



POTENSI BAKTERI *Bacillus subtilis* SEBAGAI AGEN BIODEGRADASI

LIMBAH STYROFOAM

Dinda Maisyaroh, Program Studi Biologi, Universitas Islam Negeri Sumatera Utara, Indonesia
Ulfayani Mayasari, Program Studi Biologi, Universitas Islam Negeri Sumatera Utara, Indonesia
Rizki Amelia Nasution, Program Studi Biologi, Universitas Islam Negeri Sumatera Utara, Indonesia
*Corresponding author E-mail: dindamai2505@gmail.com

Abstract

Styrofoam is a type of polystyrene plastic polymer that has long, repeating chains. The accumulation of styrofoam waste causes environmental pollution. The solution that can be applied to this problem is to utilize microorganisms through a biodegradation process. The aim of this research is to determine the ability of *Bacillus subtilis* bacteria to degrade styrofoam. The biodegradability test was carried out on MSM media by adding pieces of styrofoam and incubating using an incubator shaker at a speed of 50 rpm for 40 days at room temperature, with checking intervals of 10 days, 20 days, 30 days and 40 days. Each treatment was carried out in repetition four times. The biodegradation ability test showed that the *Bacillus subtilis* bacterial isolate had the ability to degrade styrofoam waste with incubation time intervals of 10, 20, 30 and 40 days resulting in a weight loss percentage of 11%, 22%, 32% and 53% and no change in strain. The test results showed that there was a small change in the ability of *Bacillus subtilis* bacterial isolates to degrade styrofoam waste.

Keywords: *Biodegradation, Styrofoam, Bacillus subtilis*

Abstrak

Styrofoam merupakan polimer plastik jenis polistirena yang memiliki rantai panjang dan berulang. Penumpukan sampah Styrofoam yang terakumulasi menyebabkan pencemaran pada lingkungan. Solusi yang dapat diterapkan dalam permasalahan ini ialah dengan memanfaatkan mikroorganisme melalui proses biodegradasi. Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui kemampuan bakteri *Bacillus subtilis* dalam mendegradasi styrofoam. Uji kemampuan biodegradasi dilakukan pada media MSM dengan menambahkan potongan Styrofoam dan di inkubasi menggunakan inkubator shaker dengan kecepatan 50 rpm selama 40 hari pada suhu ruang, dengan interval waktu pengecekan 10 hari, 20 hari, 30 hari dan 40 hari. Setiap perlakuan dilakukan dengan pengulangan sebanyak empat kali. Uji kemampuan biodegradasi menunjukkan bahwa isolat bakteri *Bacillus subtilis* memiliki kemampuan dalam mendegradasi limbah styrofoam dengan interval waktu inkubasi 10, 20, 30 dan 40 hari menghasilkan persentase kehilangan berat sebesar 11%, 22%, 32% dan 53% dan tidak terjadi perubahan regangan. Hasil uji menunjukkan bahwa terjadi perubahan kecil pada kemampuan isolat bakteri *Bacillus subtilis* dalam mendegradasi limbah styrofoam.

Kata Kunci: *Biodegradasi, Styrofoam, Bacillus subtilis*

PENDAHULUAN

Styrofoam adalah salah satu plastik berjenis polistirena yang biasanya digunakan oleh seluruh masyarakat karena memiliki fungsi yang bermacam, seperti styrofoam digunakan sebagai wadah makanan. Karena fungsinya yang praktis dan dapat ditemukan dari toko kelontong dengan mudah dan murah maka styrofoam dijadikan sebagai wadah makanan alternatif yang paling sering digunakan oleh pedagang makanan (Jumadewi, 2019).

Banyak keunggulan yang dihasilkan dari wadah styrofoam yang menjadikan wadah tersebut merupakan salah satu limbah yang paling banyak dihasilkan oleh masyarakat yang dapat menimbulkan bertumpuk-tumpuk sampah styrofoam di lingkungan. Dengan adanya banyak limbah styrofoam sehingga hingga limbah tersebut bisa mencemari tanah. Meskipun udara dengan bahan kimia yang terdapat di dalam limbah styrofoam. Styrofoam memiliki kandungan senyawa dari turunan senyawa benzena yaitu stirena, senyawa inilah yang dapat memberikan dampak terhadap pencemaran di lingkungan seperti pencemaran tanah maupun makhluk hidup tanah (Wirahadi, 2017).

