
Pemanfaatan *Pseudomonas Putida* untuk Mendegradasi Plastik

Tri Mulyaningsih*, **Susi Irvati, Sarto Sarto

* Departement of Environment Health

** Health Polytechnic Ministry of Health Yogyakarta

Article Info

Article history:

Received Jan 24th, 2021

Revised April 20th, 2021

Accepted Jun 02nd, 2021

Keyword:

Biodegradation

Waste plastics

Pseudomonas putida

ABSTRACT / ABSTRAK

Purpose: to identify and analyze the ability of *Pseudomonas sp* for plastic waste degradation. **Method:** This study was a quasi-experimental design with post-test only with control design, using local *Pseudomonas sp* isolated from Piyungan landfill. Fertilizer media used BHI and selective medium for *Pseudomonas Sp* namely Cetrimide agar, and characterized by a series of microbact 24E kitta. Isolate selected was suspended with concentration 10^6 CFU/ml, 10^7 CFU/ml, and 10^8 CFU /ml. Furthermore, distributed with volume of 10 ml suspension into each container that containing liquid of standard medium of Basal Salt and plastic (plastic black and white), with control negative (without the addition of bacteria). The incubation time for the plastic to degrade was 49 days at a temperature of 37°C, with periodic harvesting plastic every 7 days. Determination of degradation products was based on the percentage of weight loss plastic after treatment. The data analysis used anova and paired t-test to determine differences in treatment and control. **Results:** Results of this research showed that there were significant differences between the addition of *Pseudomonas putida* into media containing plastic compared to control, according to percentage of degradation. The percentage of degradation of the white plastic in the 49 days reached 3.29%, with a dose response of 10^8 CFU /100mg plastic while the black plastic was degraded with the percentage of degradation reached 4.7%, with a dose response of 10^7 CFU /100mg black plastic. **Conclusion:** *Pseudomonas putida* can degrade the plastic black or white. Percentage degradation of black plastic is greater, faster, and lower Dose response *Pseudomonas putida* than white plastic.

Copyright © Jurnal Teknologi Kesehatan (Journal of Health Technology).
All rights reserved.

Corresponding Author:

Tri Mulyaningsih

Departement of Environment Health

Health Polytechnic Ministry of Health Yogyakarta

1. PENDAHULUAN

Pertumbuhan ekonomi dan perubahan pola konsumsi maupun produksi yang dihasilkan menyebabkan peningkatan yang sangat pesat dalam generasi timbunan limbah plastik di dunia. Konsumsi tahunan bahan plastik dunia telah meningkat dari sekitar 5 juta ton pada tahun 1950 menjadi hampir 100 juta ton saat ini. Menurut data Badan Pusat Statistik (2011), produksi sampah plastik di Indonesia sebesar 5,4 juta ton/tahun¹.

Sampah plastik sangat potensial mencemari lingkungan karena plastik merupakan bahan yang sulit terdegradasi dan dibutuhkan ribuan tahun untuk dapat terurai di lingkungan alamiah, sehingga banyaknya sampah plastik dapat berpengaruh pada kesehatan manusia / masyarakat dan lingkungan. Hal ini disebabkan karena cara pemusnahan sampah plastik yang sering dilakukan oleh masyarakat adalah dibakar. Berbagai bahan plastik mengandung jenis klor, jika dibakar atau terbakar akan menghasilkan senyawa yang bersifat persisten yaitu senyawa yang resisten (tahan) terhadap degradasi fisik maupun metabolik, seperti dioksin dan furan. Penanganan sampah plastik lainnya adalah hanya dibiarkan terkumpul di suatu tempat (*open dumping*) yang dapat mengakibatkan lingkungan menjadi tercemar, tanah tidak subur yang selanjutnya akan terjadi krisis penyediaan pangan².

