

PENGARUH SUHU INKUBASI PADA PROSES BIODEGRADASI *STYROFOAM* MENGGUNAKAN *Pseudomonas sp*

Isti Sofia Insani¹, Fitri Handayani²

^{1,2} Analis Kesehatan, Sekolah Tinggi Analis Bakti Asih Bandung,
Jalan Padasuka Atas No.233, Bandung 40192, Indonesia

istisofiainsani@gmail.com
fitri.handa31yani@gmail.com

Abstrak

Penggunaan plastik seperti *Styrofoam* secara besar-besaran sebagai bahan kemasan menjadi permasalahan serius karena *Styrofoam* ialah *Polystyrene* yang termasuk kedalam golongan plastik nomor 6 dalam klasifikasi plastik, *Styrofoam* membutuhkan waktu kurang lebih 50 tahun untuk bisa terurai secara alami. Salah satu cara agar *Styrofoam* dapat terurai dalam waktu singkat yaitu dengan Biodegradasi. Uji Biodegradasi *Styrofoam* dalam penelitian ini dilakukan dengan variasi suhu antara suhu inkubator (37°C) dan suhu ruang menggunakan bakteri *Pseudomonas sp* yang sudah di standarkan dengan Mc Farland 0,5 yang setara dengan 1×10^7 sampai 1×10^8 CFU/ml. Pada penelitian ini digunakan desain true eksperimen dengan pendekatan *Posttest-Only Control Design* dengan pengulangan setiap perlakuan berjumlah 6x dan menggunakan kontrol 4x dari setiap perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Pseudomonas sp* mampu mendegradasi *Styrofoam* dengan rata-rata penurunan berat *Styrofoam* pada suhu 37°C sebesar 0,0016 g dan pada suhu ruang sebesar 0,0004 g. Data hasil penelitian di uji statistik dengan uji T Independent dengan nilai sig $0,000 < 0,05$, maka suhu mempengaruhi proses biodegradasi *Styrofoam* secara signifikan. Pada penelitian ini suhu inkubasi 37°C memberikan penurunan berat *Styrofoam* secara signifikan dibandingkan dengan kelompok perlakuan di suhu ruang.

Abstract

EFFECT OF INCUBATION TEMPERATURE ON STYROFOAM PROCESS BIODEGRADATION USING *Pseudomonas sp*. The use of plastics such as *Styrofoam* on a large scale as a packaging material is a serious problem because *Styrofoam* is *Polystyrene* which is included in the plastic group number 6 in the plastic classification, *Styrofoam* takes approximately 50 years to decompose naturally. One way for *Styrofoam* to decompose in a short time is by biodegradation. The biodegradation *Styrofoam* test in this study was carried out by varying the temperature between the incubator temperature (37°C) and room temperature using bacteria *Pseudomonas sp* which had been standardized with Mc Farland 0,5 which equivalent to 1×10^7 to 1×10^8 CFU/mL. In this study, a true experimental design was used with approach with *Posttest-Only Control Design* 6x repetitions of each treatment and 4x control of each treatment. The results showed that *Pseudomonas sp* was able to degrade *Styrofoam* with an average weight loss of *Styrofoam* at 37°C of 0.0016 g and at room temperature of 0.0004 g. The research data were statistically tested with the Independent T test with a sig value of $0.000 < 0.05$, then the temperature significantly affected the biodegradation process *Styrofoam*. In this study, the incubation temperature of 37°C gave a reduction in the weight of *Styrofoam* significant compared to the treatment group at room temperature.

Keywords : Biodegradation, *Styrofoam*, *Pseudomonas sp*

1. Pendahuluan

Plastik merupakan salah satu produk yang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat. Penggunaan plastik dilakukan secara besar-besaran sebagai bahan kemasan, produk rumah tangga hingga peralatan kantor dan fasilitas umum. Kebutuhan plastik dari 220 juta penduduk Indonesia mencapai sekitar 1,35 juta ton sedangkan kemampuan pengolahan sampah oleh pemerintah hanya sekitar 20-30%.²

Sampah plastik sudah menjadi permasalahan serius, salah satunya adalah *Styrofoam*. *Styrofoam* ialah *Polystyrene* yang termasuk kedalam golongan plastik nomor 6 dalam klasifikasi plastik, sehingga *Styrofoam* lebih beresiko dibandingkan dengan plastik yang lain. *Styrofoam* mengandung < 98% *Polystyrene* yang jika dibakar akan merusak lapisan ozon pada atmosfer dan apabila dikubur dalam tanah, akan mencemari tanah karena *styrofoam* sulit terurai. *Styrofoam* membutuhkan waktu kurang lebih 50 tahun untuk bisa terurai secara alami.⁴