Limbah styrofoam yang banyak menumpuk di lingkungan seharusnya diperlukan metode yang sangat tepat untuk mengurangi limbah styrofoam tersebut dengan mempertimbangkan aspek-aspek yang berlaku agar meminimalisir dampak negatif yang dapat merusak kelestarian lingkungan. Salah satu cara untuk mengurangi limbah styrofoam adalah dengan dilakukannya proses biodegradasi menggunakan agen penguraian yang berasal dari mikroorganisme (Marjayandari & Shovitri, 2015).

Cara yang digunakan untuk menguraikan dari limbah styrofoam adalah biodegradasi. Biodegradasi ini merupakan proses dari penguraian maupun pemecahan dari bahan organik maupun non organik dengan adanya mikroorganisme yaitu bakteri dan jamur.

Mikroba ini dapat menurunkan unit terkecil yang ada di dalam polimer styrofoam dalam bentuk oligomer atau monomer selanjutnya dimineralisasi dan dapat diserap serta didegradasi di dalam sel mikroba. Proses dari biodegradasi ini akan menghasilkan bentukan formasi biofilm pada polimer (Sriningsih & Shovitri, 2015). Dengan memanfaatkan bakteri indegenus yaitu berasal dari genus *Bacillus* yang dapat mendegradasi polimer limbah plastik. *Bacillus subtilis*. merupakan bakteri yang asalnya dari tanah serta cukup baik dalam mendegradasi bahan organik maupun anorganik, pada genus ini dapat digunakan bakteri spesies *Bacillus subtilis* sebagai mikroorganisme pengurai limbah styrofoam.

Marjayandari & Shovitri (2015) Pada penelitiannya menyatakan bahwa *Bacillus subtilis* dengan mudah akan tumbuh subur pada media yang digunakan pada proses degradasi sehingga bisa menguraikan plastik uji. Dengan masa inkubasi 3 bulan, inokulum *Bacillus subtilis*. dapat menghasilkan nilai persentase kehilangan berat sebesar 8% untuk plastik hitam, plastik bening 7%, dan plastik putih 5%. Pertumbuhan dari *Bacillus subtilis*. dari senyawa biofilm yang dihasilkan pada plastik bening, putih dan hitam sebesar 0,025; 0,050 dan 0,022 serta pada kolom air sebesar 0,110; 0,023 dan 0,070.

Rowe dan Gray (2002) pada penelitiannya menyatakan bahwa *Bacillus subtilis* bisa memecahkan senyawa polyurethane pada plastik yang dibantu oleh enzim polyurethanase. *Bacillus subtilis* akan bereaksi pada polimer plastik melalui bantuan enzim medium cair impranil DLN yang nantinya warna medium akan berubah warna dari putih susu menjadi warna kuning setelah masa inkubasi selama 7 hari dengan suhu 37 derajat celcius. Permukaan sel *Bacillus subtilis* akan ditemukan akumulasi polyurethane yang menunjukkan bahwa bakteri tersebut bisa hidup di media degradasi pada medium impranil DLN. Pada pengujian infrared spektroskopi ditemukan gugus ester C(O)-O

pada polyurethane plastik yang terpotong sebesar 1730/cm setelah 7 hari masa inkubasi. Dari beberapa penelitian sebelumnya pada degradasi plastik oleh bakteri indegenus, telah dibuktikan bahwa potensi dari bakteri jenis *Bacillus* ini dapat mendegradasi ikatan rantai polimer plastik.

Berdasarkan penjelasan latar belakang di atas penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri *Bacillus subtilis* dalam mendegradasi styrofoam, sehingga untuk kedepannya dapat digunakan sebagai bahan rujukan dalam pengurangan limbah styrofoam yang berada di lingkungan.

