



TUGAS AKHIR - SB0141510

**BIODEGRADASI PLASTIK OLEH
MIKROORGANISME AIR SAMPAH DALAM
KOLOM WINOGRADSKY**

**LAELLATUL BADRIYAH
1511 100 049**

**Dosen Pembimbing
Dr.rer.nat. Ir. Maya Shovitri, M.Si**

**Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Institut Teknologi Sepuluh Nopember
Surabaya 2015**



FINAL PROJECT - SB0141510

WASTE WATER MICROORGANISMS FOR PLASTIC BIODEGRADATION IN WINOGRADSKY COLUMN

**LAELLATUL BADRIYAH
1511 100 049**

**Advisor Lecturer
Dr.rer.nat. Ir. Maya Shovitri, M.Si**

**Biology Departement
Mathematics and Natural Science Faculty
Sepuluh Nopember Institute of Technology
Surabaya 2015**

LEMBAR PENGESAHAN

BIODEGRADASI PLASTIK OLEH MIKROORGANISME AIR SAMPAH DALAM KOLOM WINOGADSKY

TUGAS AKHIR

Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat
Memperoleh Gelar Sarjana Sains

Pada
Jurusan S-1 Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Oleh:

LAELLATUL BADRIYAH

NRP. 1511 100 049

Disetujui oleh Pembimbing Tugas Akhir.

Dr.rer.nat. Ir. Maya Shovitri, M.Si. (Pembimbing)

Surabaya, 14 Juli 2015

Mengetahui,

Ketua Jurusan Biologi



Dr.rer.nat. Ir. Maya Shovitri, M.Si
NIP. 19690907 199803 2 001

BIODEGRADASI PLASTIK OLEH MIKROORGANISME AIR SAMPAH DALAM KOLOM WINOGRADSKY

**Nama : Laellatul Badriyah
NRP : 1511 100 049
Jurusan : Biologi
Dosen Pembimbing : Dr.rer.nat. Ir. Maya Shovitri, M.Si**

Abstrak

Plastik merupakan polimer sintetis yang terbuat dari unsur-unsur bahan bakar fosil. Polietilen merupakan salah satu jenis plastik yang banyak digunakan sebagai bahan dasar pembuatan kantong plastik belanja. Plastik akan menyebabkan masalah bagi lingkungan karena sifat plastik yang susah terdegradasi. Degradasi plastik di lingkungan dapat terjadi secara biologis menggunakan mikroorganisme. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi mikroorganismse air sampah dan inokulum campur koleksi laboratorium, serta yeast M 2.3 dalam mendegradasi plastik.

Metode biodegradasi plastik yang digunakan adalah kolom Winogradsky. Penelitian ini menggunakan botol berukuran 600 ml yang berisi 300 gram pasir steril, medium MSM 350ml, inokulum air sampah (S) , inokulum campur (X) serta yeast M 2.3 (Y), dan plastik uji hitam, putih serta transparan dengan 3 kali pengulangan destruktif. Perhitungan degradasi plastik dilakukan setiap 3 minggu sekali selama 3 bulan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Analisis data menggunakan ANOVA-One way dengan uji lanjutan Tukey's multiple range.

Hasil yang didapat adalah inokulum X, S dan Y memiliki kemampuan degradasi plastik, namun persentase degradasi ketiga inokulum tersebut tidak berbeda nyata terhadap plastik hitam, putih maupun transparan. Pada plastik hitam degradasi optimal terjadi setelah 6 minggu masa inkubasi oleh inokulum S mencapai 4,9%. Plastik putih degradasi optimal terjadi setelah 9

minggu masa inkubasi oleh inokulum X dengan nilai 3,6% dan pada plastik transparan terjadi pada inokulum S setelah 9 minggu masa inkubasi dengan persentase degradasi 4%. Koloni bakteri yang diduga potensial adalah XH6, XP1, XP9, XT1, XT2, SH1, SP1, ST1, ST2,dan ST7, serta koloni yeast adalah XP1, XT1, SH1 dan SP1.

Kata kunci : air sampah, biodegradasi, mikroorganisme, plastik, Winogradsky.

WASTE WATER MICROORGANISM FOR BIODEGRADATION PLASTIC IN WINOGRADSKY COLUMN

Name : Laellatul Badriyah
NRP : 1511 100 049
Department : Biology
Advisor Lecturer : Dr.rer.nat. Ir. Maya Shovitri, M.Si

Abstract

Plastic is a synthetic polymer made from elements of fossil fuels. Polyethylene is a type of plastic which is widely used as basis for making shopping plastic bags. Plastics would cause problems for the environment because of their characteristic that hardly degradable. Plastic degradation in the environment could occur biologically using microorganisms. This study aims to determine the potential of waste water microorganisms and the mixed inoculum from laboratory collection, also yeast M 2.3 in the plastic degradation.

Plastic biodegradation method which used is Winogradsky column. This research was using 600 ml size bottles containing 300 grams of sterile sand, 350ml MSM medium, inoculum waste water (S), mixed inoculum (X) and yeast 2.3 M (Y), black plastic test, white plastic test, and transparent plastic test with 3 repetitions destructive. Plastic degradation calculations performed once every 3 weeks for 3 months using the Completely Randomized Design (CRD). Analysis of data was using One way ANOVA with Tukey test following up.

The results obtained are inoculum X, S and Y have the capability to degrade plastic, but the percentage of degradation of the three inoculum were not significantly different with black plastic, white plastic or transparent plastic. Black plastic is the best degradation ability about 4,9% by inoculum S, white plastic is the best degradation ability about 3,6% by inoculum X and transparent plastic is

the best degradation ability about 4% by inoculum S. Bacterial colonies which suspected potentially are XH6, XP1, XP9, XT1, XT2, SH1, SP1, ST1, ST2, and ST7, as well as yeast colonies are XT1, XP1, SH1 and SP1.

Keywords: biodegradation, microorganisms, plastic, waste water, Winogradsky.

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirobbilalamin, Puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah memberi rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir dengan judul **Biodegradasi Plastik oleh Mikroorganisme Air Sampah dalam Kolom Winogradsky**. Penulisan Proposal Tugas Akhir ini dilakukan sebagai salah satu syarat untuk dapat melaksanakan mata kuliah Tugas Akhir dalam menempuh jenjang Strata-1 di Jurusan Biologi Institut Teknologi Sepuluh Nopember.

Penulis dalam melaksanakan Tugas Akhir ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu memberi doa, dukungan, kritik, saran, dan masukan baik secara langsung maupun tidak langsung. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Umi dan Abi, serta keluarga besar yang telah memberi kasih saying dan doa tulus ikhlas,
2. Ibu Dr.rer.nat. Ir. Maya Shovitri, M.Si selaku Dosen pembimbing, Bapak Dr.techn. Endry Nugroho P., S. Si., M. T. dan Ibu Kristanti Indah Purwani, S.Si., M. Si. selaku Dosen penguji
3. LPPM ITS atas Hibah Penelitian Unggulan PT dengan nomor kontrak 003246.96/IT2.11/PN.08/2015.
4. Ibu Tutik Nurhidayati, M.Si, S.Si, selaku dosen wali yang telah membimbing selama 4 tahun masa studi di Biologi
5. Tim *Plastic Degradation*: Neneng Uswatun Hasana, Atik Sriningsih dan Lisa Marjayandari yang telah membantu dalam tugas akhir ini,
6. Semua Anggota Laboratorium Mikrobiologi 2015, khususnya Mas Wahed Ashari,
7. Semua Anggota Laboratorium Ekologi, khususnya Bapak Farid Kamal Muzaki, M.Si, S.Si, yang telah memberi dukungan,

8. Teman-teman seperjuangan angkatan 2011 “*Scylla serrata*”, khususnya Miftahur Rohmah, Boing Indraswari, Adisya P.N.S., Faifta N. Maya, Aiditya Pamungkas, Septa Tri Farisna, Aida Efrini, , Cholis Muchlisin, Ali Sofani, dan teman-teman semua yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu, kalian adalah teman terbaik yang pernah saya miliki,
9. Keluarga Bapak Asjhar Imron yang telah menjadi keluarga saya selama hidup di Surabaya,
10. Keluarga IKMP yang selalu memberi bantuan dan motivasi,
11. Toni Maulana Akbar yang telah memberi dukungan dan doa, serta seluruh pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu, yang turut berperan dalam terwujudnya Tugas Akhir ini.

Penulis menyadari walaupun masih banyak kekurangan, namun besar harapan Tugas Akhir ini dapat bermanfaat untuk perkembangan ilmu selanjutnya.

Surabaya, 14 Juli 2015

Laellatul Badriyah

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN PENGESAHAN	v
ABSTRAK	vii
<i>ABSTRACT</i>	ix
KATA PENGANTAR.....	xi
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xix
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Permasalahan	4
1.3 Batasan Masalah	5
1.4 Tujuan	5
1.5 Manfaat	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Plastik	7
2.2 Biodegradasi Plastik	9
2.3 Mikroorganisme Air Sampah	12
2.4 Mikroorganisme Tanah Sampah.....	14
2.5 Yeast.....	15
2.6 Kolom Winogradsky	16
BAB III METODOLOGI	
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	21
3.2 Metode yang Digunakan.....	21
3.2.1 Pengambilan air sampah.....	21
3.2.2 Pembuatan starter inokulum kultur campuran tanah sampah dari kolom Winogradsky	21
3.2.3 Pembuatan starter Isolat Yeast	22
3.2.4 Persiapan plastik uji.....	22
3.2.5 Biodegradasi plastik	23

3.2.6 Karakterisasi dan perhitungan koloni	24
3.2.7 Pengukuran <i>Optical Density</i> (OD) mikroorganisme di kolom air dan biofilm	26
3.2.8 Persentase kehilangan berat plastik	26
3.3 Rancangan Penelitian dan Analisa Data.....	27
 BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Biodegradasi Plastik	29
4.2 Perbandingan Hasil Degradasi Plastik Inokulum Kultur Campur (Inokulum X) dengan Penelitian Ainiyah dan Shovitri (2014).....	36
4.3 Karakterisasi dan Perhitungan Koloni Mikroorganisme ...	38
 BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan.....	43
5.2 Saran.....	43
 DAFTAR PUSTAKA.....	
DAFTAR PUSTAKA.....	45
LAMPIRAN	51
BIODATA PENULIS.....	87

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 3.1 Variasi Perlakuan Plastik Uji Variasi Perlakuan Plastik Uji.....	24
Tabel 4.1 Persentase Kehilangan Berat Plastik Hitam.....	31
Tabel 4.2 Persentase Kehilangan Berat Plastik Putih dan Transparan.....	34
Tabel 4.3 Karakter Koloni Mikroorganisme	41`

DAFTAR LAMPIRAN

		Halaman
Lampiran 1	Komposisi Medium	51
Lampiran 2	Skema Kerja	53
Lampiran 3	Grafik degradasi plastik, OD biofilm, kolom air dab pH	55
Lampiran 4	Persentase Degradasi Plastik	56
Lampiran 5	Pengukuran OD Biofilm	59
Lampiran 6	Pengukuran OD Kolom Air	65
Lampiran 7	Analisis Statistik ANOVA- <i>One way</i>	71
Lampiran 8	Karakter Koloni Mikroorganisme	78
Lampiran 9	Subkultur dan Starter	79
Lampiran 10	Kolom Winogradsky	80
Lampiran 11	Koloni Kandidat Biodegradasi Plastik	84

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Plastik merupakan salah satu jenis polimer sintetis yang terbuat dari unsur-unsur bahan bakar fosil, seperti batu bara, minyak bumi dan gas alam (Dey *et al.*, 2012). Plastik sintetis paling dominan digunakan sebagai kemasan. Jenis plastik yang paling banyak digunakan sebagai kemasan adalah *polyethylene* (LDPE, MDPE, HDPE and LLDPE), *polypropylene* (PP), *polystyrene* (PS), *polyvinyl chloride* (PVC), *polyurethane* (PUR), *poly(ethylene terephthalate)* (PET), *poly (butylene terephthalate)* (PBT), *nylons* (Shah *et al.*, 2008).

Polietilen merupakan polimer yang terdiri dari rantai panjang monomer etilena (C_nH_{2n}) yang banyak dimanfaatkan sebagai bahan dasar pembuatan kantong plastik. Setiap tahun, sekitar 500 miliar kantong plastik digunakan di seluruh dunia (Burd, 2008). Angka tersebut berbanding lurus dengan angka pembuangan kantong plastik yang semakin banyak ke lingkungan. Plastik mengalami penumpukan di lingkungan rata-rata mencapai 25 miliar ton per tahun (Arutchelvi *et al.*, 2008). Penumpukan plastik akan menyebabkan masalah bagi lingkungan terkait sifat plastik yang susah mengalami proses degradasi.

Sifat plastik yang susah mengalami proses degradasi disebabkan karena plastik mempunyai kerapatan massa molekul yang tinggi, dimana polietilen memiliki kerapatan 0,91 hingga 0,97 gram/cm³ (Arutchelvi *et al.*, 2008). Plastik juga memiliki jumlah cincin aromatik banyak dan memiliki pergantian unsur halogen (Dey *et al.*, 2012), sehingga dalam jangka waktu yang lama plastik akan tetap berada di lingkungan tanpa mengalami proses degradasi.

Banyaknya masalah yang ditimbulkan oleh keberadaan sampah plastik di lingkungan, membuat sampah plastik menjadi fokus utama dalam bidang penelitian. Penelitian yang

berkembang saat ini salah satunya dengan mengisolasi dan meningkatkan kerja mikroorganisme agar lebih efisien dalam proses degradasi polimer (Arutchelvi *et al.*, 2008).

Degradasi plastik secara alami dimulai dengan proses fotodegradasi yang menyebabkan terjadinya proses degradasi thermooxidatif. Sinar ultraviolet dari matahari menyediakan aktifasi energi yang dibutuhkan untuk memulai penggabungan atom oksigen ke dalam polimer. Proses ini menyebabkan plastik menjadi rapuh dan pecah menjadi potongan-potongan polimer yang lebih kecil hingga rantai polimer mencapai berat molekul cukup rendah untuk metabolisme mikroorganisme tersebut. Proses akhir yaitu biodegradasi dimana, mikroorganisme akan mengubah karbon dalam rantai polimer plastik menjadi karbon dioksida dan dimanfaatkan untuk proses biomolekul dalam tubuh mikroorganisme (Webb *et al.*, 2013).

Biodegradasi dapat dilakukan oleh mikroorganisme seperti bakteri, jamur, yeast dan alga. Biodegradasi bahan organik dapat terjadi secara aerob maupun anaerob. Proses biodegradasi terjadi melalui beberapa tahapan yaitu biodeteriorasi, biofragmentasi, asimilasi dan mineralisasi (Guzman *et al.*, 2011). Proses biodegradasi akan lebih efektif dengan menggunakan jenis mikroorganisme yang memiliki karakter degradasi yang berbeda, dimana terdapat mikroorganisme yang berperan dalam pemecahan polimer dan ada yang berperan dalam pemanfaatan monomer (Sangale *et al.*, 2012).

Mikroorganisme memiliki kemampuan degradasi polimer yang berbeda karena setiap spesies bahkan strain dari mikroorganisme dapat memproduksi enzim dengan jenis dan jumlah yang beda. Dari hasil penelitian tentang biodegradasi plastik yang telah dilakukan sebelumnya, didapatkan beberapa jenis bakteri yang mampu mendegradasi polimer plastik dengan enzim yang diproduksinya, *Pseudomonas* spp. dapat mendegradasi plastik dengan enzim serin hydrolase dan esterase, sedangkan *Comamonas acidovorans* dapat mendegradasi plastik dengan enzim esterase (Bhardwaj *et al.*, 2012). *Brevibacillus*

borstelensis dapat mengurangi berat molekul polietilen 11-30% (Hadad *et al.*, 2005). Selain bakteri, yeast juga mampu melakukan degradasi terhadap polimer plastik dengan enzim yang dimilikinya. Yeast merupakan mikroorganisme eukariot yang bersifat uniseluler, ukuran selnya lebih besar dari pada bakteri, dan sebagian besar dapat membentuk askospora serta mampu melakukan fermentasi (Madigan, 2012). Beberapa yeast mampu mendegradasi polimer plastik, contohnya yaitu *Candida rugosa* yang memiliki enzim esterase dan urease sehingga mampu mendegradasi poliuretan (Bhardwaj *et al.*, 2012). *Aureobasidium pullulans* dan *Rhodotorula rubra* dapat menghasilkan enzim esterase untuk degradasi PVC (Peciulyte, 2002).

Mikroorganisme melakukan mekanisme proses degradasi dengan mengeluarkan berbagai enzim ke dalam air tanah, kemudian terjadi pemecahan polimer. Dua jenis enzim yang terlibat dalam proses pemecahan polimer, yaitu depolimerase intraseluler dan ekstraseluler. Eksoenzim dari mikroorganisme berperan dalam merusak kompleks polimer pertama hingga menjadi rantai pendek atau monomer yang cukup kecil untuk dapat diserap melalui dinding sel dan dimanfaatkan sebagai karbon maupun sumber energi. Proses ini dikenal sebagai depolimerisasi. Sedangkan hasil akhir dari proses biodegradasi yang menghasilkan CO₂, H₂O, CH₄ dan H₂S disebut dengan mineralisasi (Dey *et al.*, 2012).

Ainiyah dan Shovitri (2014) telah menunjukkan bahwa konsorsium bakteri tanah sampah dalam kolom Winogradsky dapat medegradasi plastik berwarna hitam rata-rata lebih baik dari plastik berwarna lainnya. Kolom Winogradsky merupakan ekosistem mikrobia buatan yang berfungsi sebagai sumber kultur bakteri jangka panjang. Kolom ini selain berfungsi menyediakan sumber makanan untuk inokulum, kolom ini juga berfungsi untuk menguji proses degradasi. Dalam kolom Winogradsky lingkungan bakteri untuk proses degradasi dapat dikondisikan secara aerob dan anaerob untuk skala laboratorium (Madigan *et al.*, 2012). Substrat yang kaya dengan limbah plastik sebagai sumber

inokulum bakteri selain dapat diambil dari rizosfer tanah mangrove, plastik yang terkubur dalam tanah, serta air laut juga dapat diambil dari tempat pembuangan akhir sampah (TPA) (Sangale *et al.*, 2012). Tumpukan limbah yang berada di TPA, tidak hanya tersusun oleh komponen-komponen padat dan semipadat tetapi juga terdapat air sampah yang berasal dari kelembaban sampah hasil dekomposisi (Ruslinda, *et al.*, 2012). Air sampah ini mengandung bahan-bahan kimia dan mikroorganisme (Rilawati, 2009). Air sampah selain berasal dari proses dekomposisi sampah organik, sebagian besar berasal dari air hujan yang merembes melalui sampah sehingga komponen sampah yang tersuspensi dapat terlarut (Abbas *et al.*, 2009).