Mengingat begitu besar potensi bahaya sampah plastik, maka diperlukan manajemen pengelolaan sampah yang baik. Metode 3R (*Reuse, Reduce, Recycle*) sangat penting dan baik, namun belum secara signifikan mampu mengurangi volume sampah terbuang ke TPA. Teknik biodegradasi dengan memanfaatkan potensi bakteri untuk mendegradasi sampah plastik dipandang sebagai salah satu alternatif yang ramah lingkungan dan murah.

1. METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan jenis penelitian quasi eksperimen dengan rancangan *post test only with control design*, berskala laboratorium dengan melakukan percobaan pemanfaatan bahan alami mikroba tanah (*Pseudomonas putida*) untuk mengetahui seberapa efektif kemampuan mikroba tersebut dalam mendegradasi sampah plastik.

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta dan Laboratorium Mikrobiologi Poltekkes Kemenkes Yogyakarta. Obyek penelitian ini adalah sampah kantong plastik warna hitam, kantong plastik warna putih dan bakteri *Pseudomonas putida* dari hasil isolasi tanah tercemar plastik di Tempat Pembuangan Akhir Sampah (TPAS) Piyungan, Bantul, Yogyakarta.

Data yang diperoleh dari penelitian ini dianalisis secara deskriptif untuk menggambarkan perbedaan keadaan sampah plastik dalam media SBS cair tanpa penambahan bakteri *Pseudomonas putida* (kontrol), dengan sampah plastik dalam media SBS cair yang ditambah bakteri *Pseudomonas putida* (perlakuan). Untuk menguji secara statistik adanya perbedaan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan dilakukan T-test dengan tingkat kepercayaan 95%, dengan α 0,05. Analisis anova digunakan untuk mengetahui pengaruh masing masing variable independent (dosis penambahan kultur *Pseudomonas putida* dan jenis plastik hitam dan putih) terhadap variable dependent (persentase kehilangan bobot plastik terdegradasi).

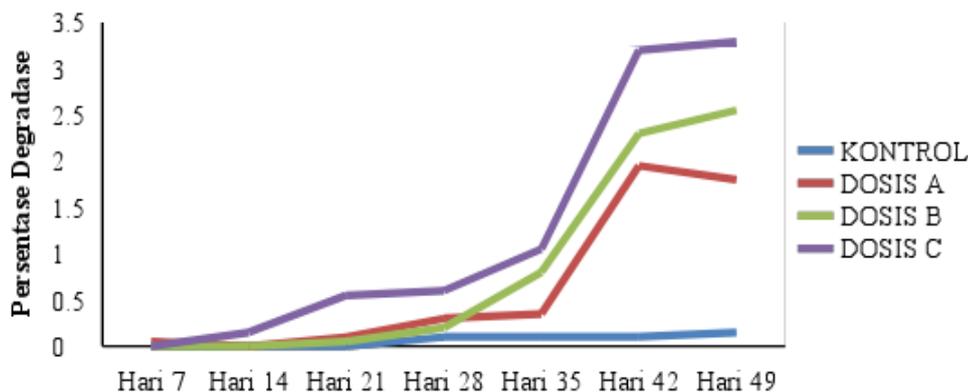
Penelitian ini telah mendapat persetujuan penelitian (*Ethical Clearance*) oleh komisi etik Fakultas Kedokteran UGM Yogyakarta Nomor KE/FK/565/EC/2015.

2. HASIL DAN PEMBAHASAN

Beberapa isolat yang diduga sebagai *Pseudomonas putida* setelah dilakukan tes penegasan/karakterisasi dengan teknik *microbact kit* diperoleh isolat *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Xenorhabdus luminescens*. Uji degradasi pendahuluan untuk mengetahui kemampuan degradasi plastik dari ketiga isolat tersebut dilakukan selama 30 hari. Hasilnya diketahui bahwa *Pseudomonas putida* memberikan persentase degradasi tertinggi yaitu 1,7% dibandingkan *Pseudomonas aeruginosa* (1,2%) dan *Xenorhabdus luminescens* (0,4%). Bakteri *Pseudomonas putida* selanjutnya dikembangkan /diperbanyak untuk bahan suspensi bakteri yang akan digunakan dalam uji degradasi plastik hitam dan atau putih.