METODE

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Juni-Juli 2023 selama 40 hari. Penelitian bertempat di laboratorium mikrobiologi fakultas MIPA Universitas Sumatera Utara. Pengambilan sampel limbah styrofoam dilakukan di tempat pembuangan sampah lingkungan Perumahan Desa Tuntungan Kecamatan Pancur Batu.

Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu neraca analitik, laminar air flow, inkubator, oven autoklaf string hot plate tabung reaksi, beker glass Erlenmeyer gelas ukur, cawan petri, spreader, bunsen, pinset, vortex, pipet tetes, mikropipet, objek glass, cover glass, mikroskop binokuler, gunting, penggaris, botol kaca, limbah styrofoam, Isolat murni bakteri *Bacillus subtilis*, media NA, medium NB, media MSM, alkohol 70%, etanol 96%, larutan iodine, larutan kristal violet, pewarna safranin, larutan H₂O₂, aquades, aluminium foil, plastik wrap, tisu.

PROSEDUR KERJA

Persiapan Styrofoam Uji

Styrofoam dipotong Pada ukuran 1x1 cm, selanjutnya disterilisasi pada alkohol 70% dengan cara direndam selama 30 menit dan dikeringkan selama 30 menit di sinar UV pada LAF, Selanjutnya di oven dengan suhu 80 derajat Celcius dalam waktu 24 jam. Kemudian styrofoam ditimbang dengan neraca analitik balance pada kondisi steril sebagai berat kering awal.

Peremajaan Isolat Bakteri Uji

Isolat bakteri uji menggunakan isolator *Bacillus subtilis*. Dilakukan peremajaan isolasi bakteri uji pada beberapa tahap. Subkultur 1 adalah 1 ose kultur murni isolat lalu diinokulasi pada medium NA selanjutnya diinkubasi selama 24 jam. Subkultur 2 menggunakan 1 ose dari subkultur 1 kemudian di inokulasi ke dalam 10 ml medium NB kemudian diinkubasi selama 24 jam. Subkultur 3 menggunakan 2,5 ml subkultur 2, kemudian di inokulasi ke dalam 25 ml medium NB Kemudian diinkubasi selama 24 jam. Subkultur 4 diambil 5 ml subkultur 3 lalu di inokulasi ke 50 ml medium NB. Subkultur 5 diambil 10 ml subkultur 4 kemudian di inokulasi ke dalam 100 ml medium NB.

Biodegradasi Limbah Styrofoam

Potongan dari limbah styrofoam dengan ukuran 1x1 cm yang sudah steril dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer 100 ml yang sudah berisi 25 ml media MSM Yang sebelumnya sudah ditambahkan glukosa. Selanjutnya Erlenmeyer disterilkan menggunakan autoklaf, sebanyak 1 ml suspensi bakteri diinokulasi pada masing-masing labu Erlenmeyer. Kemudian Erlenmeyer permukaannya ditutup dengan aluminium foil dan dilapisi plastik wrap, lalu diinkubasi selama 40 hari dan interval waktu inkubasi pada pengamatan 10 hari, 20 hari, 30 hari dan 40 hari.

