

KERAGAMAN BAKTERI YANG BERPOTENSI SEBAGAI AGEN PENDEGRADASI LIMBAH MASKER BERBAHAN POLIPROPILENE YANG DIISOLASI DARI PANTAI PARANGTRITIS DAN TANJUNG PASIR

DIVERSITY OF BACTERIA WITH POTENTIAL AS DEGRADATION AGENTS OF MASK WASTE MADE FROM POLYPROPYLENE ISOLATED FROM PARANGTRITIS AND TANJUNG PASIR BEACH

Madda Nur Abidin dan Anna Rakhmawati*

Departemen Pendidikan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Negeri Yogyakarta, Yogyakarta 55281 Indonesia

*Email korespondensi: anna_rakhmawati@uny.ac.id

Submitted: 14 September 2023, Accepted: 10 Oktober 2023

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik, jenis bakteri yang dapat mendegradasi limbah masker nonmedis duckbill hitam berbahan polipropilen, serta aktivitas degradasi polipropilen oleh 10 isolat bakteri pada limbah masker yang ditemukan di pesisir Pantai Parangtritis, DI Yogyakarta dan Tanjung Pasir, Banten. Penelitian dilakukan dengan pengukuran nilai *optical density* isolat bakteri, uji degradasi zona bening, karakterisasi secara morfologi, fisiologi, serta *profile matching* dengan karakter bakteri acuan sesuai *Bergeys's Manual of Determinative Bacteriology* dan referensi ilmiah pendukung untuk menentukan dugaan genus isolat. Hasil karakterisasi fenotipik dikonstrusikan dengan dendrogram untuk mengetahui indeks similaritas. Hasil penelitian diketahui bahwa kemampuan isolat bakteri limbah masker mendegradasi polipropilen dalam kategori sedang (diameter 1,0 – 2,5 mm). Karakter isolat yaitu bakteri gram positif dan negatif; berbentuk coccus dan basil; bakteri dominan tidak membentuk endospora, bentuk semua koloni *circular*; elevasi *flat* dan *raised*; margin *undulate*, *entire*, dan *lobate*; warna putih susu dan putih kekuningan; dan hasil uji biokimia beragam. Hasil dendrogram didapatkan 3 jenis (genus) bakteri yaitu *Pseudomonas* sp., *Rhodococcus* sp. dan *Halomonas* sp.

Kata Kunci : Bakteri Pendegradasi Polipropilen, Biodegradasi, Identifikasi , Limbah Masker

ABSTRACT

The aim of this experiment was to determine the characteristics, types of bacteria found in black duckbill nonmedical mask waste that can degrade black duckbill nonmedical mask waste made from polypropylene, and polypropylene degradation activity by bacterial isolates in mask waste found on the coast of Parangtritis Beach and Tanjung Pasir. The research was conducted by measuring optical density, clear zone degradation test, characterisation in morphology, physiology, and profile matching with reference bacterial characters according to Bergeys's Manual of Determinative Bacteriology and supporting scientific references to determine the suspected isolate genus. The results of phenotypic characterisation were constructed with dendograms to determine the similarity index. The results showed that the ability of mask waste bacteria isolates to degrade polypropylene was in the medium category (diameter 1.0 - 2.5 mm). The isolate characters are gram-positive and negative bacteria; coccus and bacillus-shaped; dominant negative endospores; the shape of all circular colonies; flat and raised elevations; undulate, entire, and lobate margins; milky white and yellowish white colours; and diverse biochemical test results. The dendrogram results obtained 3 types (genus) of bacteria namely *Pseudomonas* sp., *Rhodococcus* sp. and *Halomonas* sp.

Keywords : Polypropylene Degrading Bacteria, Biodegradation, Identification, Mask Waste

Pendahuluan

Peningkatan penggunaan masker sekali pakai di masa pandemi terjadi di seluruh dunia. Penelitian [30], estimasi penggunaan masker setiap hari pada beberapa negara di Asia

mencapai 2.228.170,832 kg masker/hari. Di Indonesia, sampah masker saja dapat diperkirakan mencapai 537.166 kg/hari dengan asumsi pengguna masker 50% dari jumlah penduduk Indonesia, satu orang satu masker

dengan berat masker 4 gram [33] sehingga jumlah timbulan limbah masker sekali pakai meningkat. Seperti halnya di daerah pantai Parangtritis, Daerah Istimewa Yogyakarta dan Tanjung Pasir, Banten yang sudah tercemar sampah domestik.

Masker dapat melepaskan lebih banyak plastik berukuran mikro, lebih mudah dan lebih cepat daripada plastik curah seperti kantong plastik ketika terurai di lingkungan [37]. Masker nonmedis dengan jenis duckbill berwarna hitam yang digunakan dalam penelitian ini memiliki bahan dasar polipropilen yang merupakan salah satu jenis mikroplastik dengan sifat sulit terurai sehingga ditemukan dalam keadaan utuh karena bersifat sebagai polutan lingkungan. Polipropilena merupakan polimer sintetis yang dapat berubah menjadi mikroplastik dan membahayakan lingkungan serta kesehatan manusia [27]. Polipropilen adalah bahan plastik berbasis minyak bumi kedua yang paling umum setelah polietilen. Namun, bahan tersebut memiliki hambatan untuk terurai karena stabilitas strukturalnya. Polipropilen atau PP digunakan dalam film, kemasan, dan produk sekali pakai dan memiliki aplikasi di hampir semua industri [36]. Polipropilen mirip dengan polietilen, tetapi ketahanannya terhadap *stress cracking* jauh lebih unggul sehingga jarang terurai secara hayati tanpa adanya proses *pretreatment* seperti paparan waktu yang lama pada suhu tinggi atau paparan sinar UV [13].

Limbah mikroplastik, degradasi fotooksidatif, termal, ozon, katalitik, dan mekanokimia telah digunakan untuk menghilangkan pencemaran mikroplastik. Akan tetapi, solusi tersebut tidak dapat digunakan pada konsentrasi plastik yang rendah, mengakibatkan pencemaran sekunder yang dapat membahayakan lingkungan, dan biaya yang dibutuhkan mahal [19]. Di Indonesia, pengolahan limbah medis akibat pandemi dilakukan melalui rekristalisasi atau daur ulang. Namun, ketika limbah telah melepaskan mikroplastik ke lingkungan alami, partikelnya menjadi hampir tidak terlihat dan menyebar di lingkungan untuk bertahan lama [34].