Degradasi Plastik putih

Persentase degradasi plastik putih pada berbagai dosis terlihat berbeda antara kelompok kontrol dan perlakuan seperti ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Grafik persentase degradasi plastik putih

Hasil analisis ANOVA terhadap berat akhir plastik menunjukkan perbedaan yang bermakna di semua kelompok perlakuan ($p=0,003$). Analisis dilanjutkan dengan uji *post hoc* menggunakan *post hoc bonferroni* untuk mengetahui letak perbedaan diantara kelompok perlakuan tersebut. Hasil analisis menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Namun, pada kelompok antar perlakuan, pada perlakuan dengan dosis 10^7 CFU/100mg, penurunannya tidak berbeda secara bermakna ($p>0,05$), (Tabel 1). Hal ini menunjukkan bahwa secara keseluruhan berat awal plastik pada setiap kelompok adalah sama sedangkan berat akhir berbeda, sehingga selisih antara berat awal dan berat akhir dapat dijustifikasi sebagai hasil pengaruh dari perlakuan yang diberikan.

Tabel 1. Berat Plastik Putih Sebelum dan Sesudah Perlakuan

Kelompok	Jenis Plastik Putih		Persen Delta ²⁾
	Berat Awal (mgram)	Berat Akhir (mgram)	
Kontrol	99.95±0.07	99.80±0 ^a	0.15
Dosis 10^7 CFU/100mg	100.05±0.07	98.25±0.636 ^b	1.8
Dosis 10^8 CFU/100mg	100.05±0.212	97.5±0 ^b	2.55
Dosis 10^9 CFU/100mg	100.3±0.141	97±0 ^b	3.29
Sig (p) ¹⁾	0.21	0.003	

Keterangan:

Data dinyatakan dalam Mean ± SD, nilai signifikansi $p<0,05$

¹⁾ Hasil analisis *one way anova* antar kelompok perlakuan dalam kolom yang sama

²⁾ Persen Selisih antara rata-rata berat awal dan berat akhir

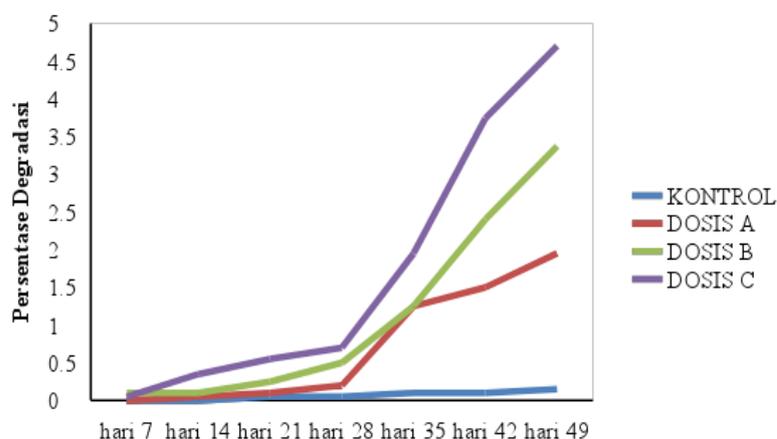
³⁾ Hasil analisis *Paired T test* dalam baris yang sama

a,b,c,d,dan *) notasi berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan nyata.

Analisis *Paired t-test* bertujuan untuk mengetahui perubahan berat plastik setelah diberi perlakuan. Hasil perhitungan yang dilakukan sebelum dan sesudah perlakuan menunjukkan tidak terjadi penurunan berat plastik yang bermakna pada kelompok kontrol ($p=0,02$) dan kelompok perlakuan dosis 10^7 CFU/100mg ($p=0,13$), tetapi terjadi penurunan berat plastik yang bermakna pada kelompok perlakuan dosis 10^8 CFU/100mg dan dosis 10^9 CFU/100mg ($p<0,05$). Selisih penurunan berat plastik paling tinggi terletak pada kelompok perlakuan dengan pemberian dosis 10^9 CFU/100mg plastik yakni sebesar 3,29%.

