtilis*

Bacillus merupakan bakteri yang memiliki banyak kemampuan sehingga dapat dikembangkan pada skala industri seperti pada industri bioteknologi karena sifat-sifatnya yang mampu tumbuh pada kisaran suhu luas, membentuk spora, tahan terhadap senyawa antiseptik, kemampuan enzimatik yang beragam serta kemampuan biodegradasi (Atlas dan Bartha, 1987; Hatmanti, 2000). *Bacillus* merupakan bakteri penghasil endospora yang memiliki bentuk bulat, oval, dan silinder dan terbentuk dalam sel vegetatif serta mampu tumbuh pada suhu 10°C - 50°C (Salle, 1984).

Bacillus subtilis termasuk dalam kategori bakteri gram positif yang ditandai dengan warna ungu yang tampak setelah dilakukan pewarnaan gram dan memiliki bentuk seperti batang dan uniseluler (bersel satu). *Bacillus subtilis*

memiliki ukuran sel sekitar 0,5-2,5 μm x 1,2-10 μm dan memiliki sifat aerob atau anaerob fakultatif dan bereaksi katalase positif (Soesanto, 2008; Rozaq, 2020).



Gambar 2. 6 Pewarnaan gram *Bacillus subtilis* (Sarcevic *et al.*, 2019)

Bergey's Manual of Systematic Bacteriology mengklasifikasikan *Bacillus subtilis* sebagai berikut (Garrity *et al.*, 2004)

| | |
|---------|----------------------------|
| Kingdom | : <i>Bacteria</i> |
| Filum | : <i>Firmicutes</i> |
| Kelas | : <i>Bacilli</i> |
| Ordo | : <i>Bacilliales</i> |
| Famili | : <i>Bacillaceae</i> |
| Genus | : <i>Bacillus</i> |
| Spesies | : <i>Bacillus subtilis</i> |

2.6 *Aspergillus niger*

Aspergillus merupakan fungi yang tumbuh di daerah tropis yang memiliki kelembapan tinggi dan merupakan saprofit di alam. *Aspergillus* memiliki gen yang mampu memproduksi mikotoksin. *Aspergillus* dapat tumbuh dengan baik pada kadar air yang cukup tinggi yaitu sekitar 7% dan suhu tinggi serta habitat asli *Aspergillus* yaitu di dalam tanah. (Pratiwi, 2008). *Aspergillus niger* merupakan jenis fungi yang dapat tumbuh di berbagai tempat di alam dan merupakan fungi berfilamen. *Aspergillus niger* dapat tumbuh optimum pada

rentang suhu 35-37°C dan dapat diisolasi dari tanah, sisa tumbuhan dan udara dalam ruangan (Ingrid dan Suharto, 2012). Pada usia muda, *Aspergillus niger* berwarna putih dan ketika terbentuk konidiospora, warna fungi akan menjadi hitam dengan bentuk kepala konidia bulat dan berwarna hitam (Noverita, 2009).

Berikut merupakan taksonomi dari *Aspergillus niger* (Food and Drug, 1998):

Kingdom : Fungi
Divisi : *Eumycetes*
Kelas : *Deuteromycetes*
Ordo : *Moniliales*
Famili : *Moniliaceae*
Genus : *Aspergillus*
Spesies : *Aspergillus niger*



Gambar 2. 7 Koloni fungi *Aspergillus niger* pada proses biodegradasi

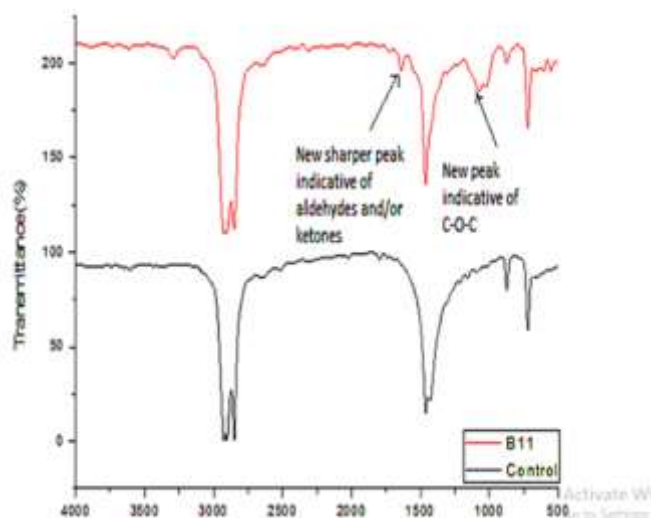
Pertumbuhan fungi dipengaruhi oleh beberapa faktor. Pertama, kebutuhan air dimana kebutuhan air pada fungi lebih rendah bila dibandingkan dengan khamir dan bakteri. Kedua yaitu suhu, yang mana fungi mampu tumbuh baik pada suhu kamar karena bersifat mesofilik. Suhu optimum pertumbuhan fungi antara 25°C-30°C, namun ada pula yang tumbuh pada suhu 35°C-37°C, misalnya *Aspergillus*. Kebutuhan oksigen dan pH juga menjadi salah satu faktor karena sifat aerobik fungi yang membutuhkan oksigen untuk tumbuh. Kebanyakan fungi

mampu tumbuh pada kisaran pH 2-8 dan tumbuh lebih baik pada pH rendah atau kondisi asam. (Gandjar, 2006).

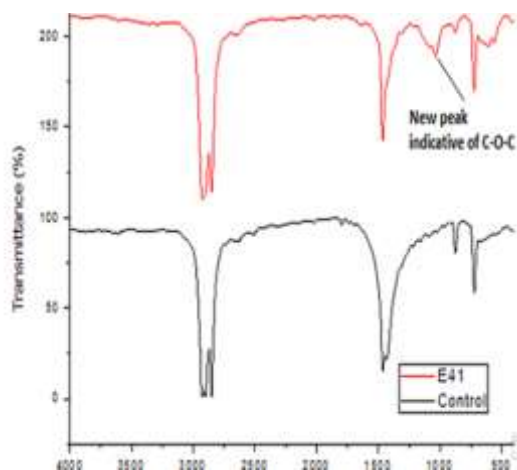
2.7 Identifikasi Gugus Fungsi Plastik LDPE Menggunakan FTIR

Identifikasi gugus fungsi pada plastik LDPE sebelum dan sesudah proses biodegradasi dilakukan menggunakan instrumen FTIR (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy*). FTIR merupakan instrumen yang digunakan untuk menentukan struktur senyawa terutama senyawa organik yang akan ditransformasi menjadi puncak berbeda melalui ikatan kovalen antar atom (Khopkar, 1990). Daerah spektrum infrared berada diantara daerah sinar tampak dan *microwave* dimana daerah $4000-400\text{ cm}^{-1}$ merupakan daerah yang paling baik. Terdapat 3 bagian daerah pada infrared yaitu infrared jauh yang berada pada bilangan gelombang $200-10\text{ cm}^{-1}$), infrared tengah yang berada pada bilangan gelombang ($4000-200\text{ cm}^{-1}$) dan infrared rendah ($12500-4000\text{ cm}^{-1}$) (Watson, 2009). Prinsip kerja FTIR yaitu infrared dikenai pada sampel melalui suatu celah yang mengontrol jumlah energi infrared. Sampel kemudian akan menyerap infrared dan permukaan sampel akan mentransmisikan sisa infrared sehingga akan lolos ke detektor. Sinyal terukur akan dikirimkan ke komputer dan dihasilkan data berupa puncak dengan intensitas tertentu (Giwangkara, 2006)

Muhonja, *et al* (2018), melakukan penelitian mengenai biodegradasi pada plastik LDPE menggunakan isolat bakteri dan fungi yang diisolasi dari Tempat Pembuangan Akhir di Nairobi, Kenya. Proses biodegradasi dilakukan selama 16 minggu. Berdasarkan pada gambar 2.9 dan gambar 2.10, dapat dilihat adanya perbedaan puncak antara plastik LDPE yang terdegradasi dengan *Pseudomonas Putida* dan *Aspergillus Nidulans* dengan plastik LDPE kontrol.



Gambar 2. 8 Spektra FTIR pada plastik degradasi *Pseudomonas putida* (Muhonja *et al.*, 2018)



Gambar 2. 9 Spektra FTIR pada plastik degradasi isolat *Aspergillus nidulans* (Muhonja *et al.*, 2018)

Berdasarkan spektra FTIR diatas, dapat diketahui adanya puncak baru pada daerah antara 1000 cm^{-1} - 1100 cm^{-1} dan pada daerah 1700 cm^{-1} - 1650 cm^{-1} . Puncak pada daerah 1000 cm^{-1} - 1100 cm^{-1} merupakan puncak alkohol primer dan sekunder. Salah satu enzim yang diketahui berperan penting dalam proses biodegradasi LDPE adalah enzim alkana hidroksilase. Enzim ini mampu dihasilkan oleh bakteri maupun fungi. Enzim alkana hidroksilase mampu memutus ikatan C-C menjadi alkohol primer atau sekunder (Mohanana *et al.*,

2020). Hal ini dapat diasumsikan bahwa puncak yang terbentuk pada daerah 1000 cm^{-1} - 1100 cm^{-1} adanya penambahan gugus fungsi C-O-C yang mengindikasikan adanya gugus alkohol primer atau sekunder karena aktivitas enzim.

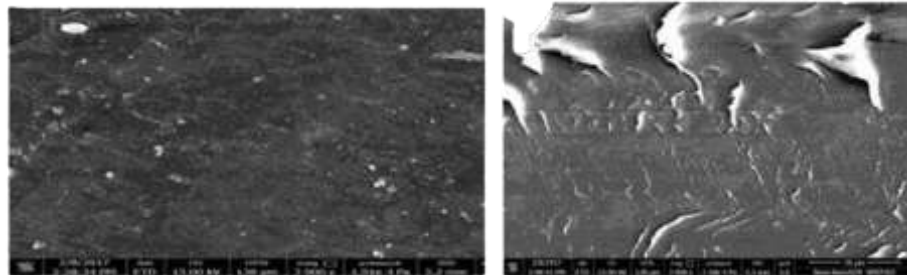
Puncak baru yang berada pada daerah 1700 cm^{-1} - 1650 cm^{-1} mengindikasikan terbentuknya gugus aldehid dan keton yang merupakan produk intermediet dari proses biodegradasi polietilena. Setelah ikatan C-C diubah menjadi alkohol primer atau sekunder, selanjutnya ikatan ini akan dioksidasi menjadi keton dan aldehid (Mohanani *et al.*, 2020). Sehingga dari aktivitas oksidasi enzim ini, terbentuk puncak pada daerah 1700 cm^{-1} - 1650 cm^{-1} . Pita utama pada plastik LDPE berada pada daerah 2900 cm^{-1} yang merupakan panjang gelombang dari gugus CH_2 asimetris (*stretching*) (Munhoja *et al.*, 2018).

2.8 Identifikasi Topografi Plastik LDPE Menggunakan SEM

SEM atau *Scanning Electron Microscope* merupakan mikroskop elektron yang memindai spesimen dengan sinar elektron energi tinggi. Resolusi yang dimiliki oleh elektron lebih tinggi daripada resolusi cahaya dimana elektron mampu mencapai resolusi $0,1\text{ nm}$ - $0,2\text{ nm}$, sedangkan cahaya hanya mampu mencapai resolusi 200 nm . Spesimen akan menghasilkan sinyal yang diakibatkan dari interaksi antara elektron dengan atom-atom, sehingga akan dihasilkan informasi mengenai topografi permukaan spesimen, komposisi dan karakteristik lainnya (Wijayanto dkk, 2014).

SEM dapat digunakan untuk mengidentifikasi struktur permukaan plastik LDPE sebelum dan sesudah proses biodegradasi. Bhave dan Sachin (2017), melakukan penelitian mengenai biodegradasi plastik LDPE menggunakan kultur

campuran bakteri dan fungi. Isolat bakteri dan fungi yang digunakan antara lain *Aspergillus spp*, *Pseudomonas spp* dan *Rhizopus arrhizus* dengan masa inkubasi selama 42 hari. Dalam penelitian ini, digunakan analisis SEM untuk mengidentifikasi permukaan LDPE sebelum dan sesudah proses biodegradasi.