Saat ini Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Biologi ITS memiliki inokulum campur dari tanah sampah koleksi laboratorium yang sudah teruji kemampuannya sebagai pendegradasi plastik dan Inokulum yeast M 2.3 yang belum teruji kemampuannya untuk mendegradasi plastik. Sedangkan semakin banyaknya sampah plastik di TPA, memungkinkan untuk melakukan isolasi dan pengujian kemampuan mikroorganisme air sampah untuk mendegradasi polimer plastik. Sehingga dalam penelitian ini akan dilakukan pengujian untuk mencari inokulum yang paling potensial dengan membandingkan inokulum air sampah, inokulum campur koleksi laboratorium dan yeast M 2.3 dalam mendegradasi plastik dengan metode kolom Winogradsky.

1.2 Permasalahan

Permasalahan yang akan dikaji pada penelitian ini adalah bagaimana potensi inokulum air sampah dan inokulum campur, serta inokulum yeast M 2.3 dalam mendegradasi plastik.

1.3 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian tugas akhir ini adalah:

1. Air sampah yang digunakan berasal dari TPA Benowo dan tidak diteliti kandungan airnya,
2. Plastik yang digunakan adalah kantong plastik belanja (tas kresek) warna hitam dan putih serta plastik transparan bungkus makanan,
3. Inokulum campur koleksi laboratorium yang digunakan berasal dari penelitian terdahulu (Ainiyah dan Shovitri, 2014) dari kolom Winogradsky plastik hitam,
4. Inokulum yeast M 2.3 berasal dari koleksi Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Biologi ITS.

1.4 Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi inokulum air sampah dan inokulum campur, serta inokulum yeast M 2.3 dalam mendegradasi plastik.

1.5 Manfaat

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi positif bagi pengembangan ilmu pengetahuan dan teknologi, khususnya dalam bidang mikrobiologi dan lingkungan. Di samping itu, diharapkan dapat memberikan informasi tentang kemampuan mikroorganisme yang mampu mendegradasi plastik dengan baik, sehingga dapat menunjang penelitian selanjutnya dan menambah koleksi bakteri dan yeast pendegradasi plastik untuk Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Biologi ITS. Penelitian ini juga diharapkan dapat memberikan solusi dalam pengelolaan limbah plastik agar dapat mengurangi angka pencemaran plastik di lingkungan.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

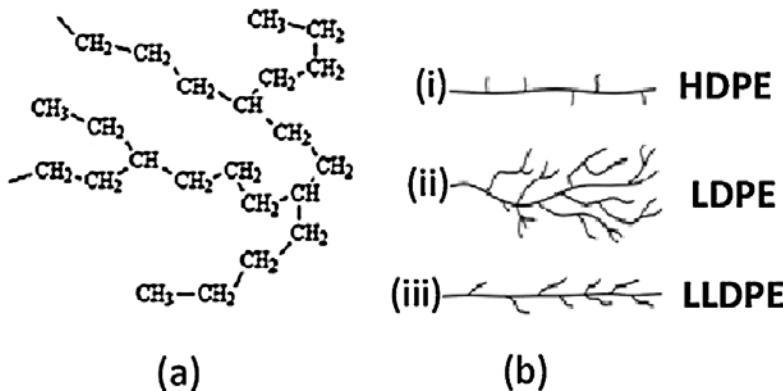
2.1 Plastik

Plastik berasal dari bahasa Yunani “Plastikos”, yang berarti „bisa dibentuk menjadi bentuk yang berbeda“. Plastik dibuat dari rantai panjang molekul polimer (Shah *et al.*, 2008). Jenis plastik dibedakan menjadi plastik *non-degradable* dan plastik *biodegradable*. Plastik *non-degradable* dibuat dari polimer sintetis yang berasal dari bahan baku anorganik dan organik, seperti karbon, silikon, hidrogen, nitrogen, oksigen dan klorida. Bahan dasar tersebut diekstrak dari minyak bumi, batu bara dan gas alam (Shah *et al.*, 2008). Plastik sintetis ini memiliki sifat stabil dan tahan lama, sehingga susah didegradasi dan terakumulasi di lingkungan. Jenis plastik *non-degradable* yang paling banyak digunakan adalah *Polyethylene* (LDPE, MDPE, HDPE and LLDPE), *Poly Ethylene Terephthalate* (PET), *Polybutylene Terephthalate* (PBT), *nylons*, *Poly-Propylene* (PP), *Polystyrene* (PS), *Polyvinyl Chloride* (PVC), dan *Polyurethane* (PUR) (Bhardwaj *et al.*, 2012).

Limbah plastik di lingkungan sebanyak 64% berasal dari jenis polietilen. Polietilen (PE) dikenal sebagai polieten atau poli (metilen), merupakan polimer termoplastik yang mudah dibentuk dan dibuat sesuai dengan berbagai macam aplikasi. PE memiliki sifat lunak, transparan (Susanto, 2010), serta akan menjadi lunak dan mencair pada suhu 110 -137°C (Billmeyer, 1994). Polietilen merupakan polimer hidrokarbon linier yang terbentuk dari rantai panjang monomer etilena (C_2H_4). Rumus umum polietilen adalah C_nH_{2n} , dengan n merupakan jumlah atom karbon (Sangale *et al.*, 2012). Polietilen dibuat dari resin yang berasal dari minyak bumi, sehingga bahan ini tahan terhadap biodegradasi (Sonal *et al.*, 2010). Ketahanan terhadap proses biodegradasi juga dikarenakan sifat hidrofobik dan berat molekul yang tinggi dari plastik tersebut (Shah *et al.*, 2008). Jenis dari plastik ini biasanya hanya

digunakan untuk sekali pakai. Sifat-sifat tersebutlah yang menyebabkan polietilen menjadi sumber pencemaran di lingkungan (Shah *et al.*, 2008).

PE terbagi menjadi tiga jenis plastik dengan kepadatan yang berbeda menurut American Plastic Association, yaitu *High density polyethylene* (HDPE), *Linear low density polyethylene* (LLDPE) dan *Low density polyethylene* (LDPE) (Gambar 2.1) (Arutchelvi *et al.*, 2008). HDPE mempunyai struktur rantai lurus, dan memiliki massa jenis lebih besar dari $0,941 \text{ g/cm}^3$ sehingga memiliki sifat lebih kuat, keras, buram, kurang tembus cahaya dan lebih tahan terhadap suhu tinggi. HDPE digunakan untuk membuat botol, pipa dan tabung. LLDPE memiliki rantai polimer yang lurus dengan rantai-rantai cabang yang pendek. LLDPE banyak digunakan untuk film atau bahan pembungkus, isolator listrik, pelapis kawat dan kabel (Susanto, 2010). LDPE memiliki struktur rantai bercabang yang tinggi dengan cabang-cabang yang panjang dan pendek, memiliki massa jenis $0,910 - 0,925 \text{ g/cm}^3$, dan digunakan untuk pembuatan kantong plastik (Sen and Raut, 2015).



Gambar 2.1 (a) LDPE, (b) Struktur Polietilen (Sen and Raut, 2015).

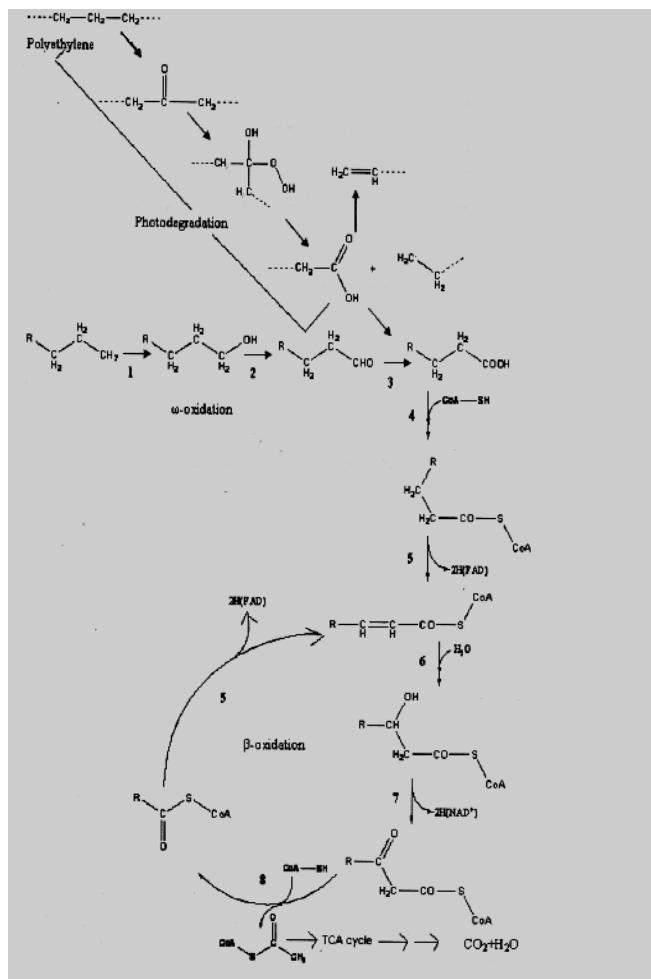
2.2 Biodegradasi Plastik

Material polimer yang dilepas ke alam dapat mengalami proses degradasi secara fisika, kimia maupun biologis, atau kombinasi ketiganya. Proses degradasi tersebut terjadi karena adanya kelembaban, udara, suhu, energi radiasi yang tinggi (UV, dan radiasi sinar Gamma) atau mikroorganisme. Proses fisika dan kimia memiliki pengaruh lebih besar dibanding dengan proses biologis, tetapi pada akhir dari proses fisika dan kimia tetap membutuhkan degradasi mikroba untuk melengkapi proses degradasi (Arutchelvi *et al.*, 2008).

Biodegradasi adalah proses di mana mikroorganisme seperti jamur, bakteri dan yeast mendegradasi polimer alam (lignin, selulosa) dan polimer sintetis (polietilen, polisterin). Mikroorganisme memiliki karakteristik yang berbeda, sehingga proses degradasi yang dilakukan oleh satu mikroorganisme dengan mikroorganisme lainnya juga berbeda. Mikroorganisme menurunkan polimer seperti polietilen, poliuretan dengan menggunakan sebagai substrat untuk pertumbuhan mereka. Berbagai faktor yang mempengaruhi proses biodegradasi adalah jenis polimer, karakteristik organisme, dan jenis perlakuan yang diberikan (Bhardwaj *et al.*, 2012).

Mekanisme biodegradasi pada polimer polietilen (Gambar 2.2) dapat terjadi melalui dua jalur, yaitu jalur fotodegradasi dan ω -Oksidasi. Fotodegradasi bertujuan untuk memicu proses degradasi oksidatif polietilen dengan menggunakan radiasi UV. Radiasi UV menyebabkan pembentukan radikal, diikuti dengan penambahan oksigen sehingga menghasilkan produk akhir gugus karboksil. Penambahan UV menyebabkan gugus karbonil mengalami pemutusan rantai C-C dan menyebabkan berat molekul dari polietilen turun. Penurunan berat molekul polietilen menyebabkan polimer bersifat hidrofilik. Proses fotooksidasi menyebabkan mikroorganisme lebih mudah untuk mendegradasi polimer polietilen. Hasil akhir dari fotodegradasi dan ω -Oksidasi adalah asam karboksilat yang akan masuk dalam jalur β -Oksidasi. 2

asetil CoA-SH akan memasuki siklus TCA. Hasil sempurna pada reaksi tersebut akan menghasilkan hasil akhir CO_2 dan H_2O (Arutchelvi *et al.*, 2008).



Gambar 2.2 Mekanisme Biodegradasi Polietilen (Vasile dalam Arutchelvi *et al.*, 2008).

Contoh mikroorganisme yang melakukan degradasi melalui jalur tersebut adalah *Arthobacter parraffineus* yang dapat mendegradasi LDPE selama 3 tahun. Bakteri ini dapat menghasilkan asam karboksil dengan oksidasi termal dan pada mekanisme β -Oksidasi menghasilkan asetil CoA dan propinil CoA (Arutchelvi *et al.*, 2008).

Mikroorganisme melakukan proses degradasi terhadap polimer plastik dengan beberapa tahapan, yaitu biodeteriorasi, biofragmentasi, asimilasi, dan mineralisasi. Proses biodeteriorasi terjadi ketika mikroorganisme seperti bakteri, jamur, ganggang dan protozoa mulai penempel pada permukaan polimer plastik. Polimer plastik yang berasal dari unsur karbon dan nitrogen menjadi sumber energi untuk pertumbuhan dan memproduksi molekul sederhana. Beberapa spesies dari organisme dapat mensekresikan biofilm yang terbuat dari polisakarida dan protein hasil pemecahan polimer. Biofilm akan membantu mikroorganisme untuk tetap menempel pada polimer dan membantu menembus struktur pori dari polimer plastik. Pertumbuhan mikroorganisme yang meningkat menyebabkan meningkatnya ukuran pori dan menimbulkan keretakan pada polimer plastik, sehingga struktur polimer tidak stabil. Spesies mikroorganisme yang berkembang pada permukaan polimer berperan dalam biodeteriorasi kimia. Bakteri chemolitotroph melepaskan senyawa anorganik seperti ammonia, nitrit, hidrogen sulfida, thiosulfat, dan sulfur. Mikroorganisme chemoorganotroph menghasilkan asam organik seperti asam oksalat, sitrat, glukonat, glutarat, gliokalik, oksaloasetat, dan asam fumarat. Senyawa-senyawa tersebut dapat mengubah permukaan polimer plastik (Guzman *et al.*, 2011).

Biofragmentasi merupakan tahapan penting untuk asimilasi molekul. Pada proses ini polimer dengan berat molekul tinggi tercepal menjadi campuran oligomer atau monomer. Mikroorganisme mensekresikan enzim untuk memotong ikatan polimer. Enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme dalam

proses ini adalah oksidoreduktase dan hidrolase (Guzman *et al.*, 2011). Beberapa jenis enzim yang dapat membantu dalam proses degradasi plastik adalah laccase. Laccase dapat membantu dalam oksidasi ikatan hidrokarbon pada polietilen. Laccase dapat mengkatalisis oksidasi senyawa aromatik. Enzim papain dan urease merupakan dua enzim proteolitik yang dapat menurunkan polimer poliuretan poliester. Selain itu terdapat enzim lignin peroksidase (LiP), Mangan peroksidase (MnP) dan laccase yang merupakan tiga enzim utama dalam sistem lignolitik yang juga berperan dalam degradasi polimer plastik (Bhardwaj *et al.*, 2012).

Proses biodegradasi diakhiri dengan proses asimilasi. Spesies mikroorganisme tertentu mengasimilasi senyawa dari proses fragmentasi. Proses asimilasi dapat merangsang atau bahkan dapat menghambat pertumbuhan dari mikroorganisme. Monomer plastik ditransfer ke dalam sel mikroorganisme melalui membran khusus. Molekul yang diserap oleh mikroorganisme dapat digunakan sebagai sumber karbon dan sumber energi. Produk akhir dari metabolisme mikroorganisme akan menghasilkan biomassa, CO₂, H₂O dan CH₄. Proses mineralisasi adalah produk akhir yang dikelurkan ke lingkungan, seperti CO₂, H₂O dan CH₄ (Guzman *et al.*, 2011).

2.3 Mikroorganisme Air Sampah

Sampah (*solid waste*) secara umum dapat diartikan sebagai semua buangan yang dihasilkan dari aktivitas manusia atau hewan yang tidak diinginkan atau digunakan lagi, baik berbentuk padat atau setengah padat (Tchobanoglous, 1993). Sampah memiliki sifat fisik yang menyebabkan kelembaban dan *Field capacity*. Kelembaban ini dipengaruhi oleh komposisi sampah, musim tiap tahunnya, kondisi cuaca terutama di musim hujan. Kelembaban pada sampah kan menghasilkan air sampah. Sampah memiliki sifat *Field capacity*, yakni jumlah air yang dapat tertahan dalam sampah dan dapat keluar dari sampah akibat daya gravitasi. Air yang keluar dari sampah tersebutlah yang disebut dengan air

sampah, dimana jika semakin banyak air sampah yang dihasilkan dan masuk kedalam air tanah maka air tersebutlah yang biasa disebut dengan air lindi (*Leachate*) (Hariastuti, 2013). Faktor yang mempengaruhi kualitas air sampah yaitu usia, curah hujan, cuaca musiman, jenis limbah dan komposisi serta mikroorganisme yang berperan dalam proses dekomposisi sampah.

Konsentrasi bahan organik pada air sampah ini dipengaruhi oleh proses dekomposisi sampah. Proses dekomposisi sampah secara biologis terjadi dalam dua tahapan, yaitu aerob dan anaerob. Proses dekomposisi sampah secara aerob berada di lapisan bagian atas TPA, yang memungkinkan masih terdapat oksigen yang dibawa oleh air hujan. Pada tahap aerob terjadi peningkatan proses fermentasi acetogenik yang menyebabkan produksi air sampah dengan konsentrasi BOD, COD dan nitrogen ammonia yang tinggi. Tahap anaerob terjadi pada lapisan sampah yang tidak terdapat oksigen. Tahapan ini terdiri dari dua fase, yaitu fase asam dan fase metanogen (Yu, 2007).

Air sampah selain mengandung materi organik dan anorganik juga mengandung mikroorganisme. Mikroorganisme tersebut berasal dari proses dekomposisi sampah di TPA yang ikut terlarut oleh air hujan(Yu, 2007). Penelitian yang dilakukan oleh Nwabueze (2011) menunjukkan bahwa dalam air sampah terdapat beberapa mikroorganisme seperti *Escherichia coli*, *Pseudomonas flourescens*, *Streptococcus feacalis*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Bacillus* spp., *Flavobacterium* spp., spora saprofit and protozoa berflagella yang belum teridentifikasi. Mikroorganisme dalam air sampah tersebut berpotensi dapat mendegradasi plastik, seperti *Pseudomonas flourescens* mendegradasi PVC dan *Bacillus* spp. dapat mendegradasi polietilen (Bhardwaj *et al.*, 2012).

2.4 Mikroorganisme Tanah Sampah

Mikroorganisme merupakan makhluk hidup dengan ukuran mikroskopis yang mencakup bakteri, jamur (yeast dan molds), protozoa, mikroalga dan virus (Tortora *et al.*, 2010). Mikroorganisme memiliki kemampuan untuk mendegradasi senyawa organik maupun anorganik baik yang ada di tanah, perairan maupun tempat pengolahan limbah (Dwipayana dan Ariesyady, 2011). Tanah sampah merupakan tanah yang kaya akan bahan organik maupun bahan anorganik. Bahan-bahan tersebut dapat di manfaatkan oleh mikroorganisme sebagai sumber energi dengan proses dekomposisi (Yu, 2007)

Proses Dekomposisi sampah secara biologis dipengaruhi oleh beberapa mikroorganisme yang berasosiasi pada tumpukan sampah. Proses pembusukan sampah secara aerobik memerlukan mikroba pengurai seperti bakteri, fungi, yeast, dan *Actinomycetes* sp (Suryariani, 2002). Saraswati *et al.* (2006) menjelaskan bahwa beberapa mikroorganisme yang sering berasosiasi dalam tumpukan sampah terbagi atas mikroorganisme termofil dan mesofil. Mikroorganisme termofil terdiri dari *Torula thermophile*, *Bacillus* spp., *Thermoactinomycetes* spp., *Microphyllospora* spp., *Aspergilus* spp., sedangkan mikroorganisme mesofil terdiri dari *Streptomyces* spp., *Penicillium* spp., *Pseudomonas* spp., *Clostridium* spp, *Alternaria* spp. Dari spesies tersebut terdapat beberapa spesies mikroorganisme seperti *Bacillus* spp, *Aspergilus* spp, *Streptomyces* spp., *Penicillium* spp., *Pseudomonas* spp., *Clostridium* spp. yang dapat mendegradasi polimer plastik (Sen and Raut, 2015).

