

## 4. PEMBAHASAN

### 4.1. Isolat Mikroorganisme Tempat Pembuangan Akhir Jatibarang

Pada penelitian yang sudah dilakukan, menggunakan plastik *High-Density Polyethylene* (HDPE) dan menggunakan bakteri tanah TPA Jatibarang Semarang yang diambil dari penelitian Setiawan *et al.*, (2019). Lokasi pengambilan sampel tanah dari TPA Jatibarang dapat dilihat pada Lampiran 1. Sampel yang diambil dari TPA Jatibarang disimpan di dalam plastik *ziplock* dan dibawa ke lab FTP Unika Soegijapranata untuk dilakukan proses isolasi untuk mendapatkan kultur murni. Kultur murni yang telah didapatkan dari proses isolasi kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi steril yang berisi media NB untuk dijadikan stok yang nantinya akan dilakukan proses induksi menggunakan sinar UV. Efek positif dari penyinaran UV terhadap perubahan materi genetik pada bakteri hasil mutagenesis terinduksi telah dikaji pada penelitian lain. Penelitian yang mengkaji biodegradasi plastik HDPE dengan menggunakan bakteri mutasi induksi belum ditemukan, maka penulis menggunakan pendekatan dengan menelaah efek dari sinar UV terhadap hasil mutasi kepada beberapa bakteri.

Efek positif dari hasil mutasi menggunakan sinar UV adalah mampu meningkatkan produksi senyawa yang dihasilkan oleh bakteri, hal ini diteliti oleh Widowati *et al.*, (2018). Pada penelitian lain diketahui penyinaran UV juga dapat meningkatkan aktivitas kinerja enzim pada mikroorganisme, hal ini diteliti oleh Zeng *et al.*, (2011). Pada penelitian Zeng *et al.*, (2011) dilakukan penyinaran UV untuk mendapatkan mutan *Deinococcus ficus* dengan berbagai aktivitas keratinolitik. Pada penelitian ini mendapatkan hasil bahwa *Deinococcus ficus* yang diberi perlakuan penyinaran UV menunjukkan 2 kali lipat aktivitas keratinolitik, peningkatan aktivitas enzim protease, dan sedikit lebih tinggi dalam jumlah sel dibandingkan dengan *Deinococcus ficus* tanpa perlakuan penyinaran UV. Efek sinar UV terhadap kemampuan degradasi mikroorganisme juga telah diteliti oleh Talkad *et al.*, (2014) pada penelitian ini menggunakan plastik LDPE yang telah diberi perlakuan dengan bahan kimia-alkali. Pada penelitian Talkad *et al.*, (2014)

menggunakan bakteri *Pseudomonas putida* dari *Microbial Type Culture Collection and Gene Bank* (MTCC) yang kemudian dimutasi menggunakan sinar UV C (254 nm) dan induksi dengan menggunakan *Ethyl Methane Sulfonate* (EMS). Bakteri yang telah termutasi digunakan untuk uji biodegradasi polimer dengan parameter *Biomass weight loss*, estimasi total karbohidat & protein total dalam kultur supernatan. Dalam penelitian Talkad *et al.*, (2014) mendapatkan hasil respon yang menguntungkan penyinaran UV dalam pengurangan biomassa untuk hasil yang lebih baik terhadap pertumbuhan bakteri, konversi gula, dan pemanfaatan protein. Maka dapat diketahui sinar UV memiliki dampak yang berbeda-beda tergantung jenis atau spesies bakteri yang di mutasi.