Gambar 2. 10 (a) SEM sebelum biodegradasi (b) SEM setelah biodegradasi (Bhave dan Sachin, 2017)

Berdasarkan hasil identifikasi menggunakan SEM, Gambar 2.11 (a) merupakan penampakan topografi LDPE sebelum dilakukan proses biodegradasi dengan kultur campuran. Berdasarkan hasil SEM tersebut, struktur permukaan LDPE sebelum biodegradasi tampak rata dan halus. Kemudian setelah 42 hari masa inkubasi, struktur permukaan LDPE mengalami perubahan seperti pada Gambar 2.11 (b). Pada hasil SEM pada Gambar 2.11 (b) terlihat adanya *splitting* pada polimer, retakan dan lubang pada permukaan LDPE (Bhave dan Sachin, 2017). Hal ini menunjukkan bahwa mikroorganisme menyerang polimer secara biologis sehingga secara fisik, polimer menjadi lemah dan mudah hancur di bawah tekanan ringan (Zahra *et al.*, 2010).

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Juli hingga November 2022 di Laboratorium Biokimia dan Bioteknologi Program Studi Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat

Peralatan yang dibutuhkan pada proses peremajaan isolat bakteri dan fungi antara lain cawan petri, jarum ose, bunsen, dan *incubator*. Pada pembuatan inokulum bakteri dan penentuan *optical density* (OD) dibutuhkan jarum ose, botol *vial*, shaker *incubator*, mikropipet dan spektrofotometer UV-VIS. Pada pembuatan inokulum fungi, dibutuhkan kasa steril, jarum ose, kaca preparat steril, gelas ukur steril, *beaker glass* steril, mikropipet. Pada pembuatan media nutrisi basal dibutuhkan botol semprot, erlenmeyer, neraca analitik, *hot plate*, *magnetic stirrer*, autoklaf, kaca arloji dan spatula. Preparasi plastik LDPE membutuhkan lampu UV, neraca analitik dan oven. Uji aktivitas biodegradasi dan perhitungan persentase biodegradasi membutuhkan alat seperti jarum ose, seperangkat alat gelas, cawan petri, mikropipet, *plastic wrap*, dan *shaker incubator*, pinset, neraca analitik, kaca arloji, dan oven. Pada proses identifikasi gugus fungsi dan topografi plastik LDPE dibutuhkan spektrofotometer FTIR dan SEM

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang dibutuhkan pada proses peremajaan bakteri dan fungi yaitu isolat *Bacillus subtilis* yang berhasil diisolasi dari TPA Pisang Kipas

Jatimulyo, Kota Malang dan tersedia di Laboratorium Biokimia dan Bioteknologi Program Studi Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, isolat *Aspergillus niger* yang didapat dari Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Proses preparasi plastik LDPE membutuhkan bahan antara lain plastik LDPE merek “IDOLA”, etanol 70% dan aquades steril. Media yang dibutuhkan dalam penelitian ini antara lain: media *soya tryptone broth* (STB), *nutrient agar* (NA) *potato dextrose agar* (PDA), dan media nutrien basal.

3.3 Tahapan Penelitian

Pada penelitian ini, terdapat beberapa tahapan kerja antara lain:

1. Peremajaan isolat *Bacillus subtilis* dan *Aspergillus niger*
2. Pembuatan inokulum dan pengukuran *optical density* (OD) *Bacillus subtilis*
3. Pembuatan inokulum *Aspergillus niger*
4. Pembuatan media nutrien basal
5. Preparasi plastik LDPE
6. Uji aktivitas biodegradasi pada plastik LDPE menggunakan *Bacillus subtilis* dan *Aspergillus niger*
7. Identifikasi gugus fungsi plastik LDPE menggunakan FTIR
8. Identifikasi topografi plastik LDPE menggunakan SEM

3.4 Cara Kerja

3.4.1 Peremajaan Isolat *Bacillus subtilis*

Isolat *Bacillus subtilis* yang tersedia di lemari pendingin diambil beberapa ose dan diinokulasi ke dalam media *nutrient agar* dalam tabung reaksi sampai didapatkan subkultur murni (Fadilah dan Shovitri, 2014). Proses peremajaan

dilakukan secara aseptik. Kemudian diinkubasi menggunakan inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C (Rozaq, 2020).

3.4.2 Peremajaan Isolat *Aspergillus niger*

Isolat *Aspergillus niger*, diinokulasikan pada media *potato dextrose agar* (PDA) pada cawan petri menggunakan jarum ose. Kemudian dilakukan proses inkubasi pada suhu 37°C selama 5 hari dalam inkubator dan diamati pertumbuhan dari *Aspergillus niger* (Fadilla, 2020).

3.4.3 Pembuatan Inokulum dan Pengukuran Optical Density (OD) *Bacillus subtilis*

Isolat *Bacillus subtilis* yang telah diregenerasi diambil beberapa ose kemudian diinokulasikan pada media *soya tryptone broth* dalam botol vial secara aseptis. Kultur bakteri tersebut kemudian diinkubasi menggunakan inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Kemudian setelah dilakukan proses inkubasi, inokulum bakteri terlebih dahulu divortex lalu diukur *optical density* (OD) inokulum bakteri menggunakan UV-VIS pada panjang gelombang 600 nm (OD₆₀₀) (Fatimah, 2018).

3.4.4 Pembuatan Inokulum *Aspergillus niger*

Isolat *Aspergillus niger* yang telah diregenerasi dan tumbuh memenuhi cawan petri ditambah dengan aquades steril sebanyak 50 ml. Penuangan aquades steril ke dalam cawan petri dilakukan secara perlahan. Fungi yang telah ditambahkan aquades steril kemudian dikeruk menggunakan kaca preparat steril secara perlahan tanpa mengikis bagian media. Kemudian inokulum fungi pada

cawan petri disaring menggunakan kasa steril yang telah diletakkan diatas *beaker glass* dan filtrat inokulum disimpan dalam botol steril.

3.4.5 Pembuatan Media Nutrien Basal

Media nutrien basal (*Bushnell and Haas*) dibuat menggunakan bahan 0,2 gram $MgSO_4$; 1 gram K_2HPO_4 ; 1 gram KH_2PO_4 ; 1 gram NH_4NO_3 ; 0,05 gram $FeCl_3$ dan 0,02 gram $CaCl_2$. Semua bahan dilarutkan dalam 1000 mL aquades. Media diatur pada pH 7 kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu $121^\circ C$ (Ogunbayo *et.al*, 2019).

3.4.6 Preparasi Plastik LDPE

Plastik LDPE dipotong kecil dengan ukuran 3 cm x 3 cm kemudian dicuci menggunakan etanol 70% selama 30 menit (Hussein *et.al*, 2015). Kemudian dibilas dengan aquades steril dan disinari lampu UV selama 24 jam. Plastik LDPE yang telah dipreparasi kemudian ditimbang menggunakan neraca analitik untuk mengetahui berat awalnya.

3.4.7 Uji Aktivitas Biodegradasi pada Plastik LDPE Menggunakan *Bacillus subtilis* dan *Aspergillus niger*

Uji aktivitas biodegradasi pada plastik LDPE dilakukan pada media nutrien basal. Diinokulasikan sebanyak 100 μL inokulum *Bacillus subtilis* dengan nilai *optical density* (OD) pada inokulum adalah $OD_{600} = 0,535$ (Purwanti *et al.*, 2015), 100 μL inokulum *Aspergillus niger*, dan inokulum campuran (terdiri dari 50 μL inokulum *Bacillus subtilis* dan 50 μL inokulum *Aspergillus niger*), ke dalam Erlenmeyer 250 mL yang berisi 50 mL media nutrien basal. Plastik LDPE yang telah di preparasi dimasukkan ke dalam masing-masing media dalam

erlenmeyer. Kontrol negatif dibuat dengan memasukkan plastik LDPE pada media tanpa penambahan inokulum. Masing-masing perlakuan dibuat 3 kali pengulangan. Erlenmeyer ditutup menggunakan sumpal dan dilapisi dengan *plastic wrap*, kemudian dilakukan proses inkubasi. Inkubasi dilakukan menggunakan *shaker incubator* selama 60 hari dengan kecepatan 50 rpm pada suhu ruang (Ogunbayo *et.al*, 2019).

3.4.8 Penentuan Persentase Biodegradasi Plastik LDPE

Plastik LDPE yang telah diinkubasi selama 60 hari diambil kemudian dicuci menggunakan etanol 70% lalu dibilas dengan aquades steril. Plastik LDPE dikeringkan pada suhu 60°C sepanjang malam dan ditimbang persentase biodegradasi menggunakan Persamaan 3.1 berikut (Ogunbayo *et.al*, 2019):

$$\% \text{ biodegradasi} = \frac{\text{Berat kering awal (wi)} - \text{berat kering akhir (wf)}}{\text{berat kering awal (wi)}} \times 100\% \quad (3.1)$$

3.4.9 Identifikasi Gugus Fungsi Plastik LDPE Menggunakan FTIR

Instrumen FTIR digunakan untuk mengetahui perubahan gugus fungsi pada plastik LDPE. Plastik LDPE sebelum dan sesudah proses biodegradasi, dianalisis menggunakan FTIR pada panjang gelombang 4000-400 cm^{-1} dengan cara menempelkan plastik LDPE secara langsung pada *sample holder*.

3.4.10 Identifikasi Topografi Plastik LDPE Menggunakan SEM

Untuk mengetahui struktur permukaan plastik LDPE sebelum dan sesudah proses biodegradasi, maka dilakukan analisis menggunakan instrumen SEM. Sampel plastik LDPE ditempelkan pada *carbon tape* kemudian dilakukan pelapisan (*coating*) dengan emas (Au) menggunakan mesin *coating Ion*

Sputtering Coxem SPT-20. Sampel plastik LDPE yang telah *dicoating* kemudian dimasukkan ke dalam mesin SEM (Hitachi Flexsem 1000) untuk dianalisa pada perbesaran 1000-4000 x.

3.5 Analisis Data

Pada penelitian ini akan diperoleh data kualitatif dan kuantitatif. Data kuantitatif meliputi aktivitas biodegradasi berupa persentase kehilangan berat pada plastik LDPE Hasil identifikasi gugus fungsi menggunakan FTIR pada plastik LDPE sebelum dan sesudah proses biodegradasi dijelaskan secara deskriptif dengan melampirkan hasil yang didapat kemudian dibandingkan dengan literatur yang ada. Data kualitatif meliputi topografi plastik LDPE setelah dikarakterisasi menggunakan SEM yang akan dibahas secara deskriptif sesuai literatur.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pembuatan Inokulum *Bacillus subtilis* dan *Aspergillus niger*

Peremajaan isolat bakteri dan fungi perlu dilakukan sebelum proses biodegradasi berlangsung. Isolat *Bacillus subtilis* dalam stok gliserol yang disimpan dalam *freezer* diinokulasikan ke dalam media *nutrient agar* (NA) menggunakan jarum ose dengan metode zig-zag (*streak*). Metode *streak* dilakukan dengan menggoreskan bakteri pada jarum ose pada permukaan media miring dari ujung bawah hingga atas (Gandjar *et al.*,1992). Isolat bakteri kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Berdasarkan pengamatan morfologi pada Gambar 4.1, isolat *Bacillus subtilis* yang telah diregenerasi memiliki morfologi yang sama seperti pada penelitian sebelumnya yaitu bentuk bulat dengan tepian rata, koloni berukuran sedang dan berwarna krem (Rozaq, 2020).



Gambar 4. 1 Isolat *Bacillus subtilis* setelah regenerasi

Isolat *Aspergillus niger* diregenerasi menggunakan media *potato dextrose agar* (PDA) pada cawan petri. Isolat *Aspergillus niger* yang diambil dari biakan, diinokulasikan ke dalam cawan petri dan diinkubasi selama 5 hari pada suhu 37°C. Dapat diamati bahwa koloni *Aspergillus niger* berwarna hitam. Pada permukaan bawah koloni *Aspergillus niger* berwarna kuning dan ketika konidiospora (spora pada ujung hifa) terbentuk akan berubah menjadi coklat

sampai hitam seperti pada Gambar 4.2 (Wangge *et al.*, 2012). Peremajaan yang dilakukan pada isolat bakteri dan fungi berfungsi untuk mengaktifkan kembali metabolisme pada mikroorganisme setelah penyimpanan (Wijayati *et al.*, 2014). Isolat *Bacillus subtilis* dan *Aspergillus niger* memiliki masa inkubasi yang berbeda. Masa inkubasi bakteri adalah 24 jam sedangkan fungi 5 hari. Proses inkubasi bakteri selama 24 jam karena pada waktu ini jumlah sel bakteri telah meningkat akibat pembelahan konstan atau disebut dengan fase eksponensial (Dwidjoseputro, 1994). Sedangkan fungi umumnya memiliki masa inkubasi 5-7 hari karena struktur fungi yang lebih kompleks (Wijayanti, 2003).