Pendekatan remediasi secara biologi atau biodegradasi menjadi salah satu strategi potensial yang dapat digunakan untuk menangani adanya masalah lingkungan terkait melimpahnya limbah masker nonmedis berbahana dasar mikroplastik. Proses remediasi tersebut dilakukan dengan mengubahnya

menjadi monomer dan menambahkan mikroplastik (masker) ke dalam bahan seluler sebagai sumber karbon dan energi. Metode ini menghasilkan produk akhir yang tidak berbahaya bagi lingkungan seperti CH₃, CO₂, dan H₂O [22].

Mikroorganisme yang dapat mendegradasi plastik menurut Luegne *et al.* (2003) dalam [35], lebih dari 90 genus yaitu dari jenis bakteri diantaranya *Bacillus megaterium*, *Pseudomonas* sp., *Azotobacter*, *Ralstonia eutropha*, *Halomonas* sp., dan lain-lain. Sedangkan mikroorganisme seperti *Bacillus* sp., *Brevibacillus* sp., *Phanerochaete chrysoporum*, *Rhodococcus* sp. [13], *Rhizopus arrhizus*, *Vibrio* sp. dilaporkan dapat mendegradasi polipropilen serta *Brevibacillus* sp. dan *Aneurinbacillus* sp. yang diisolasi dari instalasi pengolahan limbah dan tempat pembuangan akhir [31]. Keanekaragaman morfologi, fisiologi, dan potensi yang sangat besar, menjadi landasan bahwa bakteri dapat digunakan sebagai agen biodegradasi. Namun, penelitian mengenai isolasi bakteri pendegradasi mikroplastik terutama polipropilen masih minim dilakukan di Indonesia, termasuk identifikasi morfologi dan fisiologi bakteri hingga tingkat genus.

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keragaman bakteri yang terdapat pada limbah masker yang ditemukan di pesisir pantai Parangtritis dan Tanjung Pasir yang berpotensi sebagai agen pendegradasi limbah masker nonmedis duckbill hitam yang berbahana utama plastik polipropilen.

Metode Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA UNY pada Januari hingga Juli 2023. Jenis penelitian ini adalah deskriptif eksploratif. Sampel penelitian ini adalah bakteri yang diisolasi dari limbah masker nonmedis berjenis duckbill hitam yang ditemukan di pasir Pantai Parangtritis, Yogyakarta dan Pantai Tanjung Pasir, Banten.

Alat dan bahan yang dipersiapkan adalah alat dokumentasi, autoklaf, botol UC, cawan petri, *colony counter*, *cover glass*, erlenmeyer, gelas beaker, gunting, *hot plate*, korek api, gelas objek, gelas ukur, jangka sorong, jarum ose, *Laminar Air Flow*, lampu spiritus, *magnetic stirrer*, mikropipet, inkubator, mikroskop, oven, pembakar bunsen, pinset, pipet tetes, rak tabung reaksi,

spektrofotometer, *centrifuge*, *vortex*, tabung reaksi, tabung eppendorf, tabung durham, aquades, alkohol 70%, alkohol 96%, *alpha-naphthol*, asam asetat 10%, *commassie brilliant blue* 40%, kristal violet, iodium, KOH 40%, KOH 3%, KH₂PO₄, NH₄NO₃, K₂HPO₄, NH₄Cl, MgSO₄, FeSO₄, NaCl, *xylen*, glukosa, fruktosa, maltosa, galaktosa, laktosa, sukrosa, manitol, media *Nutrient Agar*, media *Nutrient Broth*, media *agar bacterial*, media MR-VP, media *Starch Agar*, media gelatin, media *Lysin Iron Agar*, media *Simmon's Citrat Agar*, media *Sulfid Indol Motility*, safranin, H₂O₂ 3%, reagen Kovac, *methyl red* 0,5%, *phenol red*, *malachite green*, dan sodium chloride.

Purifikasi Isolat Bakteri dan Pengukuran Nilai Optical Density Isolat Bakteri

Purifikasi pada 16 isolat bakteri limbah masker nonmedis duckbill hitam campuran yang diisolasi dari Pantai Parangtritis (8 isolat bakteri) dan TanjungPasir (8 isolat bakteri). Purifikasi dilakukan dengan menggunakan teknik *streak plate* secara aseptis dengan menggunakan jarum ose dan diinokulasikan pada permukaan media NA yang baru pada cawan petri. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam yang dilakukan hingga didapatkan kultur bakteri murni, lalu diremajakan pada agar miring. Pengukuran nilai *optical density* 16 isolat bakteri menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 600 nm. Pengukuran dilakukan dua kali yaitu sebelum dilakukan inkubasi suspensi bakteri dan setelah inkubasi selama 24 jam.

Pembuatan Media Uji Zona Bening Bakteri

Media selektif yaitu media MSM Agar dicampur dengan 2 gram bubuk polipropilen. Media distrerilisasi menggunakan autoklaf suhu 121°C, 1 atm.

Seleksi Bakteri Pendegradasi Polipropilen dengan Uji Zona Bening

Sebanyak 12 isolat murni hasil seleksi pengukuran nilai OD, ditumbuhkan pada media MSM Agar + bubuk polipropilen dengan metode titik. Inkubasi selama 21 hari pada suhu ruang. Setelah inkubasi selesai, tiap cawan petri diberi 0,1% (w/v) larutan *coomassie blue R-250* dalam 40% (w/v) metanol dan asam asetat 10% (w/v) lalu dibiarkan selama 20 menit. Larutan *coomassie blue* dibuang dan cawan petri ditambah dengan 40% (w/v) metanol dan 10%

(w/v) asam asetat dibiarkan selama 20 menit [6]. Zona bening tiap isolat diukur menggunakan penggaris. Cawan petri yang menghasilkan diameter zona bening paling lebar pada latar belakang biru dipilih untuk identifikasi lanjut.

Pengamatan Karakteristik Bakteri

Pengamatan morfologi 10 koloni bakteri yang terseleksi meliputi bentuk/konfigurasi, margin/tepi, elevasi, dan warna permukaan. Karakterisasi morfologi sel melalui pewarnaan gram dan pewarnaan endospora dengan metode Schaeffer-Fulton. Identifikasi fisiologis dilakukan dengan uji KOH string, motilitas, indol, sitrat, H₂S, katalase, *methyl red*, *voges proskauer*, fermentasi karbohidrat (sukrosa, glukosa, laktosa, maltosa, galaktosa, fruktosa, dan manitol), uji kebutuhan oksigen, hidrolisis pati, hidrolisis gelatin, lisin, dan uji pertumbuhan bakteri pada variasi konsentrasi pH, NaCl, dan suhu.