Jumlah mikroorganisme yang berada di tanah sampah sangat bervariasi. Usha (2011) menyatakan jumlah mikroorganisme heterotrof yang dapat diisolasi dari tanah sampah terdiri dari populasi bakteri pada kantong plastik polietilen berkisar $62,71 \times 10^4$, populasi jamur berkisar $36,24 \times 10^4$, dan populasi *Actinomycetes* berkisar $68,54 \times 10^4$. Peningkatan jumlah mikroorganisme heterotrof dalam tanah sampah berbanding lurus

dengan penurunan jumlah polimer plastik yang ada di tanah sampah. Ainiyah and Shovitri (2014) menyebutkan bahwa mikroorganisme tanah sampah mampu mendegradasi plastik dengan persentase kehilangan berat kering plastik putih bening rata-rata per bulan sebesar 1% dan hitam sebesar 1,87%.

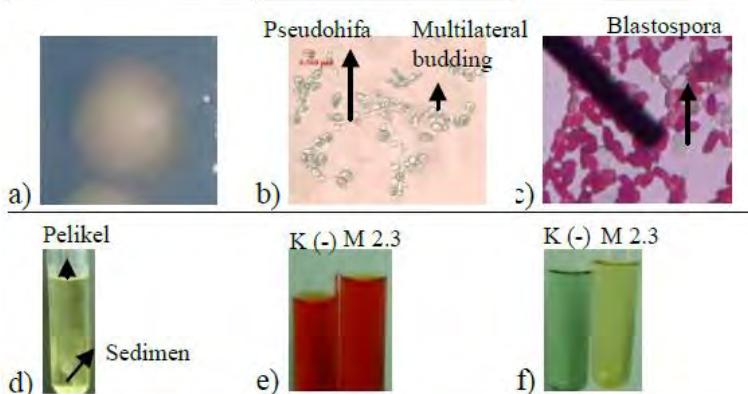
2.5 Yeast

Yeast merupakan organisme eukariotik, bersifat heterotrof, dinding selnya mengandung kitin, tidak berfotosintesis, mensekresikan enzim ekstraseluler ke lingkungan dan memperoleh nutrien dengan cara absorpsi (Gandjar *et al.*, 2006). Yeast juga disebut sebagai fungi uniseluler yang bersifat mikroskopis dengan ukuran 1-5 x 1-10 μm . Yeast dapat dibedakan atas dua kelompok berdasarkan jalur metabolismenya yaitu bersifat fermentatif dan oksidatif. Metabolisme fermentatif dapat melakukan fermentasi alkohol yaitu memecah gula (glukosa) menjadi alkohol dan gas, sedangkan metabolisme oksidatif (respirasi) akan menghasilkan carbon dioksida dan air. Yeast melakukan kedua jalur tersebut untuk menghasilkan energi walaupun energi yang dihasilkan melalui respirasi lebih tinggi dari pada fermentasi (Fardiaz, 1992).

Yeast memiliki kemampuan mendegradasi polimer plastik karena yeast dapat mengeluarkan enzim ekstraseluler seperti pada spesies *Aureobasidium pullulans*. *A. pullulans* memiliki beberapa jenis enzim ekstraseluler yaitu amilase, cellulase, lipase, protease, xilanase, β -fructofuranosidase, maltosyltransferase, mannanase, and laccase (Gostincar *et al.*, 2014). *A. pullulans* juga memiliki enzim hidrolase berupa esterase yang dapat menghidrolisis poliester (Leja, 2010). Spesies yeast *A. pullulans*, *Rhodotorula aurantiaca* and *Kluyveromyces* spp. dapat melakukan biodeteriorasi dan kolonisasi pada PVC (Usha, 2011).

Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Jurusan Biologi memiliki koleksi inokulum yeast M 2.3 yang diisolasi dari rhizosphere *Avicennia marina* mangrove Wonorejo yang

kerakteristiknya cenderung terhadap genus *Candida* (Gambar 2.3) (Zunaidah and Alami, 2014). Menurut Bhardwaj *et al.*, (2012) *Candida* dapat mendegradasi polimer plastik jenis poliuretan dengan enzim esterase dan urease.



Gambar 2.3 Karakter Inokulum Yeast M 2.3

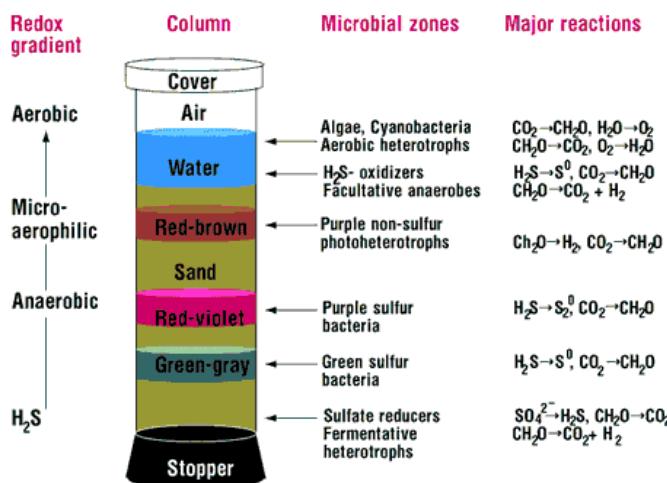
Keterangan: (a) koloni berbentuk sirkuler, (b) sel berbentuk oval pendek hingga ellips, membentuk pseudohifa, reproduksi vegetative dengan multilateral budding, (c) blastospora dan sel vegetatif warna merah (d) pelikel di permukaan media dan sedimen di dasar media, (e) uji urease (-), K (-) warna merah orange, dan (f) fermentasi glukosa (+), K (-) warna hijau (Zunaidah dan Alami, 2014).

2. 6 Kolom Winogradsky

Kolom Winogradsky pertama kali ditemukan oleh seorang ahli mikrobiologi dari Rusia yang bernama Sergei Winogradsky (1856–1953). Winogradsky pertama kali menggunakan kolom ini pada akhir abad ke sembilan belas untuk mempelajari organisme tanah. Kolom Winogradsky dibuat dengan mengisi setengah tabung silinder dengan substrat yang kaya bahan organik dan ditambah dengan air yang berasal dari air laut maupun air kolam, kemudian bagian atas tabung ditutup untuk mencegah penguapan.

Substrat yang ditambahkan akan mempengaruhi organisme yang hidup pada tabung tersebut. Sehingga kolom Winogradsky dapat dikatakan sebagai ekosistem mikrobia buatan yang berfungsi sebagai sumber kultur bakteri jangka panjang (Madigan *et al.*, 2012).

Kolom Winogradsky akan memungkinkan beragam komunitas mikroorganisme untuk berkembang. Kolom Winogradsky yang dibiarkan beberapa bulan akan membentuk lapisan zona seperti gambar di atas. Zona ini akan membedakan tingkatan mikroorganisme yang hidup di lapisan tersebut sesuai dengan kebutuhan metabolismenya.



Gambar 2.4 Stratifikasi Kimia pada Kolom Winogradsky (NAU, 2008).

Tiga zonasi yang terbentuk dalam kolom Winogradsky (Gambar 2.4) yaitu menurut (Rogan *et al.*, 2005):

- Zona Aerobik (Tersedia Oksigen): Bagian atas kolom air ditandai dengan warna bening hingga coklat muda. Bagian ini paling kaya oksigen dan miskin sulfur.

- Alga, Alga atau Cyanobacteria dapat tumbuh di zona ini dan melakukan fotosintesis. Daerah ini. Zona ini ditandai dengan warna hijau.
 - Dekomposer aerobik, sedimen lumpur yang berada pada bagian bawah memungkinkan sulfur akan menyebar ke bagian zona aerobik dan teroksidasi menjadi sulfat oleh bakteri seperti Beggiatoa dan Thiobacillus. Bakteri ini memperoleh energi dari oksidasi hidrogen sulfida (H_2S), dan mensintesis bahan organik dari karbon dioksida (CO_2). Mikroorganisme ini disebut dengan chemoautotrof.
- b. Zona Mikroaerofilik (sedikit oksigen): Dalam zona ini, oksigen berdifusi turun ke permukaan dengan konsentrasi yang sedikit. Sulfur dari bagian bawah kolom sudah mulai bergerak ke atas dalam bentuk H_2S . H_2S yang berdifusi dari sedimen ke kolom air memungkinkan zona ini bersifat anaerobik.
- *Purple dan Green sulfur bacteria*: bakteri ini ditandai dengan zona yang berwarna cerah tepat di atas sedimen. zona *Green sulfur bacteria*, seperti Chlorobium, ditandai dengan warna hijau yang menunjukkan kondisi anaerobik berkembang. Zona bakteri *Purple sulfur bacteria*, seperti Rhodospirillum dan Rhodopseudomonas, menunjukkan warna merah hingga orange karat.
- c. Zona anaerobik (tanpa oksigen): Satu-satunya organisme yang dapat tumbuh dalam kondisi anaerob adalah mikroorganisme yang dapat melakukan fermentasi bahan organik dan melakukan respirasi secara anaerobik.
- Reduksi Sulfat: Ada tiga tingkatan dasar yang terbentuk pada lapisan terendah dari kolom. Pada tingkat pertama terdapat *Purple sulfur bacteria*, seperti Chromatium yang membentuk lapisan berwarna merah ke ungu. Bakteri ini mengubah Sulfat ke Sulfur. Pada titik kedua terdapat Gallionella, melakukan reduksi besi untuk membantu menciptakan lapisan hitam pada bagian bawah. Tingkat ini ditandai dengan warna orange atau warna karat yang kuat.

- Fermentasi: Beberapa spesies *Clostridium* mereduksi selulosa dan memfermentasi glukosa pada keadaan anaerob untuk mendapat energi. Zona ini ditandai dengan warna hitam pekat.

Kolom Winogradsky telah digunakan untuk mengkultur mikroorganisme yang bersifat aerob maupun anaerob. Kolom Winogradsky selain memberikan sumber makanan inokulum untuk kultur pengayaan, kolom ini juga dapat dilengkapi dengan senyawa tertentu untuk menguji hipotesis bahwa organisme dalam inokulum dapat melakukan degradasi. Mikroorganisme dalam inokulum ini dapat dibuat kultur murni (Madigan *et al.*, 2012).

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

BAB III

METODOLOGI

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari – Juni 2015 di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi, Jurusan Biologi FMIPA ITS Surabaya.

3.2 Metode yang Digunakan

3.2.1 Pengambilan air sampah

Air sampah yang digunakan merupakan air pada tumpukan sampah di TPA Benowo Surabaya. Air sampah disaring dengan saringan kasar untuk memisahkan air dengan serpihan sampah. Filtrat hasil penyaringan disaring ulang menggunakan kertas saring Whatman grade 1 dengan ukuran pori-pori 11 µm. Grade kertas saring dipilih berdasarkan pada ukuran bakteri yang memiliki diameter 0,2 – 2,0 µm dan panjang 2 – 8 µm (Tortora *et al.*, 2010), sehingga mikroplankton memiliki ukuran berkisar antara 20 - 200 µm (Castro *et al.*, 2003) dapat terpisah dari air sampah. Filtrat air sampah yang dibutuhkan adalah sebanyak 350 ml untuk setiap kolom Winogradsky.

3.2.2 Pembuatan starter inokulum kultur campuran tanah sampah dari kolom Winogradsky

Inokulum mikroorganisme yang digunakan merupakan inokulum campur dari tanah sampah penelitian yang dilakukan oleh Ainiyah and Shovitri (2014). Pertama dilakukan pembuatan subkultur sebanyak 3 kali. Subkultur-1 adalah 1 ml inokulum kultur campuran tanah sampah dari kolom Winogradsky dimasukkan dalam 9 ml medium *Nutrient Broth* (NB) dan diinkubasi selama 24 jam. Subkultur-2 adalah 5 ml subkultur-1 diinokulasikan dalam medium NB 50 ml dan diinkubasi selama 24 jam. Subkultur-3 adalah 10 ml subkultur-2 diinokulasikan dalam medium NB 100 ml dan diinkubasi selama 24 jam.

Subkultur-3 sebanyak 100 ml digunakan untuk membuat starter sebanyak 500ml. Starter dimasukkan dalam medium *Mineral Salt Medium* (MSM) dengan perbandingan 70% medium MSM : 30% starter. Starter dalam medium MSM dilihat kurva pertumbuhannya menggunakan Spektrofotometer dengan panjang gelombang 600nm, dengan pengamatan setiap 24 jam. Starter yang digunakan adalah 10% dari total medium dalam kolom Winogradsky.

3.2.3 Pembuatan starter Inokulum Yeast M 2.3

Proses pembuatan starter untuk inokulum yeast M 2.3 dimulai dengan peremajaan inokulum yeast M 2.3 melalui beberapa tahap. Subkultur-1 adalah 1 ose kultur murni inokulum yeast M 2.3 diinokulasikan dengan cara digores di atas medium *Yeast Malt Extract Agar* (YMEA) miring dan diinkubasi selama 24 - 48 jam. Subkultur-2 adalah 1 ose subkultur-1 dimasukkan dalam 10 ml medium *Yeast Malt Broth* (YMB) dan diinkubasi selama 24 - 48 jam. Subkultur-3 adalah 5 ml subkultur-2 diinokulasikan dalam medium YMB 50 ml dan diinkubasi selama 24 - 48 jam. Subkultur-4 adalah 10 ml subkultur-3 diinokulasikan dalam medium YMB 100 ml dan diinkubasi selama 24 - 48 jam. Subkultur-3 sebanyak 100 ml digunakan untuk membuat starter sebanyak 500ml. Starter dimasukkan dalam medium *Mineral Salt Medium* (MSM) dengan perbandingan 70% medium MSM : 30% starter. Starter dalam medium MSM dilihat kurva pertumbuhannya menggunakan Spektrofotometer dengan panjang gelombang 540nm, dengan pengamatan setiap 24 jam. Starter yang digunakan adalah 10% dari total medium dalam kolom Winogradsky.

3.2.4 Persiapan plastik uji

Plastik uji yang digunakan adalah kantong plastik belanja (tas kresek) dengan warna hitam dikodekan dengan H dan putih dikodekan dengan P, serta plastik transparan bungkus makanan yang beredar di pasaran dikodekan dengan T. Plastik uji dipotong

dengan ukuran 10 x 3 cm, masing-masing plastik uji disterilkan dengan direndam alkohol 70% selama kurang lebih 30 menit dan dikering anginkan sekaligus dengan UV pada LAF (Bio 60-M) selama kurang lebih 30 menit. Selanjutnya plastik uji dioven pada suhu 80 °C selama 24 jam. Plastik uji ditimbang menggunakan *Analytical balance* (Shimadzu) untuk mengetahui berat kering awal plastik. Plastik diberi tanda supaya mudah untuk dibedakan. Plastik di UV pada LAF kembali untuk menyeterilkan plastik uji.

3.2.5 Biodegradasi plastik

Metode biodegradasi plastik yang digunakan adalah Kolom *Winogradsky* sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Ainiyah and Shovitri (2014). Inokulum yang digunakan dalam tahap biodegradasi ini adalah inokulum air sampah dengan kode S, inokulum campur koleksi laboratorium hasil inkubasi dengan kode X, dan inokulum yeast M 2.3 dengan kode Y. Kontrol negatif dibuat tanpa penambahan inokulum mikroorganisme pada kolom *Winogradsky* dengan kode K dan kontrol air sampah steril dengan kode KS. Biodegradasi plastik dilakukan dengan variasi seperti yang tertera pada Tabel 3.1. Proses biodegradasi ini menggunakan botol plastik berukuran 600 ml, berisi pasir steril 300 gram dan 350 ml medium MSM untuk inokulum kode K. Botol *Winogradsky* untuk inokulum kode S berisi 300 gram pasir steril dan 350 ml filtrat air sampah. Kolom *Winogradsky* untuk masing-masing inokulum dibuat 3 kali ulangan untuk 3 jenis plastik dengan kode H, P, dan T.

Plastik dimasukkan ke dalam medium yang telah berisi inokulum mikroorganisme uji dengan menggunakan pinset steril hingga terendam dalam medium. Proses biodegradasi ini dilakukan selama 3 bulan dengan metode destruktif untuk setiap tiap 3 minggunya dengan pemanenan sebanyak 4 kali. Biodegradasi terjadi apabila terdapat selisih penurunan antara berat kering plastik setelah inkubasi dengan berat kering awal plastik.

Tabel 3.1 Variasi Perlakuan Plastik Uji

Kode		Jumlah Plastik Uji	Jumlah inokulum (ml)	Jumlah MSM (ml)	Jumlah air sampah (ml)
S	H	3	-	-	350
	P	3	-	-	350
	T	3	-	-	350
Y	H	3	35	315	-
	P	3	35	315	-
	T	3	35	315	-
X	H	3	35	315	-
	P	3	35	315	-
	T	3	35	315	-
K	H	3	-	350	-
	P	3	-	350	-
	T	3	-	350	-
KS	H	3	-	-	350
	P	3	-	-	350
	T	3	-	-	350

Keterangan:

X : Inokulum kultur campur koleksi laboratorium;

S : Inokulum air sampah

Y : Inokulum yeast M 2.3

K : Kontrol MSM steril

KS : Kontrol Sampah steril

H : Plastik hitam

P : Plastik putih

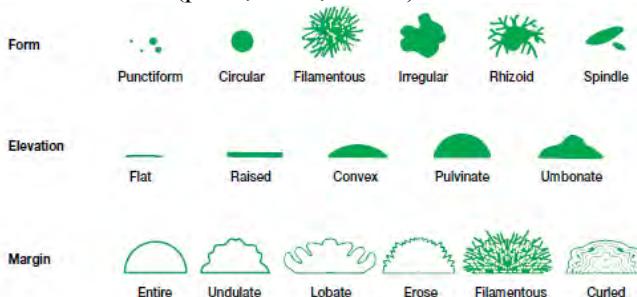
T : Plastik transparan bungkus makanan

3.2.6 Karakterisasi dan perhitungan koloni mikroorganisme

Inokulum mikroorganisme dari kolom Winogradsky diencerkan menggunakan metode Serial Dilution, sedangkan untuk karakterisasi dan perhitungan mikroorganisme digunakan metode *Total Plate Count* (TPC). Inokulum diambil menggunakan pipet volume sebanyak 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml akuades steril, kemudian dihomogenkan dengan vortex. Tabung ini disebut dengan

pengenceran 10^{-1} . Kemudian dari Pengenceran 10^{-1} diambil sebanyak 1 ml dan dipindahkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml akuades steril untuk pengenceran 10^{-2} . Pengenceran tersebut dilanjutkan hingga didapatkan pengenceran 10^{-10} . Hasil dari pengenceran 10^{-1} hingga 10^{-10} diambil sebanyak 100 μl menggunakan mikropipet kemudian dipindahkan ke dalam cawan petri yang sudah berisi *Nutrient agar* (NA) untuk bakteri dan YMEA untuk yeast. Inokulum diratakan keseluruh bagian medium dan diinkubasi pada suhu ruang selama 24 - 48 jam. Setiap pengenceran dilakukan ulangan sebanyak 3 kali. Koloni mikroorganisme yang tumbuh pada permukaan medium NA dan YMEA dihitung jumlahnya dan dikarakterisasi dengan karakter koloni bakteri (Tabel 3.4) menurut Harley and Prescott (2002), meliputi :

- 1) Bentuk koloni (*Form*) : *Punctiform, Circular, Filamentous, Irregular, Rhizoid, Spindle*
- 2) Permukaan koloni (*Elevation*) : *Flat, Raised, Convex, Pulvinate, Umbonate*
- 3) Tepi koloni (*Margin*) : *Entire, Erose, Lobate, Undulate, Filament, Curled*
- 4) Warna koloni : bewarna (ungu, merah kuning) dan tidak berwarna (putih, krem, coklat).



