

## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **4.1 Isolasi Bakteri Pendegradasi Mikroplastik**

Isolasi bakteri merupakan metode yang dilakukan untuk memindahkan mikroba dari tempat asalnya dan menumbuhkannya pada media buatan sehingga didapatkan biakan murni (Mikdarullah & Nugraha, 2017). Dalam memperoleh isolat bakteri pendegradasi mikroplastik di sungai mencirim kota Binjai dilakukan pengenceran bertingkat hingga  $10^{-6}$  terlebih dahulu. Menurut Wasteson dan Hornes (2009) di dalam Yunita *et al* (2015) pengenceran bertingkat bertujuan untuk memperkecil jumlah mikroorganisme dari suatu sampel. Hasil pengenceran  $10^{-4}$  sampai  $10^{-6}$  kemudian disebar di atas media NA yang telah memadat dan diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam. Menurut Indrayati & Oktaviani (2021) media Nutrient Agar (NA) adalah media umum yang digunakan untuk pertumbuhan sebagian besar bakteri, salah satunya bakteri pendegradasi mikroplastik yang tumbuh pada media NA karena sifat media yang kompleks.

Berdasarkan hasil isolasi ditemukan enam koloni bakteri yang memiliki perbedaan secara morfologi, kemudian dari masing-masing koloni diberi kode BPM (bakteri pendegradasi mikroplastik) dengan angka 1 sampai 6 dibelakang kode isolat yang dapat dilihat pada lampiran 3.

#### **4.2 Uji Degradasi**

Pengujian degradasi yang telah dilakukan menunjukkan adanya perubahan warna media yang dapat dilihat pada lampiran 6. Menurut Charkoudian *et al* (2010) warna media yang berubah disebabkan karena pigmen yang dikeluarkan bakteri dan bereaksi dengan media sehingga dapat membentuk gugus kromofor yang merubah warna pada media yang awalnya kuning transparan menjadi kuning keruh. Selain itu pengujian degradasi juga dilakukan dengan menghitung persentase selisih berat awal dan akhir pada sampel plastik yang telah diinokulasi isolat bakteri sehingga diperoleh hasil sampel plastik mengalami pengurangan berat dari berat awal. Menurut Zusfahair *et al* (2007) penurunan berat uji plastik oleh bakteri selama masa inkubasi disebabkan karena adanya enzim yang perlahan-lahan mengikis

permukaan polimer melalui proses hidrolisis sehingga terjadi kehilangan berat polimer dan penurunan persentase berat kering plastik uji.

Mekanisme terjadinya biodegradasi karena bakteri menempel pada permukaan plastik dan membentuk koloni sehingga terbentuknya biofilm yang kemudian memecah polimer kompleks plastik menjadi senyawa yang lebih sederhana (oligomer, dimer, dan monomer) dengan bantuan enzim intraseluler dan ekstraseluler depolimerase sehingga senyawa tersebut dengan mudah diangkut ke dalam sel bakteri sebagai sumber karbon dan energi. Enzim yang membantu proses biodegradasi di antaranya enzim cutinase dan lakase. Enzim cutinase bertindak menghidrolisis ikatan hidrokarbon pada berbagai jenis poliester, termasuk polioksietilena tereftalat. Enzim lakase dapat membantu dalam oksidasi ikatan hidrokarbon pada polietilen (Octavianda *et al.*, 2016).

**Tabel 4.1.** Hasil uji kemampuan isolat bakteri dalam degradasi mikroplastik

Kode Isolat	Berat Awal	Berat Akhir	Hasil Pengurangan	Persen Degradasi
BPM1	0,0300	0,0162	0,0138	46 %
BPM2	0,0294	0,0149	0,0145	49,3 %
BPM3	0,0294	0,0148	0,0146	49,6 %
BPM4	0,0291	0,0153	0,0138	47,4 %
BPM5	0,0287	0,0154	0,0133	46,3 %
BPM6	0,0297	0,0172	0,0172	42,08 %

Berdasarkan Tabel 4.1 didapatkan ke enam isolat memiliki aktivitas degradasi dengan persen degradasi yang berbeda-beda. Dimana isolat BPM3 memiliki nilai tertinggi sebesar 49,6% sedangkan isolat BPM6 persen terendah sebesar 42,08%. Isolat BPM3 merupakan nilai persen degradasi yang cukup tinggi dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Meiyerani (2022) dimana isolat yang diisolasi dari perairan Sungai Musi mendegradasi plastik sebesar 7,75% dengan menggunakan plastik fiber.