Gambar 4. 2 Isolat *Aspergillus niger* setelah regenerasi

Inokulum merupakan mikroorganisme yang diinokulasikan pada suatu media dan dalam penelitian ini akan digunakan dalam proses biodegradasi. Isolat *Bacillus subtilis* yang diinokulasikan ke dalam media cair STB dan diinkubasi selama 24 jam akan menjadi keruh. Selanjutnya, inokulum divortex dan diukur nilai *Optical Density* (OD) menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 600 nm. Nilai kekeruhan bakteri atau OD bakteri berbanding lurus dengan jumlah sel bakteri. Semakin keruh inokulum bakteri, maka nilai OD akan semakin tinggi dan jumlah sel bakteri yang terdapat dalam inokulum akan

semakin banyak. Gambar 4.3 merupakan inokulum *Bacillus subtilis* yang akan digunakan dalam proses biodegradasi



Gambar 4. 3 Inokulum *Bacillus subtilis*

Inokulum *Aspergillus niger* dibuat dengan menyaring biakan fungi. Aquades steril dituang secara perlahan pada isolat *Aspergillus niger* yang tumbuh memenuhi cawan. Kemudian, biakan *Aspergillus niger* tersebut dikeruk menggunakan kaca preparat steril tanpa mengikis bagian media PDA dan disaring menggunakan kasa steril yang telah diletakkan diatas *beaker glass* steril. Filtrat yang telah tersaring dalam *beaker glass* merupakan inokulum *Aspergillus niger* yang akan digunakan dalam proses biodegradasi.

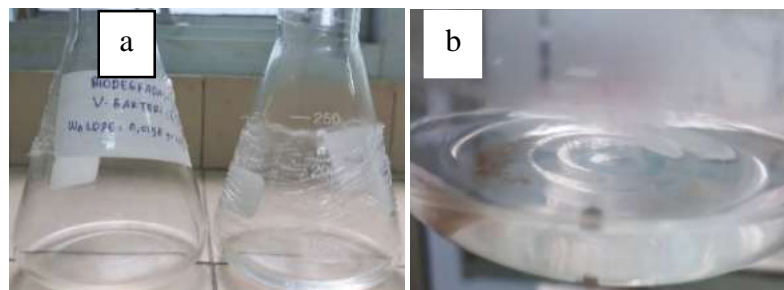
4.2 Uji Aktivitas Biodegradasi pada Plastik LDPE Menggunakan *Bacillus subtilis* dan *Aspergillus niger*

Uji aktivitas biodegradasi pada plastik LDPE dilakukan selama 60 hari pada variasi uji yang berbeda yaitu kultur tunggal *Bacillus subtilis*, kultur tunggal *Aspergillus niger* dan kultur campuran. Proses biodegradasi dilakukan dalam *shaker incubator* pada suhu ruang dengan kecepatan 50 rpm. Inokulum *Bacillus subtilis* yang digunakan dalam biodegradasi plastik LDPE memiliki nilai *optical density* (OD) 0,535.

Media yang digunakan dalam proses biodegradasi plastik LDPE adalah media nutrient basal (*Bushnell and Haas Broth Media*) dengan pH 7. Media nutrien basal tersusun atas bahan-bahan antara lain: $MgSO_4$, KH_2PO_4 , K_2HPO_4 , NH_4NO_3 , $FeCl_3$ dan $CaCl_2$. Mikroorganisme membutuhkan nutrisi yang cukup agar bisa tumbuh. Unsur-unsur yang mampu memenuhi kebutuhan nutrisi bagi pertumbuhan mikroorganisme meliputi karbon, nitrogen, unsur nonlogam seperti sulfur dan fosfor, serta unsur-unsur logam seperti kalsium, seng, natrium, kalium, tembaga, mangan, magnesium dan besi. Selain itu vitamin, air dan energi juga menjadi pendukung pertumbuhan mikroorganisme (Cappucino dan Natalie, 2013). Pada media nutrien basal yang digunakan tidak terdapat kandungan unsur karbon, karena diharapkan mikroorganisme memanfaatkan unsur karbon yang menyusun polimer plastik LDPE, sehingga biodegradasi pada plastik LDPE dapat terjadi.

Plastik LDPE yang akan digunakan dalam proses biodegradasi dilakukan preparasi terlebih dahulu. Preparasi pada plastik LDPE melibatkan paparan sinar UV. Sinar UV mampu menembus molekul plastik LDPE dan menyebabkan kerusakan pada struktur plastik LDPE yang disebut fotodegradasi. Retakan pada plastik LDPE akibat paparan sinar UV dapat memudahkan mikroorganisme menempel pada permukaan plastik dan mensekresikan enzim-enzim pendegradasinya (Sarengat, 2011; El-Tonsy *et al.*, 2015). Gambar 4.4 menunjukkan bahwa selama proses biodegradasi, media dengan penambahan isolat mengalami kekeruhan bila dibandingkan blanko. Hal ini membuktikan isolat bakteri dan fungi mampu tumbuh dalam media nutrien basal yang ditandai dengan terbentuknya *biofilm* pada permukaan plastik LDPE sehingga dapat

disimpulkan bahwa *Bacillus subtilis* dan *Aspergillus niger* memanfaatkan unsur karbon (C) yang menyusun plastik LDPE sebagai sumber karbon.



Gambar 4. 4 (a) Kekeruhan pada media dengan penambahan inokulum (b) Biofilm pada permukaan plastik

Tabel 4. 1 Persentase biodegradasi plastik LDPE

| Jenis Kultur | % Biodegradasi |
|--------------------------|----------------|
| Kontrol | 0 |
| <i>Bacillus subtilis</i> | 0,84 |
| <i>Aspergillus niger</i> | 0,99 |
| Campuran | 0,81 |

Hasil uji biodegradasi plastik LDPE secara kuantitatif dilakukan secara gravimetrik. Perhitungan persentase biodegradasi pada masing-masing perlakuan didasarkan pada Persamaan 3.1. Tabel 4.1 menunjukkan persentase rata-rata biodegradasi plastik LDPE pada masing-masing perlakuan. Persentase biodegradasi plastik LDPE tertinggi terdapat pada kultur *Aspergillus niger* sebesar 0,99%, diikuti oleh *Bacillus subtilis* 0,84% dan kultur campuran 0,81%. Beberapa penelitian yang telah dilakukan menunjukkan perbedaan persentase biodegradasi yang dihasilkan oleh bakteri dan fungi. Gupta dan Deepa (2019) melakukan penelitian mengenai biodegradasi pada plastik LDPE menggunakan isolat *Bacillus sp.* Inkubasi dilakukan selama 60 hari dan didapat persentase biodegradasi sebesar 1,5%. Yao, *et al* (2022) menggunakan spesies *Bacillus* yaitu *Bacillus subtilis* dan *Bacillus licheniformis* untuk mendegradasi plastik LDPE. Inkubasi dilakukan selama 30 hari dan didapat persentase biodegradasi plastik

LDPE menggunakan *Bacillus subtilis* dan *Bacillus licheniformis* berturut-turut 3,49% dan 2,83%.

Penelitian mengenai biodegradasi plastik LDPE menggunakan fungi juga telah dilakukan. Verma dan Gupta (2019) melakukan penelitian mengenai potensi *Aspergillus sp* dalam mendegradasi plastik LDPE. Biodegradasi dilakukan dalam variasi waktu 4 bulan dan 9 bulan dan didapat persentase degradasi masing-masing yaitu 14,3% dan 30,6%. Saenz, *et al* (2019) menggunakan *Aspergillus niger* dan *Aspergillus terreus* yang diisolasi dari mangrove. Setelah 77 hari masa inkubasi, didapat persentase biodegradasi plastik LDPE pada *Aspergillus niger* dan *Aspergillus terreus* masing-masing mencapai 35,3% dan 22,4%. Berdasarkan uraian tersebut, *Aspergillus* memiliki persentase degradasi yang cukup tinggi dibandingkan *Bacillus*. Fungi dianggap lebih efisien dalam mendegradasi polimer karena mampu menempel pada permukaan hidrofobik polimer serta memiliki hifa yang mampu memperluas jaringan miselium sehingga dapat meningkatkan daya rekat untuk mensekresikan eksoenzim yang dapat memecah polimer (Ghatge *et al.*, 2020).

Kultur campuran seharusnya menghasilkan persentase biodegradasi yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan kultur tunggal. Ogunbayo, *et al* (2019) membandingkan biodegradasi plastik LDPE menggunakan kultur tunggal *Pseudomonas sp* dan *Aspergillus niger* serta kultur campuran dan didapat persentase biodegradasi berturut-turut yaitu 7,2%, 12,4% dan 15%. Persentase biodegradasi tertinggi yang dihasilkan kultur campuran disebabkan adanya kerja sama enzim yang dikeluarkan oleh bakteri dan fungi. Fungi menghasilkan protein *hydrophobin* dan memperluas jaringan miselium untuk mengeluarkan enzim

hidrolase sehingga mampu menurunkan hidrofobilitas plastik LDPE (Restrepo-Florez *et al.*, 2014). Hal ini akan memudahkan bakteri dan fungi untuk mensekresikan enzim pendegradasi sehingga pada kultur campuran dapat menghasilkan persentase biodegradasi yang lebih tinggi.

Beberapa faktor dapat mempengaruhi biodegradasi, antara lain: kurangnya intensitas paparan UV, penempatan inokulum di luar inkubator, jumlah mikroorganisme yang terlibat serta pH dan suhu yang kurang stabil (Rani *et al.*, 2022). Salah satu faktor yang dapat mempengaruhi persentase biodegradasi pada kultur campuran tidak terlalu tinggi adalah perbedaan sumber isolasi mikroorganisme antara *Bacillus subtilis* dan *Aspergillus niger* yang digunakan dalam proses degradasi. Zhou *et al.*, (2014) meneliti terkait sinergisme fungi dan bakteri dalam mendegradasi pewarna menyatakan bahwa mikroorganisme yang dikultur bersama dan berasal dari sumber yang sama merupakan cara yang efektif untuk menguatkan efek sinergitas antara keduanya.

Selama proses biodegradasi, nilai OD akan menurun karena berkurangnya ketersediaan nutrisi (Novianty *et al.*, 2021). Penggunaan kultur campuran yang melibatkan *Bacillus subtilis* dan *Aspergillus niger* akan membutuhkan nutrisi lebih karena melibatkan 2 jenis mikroorganisme agar keduanya dapat bekerja optimal. Selain itu, berdasarkan penelitian yang dilakukan Benoit., *et al* (2015) mengenai perubahan metabolisme yang terjadi ketika *Bacillus subtilis* menempel pada hifa *Aspergillus niger* menyatakan bahwa pada hasil analisa supernatan kultur, menunjukkan produksi surfaktan oleh *Bacillus subtilis* berkurang ketika dibudidayakan dengan *Aspergillus niger*. *Bacillus subtilis* dapat menghasilkan

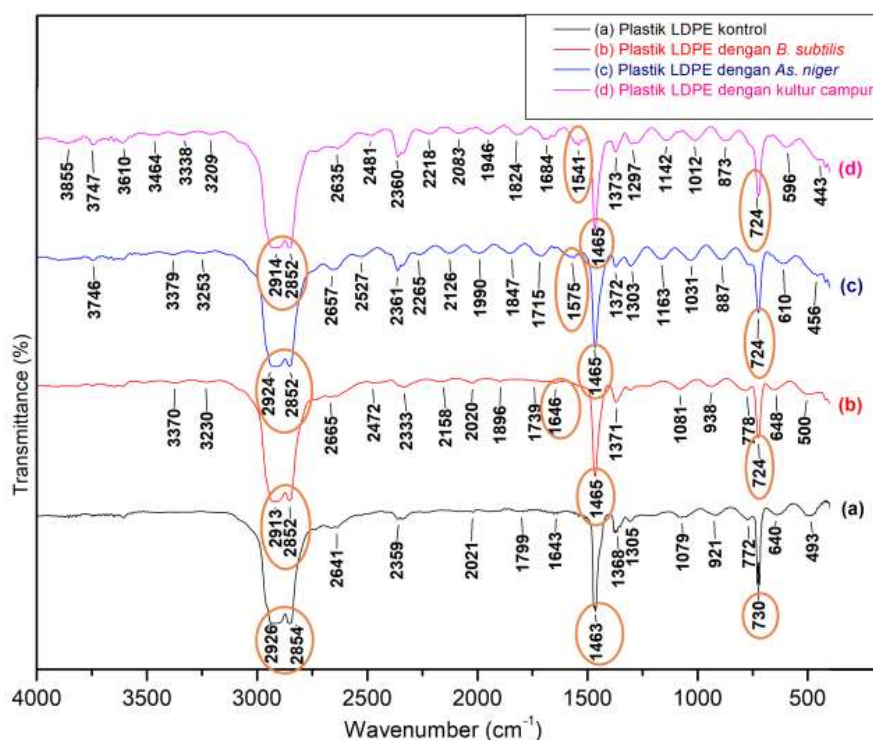
surfaktan yang merupakan molekul yang menjadi media pelekatan pada permukaan LDPE yang hidrofobik (Restrepo-Florez *et al.*, 2014).