Teknik Analisis Data

Pengukuran zona bening pada uji degradasi polipropilen. Rumus rasio zona bening adalah sebagai berikut :

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

Keterangan :

Zb : Ukuran zona bening

b₁ : Diamater vertikal zona bening

b₂ : Diameter horizontal zona bening

d₁ : Diameter vertikal zona bening

d₂ : Diameter horizontal zona bening

Identifikasi bakteri dilakukan dengan metode *profile matching* berdasar *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Data berupa hasil uji karakterisasi isolat bakteri serta data karakterisasi genera spesies acuan yang diperoleh dianalisis dan dibuat dendogramnya menggunakan aplikasi *Multi-Variate Statistical Package* (MVSP) 3.1. dengan uji *Cluster Analysis*. Indeks similaritas masing-masing isolat bakteri, digunakan koefisien *Simple Matching Coeficient* (SSM). Pengelompokan ini dilakukan dengan algoritma *Unwight Pair Group Method* (UPGMA).

Hasil dan Pembahasan

Biodegradasi merupakan mekanisme mikroorganisme yang mampu mendegradasi atau memecah polimer sintetik (seperti

polietilen, polipropilen, polistiren) dan polimer alam (seperti lignin dan selulosa) [32]. Biodegradasi plastik terjadi karena adanya mikroorganisme pada permukaan plastik yang mampu mensekresikan enzim pendegradasi. Enzim ini terutama meliputi lipase atau dehidrogenase, yang menyerang substrat polimer setelah pembelahan hidrolitik. Akibatnya, polimer terdegradasi menjadi molekul yang lebih kecil (misalnya oligomer, dimer, dan monomer), akhirnya diubah menjadi karbon dioksida atau air melalui metabolisme mikroba [13].

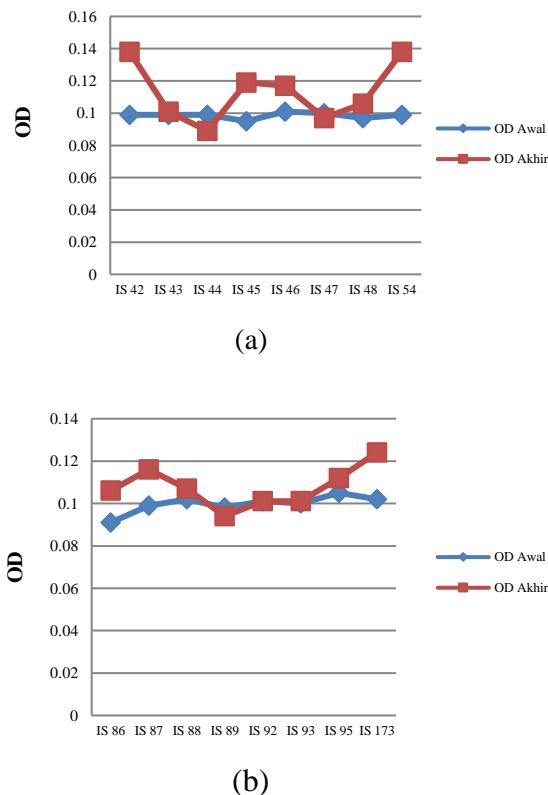
Tahap pertama yang dilakukan dalam penelitian ini adalah purifikasi atau pemurnian isolat bakteri campuran yang diisolasi dari Pantai Parangtritis dan Tanjung Pasir. Metode *streak plate* dipilih sebagai metode untuk memperoleh koloni bakteri murni karena mudah dan cepat. Prosedur pemurnian melalui metode gores dapat dilakukan beberapa kali hingga benar-benar mendapatkan isolat murni yang selanjutnya dapat diinokulasikan ke tahap berikutnya [24].

Skrining Bakteri dengan Pengukuran Nilai Optical Density Isolat Bakteri

Pengukuran *Optical Density* (OD) bertujuan untuk mengetahui tingkat kepadatan bakteri yang ditunjukkan dengan adanya kekeruhan medium biakan isolat bakteri yang akan digunakan pada proses biodegradasi mikroplastik. Media yang digunakan adalah *Mineral Salt Media*, yaitu media garam mineral bebas karbon yang digunakan untuk pengayaan, isolasi, ataupun pertumbuhan bakteri dengan jenis nutrisi tertentu [1]. Tujuan penggunaan media MSM adalah untuk mendorong isolat bakteri untuk menggunakan mikroplastik polipropilen sebagai sumber karbon untuk nutrisi dan media pertumbuhan.

Nilai absorbansi tertinggi dari sampel yang diperoleh dari Pantai Parangtritis pada isolat 54 sebesar 0,039, sedangkan sampel dari Pantai Tanjung Pasir pada isolat 173 sebesar 0,022 (Gambar 1). Hal tersebut dipengaruhi oleh ketersediaan nutrisi yang memadai, pH optimum, serta suhu yang mendukung menyebabkan densitas bakteri menjadi tinggi. Selain itu, jenis bakteri yang berbeda, dimungkinkan memiliki bentuk, ukuran, serta metabolit yang berbeda pula sehingga dapat mempengaruhi nilai OD [18]. Nilai absorbansi *Optical Density* terjadi penurunan pada sampel isolat Pantai Parangtritis dengan kode isolat 44

dan 47. Hal ini disebabkan oleh faktor fisik dan faktor kimia yang mempengaruhi densitas bakteri yang tumbuh.

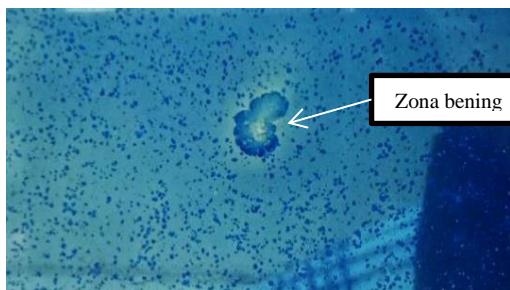


Gambar 1. Grafik Nilai *Optical Density* Isolat Bakteri yang Diisolasi dari (a) Pantai Parangtritis (b) Pantai Tanjung Pasir

Uji Degradasi dengan Zona Bening

Bakteri pada limbah masker nonmedis berjenis duckbill hitam yang ditemukan di Pantai Parangtritis dan Pantai Tanjung Pasir dilihat aktivitas tumbuhnya melalui berkembang atau tidaknya tiap-tiap koloni bakteri pada *Mineral Salt Medium Agar* termodifikasi plastik polipropilen, serta menguji kemampuan pertumbuhan bakteri dalam mendegradasi plastik. Bakteri yang mampu mendegradasi plastik ditandai dengan ciri timbul zona bening di sekitar bakteri pada media [4].