Gambar 3.1 Karakteristik Koloni Bakteri pada Medium Agar (Harley and Prescott, 2002).

3.2.7 Pengukuran *Optical Density (OD)* mikroorganisme di kolom air dan biofilm

Pengukuran *Optical Density (OD)* bertujuan untuk perhitungan kuantitatif mikroorganisme pada biofilm dan kolom air Winogradsky. Pengukuran OD dilakukan setiap 3 minggu sekali pada waktu pemanenan plastik selama masa inkubasi dengan masing-masing 3 kali ulangan untuk setiap kolom Winogradsky. Pengukuran OD biofilm dilakukan dengan cara memisahkan potongan plastik dari biofilm mikroorganisme sesuai dengan metode modifikasi yang digunakan oleh Ainiyah and Shovitri (2014). Potongan plastik hasil panen dimasukkan kedalam botol falcon berisi 30 ml Akuades steril dan divortex dengan kecepatan 2000 rpm selama 30 detik. Proses ini diulangi sebanyak 5 kali untuk membersihkan biofilm. Biofilm yang telah terpisah dari plastik kemudian diukur densitasnya menggunakan spektrofotometer. Inokulum kode S, X, K dan KS diukur dengan Spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm dan 540nm. Sedangkan inokulum kode Y diukur dengan Spektrofotometer dengan panjang gelombang 540 nm.

Pengukuran OD kolom air pada Inokulum kode S, X dan Y diambil menggunakan pipet steril sebanyak 2 ml dari kolom Winogradsky dan dimasukkan dalam kuvet, pengambilan dilakukan secara steril. Inokulum S dan X diukur menggunakan Spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm. Sedangkan inokulum Y diukur dengan Spektrofotometer dengan panjang gelombang 540 nm.

3.2.8 Presentasi kehilangan berat plastik

Pengukuran kehilangan berat plastik dilakukan dengan cara menghitung selisih berat plastik uji sebelum dan setelah proses degradasi. Setiap 3 minggu 3 potongan plastik untuk masing-masing plastik uji diambil dari kolom Winogradsky dengan menggunakan pinset secara aseptis. Plastik dipisahkan dari biofilm seperti pada metode pengukuran OD biofilm. Plastik uji

kemudian disterilisasi dengan alkohol 70% dan dikeringanginkan. Setelah kering, plastik uji dimasukkan kedalam oven pada suhu 80°C selama 24 jam dan ditimbang berat keringnya. Berikut rumus perhitungan persentase kehilangan berat plastik menurut Rohaeti (2009):

$$\text{Persentase Kehilangan Berat} = \frac{W_i - W_f}{W_i} \times 100 \% \quad (1)$$

Keterangan:

W_i = berat kering awal sebelum degradasi (gram);
 W_f = berat kering akhir setelah proses degradasi (gram).

3.3 Rancangan Penelitian dan Analisis Data

Rancangan penelitian yang dilakukan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan menggunakan 3 kali pengulangan destruktif dengan perhitungan degradasi plastik setiap 3 minggu sekali selama 4 bulan. Hasil yang diperoleh berupa kurva pertumbuhan mikroorganisme (Tabel 3.2) dan kurva degradasi plastik (Tabel 3.3),

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan uji *Analysis of varians* (ANOVA) satu arah (*one way*). ANOVA-*One way* merupakan analisis perbandingan untuk membandingkan apakah terdapat perbedaan rata-rata dari 2 atau lebih kelompok data dari suatu kategori tertentu (Ho, 2006). Uji ANOVA membandingkan hasil degradasi ketiga sumber inokulum terhadap masing-masing plastik uji. Hipotesis yang digunakan yaitu,

- H0: hasil degradasi setiap sumber inokulum tidak berpengaruh signifikan terhadap degradasi plastik uji
H1: hasil degradasi setiap sumber inokulum berpengaruh signifikan terhadap plastik uji.

Analisis data lanjutan yang digunakan adalah uji statistik *Tukey's multiple range* dengan signifikansi $p \leq 0.05$.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Biodegradasi Plastik

Uji biodegradasi plastik dalam penelitian ini menggunakan metode kolom Winogradsky (Gambar 4.1) dengan menggunakan inokulum berupa mikroorganisme yang berasal dari air sampah TPA Benowo (Inokulum S), inokulum campur koleksi laboratorium (Inokulum X) yang sebelumnya sudah terdeteksi mampu mendegradasi plastik, serta inokulum yeast M 2.3 (Inokulum Y) yang juga merupakan koleksi laboratorium. Inokulum Y kedekatannya cenderung terhadap genus *Candida* (Zunaidah dan Alami, 2014) dengan nilai indeks lipolitik 1,73. Pada penelitian ini inokulum X digunakan untuk mengetahui peningkatan kemampuannya dalam mendegradasi plastik, karena inokulum X sudah teradaptasi pada medium MSM. Sedangkan inokulum S digunakan untuk mendapatkan kandidat kultur mikroorganisme baru yang mampu mendegradasi plastik. Hasil degradasi plastik inokulum X dan S akan dibandingkan dengan inokulum Y. Plastik yang diukur degradasinya adalah kantong plastik belanja warna hitam dan putih serta plastik transparan bungkus makanan, dimana fokus dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh jenis inokulum terhadap satu warna plastik.

Kolom Winogradsky merupakan ekosistem buatan yang memungkinkan beragam mikroorganisme dapat berkembang dan membentuk stratifikasi sesuai dengan kebutuhan elektron donor dan aseptornya (Madigan *et al.*, 2012). Pada penelitian ini kolom Winogradsky diisi dengan pasir dan medium mineral untuk inokulum X dan inokulum Y, sedangkan untuk inokulum S diisi dengan pasir dan substrat alami berupa air sampah sebagai sumber inokulum mikroorganisme. Potongan plastik yang ditanam pada substrat pasir diukur persentase degradasi plastiknya, kerapatan sel pada biofilm dan kolom air, serta pH kolom air selama 12 minggu masa inkubasi, dengan interval pengukuran 3 minggu sekali.



Gambar 4.1 Kolom Winogradsky Biodegradasi Plastik Hitam, Putih dan Transparan.

Biodegradasi plastik merupakan proses pemecahan polimer plastik oleh mikroorganisme menjadi oligomer dan monomer penyusunnya dengan mengeluarkan enzim ekstraseluler dan intraseluler pada proses biodegradasi ini. Enzim ekstraseluler disekresikan untuk memotong ikatan polimer menjadi monomer (Shah *et al.*, 2008). Monomer plastik ditransfer ke dalam sel mikroorganisme melalui membran khusus. Molekul yang diserap oleh mikroorganisme dapat digunakan sebagai sumber karbon dan sumber energi. Produk akhir dari metabolisme mikroorganisme akan menghasilkan biomassa, CO₂, H₂O dan CH₄ (Guzman *et al.*, 2011).

Secara umum terlihat bahwa aplikasi inokulum dapat mendegradasi plastik hitam, putih dan plastik transparan bungkus makanan (Lampiran 3). Berdasarkan rata-rata persentase degradasi plastik, inokulum X memiliki kemampuan paling baik pada panen pertama dalam mendegradasi plastik hitam, putih maupun plastik transparan bungkus makanan. Inokulum X dalam mendegradasi plastik hitam (Tabel 4.1 dan Lampiran 7) pada setelah 3 minggu masa inkubasi, degradasi sudah terjadi dengan persentase yang cukup tinggi, yaitu 3,6% , sedangkan pada plastik

putih dan transparan (Tabel 4.2 dan Lampiran 7) setelah 3 minggu masa inkubasi degradasi plastik putih mencapai 2,3% dan untuk plastik transparan mencapai 2,6%. Degradasi optimal pada inokulum X terjadi setelah 9 minggu masa inkubasi (panen ke-3) plastik hitam dengan persentase degradasi sekitar 4,2% dan plastik putih sekitar 3,6%. Pada inokulum X (Lampiran 3) pola degradasi yang sama terlihat pada plastik hitam dan putih, sedangkan pada plastik transparan, inokulum X memperlihatkan penurunan degradasi dari panen pertama hingga panen ke-4. Hal tersebut menunjukkan bahwa inokulum X sudah teradaptasi dengan baik dalam mendegradasi plastik, sehingga hasil degradasinya menunjukkan pola yang stabil.

Tabel 4.1 Persentase Kehilangan Berat Plastik Hitam

Inokulum	Persen Kehilangan Berat Plastik (%)			
	3 Minggu	6 Minggu	9 Minggu	12 Minggu
Inokulum X	3.6a	3.6b	4.2 a	2.7a
Inokulum S	2.4a	4.9 a	3.5 a	2.0 ab
Inokulum Y	2.9a	3.4 b	0.5 b	3.9 a
K	0 b	0 d	0 b	0 b
KS	0.4b	2.2 c	0.8 b	0.2 b

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada analisa Tukey ANOVA dengan tingkat kepercayaan 0,05.

X : Inokulum kultur campur koleksi laboratorium;

S : Inokulum air sampah

Y : Inokulum yeast M 2.3

K : Kontrol MSM steril

KS : Kontrol sampah steril

Pada plastik hitam apabila dilihat dari pengaruh jenis inokulum (Tabel 4.1 dan Lampiran 3) menunjukkan nilai rata-rata degradasi yang berbeda untuk inokulum X, S dan Y. Kerapatan sel semua inokulum uji pada plastik hitam cenderung stabil dari setelah masa inkubasi 3 minggu hingga 12 minggu, hal tersebut membuktikan bahwa dengan kerapatan sel yang sama, ternyata masing-masing inokulum memiliki kemampuan yang berbeda dalam mendegradasi plastik. Inokulum X dan inokulum S lebih tinggi dalam mendegradasi plastik daripada inokulum Y. Namun berdasarkan presentase degradasi plastik hitam pada analisa statistika ANOVA-*One way* (Tabel 4.1 dan Lampiran 7) jenis inokulum X, S, dan Y menunjukkan tidak berbeda nyata secara signifikan terhadap kemampuannya mendegradasi plastik hitam selama masa inkubasi, kecuali pada panen ke-2 atau setelah 9 minggu masa inkubasi yang menunjukkan bahwa inokulum X, S dan Y.

Berdasarkan presentase degradasi plastik hitam, inokulum X dan S memiliki kemampuan degradasi lebih tinggi. Hal ini mungkin karena inokulum X sudah teradaptasi metabolismenya untuk mendegradasi plastik pada penelitian sebelumnya, dan inokulum S yang diambil dari tumpukan sampah juga teradaptasi untuk mendekomposisi tumpukan sampah segar dimana inokulum tersebut berasal. Konsorsium adalah kumpulan 2 atau lebih mikroorganisme baik bakteri maupun yeast, yang saling menguntungkan dalam sinergi proses metabolismenya (Willey, 2008). Inokulum konsorsium akan lebih optimal dalam melakukan suatu proses degradasi karena adanya perbedaan proses metabolisme yang bisa saja merupakan proses metabolisme bertingkat, ada satu mikroorganisme yang bertugas memecah polimer plastik menjadi monomer dan mikroorganisme yang memanfaatkan monomer dan produk samping hasil degradasi sebagai sumber karbon dan energinya (Shah *et al.*, 2008). Hal ini diduga juga terjadi pada inokulum X dan S dalam proses degradasi plastik uji.

Hasil dari penelitian ini juga didukung dengan pengukuran pH pada setiap panen. Menurut Das and Kumar (2015), nilai pH merupakan faktor kunci bagi kelangsungan hidup dan aktivitas mikroorganisme. Parameter pH diukur untuk mengetahui fluktuasi perubahan pH sebagai indikator adanya aktivitas dari mikroorganisme di dalam medium. Hasil pengukuran pH (Lampiran 3) pada setiap waktu panen adalah netral $7 \pm 0,3$ untuk setiap inokulum, kecuali pada inokulum Y yang memiliki nilai pH $8 \pm 0,3$. Perubahan pH menunjukkan adanya aktivitas metabolisme mikroorganisme berjalan untuk mendegradasi polietilen (Das and Kumar, 2015). Hasil akhir dari prorses biodegradasi menghasilkan asam karboksilat yang akan masuk dalam jalur β -Oksidasi dan siklus TCA yang menghasilkan asam organik seperti asam butirat, propionat, dan asetat. Adanya pembentukan asam-asam organik tersebut dapat menurunkan pH lingkungan. Derajat keasaman lingkungan dapat naik karena asam organik tersebut diuraikan lebih lanjut menjadi produk akhir CO_2 , H_2O dan CH_4 (Paramita *et al.*, 2012). Kestabilan pH kolom air juga bisa disebabkan oleh adanya mineral dalam medium seperti KH_2PO_4 , K_2HPO_4 yang dapat membentuk buffer pH (Madigan *et al.*, 2012).

Inokulum Y merupakan inokulum tunggal yeast M 2.3. Yeast merupakan mikroorganisme eukariotik. Yeast dapat mensekresikan enzim ekstraseluler ke lingkungan dan memperoleh nutrien dengan cara absorpsi (Gandjar *et al.*, 2006). Inokulum yeast yang digunakan merupakan genus *Candida*. Menurut Bhardwaj *et al.*, (2012), genus *Candida* memiliki enzim esterase yang dapat memecah gugus ester pada polimer plastik. Pada plastik hitam (Tabel 4.1 dan Lampiran 3) terlihat bahwa kemampuan inokulum Y berfluktuasi. Pada panen ke-3 kemampuan degradasi plastik turun, dan naik kembali pada panen ke-4. Ketidakstabilan ini mungkin karena inokulum merupakan inokulum tunggal. Sedangkan degradasi plastik memerlukan komplek enzim yang mungkin dihasilkan oleh lebih dari satu mikroorganisme (Sangale *et al.*, 2012).

Degradasi pada plastik putih dan transaparan memiliki pola yang sama dengan degradasi plastik dan hitam (Lampiran 3). Hanya saja pada plastik putih dan transparan, pertumbuhan inokulum Y sangat tinggi pada kolom air di panen ke-4. Ini menunjukkan bahwa inokulum Y lebih banyak hidup pada kolom air daripada di permukaan plastik membentuk biofilm. Kondisi ini mungkin merupakan salah satu penyebab rendahnya persentase degradasi plastik oleh inokulum Y dibandingkan dengan inokulum X dan inokulum S.

Tabel 4.2 Persentase Kehilangan Berat Plastik Putih dan Transparan

Plastik	Inokulum	Persen Kehilangan Berat Plastik (%)			
		3 Minggu	6 Minggu	9 Minggu	12 Minggu
Putih	Inokulum X	2.3 a	2.2 a	3.6 a	2.6 a
	Inokulum S	1.9 a	1.7 ab	2.5 a	1.2 ab
	Inokulum Y	2.0 a	1.7 ab	-1.2 b	1.2 ab
	K	0 b	0 c	0 b	0 b
	KS	0.1 b	0.8 bc	0 b	0 b
Transparan	Inokulum X	2.6 a	2.1 ab	0.9 b	0.7 bc
	Inokulum S	0.8 ab	2.3 a	4.0 a	2.3 ab
	Inokulum Y	1.9 ab	1.5 ab	-0.7 b	3.3 a
	K	1.0 ab	0 b	0.1 b	0.4 bc
	KS	0 b	0 b	0.7 b	0 c

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada analisa Tukey ANOVA dengan tingkat kepercayaan 0,05.

X : Inokulum kultur campur koleksi laboratorium;

S : Inokulum air sampah

Y : Inokulum yeast M 2.3

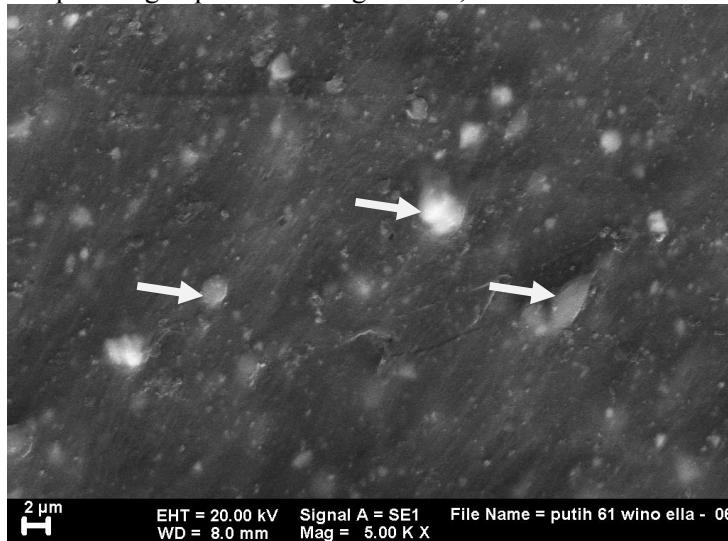
K : Kontrol MSM steril

KS : Kontrol sampah steril

Apabila pada plastik putih (Tabel 4.2 dan Lampiran 7) menunjukkan bahwa jenis inokulum X, S dan Y tidak berbeda

nyata secara signifikan terhadap persentase degradasi plastik. Hal berbeda terlihat pada plastik transparan (Tabel 4.2 dan Lampiran 7) setelah 12 minggu masa inkubasi. Pada plastik transparan menunjukkan bahwa jenis inokulum berbeda nyata secara signifikan terhadap persentase degradasi plastik.