Perbedaan hasil uji biodegradasi plastik dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti karakteristik mikroorganisme, kelembapan pH, suhu dan juga substrat, dimana ukuran substrat yang lebih kecil serta senyawa penyusunnya lebih

sederhana menjadikan degradasi dapat berlangsung dengan cepat. Namun sebaliknya jika ukuran substrat lebih besar dan senyawa penyusunnya lebih kompleks membutuhkan waktu yang lebih lama untuk mendegradasinya (Islami 2013).

Pada penelitian ini menggunakan plastik jenis PE yang merupakan plastik atau polimer yang tersusun atas monomer etena ( $CH_2 = CH_2$ ). Sifat utama PE (polyethylene) adalah fleksibel, permukaannya licin, tidak tembus cahaya (buram) maupun ada juga yang tembus cahaya, dan titik lelehnya  $115^{\circ}C$  (Jusnita & Syafri, 2017). Dengan hal tersebut menjadikan seluruh isolat pada penelitian ini mampu melakukan aktivitas degradasi dalam waktu yang cepat.

### 4.3 Karakterisasi Morfologi

Berdasarkan pengamatan morfologi pada Tabel 4.2 ke enam isolat memiliki bentuk seperti benang, bulat dan tidak beraturan. Tepian rata, berlekuk, bergelombang. Ketinggian cembung dan datar. Sedangkan warna koloni ke enam isolat berwarna putih susu. Menurut (Holderman *et al.*, 2017) morfologi koloni bakteri perlu diamati untuk mempermudah dalam proses identifikasi bakteri karena sifat koloni bakteri dapat menentukan jenis bakteri tersebut.

**Tabel 4.2.** Hasil pengamatan karakterisasi morfologi isolat bakteri

Kode Isolat	Bentuk	Tepi	Ketinggian	Warna
BPM1	Bulat	Rata	Cembung	Putih Susu
BPM2	Seperti benang	Berlekuk	Cembung	Putih Susu
BPM3	Tidak beraturan	Bergelombang	Datar	Putih Susu
BPM4	Tidak beraturan	Bergelombang	Cembung	Putih Susu
BPM5	Bulat	Rata	Datar	Putih Susu
BPM6	Tidak beraturan	Meringkuk	Datar	Putih susu

### 4.4 Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram dilakukan untuk mempermudah dalam mengetahui bentuk sel dan jenis gram yang ditemukan. Bakteri gram positif diidentikan dengan berwarna ungu sedangkan gram negatif berwarna merah (Apriyanthi *et al.*, 2022).

**Tabel 4.3.** Hasil uji pewarnaan gram

Kode Isolat	Bentuk Sel	Jenis Gram
BPM1	Streptobasil	Negatif
BPM2	Streptococcus	Positif
BPM3	Coccus	Positif
BPM4	Streptobasil	Negatif
BPM5	Streptobasil	Positif
BPM6	Monobasil	Positif

Berdasarkan hasil pewarnaan gram Tabel 4.3 menunjukkan bahwa dua isolat adalah gram negatif dengan bentuk Streptobasil. Sedangkan empat isolat gram positif dengan bentuk sel berbeda-beda. Menurut Sarjono *et al* (2020) bakteri gram positif dan negatif memiliki perbedaan pada struktur dinding selnya, dimana pada sekelompok bakteri gram positif memiliki peptidoglikan yang tebal sehingga dapat mempertahankan zat pewarna kristal violet setelah dicuci menggunakan alkohol. Sedangkan bakteri gram negatif memiliki lipid yang tebal dibandingkan dengan peptidoglikan pada dinding selnya, sehingga tidak dapat mempertahankan zat warna kristal violet setelah dicuci dengan alkohol dan hanya menyerap warna terakhir yaitu safranin.