Tata cara lain yang bersifat ramah lingkungan dibutuhkan untuk mengurangi limbah *Styrofoam* yaitu dengan proses biodegradasi. Biodegradasi merupakan proses penguraian yang memanfaatkan aktivitas mikroorganisme, sehingga terjadi transformasi struktur dari suatu senyawa yang menyebabkan suatu perubahan integritas molekuler.⁵

Proses biodegradasi polimer terdiri dari beberapa tahap:

- Tahap *biodeterioration* yaitu terjadinya perpaduan aktivitas dari mikroorganisme, dekomposer lain dan faktor abiotik yang memecah komponen polimer menjadi lebih sederhana.
- Tahap Depolimerisasi yaitu mikroorganisme mensekresikan senyawa katalitik (berupa enzim dan radikal bebas) membentuk biofilm yang mampu memutus rantai polimer secara progresif menjadi lebih sederhana : Oligomer, Dimer, dan Monomer.
- Tahap asimilasi di dalam sitoplasma mikroorganisme yaitu terjadinya proses metabolisme untuk menghasilkan produk berupa energi, biomassa, cadangan makanan serta metabolit primer maupun sekunder.
- Tahap mineralisasi yaitu Beberapa metabolit sederhana dan kompleks yang kemungkinan dieksresikan menuju bagian ekstraseluler (misalnya asam organik, aldehyd, terpen, antibiotic, dan lainlain).²

Jenis mikroorganisme yang diketahui dapat mendegradasi polimer sentetik *polysterene* diantaranya adalah *Pseudomonas sp*. *Pseudomonas sp* tergolong dalam bakteri Gram negatif yang memiliki karakteristik sel berbentuk batang (rod), tidak membentuk spora untuk

reproduksi aseksual, alat gerak berupa flagela, bersifat aerob obligat, tetapi dapat hidup secara anaerobik ketika berada di lingkungan dengan kandungan nitrat.¹ *Pseudomonas sp* dapat menghasilkan enzim yang mampu mendegradasi polystyrene yaitu serine hidrolase, esterase, dan lipase.³ Suhu optimal untuk pertumbuhan bakteri pendegradasi *Styrofoam* agar tumbuh secara optimal adalah pada suhu 20°C - 40°C.

Metode yang dilakukan metode eksperimen karena lebih efisien, perlakuan metode ini dengan cara menghitung berat dari *Styrofoam* hasil biodegradasi. Kecepatan proses Biodegradasi dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu jenis substrat, sumber nitrogen, pH, suhu serta kelembaban yang disesuaikan dengan jenis mikroorganisme yang digunakan.

2. Metode Penelitian

Alat yang digunakan antara lain *Aluminium Foil*, *Autoclave*, Botol Selai, Botol Semprot, Bunsen, Cawan Petri, Erlenmeyer, Gelas Kimia, Gunting, *Hand Scoon*, Inkubator, Jarum Ose, Tissue, Kertas Label, Laf (*Laminar Air Flow*), Neraca Analitik, Oven, Penggaris, Pinset, dan Tabung Reaksi.

Bahan yang digunakan Antara lain Alkohol 70%, Isolat bakteri *bakteri Pseudomonas aeruginosa*, Nutrient Broth (NB), Nutrinet Agar (NA), *Styrofoam* sampel, *Pseudomonas Agar (PA)*, dan Uji biokimia bontrey panjang (Indol, MR, VP, SC, Semi Solid, TSIA, Glukosa, Sukrosa, Maltosa, Manitol, Urea).

1. *Tahap di Lapangan*, yaitu dengan membeli *Styrofoam* di toko plastik Cimencyan, Bandung, kemudian di potong dengan ukuran 3x3 cm
2. *Tahap di Laboratorium*, yaitu tahap yang meliputi:
 - a. *Uji Penegasan*:
 - *Pewarnaan gram* yaitu Disiapkan alat dan bahan, Diinokulasikan isolat *Pseudomonas sp* yang ada pada media NA pada Objek Glass, Lalu difiksasi diatas spirtus, Diberi pewarna pertama Kristal violet, lalu di diamkan selama 1 menit lalu Dibilas dengan air mengalir, Diberi larutan lugol, dan didiamkan selama 1 menit lalu dibilas dengan air mengalir, Dibilas dengan alkohol 96% sampai warna ungu nya hilang, Diberi pewarna kedua safranin, didiamkan selama 1 menit lalu dibilas dengan air mengalir, Dikeringkan dan diperiksa pada mikroskop dengan pembesaran 1000x sebelumnya diberi oil imersi.