Penelitian [21] menyarankan bahwa teknik zona bening merupakan metode yang sesuai untuk penelitian mengenai mikroorganisme yang memiliki kemampuan pendegradasi plastik. Pembentukan zona bening di sekitar isolat mengkonfirmasi kemampuan strain bakteri dalam mendekomposisi polimer.



Gambar 2. Zona Bening Isolat Bakteri Hasil Uji Degradasi Polipropilen

Berdasarkan penelitian ini, semua isolat dapat tumbuh dalam MSM Agar termodifikasi polipropilen dengan ukuran diameter yang berbeda. Setelah dilakukan inkubasi selama 21 hari (3 minggu), 12 isolat mampu tumbuh melebar pada MSM Agar. Rata-rata ukuran zona bening yang terbentuk memiliki kisaran angka yang tidak terpaut jauh antara 0,983 hingga 2,7 mm. Perbandingan nilai rasio zona bening yang besar menunjukkan bahwa semakin banyak enzim yang disekresikan semakin besar pula kemampuan bakteri dalam mendegradasi polimer plastik [20].

Kemampuan koloni bakteri untuk mendegradasi plastik dianggap tinggi ketika diameternya lebih dari 2,5 mm; sedang ketika diameternya antara 1,0 dan 2,5 mm; dan lemah ketika diameternya kurang dari 1,0 mm [12]. Dari hasil penelitian, kode isolat 88 dan 43 memiliki ukuran rata-rata zona bening terluas jika dibandingkan dengan isolat lainnya yaitu

berturut-turut sebesar 2,7 mm dan 2,65 mm sehingga memiliki kemampuan degradasi tinggi. Untuk 9 isolat bakteri lain memiliki kemampuan degradasi sedang dengan kisaran rasio zona bening 1,1 mm-2,3 mm. Sedangkan isolat yang memiliki ukuran rata-rata zona bening terkecil yaitu 0,983 mm dengan kemampuan degradasi lemah karena di bawah 1,0 mm, sehingga tidak berlanjut ke tahap identifikasi dan karakterisasi. Rerata rasio zona bening kesepuluh isolat bakteri yaitu 1,66 mm dengan kemampuan degradasi sedang.

Mikroorganisme bakteri agen pendegradasi limbah masker nonmedis berbahan polipropilen mengeluarkan enzim ekstraseluler yang mendegradasi zat polimer berupa serbuk polipropilen menjadi bahan yang larut dalam air, yang menunjukkan terdapatnya potensi dan efisiensi bakteri dalam mengkatalis proses degradasi dengan menghasilkan pembentukan zona bening di sekitar mikroba [4]. Enzim dapat berasal dari sekresi mikroorganisme yaitu dapat berupa enzim yang mengkatalisis reaksi hidrolisis dengan molekul yang bukan enzim, baik dari mikroorganisme itu sendiri maupun dari lingkungannya. Polimer kompleks akan dipecah menjadi senyawa yang lebih sederhana oleh sekresi ekso-enzim selama proses degradasi. Membran mikroba dapat menyerap senyawa ini untuk digunakan sebagai sumber energi [29].

Tabel 1. Hasil Identifikasi Morfologi dan Fisiologi Isolat Bakteri

Kode Isolat	Bentuk Koloni	Elevasi Koloni	Margin/ Tepian Koloni	Sifat Gram	Bentuk Sel	Endospora
42	<i>Circular</i>	<i>Flat</i>	<i>Undulate</i>	Positif	Coccus	Ada
43	<i>Circular</i>	<i>Flat</i>	<i>Undulate</i>	Positif	Coccus	Ada
45	<i>Circular</i>	<i>Raised</i>	<i>Undulate</i>	Positif	Coccus	Tidak ada
46	<i>Circular</i>	<i>Raised</i>	<i>Entire</i>	Negatif	Basil	Tidak ada
54	<i>Circular</i>	<i>Raised</i>	<i>Entire</i>	Negatif	Coccus	Tidak ada
87	<i>Circular</i>	<i>Raised</i>	<i>Entire</i>	Positif	Coccus	Tidak ada
88	<i>Circular</i>	<i>Flat</i>	<i>Undulate</i>	Positif	Basil	Ada
93	<i>Circular</i>	<i>Raised</i>	<i>Undulate</i>	Negatif	Coccus	Tidak ada
95	<i>Circular</i>	<i>Raised</i>	<i>Entire</i>	Positif	Coccus	Tidak ada
173	<i>Circular</i>	<i>Raised</i>	<i>Lobate</i>	Negatif	Coccus	Tidak ada

Menurut [28] *coomassie brilliant blue* dapat digunakan sebagai indikator degradasi polimer oleh bakteri pada media padat yang cepat dan sensitif. Selama proses pewarnaan, pewarna *coomassie brilliant blue* berinteraksi dengan polimer pada cawan petri. Oleh karena area di sekitar koloni tidak memiliki komposisi polimer sama sekali, area tersebut akan menjadi bening.

Identifikasi Morfologi dan Fisiologis Bakteri

Identifikasi jenis bakteri dilakukan dengan identifikasi morfologi koloni dan sel bakteri secara makroskopis dan mikroskopis serta identifikasi fisiologis dengan uji biokimia bakteri. Uji biokimia bakteri bertujuan untuk mengetahui sifat-sifat fisiologis setiap bakteri hasil isolasi yang berkaitan dengan proses metabolisme sel bakteri. Identifikasi tidak dapat dilakukan hanya dengan mengetahui sifat morfologi saja tetapi harus mengetahui sifat fisiologisnya [10].

Uji KOH String

Hasil uji KOH String, isolat bakteri dengan kode 42, 43, 45, 87, 88, dan 95 menunjukkan bakteri tersebut termasuk dalam bakteri gram positif dengan tidak membentuk lendir karena lapisan peptidoglikan yang tebal pada dinding selnya. Dinding sel bakteri gram negatif hanya terdiri dari 1-3 lapis, sedangkan dinding sel bakteri gram positif terdiri dari 90% lapisan peptidoglikan. Ketika isolat bakteri ditetesi KOH 3%, dinding sel gram negatif mudah terganggu, melepaskan bahan kromosom viscid, yang membuat suspensi bakteri menjadi tebal dan berserat, sedangkan pada dinding sel bakteri gram positif KOH 3% tidak memengaruhi [16].