#### 4.5 Uji Biokimia

Uji biokimia dilakukan untuk mengidentifikasi dan karakterisasi bakteri berdasarkan kemampuan mikroba dalam menggunakan dan menguraikan molekul yang sederhana serta kompleks seperti karbohidrat, lemak, protein, asam nukleat (Handayani & Zulfiati, 2020). Uji biokimia yang dilakukan yaitu katalase, motilitas, TSIA, sitrat. Uji katalase bertujuan untuk mengidentifikasi bakteri dalam menghasilkan enzim katalase yang dapat menguraikan  $H_2O_2$  (hidrogen peroksida) yang bersifat toksik, menjadi  $H_2O$  (dihidrogen monoksida) dan  $O_2$  (oksigen) yang tidak bersifat toksik. Hasil positif ditandai dengan adanya gelembung-gelembung oksigen setelah ditetaskan dengan  $H_2O_2$  (Pulungan & Tumangger, 2018). Hasil yang diperoleh yaitu tiga isolat positif sedangkan tiga isolat lainnya negatif yang ditandai dengan tidak ada gelembung oksigen setelah ditetesi dengan larutan  $H_2O_2$ .

Uji motilitas adalah uji yang dilakukan untuk mengetahui bakteri dapat bersifat motil (bergerak) maupun non motil (tidak bergerak). Hasil positif ditandai dengan adanya persebaran disekitar tusukan, sedangkan hasil negatif hanya berupa garis dibekas tusukan (Yuka *et al.*, 2021). Menurut Ginting *et al* (2019) bakteri dapat bergerak karena adanya flagel yang merupakan salah satu struktur utama diluar sel bakteri yang menyebabkan terjadinya pergerakan atau motilitas pada sel bakteri, sehingga bakteri dapat menyebar ke berbagai arah pada media. Hasil yang didapat pada uji motilitas lima isolat positif (motil) sedangkan satu isolat yaitu BMP6 negatif (non motil) yang hanya berupa garis dibekas tusukan.

Uji TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*) dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memfermentasi glukosa, sukrosa dan laktosa yang terkandung pada media (Kosasi *et al.*, 2019). Pada uji TSIA warna kuning bagian atas dan bawah tabung bersifat asam/asam (**A/A**), menunjukkan terjadinya fermentasi glukosa, sukrosa dan laktosa. Warna merah pada bagian atas dan kuning pada bagian bawah tabung bersifat basa/asam (**K/A**) terjadinya fermentasi glukosa tetapi tidak laktosa dan sukrosa. Kuning bagian atas dan merah bagian bawah tabung bersifat asam/basa (**A/K**) terjadinya fermentasi laktosa dan sukrosa. Sedangkan warna merah pada bagian atas dan bawah tabung bersifat (**K/K**) menunjukkan glukosa, laktosa dan sukrosa tidak dapat difermentasi. Jika terjadinya pembentukan H<sub>2</sub>S maka dasar media akan berwarna hitam, namun jika terbentuk gas media akan terangkat (Nurhikmah, 2017). Hasil yang diperoleh pada pengujian TSIA bahwa seluruh isolat bersifat asam/basa (**A/K**) yang berarti terjadi fermentasi laktosa dan sukrosa. Seluruh isolat tidak dapat membentuk H<sub>2</sub>S, tetapi isolat BPM5 dan BPM6 dapat membentuk gas yang ditandai dengan media terangkat.

Uji Sitrat dilakukan untuk mengetahui apakah bakteri menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon yang ditandai dengan perubahan warna media menjadi biru (Lubis *et al.*, 2015). Menurut Husna *et al* (2018) bakteri yang menggunakan sitrat sebagai sumber karbon menyebabkan asam sitrat berkurang, sehingga pH meningkat dan berubah menjadi biru. Berdasarkan pengujian yang dilakukan seluruh isolat memperoleh hasil negatif yang ditandai dengan tidak berubahnya media menjadi biru.

Tabel 4.4. Hasil uji biokimia

Kode Isolat	Uji Biokimia	Genus
BPM1	Katalase : + Motilitas : + TSIA : A/K Gas : - H <sub>2</sub> S : - Sitrat : -	<i>Escherichia coli</i>
BPM2	Katalase : - Motilitas : + TSIA : A/K Gas : - H <sub>2</sub> S : - Sitrat : -	<i>Streptococcus</i>
BPM3	Katalase : - Motilitas : + TSIA : A/K Gas : - H <sub>2</sub> S : - Sitrat : -	<i>Micrococcus</i>
BPM4	Katalase : - Motilitas : + TSIA : A/K Gas : - H <sub>2</sub> S : - Sitrat : -	<i>Pseudomonas</i>
BPM5	Katalase : + Motilitas : + TSIA : A/K Gas : + H <sub>2</sub> S : - Sitrat : -	<i>Bacillus</i>
BPM6	Katalase : + Motilitas : - TSIA : A/K Gas : + H <sub>2</sub> S : - Sitrat : -	<i>Brevibacterium</i>