Persentase Kehilangan Berat Kering

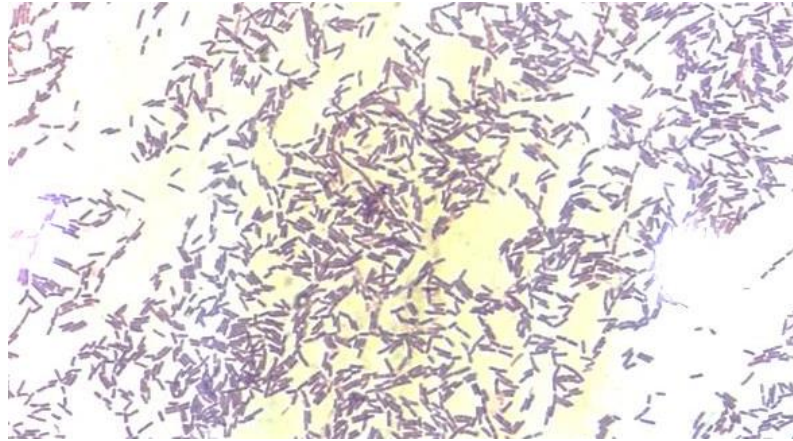
Ketika masa inkubasi formasi biofilm pada sampel akan terbentuk, biofilm yang terbentuk dipisahkan kedalam tabung reaksi. Potongan limbah styrofoam yang terdapat didalam erlenmeyer dipindahkan kedalam tabung reaksi yang berisi 13 mL aquades menggunakan pinset steril. Selanjutnya dilakukan penghomogenan menggunakan vortex selama 1 menit. Selanjutnya potongan limbah *styrofoam* yang sudah terpisah dari biofilm di letakkan kedalam cawan petri dan dikeringkan dengan cara di oven selama \pm 1 jam. Lalu sampel potongan styrofoam yang telah kering di timbang untuk mengetahui berat akhirnya dan dilakukan pengukuran panjang regangan akhir. Berikut rumus persentase kehilangan berat plastik, dengan W_i

adalah berat kering awal sebelum degradasi (g) dan Wf adalah berat kering akhir plastik setelah degradasi (g)(Rohaeti, 2009).

$$\% \text{Kehilangan berat} = \frac{W_i - W_f}{W_i} \times 100\%$$

Besar Regangan

$$= \frac{\text{Panjang Akhir Styrofoam} - \text{Panjang Awal Styrofoam}}{\text{Panjang Awal Styrofoam}}$$



Gambar 1. Penampang Mikroskopis Isolat *Bacillus subtilis* perbesaran 100x

Diketahui bahwa bakteri *Bacillus subtilis* jenis bakteri gram positif, berbentuk basil, dapat membentuk endospora berbentuk oval di bagian sentral dengan karakteristik hidup secara heterotrof, aerob atau anaerob fakultatif (Jawetz *et al.*, 2005).

Biodegradasi Plastik

Uji biodegradasi limbah styrofoam menggunakan media MSM yang memiliki kadar glukosa sedikit. Hal tersebut dengan tujuan untuk melihat ketahanan bakteri dalam memecahkan senyawa yang ada di dalam styrofoam menjadi sumber karbon akibat dari