- *Persiapan bakteri* yaitu Disiapkan Isolat bakteri *Pseudomonas sp* murni, diinokulasikan kedalam media Nutrient Agar (NA), diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37 °C, Diinokulasikan pada media *Pseudomonas* Agar (PA) dan Diinkubasi lagi selama 1x24 jam pada suhu 37°C
- *Uji biokimia* yaitu Disiapkan alat dan bahan, Diambil koloni yang tumbuh pada media *Pseudomonas* agar (PA) dengan ose steril, Diinokulasikan pada Media Bontrey Panjang, Diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C, Lalu diamati perubahan yang terjadi pada media tersebut, Untuk indol ditambahkan 5 tetes reagen kovack, jangan di kocok lalu amati hasilnya, Untuk MR ditambahkan 5 tetes larutan Metil Red 1% dan dikocok, amati hasilnya, Untuk VP ditambah 10 tetes larutan KOH 40% dan 15 tetes α – naftol 5% dan di diamkan selama 15 menit, dan diamati hasilnya

b. *Uji Pendahuluan :*

- *Pembuatan Standar Mc Farland 0,5* yaitu Di siapkan tabung reaksi, Diisi dengan BaCl 1% 0,05 mL dan H₂SO₄ 1% sebanyak 9,95 mL, Dikocok hingga homogen, dan didapatkan standar Mc farland 0,5 = $1,5 \times 10^8$ CFU/mL.
- *Pembuatan suspensi Pseudomonas sp* yaitu Disiapkan biakan *Pseudomonas sp*, Bakteri *Pseudomonas sp* diinokulasikan kedalam media *Pseudomonas* Agar (PA), Lalu media diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C, Dimasukan koloni biakan kedalam tabung reaksi yang berisi 10 mL NaCl 0,85 % hingga kekeruhan sama dengan standar Mc Farland 0,5

c. *Penentuan berat awal Styrofoam.* Ditimbang *Styrofoam* sebelum sterilisasi, *Styrofoam* disterilkan dengan cara merendamnya pada larutan alkohol 70 % kurang lebih selama 30 menit didalam botol selai., Dikeringkan dengan sinar UV pada *Laminar Air Flow* selama 30 menit, Kemudian potongan *Styrofoam* tersebut dikeringkan dengan oven pada suhu 80°C selama 1 jam, Ditimbang *Styrofoam* menggunakan *neraca analytical balance* dalam kondisi steril sebagai berat kering awal.

d. *Persiapan Styrofoam dan media Nutrient Broth,* Dituangkan media Nutrient Broth (NB) ke dalam botol selai masing-masing sebanyak 100 ml, Media lalu ditutup dengan aluminium foil dan di sterilisasi pada autoklaf suhu 121°C selama 15 menit, *Styrofoam* yang sebelumnya sudah disterilisasi dan ditimbang langsung dimasukan

kedalam media Nutrient Broth (NB) secara aseptik, Setelah selesai, lalu media diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam.

- e. *Uji Biodegradasi.* Pada uji biodegradasi Nutrient Broth (NB) berisi *Styrofoam* yang telah diinkubasi selama 1 x 24 jam, Diinokulasikan isolat *Pseudomonas sp* yang sudah di standarisasi menggunakan standar Mc Farland 0,5 sebanyak 500 uL kedalam media Nutrient Broth (NB), Kemudian disimpan selama 30 hari pada suhu ruang dan suhu inkubator (37°C)
- f. *Persentase Kehilangan Styrofoam.* Potongan *Styrofoam* yang sudah terpisah dengan biofilm disterilisasi dengan alkohol 70% dan dikeringanginkan, Setelah mengering, potongan *Styrofoam* dimasukkan kedalam oven pada suhu 80°C selama 1 jam, *Styrofoam* yang telah dioven ditimbang berat keringnya

3. Hasil dan Pembahasan

Hasil penimbangan berat *Styrofoam* sebelum dan sesudah masa inkubasi

Pada penelitian ini, pengukuran berat *Styrofoam* sebelum masa inkubasi merupakan pengukuran berat kering *Styrofoam* setelah dilakukan tahapan sterilisasi dan sebelum perlakuan. Sedangkan pengukuran berat *Styrofoam* setelah masa inkubasi merupakan pengukuran berat kering *Styrofoam* setelah dilakukannya perlakuan.