Keterangan :

(+) : Hasil uji bersifat positif

A/K : asam/basa

(-) : Hasil uji bersifat negatif

Berdasarkan hasil identifikasi dengan menggunakan buku *Bergey's Manual of Determinate Bacteriology 7<sup>th</sup> Edition*, maka diduga kuat isolat tersebut teridentifikasi sebagai genus *Escherichia coli*, *Streptococcus*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Brevibacterium*.

Isolat BPM1 teridentifikasi sebagai genus *Escherichia coli* dengan hasil yang didapatkan yaitu gram negatif dengan koloni berbentuk bulat berwarna putih susu, bentuk sel streptobasil dengan hasil uji biokimia katalase dan motilitas positif, terjadinya fermentasi laktosa dan sukrosa, tidak menghasilkan gas, H<sub>2</sub>S, serta sitrat negatif. Hasil yang diperoleh pada penelitian ini sesuai juga dengan penelitian yang dilakukan Ummamie *et al* (2017) bahwa bakteri *Escherichia coli* adalah bakteri gram negatif dengan hasil uji biokimia seperti motilitas positif dan sitrat negatif. Bakteri *Escherichia coli* diketahui memiliki kemampuan dalam mendegradasi plastik dengan menghasilkan enzim LC-Cutinase dalam jumlah banyak. LC-Cutinase yang dihasilkan dari ekspresi gen TfCut2. Enzim LC-Cutinase berfungsi dalam proses pemecahan asam lemak, pendegradasian PCL (Polycaprolactone), dan plastik jenis PET. Pemecahan molekul oleh LC-Cutinase dapat berlangsung secara pH 8,5 dan suhu 50°C (Sulaiman *et al.*, 2014).

Isolat BPM2 teridentifikasi sebagai genus *Streptococcus* dengan hasil yang diperoleh yaitu jenis gram positif dengan hasil uji biokimia yang diperoleh yaitu katalase, gas, H<sub>2</sub>S, sitrat negatif. Tetapi pada uji katalase positif serta terjadinya fermentasi laktosa dan sukrosa. Pada penelitian yang dilakukan oleh Pribadi *et al* (2020) dimana hasil yang didapatkan bahwa genus *Streptococcus* adalah bakteri gram positif dengan uji katalase negatif. *Streptococcus* diketahui memiliki kemampuan dalam mendegradasi plastik, hal ini dibuktikan oleh Filayani (2020) di dalam penelitiannya bahwa isolat dari *Streptococcus thermophilus* mampu mendegradasi plastik kresek putih yang berjenis polietilen dengan ukuran 6cm sebesar 19,47%. Dimana hasil tersebut lebih rendah dibandingkan dengan pada penelitian ini yang mana diperoleh hasil 49,3 %, perbedaan hasil tersebut dapat disebabkan karena adanya perbedaan spesies pada genus *Streptococcus*, selain itu faktor lainnya adalah substrat yang digunakan.

Isolat BPM3 teridentifikasi sebagai genus *Micrococcus* dengan hasil yang diperoleh yaitu termasuk kedalam bakteri gram positif coccus, koloni irregular berwarna putih susu dengan hasil uji katalase negatif, sitrat negatif, motilitas positif, tidak dapat menghasilkan gas dan H<sub>2</sub>S. Sipriyadi *et al* (2021) menyebutkan bahwa *Micrococcus* memiliki ciri-ciri koloni bakteri dengan bentuk irregular, elevasi convex, margin undulate, berwarna putih, beberapa bersifat motil, bentuk sel coccus dalam bentuk berpasangan hingga bentuk kelompok tak beraturan dalam rantai dan jenis gram positif. *Micrococcus* berpotensi dalam mendegradasi plastik yang dibuktikan oleh Putri (2022) di dalam penelitiannya ditemukan genus *Micrococcus* yang memiliki potensi mendegradasi mikroplastik di TPA Piyungan Bantul.