Uji Motilitas

Uji motilitas dengan media *Sulfide Indol Motility* (SIM) bertujuan untuk mengetahui adanya pergerakan dari bakteri. Isolat 173 bersifat motil ditandai tumbuhnya bakteri menyebar di sekitar isolat. Pergerakan bakteri bersifat aktif jika menggunakan mekanisme seluler yang bergantung pada energi sehingga bakteri mengontrol pergerakannya secara langsung ataupun pasif jika bakteri mengandalkan keadaan lingkungan yang ditempatinya untuk menghasilkan kekuatan mendorong sel [25].

Uji H₂S

Uji H₂S bertujuan mengetahui kemampuan bakteri dalam menguraikan asam amino yang memiliki kandungan sulfur. Endapan besi sulfida hitam terlihat di sepanjang garis tusukan inokulasi isolat 173 menunjukkan bahwa terdapat produksi H₂S oleh enzim bakteri.

Uji Katalase

Enzim katalase berfungsi untuk mencegah oksidasi hidrogen peroksida yang dapat merusak dan membunuh bakteri. Hasil uji isolat kode 42, 43, 46, 54, 87, 88, 93, 95, dan 173 menunjukkan adanya gelembung gas ketika ditetesi reagen H₂O₂, membuktikan enzim katalase pada bakteri dapat mengkatalis penguraian hidrogen peroksida (H₂O₂) menjadi air dan O₂. Hasil ini menunjukkan bahwa uji katalase adalah hasil aerob [3]; [17].

Ketika proses biodegradasi, katalase-peroksidase mendepolimerasi polimer dengan berat molekul yang lebih rendah. Produk polimer yang telah terdepolimerasi akan diubah menjadi produk lebih pendek melalui serangkaian reaksi enzimatik oleh monoooksigenase dan dioksigenase yang berpartisipasi dalam penambahan oksigen rantai karbon [9].

Uji Indol

Uji indol untuk menunjukkan adanya triptofan dan indol yang ditandai terbentuknya cincin merah ketika ditetesi reagen Kovac. Kesepuluh isolat menghasilkan cincin kuning yang menunjukkan bahwa isolat bakteri tidak memiliki enzim triptofanase yang dapat menghidrolisis asam amino triptofan menjadi asam piruvat dan indol, sehingga bakteri tidak dapat memanfaatkan indol sebagai satu-satunya sumber karbon dan energi.

Uji Methyl Red

Kode isolat 42, 43, 88, 93, dan 173 menghasilkan warna merah pada media dikarenakan bakteri memfermentasi asam campuran mampu menggunakan asam campuran untuk proses pertumbuhannya.

Uji Voges Proskauer

Hasil uji VP pada penelitian ini menunjukkan negatif VP karena tidak terbentuknya perubahan warna saat penambahan pereaksi yang menandakan

organisme tidak membentuk produk akhir non-asam atau netral.

Uji Simmon's Citrate

Enzim sitrase isolat bakteri 46, 54, 87, dan 173 menghasilkan sitrat yang diubah oleh proses enzimatis menjadi asam piruvat dan CO₂. Oleh karena CO₂ berikatan dengan sodium (Na) dan H₂O dan membentuk sodium karbonat (Na₂CO₃), medium menjadi alkali (basa) selama reaksi tersebut. Akibatnya, indikator *bromthymol* biru pada medium berubah menjadi biru prusia [3].

Uji Kebutuhan Oksigen

Proses degradasi anaerob terjadi pada isolat 54, 87, 93, 95, dan 173 adalah proses biologi yang memanfaatkan mikroorganisme dalam mendegradasi bahan organik dalam kondisi terdapat atau sangat sedikit oksigen terlarut dengan hasil akhir CO₂, H₂O, dan CH₄ [2]. Sedangkan isolat 42, 43, 45, 46, dan 88 terjadi biodegradasi aerobik dengan penguraian polutan organik oleh mikroorganisme ketika ada oksigen dengan hasil akhir CO₂ dan H₂O.

Uji Hidrolisis Pati

Pada uji hidrolisis pati, isolat bakteri 42, 43, 45, dan 88 menghasilkan enzim amilase, sebagai sumber enzim dan mampu untuk memecah berbagai jenis substrat [7]. Enzim amilase diketahui termasuk dalam enzim hidrolase, yang secara hidrolitik dapat mendegradasi rantai polimer panjang menjadi monomer yang lebih kecil termasuk polimer [15].

Uji Hidrolisis Gelatin

Isolat bakteri kode 45, 88, dan 93 mampu menghidrolisis gelatin yang ditandai dengan media nutrien gelatin tetap berwujud cair pada saat inkubasi pada suhu 4°C selama 30 menit yang berarti bakteri mampu menghasilkan *ecoenzim gelatinase*.

Uji Lysin

Isolat 45, 46, 54, 87, 93, dan 95 terjadi proses dekarboksilasi lisin dengan indikator pH membentuk warna ungu pada bagian dasar tabung dan menghasilkan produk akhir amina yang kemudian bereaksi sedangkan reaksi netral (tidak ada reaksi dekarboksilasi) akan membentuk warna kuning. Sedangkan isolat 173 terjadi deaminasi lisin, amonia yang dihasilkan bereaksi dengan *ferric ammonium*

citrate membentuk warna merah gelap pada slant tabung dan endapan hitam di dasar tabung menunjukkan adanya produksi H₂S.

Uji Fermentasi Karbohidrat

Uji fermentasi karbohidrat digunakan untuk menentukan jenis karbohidrat yang mampu difermentasi oleh bakteri. Pembentukan asam pada media yang dilakukan oleh bakteri menyebabkan media berwarna kuning ketika diberi indikator *phenol red* dan inkubasi 24 jam. Selain itu, isolat yang mengalami pembentukan gelembung gas pada tabung durham, terjadi karena reaksi fermentasi karbohidrat [8]. Asam piruvat dan asam asetat akan diproduksi oleh bakteri yang memfermentasi gula dan gelembung gas CO₂ akan muncul di media [26]. Pada proses biodegradasi, bakteri akan menggunakan maltosa, glukosa, laktosa, galaktosa, sukrosa, fruktosa, dan mannitol sebagai sumber karbonnya [23]. Hasil uji tertera pada Tabel 2.

Pertumbuhan Bakteri pada Suhu yang Berbeda

Bakteri dalam penelitian ini dapat beradaptasi dan berkembang biak dengan baik dan optimal pada suhu 26°C-37°C. Suhu mempengaruhi degradasi mikroplastik di tiga kondisi lingkungan berbeda (air laut, air murni, dan udara) setelah terpapar selama beberapa hari tertentu [5]. Peningkatan kelembaban dan suhu yang mengakibatkan pemutusan rantai polimer sehingga menyebabkan meningkatnya laju reaksi hidrolisis dan aktivitas mikroba [4].