4.3 Identifikasi Gugus Fungsi Plastik LDPE Menggunakan FTIR

Uji kualitatif dilakukan menggunakan FTIR untuk mengetahui adanya perubahan gugus fungsi pada plastik LDPE sebelum dan sesudah biodegradasi. Gambar 4.5 dan Tabel 4.2 menyajikan hasil spektra FTIR antara plastik LDPE kontrol dengan plastik LDPE yang diinkubasi menggunakan *Bacillus subtilis*, *Aspergillus niger* dan kultur campuran. Plastik LDPE memiliki bilangan-bilangan gelombang khas yang sesuai dengan ikatan penyusun polimer plastik LDPE (Gulmine *et al.*, 2002; Ingavale dan Raut, 2018). Bilangan-bilangan tersebut muncul pada plastik LDPE kontrol dan plastik LDPE yang diinkubasi menggunakan *Bacillus subtilis*, *Aspergillus niger* dan kultur campuran.

Tabel 4. 2 Interpretasi FTIR plastik LDPE pada masing-masing variasi inkubasi

| Bilangan Gelombang (cm ⁻¹) | | | | | |
|--|--------------------------|--------------------------|-----------------|----------------------------|---|
| Plastik LDPE pada masing-masing Variasi Inkubasi | | | | Referensi (Socrates, 2001) | Jenis Vibrasi |
| kontrol | <i>Bacillus subtilis</i> | <i>Aspergillus niger</i> | Kultur Campuran | | |
| 2926 | 2913 | 2924 | 2914 | 2940-2915 | -CH ₂ - (<i>stretch</i>) asimetris |
| 2854 | 2852 | 2852 | 2852 | 2870-2840 | -CH ₂ - (<i>stretch</i>) simetris |
| - | 1646 | 1575 | 1541 | 1680-1580 | C=C (<i>stretch</i>) |
| 1463 | 1465 | 1465 | 1465 | 1480-1440 | -CH ₂ - (<i>scissor</i>) |
| 730 | 724 | 724 | 724 | 750-720 | -CH ₂ - (<i>rocking</i>) |



Gambar 4. 5 Spektra FTIR plastik LDPE pada masing-masing variasi inkubasi

Pada Tabel 4.2 dan Gambar 4.5 terdapat penambahan spektra pada plastik LDPE yang diinkubasi menggunakan *Bacillus subtilis*, *Aspergillus niger* dan kultur campuran pada bilangan gelombang 1646 cm^{-1} , 1575 cm^{-1} dan 1541 cm^{-1} . Bilangan-bilangan gelombang tersebut mengindikasikan adanya gugus C=C (*stretch*). *Bacillus subtilis* dan *Aspergillus niger* menghasilkan enzim hidrolase dan oksidoreduktase yang berperan penting dalam proses biodegradasi plastik LDPE. Munculnya gugus alkena (C=C) pada hasil FTIR plastik LDPE setelah proses biodegradasi diindikasikan sebagai akibat dari pemotongan polimer menjadi oligomer selama proses polimerisasi plastik LDPE oleh enzim hidrolisis *Bacillus subtilis* dan *Aspergillus niger*. Salah satu jenis enzim yang dihasilkan berupa alkana dehidrogenase yang merupakan enzim dalam kelas oksidoreduktase dengan subkelas dehidrogenase yang memotong ikatan C-C

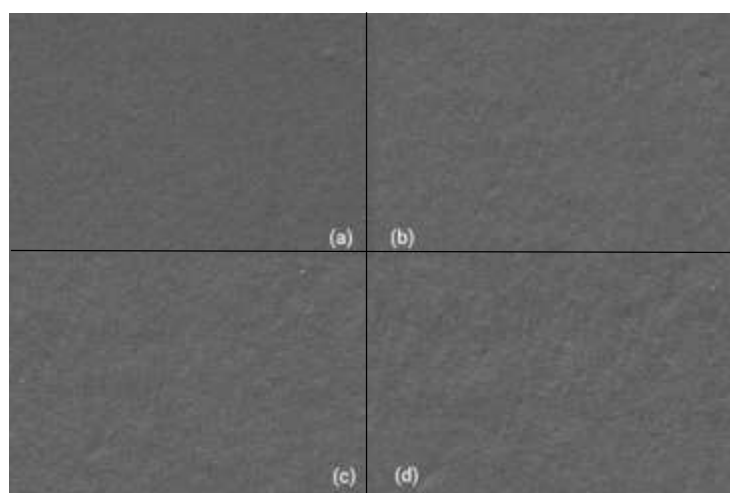
secara hidrolitik sehingga terbentuk ikatan rangkap (C=C) (Khruengsai *et al.*, 2021; Jeon *et al.*, 2021).

Keseluruhan spektra tambahan yang dihasilkan pada tiap variasi kultur biodegradasi pada plastik LDPE merupakan spektra dengan intensitas cukup rendah yang merupakan efek dari hasil biodegradasi yang tidak terlalu signifikan. Selain dari hasil FTIR, perubahan pH media dapat dijadikan tanda bahwa telah terjadi proses biodegradasi. Adanya aktivitas enzim selama biodegradasi akan menurunkan pH media dan juga terkait pada penurunan populasi mikroba (Shrestha *et al.*, 2019). Penurunan pH media pada tiap variasi inkubasi terdapat pada **Lampiran 4**. Berdasarkan hal ini, dapat diketahui bahwa *Bacillus subtilis* dan *Aspergillus niger* mampu mensekresikan enzim-enzim pendegradasi alkana rantai panjang yang menyusun plastik LDPE dan memanfaatkannya sebagai sumber karbon dan energi.

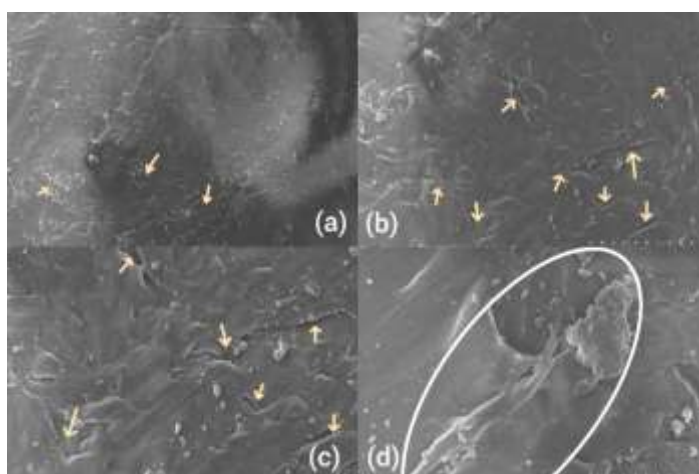
4.4 Identifikasi Topografi Plastik LDPE Menggunakan SEM

Uji kualitatif selanjutnya yaitu menggunakan instrumen *Scanning Electron Microscopy* (SEM). Analisa SEM dilakukan untuk melihat adanya perubahan pada struktur permukaan plastik LDPE. Analisa SEM dilakukan pada plastik LDPE kontrol dan plastik LDPE yang memiliki persentase biodegradasi terbaik yaitu plastik LDPE yang diinkubasi dengan *Aspergillus niger* dengan persentase biodegradasi sebesar 0,99%. Analisa SEM pada plastik LDPE kontrol dan plastik LDPE dengan persentase biodegradasi terbaik dilakukan pada perbesaran 1.000x, 2.000x, 3.000x dan 4.000x. Gambar 4.8 merupakan hasil analisa SEM plastik LDPE kontrol pada perbesaran 1.000x, 2.000x, 3.000x dan 4.000x.

Pada tiap perbesaran tampak permukaan plastik LDPE kontrol halus dan rata tanpa adanya lubang dan tumpang tindih pada plastik LDPE. Hal ini menjadi tanda bahwa tidak ada aktivitas mikroorganisme yang terjadi pada plastik LDPE kontrol yang dapat menyebabkan kerusakan pada permukaan plastik LDPE serta persentase biodegradasi plastik LDPE kontrol sebesar 0% yang menunjukkan tidak adanya penurunan massa pada plastik LDPE.



Gambar 4. 6 Analisa SEM pada plastik LDPE kontrol (a)1.000x (b)2.000x (c)3.000x (d)4.000x



Gambar 4. 7 Analisa SEM pada plastik LDPE sesudah biodegradasi (a)1.000x (b)2.000x (c)3.000x (d)4.000x

Gambar 4.9 menunjukkan hasil analisa SEM pada plastik LDPE dengan persentase terbaik pada perbesaran 1.000x, 2.000x, 3.000x dan 4.000x. Hasil

analisa SEM pada plastik LDPE sesudah biodegradasi menunjukkan permukaan plastik LDPE yang tidak rata, berlubang dan adanya tumpang tindih (*overlapping*) pada plastik LDPE sebagaimana ditunjukkan oleh tanda panah pada gambar. Aktivitas enzimatik yang dilakukan oleh mikroorganisme menyebabkan oksidasi plastik LDPE menghasilkan pembentukan gugus karbonil yang mudah diakses oleh mikroorganisme. Mikroorganisme kemudian memanfaatkan daerah teroksidasi sehingga menyebabkan terbentuknya lubang pada permukaan plastik LDPE (Rani *et al.*, 2022). Hasil analisa SEM yang menunjukkan perubahan pada permukaan plastik LDPE dari yang semula halus menjadi tidak rata, berlubang dan saling tumpang tindih, membuktikan bahwa bakteri *Bacillus subtilis* dan fungi *Aspergillus niger* mampu mendegradasi plastik LDPE dengan mensekresikan enzim-enzim pendegradasi dan memanfaatkan rantai karbon sebagai sumber energi.

4.5 Kajian Hasil Penelitian dalam Perspektif Islam

Kata “Bumi (*Ardh*)” disebut sebanyak 485 kali dalam Al-Qur’an dengan arti dan konteks yang beragam. Manusia sebagai khalifah yang disebut sebagai pusat lingkungan disebutkan dalam Q.S Al-Baqarah ayat 30 dan dalam Q.S Al-Jasyah ayat 13 menyebutkan bahwa Allah Swt. menundukkan segala hal yang di langit dan di bumi kepada manusia. Manusia, bumi dan alam semesta serta seluruh ciptaan Allah Swt. merupakan suatu ekosistem yang saling berkesinambungan dan amat bergantung pada moralitas manusia sebagai khalifah di muka bumi (Abdullah, 2010).

Ayat-ayat tersebut menjelaskan bahwa manusia sebagai penguasa alam, namun terdapat tanggung jawab dan kesadaran etis yang harus disadari setiap

manusia untuk mengelola alam. Sebagaimana disebutkan dalam surah Al-Baqarah ayat 30 :

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

Artinya: “(Ingatlah) ketika Tuhanmu berfirman kepada para Malaikat: "Sesungguhnya Aku hendak menjadikan seorang khalifah di muka bumi". Mereka berkata: "Apakah Engkau hendak menjadikan (khalifah) di bumi itu orang yang akan membuat kerusakan padanya dan menumpahkan darah, padahal kami senantiasa bertasbih dengan memuji Engkau dan mensucikan Engkau?" Tuhan berfirman: "Sesungguhnya Aku mengetahui apa yang tidak kamu ketahui".

Tafsir Al-Mishbah menjelaskan bahwa ayat ini dimulai dengan penyampaian keputusan Allah Swt. tentang rencana-Nya menciptakan manusia di bumi kepada para malaikat. Penyampaian ini penting karena malaikat akan dibebani tugas menyangkut manusia seperti mencatat amal manusia, memelihara, membimbing dan sebagainya. Perlu dicatat bahwa mulanya kata (خَلِيفَةً) *khalifah* berarti *menggantikan* atau *yang datang sesudah siapa yang datang sebelumnya*. Ayat ini menunjukkan bahwa Allah Swt. menganugerahkan wewenang dan tugas kepada para *khalifah*. Dengan demikian, kekhalifahan melaksanakan tugas dan wewenang sesuai petunjuk Allah Swt. dan kebijaksanaan yang tidak sesuai dengan kehendak-Nya merupakan pelanggaran terhadap makna dan tugas kekhalifahan.