Tabel 1. Berat Styrofoam sebelum masa inkubasi

Sampel	Suhu	
	Suhu Ruang	Suhu 37°C
1	0,0689	0,0768
	0,0689	0,0769
	0,0690	0,0768
2	0,0752	0,0827
	0,0753	0,0829
	0,0753	0,0829
3	0,0740	0,0828
	0,0740	0,0827
	0,0739	0,0828
4	0,0685	0,0763
	0,0686	0,0764
	0,0681	0,0764
5	0,0758	0,0630
	0,0755	0,0630
	0,0757	0,0632
6	0,0680	0,0851
	0,0681	0,0850
	0,0681	0,0850

Tabel 2. Berat Styrofoam setelah masa inkubasi

Sampel	Suhu	
	Suhu Ruang	Suhu 37°C
1	0,0686	0,0753
	0,0685	0,0754
	0,0685	0,0754
2	0,0748	0,0810
	0,0750	0,0810
	0,0748	0,0811
3	0,0737	0,0812
	0,0736	0,0810
	0,0737	0,0812
4	0,0680	0,0748
	0,0678	0,0748
	0,0680	0,0749
5	0,0750	0,0614
	0,0754	0,0612
	0,0753	0,0614
6	0,0675	0,0835
	0,0676	0,0834
	0,0676	0,0835

Hasil Analisis Data Pengaruh Suhu Dalam Proses Biodegradasi Styrofoam Menggunakan Pseudomonas sp

- a. Analisis data menggunakan rumus presentase selisih kehilangan berat

Perhitungan hasil eksperimen adalah berupa selisih penurunan berat Styrofoam sebelum inkubasi dan sesudah inkubasi dengan menggunakan rumus:

$$Selisih = Berat\ sebelum\ inkubasi - Berat\ sesudah\ inkubasi$$

Adapun hasil yang di dapat sebagai berikut :

Tabel 3. Selisih berat Styrofoam (sebelum dan sesudah masa inkubasi 30 hari)

	Berat Styrofoam (g)	
	Pengulangan	Suhu 37°C
1	0,0003	0,0015
	0,0004	0,0015
	0,0004	0,0014
2	0,0004	0,0017
	0,0003	0,0019
	0,0005	0,0018
3	0,0003	0,0015
	0,0004	0,0017

Pengulangan	Berat Styrofoam (g)	
	Suhu ruang	Suhu 37°C
4	0,0003	0,0016
	0,0005	0,0015
	0,0008	0,0016
5	0,0006	0,0018
	0,0005	0,0016
	0,0001	0,0018
6	0,0004	0,0018
	0,0005	0,0016
	0,0005	0,0016
Rata-rata	0,0004	0,0016
Stdev	0,0001	0,0001

Berdasarkan Tabel 3. diketahui bahwa rata-rata penurunan berat Styrofoam pada suhu ruang adalah $0,0004 \pm 0,0001$ g dan penurunan berat Styrofoam pada suhu 37°C adalah $0,0016 \pm 0,0001$ g. Pada suhu 37°C terlihat bahwa proses biodegradasi 4X lebih cepat dibandingkan di suhu ruang. Untuk analisis beda signifikan akan menggunakan uji T independent jika asumsi data terdistribusi normal dan homogenitas terpenuhi.

- b. Analisis data menggunakan uji normalitas dan uji homogenitas

Tabel 4. Uji Normalitas Saphiro wilk

Perlakuan	Uji Normalitas (sig)	Ket
Selisih berat Styrofoam suhu ruang	0,215 > 0,05	Data berdistribusi normal
Selisih berat Styrofoam suhu 37°C	0,127 > 0,05	Data berdistribusi normal

Tabel 5. Uji Homogenitas

Perlakuan	Uji Homogenitas (Sig)	Ket
Selisih berat Styrofoam suhu ruang	0,459 > 0,05	Data homogen
Selisih berat Styrofoam suhu 37°C		

Hasil uji normalitas menunjukkan nilai sig $0,215 > 0,05$ untuk perlakuan suhu ruang dan sig $0,127 > 0,05$ pada suhu 37°C . Maka kesimpulannya data terdistribusi normal. Uji homogenitas menunjukkan nilai sig $0,459 > 0,05$ maka data homogen. Karena data terdistribusi normal dan homogen maka uji T independent dapat dilakukan. Hipotesis uji T pada penelitian ini adalah:

1. H_0 diterima dan H_1 ditolak, jika nilai sig $> 0,05$ maka suhu inkubasi tidak mempengaruhi proses biodegradasi *Styrofoam* secara signifikan.
2. H_1 diterima dan H_0 ditolak, jika nilai sig $< 0,05$ maka suhu inkubasi mempengaruhi proses biodegradasi *styrofoam* secara signifikan.