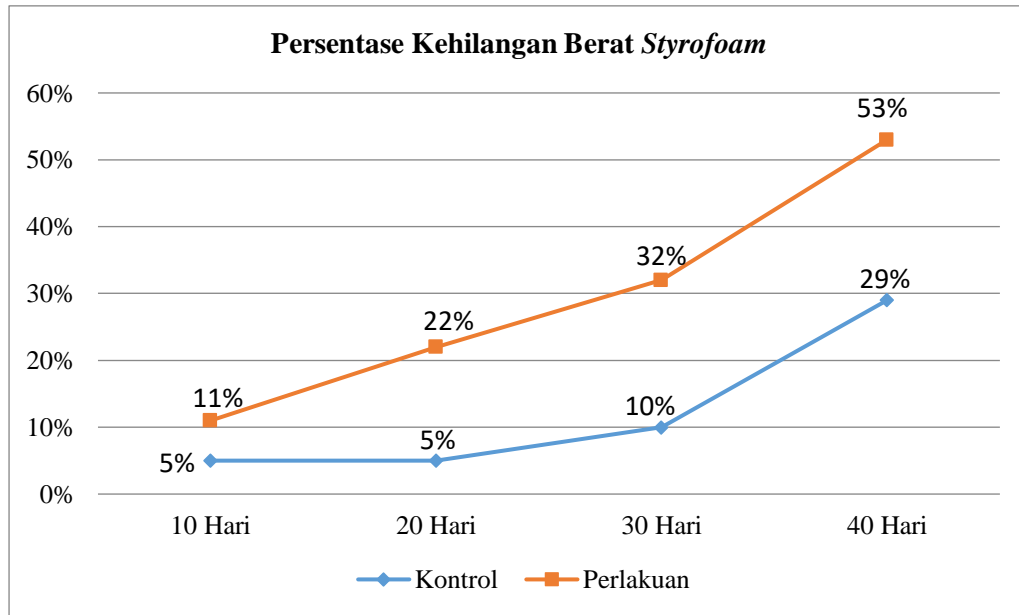
HASIL DAN PEMBAHASAN

Sumber Inokulum

Inokulum uji yang digunakan ialah isolat *Bacillus subtilis* koleksi Laboratorium Mikrobiologi Fakultas MIPA Universitas Sumatera Utara. Rekonfirmasi isolat bakteri uji dilakukan pada pasca masa inkubasi.

kondisi tercekam nutrisi pada media uji yang digunakan secara maksimal.

Menurut Fadlilah & Shovitri (2014) salah satu cara untuk mengetahui dari penurunan berat styrofoam yang terdegradasi yaitu dengan metode kuantitatif dengan mengukur polimer biodegradasi pada styrofoam. Perbedaan berat potongan dari limbah styrofoam yang diinkubasi selama 40 hari digunakan dalam menghitung penurunan berat dan pengukurannya dilakukan pada setiap 10 hari selama inkubasi 40 hari.



Gambar 2. Grafik Presentase Kehilangan Berat Styrofoam

Persentase kehilangan berat styrofoam mengalami peningkatan per 10 hari masa pengecekan (Gambar 2.). Hal ini memperkuat asumsi bahwa *Bacillus subtilis* sebagai agen biodegradasi berperan dalam menurunkan berat styrofoam, dimana pada hari ke-40 diasumsikan sebagai fase degradasi terbaik selama 40 hari masa inkubasi yang dilakukan dengan menghasilkan persentase penurunan sebesar 53%, yang artinya setengah dari berat awal.

Kontrol merupakan styrofoam uji yang diinkubasi didalam media MSM (*Mineral Salt Medium*) tanpa adanya tambahan inokulum bakteri uji yang di inkubasi selama 40 hari. Pada Gambar 2 menunjukkan bahwa adanya peningkatan hasil persentase penurunan berat kering yang didapatkan setelah masa inkubasi dilakukan. Hal ini diasumsikan bahwa media degradasi yang digunakan berpengaruh terhadap penurunan berat styrofoam, kandungan partikel-partikel garam mineral yang terdapat dalam media MSM (*Mineral Salt Medium*) masuk kedalam serat styrofoam yang sedikit terbuka akibat adanya pre-treatment yang dihasilkan dari paparan sinar UV pada LAF dan alkohol. Paparan tersebut menyebabkan terjadinya oksidasi dan degradasi pada styrofoam, sehingga mengaktifkan elektron menjadi lebih reaktif akibat dari serapan radiasi pada dalam spectrum bagian ultraviolet (Sumari *et al.*, 2019). Penerapan waktu ikubasi yang cukup

lama juga dapat menyebabkan terjadinya penurunan berat styrofoam meskipun tanpa adanya penambahan bakteri. Tetapi bila dibandingkan dengan hasil persentase kehilangan berat kering pada perlakuan bakteri *Bacillus subtilis* lebih tinggi dibandingkan pada kontrol. Sehingga hasil persentase kehilangan berat yang terjadi pada sampel kontrol dapat dijadikan sebagai faktor koreksi.

Regangan pada styrofoam uji yang tidak mengalami perubahan ukuran dapat disebabkan oleh beberapa faktor pendukung, salah satunya adalah keterlibatan mikroorganisme tunggal dalam mendegradasi styrofoam yang kurang bekerja secara maksimal untuk menguraikan senyawa ikatan polimer yang terdapat di dalam plastik, Maka dari itu pada penggunaan yang lebih dari satu jenis bakteri akan dapat meningkatkan Keefektifan degradasi pada limbah styrofoam dibandingkan dengan penggunaan kultur isolat tunggal. Hal ini dikarenakan terdapat aktivitas kooperatif dari konsorsium mikroba (Soni *et al.*, 2009). Persebaran inokulum yang tidak merata di permukaan styrofoam dapat terjadi bakteri akan sulit terdegradasi pada ikatan polimernya yang sangat rapat, sehingga untuk proses penurunan regangan styrofoam, potensi dari bakteri *Bacillus subtilis* ini tidak akan bekerja secara maksimal dan tidak terdapat penurunan regangan yang terjadi.