BPM4 teridentifikasi genus *Pseudomonas* dengan hasil yang didapatkan yaitu tergolong kedalam bakteri gram negatif dengan bentuk sel basil, koloni irregular, berwarna putih susu, bersifat motil, katalase, gas dan H<sub>2</sub>S negatif. Hasil yang didapat sesuai dengan penelitian yang dilakukan Aji & Lestari (2020) bahwa ciri *Pseudomonas* yang diperoleh yaitu gram negatif, berbentuk basil, bersifat motil. *Pseudomonas* mempunyai manfaat mendegradasi plastik, hal ini telah dibuktikan oleh Mardalisa *et al* (2021) di dalam penelitiannya ditemukan bakteri *Pseudomonas* yang diisolasi dari perairan laut Dumai pendegradasi plastik PET sebesar 17,27% dengan waktu degradasi 30 hari. Hasil tersebut memiliki nilai lebih rendah dibandingkan pada penelitian ini dimana didapatkan nilai sebesar 47,4 %. Perbedaan hasil dipengaruhi oleh substrat yang digunakan dimana plastik PET memiliki karakteristik kuat dan senyawa penyusunnya yang kompleks sehingga mengakibatkan waktu yang lebih lama untuk mendegradasi plastik. Menurut Trevino *et al* (2012) di dalam Erlambang *et al* (2019) *Pseudomonas* dapat menghasilkan enzim yang mampu mendegradasi plastik, yaitu serine hidrolase, esterase, dan lipase.

BPM5 merupakan genus dari *Bacillus* dengan hasil yang didapatkan yaitu gram positif, bentuk sel basil, koloni circular, berwarna putih susu, bersifat motil, katalase positif, menghasilkan gas, H<sub>2</sub>S dan sitrat negatif. Hatmanti (2000) menyebutkan bahwa *Bacillus* memiliki ciri gram positif, bentuk sel yang dapat

ditemukan di alam seperti tanah, air dan tanaman. *Bacillus* memiliki flagel untuk bergerak, katalase positif, aerob maupun anaerob, menghasilkan enzim ekstraseluler yang mampu menghidrolisis protein dan polisakarida kompleks pada beberapa jenis. Berdasarkan morfologinya *Bacillus* memiliki bentuk koloni dengan tepi koloni yang bervariasi namun umumnya tidak rata, memiliki ukuran yang beragam dan warna koloni putih hingga kekuningan. *Bacillus* mempunyai manfaat mendegradasi plastik, hal ini telah dibuktikan Marjayandari & Shovitri (2015) bahwa *Bacillus* mampu mendegradasi plastik berwarna hitam sebesar 8%, plastik putih sebesar 5% dan plastik transparan sebesar 7%. Hasil tersebut berbeda pada penelitian ini dimana hasil yang didapat sebesar 46,3 %, perbedaan tersebut diduga karena faktor substrat yang digunakan. Kemampuan bakteri *Bacillus* dalam mendegradasi plastik diketahui dapat berlangsung secara aerob atau anaerob dengan menggunakan enzim ekstraseluler serta intraseluler depolimerase

BPM6 teridentifikasi genus *Brevibacterium* dengan hasil yang diperoleh yaitu jenis gram positif, koloni irregular berwarna putih susu, menghasilkan enzim katalase, gas, non motil, H<sub>2</sub>S dan sitrat negatif. Penelitian yang dilakukan Rizki (2021) ciri *Brevibacterium* yang didapatkan seperti gram positif, katalase positif, non motil, koloni berwarna putih dengan bentuk irregular. *Brevibacterium* diketahui memiliki potensi dalam mendegradasi plastik, hal ini telah diuji oleh Hadad *et al* (2005) bahwa *Brevibacterium borstelensis* mampu mendegradasi plastik polietilena 11%. Hasil tersebut memiliki nilai yang lebih rendah dibandingkan pada penelitian ini, dimana hasil sebesar 42,08 %. Perbedaan hasil uji diduga terjadi karena faktor perbedaan spesies pada genus *Brevibacterium*. Sebagaimana yang dinyatakan oleh Glass dan Swift (1989) di dalam Wati (2020) bahwa bakteri memiliki karakteristik dalam memproduksi enzim intraseluler dan ekstraseluler yang membantu proses degradasi polimer, sehingga kemampuan dalam mendegradasi plastik dapat bervariasi antara satu dengan yang lainnya.