Pertumbuhan Bakteri pada pH yang Berbeda

Variasi pH 7-9 merupakan pH yang optimal untuk tumbuh seluruh isolat bakteri agen pendegradasi limbah masker nonmedis yang berbahan polipropilen yang diperoleh dari Pantai Parangtritis dan Pantai Tanjung Pasir. pH lingkungan memainkan peran penting dalam proses degradasi plastik. pH dengan kisaran antara 6,5-7,5 diperlukan bakteri untuk melakukan pertumbuhan optimal [11]. Laju degradasi polimer plastik sangat bergantung pada pH karena mempunyai pengaruh penting terhadap populasi mikroba dan aktivitas enzim (Gu, 2003) dalam [2].

Tabel 2. Hasil Uji Fermentasi Karbohidrat

Jenis Uji Fermentasi Karbohidrat	Kode Isolat									
	42	43	45	46	54	87	88	93	95	173
Maltosa	-a/-g	-a/-g	-a/-g	-a/-g	-a/-g	-a/-g	-a/-g	+a/-g	-a/-g	+a/+g
Glukosa	+a/-g	+a/-g	+a/-g	-a/-g	-a/-g	+a/-g	+a/-g	+a/-g	-a/-g	+a/+g
Laktosa	+a/-g	+a/-g	-a/-g	-a/-g	-a/-g	+a/-g	+a/-g	-a/-g	+a/-g	+a/-g
Galaktosa	-a/-g	-a/-g	-a/-g	-a/-g	-a/-g	-a/-g	-a/-g	+a/-g	-a/-g	+a/+g
Sukrosa	-a/-g	-a/-g	-a/-g	-a/-g	-a/-g	-a/-g	-a/-g	+a/-g	-a/-g	+a/-g
Fruktosa	-a/-g	-a/-g	-a/-g	-a/-g	-a/-g	-a/-g	-a/-g	+a/-g	-a/-g	-a/-g
Mannitol	-a/-g	-a/-g	-a/-g	-a/-g	-a/-g	-a/-g	-a/-g	+a/-g	-a/-g	-a/-g

Keterangan : +a/+g : Positif asam dan menghasilkan gas; -a/-g : Negatif Asam tidak menghasilkan gas; +a/-g : Positif asam dan tidak menghasilkan gas

Pertumbuhan Bakteri pada NaCl yang Berbeda

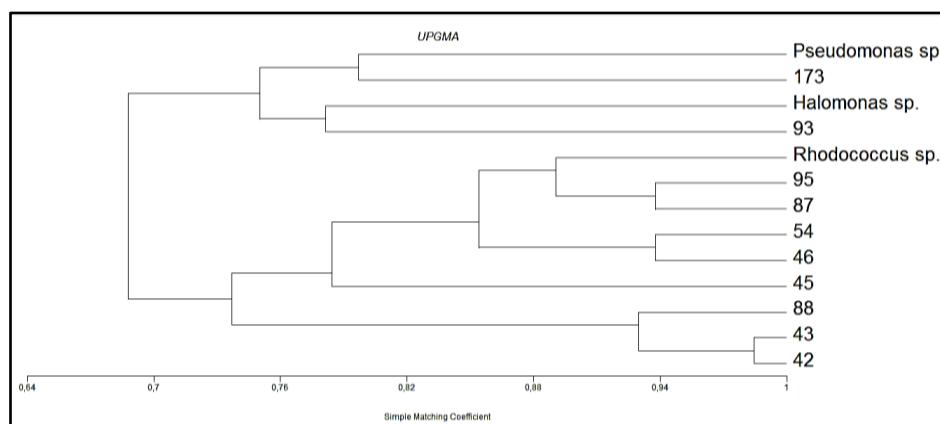
Seluruh isolat bakteri (10 isolat) dapat tumbuh dengan baik pada konsentrasi 1%. Beberapa isolat juga tumbuh pada konsentrasi 5% dan 10%, akan tetapi kurang optimal. Ketidakoptimalan pertumbuhan bakteri disebabkan karena pada saat pengukuran dalam kuvet, kemungkinan isolat bakteri kekurangan nutrisi; pH mengalami perubahan; dan faktor lainnya yang tidak diketahui akan mendesak dan mengganggu biakan bakteri sehingga mengakibatkan penurunan kecepatan pertumbuhan.

Identifikasi Bakteri yang Berpotensi sebagai Agen Pendegradasi Limbah Masker Nonmedis Berbahan Polipropilen

Hasil karakterisasi morfologi dan biokimia dicocokkan berdasarkan *key character* dan *profile matching* dengan bakteri acuan sesuai Buku *Bergey's's Manual of Determinative Bacteriology* dan referensi jurnal

ilmiah pendukung untuk menentukan dugaan genus isolat bakteri yang berpotensi sebagai pendegradasi limbah masker nonmedis berbahan polipropilen dan dianalisis menggunakan aplikasi *Muti-Variate Statistical Package* (MVSP) 3.1 dengan uji *Cluster Analysis* dengan metode UPGMA (*Unweight Pair Group Method*). Genus bakteri yang berhasil diidentifikasi yaitu *Rhodococcus* sp., *Halomonas* sp. dan *Pseudomonas* sp.

Rhodococcus memiliki gen yang mengkode enzim yang memungkinkan biotransformasi dan/atau biodegradasi berbagai bahan organik, kontaminan, obat, dan limbah [38]. Penelitian yang dilakukan oleh [2] menunjukkan penurunan berat tertinggi pada degradasi mikroplastik PP oleh *Rhodococcus* sp. strain 36 sebesar 6,4%. Biodegradasi mikroplastik PP oleh mikroorganisme dengan perubahan struktur morfologi dan kimia yang diamati pada mikroplastik PP menggunakan analisis SEM dan FTIR.

**Gambar 3.** Hasil Konstruksi Dendogram Bakteri Isolat dan Genera Bakteri Acuan

Penurunan berat mikroplastik PP setelah inkubasi dapat menjadi hasil dari aktivitas mikroba yang tidak hanya menunjukkan persentase penurunan berat, tetapi hilangnya sifat-sifat tertentu, kerusakan fisik, dan degradasi mikroplastik PP oleh mikroba. Dalam penelitian ini, genus *Rhodococcus* sp. ditemukan di Pantai Parangtritis dan Tanjung Pasir.