#### 4.2. *Optical Density* (OD) Bakteri

Hasil yang didapatkan dari pengukuran *Optical Density* (OD) sebagian mengalami penurunan pada hari 40 (Tabel 4). Hal ini sesuai dengan pengamatan kekeruhan media *Mineral Salt Medium* (MSM) pada Tabel 6, yang menunjukkan penurunan kekeruhan sebanding dengan lama inkubasi. Pada media kontrol yang tidak berisi bakteri mengalami penurunan hasil absorbansi namun tidak diikuti dengan terjadinya proses degradasi pada plastik. Hal ini diduga terjadi kontaminasi pada kontrol hari 20 dengan tingginya nilai absorbansi, namun mikroorganismenya kontaminan ini hanya memakan sumber karbon dan mineral yang sedikit dari media MSM dan surfaktan tween 80 dengan bukti tidak terjadinya penurunan berat massa plastik. Sedangkan pada media MSM berisi bakteri mengalami penurunan nilai absorbansi, tetapi tetap terjadi penurunan berat plastik. Menurut Gu (2003), telah banyak hipotesis dan teori tentang adanya proses penggumpalan sel dipermukaan plastik yang dikenal sebagai *microfouling* atau pembentukan *biofilm*. *Biofilm* adalah kumpulan bakteri yang melekat pada permukaan dan diselimuti oleh pelekak berbahan karbohidrat yang dihasilkan oleh bakteri tersebut. Pada penelitian Kyaw *et al.*, (2012) ditemukan adanya pembentukan *biofilm* pada proses biodegradasi plastik PE oleh bakteri *pseudomonas*. Pada penelitian tersebut dijelaskan pertumbuhan *biofilm* ditemukan terus meningkat seiring dengan bertambahnya hari inkubasi. Hal ini menjelaskan pada saat hari 40 bakteri lebih banyak menempel

pada plastik yang membuat hasil spektro lebih kecil dibandingkan hari ke-20. Penurunan nilai absorbansi juga dijelaskan oleh (Geesey *et al.*, 1977 dalam Bester *et al.*, 2005), bahwa bakteri lebih banyak tumbuh dipermukaan suatu benda (dalam hal ini plastik) daripada mengambang bebas dalam media cair (media MSM). Sehingga dengan pertumbuhan *biofilm* yang meningkat, hal itu membuat kekeruhan semakin berkurang karena bakteri dalam media semakin sedikit. Faktor yang menyebabkan tingginya nilai absorbansi bakteri B2-2 pada hari 40 adalah perlunya dilakukan pelepasan sel yang telah melekat pada plastik untuk meminimalkan kelaparan karena meningkatnya jumlah sel *biofilm* (Allison *et al.*, 1990 dalam Bester *et al.*, 2005).

#### 4.3. Kepadatan Bakteri dengan Uji Standar McFarland

Nilai McFarland dan nilai absorbansi mengalami penurunan, menunjukkan bahwa bakteri yang awalnya berada dalam larutan berpindah melekat pada plastik, sehingga bakteri dalam media menurun (Tabel 4 dan 5). Kepadatan bakteri pada Tabel 4 dan 5 yang semakin turun dapat dikaitkan dengan teori Bester *et al.*, (2005) bahwa bakteri cenderung membentuk *biofilm* (melekat pada permukaan) dibandingkan dengan hidup didalam media cair, sehingga membuat nilai McFarland dan nilai absorbansi semakin lama semakin turun. Hal ini diperkuat karena uji McFarland merupakan jenis pengukuran yang menghitung semua bakteri baik yang hidup maupun yang mati (*Total Cell Count*) sehingga penurunan nilai dalam kedua uji tersebut mengindikasikan bahwa bakteri tersebut tidak tumbuh dan mati dalam larutan melainkan melekat pada plastik sehingga membuat nilai kekeruhan turun. (Zapata & Ramirez-Arcos, 2015). Terbentuknya *biofilm* dapat dilihat pada Lampiran 4 yang menunjukkan adanya pengotor atau gumpalan pada media, sedangkan pada kontrol tidak terbentuk gumpalan. *Biofilm* dapat dilihat pada Gambar 4 dengan penggambaran menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM) pada permukaan plastik, yang menunjukkan kumpulan bakteri melekat pada permukaan plastik (Watanabe *et al.*, 2008). Pada Lampiran 4 dapat dilihat terbentuknya gelembung udara pada media yang menunjukkan terbentuknya gas karbon monoksida dan methana pada kondisi anaerobik, gas-gas yang

terperangkap dalam air media akan memicu terbentuknya gelembung udara pada media MSM (Ahmed *et al.*, 2018).