Hasil degradasi plastik diperkuat dengan analisa SEM (Gambar 4.2). Plastik uji hasil penelitian ini dianalisis menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM) untuk melihat porositas akibat degradasi pada permukaan plastik. Sampel plastik yang digunakan berasal dari kolom Winogradsky setelah 9 minggu masa inkubasi dari plastik putih inokulum campur dengan persentase degradasi 4,4%.



Gambar 4.2 SEM pada Permukaan Plastik Putih Inokulum Campur (Inokulum X) dengan Magnifikasi 5.00 KX.

Keterangan gamar : tanda panah menunjukkan adanya partikel yang menempel.

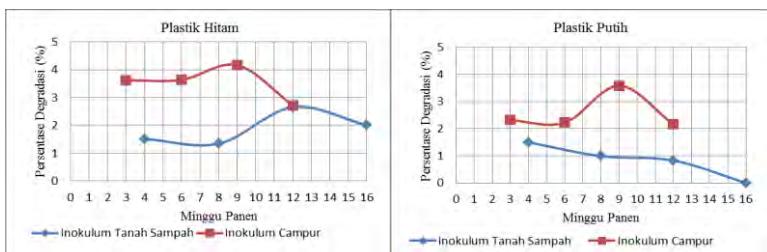
Analisa SEM dapat memperlihatkan perubahan struktur, pengikisan dan rongga pada permukaan plastik (Kavitha *et al.*, 2014). Hasil SEM (Gambar 4.2) tidak terlihat jelas adanya

perubahan struktur dan porositas pada permukaan plastik, hal ini kemungkinan karena plastik yang diuji merupakan plastik hasil daur ulang bertingkat dengan penambahan bahan aditif dan pewarna yang melapisi bagian permukaan plastik. Degradasasi yang berlangsung diduga terjadi pada lapisan terluar dari permukaan plastik, sehingga belum terbentuk porositas. Pada permukaan plastik terlihat adanya partikel yang menempel yang diduga sebagai partikel garam yang berasal dari medium MSM.

Pada penelitian ini, perlakuan kontrol juga menunjukkan adanya proses degradasi. Kontrol yang digunakan ada 2: yaitu (1) kontrol medium MSM steril tanpa inokulum (K) dan (2) kontrol air sampah steril (KS). Kontrol K menunjukkan hasil degradasi plastik 0% pada semua plastik uji dengan kerapatan sel di kolom air dan biofilm mendekati nilai 0. Namun pada kontrol sampah (KS) terjadi degradasi plastik dengan nilai paling tinggi pada plastik hitam setelah 6 minggu masa inkubasi mencapai 2,2% dan memiliki nilai kerapatan sel di biofilm plastik pada semua plastik uji , sedangkan untuk kerapatan sel di kolom air menunjukkan nilai yang mendekati 0 (Lampiran 3). Adanya sel yang tumbuh di biofilm kontrol KS diduga merupakan faktor penyebab degradasi plastik. Nilai persentase degradasi pada kontrol KS dapat digunakan sebagai faktor koreksi pada perlakuan uji.

4.2 Perbandingan Hasil Degradasi Plastik Inokulum Kultur Campur (Inokulum X) dengan Penelitian Terdahulu

Inokulum campur (inokulum X) koleksi laboratorium yang berasal dari penelitian terdahulu (Ainiyah and Shovitri, 2014) telah terbukti mampu mendegradasi plastik dengan persentase kehilangan berat kering plastik putih rata-rata per bulan sebesar 1% dan hitam sebesar 1,87%. Hasil degradasi inokulum X pada penelitian ini dibandingkan dengan hasil degradasi pada penelitian terdahulu dengan tujuan untuk mengetahui kemampuan degradasi plastik inokulum tanah sampah sesudah teradaptasi.



Gambar 4.3 Perbandingan Hasil Degradasi Plastik Hitam dan Putih antara Penelitian Ainiyah and Shovitri (2014) dengan Inokulum X.

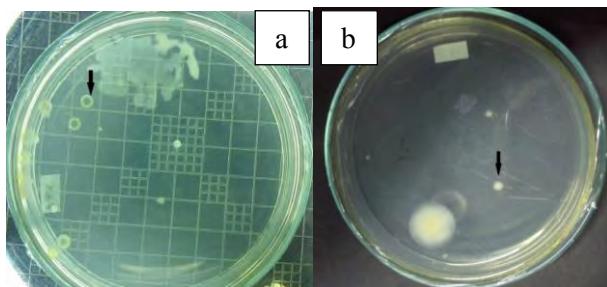
Gambar 4.3 menunjukkan bahwa nilai rata-rata persentase degradasi plastik putih dan hitam pada penelitian sekarang jauh lebih tinggi dengan inokulum X dari pada penelitian Ainiyah and Shovitri (2014). Ainiyah and Shovitri (2014) melaporkan setelah 4 minggu masa inkubasi, plastik hitam dan putih hanya dapat didegradasi sebanyak 1,5%. Sedangkan pada penelitian saat ini dengan waktu inkubasi 3 minggu, plastik hitam dapat didegradasi sebanyak 3,6% dan untuk plastik putih mencapai 2,3%. Degradasi plastik optimum pada plastik hitam dan putih terjadi pada minggu ke-9 dengan nilai 4,2% untuk plastik hitam dan 3,6% untuk plastik putih.

Biodegradasi senyawa organik oleh mikroorganisme dapat terjadi bila terjadi transformasi struktur senyawa sehingga terjadi perubahan integritas molekular. Proses ini berupa rangkaian reaksi kimia enzimatik atau biokimia. Kedua proses itu memerlukan kondisi lingkungan yang harus sesuai dengan pertumbuhan dan perkembangbiakan mikroorganisme (Sheehan *dalam* Nugroho, 2007). Mikroorganisme akan melakukan adaptasi untuk metabolisme tubuhnya terhadap lingkungan yang baru, dimana Inokulum pada penelitian ini telah melakukan adaptasi terhadap lingkungan yang miskin nutrien dan memaksa mikroorganisme tersebut untuk melakukan biodegradasi terhadap polimer plastik sebagai sumber karbon dan energi. Inokulum X sudah teradaptasi sistem metabolisme dan enzimatisnya, sehingga walaupun masa

inkubasi proses biodegradasi plastik berlangsung singkat akan menghasilkan persentase degradasi yang lebih baik.

4.3 Karakterisasi dan Perhitungan Koloni Mikroorganisme

Inokulum campur mikroorganisme tanah sampah, air sampah, serta kontrol air sampah pada kolom Winogradsky setelah panen ke-4 dikarakterisasi secara makroskopis koloni dan dihitung jumlah koloninya dengan metode *Total Plate Count* (TPC) pada medium NA dan YMEA dari pengenceran 10^{-1} hingga 10^{-10} . Koloni adalah sejumlah besar sel-sel mikroorganisme pada medium padat, yang dapat dilihat dengan mata sebagai bagian yang terpisah dan dianggap berasal dari satu sel yang sama (Harley and Prescott, 2002), sehingga karakterisasi makroskopis koloni merupakan salah satu identifikasi primer mikroorganisme (Prakash and Irfan, 2011). Karakterisasi ini bertujuan untuk mendapatkan kandidat kultur baru mikroorganisme yang mampu mendegradasi plastik. Selain koloni kandidat terdapat koloni yang mendominasi pada satu jenis pengenceran saja, sehingga dianggap tidak berperan dalam degradasi plastik, karena koloni mikroorganisme yang dianggap mampu mendegradasi plastik adalah koloni yang paling sering muncul pada setiap pengenceran.

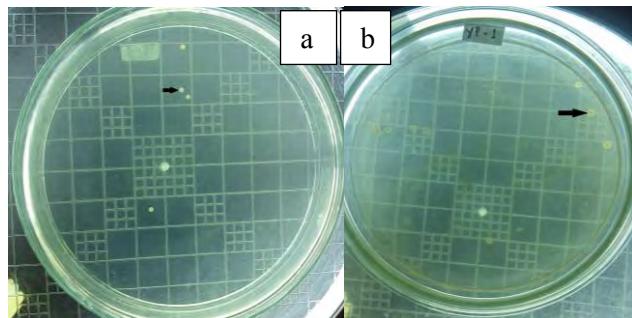


Gambar 4.4 Koloni Inokulum X (a) Bakteri XH6, (b) Yeast XP1.
Keterangan gambar: tanda panah menunjukkan koloni kandidat.

Berdasarkan karakterisasi inokulum X (Tabel 4.3 dan Lampiran 8) koloni bakteri yang diduga berpotensi dalam mendegradasi plastik adalah koloni XH6 (Gambar 4.4), XP1,

XP9, XT1, XT2 yang ditemukan pada beberapa pengenceran. Koloni yeast yang berpotensi mendegradasi plastik adalah XP1 (Gambar 4.4) dan XT1 yang ditemukan pada pengenceran 10^{-1} dan 10^{-2} . Hasil dari karakterisasi koloni inokulum X apabila dibandingkan dengan hasil isolasi bakteri dari inokulum tanah sampah terdahulu, didapatkan kesamaan karakter dari koloni kandidat XT1 dengan isolat PPs3 dari penelitian Ainiyah and Shovitri (2014) dengan karakter bentuk circular, tepi entire, elevasi convex dan warna putih kekuningan atau krem (Lampiran 8).

Pada karakterisasi inokulum S (Tabel 4.3 dan Lampiran 8) koloni bakteri yang dianggap mampu mendegradasi plastik adalah koloni SH1, SP1 (Gambar 4.5), ST1, ST2 dan ST7 yang ditemukan pada beberapa pengenceran. Sedangkan koloni yeast yang dianggap mampu mendegradasi plastik adalah SH1 dan SP1 (Gambar 4.5) yang ditemukan pada pengenceran 10^{-1} dan 10^{-2} .

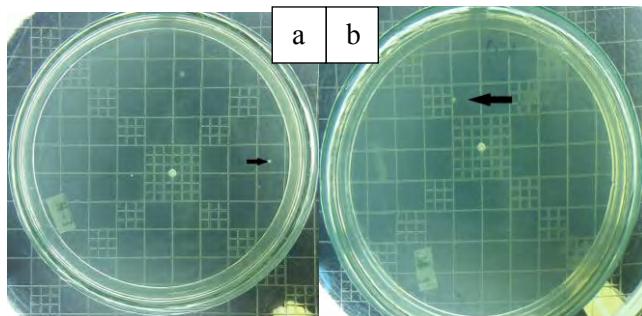


Gambar 4.5 Koloni inokulum S (a) Bakteri SP1, (b) Yeast SP1.
Keterangan gambar: tanda panah menunjukkan koloni kandidat.

Hasil karakterisasi inokulum X dan S menunjukkan, mikroorganisme yang berperan pada proses degradasi yaitu bakteri dan yeast, dimana jumlah koloni bakteri yang ditemukan lebih banyak daripada jumlah koloni yeast. Karakter koloni mikroorganisme yang ditemukan dari inokulum X dan S berbeda, namun kedua inokulum ini memiliki kemampuan yang sama

dalam mendegradasi plastik hitam, putih dan transparan (Tabel 4.1, Tabel 4.2 dan Lampiran 7).

Berdasarkan hasil degradasi plastik dan *Optical density* di kolom air, maka perlu dilakukan karakterisasi koloni pada kontrol sampah untuk membuktikan adanya mikroorganisme pendegradasi plastik. Hasil Karakterisasi kontrol sampah (Tabel 4.6 dan Lampiran 8) koloni bakteri yang dianggap mampu mendegradasi plastik adalah koloni KSH3, KSP2 dan KST2. Koloni yeast yang dianggap mampu mendegradasi plastik adalah KSP1 yang ditemukan pada pengenceran 10^{-7} , 10^{-8} dan 10^{-10} . Koloni mikroorganisme kontrol sampah yang dianggap mampu mendegradasi plastik memiliki karakter yang berbeda dengan koloni mikroorganisme inokulum S. Sehingga mikroorganisme dari kontrol sampah diasumsikan tidak berasal dari mikroorganisme air sampah tetapi berasal dari sumber kontaminasi.



Gambar 4.6 Koloni Kontrol Sampah (a) Bakteri KSH3, (b) Yeast KSP1.

Keterangan gambar: tanda panah menunjukkan koloni kandidat.

Tabel 4.3 Karakter Koloni Mikroorganisme

			SH4	5									5	
			SH5	1									1	
			SH6	1									1	
			SH7	2							1		3	
			SH8		2								2	
			SH9		1								1	
			SP1	13	2			3	2		7	5	7	39
			SP2		1	6								7
			SP3		1								1	2
			SP4						1		1			2
			Putih		13									13
			SP5											81
			SP6	80		1								13
			SP7	13										13
			SP8		1									1
			SP9							1				1
			ST1	12	1	3	2		1	2	1			22
			ST2		1			1		1				3
			ST3							1				1
			ST4	219									1	220
			Transparan					2						2
			ST5							4			1	5
			ST6											127
			ST7	117	8	2								2
			ST8			2								6
			ST9			6								25
			ST10			25								25
			Hitam	SH1	3	1								4
			SH2	3										3
			SH3	2										2
			Yeast	SH4	1									1
			Putih	SP1	10	1								11
			Transparan	ST1	1									1
				ST2	7									7
			Hitam	KSH1	11					4				15
				KSH2	1									1
			Hitam	KSH3		6	4		1					11
				KSH4				1						1
			Putih	KSH5				2						2
				KSH6							1			1
			Bakteri	KSH7							1	1	3	5
			Putih	KSP1	1									1
				KSP2		3	1		1					5
			Putih	KSP3		1					4			5
			Transparan	KST1	111									111
				KST2		12	6				1			19
			Transparan	KST6					1					1
				KST4								2		2
			Hitam	KST5								1		1
			Yeast	KSH1				1						1
			Putih	KSP1						1	1		1	3
				KST1				1						1
			Transparan	KST2			1							1
														1

Keterangan : Kolom dengan blok warna abu-abu menunjukkan bahwa cawan petri dipenuhi oleh *spreader*.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa inokulum X, S dan Y memiliki kemampuan dalam degradasi plastik, namun persentase degradasi ketiga inokulum tersebut tidak berbeda nyata terhadap plastik hitam putih maupun transparan. Pada plastik hitam degradasi optimal terjadi setelah 6 minggu masa inkubasi oleh inokulum S mencapai 4,9%. Plastik putih degradasi optimal terjadi setelah 9 minggu masa inkubasi oleh inokulum X dengan nilai 3,6% dan pada plastik transparan terjadi pada inokulum S setelah 9 minggu masa inkubasi dengan persentase degradasi 4%. Koloni bakteri yang diduga potensial adalah XH6, XP1, XP9, XT1, XT2, SH1, SP1, ST1, ST2,dan ST7, serta koloni yeast adalah XP1, XT1, SH1 dan SP1.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka penelitian selanjutnya dapat dilakukan uji aktivitas enzim pada proses biodegradasi untuk mengetahui enzim yang berperan dalam proses degradasi plastik dan analisa menggunakan Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) untuk mengetahui perubahan struktur plastik.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, A. A., Jingsong, G., Ping, L. Z., Ya, P. Y., and Al-Rekabi, W. S. 2009. Review on Landfill Leachate Treatments. **American Journal of Applied Sciences** 6 (4): 672-684.
- Ainiyah, D. N. and Shovitri, M. 2014. Bakteri Tanah Sampah Pendegradasi Plastik dalam Kolom Winogradsky. **Jurnal Sains Dan Seni POMITS** Vol. 3, No.2, (2014) 2337-3520 (2301-928X Print).
- Arutchelvi, J., Sudhakar, M., Arkatkar, A., Doble, M., Bhaduri, S., and Uppara, P. V. 2008. Biodegradation of Polyethylene and Polypropylene. **Indian Journal of Biotechnology** Vol. &, January 2008, pp 9-22.
- Bhardwaj, H., Gupta, R., and Tiwari, A. 2012. Microbial Population Associated With Plastic Degradation. **Open Access Scientific Reports**. Volume 1 . Issue 5.
- Billmeyer, F.W. 1994. **Text Book of Polymer Science 3rd Edition**. New York: Joh Willey & Sons Inc.
- Burd, 2008. **Plastic Not Fantastic**. <<http://wwsef.uwaterloo.ca/archives/2008/08BurdReport.Pdf>> [29 Januari 2015].
- Castro, P. and Huber, M. F. 2003. **Marine Biology 4th Edition**. New York: Mc Graw Hill Company.
- Das, M. P. and Kumar, S. 2015. An Approach to Low-density Polyethylene Biodegradation by *Bacillus amyloliquefaciens*. **3 Biotech** (2015) 5:81–86.
- Dey, U., Mondal, N. K., Das, K., and Dutta, S. 2012. An Approach to Polymer Degradation Through Microbes. **IOSR**

Journal of Pharmacy. Vol. 2, Issue 3, May-June, 2012, pp.385-388.

Dwipayana and Ariesyady, H. D. 2011. **Identifikasi Keberagaman Bakteri Pada Lumpur Hasil Pengolahan Limbah Cat Dengan Teknik Konvensional.** Bandung: Program Studi Teknik Lingkungan Fakultas Teknik Sipil dan Lingkungan Institut Teknologi Bandung.

Fardiaz, S. 1992. **Mikrobiologi Pangan.** Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.

Gandjar, I., Sjamsuridzal, W., and Oetari, A. 2006. **Mikologi Dasar dan Terapan.** Jakarta: Yayasan Obor Indonesia.

Gostinčar , C., Ohm, R. A., Kogej, T., Sonjak, S., Turk, M., Zajc, J., Zalar, P., Grube, M., Sun, H., Han, J., Sharma, A., Chiniquy, J., Ngan, C. Y., Lipzen, A., Barry, K., Grigoriev, I. V., and Gunde-Cimerman, N. 2014. Genome Sequencing of Four *Aureobasidium Pullulans* Varieties: Biotechnological Potential, Stress Tolerance, And Description Of New Species. **BMC Genomics**, 15:549.

Guzman, A., Gnutek, N., and Janik, H. 2011. Biodegradable Polymers For Food Packaging – Factors Influencing Their Degradation And Certification Types – A Comprehensive Review. **Chemical Technology.** Vol. 5, No. 1.

Hadad D., Geresh S., and Sivan A. 2005. Biodegradation of Polyethylene by The Thermophilic Bacterium *Brevibacillus borstelensis*. **J Appl Microbiol** 98: 1093-1100.

Hariastuti N. P., 2013. Pemodelan Sistem Normatif Pengelolaan Sampah Kota. **Jurnal IPTEK** Vol 17 No.1 Mei 2013.