Degradasi Plastik Hitam

Persentase degradasi pada kelompok perlakuan plastik hitam juga menunjukkan peningkatan seiring bertambahnya dosis bakteri yang dipakai. Gambar 2 berikut ini menunjukkan perbedaan persentase degradasi plastik hitam.



Gambar 2. Persentase degradasi plastik hitam

Hasil analisis ANOVA terhadap berat akhir plastik hitam menunjukkan perbedaan yang bermakna di semua kelompok perlakuan ($p=0,00$). Selanjutnya analisis dengan uji *post hoc* menggunakan *post hoc bonferroni* untuk mengetahui letak perbedaan diantara kelompok perlakuan tersebut. Hasil analisis menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan, (Tabel 2).

Tabel 2. Berat Plastik Hitam Sebelum dan Sesudah Perlakuan

Kelompok	Jenis Plastik Hitam			Sig (p) ³⁾
	Berat Awal (gram)	Berat Akhir (gram)	Persen Delta ²⁾	
Kontrol	100.05 ±0.070	99.90±0a	0.15	0.2048
Dosis 10 ⁷ CFU/100mg	99.90 ±0	97.95±0.070b	1.95	0.0163*
Dosis 10 ⁸ CFU/100mg	100.1 ±0.141	96.72±0.106c	3.37	0.0047*
Dosis 10 ⁹ CFU/100mg	100 ±0.141	95.30±0d	4.47	0.0135*
Sig (p) ¹⁾	0.3907	0.0000		

Keterangan:

Data dinyatakan dalam mean±SD, nilai signifikansi $p<0,05$

1) Hasil analisis *one way Anova* antar kelompok perlakuan dalam kolom yang sama

2) Persen Selisih antara rata-rata berat awal dan berat akhir

3) Hasil analisis *Paired T test* dalam baris yang sama

a,b,c,d,edan *) notasi berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan nyata.

Hasil *paired t-test* menunjukkan tidak terjadi penurunan berat plastik yang bermakna pada kelompok kontrol, tetapi terjadi penurunan berat plastik yang bermakna pada kelompok perlakuan ($p<0,05$). Selisih penurunan paling rendah terletak pada kelompok kontrol. Penurunan ini tidak bermakna secara statistik sehingga dapat dijadikan sebagai kelompok pembandingan. Selisih penurunan berat plastik paling tinggi terletak pada kelompok dosis 10⁹CFU/100mg yakni sebesar 4.7%. Hasil degradasi jenis plastik hitam menunjukkan adanya *dose respond*. Pada dosis terendah yaitu 10⁷CFU/100mg telah dapat mendegradasi plastik hitam sebesar 1.95% ($p=0,01$). Pada dosis 10⁸CFU/100mg diperoleh persentase degradasi 3,37%

Sampah di TPA diharapkan dapat terurai secara alamiah, namun hal ini tidak memungkinkan karena laju pertumbuhan sampah tidak sebanding dengan laju peruaiannya. Salah satu intervensi yang dapat dilakukan adalah dengan memanfaatkan mikroba tanah yang mampu mendegradasi sampah tersebut terutama sampah plastik. Tanah TPA merupakan gudang mikroba pengurai sampah.

Mekanisme degradasi oleh mikroba terjadi akibat adanya dua jenis enzim yang terlibat dalam biodegradasi polimer yaitu: enzim intraseluler dan depolymerase ekstraseluler. Selama degradasi exoenzymes atau ekstraseluler depolymerase dari mikroorganisme mengkonversi polimer menjadi molekul yang memiliki rantai lebih pendek. Ini merupakan molekul monomer, dimer atau oligomer yang cukup kecil yang mampu melewati membran sel bakteri semi berpori, kemudian dimanfaatkan oleh bakteri sebagai sumber karbon dan energi. Proses ini disebut sebagai depolymerisation dimana menghasilkan produk akhir berupa air, karbon dioksida atau metana disebut mineralisasi³.