#### 4.4. Efektivitas Tingkat Degradasi HDPE

Hasil pengujian pada persen massa hilang hari 20 dan hari 40 pada Tabel 3, didapatkan bahwa 4 dari 5 bakteri pendegradasi yang telah dimutasi induksi menggunakan sinar UV A mendapatkan nilai persen massa hilang yang lebih tinggi dibandingkan dengan menggunakan bakteri pendegradasi tanpa diberi penyinaran UV A. Bakteri mutasi tersebut adalah bakteri dengan kode B2-2; A2-1; A3-1; C2-2, sedangkan bakteri tanpa perlakuan penyinaran UV dengan persen degradasi tinggi adalah B1. Hal ini menunjukkan adanya efek positif dari penyinaran UV A terhadap kemampuan bakteri dalam mendegradasi plastik, namun efek penyinaran UV berefek positif kepada bakteri B1-4 dikarenakan setiap jenis bakteri memiliki efek UV tersendiri. Rendahnya degradasi plastik B1-4 dapat disebabkan oleh tidak stabilnya mutan yang dihasilkan oleh metode radiasi sinar UV, hal ini akibat dari penggunaan sinar UV yang berlebih sehingga keefektifan dari sinar UV itu hilang (Sulatri *et al.*, 2017; Raju & Divakar, 2013). Pada bakteri B2 mengalami penurunan yang awalnya 4,67% di hari 20 menjadi 1,56% dihari 40. Salah satu penyebab penurunan angka massa hilang karena terlepasnya *biofilm* pada permukaan plastik saat inkubasi pada botol hari 40, sehingga jumlah bakteri yang mendegradasi plastik lebih sedikit (Bester *et al.*, 2005). Turunnya jumlah bakteri pendegradasi yang menempel pada plastik akan membuat persen massa hilang pada hari 40 lebih sedikit dibandingkan plastik pada hari 20.

Persen degradasi tertinggi yang didapat pada penelitian ini sebesar 18,03% yang didapatkan setelah 40 hari masa inkubasi. Nilai degradasi yang didapat lebih efektif daripada pada penelitian yang dilakukan Awasthi *et al.*, (2017) yang memerlukan waktu 60 hari untuk mendapatkan nilai degradasi yang tidak terlalu jauh yaitu 18,4%. Nilai yang didapatkan dalam penelitian ini juga lebih efektif daripada penelitian Skariyachan *et al.*, (2017) yang menggunakan 1 bakteri murni yang mendegradasi plastik HDPE sebesar 18,4% dalam waktu 120 hari. Persen degradasi

pada penelitian ini tidak lebih tinggi jika dibandingkan dengan penelitian Balasubramanian *et al.*, (2014) yang menggunakan perlakuan fisik (*heat and UV*), kimia (*citric acid and KMnO<sub>4</sub>/HCl*), dan biologi (*microbial*) dengan persen degradasi yang diperoleh sebesar 20,8% dengan waktu 30 hari.

Besarnya nilai standar deviasi yang didapatkan, menunjukkan data yang diperoleh bervariasi atau jarak setiap titik data dengan nilai rata-rata besar (Tabel 3). Tidak ada korelasi antara persen degradasi dengan nilai absorbansi dilihat dari penyebaran data, nilai *pearson correlation* dibawah 0,7 dan nilai signifikansinya yang lebih dari 0,05, dikarenakan bakteri yang mendegradasi merupakan bakteri yang melekat pada plastik bukan bakteri yang berada dalam media (*planktonic*) (Ahmed *et al.*, 2018) (Gambar 3). Hal ini diperkuat dengan penggambaran *Scanning Electron Microscope* (SEM) yang menunjukkan bakteri *Bacillus circulans* melekat pada permukaan plastik untuk memulai proses degradasi plastik dengan bukti adanya jejak degradasi (*trace*) disekitar mikroba dan *extruder die line* (Gambar 5).