- Harley, J. P. and Prescott, L. M. 2002. **Laboratory Exercises in Microbiology 5th Edition**. New York: Mc Graw Hill Company.
- Ho, R. 2006. **Handbook of Univariate and Multivariate Data Analysis and Interpretation with SPSS**. New York: Taylor & Francis Group.
- Kavitha, R., Mohanan, A. K., and Bhuvaneswari, V. 2014. Biodegradation of Low Density Polyethylene by Bacteria Isolated from Oil Contaminated Soil. **International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences**. Volume-4, Issue-3 July-Sept 2014.
- Leja K. and Lewandowicz, G. 2010. Polymer Biodegradation and Biodegradable Polymers – a Review. **Polish J. of Environ. Stud.** Vol. 19, No. 2 (2010), 255-266.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., Stahl, D. A., and Clark, D. P. 2012. **Brock."Biology of Microorganisms, 12th Edition**. San Francisco: Benjamin Cummings.
- NAU (Northern Arizona University's) Web Server "jan". 2008. **Microorganisms in The Environment, Carbon Cycle of A Typical Freshwater Lake**. <http://jan.ucc.nau.edu/~doetqp/p/courses/_env440/env440_2/lectures/lec23/lec23.html> [11 Februari 2015].
- Nwabueze, A. A. 2011. Water Quality and Micro-Organisms of Leachate-Contaminated Pond. **Am. J. Sci. Ind. Res.**, 2(2): 205-208.
- Paramita, P., Shovitri, M., and Kuswitasari, N. D. 2012. Biodegradasi Limbah Organik Pasar dengan Mikroorganisme

Alami Tangki Septik. **JURNAL SAINS DAN SENI ITS** Vol. 1, (Sept, 2012) ISSN: 2301-928X

Peciulyte, D. 2002. Microbial Colonization and Biodeterioration of Plasticized Polyvinyl Chloride Plastics. **Ekologija (Vilnius)**. 2002. Nr. 4.

Prakash, B. and Irfan, M. 2011. Pseudomonas aeruginosa is Present in Crude Oil Contaminated Sites of Barmer Region (India). **J Bioremed Biodegrad** 2011, 2:5.

Rilawati, D. 2009. Kajian Penggunaan Boisca untuk Pemanfaatan Air Lindi (*Leachate*) Menjadi Pupuk Cair. **Tesis**. Program Studi Ilmu Lingkungan Minat Utama Pengelolaan Sumber Daya Air. Program Pasca Sarjana Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Rogan, B., Lemke, M., Levandowsky, M., And Gorrell, T. 2005. Exploring The Sulfur Nutrient Cycle Using The Winogradsky Column. **The American Biology Teacher**, Volume 67, No. 6.

Rohaeti, E. 2009. Karakterisasi Biodegradasi Polimer. **Prosiding Seminar Nasional Penelitian**. Pendidikan dan Penerapan MIPA, Fakultas MIPA, Universitas Negeri Yogyakarta.

Ruslinda, Y., Indah S., and Laylani W. 2012. Studi Timbulan, Komposisi dan Karakteristik Sampah Domestik Kota Bukittinggi. **Jurnal Teknik Lingkungan UNAND 9 (1)** : 1-12 (Januari 2012)

Sangale, M. K., Shahnawaz, M., and Ade, A. B. 2012. A Review on Biodegradation of Polythene: The Microbial Approach. **J Bioremed Biodeg** 3:164.

Saraswati, R., Edi, S., and Erni, Y., 2006, **Pupuk Organik dan Pupuk Hayati**. Bogor: Balai Besar Litbang Sumberdaya Lahan Pertanian, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian.

Sen, S. K. and Raut, S. 2015. Microbial Degradation of Low Density Polyethylene (LDPE): A review. **JECE** 539 1–13.

Shah, A. A., Hasan, F., Hameed, A., and Ahmed, S. 2008. Biological Degradation Of Plastics: A Comprehensive Review. **Biotechnology Advances** 26 (2008) 246–265.

Sheehan, 1995 dalam Nugroho, A. 2007. Dinamika Populasi Konsorsium Bakteri Hidrokarbonoklastik: Studi Kasus Biodegradasi Hidrokarbon Minyak Bumi Skala Laboratorium (The Dynamic Population of the Bacterial Hydrocarbonoclastic Consortium in the Crude Oil Sludge Degradation). **Jurnal ILMU DASAR**, Vol. 8 No. 1, 2007 : 13-23 13.

Sonal, G. C., Sachin G. C., Bhosale P. R., Nakade D. B., and Raut P. D. 2012. Studies on Degradation of Synthetic Polymer Nylon 6 by Fungus *Trametes versicolor* NCIM 1086. **International Journal of Environmental Sciences** Volume 2 No.3, 2012.

Susanto, J. A. 2010. Pengaruh Penambahan Polibutilensuksinat (PBS) terhadap Sifat Mekanik dan Biodegrabilitas Linier Low Density Poluethylene (LLDPE). **Skripsi**. Program Studi Teknik Metalurgj dan Material, Universitas Indonesia.

Suryariani, R. 2002. Penurunan Berat Sampah Organik Menggunakan Leachate, Sludge dan Cacing Tanah. **Skripsi**. Semarang: Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Diponegoro.

Tchobanoglous, G., Theisen, H., and Vigil, S., 1993. **Integrated Solid Waste Management**. Singapore: Mc Graw-Hill Book Co.

Tortora, G. J., Funke, B. R., and Case, C. L. 2010. **Microbiology An Introduction 10th Edition.** USA: Benjamin Cummings.

Usha, R., Sangeetha, T., and Palaniswamy, M. 2011. Screening of Polyethylene Degrading Microorganisms from Garbage Soil. **Libyan Agriculture Research Center Journal International** 2 (4): 200-204.

Webb, H. K., Arnott, J., Crawford, R. J., and Ivanova, E. P. 2013. Plastic Degradation and Its Environmental Implications with Special Reference to Poly (ethylene terephthalate). **Polymers** 2013, 5, 1-18.

Willey, J. M., Sherwood, L. M., and Woolverton, C. J. 2008. **Prescott, Harley, and Klein's Microbiology Seventh Edition.** New York: The McGraw-Hill Companies.

Yu, D. 2007. Landfill Leachate Treatment Case Study, Srv Atervinninng, Sweden. **Tesis.** Industrial Ecology Royal Institute of Technology Stockholm.

Zunaidah, S. and Alami, N. H. 2014. Isolasi dan Karakterisasi Yeast dari Rhizosphere *Avicennia Marina* Wonorejo. **JURNAL SAINS DAN SENI POMITS** Vol. 3, No.1, (2014) 2337-3520 (2301-928X Print).

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 (a) LDPE, (b) Struktur Polietilen.....	8
Gambar 2.2 Mekanisme Biodegradasi Polietilen	10
Gambar 2.3 Karakter Inokulum Yeast M 2.3	16
Gambar 2.4 Stratifikasi Kimia yang Ada Di Kolom Winogradsky	17
Gambar 3.1 Karakteristik Koloni Bakteri pada Medium Agar	25
Gambar 4.1 Kolom Winogradsky Biodegradasi Plastik Hitam, Putih dan Transparan.....	30
Gambar 4.2 SEM pada Permukaan Plastik Putih Inokulum Campur dengan Magnifikasi 5.00KX	35
Gambar 4.3 Grafik Perbandingan Hasil Degradasi Plastik Hitam dan Putih antara Penelitian Ainiyah dan Shovitri (2014) dan Inokulum X.....	37
Gambar 4.4 Koloni Inokulum X (a) Bakteri XH6, (b) Yeast XP1	38
Gambar 4.5 Koloni Inokulum S (a) Bakteri SP1, (b) Yeast SP1	39

Gambar 4.6 Koloni Kontrol Sampah (a) Bakteri KSH3, (b) Yeast KSP1	40
---	----

LAMPIRAN

Lampiran 1 :Komposisi Medium

1. Nutrient Broth (NB)

Ekstrak daging (<i>beef extract</i>).....	3	g
Pepton.....	5	g
Aquades	1000	ml

2. Nutrient Agar (NA)

Ekstrak daging (<i>beef extract</i>).....	3	g
Pepton.....	5	g
Agar	15	g
Aquades	1000	ml

3. Yeast Malt Extract Agar (YMEA)

Ekstrak yeast (<i>yeast extract</i>).....	3	g
<i>Malt extract</i>	3	g
Pepton.....	5	g
Dekstrosa	10	g
Agar	20	g
Aquades	1000	ml

4. Yeast Malt Broth (YMB)

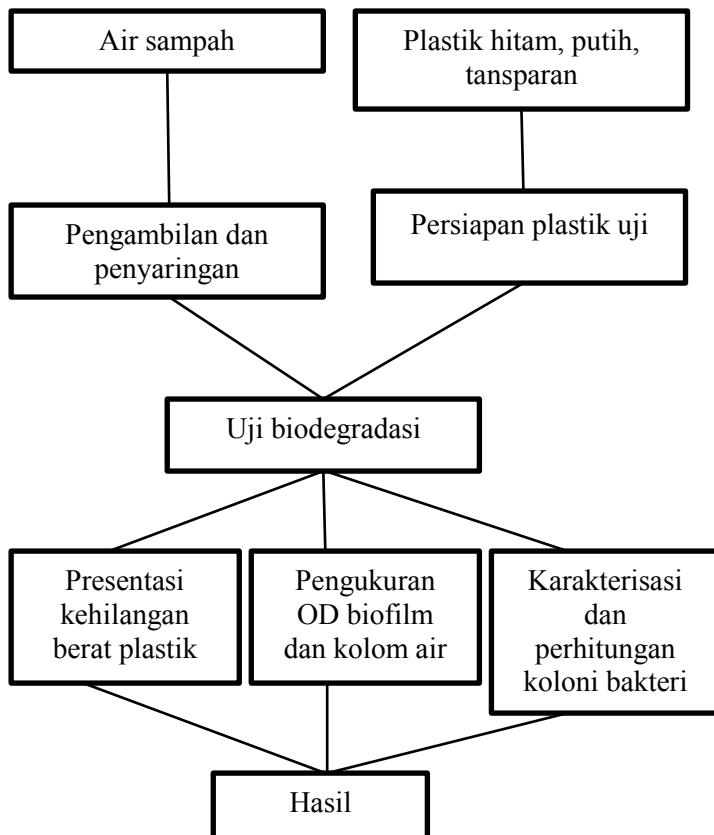
Ekstrak yeast (<i>yeast extract</i>).....	3	g
<i>Malt extract</i>	3	g
Pepton.....	5	g
Dekstrosa	10	g
Aquades	1000	ml

5. Mineral Salt Medium (MSM)

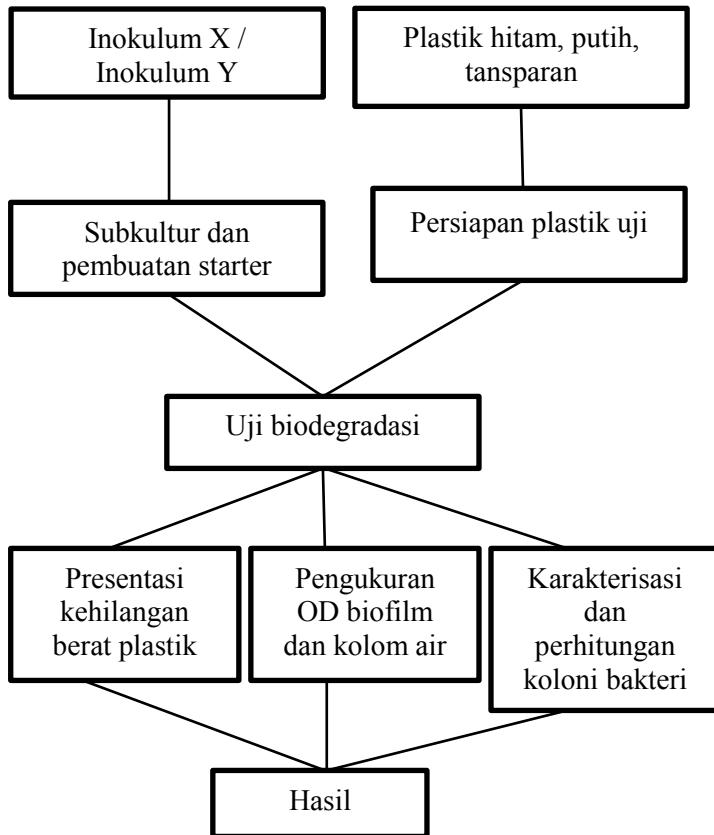
Magnesium Sulfate.....	0.2	g
Calcium chloride	0.02	g
Monopotassium Phosphate.....	1	g
Dipotassium Phosphate	1	g
Amonium nitrate.....	1	g
Ferric Chloride	0.05	g
Aquades.....	1000	ml

