

## 4. PEMBAHASAN

### 4.1. Jenis Mikroba Tempat Pembuangan Akhir (TPA)

Tempat pembuangan akhir (TPA) merupakan sarana penampungan untuk pembuangan sampah dan sisa limbah hasil konsumsi manusia. Hal ini menjadikan tempat pembuangan akhir sebagai habitat dari berbagai mikroorganisme untuk tumbuh karena sumber nutrisi bagi mikroorganisme tersedia. Beberapa jenis mikroba tanah yang dapat ditemukan di tempat pembuangan akhir adalah bakteri yang merupakan genus *Clostridium*, *Flavobacterium*, *Corynebacterium*, *Pseudomonas*, *Mycobacterium*, *Arthrobacter*, *Achromobacter*, *Sarcina*, *Bacillus* dan *Micrococcus* (Gultom *et al.*, 2017). Beberapa genus lainnya seperti *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Acinetobacter*, *Zooglea*, *Carnobacterium* dan *Acetobacter* juga dapat ditemukan di tempat pembuangan akhir (Ristiati *et al.*, 2018). Bakteri lain seperti *Escherichia* jarang sekali ditemukan di dalam tanah tetapi biasanya ditemukan dari pembuangan kotoran sebagai bakteri kontaminan. Menurut Rao (1986) dalam Gultom *et al.* (2017), terdapat beberapa jenis bakteri *Myxobacteria* di tempat pembuangan akhir, seperti genus *Myxococcus*, *Archangium*, *Polyangium*, *Chonrococcus*, *Sporocytophaga* dan *Cytophaga*.

### 4.2. Penggunaan Sinar UV terhadap Struktur dan Metabolisme Bakteri

Proses penyinaran UV terhadap bakteri menyebabkan proses replikasi sel akan terhambat karena asam nukleat dirusak oleh sinar UV. Nukleotida DNA akan pecah sehingga akan membentuk dimer primidin karena interaksi sinar UV. Pengaruh biologi yang dihasilkan dari sinar UV dengan gelombang yang panjang mampu menghasilkan susunan genetik yang baru karena kerusakan DNA yang mempengaruhi proses replikasi (Santos *et al.*, 2012). Kondisi ini merangsang sel bakteri untuk melakukan sistem perbaikan saat replikasi dikarenakan DNA yang rusak sehingga terjadi mutasi dalam pembentukan sel baru.

Perbedaan jenis bakteri yang diberikan perlakuan sinar UV juga ada yang memberikan efek mutasi dan non mutasi. Pada tahap penelitian ini digunakan sinar UV A isolat bakteri untuk meningkatkan kemampuan bakteri dalam menguraikan plastik LDPE. Menurut penelitian Widowati *et al.* (2018), radiasi sinar UV selama 20 menit dapat meningkatkan produksi hormon IAA pada bakteri yang dimutasi. Perlakuan sinar UV A selama 15 menit pada penelitian ini menunjukkan adanya peningkatan kemampuan degradasi yang lebih baik pada bakteri mutasi dibandingkan bakteri yang tidak diberi perlakuan mutasi. Hasil penelitian menunjukkan susut bobot plastik yang didegradasi oleh bakteri yang dimutasi lebih tinggi.

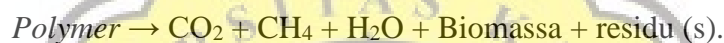
#### **4.3. Metabolisme Bakteri dalam Degradasi Plastik LDPE**

Pada penelitian ini, bakteri digunakan sebagai agen untuk mendegradasi plastik LDPE. Menurut penelitian Sen & Raut (2015), terdapat beberapa genus bakteri yang mampu dan berpotensi mendegradasi plastik jenis LDPE seperti *Pseudomonas*, *Paenibacillus*, *Rahnella*, *Rahnella*, *Ralstonia*, *Rhodococcus*, *Staphylococcus*, *Stenotrophomonas*, *Streptomyces*, *Bacillus*, *Brevibacillus*, *Delftia*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Microbacterium*, *Nocardia*, *Acinetobacter* dan *Arthrobacter*. Proses biodegradasi yang berlangsung dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti karakteristik LDPE, jenis bakteri pendegradasi, reaksi dan sifat alami dari bakteri.