Penelitian terdahulu telah melaporkan bahwa bakteri yang mempunyai kemampuan mendegradasi bahan plastik adalah: *Pseudomonas spp*, *Streptococcus spp*, *Micrococcus spp*, *Moxarella spp*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliticus*, dan *Arthrobacter devluvii Arthrobactersp*⁴. *Pseudomonas putida*⁵. *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC

15729), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15692), *Pseudomonas putida* (KT2440 ATCC47054), *Pseudomonas syringae*⁶, *Pseudomonas sp.* dan *Arthrobacter sp*⁷, serta penelitian Kathiresan (2003) menemukan *Pseudomonas sp*. Dari beberapa bakteri yang telah ditemukan tersebut, *Pseudomonas sp* adalah jenis yang sering ditemukan⁸.

Isolat bakteri dari sampah plastik dan tanah TPA Piyungan yang diduga mampu mendegradasi plastik ditemukan jenis *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Zenorhabdus luminescens*. *Pseudomonas putida* dipilih sebagai isolat yang digunakan dalam uji degradasi plastik hitam dan putih karena persentase degradasi yang dihasilkan paling besar dari yang lainnya.

Hasil persentase degradasi plastik baik putih maupun hitam oleh *Pseudomonas putida* dalam penelitian ini lebih rendah dibandingkan dengan hasil penelitian Kyaw et al.⁶. Isolasi dan karakterisasi *Pseudomonas sp* dalam penelitian ini hanya sampai pada tingkat species saja, tidak diketahui strainnya. Sedangkan pada penelitian Kyaw, bakteri yang digunakan adalah stok kultur yang diketahui sampai tingkat strainnya. Species bakteri yang sama tetapi strain berbeda dapat memberikan hasil persentase degradasi yang berbeda pula⁶.

Hal ini selaras dengan hasil penelitian Saminathan et al., yang menunjukkan bahwa 4 strain bakteri yang berbeda yang diisolasi dari tanah kebun yang mirip dengan strain standart *Pseudomonas putida* MTCC2475, memberikan persentase kehilangan berat kering pada kantong plastik berkisar antara 30%-40%⁵.

Persentase degradasi plastik putih pada berbagai varian dosis rata rata lebih rendah daripada plastik hitam, dimana persentase degradasi pada dosis tertinggi dalam waktu 49 hari untuk plastik putih sebesar 3,29% dan plastik hitam 4,7%. Hasil ini tidak sesuai dengan penelitian Fadlilah dan Shovitri bahwa persentase degradasi plastik putih sebesar 7% dan plastik hitam 4 % dalam waktu 2 bulan⁹. Namun hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian Ainiyah & Shovitri, bahwa persentase degradasi per bulan pada jenis plastik hitam sebesar 1,87%, sedangkan plastik putih sebesar 1%¹⁰. Bahan baku plastik hitam mengandung campuran biji plastik daur ulang, dimana telah melalui proses pemotongan dan pemanasan (fotooksidasi) baik saat di penampungan, distribusi maupun proses daur ulang i, sehingga memungkinkan polimer telah mengalami kerusakan seperti mudah retak/robek. Bahan plastik yang mudah retak memudahkan bakteri untuk mendegradasinya. Dosis respon dalam degradasi plastik putih adalah 10⁸ CFU/100 mg plastik, dan plastik hitam dosis responnya 10⁷CFU/100mg plastik hitam.