SIMPULAN DAN SARAN

Pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa bakteri *Bacillus subtilis* mempunyai kemampuan untuk mendegradasi limbah styrofoam. Isolat *Bacillus subtilis* terbukti menghasilkan persentase tertinggi dari kehilangan berat sebesar 53% pada hari ke-40 inkubasi dan sama sekali tidak terjadi perubahan regangan. Presentasi kehilangan berat terjadi pada hari ke-10 masa inkubasi sebesar 11% dan tidak terjadi perubahan regangan. Dari hasil perlakuan menunjukkan bahwa terdapat perbedaan presentase yang cukup besar di tiap perlakuan dalam mendegradasi limbah Styrofoam

Saran untuk penelitian selanjutnya yaitu agar menambahkan waktu inkubasi yang lebih lama agar hasil yang di dapatkan maksimal. Untuk masyarakat dapat memberikan informasi bagaimana untuk mengurangi penggunaan styrofoam sebagai wadah jual beli, agar tidak terjadi penumpukan limbah styrofoam yang berlebihan.

DAFTAR PUSTAKA

- Fadlilah, F.R., & Shovitri, M. (2014). Potensi Isolat Bakteri *Bacillus* dalam Mendegradasi Plastik dengan Metode Kolom Winogradsky. *Jurnal Teknik Pomits*, 3(2): 40-43
- Jawetz, E, *et al.*, (2005). Mikrobiologi Kedokteran, diterjemahkan oleh Mudihardi, E., Kuntaman, Wasito, E. B., Mertaniasih, N. M., Harsono, S., Alimsardjono, L., Edisi XXII, 327-335, 362-363. Jakarta : Salemba Medika.
- Jumadewi, A. (2019). Gambaran Perilaku Mahasiswa Tentang Bahaya Penggunaan Plastik Sebagai Wadah Makanan Dan Minuman Prodi Diii Keperawatan Tapaktuan. *Majalah Kesehatan Aceh (MaKMA)*, 2(2): 71.
- Marjayandari, L & Shovitri, M. (2015). Potensi Bakteri *Bacillus* sp. Dalam Mendegradasi Plastik. *Jurnal Sains Dan Seni ITS*, 4(2): 59- 60.
- Rohaeti, E. (2009). *Karakterisasi Biodegradasi Polimer*. Prosiding Seminar Nasional Penelitian, Pendidikan dan Penerapan MIPA, Fakultas MIPA, Universitas Negeri Yogyakarta.
- Rowe, L., & Gary, T. (2002). Growth of *Bacillus subtilis* on polyurethane and the purification and characterization of polyurethanase-lipase enzyme. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 50(2): 33-40.
- Soni R, Kapri A, Zaidi M.G.H, & Goel R. (2009). Comparative biodegradation studies of non-porozized and porozized LDPE using indigenous microbial consortium. *J Polym Environ*, 17(3):233-239.
- Sriningsih, A., & Shovitri, M. (2015). Potensi Isolat Bakteri *Pseudomonas* sebagai Pendegradasi Plastik. *Jurnal Sains dan Seni ITS*, 4(2): 67.
- Sumari., N., Fajaroh, F., Santosa, A., & Rizqiyah, L. (2019). Efek Radiasi Sinar Matahari dan Sinar Ultra Violet pada Plastik Styrofoam Kemasan Makanan dan Minuman. *JC-T: Journal Cis-Trans*, 3(1): 23-33
- Wirahadi, M. (2017). Elemen Interior Berbahan Baku Pengolahan Sampah Styrofoam Dan Sampah Kulit Jeruk. *Jurnal None*, 5(2):144-153