Pada saat proses degradasi dimulai, plastik LDPE akan berperan sebagai sumber karbon untuk metabolisme bakteri sehingga bakteri akan mendekat menuju plastik LDPE. Proses pertama yang berlangsung adalah plastik LDPE akan dikonversi menjadi monomer-monomer lebih kecil yang kemudian akan termineralisasi. LDPE akan didepolimerisasi oleh enzim mikroba sehingga dapat terdegradasi. Jumlah enzim yang diproduksi oleh bakteri dapat bervariasi antara spesies dan strain yang sama. Enzim sangat spesifik saat bereaksi dengan substrat sehingga banyaknya degradasi pada LDPE setiap bakteri berbeda (Bhardwaj *et al.*, 2012). Degradasi pada polietilena dengan enzim mikroba melalui dua tahap, yang pertama enzim mikroba akan melekat pada substrat polietilena dan kemudian tahap berikutnya enzim akan mengkatalisis pembelahan hidrolitik (Sen & Raut, 2015). Depolimerase intraseluler dan ekstraseluler akan

mendegradasi polietilena. Polimer kompleks yang dipecah menjadi oligomer, dimer dan monomer akan dapat melewati membran bakteri dan akan digunakan sebagai sumber karbon dan energi. Proses pemecahan polimer kompleks ini disebut depolimerisasi. Setelah itu, molekul rantai pendek hasil depolimerisasi akan dimineralisasi menjadi produk akhir seperti karbon dioksida (CO<sub>2</sub>), air (H<sub>2</sub>O) atau metana (CH<sub>4</sub>) (Bhardwaj *et al.*, 2012).

Proses biodegradasi dibagi menjadi 2 jenis berdasarkan perlakuan dan hasil akhir, yaitu secara aerob dan anaerob. Pada penelitian ini proses degradasi yang berlangsung adalah di dalam botol kaca yang tertutup yang berarti merupakan degradasi LDPE secara anaerob. Proses yang terjadi saat biodegradasi secara anaerob yaitu:



Sedangkan jika proses biodegradasi yang terjadi adalah secara aerobik maka prosesnya adalah:



#### **4.4. Pengukuran *Optical Density* (OD) Bakteri dan Estimasi Jumlah Sel dengan Larutan Standar Mc Farland**

Hasil pengukuran *Optical Density* (OD) pada penelitian ini mengalami peningkatan setelah degradasi hari ke-40. Perbedaan nilai absorbansi pada Tabel 2 menunjukkan peningkatan pada hari ke-40 dibandingkan hari ke-20 degradasi. Peningkatan nilai absorbansi selama degradasi berlangsung menunjukkan kemampuan bakteri dalam menggunakan polimer LDPE sebagai sumber karbon sehingga bakteri dapat tumbuh dan membelah diri. Menurut Marjayandari & Shovitri (2015), peningkatan nilai absorbansi dikarenakan bakteri masih bertumbuh selama 6 minggu inkubasi. Koloni bakteri akan berkumpul pada permukaan plastik LDPE untuk mendapatkan sumber karbon yang kemudian membentuk *biofilm* dan akan terbentuk planktonik di sekitar media MSM. *Biofilm* adalah proses melekatnya mikroba ke permukaan plastik yang membentuk lapisan. Terbentuknya lapisan yang terdiri dari beberapa komunitas mikroorganisme pada permukaan plastik disebut *microfouling*. Menurut penelitian Gu (2003), pembentukan *biofilm* akan memudahkan bakteri dalam mengeluarkan enzim ekstraseluler, enzim

tersebut merusak struktur plastik pada permukaan yang terdapat biofilm. Pembentukan *biofilm* pada permukaan polimer oleh mikroorganisme dapat terjadi secara langsung maupun tidak langsung tergantung sifat fisik, kimia, jenis mikroorganisme dan kondisi lingkungannya. Sifat hidrofobik permukaan plastik dapat mempengaruhi pelekatan mikroba untuk membentuk *biofilm* (Pathak & Navneet, 2017). Sisa-sisa sel bakteri yang terlepas dari permukaan *biofilm* karena tidak mampu melekat di permukaan plastik dan menyebar di sekitar media disebut sel planktonik. Proses melekatnya bakteri pada permukaan plastik sehingga terbentuk *biofilm* dapat dilihat pada Gambar 3.