Tabel 6. Uji T Independent

Uji T Independent			
Selisih penurunan berat (g)	T	Df	Sig.
Equal variances assumed	-22,401	34	0,000

Pada Tabel 6. Hasil uji T menunjukkan nilai sig $0,000 < 0,05$, maka suhu mempengaruhi proses biodegradasi styrofoam secara signifikan. Pada penelitian ini suhu inkubasi 37°C memberikan penurunan berat *Styrofoam* secara signifikan dibandingkan dengan kelompok perlakuan di suhu ruang.

Pembahasan

Pada penelitian ini dilakukan Uji penegasan yaitu Pewarnaan Gram, Inokulasi di media PA, dan Uji Biokimia Untuk mengetahui bakteri yang digunakan adalah bakteri *Pseudomonas sp.*

- a. Pewarnaan Gram dari isolat bakteri *Pseudomonas sp* dari media NA menunjukkan hasil Gram Negatif atau berwarna merah.
- b. Inokulasi pada media PA. Isolat bakteri yang dari media Nutrient Agar (NA) diinokulasikan pada media selektif *Pseudomonas Agar* (PA) dan di inkubasi selama 1×24 jam. Hasil menunjukkan bahwa koloni berwarna putih kehijauan pigment pyocyanin.
- c. Uji Biokimia terhadap koloni *Pseudomonas sp* menggunakan Bontrey panjang (Indol, MR, VP, Semi Solid, Simon Citrat, TSIA, Glukosa, Maltosa, Manit, Urea) hasil dari uji indol (-) karena tidak terbentuk lapisan (cincin) merah muda, uji MR (+) warna merah, uji VP (-) warna kuning, Uji SIM (+) disekitar inokulasi terdapat bentukan warna putih seperti akar yang menyebar, Uji Simon (+) perubahan warna biakan dari hijau menjadi biru, Uji TSIA berubah warna menjadi M/M dan tidak membentuk presipitat hitam, Uji pada media Glukosa, Sukrosa, Maltosa dan

Manit (+) kuning, dan Uji Urea (+) tidak terjadi perubahan warna media menjadi pink.

Pada Uji Biodegradasi *Pseudomonas sp* akan membentuk biofilm karena keadaan lingkungan yang kurang menguntungkan, dengan menggunakan biofilm bakteri dapat melekat pada *styrofoam* kaya akan nutrisi yang akan membantu sel – sel bakteri untuk hidup berdekatan dan membentuk koloni. Setelah proses pembenukan biofilm *Pseudomonas sp* akan mengeluarkan enzim ekstraseluler depolimerase sebagai hasil dari metabolisme. Selain enzim, ada faktor yang dapat memengaruhi proses Uji Biodegradasi yaitu faktor lingkungan diantaranya, suhu, pH, kelembaban struktur kimia Styrofoam, ketersediaan oksigen, dan pasokan nutrisi,dll. Suhu optimum untuk pertumbuhan bakteri pendegrasi *Styrofoam* agar tumbuh secara optimal yaitu $20 - 40^{\circ}\text{C}$. dan suhu optimum enzim pada mikroorganisme adalah ± 40 . Jadi ketika di suhu optimum enzim dan substrat bertabrakan dan berinteraksi lebih dan lebih. Ini berarti bahwa dengan meningkatnya suhu, reaksi enzim terjadi lebih cepat. Dapat disimpulkan pada suhu 37°C lebih banyak mendegradasi *Styrofoam* karena mendekati suhu optimum.

4. Kesimpulan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Pseudomonas sp* mampu mendegradasi *Styrofoam* dengan baik (optimal) pada suhu 37°C .

5. Daftar Acuan

1. Aprianti, D. (2018). IDENTIFIKASI *Pseudomonas sp.* PADA PENDERITA ULKUS DIABETIKUM DI RUMAH SAKIT UMUM PUSAT H. ADAM MALIK MEDAN. *Karya Tulis Ilmiah*, 13- 14.
2. Marjayandari, L. (2015). Potensi Bakteri *Bacillus sp.* dalam. *JURNAL SAINS DAN SENI ITS*, 2337-3520.
3. Sriningsih, A., & Shovitri, M. (2015). Potensi Isolat Bakteri *Pseudomonas* sebagai Pendegradasi Plastik. *JURNAL SAINS DAN SENI ITS*, 2337-3520.
4. Pamawati, A. (2019). *Pemanfaatan Limbah Styrofoam Menjadi Bingkai Foto*. Retrieved from Pendidikan kimia: <https://osf.io/j74xu>
5. Pramila R, R. K. (2015). Potential Biodegradation of low-density polyethylene (LDPE) by *Acinetobacter baumannii* . *African J Microbiol Res*, 24-28.