Lampiran 2 : Skema Kerja

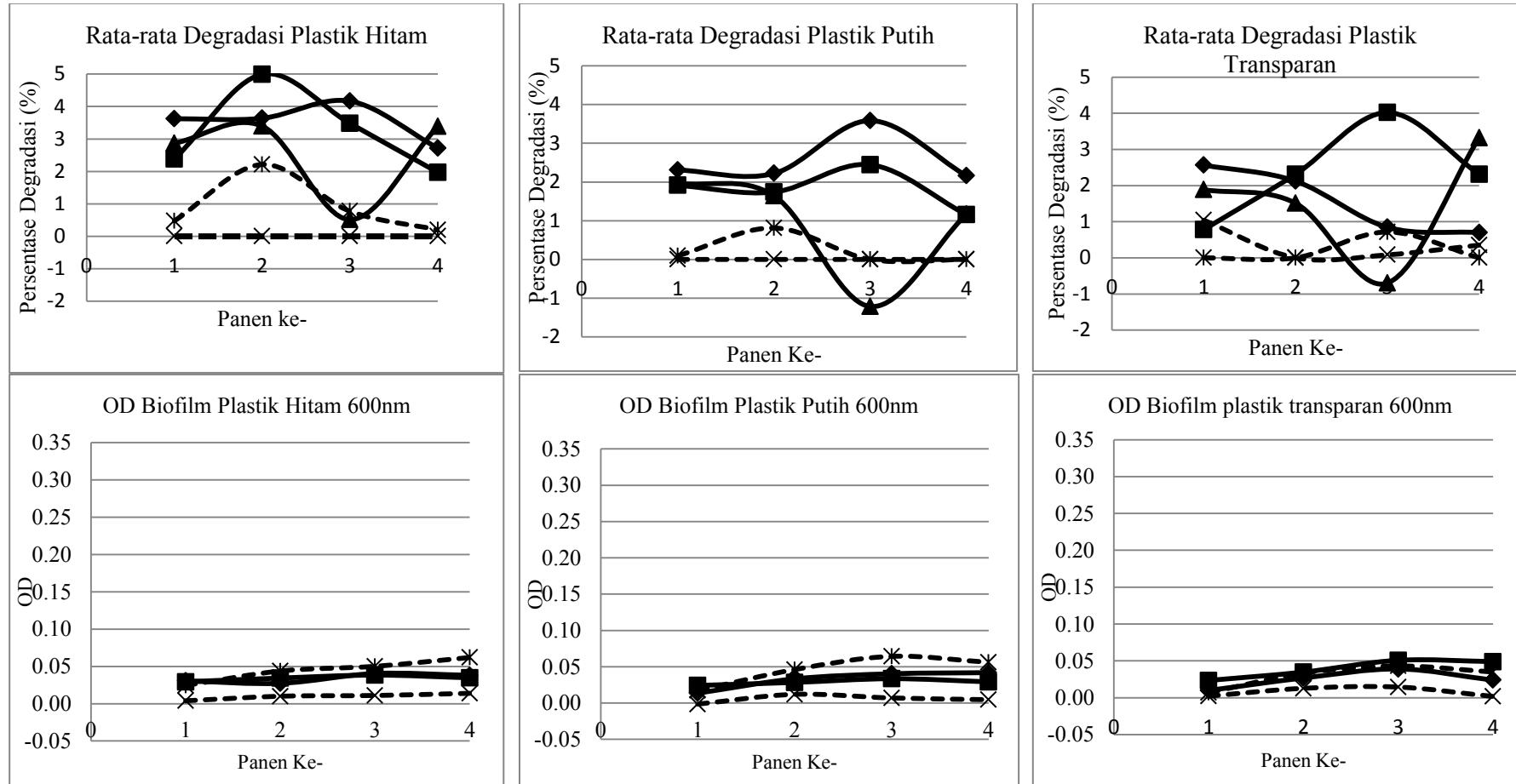
1. Inokulum Air Sampah

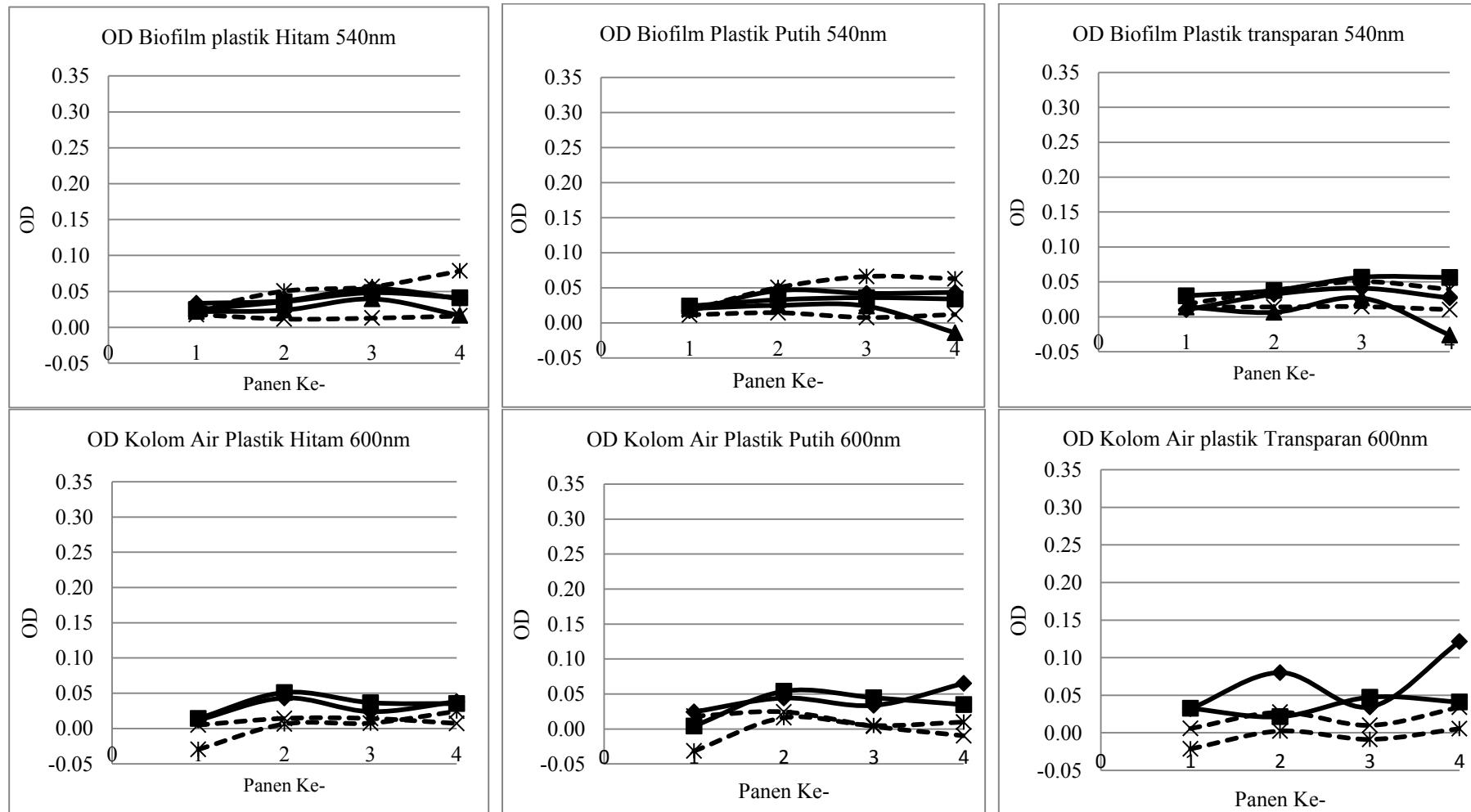


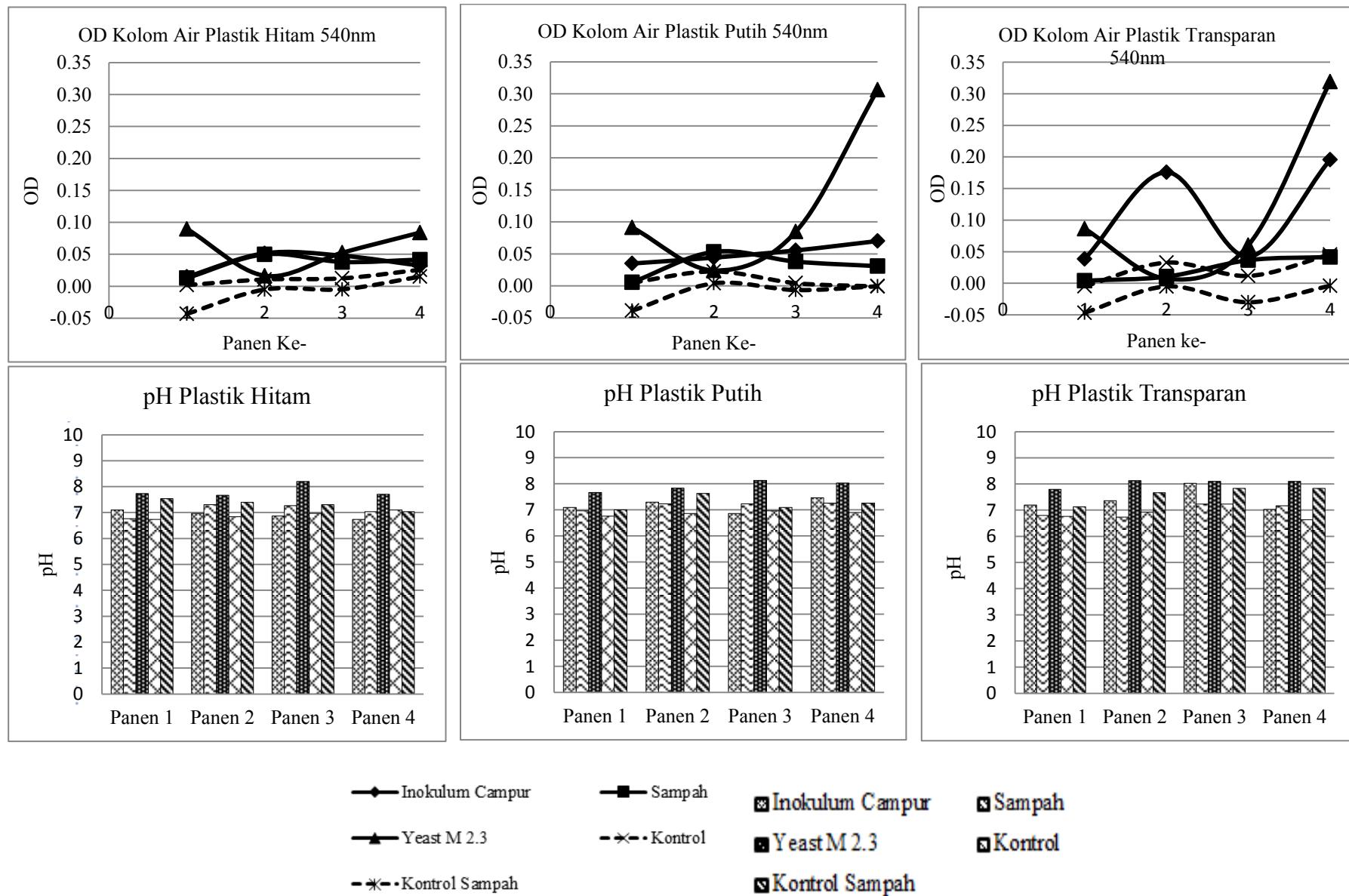
2. Inokulum X dan Inokulum Y



Lampiran 3: Grafik Persentase Degradasi, *Optical Density* Biofilm dan Kolom Air, serta pH Kolom Air Selama Proses Degradasi







Lampiran 4: Persentase Degradasi Plastik

1. Plastik Hitam

Inokulum	Inokulum Campur (%)	Air Sampah (%)	Yeast M2.3 (%)	Kontrol (%)	Kontrol Sampah (%)
Panen 1	3.6	4.2	2.9	0.0	0.0
	3.0	1.1	3.0	0.0	1.9
	4.5	3.1	2.2	0.0	0.0
	3.3	1.2	3.2	0.0	0.0
Rata-rata	3.6	2.4	2.9	0.0	0.5
Panen 2	3.6	4.9	3.2	0.0	2.2
	4.2	5.9	3.3	0.0	3.0
	3.2	4.9	4.0	0.0	1.3
	3.5	4.3	3.1	0.0	2.4
Rata-rata	3.6	5.0	3.4	0.0	2.2
Panen 3	4.9	3.0	1.2	0.0	0.0
	3.9	2.7	0.0	0.0	1.2
	4.0	4.0	0.0	0.0	0.0
	3.8	4.2	0.8	0.0	1.9
Rata-rata	4.2	3.5	0.5	0.0	0.8
Panen 4	5.7	2.7	3.5	0.0	0.0
	1.9	1.5	3.1	0.0	0.8
	2.0	2.0	3.0	0.0	0.0
	1.3	1.8	4.0	0.0	0.0
Rata-rata	2.7	2.0	3.4	0.0	0.2

2. Plastik Putih

Inokulum	Inokulum Campur (%)	Air Sampah (%)	Yeast M2.3 (%)	Kontrol MSM (%)	Kontrol Sampah (%)
Panen 1	2.32	2.80	2.02	0.00	0.38
	1.91	1.64	1.84	0.00	0.00
	2.40	1.58	2.16	0.00	0.00
	2.61	1.64	1.84	0.00	0.00
Rata-rata	2.31	1.91	1.97	0.00	0.10
Panen 2	2.01	2.56	1.99	0.00	1.57
	1.54	1.08	1.96	0.00	1.67
	1.99	1.55	1.17	0.00	0.00
	3.35	1.77	1.46	0.00	0.00
Rata-rata	2.22	1.74	1.64	0.00	0.81
Panen 3	3.23	1.64	-2.32	0.00	0.00
	3.47	2.21	-1.81	0.00	0.00
	3.17	3.27	1.26	0.00	0.00
	4.47	2.66	-2.00	0.00	0.00
Rata-rata	3.59	2.45	-1.22	0.00	0.00
Panen 4	2.04	2.45	0.00	0.00	0.00
	2.06	0.00	0.00	0.00	0.00
	2.69	0.00	2.71	0.00	0.00
	1.85	2.16	1.97	0.00	0.00
Rata-rata	2.16	1.15	1.17	0.00	0.00

3. Plastik Transparan

Inokulum	Inokulum Campur (%)	Air Sampah (%)	Yeast M2.3 (%)	Kontrol MSM (%)	Kontrol Sampah (%)
Panen 1	1.64	0.00	2.01	0.00	0.00
	3.32	0.00	2.11	2.27	0.00
	3.58	3.11	1.69	1.90	0.00
	1.72	0.00	1.72	0.00	0.00
Rata-rata	2.57	0.78	1.88	1.04	0.00
Panen 2	2.04	1.72	4.49	0.00	0.00
	1.95	2.99	0.97	0.00	0.00
	3.55	1.94	0.00	0.00	0.00
	0.95	2.59	0.60	0.00	0.00
Rata-rata	2.12	2.31	1.51	0.00	0.00
Panen 3	1.90	2.26	-1.07	0.33	0.00
	0.00	3.06	0.00	0.00	2.02
	0.00	3.64	0.00	0.00	0.00
	1.48	7.12	-1.72	0.00	0.84
Rata-rata	0.85	4.02	-0.70	0.08	0.71
Panen 4	0.00	1.95	2.93	1.40	0.00
	2.31	3.69	3.46	0.00	0.00
	0.22	0.00	3.03	0.00	0.00
	0.27	3.60	3.87	0.00	0.00
Rata-rata	0.70	2.31	3.32	0.35	0.00

Lampiran 5: Pengukuran *Optical Density* Biofilm

1.a. Plastik Hitam 540 nm

Inokulum	Inokulum Campur	Air Sampah	Yeast M2.3	Kontrol MSM	Kontrol Sampah
Panen 1	0.037 0.049 0.010 0.019 0.042 0.034	0.007 0.031 0.045 0.035 0.020 0.012	0.027 0.015 0.035 0.011 0.024 0.019	0.016 0.005 0.017 0.016 0.034 0.020	0.022 0.028 0.034 0.025 0.024 0.018
Rata-rata	0.032	0.025	0.022	0.018	0.025
Panen 2	0.042 0.035 0.020 0.044 0.033 0.034	0.028 0.047 0.032 0.026 0.046 0.046	0.011 -0.005 0.011 0.047 0.062 0.062	0.005 0.003 0.007 0.013 0.010 0.019	0.029 0.032 0.078 0.025 0.069 0.053
Rata-rata	0.035	0.038	0.031	0.010	0.048
Panen 3	0.038 0.038 0.031 0.040 0.045 0.093	0.058 0.032 0.033 0.050 0.040 0.052	0.028 0.044 0.029 0.046 0.047 0.049	0.014 0.009 0.005 0.013 0.008 0.027	0.054 0.060 0.069 0.043 0.043 0.057
Rata-rata	0.048	0.044	0.041	0.013	0.054
Panen 4	0.027 0.071 0.039 0.030 0.030 0.053	0.051 0.047 0.029 0.017 0.090 0.051	-0.024 0.040 0.029 -0.025 -0.005 -0.003	0.018 0.018 0.050 0.006 0.013 0.006	0.072 0.054 0.097 0.152 0.071 0.070
Rata-rata	0.042	0.048	0.002	0.019	0.086

b. Plastik Hitam 600 nm

Inokulum	Inokulum Campur	Air Sampah	Kontrol	Kontrol Sampah
Panen 1	0.035 0.048 0.011 0.015 0.044 0.031	0.024 0.024 0.029 0.036 0.036 0.034	-0.004 -0.004 0.002 0.002 -0.004 0.046	0.021 0.020 0.026 0.024 0.012 0.045
Rata-rata	0.031	0.031	0.006	0.025
Panen 2	0.039 0.022 0.018 0.021 0.027 0.029	0.023 0.038 0.024 0.021 0.053 0.057	0.004 0.002 0.006 0.012 0.009 0.015	0.025 0.028 0.074 0.021 0.059 0.045
Rata-rata	0.026	0.036	0.008	0.042
Panen 3	0.034 0.035 0.002 0.035 0.038 0.052	0.052 0.030 0.030 0.052 0.036 0.040	0.012 0.008 0.004 0.010 0.008 0.023	0.041 0.053 0.059 0.036 0.037 0.067
Rata-rata	0.033	0.040	0.011	0.049
Panen 4	0.024 0.062 0.035 0.025 0.040 0.043	0.043 0.043 0.030 0.010 0.053 0.039	0.010 0.010 0.044 -0.002 0.011 0.000	0.063 0.069 0.076 0.076 0.054 0.054
Rata-rata	0.038	0.036	0.012	0.065

2.a. Plastik Putih 540nm

Inokulum	Inokulum Campur	Air Sampah	Yeast M2.3	Kontrol MSM	Kontrol Sampah
Panen 1	0.020 0.007 0.000 0.056 0.014 0.014	0.024 0.017 0.022 0.020 0.019 0.039	0.016 0.014 0.014 0.033 0.017 0.019	0.014 0.011 0.017 0.020 0.004 0.007	0.014 0.010 0.026 0.023 0.023 0.029
Rata-rata	0.019	0.024	0.019	0.012	0.021
Panen 2	0.018 0.029 0.053 0.045 0.069 0.052	0.025 0.019 0.085 0.002 0.016 0.031	0.027 0.047 0.042 0.052 0.007 0.017	0.010 0.009 0.012 0.011 0.018 0.008	0.026 0.045 0.031 0.045 0.037 0.076
Rata-rata	0.044	0.030	0.032	0.011	0.043
Panen 3	0.059 0.022 0.067 0.034 0.025 0.025	0.046 0.020 0.022 0.030 0.023 0.055	0.021 0.022 0.012 0.041 0.032 0.033	0.024 0.007 0.002 0.020 0.004 0.008	0.095 0.057 0.022 0.037 0.081 0.081
Rata-rata	0.039	0.033	0.027	0.011	0.062
Panen 4	0.024 0.081 0.082 0.062 0.025 0.036	0.033 0.033 0.032 0.017 0.024 0.049	0.009 0.016 -0.004 -0.028 -0.020 -0.018	0.004 0.006 0.006 0.020 0.020 0.011	0.081 0.081 0.094 0.004 0.054 0.084
Rata-rata	0.052	0.031	-0.008	0.011	0.066

b. Plastik Putih 600nm

Inokulum	Inokulum Campur	Air Sampah	Kontrol MSM	Kontrol Sampah
Panen 1	0.021	0.014	0.001	0.028
	0.019	0.011	0.001	0.020
	0.002	0.027	0.000	0.012
	0.015	0.048	-0.004	0.011
	0.021	0.014	-0.004	0.033
	0.008	0.033	0.000	0.019
	Rata-rata	0.014	0.025	-0.001
Panen 2	0.015	0.019	0.008	0.021
	0.024	0.020	0.007	0.037
	0.040	0.073	0.011	0.036
	0.040	0.016	0.008	0.038
	0.038	0.013	0.016	0.031
	0.047	0.025	0.007	0.064
	Rata-rata	0.034	0.028	0.010
Panen 3	0.051	0.038	0.022	0.080
	0.020	0.021	0.006	0.116
	0.058	0.016	0.002	0.018
	0.029	0.027	0.018	0.031
	0.019	0.020	0.004	0.070
	0.036	0.049	0.007	0.082
	Rata-rata	0.036	0.029	0.010
Panen 4	0.020	0.025	-0.002	0.067
	0.074	0.031	-0.002	0.068
	0.074	0.031	0.000	0.081
	0.070	0.017	0.008	0.041
	0.034	0.020	0.007	0.047
	0.031	0.039	0.004	0.067
	Rata-rata	0.051	0.027	0.003

3.a. Plastik Transparan 540nm

Inokulum	Inokulum Campur	Air Sampah	Yeast M2.3	Kontrol MSM	Kontrol Sampah
Panen 1	0.012 0.010 0.007 0.011 0.004 0.006	0.021 0.028 0.029 0.033 0.040 0.022	0.016 0.013 0.017 0.016 0.010 0.010	0.030 0.017 0.016 0.009 0.011 0.021	0.019 0.017 0.029 0.018 0.008 0.011
Rata-rata	0.008	0.029	0.014	0.017	0.017
Panen 2	0.027 0.023 0.045 0.016 0.055 0.031	0.033 0.051 0.020 0.009 0.023 0.108	0.002 0.035 -0.005 -0.001 -0.007 0.011	0.013 0.013 0.016 0.014 0.019 0.009	0.033 0.040 0.048 0.025 0.043 0.066
Rata-rata	0.033	0.041	0.006	0.014	0.043
Panen 3	0.079 0.034 0.014 0.035 0.046 0.036	0.035 0.036 0.129 0.080 0.049 0.038	0.028 0.026 0.064 0.040 0.015 0.015	0.031 0.016 0.013 0.004 0.022 0.009	0.051 0.061 0.034 0.045 0.052 0.085
Rata-rata	0.041	0.061	0.031	0.016	0.055
Panen 4	0.026 0.032 0.012 0.012 0.028 0.028	0.049 0.046 0.046 0.028 0.085 0.067	-0.018 -0.013 0.000 -0.001 -0.046 -0.048	0.010 0.002 0.010 0.010 0.011 0.019	0.028 0.045 0.045 0.028 0.046 0.033
Rata-rata	0.023	0.054	-0.021	0.010	0.038

b. Plastik Transparan 600nm

Inokulum	Inokulum Campur	Air Sampah	Kontrol MSM	Kontrol Sampah
Panen 1	0.007	0.023	-0.001	0.013
	0.007	0.022	0.010	0.006
	0.015	0.028	0.009	0.005
	0.007	0.024	-0.002	0.005
	0.007	0.016	-0.005	0.005
	0.023	0.035	-0.005	0.003
	Rata-rata	0.011	0.025	0.006
Panen 2	0.024	0.033	0.011	0.028
	0.021	0.029	0.022	0.031
	0.027	0.021	0.013	0.043
	0.015	0.011	0.011	0.019
	0.049	0.030	0.017	0.035
	0.027	0.095	0.006	0.052
	Rata-rata	0.027	0.037	0.013
Panen 3	0.068	0.035	0.027	0.043
	0.034	0.033	0.017	0.049
	0.032	0.110	0.013	0.029
	0.041	0.074	0.004	0.040
	0.037	0.052	0.021	0.041
	0.029	0.034	0.010	0.077
	Rata-rata	0.040	0.056	0.015
Panen 4	0.043	0.027	0.002	0.043
	0.028	0.042	-0.004	0.044
	0.010	0.042	0.002	0.031
	0.012	0.030	-0.009	0.027
	0.028	0.099	0.007	0.041
	0.021	0.052	0.012	0.027
	Rata-rata	0.024	0.049	0.002