Menurut Kyaw *et al.* (2012), pertumbuhan sel planktonik berbanding lurus dengan pertumbuhan sel *biofilm*. Hal ini terjadi karena plastik masih terdegradasi oleh bakteri sampai hari ke-120 sehingga bakteri terus menempel pada plastik untuk mendapatkan sumber karbon agar bisa tetap tumbuh. Semakin banyak pertumbuhan bakteri yang membentuk *biofilm* maka semakin memungkinkan media menjadi keruh. Berdasarkan penelitian lainnya, peningkatan lapisan *biofilm* yang terbentuk diikuti peningkatan pertumbuhan sel planktonik (Watanabe *et al.*, 2008). Terbentuknya sel planktonik dapat mempengaruhi kekeruhan sehingga nilai absorbansi dapat lebih tinggi setelah degradasi 40 hari dibandingkan pada hari ke-20. Kekeruhan juga dapat meningkat saat terjadi pergeseran botol sehingga bakteri yang seharusnya membentuk *biofilm* terlepas dari permukaan plastik yang menyebabkan tersebar di sekitar media (Bester *et al.*, 2005). Jika *biofilm* dan planktonik yang terbentuk terus meningkat maka biodegradasi akan semakin tinggi dan terus berlanjut. Pada hasil penelitian ini, nilai absorbansi tertinggi didapatkan oleh bakteri mutasi (A2-1) sedangkan nilai absorbansi terendah didapatkan oleh bakteri asal (A3). Hal ini menunjukkan penggunaan sinar UV dapat berpengaruh terhadap banyaknya pembentukan *biofilm* dan sel planktonik sehingga meningkatkan nilai absorbansi. Menurut Talkad *et al.* (2014), perlakuan sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm memberikan respon positif terhadap bakteri *Pseudomonas putida* dalam pertumbuhan, konversi gula dan pemanfaatan protein dalam pengurangan biomassa saat biodegradasi. Dapat diketahui bahwa pada penelitian ini perlakuan sinar UV A dapat berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri yang dimutasi sehingga nilai absorbansi bakteri yang dimutasi lebih tinggi dari bakteri asal.

Uji perbandingan dengan larutan standar Mc Farland digunakan untuk menyesuaikan kekeruhan suspensi sampel bakteri yang mendegradasi plastik LDPE sehingga dapat

menentukan jumlah bakteri dalam kisaran tertentu sesuai larutan standar Mc Farland. Penyesuaian dengan larutan standar Mc Farland dilakukan dengan cara membandingkan larutan sampel secara bersebelahan dengan larutan Mc Farland. Sebagai contoh jika larutan sampel sesuai dengan standar Mc Farland 0,5 berarti setara dengan kisaran jumlah pertumbuhan bakteri sebesar  $1,5 \times 10^8$  CFU/ml (Zamora & Pérez-Gracia, 2012).

Berdasarkan Tabel 4, larutan sampel bakteri pada hari ke-20 berada di kisaran standar Mc Farland 0,5 dan 1. Sampel bakteri yang sesuai dengan standar Mc Farland 0,5 adalah A3 yang menunjukkan suspensi sampel bakteri tersebut memiliki jumlah pertumbuhan sebesar  $1,5 \times 10^8$  CFU/ml. Hal ini juga berlaku dengan standar Mc Farland nomor 1 yang menunjukkan bahwa suspensi sampel bakteri memiliki jumlah pertumbuhan sebesar  $3,0 \times 10^8$  CFU/ml. Namun, pada hasil penyetaraan dengan standar Mc Farland pada hari ke-40 terdapat bakteri dengan nilai standar Mc Farland meningkat menjadi standar 1 yaitu bakteri A3-3 dan muncul dugaan bahwa bakteri mengalami peningkatan jumlah pertumbuhan sehingga masih perlu dilakukan perhitungan bakteri lebih lanjut untuk mengetahui jumlah bakteri secara akurat didalam media. Kekeruhan media MSM dipengaruhi oleh pembentukan sel planktonik selama degradasi sehingga menunjukkan bakteri masih tumbuh sampai hari ke-40 (Kyaw *et al.*, 2012). Perbedaan angka Mc Farland pada masing-masing larutan bakteri dipengaruhi oleh kekeruhan yang berbeda ketika dilihat secara visual dan jumlah pertumbuhan bakteri asal dan bakteri mutasi yang tidak sama.