Pemanfaatan bakteri *Pseudomonas sp* untuk mendegradasi plastik pada penelitian ini meskipun telah teruji secara signifikan mampu merombak plastik tetapi hasilnya masih sangat rendah, begitu pula dengan bakteri bakteri lainnya. Biodegradasi diketahui tidak hanya melibatkan satu spesies saja namun kerjasama antar spesies maupun mikroba lainnya (jamur dan kapang) dalam suatu konsorsium. Penggabungan potensi dari beberapa isolat yang telah terbukti mampu mendegradasi plastik dimungkinkan akan lebih efisien dan efektif dalam proses biodegradasi. Penelitian lebih lanjut tentang kemampuan konsorsium bakteri pendegradasi plastik sangat diperlukan guna mengatasi permasalahan persampahan khususnya sampah plastik.

3. KESIMPULAN

Kesimpulan penelitian ini adalah bakteri *Pseudomonas putida* mampu mendegradasi plastik putih maupun hitam, Jenis plastik yang berbeda mempengaruhi persentase degradasinya, yaitu 3,36% untuk plastik putih dan 4,7 % pada plastik hitam dalam waktu 49 hari. Persentase degradasi juga dipengaruhi oleh dosis bakteri, dosis respon degradasi plastik putih sebesar 10⁸CFU/100mg plastik dan dosis respon plastik hitam 10⁷CFU/100mg plastik.

Meskipun *Pseudomonas putida* diketahui mampu mendegradasi plastik namun hasil persentase degradasinya masih sangat rendah, maka dibutuhkan penelitian lebih lanjut dengan memperhatikan kondisi pertumbuhan bakteri yaitu optimasi pH, suhu, dan kebutuhan nutrisinya secara seimbang.

DAFTAR PUSTAKA

1. Statistik, B. P. *BPS Data Sensus Penduduk Indonesia*. (2011).
2. Warlina, L., Noor, E., Fauzi, A., Tarumingkeng, R.C., Sutjahjo, H. . Kebijakan Manajemen Lingkungan untuk Emisi Dioksin/Furan yang Bersumber dari Industry Logam. *J. Organ. dan Manaj.* **4(2)**, 63–72 (2008).
3. Muthukumar, A & Veerappilai, S. Biodegradation of Plastic-A Brief Review. *Int J. Pharm. Sci. Rev. Res.* **31(2)**, 204–209 (2015).
4. Prabhat, S., Bhattacharya, S., Vishal, V., Kalyan, R.K., Vijai, K., Pandey, K.N., Singh, M. Studies on Isolation and Identification of Active Microorganisms during Degradation of Polyethylene/Starch Film. *Int. Res. J. Environ. Sci.* **2(9)**, 83–85 (2013).
5. Saminathan, P., Sripriya, A., Nalini, K., Sivakumar, T., Thangapandian, V. Biodegradation of Plastics by *Pseudomonas putida* Isolated from Garden Soil Samples. *J. Adv. Bot. Zool.* **1(3)**, (2014).
6. Kyaw B.M., Champakalaksmi, R., Sakhakar, M.K., Lim, C.S., Sakhakar, K. R. Biodegradation of Low Density Polythene (LDPE) by *Pseudomonas* Species. *Indian J Microbiol* **52(3)**, 411–419 (2012).
7. Balasubramanian, V., Natarajan, K., Hemambika, B., Rames, N., Sumathi, C.S., Kottaimuthu, R., Kannan, V. R. High-density polyethylene (HDPE)-degrading potential bacteria from marine ecosystem of Gulf of Mannar, India. *Lett. Appl. Microbiol.* (2010).

8. Kathiresan, K. Polyethylena and Plastics Degrading Microbes from the Mangrove Soil. *Rev. Biol. Trop.* **51(3)**, 629–634 (2003).
9. Fadlilah, F.R dan Shovitri, M. Potensi Isolat Bakteri Bacillus dalam Mendegradasi Plastik dengan Metode Kolom Winogradsky. *J. Tek. Pomits* **3(2)**, 40–43 (2014).
10. Ainiyah, D.N dan Shovitri, M. Bakteri Tanah Sampah Pendegradasi Plastik dalam Kolom Winogradsky. *J. Tek. Pomits* **3(2)**, 63–66 (2014).