Konsep khalifah yang disebutkan dalam Q.S Al-Baqarah ayat 30 bermakna *responsibility* atau tanggung jawab. Makna khalifah sebagai wakil Tuhan di muka bumi akan benar-benar memiliki makna ketika manusia mampu menjalankan tanggung jawabnya dalam melestarikan bumi. Manusia tidak akan

bisa melaksanakan ibadah atau pengabdian kepada Allah Swt. jika lingkungan buruk atau rusak. Dalam hal ini, melindungi dan merawat lingkungan menjadi suatu kewajiban bagi setiap manusia bahkan menjadi tujuan syari'ah. Tujuan syari'ah memiliki 5 tujuan yang telah disepakati sejak dulu yaitu menjaga agama, kehidupan, keturunan, hak milik dan akal. Musthafa Abu Sway menyatakan bahwa menjaga lingkungan merupakan tujuan tertinggi dan beliau berargumen “ jika keadaan lingkungan memburuk, maka pada akhirnya tidak akan ada lagi kehidupan, begitu pula hak milik dan agama. Lingkungan mencakup tujuan-tujuan syariah lainnya” (Abdullah,2010).

Kerusakan alam yang saat ini banyak terjadi merupakan salah satu bukti bahwa manusia tidak menjaga alam dengan baik. Salah satu yang dapat dilihat di sekitar adalah timbunan sampah yang tidak dikelola dengan baik sehingga mencemari lingkungan bahkan menyebabkan bencana yang merugikan manusia. Sampah yang banyak dihasilkan adalah sampah plastik. Plastik merupakan susunan polimer panjang yang membutuhkan waktu sangat lama untuk terurai. Berbagai upaya dilakukan untuk mengurangi sampah plastik salah satunya dengan memanfaatkan mikroorganisme dalam menguraikan polimer panjang plastik sehingga lebih mudah terdegradasi.

Setiap hal yang Allah Swt. ciptakan di alam ini memiliki manfaatnya bahkan sekecil *zarrah*. *Zarrah* dalam Al-Qur'an disebutkan sebagai materi terkecil dan menjadi petunjuk dalam mempelajari mikroorganisme (Subandi, 2010). Allah Swt. berfirman dalam Q.S Al-Baqarah ayat 26:

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

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

Dalam ayat tersebut, terdapat penggalan ayat *بَعُوضَةً فَمَا فَوْقَهَا* (artinya :”..berupa nyamuk atau yang lebih rendah dari itu..”). Berdasarkan Zubdatut Tafsir oleh Syaikh Dr.Muhammad Sulaiman al-Asyqar yang merupakan ringkasan dari Tafsir Qadir karya al-Imam asy-Syaukani bahwa terdapat makhluk hidup yang lebih kecil dari sayap nyamuk. Allah Swt. menciptakan segala sesuatu dari yang dapat terlihat hingga sekecil *zarrah*. Terdapat banyak makhluk hidup yang tidak dapat dilihat menggunakan mata telanjang dan hanya dapat dilihat melalui kaca pembesar, semisal mikroskop yaitu mikroorganisme seperti bakteri dan fungi.

Penelitian ini membahas mengenai biodegradasi plastik LDPE menggunakan *Bacillus subtilis* dan *Aspergillus niger* sebagai salah satu upaya yang dapat dilakukan dalam penyelamatan lingkungan. Mikroorganisme seperti *Bacillus subtilis* dan *Aspergillus niger* memiliki enzim yang dapat memecah polimer panjang yang menyusun plastik menjadi rantai pendek sehingga memudahkan proses degradasi plastik, sehingga plastik mampu terurai lebih cepat. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa *Bacillus subtilis* dan *Aspergillus*

niger dapat mendegradasi plastik LDPE hingga 0,99%. Hal ini membuktikan bahwa makhluk sekecil bakteri dan fungi yang tidak dapat dilihat secara kasat mata memiliki peranan yang sangat penting bagi kehidupan manusia bahkan dapat menjadi perantara dalam upaya penyelamatan lingkungan.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Rata-rata persentase biodegradasi yang didapat pada kultur tunggal *Bacillus subtilis*, *Aspergillus niger* dan kultur campuran keduanya masing-masing antara lain, 0,84%, 0,99% dan 0,81%.
2. Hasil FTIR pada plastik LDPE sebelum dan sesudah biodegradasi menunjukkan adanya penambahan spektra pada plastik LDPE setelah diinkubasi dengan *Bacillus subtilis*, *Aspergillus niger* dan kultur campuran berturut-turut pada bilangan gelombang 1646 cm^{-1} , 1575 cm^{-1} dan 1541 cm^{-1} yang mengindikasikan terbentuknya gugus C=C (*stretch*)
3. Hasil analisa SEM pada plastik LDPE kontrol dan persentase biodegradasi terbaik menunjukkan adanya perubahan pada plastik LDPE dari yang semula rata dan halus menjadi retak, berlubang dan saling tumpang tindih.

5.2 Saran

Adapun saran yang ditujukan pada penelitian selanjutnya antara lain:

1. Mengoptimalkan nutrisi pada mikroorganisme terutama dalam kultur campuran.
2. Membuat variasi pH untuk mengetahui pH optimum dalam mendegradasi plastik LDPE pada kultur tunggal dan campuran.

3. Menambah volume inokulum yang digunakan dalam biodegradasi, meningkatkan nilai OD dan masa inkubasi sehingga proses biodegradasi pada plastik LDPE dapat berjalan lebih optimal sehingga diperoleh persentase biodegradasi yang lebih tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, Mudhofir. 2010. *Al-Quran dan Konservasi Lingkungan: Argumen Konservasi Lingkungan Sebagai Tujuan Tertinggi Syariah*. Jakarta: PT Dian Rakyat.
- Al-Asyqar, Muhammad Sulaiman. *Zubdatut Tafsir Min Fathil Qadir/Syaikh Mudarris Tafsir*. Universitas Islam Madinah
- Alabi O, A., Kehinde I, O., Oluwaseun, A., & Olufiropo E, A. (2019). Public and Environmental Health Effects of Plastic Wastes Disposal: A Review. *Journal of Toxicology and Risk Assessment*, 5(2).
- Ariyadi. (2018). Al-Qur'an Views Relating to Environmental Conservation. *Jurnal Daun*, 5(1), 01-09.
- Arutchelvi, J., Sudhakar, M., Arkatkar, A., Doble, M., Bhaduri, S., & Uppara, P. V. (2008). Biodegradation Of Polyethylene and Polypropylene. *Indian Journal of Biotechnology*, 7(1), 9–22.
- Atlas, R.M., & R.Bartha. (1987). *Microbial Ecology: Fundamental and Application, 2nd Edition*. California: The Benjamin/Cuming Publishing Company, Inc. Menlo Par.
- Benoit, I., Esker, M. H. Van Den, Patyshakuliyeva, A., Mattern, D. J., Blei, F., Zhou, M., Dijksterhuis, J., Brakhage, A. A., Kuipers, O. P., Vries, R. P. De, & Kovács, Á. T. (2015). Bacillus subtilis Attachment to Aspergillus niger Hyphae Results in Mutually Altered Metabolism. *Society for Applied Microbiology* 17, 2099–2113.
- Bhave, R., & Mane, S. (2017). Biodegradation of Low Density Polyethylene by Using Mixed Culture of Bacteria and Fungi. *International Journal of Engineering Science and Computing*, 7(9), 15019–15022.
- Cappucciino, J.G & Natalie, S. 2013. *Manual Laboratorium Biologi*. Jakarta: EGC.
- Damayanti, N., Sulaiman, N., & Ibrahim, N. (2020). Plastic Biodegradation By *Pseudomonas Aeruginosa* UKMCC1011 Using A Modified Winogradsky Column. *Science and Engineering*, 7(2), 7.
- Deepika, S., & Madhuri, R. J. (2015). Biodegradation Of Low Density Polyethylene By Micro-Organisms From Garbage Soil. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*, 3(1), 15–21.
- Dey, A. S., Bose, H., Mohapatra, B., & Sar, P. (2020). Biodegradation of Unpretreated Low-Density Polyethylene (LDPE) by *Stenotrophomonas sp.*

and *Achromobacter sp.*, Isolated From Waste Dumpsite and Drilling Fluid. *Frontiers in Microbiology*, 11(December), 1–15.

- DSouza, G. C., Sheriff, R. S., Ullanat, V., Shrikrishna, A., Joshi, A. V., Hiremath, L., & Entoori, K. (2021). Fungal Biodegradation Of Low-Density Polyethylene Using Consortium Of *Aspergillus* Species Under Controlled Conditions. *Heliyon*, 7(5), e07008.
- Dwicania, E., Rinanti, A., & Fachrul, M. F. (2019). Biodegradation Of LLDPE Plastic By Mixed Bacteria Culture Of *Pseudomonas Aeruginosa* and *Brevibacterium Sp.* *Journal of Physics: Conference Series*, 1402(2).
- Dwidjoseputro. 1994. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Djambatan.
- El-Tonsy, M. M., AlSaati, S. A. A., & Oraby, A. H. (2015). Degradation of Low Density Polyethylene Due To Successive Exposure to Acid Rain and UV Radiation. *International Journal of Science and Engineering Applications*, 4(5), 327–334.
- Fadilla, Mutia Nur. (2020). Biodegradasi LDPE (*Low Density Polyethylene*) oleh Isolat Fungi Indigenous Asal Tempat Pemrosesan Akhir Talangagung, Kepanjen, Kabupaten Malang [Skripsi]. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Fadlilah, F. R., & Shovitri, M. (2014). Potensi Isolat Bakteri *Bacillus* dalam Mendegradasi Plastik dengan Metode Kolom Winogradsky. *Jurnal Teknik Pomits*, 3(2), 2337–3539.
- Fatihah, Safira Waznah. (2018). Biodekolorisasi Metilen Biru Oleh Kultur Campuran *Pseudomonas aeruginosa* dan Fungi Pelapuk Putih *Phlebia brevispora* [Skripsi]. Surabaya: Institut Teknologi Sepuluh Nopember.
- Food and Drugs. 1998. *Code of Federal Regulation*. Washington: US Government Printing Office.
- Gajendiran, A., Krishnamoorthy, S., & Abraham, J. (2016). Microbial Degradation Of Low-Density Polyethylene (LDPE) By *Aspergillus Clavatus* Strain JASK1 Isolated From Landfill Soil. *3 Biotech*, 6(1), 1–6.
- Gandjar, I, R.K. Isworo, M. Wibowo & S. Lanira. 1992. *Pedoman Praktikum Mikrobiologi Dasar*. Depok: Jurusan Biologi FMIPA-UI.
- Gandjar, Indrawati, Wellyzar, S., & Ariyanti, O. (2006). *Mikologi Dasar dan Terapan*. Jakarta: Yayasan Obor Indonesia.
- Garrity, G.M, Bell, J.A, & Lilburn, T.G. 2004. *Taxonomic Outline of the Prokaryotes Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2nd Edition*. New York: Springer-Verlag.

- Ghatge, S., Yang, Y., Ahn, J. H., & Hur, H. G. (2020). Biodegradation of Polyethylene: a Brief Review. *Applied Biological Chemistry*, 63(1).
- Giwangkara, S.E.G. (2006). *Aplikasi Logika Syaraf Fuzzy pada Analisis Sidik Jari Minyak Bumi Menggunakan Spektrofotometer Infra Merah Transformasi Fourier (FT-IR)*. Jawa Tengah: Sekolah Tinggi Energi dan Mineral.
- Gulmine, J. V., Janissek, P. R., Heise, H. M., & Akcelrud, L. (2002). Polyethylene Characterization by FTIR. *Polymer Testing*, 21(5), 557–563.
- Gupta, Kumar K., & Devi, D. (2019). Biodegradation of Low Density Polyethylene by Selected *Bacillus* sp. *Gazi University Journal of Science*, 32(3), 802–813.
- Guzman, A., Gnutek, N., & Janik, H. (2011). Biodegradable Polymers for Food Packaging – Factors Influencing Their Degradation and Certification Types –. *Chemistry and Chemical Technology*, 5(1), 115–122.
- Hatmanti, Ariani. (2000). Pengenalan *Bacillus spp. Oseana*, XXV(1), 31-41.
- 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 Environment Journal*, 1(4), 1–14.
- Ingavale, R. R., & Raut, P. D. (2018). Comparative Biodegradation Studies of LDPE and HDPE Using *Bacillus weihenstephanensis* Isolated From Garbage Soil. *Nature Environment and Pollution Technology*, 17(2), 649–655.
- Inggrid, M dan Suharto. 2012. Fermentasi Glukosa oleh *Aspergillus niger* menjadi Asam Glukonat. Universitas Katolik Parahyangan.
- Jamilatun, M., Azzahra, N., & Aminah, A. (2020). Perbandingan Pertumbuhan *Aspergillus fumigatus* pada Media Instan Modifikasi *Carrot Sucrose Agar* dan *Potato Dextrose Agar*. *Jurnal Mikologi Indonesia*, 4(1), 168–174.
- Jayasiri, H. B., Purushothaman, C. S., & Vennila, A. (2013). Plastic Litter Accumulation On High-Water Strandline Of Urban Beaches In Mumbai, India. *Environmental Monitoring and Assessment*, 185(9), 7709–7719.
- Jeon, J. M., Park, S. J., Choi, T. R., Park, J. H., Yang, Y. H., & Yoon, J. J. (2021). Biodegradation of Polyethylene and Polypropylene by *Lysinibacillus* Species JJY0216 Isolated From Soil Grove. *Polymer Degradation and Stability*, 191, 109662.