#### **4.5. Uji Susut Bobot Plastik**

Hasil uji biodegradasi dengan metode perhitungan susut bobot plastik pada Tabel 1 menunjukkan adanya pengurangan massa plastik setelah degradasi. Pengurangan bobot plastik selama degradasi 40 hari lebih besar dibandingkan hasil degradasi selama 20 hari. Hasil pengujian persen berkurangnya massa plastik pada 4 bakteri yang dimutasi (A2-1, A3-3, B1-3 dan B2-2) lebih besar dibandingkan bakteri asal (A2, A3, B1 dan

B2). Bakteri yang diberi perlakuan UV A lebih banyak mendegradasi plastik LDPE sehingga penurunan susut bobot plastik lebih besar dibandingkan bakteri asal.

Penggunaan radiasi sinar UV bertujuan untuk meningkatkan aktivitas biokatalitik pada mikroorganisme untuk fungsi tertentu. Mutagenesis pada mikroorganisme yang diinduksi dengan radiasi sinar UV diketahui dapat membantu meningkatkan aktivitas dalam menghasilkan zat aktif secara biologis (Goodarzi, 2016). Namun, terdapat bakteri dari hasil perlakuan sinar UV A (C2-4) yang tidak lebih besar kemampuan degradasinya dibandingkan bakteri asal (C2). Hasil ini menunjukkan tidak semua bakteri yang diberi perlakuan sinar UV A memberikan respon positif dan dapat termutasi untuk meningkatkan kemampuannya dalam mendegradasi plastik LDPE. Pada degradasi selama 40 hari, hasil uji penurunan susut bobot plastik yang didegradasi oleh bakteri C2-4 menjadi lebih kecil dibandingkan bakteri C2 dengan persentase 8,33% (C2-4) dan 13,04% (C2). Hal ini menunjukkan tidak semua bakteri yang diberi perlakuan sinar UV A lebih besar kemampuannya dalam degradasi plastik LDPE dibandingkan bakteri asal seiring lamanya waktu degradasi. Kondisi ini dapat terjadi karena masing-masing bakteri yang diinkubasi pada penelitian ini berasal dari jenis yang berbeda yang memiliki karakteristik yang berbeda pula sehingga dampak mutasi yang dihasilkan tidak sama. Rendahnya persentase degradasi plastik pada bakteri C2-4 dapat dipengaruhi oleh lamanya waktu penyinaran UV A yang dapat melebihi batas dan kemampuan sifat resistensi bakteri, sehingga dapat menghasilkan sel mutasi yang tidak stabil (Raju & Divakar, 2013). Menurut Bester *et al.* (2005), penurunan persentase massa hilang dapat disebabkan oleh posisi plastik yang bergeser atau terguncang saat di dalam botol sehingga lapisan *biofilm* yang sudah terbentuk terlepas dari permukaan yang menyebabkan pertumbuhan bakteri menurun.

Nilai absorbansi yang meningkat diketahui tidak memiliki pengaruh dengan besar persentase degradasi. Hal ini dapat dijelaskan melalui grafik korelasi antara besar persen degradasi dan nilai absorbansi pada Gambar 7 dan Lampiran 2. Penyebaran data pada grafik tidak mengalami kenaikan atau penurunan sehingga tidak memiliki hubungan yang positif ataupun negatif yang berarti tidak memiliki hubungan antara kedua variabel. Kemudian dari hubungan kedua variabel data, didapatkan nilai pearson correlation yaitu

di bawah 0,7 dan nilai signifikansinya yang lebih besar dari 0,05 sehingga menunjukkan bahwa hubungan keeratan yang sangat lemah dan tidak ada pengaruh yang signifikan antara besar persen degradasi dan nilai absorbansi. Perbedaan nilai absorbansi pada masing-masing sampel selama degradasi 20 dan 40 hari dapat dipengaruhi oleh sifat hidrofobik dan hidrofilik bakteri dalam proses menempel pada permukaan plastik (Pathak & Navneet, 2017). Hal ini juga dapat dipengaruhi oleh mekanisme degradasi plastik yang dimulai dari menempelnya mikroorganisme pada permukaan plastik yang diikuti oleh pembentukan biofilm, sehingga dapat berpengaruh terhadap pembentukan sel planktonik dan menghasilkan nilai absorbansi bervariasi (Bester et al., 2005).