Halomonas sp. yang diisolasi dari plastik polipropilena dari air laut bertujuan untuk mendapatkan bakteri potensial yang mampu mendegradasi plastik polipropilen sehingga berpotensi mendegradasi plastik sintetik. Isolat diinokulasikan ke dalam media mineral dengan penambahan film plastik sintetik polipropilen steril [14]. Bakteri genus *Halomonas* sp. sebagai agen pendegradasi limbah masker nonmedis berbahan polipropilen ditemukan di Pantai Tanjung Pasir.

Bakteri *Pseudomonas* sp. ini memiliki *system inducible operon* yang menghasilkan enzim tertentu untuk proses metabolisme sumber karbon yang tidak biasa digunakan. Oleh karena itu, bakteri ini memainkan peran penting dalam biodegradasi berbagai polimer, termasuk bahan kimia xenobiotik dan pestisida. Serine hidrolase, esterase, dan lipase adalah beberapa enzim yang diproduksi *Pseudomonas* spp. yang bertanggung jawab atas proses biodegradasi [32]. Bakteri genus *Pseudomonas* sp. sebagai agen pendegradasi limbah masker nonmedis berbahan polipropilen ditemukan di Pantai Tanjung Pasir.

Kesimpulan

1. Kemampuan isolat bakteri limbah masker dari Pantai Parangtritis dan Pantai Tanjung Pasir dalam mendegradasi polipropilen diukur dengan rasio zona bening berada pada kategori sedang (diamater antara 1,0 mm – 2,5 mm).
2. Karakter isolat yang berpotensi sebagai agen pendegradasi limbah masker non medis berbahan polipropilen yang ditemukan di Pantai Parangtritis dan Tanjung Pasir yaitu bakteri gram positif dan negatif; berbentuk coccus maupun basil; bakteri dominan tidak membentuk endospora; bentuk semua koloni *circular*; elevasi *flat* dan *raised* (dominan *raised*), tepian *undulate*, *entire*, dan *lobate*; serta warna putih susu (dominan) dan putih

kekuningan; dan hasil uji biokimia beragam.

3. Hasil dendogram keanekaragaman fenetik yang ditemukan di kedua pantai didapatkan 3 jenis (genus) bakteri yaitu *Pseudomonas* sp., *Rhodococcus* sp. dan *Halomonas* sp.

Daftar Pustaka

- [1] Al-Jailawi, M. H., Ameen, R. S., & Al-Saraf, A. A. (2015). International Journal of Advanced Research in Biological Sciences Polyethylene degradation by *Pseudomonas* putida S3A. *Journal of International Environmental Application and Science*. 2(1), 90–97. Retrieved from www.ijarbs.com.
- [2] Auta, H.S., C.U. Emenikea, B. Jayanthia , S.H. Fauziah. (2018). Growth Kinetics and Biodeterioration of Polypropylene Microplastics by *Bacillus* sp. and *Rhodococcus* sp. Isolated from Mangrove Sediment. *Marine Pollution Bulletin*, 127, 15-21.
- [3] Cappuccino, J. G. & Sherman, N. (2014). *Manual Laboratorium Mikrobiologi*. 8th edn. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- [4] Devi, Deepa, Kartikey Kumar Gupta, and Deepanshu Rana. (2016). Isilation and Screening of Low Density Polyethylene (LDPE) Degrading Bacterial Strains from Waste Disposial Sites. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 5(11), 1633-1643.
- [5] Ding L, Mao R, Ma S, Guo X, Zhu L (2020). High Temperature Depended on the Ageing Mechanism of Microplastics Under Different Environmental Conditions and Its Effect on the Distribution of Organic Pollutants. *Water Research*, 174: 115634.
- [6] Gupta, Kartikey Kumar, Devi, Deepa, and Deepanshu Rana. (2016). Isolation and Sreening of Low Density Polyethylene (LDPE) Degrading Bacterial Srains from Waste Dispsosal Sites. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 5(11), 1633-1643. Retrieved from <https://10.20959/wjpr201611-7377>
- [7] Guzik, U., Hupert-Kocurek, K. & Wojciechowska, D. (2013). Intradiol dioxygenases – The Key Enzymes in Xenobiotics Degradation, In: Chamy, R. (Ed.), Biodegradation of Hazardous and

- Special Products, *Intech Open*, 129–153. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.5772/56205>.
- [8] Hadioetomo R.S. (1993). *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek*. Jakarta : Gramedia.
- [9] Hammami, Khouloud , Yasmine Souissi, Ameur Cherif, Mohamed Neifar. (2023). Sustainable bioconversion of synthetic plastic wastes to polyhydroxyalkanoate (PHA) bioplastics: recent advances and challenges. *MedCrave Online Journal of Applied Bionics and Biomechanics*, 7(1), 48-62.
- [10] Handayani, K., Ekowati, C. N., & Pakpahan, M. (2013). Karakterisasi fisiologi dan pertumbuhan isolat bakteri *Bacillus thuringiensis* dari tanah naungan di lingkungan Universitas Lampung. Disampaikan pada Seminar Nasional Sains dan Teknologi V, Lembaga Penelitian Universitas Lampung.
- [11] Iturbe, R, and Lopez, J. (2015). Bioremediation for A Soil Contaminated with Hydrocarbons. *Journal of Petroleum & Environmental Biotechnology*, 6(2), 1.
- [12] Jangra, Mukesh R., K. S Nehra, Garima, Kajal, Monika, Sonia, Preet, and Sumit Jangra. (2020). Assessment of Plastic Degrading Ability of Microbes Isolated from Local Plastic Dumping Sites. *Biosc Biotech Res Comm*, 13(4), 2360-2364.
- [13] 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. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2021.109662>.
- [14] Juliandi, Muhammad Diki, Anthoni Agustien, Azzura Ligo, dan Akmal Djamaan. (2020). Characterization of Polypropylene Synthetic Plastic-Degrading Bacteria from Seawater Samples and Their Decomposition Profiles. *IOSR Journal Of Pharmacy And Biological Sciences (IOSR-JPBS)*. 15(5), 50-58.
- [15] Kaushal, J., Khatri, M., Arya, K.S. (2021). Recent insight into enzymatic degradation of plastics prevalent in the environment: A mini—Review. *Clean Eng. Technology*, 2, 100083.
- [16] Kurnia K., Sadi N.H, Jumianto S. (2015). Isolation and Characterization of Pb Resistant Bacteria from Cilalay Lake, Indonesia. *Aceh Int. J Sci. Technology*, 4(3), 83-87.
- [17] Locke, T., S. Keat, A. Walker and R. Mackinnon. (2013). *Microbiology and Infectius Diseases on The Move*.
- [18] Mira, P., Yeh, P., & Hall, B. G. (2022). Estimating Microbial Population Data from Optical Density. *PLOS ONE*, 17(10).
- [19] Miri, S., Saini, R., Davoodi, S., Pulicharla, R., Brar, S., & Magdouli, S. (2022). Biodegradation of Microplastics: Better Late Than Never. *Chemosphere*, 286, 131670.
- [20] Nathania, H. B. (2013). Studi potensi isolat kapang Wonorejo Surabaya dalam mendegradasi polimer bioplastik poly, 2(2), 1-11.
- [21] Nisida H, Tokiwa Y. (1993). Distribution of Poly (β -hydroxybutyrate) and Poly (ϵ -caprolacton) Aerobic Degrading Microorganisms in Different Environments. *J. Environ. Polym. Degrad*, 1: 227-233.
- [22] Oliveira, J., Belchior, A., da Silva, V., Rotter, A., Petrovski, Ž., Almeida, P., Lourenco, N., & Gaudencio, S. (2020). Marine environmental plastic pollution: mitigation by microorganism degradation and recycling valorization. *Frontiers in Marine Science*, 7, 567126.
- [23] Özdemir, S.; Akarsu, C.; Acer, Ö.; Fouillaud, M.; Dufossé, L.; Dizge, N. (2022). Isolation of Thermophilic Bacteria and Investigation of Their Microplastic Degradation Ability Using Polyethylene Polymers. *Microorganisms*, 10, 2441. Retrieved from : <https://doi.org/10.3390/10122441>.
- [24] Pikoli, Megga Ratnasari, Festy Auliyaur Rahmah, Arina Findo Sari, Puji Astuti, dan Nur Amaliah Solihat. (2020). *Memancing Mikroba dari Sampah : Isolasi Mikroorganisme Pendegradasi Mikroplastik dari Tempat Pembuangan Akhir (TPA) Sampah*. Jakarta : Kinzamedia.
- [25] Pollitt, Eric J. G. Stephen P. Diggle. (2017). Defning motility in the Staphylococci. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 74:2943–2958.
- [26] Putri, A.M. dan Kurnia, P. (2018). Identifikasi Keberadaan Bakteri Coliform