- 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.
- Khopkar, S.M. (1990). *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Khruengsai, S., Sripahco, T., & Pripdeevech, P. (2021). Low-Density Polyethylene Film Biodegradation Potential by Fungal Species From Thailand. *Journal of Fungi*, 7(8).
- Leja, K., & Lewandowicz, G. (2010). Polymer Biodegradation and Biodegradable Polymers - A Review. *Polish Journal of Environmental Studies*, 19(2), 255–266.
- 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.
- Mohanan, N., Montazer, Z., Sharma, P. K., & Levin, D. B. (2020). Microbial and Enzymatic Degradation of Synthetic Plastics. *Frontiers in Microbiology*, 11.
- 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.
- Munir, E., Harefa, R. S. M., Priyani, N., & Suryanto, D. (2018). Plastic Degrading Fungi *Trichoderma Viride* And *Aspergillus Nomius* Isolated From Local Landfill Soil In Medan. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 126(1), 2–9.
- Noverita. (2009). Identifikasi Kapang dan Khamir Penyebab Penyakit Manusia pada Sumber Air Minum Penduduk pada Sungai Ciliwung dan Sumber Air Sekitarnya. *VIS VITALIS*, 02(2), 12-22.
- Novianty, R., Saryono, Awaluddin, A., Pratiwi, N. W., Hidayah, A., & Juliantari, E. (2021). The Diversity of Fungi Consortium Isolated From Polluted Soil for Degrading Petroleum Hydrocarbon. *Biodiversitas*, 22(11), 5077–5084.
- Ogunbayo, A. O., Olanipekun, O. O., & Adamu, I. A. (2019). Preliminary Studies on the Microbial Degradation of Plastic Waste Using *Aspergillus niger* and *Pseudomonas sp.* *Journal of Environmental Protection*, 10(05), 625–631.
- Oxtoby, David.W., Gillis H.P., & Alan Campion. (2008). *Principles of Modern Chemistry, Sixth Edition*. USA: Thomson Brooks/Cole.

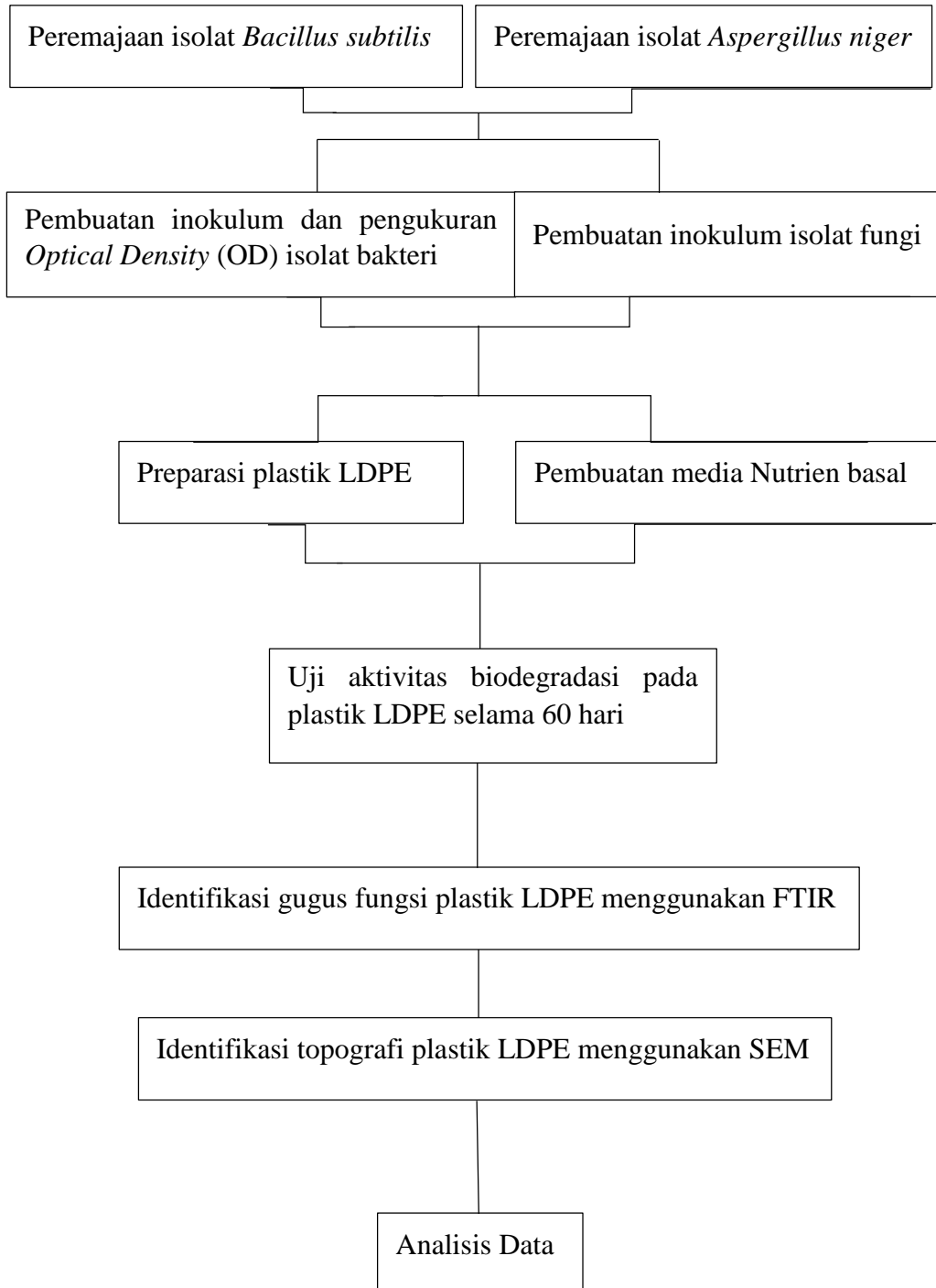
- Pham, N. T. H. (2021). Characterization Of Low-Density Polyethylene And Ldpe-Based/Ethylene-Vinyl Acetate With Medium Content Of Vinyl Acetate. *Polymers*, 13(14).
- Pratiwi, Sylvia T. (2008). *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga.
- Priliantini, A., Krisyanti, K., & Situmeang, I. V. (2020). Pengaruh Kampanye #Pantangplastik Terhadap Sikap Ramah Lingkungan (Survei Pada Pengikut Instagram @GreenpeaceID). *Jurnal Komunika : Jurnal Komunikasi, Media Dan Informatika*, 9(1), 40.
- Proshad, R., Kormoker, T., Islam, M. S., Haque, M. A., Rahman, M. M., & Mithu, M. M. R. (2017). Toxic Effects Of Plastic On Human Health And Environment : A Consequences Of Health Risk Assessment In Bangladesh. *International Journal of Health*, 6(1), 1.
- Puglisi, E., Romaniello, F., Galletti, S., Boccaleri, E., Frache, A., & Cocconcelli, P. S. (2019). Selective Bacterial Colonization Processes On Polyethylene Waste Samples In An Abandoned Landfill Site. *Scientific Reports*, 9(1), 1–13.
- Purwanti, I. F., Abdullah, S. R. S., Hamzah, A., Idris, M., Basri, H., Mukhlisin, M., & Latif, M. T. (2015). Biodegradation Of Diesel By Bacteria Isolated From *Scirpus Mucronatus Rhizosphere* In Diesel-Contaminated Sand. *Advanced Science Letters*, 21(2), 140–143.
- Rani, R., Rathee, J., Kumari, P., Singh, N. P., & Santal, A. R. (2022). Biodegradation and Detoxification of Low-Density Polyethylene by An Indigenous Strain *Bacillus licheniformis* SARR1. *Journal of Applied Biology and Biotechnology*, 10(1), 9–21.
- Restrepo-Flórez, J. M., Bassi, A., & Thompson, M. R. (2014). Microbial Degradation and Deterioration of Polyethylene - A Review. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 88, 83–90.
- Rozaq, Hanif Nur. (2020). Uji Aktivitas dan Identifikasi Genotip 16s rRNA Bakteri Pendegradasi Plastik LDPE Hasil Isolasi dari TPA Pisang Kipas Malang [Skripsi]. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Ibrahim Malang.
- Sáenz, M., Borodulina, T., Diaz, L., & Banchon, C. (2019). Minimal Conditions To Degrade Low Density Polyethylene By *Aspergillus Terreus* And *Niger*. *Journal of Ecological Engineering*, 20(6), 44–51.
- Salle, A.J. (1984). *Fundamental of Principle of Bacteriology*. New Delhi: McGraw Hill Publishing.

- Sarcevic, Ljubica, Todosijevec, Vera, P., Robert, S., Ljubisa, Z., Aleksandar, S., Jelena, G., & Jela, I. (2019). Microbiological Purification Of Waste Water.
- Sarengat, Nursamsi. 2011. Plastik Ramah Lingkungan (Fotodegradasi) dari Kopolimerisasi Tempel LDPE/Tapioka dengan Maleat Anhidrat. *Majalah Kulit, Karet dan Plastik*. 27 (1), 31-37.
- Shihab, M. Quraish. 2000. *Tafsir Al Mishbah: Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an*. Jakarta: Lentera Hati.
- Shrestha, J. K., Joshi, D. R., Regmi, P., & Badahit, G. (2019). Isolation and Identification of Low Density Polyethylene (LDPE) Degrading Bacillus spp. from a Soil of Landfill Site. *Acta Scientific Microbiology*, 2(4), 30–34.
- Socrates, George. 2001. *Infrared and Raman Characteristic Group Frequencies: Table and Charts*. England: John Wiley & Sons Ltd.
- Soesanto, L. 2013. *Pengantar Pengendalian Hayati Penyakit Tanaman*. Jakarta: PT Raja Grafindo Persada.
- Srikanth, M., Sandeep, T. S. R. S., Sucharitha, K., & Godi, S. (2022). Biodegradation of Plastic Polymers by Fungi : a Brief Review. *Bioresources and Bioprocessing*, 4.
- Subandi, M. 2010. *Mikrobiologi Perkembangan, Kajian dan Pengamatan dalam Perspektif Islam*. Bandung: Remaja Rosdakarya.
- Suharpina, Isna Rasdianah Aziz, Arwan Sugiharto. (2021). Biodegradasi Plastik LDPE *Aspergillus niger* dan *Pleurotus sp.* *Jurnal Teknosains*, 15(3), 381-388.
- Susanto, Jeffy Ari. (2010). Pengaruh Penambahan Polibutilensuksinat (PBS) Terhadap Sifat Mekanik dan Biodegradabilitas *Linear Low Density Polyethylene* (LLDPE) [Skripsi]. Depok: Universitas Indonesia.
- Susilawati, Irfan Mustafa, & Desy Maulina. (2011). Biodegradable Plastics From A Mixture of Low Density Polyethylene (LDPE) and Cassava Starch With The Addition of Acrylic Acid. *Jurnal Natural*, 11(2).
- Temporiti, M. E. E., Nicola, L., Nielsen, E., & Tosi, S. (2022). Fungal Enzymes Involved in Plastics Biodegradation. *Microorganisms*, 10(6), 1–27.
- Vimala, P. P., & Mathew, L. (2016). Biodegradation of Polyethylene Using *Bacillus Subtilis*. *Procedia Technology*, 24, 232–239.
- Wangge, E. S. A. (2020). Isolasi Dan Identifikasi Jamur Penghasil Mikotoksin Pada Biji Kakao Kering Yang Dihasilkan Di Flores-Lembata. *Agrica*, 6(1), 23–32.