- dan Total Mikroba dalam Es Dung-dung di Sekitar Kampus Universitas Muhammadiyah Surakarta. *Media Gizi Indonesia*, 13(1), 41–48
- [27] Qodriyah, Nur Romadhona Lailatul. (2022). Biodiversitas Bakteri Pendegradasi Polipropilena dari Komunal Tempat Pemrosesan Akhir (TPA) Sampah Kota Probolinggo dan Potensinya untuk Biodegradasi Limbah Masker Medis . *Thesis*. Malang: Universitas Negeri Malang.
- [28] Rafiq, S., Fahmida, F & Shahina, S.K. (2018). Biodegradation of Low Density Polyethylene (LDPE) by Halophilic Bacteria Isolated from Solar Saltpans Kovalam, Chennai. *An International Quarterly Scientific Journal*, 17(4).
- [29] Riandi, M. I., Kawuri, R., & Sudirga, S. K. (2017). Potensi Bakteri Pseudomonas sp. dan Ochrobactrum sp. yang Diisolasi dari Berbagai Sampel Tanah dalam Mendegradasi Limbah Polimer Plastik Berbahan Dasar High Density Polyethylene (HDPE) dan Low Density Polyethylene (LDPE). *Simbiosis Journal of Biological Sciences*, 5(2), 58. DOI : 10.24843/JSIMBOSIS.2017.v05.i02.p05.
- [30] Sangkham S. (2020). Face mask and medical disposal during the novel COVID-19 pandemic in asia. *Case Stud Chem Environ*, 2, 100052. dalam Lubriyana, Triyani, Nurjazuli, dan Dewanti, Nikie Astorina Yunita. (2022). Gambaran Pengelolaan Limbah Masker Sekali Pakai oleh Rumah Tangga pada Masyarakat di Kota Semarang. *Jurnal Riset Kesehatan Masyarakat*, 2(2).
- [31] Skariyachan, S., Patil, A. A., Shankar, A., Manjunath, M., Bachappanavar, N., & Kiran, S. (2018). Enhanced Polymer Degradation of Polyethylene and Polypropylene by Novel Thermophilic Consortia of *Brevibacillus* sp. and *Aneurinibacillus* sp. Screened from Waste Management Landfills and Sewage Treatment Plants. *Polymer Degradation and Stability*, 149, 52–68. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2018.01.018>.
- [32] Sriningsih, Atik dan Maya Shovitri. (2015). Potensi Isolat Bakteri Pseudomonas sebagai Pendegradasi Plastik. *Jurnal Sains dan Seni ITS*, 4 (2), 2337-3520.
- [33] Sugiarto, A. T., & Suherman. (2021). Menangani Limbah Medis Covid-19 Dengan Teknologi Plasma Nanobubble. Lipi.Co.Id. Retrieved from <http://bpi.lipi.go.id/menangani-limbah-medis-covid-19-dengan-teknologi-plasma-nanobubble>
- [34] Trikurniadewi, N., Khiftiyah, A. M., Sari, S. K., Ifananda, W., & Suryani, D. I. (2022). Isolates Of Polypropylene-Degrading Bacteria. *Jurnal Riset Kesehatan*, 11(2), 89–95.
- [35] Vianti, Rizky Okta, Melki, Rozirwan, dan Purwiyanto, Anna Ida Sunaryo. (2020). Purifikasi dan Uji Degradasi Bakteri Mikroplastik dari Perairan Muara Sungai Musi, Sumatera Selatan. *Maspuri Journal*, 12(2), 29-36.
- [36] Wei, R., & Zimmermann, W. (2017). Microbial enzymes for the recycling of recalcitrant petroleum-based plastics: how far are we? *Microbial Biotechnology*, 10(6), 1308-1322.
- [37] Xu, Elvis Genbo dan Ren, Zhiyong Jason. (2021). Preventing Masks from Becoming the Next Plastic Problem. *Front Environ Science Engineering*, 15(6), 125.
- [38] Zampolli, Jessica , Alessandro Orro, Daniele Vezzini, & Patrizia Di Gennaro. (2022). Genome-Based Exploration of Rhodococcus Species for Plastic-Degrading Genetic Determinants Using Bioinformatic Analysis. *Microorganisms* , 10, 1846.
- [39] Zeenat, Elahi, A., Bukhari, D., Shamim, S., & Rehman, A. (2021). Plastics Degradation by Microbes: a Sustainable Approach. *Journal of King Saud University - Science*, 33(6), 101538.