- Verma, N., & Gupta, S. (2019). Assessment of LDPE Degrading Potential *Aspergillus* Species Isolated From Municipal Landfill Sites of Agra. *SN Applied Sciences*, 1(7), 1–10.
- Watson, D.G. 2009. *Analisis Farmasi: Buku Ajar untuk Mahasiswa Farmasi dan Praktisi Kimia Farmasi*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran ECG.
- Wijayanto, S. O., & Bayuseno, A. . (2014). Analisis Kegagalan Material Pipa Ferrule Nickel Alloy N06025 Pada Waste Heat Boiler Akibat Suhu Tinggi Berdasarkan Pengujian : *Jurnal Teknik Mesin*, 2(1), 33–39.
- Wijayanti, Budi. 2003. *Penggunaan Serratia mercescens DS8 untuk Pengendalian Penyakit Busuk Batang Panili [Skripsi]*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Wijayati, N., Astutiningsih, C., Mulyati, S., & Artikel, I. (2014). Transformasi α -Pinena dengan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25923. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*, 6(1), 24–28.
- Yao, Z., Seong, H. J., & Jang, Y. S. (2022). Environmental Toxicity and Decomposition of Polyethylene. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 242, 113933.
- Yoon, Y. R., & Jang, Y. S. (2021). Potential of Baeyer-Villiger Monooxygenases as an Enzyme for Polyethylene Decomposition. *Journal of Applied Biological Chemistry*, 64(4), 433–438.
- Zahra, S., Abbas, S. S., Mahsa, M. T., & Mohsen, N. (2010). Biodegradation of low-density polyethylene (LDPE) by isolated fungi in solid waste medium. *Waste Management*, 30(3), 396–401.
- Zhou, D., Zhang, X., Du, Y., Dong, S., Xu, Z., & Yan, L. (2014). Insights Into the Synergistic Effect of Fungi and Bacteria for Reactive Red Decolorization. *Journal of Spectroscopy*, 2014, 0-4.

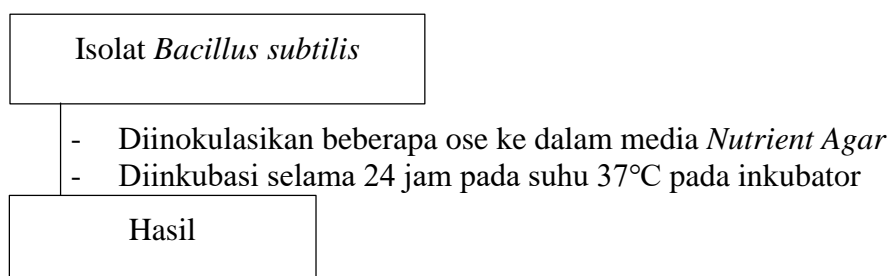
LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian

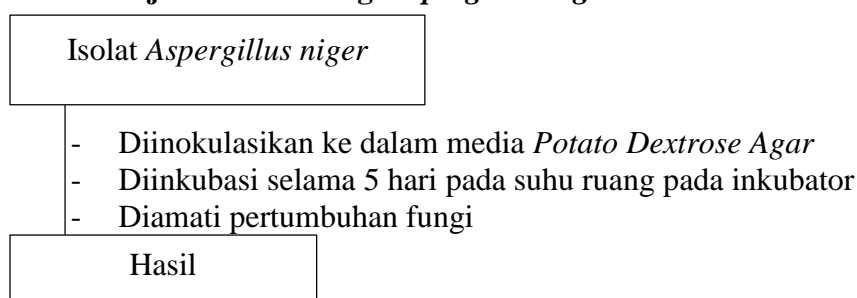


Lampiran 2. Diagram Alir

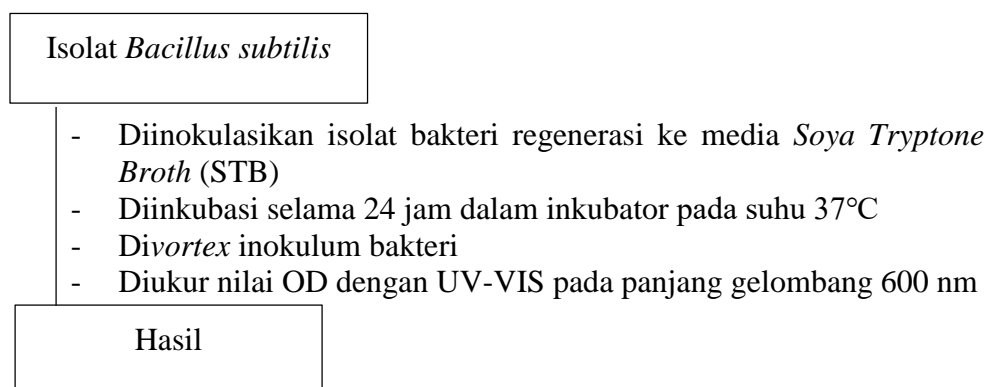
a. Peremajaan Isolat Bakteri *Bacillus subtilis*



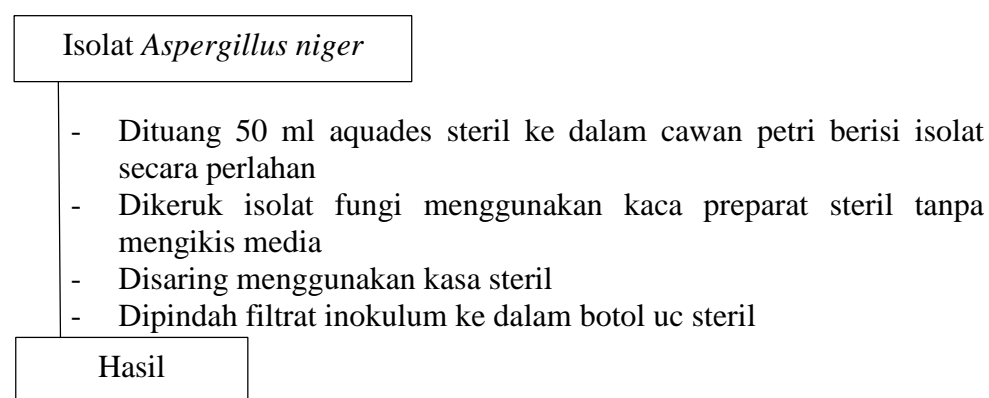
b. Peremajaan Isolat Fungi *Aspergillus niger*



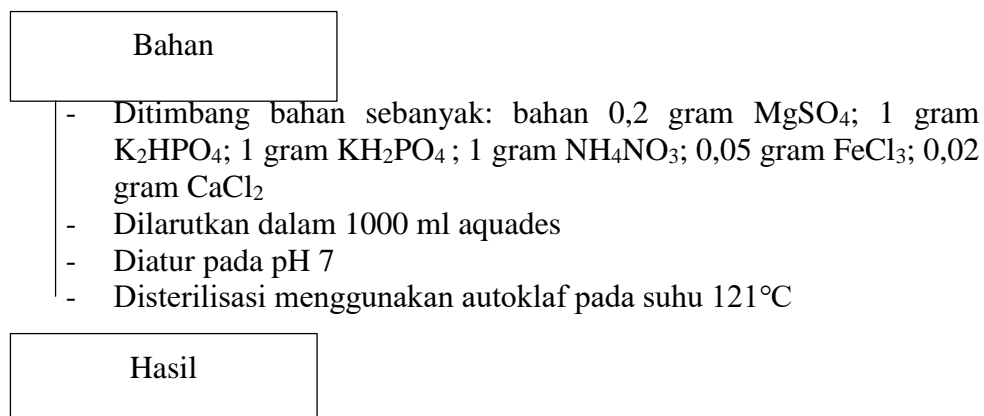
c. Pembuatan inokulum dan pengukuran *Optical Density* (OD) Bakteri *Bacillus subtilis*



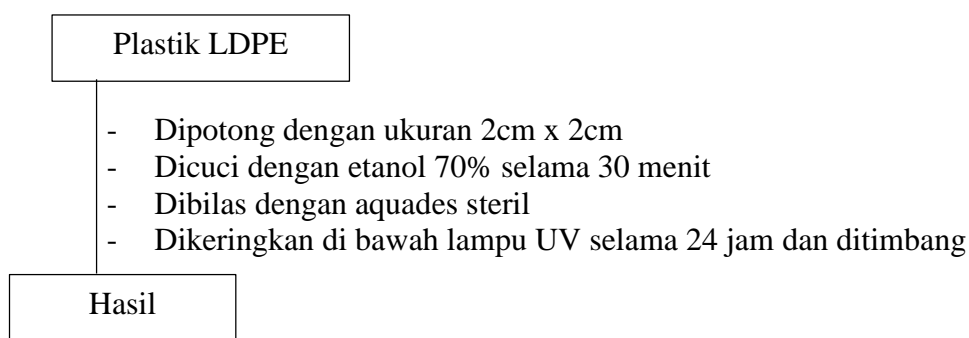
d. Pembuatan Inokulum *Aspergillus niger*



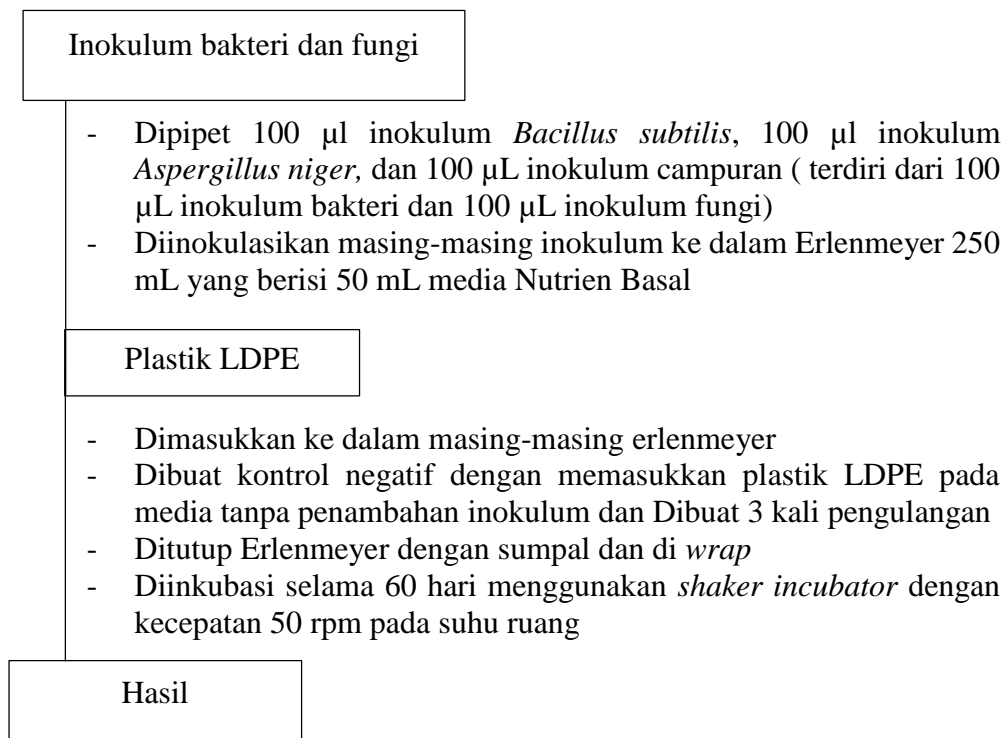
e. Pembuatan Media Nutrien basal

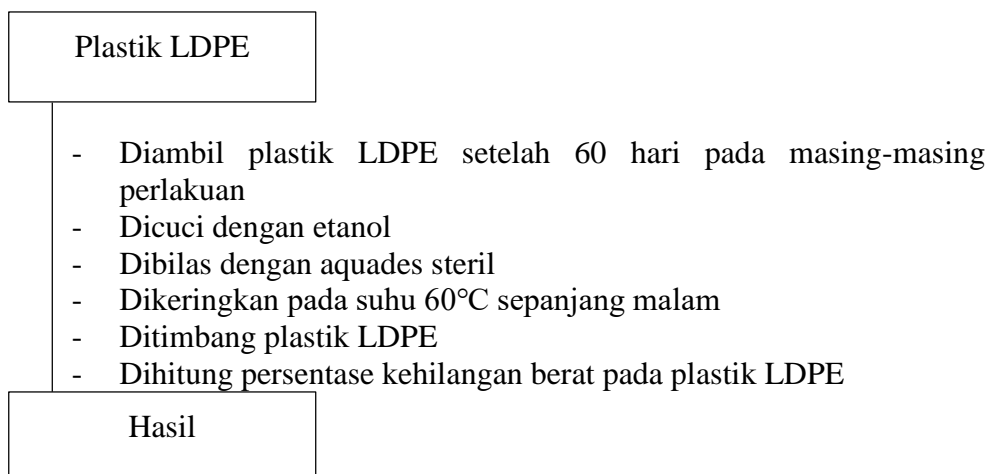
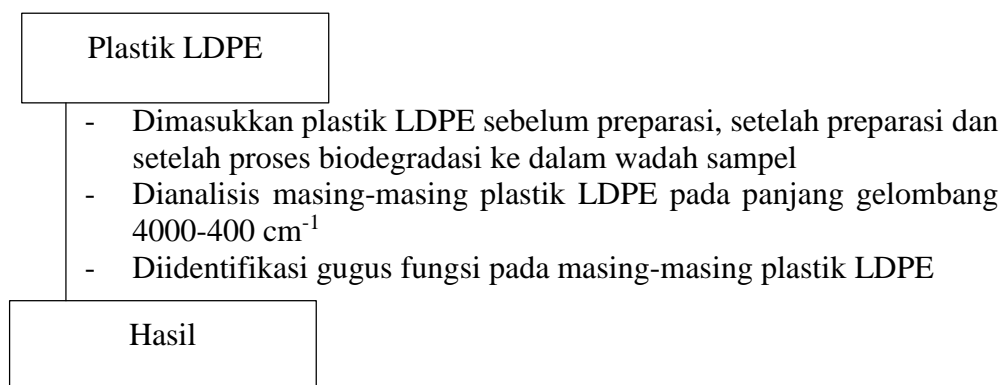
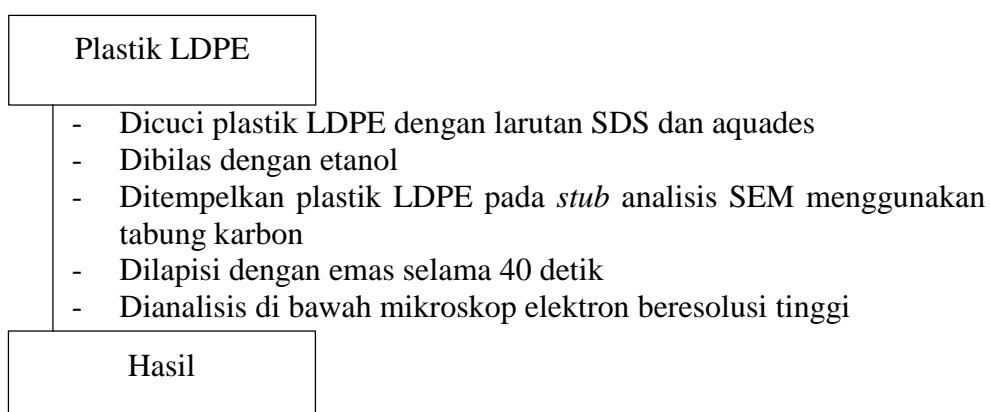


f. Preparasi Plastik LDPE



g. Uji Aktivitas Biodegradasi pada Plastik LDPE



h. Penentuan Persentase Biodegradasi Plastik LDPE**i. Identifikasi Gugus Fungsi Plastik LDPE Menggunakan FTIR****j. Identifikasi Topografi Plastik LDPE Menggunakan SEM**

Lampiran 3. Pembuatan Larutan dan Perhitungan

1. Pembuatan Media *Potato Dextrose Agar* (PDA)

Sebanyak 9,75 gram media PDA ditimbang lalu dilarutkan dalam 200 ml aquades. Kemudian larutan dipanaskan hingga mendidih dan homogen. Larutan kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C (Jamilatun dkk, 2020).

2. Pembuatan Media *Nutrient Agar* (NA)

Media NA ditimbang sebanyak 5 gram, kemudian dilarutkan dalam 200 mL aquades. Kemudian larutan dipanaskan hingga homogen lalu disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C.

3. Pembuatan Media *Soya Tryptone Broth* (STB)

Media STB ditimbang sebanyak 7,5 gram dan dilarutkan dalam 200 ml aquades. Kemudian, larutan dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer* sambil dipanaskan hingga homogen. Larutan kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C

4. Perhitungan Persentase Biodegradasi

| Variasi | Massa Plastik LDPE (gram) | | | % Biodegr adasi | |
|--|------------------------------|---------------------|----------------------|-----------------------|---------|
| | Massa Awal (wo) | Massa Akhir (wt) | Pengurangan massa | | |
| Blanko | 0,0206 | 0,0206 | 0,0000 | 0% | |
| Kultur Bakteri | 1 | 0,0197 | 0,0196 | 0,0001 | 0,5076% |
| | 2 | 0,0198 | 0,0195 | 0,0003 | 1,5151% |
| | 3 | 0,0199 | 0,0198 | 0,0002 | 0,5025% |
| Persentase degradasi rata-rata kultur bakteri | | | | 0,84% | |
| Kultur Fungi | 1 | 0,0201 | 0,0199 | 0,0002 | 0,9950% |
| | 2 | 0,0202 | 0,020 | 0,0002 | 0,9901% |
| | 3 | 0,0202 | 0,020 | 0,0002 | 0,9901% |
| Persentase degradasi rata-rata kultur fungi | | | | 0,99% | |
| Kultur Campuran | 1 | 0,0203 | 0,0201 | 0,0002 | 0,9852% |
| | 2 | 0,0204 | 0,0203 | 0,0001 | 0,4902% |
| | 3 | 0,0207 | 0,0205 | 0,0002 | 0,9662% |
| Persentase degradasi rata-rata kultur campuran | | | | 0,81% | |

- Bakteri

Ulangan 1:

$$\begin{aligned} \% \text{ biodegradasi} &= \frac{w_o - w_t}{w_o} \times 100\% \\ &= \frac{0,0197 - 0,0196}{0,0197} \times 100\% = 0,5076\% \end{aligned}$$

Ulangan 2:

$$\begin{aligned} \% \text{ biodegradasi} &= \frac{w_o - w_t}{w_o} \times 100\% \\ &= \frac{0,0198 - 0,0195}{0,0198} \times 100\% = 1,5151\% \end{aligned}$$

Ulangan 3:

$$\begin{aligned} \% \text{biodegradasi} &= \frac{w_o - w_t}{w_o} \times 100\% \\ &= \frac{0,0199 - 0,0198}{0,0199} \times 100\% = 0,5025\% \end{aligned}$$

- Fungi

Ulangan 1:

$$\begin{aligned} \% \text{biodegradasi} &= \frac{w_o - w_t}{w_o} \times 100\% \\ &= \frac{0,0201 - 0,0199}{0,0201} \times 100\% = 0,9950\% \end{aligned}$$

Ulangan 2:

$$\begin{aligned} \% \text{biodegradasi} &= \frac{w_o - w_t}{w_o} \times 100\% \\ &= \frac{0,0202 - 0,0200}{0,0202} \times 100\% = 0,9901\% \end{aligned}$$

Ulangan 3:

$$\begin{aligned} \% \text{biodegradasi} &= \frac{w_o - w_t}{w_o} \times 100\% \\ &= \frac{0,0202 - 0,0200}{0,0202} \times 100\% = 0,9901\% \end{aligned}$$

- Kultur campuran:

Ulangan 1:

$$\begin{aligned} \% \text{biodegradasi} &= \frac{w_o - w_t}{w_o} \times 100\% \\ &= \frac{0,0203 - 0,0201}{0,0203} \times 100\% = 0,9852\% \end{aligned}$$

Ulangan 2:

$$\begin{aligned} \% \text{biodegradasi} &= \frac{w_o - w_t}{w_o} \times 100\% \\ &= \frac{0,0204 - 0,0203}{0,0204} \times 100\% = 0,4902\% \end{aligned}$$

Ulangan 3:

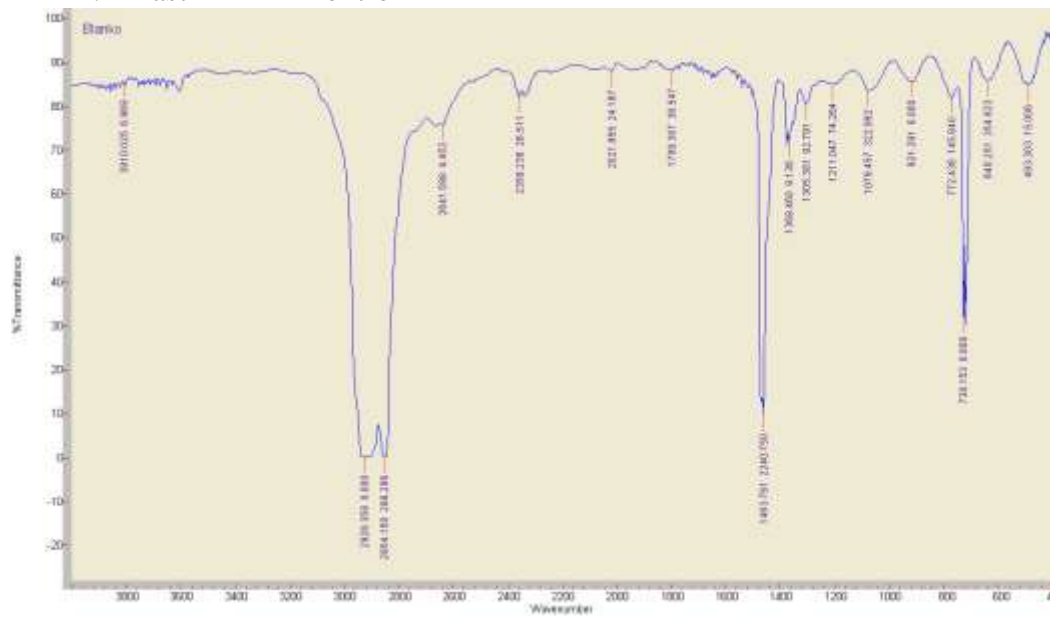
$$\begin{aligned} \% \text{biodegradasi} &= \frac{w_o - w_t}{w_o} \times 100\% \\ &= \frac{0,0207 - 0,0205}{0,0207} \times 100\% = 0,9662\% \end{aligned}$$

Lampiran 4. Tabel Perubahan pH

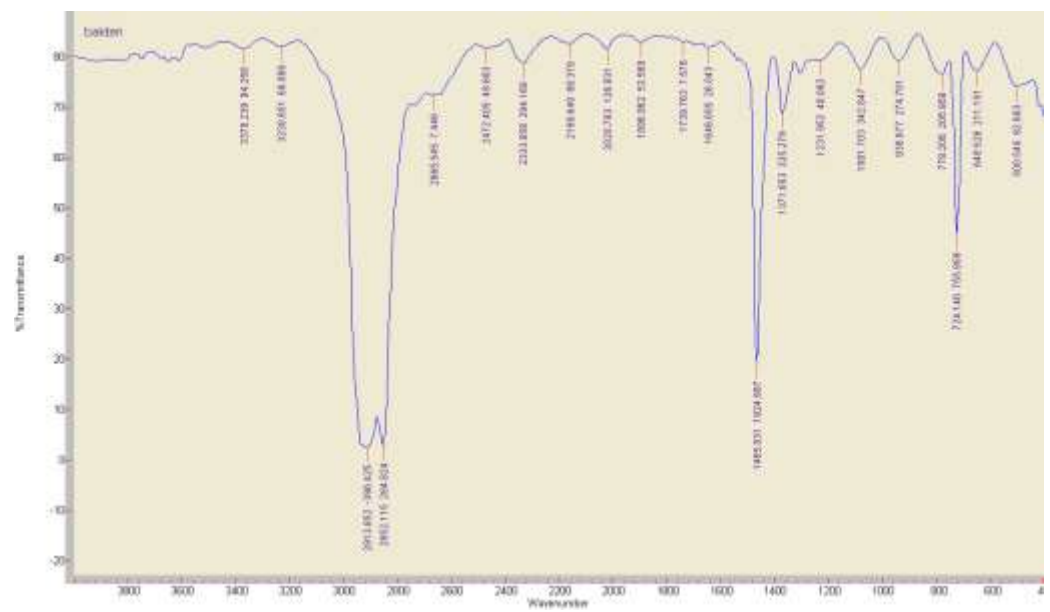
| Variasi | | pH Awal | pH Akhir |
|----------------|---|---------|----------|
| Kultur Bakteri | 1 | 7,1 | 6,28 |
| | 2 | 7,1 | 6,33 |
| | 3 | 7,1 | 6,27 |
| Kultur Fungi | 1 | 7,1 | 6,28 |
| | 2 | 7,1 | 6,42 |
| | 3 | 7,1 | 6,32 |
| Kultur Campur | 1 | 7,1 | 6,34 |
| | 2 | 7,1 | 6,39 |
| | 3 | 7,1 | 6,43 |

Lampiran 5. Hasil FTIR

1. Plastik LDPE kontrol



2. Biodegradasi plastik LDPE pada kultur tunggal *Bacillus subtilis*



Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian

Preparasi plastik LDPE



Sterilisasi alat



Peremajaan bakteri dan fungi



Pembuatan media basal

Biodegradasi pada *shaker incubator*

Pengeringan plastik LDPE setelah biodegradasi pada suhu 60°C