Lampiran 6: Pengukuran *Optical Density* Kolom Air

1. a. Plastik Hitam 540nm

Inokulum	Inokulum Campur	Air Sampah	Yeast M2.3	Kontrol MSM	Kontrol Sampah
Panen 1	0.014	0.007	0.094	0.000	-0.063
	0.022	0.010	0.092	0.001	-0.059
	0.028	-0.002	0.090	-0.009	-0.060
	0.004	0.032	0.089	0.001	-0.041
	0.004	0.045	0.089	0.017	-0.014
	0.021	0.030	0.091	0.021	-0.046
	0.009	0.001	0.057	-0.013	-0.033
	0.008	0.000	0.057	-0.009	-0.037
	0.022	-0.008	0.149	0.007	-0.036
Rata-rata	0.015	0.013	0.090	0.002	-0.043
Panen 2	0.057	0.084	0.006	0.009	0.002
	0.011	0.047	-0.022	0.006	-0.004
	0.022	0.052	-0.024	0.000	-0.018
	0.100	0.052	0.011	0.005	-0.024
	0.014	0.042	0.023	0.004	0.019
	0.016	0.048	-0.024	0.040	-0.022
	0.170	0.043	0.155	0.005	0.016
	0.047	0.040	0.036	0.004	-0.006
	0.027	0.041	-0.013	0.022	-0.010
Rata-rata	0.052	0.050	0.016	0.011	-0.005
Panen 3	0.137	0.042	0.146	0.012	0.003
	0.153	0.043	0.026	0.030	-0.009
	-0.007	0.053	0.027	0.018	0.001
	0.122	0.034	0.143	-0.024	-0.008
	0.006	0.056	0.031	-0.025	-0.009
	0.004	0.044	0.030	-0.011	-0.011
	0.007	0.017	0.058	0.019	-0.005
	0.004	0.026	0.005	0.030	-0.004
	0.004	0.027	0.006	0.062	-0.001
Rata-rata	0.048	0.038	0.052	0.012	-0.005
Panen 4	0.041	0.077	0.008	0.024	0.005
	0.041	0.075	0.009	0.023	-0.005
	0.062	0.068	0.074	0.003	-0.002
	0.013	0.027	0.074	0.073	0.011
	0.012	0.032	0.005	0.071	0.033
	0.008	0.031	0.098	-0.032	0.038
	0.010	0.024	0.026	0.015	0.019
	0.010	0.023	0.013	0.015	0.019
	0.093	0.018	0.449	0.040	0.017
Rata-rata	0.032	0.042	0.084	0.026	0.015

b. Plastik Hitam 600nm

Inokulum	Inokulum Campur	Air Sampah	Kontrol MSM	Kontrol Sampah
Panen 1	0.008	0.009	0.010	-0.039
	0.008	0.014	0.010	0.005
	0.028	0.015	0.000	0.004
	0.002	0.019	0.009	-0.043
	0.010	0.015	0.009	-0.043
	0.013	0.016	-0.005	-0.041
	0.004	0.007	0.000	-0.035
	0.013	0.009	0.003	-0.038
	0.021	0.023	0.008	-0.037
	Rata-rata	0.012	0.014	0.005
Panen 2	0.036	0.082	0.020	0.007
	0.010	0.047	0.019	0.023
	0.018	0.053	0.015	-0.004
	0.154	0.047	0.003	-0.008
	0.015	0.048	0.020	0.017
	0.013	0.044	0.019	-0.003
	0.085	0.048	0.007	0.015
	0.039	0.046	0.007	0.005
	0.020	0.045	0.019	0.005
	Rata-rata	0.043	0.051	0.014
Panen 3	0.067	0.044	0.009	0.011
	-0.004	0.045	0.010	0.003
	-0.004	0.055	0.018	0.012
	0.139	0.031	-0.017	0.004
	0.007	0.048	-0.008	0.010
	0.001	0.041	-0.006	0.003
	0.004	0.023	0.015	0.007
	0.002	0.022	0.044	0.008
	0.003	0.021	0.063	0.011
	Rata-rata	0.024	0.037	0.014
Panen 4	0.071	0.035	0.013	0.006
	0.076	0.037	0.013	0.006
	0.056	0.059	0.008	0.011
	0.012	0.029	0.020	0.019
	0.012	0.035	0.019	0.040
	0.004	0.052	-0.038	0.047
	0.008	0.025	0.006	0.019
	0.008	0.024	0.005	0.052
	0.095	0.021	0.019	0.020
	Rata-rata	0.038	0.035	0.007

2. a. Plastik Putih 540nm

Inokulum	Inokulum Campur	Air Sampah	Yeast M 2.3	Kontrol MSM	Kontrol Sampah
Panen 1	0.016	0.031	0.069	0.004	-0.038
	0.015	0.014	0.071	0.018	-0.054
	0.010	0.017	0.082	0.002	-0.034
	0.037	0.009	0.121	-0.004	-0.055
	0.034	0.014	0.122	0.000	-0.059
	0.041	0.013	0.111	0.009	-0.061
	0.052	-0.011	0.106	-0.007	-0.019
	0.054	-0.024	0.076	0.014	-0.018
	0.056	-0.012	0.064	0.011	-0.010
Rata-rata	0.035	0.006	0.091	0.005	-0.039
Panen 2	0.150	0.045	0.072	0.014	0.009
	0.022	0.071	0.010	0.015	0.010
	0.013	0.053	0.012	0.014	-0.005
	0.119	0.046	0.032	0.005	0.014
	0.008	0.057	0.030	0.005	0.004
	0.008	0.055	0.005	0.026	0.001
	0.068	0.044	0.047	0.106	-0.003
	0.007	0.052	0.017	0.006	0.008
	0.003	0.057	-0.007	0.013	-0.001
Rata-rata	0.044	0.053	0.024	0.023	0.004
Panen 3	0.063	0.042	0.133	-0.030	-0.011
	-0.001	0.042	0.037	-0.006	-0.006
	-0.005	0.043	0.031	-0.007	-0.025
	0.162	0.022	0.185	-0.028	-0.016
	0.148	0.041	0.033	-0.012	-0.016
	-0.007	0.041	0.060	-0.016	-0.017
	0.128	0.036	0.110	0.013	0.027
	0.004	0.041	0.125	0.055	0.012
	0.007	0.034	0.048	0.070	-0.006
Rata-rata	0.055	0.038	0.085	0.004	-0.006
Panen 4	0.151	0.018	0.048	0.014	0.000
	0.154	0.025	0.013	0.015	0.000
	0.058	0.026	0.013	-0.012	-0.001
	0.008	0.039	0.220	-0.024	0.005
	0.008	0.045	0.226	-0.024	0.016
	0.023	0.045	0.574	-0.011	-0.002
	0.145	0.025	0.021	0.036	-0.007
	0.049	0.027	0.025	0.036	-0.008
	0.035	0.028	1.618	-0.038	-0.008
Rata-rata	0.070	0.031	0.306	-0.001	-0.001

b. Plastik Putih 600nm

Inokulum	Inokulum Campur	Air Sampah	Kontrol MSM	Kontrol Sampah
Panen 1	0.012	0.004	-0.003	-0.033
	0.012	0.006	-0.004	-0.033
	0.006	0.004	-0.005	-0.041
	0.026	0.005	0.025	-0.035
	0.020	0.006	0.061	-0.039
	0.026	0.009	0.026	-0.037
	0.044	-0.002	0.022	-0.028
	0.044	0.002	0.023	-0.018
	0.030	0.002	0.019	-0.020
	Rata-rata	0.024	0.004	0.018
Panen 2	0.123	0.046	0.014	0.022
	0.017	0.066	0.015	0.018
	0.008	0.054	0.015	0.009
	0.076	0.047	0.005	0.022
	0.006	0.057	0.005	0.022
	0.009	0.057	0.019	0.011
	0.075	0.055	0.132	0.012
	0.083	0.052	0.004	0.017
	0.001	0.051	0.011	0.012
	Rata-rata	0.044	0.054	0.024
Panen 3	0.070	0.043	-0.024	0.005
	-0.002	0.043	-0.005	0.004
	-0.002	0.039	-0.006	-0.009
	0.087	0.026	-0.024	-0.002
	0.015	0.042	-0.010	-0.002
	-0.008	0.098	-0.011	-0.001
	0.136	0.039	0.010	0.030
	0.001	0.037	0.050	0.016
	0.006	0.035	0.053	0.003
	Rata-rata	0.034	0.045	0.004
Panen 4	0.097	0.026	0.002	0.008
	0.101	0.026	0.002	0.018
	0.052	0.028	-0.020	0.008
	0.023	0.040	-0.033	0.016
	0.021	0.040	-0.032	0.016
	0.028	0.047	-0.018	0.010
	0.204	0.035	0.028	0.005
	0.033	0.036	0.027	0.004
	0.027	0.035	-0.043	0.004
	Rata-rata	0.065	0.035	-0.010

1. a. Plastik Transparan 540nm

Inokulum	Inokulum Campur	Air Sampah	Yeast M2.3	Kontrol MSM	Kontrol Sampah
Panen 1	0.019	-0.003	0.095	-0.010	-0.028
	0.019	-0.017	0.095	0.019	-0.024
	0.017	-0.007	0.088	-0.004	-0.021
	0.036	0.018	0.062	0.000	-0.064
	0.044	0.010	0.054	-0.015	-0.066
	0.049	0.030	0.079	-0.007	-0.067
	0.049	0.003	0.113	-0.018	-0.050
	0.047	0.001	0.108	-0.003	-0.052
	0.068	0.002	0.083	-0.005	-0.047
Rata-rata	0.039	0.004	0.086	-0.005	-0.047
Panen 2	0.230	0.011	-0.001	0.021	-0.012
	0.057	0.015	-0.005	0.010	-0.010
	0.030	0.012	0.011	0.006	0.017
	0.204	0.002	0.011	0.011	-0.016
	0.030	0.008	-0.004	0.012	0.007
	0.017	0.007	-0.005	0.022	-0.012
	0.457	0.013	0.034	0.019	-0.005
	0.547	0.006	0.033	0.085	-0.008
	0.010	0.021	-0.010	0.109	-0.006
Rata-rata	0.176	0.011	0.007	0.033	-0.005
Panen 3	0.004	0.027	0.107	-0.009	-0.028
	-0.003	0.054	0.031	0.034	-0.029
	-0.002	0.053	0.025	0.044	-0.034
	0.061	0.029	0.124	0.024	-0.018
	0.061	0.032	0.127	0.002	-0.018
	0.063	0.031	0.007	0.018	-0.012
	0.161	0.036	0.065	-0.016	-0.045
	0.021	0.028	0.030	-0.003	-0.041
	0.014	0.039	0.028	0.011	-0.045
Rata-rata	0.042	0.037	0.060	0.012	-0.030
Panen 4	0.134	0.047	0.007	0.046	0.003
	0.014	0.047	0.011	0.061	0.003
	0.014	0.056	0.421	0.061	-0.005
	0.118	0.055	0.013	0.074	-0.013
	0.122	0.043	0.003	0.074	-0.026
	0.003	0.037	0.553	0.013	-0.017
	0.673	0.041	0.008	0.014	0.013
	0.664	0.021	0.034	0.014	-0.002
	0.020	0.028	1.823	0.053	0.009
Rata-rata	0.196	0.042	0.319	0.046	-0.004

b. Plastik Hitam 600nm

Inokulum	Inokulum Campur	Air Sampah	Kontrol MSM	Kontrol Sampah
Panen 1	0.017	0.027	0.013	-0.002
	0.016	0.027	0.013	-0.007
	0.016	0.020	0.013	-0.008
	0.032	0.020	0.009	-0.021
	0.039	0.025	0.009	-0.024
	0.042	0.013	0.001	-0.029
	0.040	0.017	-0.004	-0.033
	0.038	0.019	-0.004	-0.032
Rata-rata	0.032	0.032	0.006	-0.021
	0.133	0.022	0.020	0.002
Panen 2	0.048	0.023	0.008	0.010
	0.047	0.025	0.006	0.006
	0.269	0.013	0.009	-0.005
	0.027	0.016	0.011	0.002
	0.017	0.011	0.021	-0.003
	0.160	0.022	0.015	0.006
	0.014	0.029	0.070	0.001
	0.006	0.031	0.085	0.002
Rata-rata	0.080	0.021	0.027	0.002
	0.004	0.051	-0.006	-0.006
Panen 3	-0.005	0.077	0.033	-0.006
	-0.003	0.077	0.041	-0.012
	0.061	0.062	0.019	-0.003
	0.055	0.032	0.002	-0.003
	0.059	0.037	0.011	0.003
	0.125	0.036	-0.015	-0.021
	0.008	0.027	-0.004	-0.015
	0.006	0.027	0.008	-0.016
Rata-rata	0.034	0.047	0.010	-0.009
	0.201	0.045	0.034	0.011
Panen 4	0.012	0.044	0.040	0.013
	0.012	0.053	0.047	0.007
	0.103	0.058	0.074	0.008
	0.011	0.044	0.074	-0.005
	0.002	0.040	0.013	-0.005
	0.689	0.028	0.000	0.013
	0.046	0.025	0.000	-0.002
	0.016	0.031	0.023	0.009
Rata-rata	0.121	0.041	0.034	0.005

Lampiran 7: Analisis Statistika ANOVA-One Way

Plastik Hitam

One-way ANOVA: Panen 1

Source DF SS MS F P
 Perlakuan 4 39.083 9.771 13.11 0.000
 Error 15 11.184 0.746
 Total 19 50.267
 S = 0.8635 R-Sq = 77.75% R-Sq(adj) = 71.82%
 Individual 95% CIs For Mean Based on
 Pooled StDev

Level	N	Mean	StDev				
X	4	3.6236	0.6267			(-----*-----)	
S	4	2.3789	1.4978			(-----*-----)	
Y	4	2.8673	0.4337			(-----*-----)	
K	4	0.0000	0.0000	(-----*-----)			
KS	4	0.4753	0.9506	(-----*-----)			

Pooled StDev = 0.8635
 Grouping Information Using Tukey Method
 Perlakuan N Mean Grouping
 X 4 3.6236 A
 Y 4 2.8673 A
 S 4 2.3789 A
 KS 4 0.4753 B
 K 4 0.0000 B

One-way ANOVA: Panen 2

Source DF SS MS F P
 Perlakuan 4 56.141 14.035 53.07 0.000
 Error 15 3.967 0.264
 Total 19 60.108
 S = 0.5142 R-Sq = 93.40% R-Sq(adj) = 91.64%
 Individual 95% CIs For Mean Based on
 Pooled StDev

Level	N	Mean	StDev				
X	4	3.6368	0.4264			(----*)	
S	4	4.9927	0.6897			(---*---)	
Y	4	3.3941	0.4014			(---*---)	
K	4	0.0000	0.0000	(---*--)			
KS	4	2.2125	0.7098	(---*--)			

Pooled StDev = 0.5142
 Grouping Information Using Tukey Method
 Perlakuan N Mean Grouping
 S 4 4.9927 A
 X 4 3.6368 B
 Y 4 3.3941 B
 K 4 2.2125 C
 KS 4 0.0000 D

One-way ANOVA: Panen 3

Source	DF	SS	MS	F	P
Perlakuan	4	57.461	14.365	33.61	0.000
Error	15	6.411	0.427		
Total	19	63.872			

S = 0.6538 R-Sq = 89.96% R-Sq(adj) = 87.29%

Individual 95% CIs For Mean Based on Pooled StDev

Level	N	Mean	StDev					
X	4	4.1649	0.5206					(----*----
S	4	3.4784	0.7723					(----*-----)
Y	4	0.5127	0.6150	(----*-----)				
K	4	0.0000	0.0000	(----*-----)				
KS	4	0.7708	0.9441	(----*-----)				

Pooled StDev = 0.6538

Grouping Information Using Tukey Method

Perlakuan	N	Mean	Grouping
X	4	4.1649	A
S	4	3.4784	A
KS	4	0.7708	B
Y	4	0.5127	B
K	4	0.0000	B

One-way ANOVA: Panen 4

Source	DF	SS	MS	F	P
Perlakuan	4	36.371	9.093	9.81	0.000
Error	15	13.904	0.927		
Total	19	50.275			

S = 0.9628 R-Sq = 72.34% R-Sq(adj) = 64.97%

Individual 95% CIs For Mean Based on Pooled StDev

Level	N	Mean	StDev					
X	4	2.7180	2.0051					(----*-----)
S	4	1.9709	0.5102					(----*-----)
Y	4	3.3882	0.4424					(----*-----)
K	4	0.0000	0.0000	(----*-----)				
KS	4	0.1989	0.3979	(----*-----)				

Pooled StDev = 0.9628

Grouping Information Using Tukey Method

Perlakuan	N	Mean	Grouping
Y	4	3.3882	A
X	4	2.7180	A
S	4	1.9709	A B
KS	4	0.1989	B
K	4	0.0000	B

Plastik Putih**One-way ANOVA: Panen 1**

Source	DF	SS	MS	F	P
Perlakuan	4	19.9072	4.9768	50.37	0.000

Error 15 1.4821 0.0988
 Total 19 21.3893
 $S = 0.3143$ R-Sq = 93.07% R-Sq(adj) = 91.22%
 Individual 95% CIs For Mean Based on
 Pooled StDev

Level	N	Mean	StDev				
X	4	2.3107	0.2946				(---*---
S	4	1.9131	0.5891				(---*---
Y	4	1.9683	0.1549				(---*---
K	4	0.0000	0.0000	(---	*	---)
KS	4	0.0951	0.1901	(---	*	---)

Pooled StDev = 0.3143
 Grouping Information Using Tukey Method
 Perlakuan N Mean Grouping

Perlakuan	N	Mean	Grouping
X	4	2.3107	A
Y	4	1.9683	A
S	4	1.9131	A
KS	4	0.0951	B
K	4	0.0000	B

One-way ANOVA: Panen 2

Source DF SS MS F P
 Perlakuan 4 12.362 3.090 7.57 0.002
 Error 15 6.123 0.408
 Total 19 18.485
 $S = 0.6389$ R-Sq = 66.87% R-Sq(adj) = 58.04%
 Individual 95% CIs For Mean Based on
 Pooled StDev

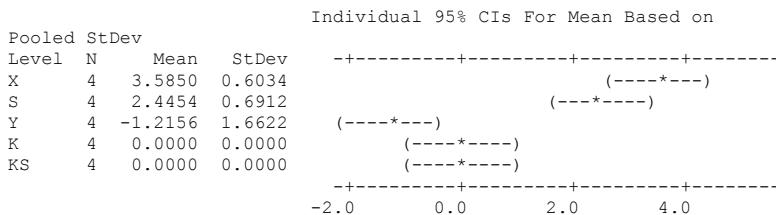
Level	N	Mean	StDev				
X	4	2.2227	0.7843				(-----*-----)
S	4	1.7407	0.6209				(-----*-----)
Y	4	1.6438	0.3992				(-----*-----)
K	4	0.0000	0.0000	(-----*	-----))
KS	4	0.8121	0.9386	(-----*	-----))

Pooled StDev = 0.6389
 Grouping Information Using Tukey Method
 Perlakuan N Mean Grouping

Perlakuan	N	Mean	Grouping
X	4	2.2227	A
S	4	1.7407	A B
Y	4	1.6438	A B
KS	4	0.8121	B C
K	4	0.0000	C

One-way ANOVA: Panen 3

Source DF SS MS F P
 Perlakuan 4 62.693 15.673 21.74 0.000
 Error 15 10.814 0.721
 Total 19 73.507
 $S = 0.8491$ R-Sq = 85.29% R-Sq(adj) = 81.37%



Pooled StDev = 0.8491

Grouping Information Using Tukey Method

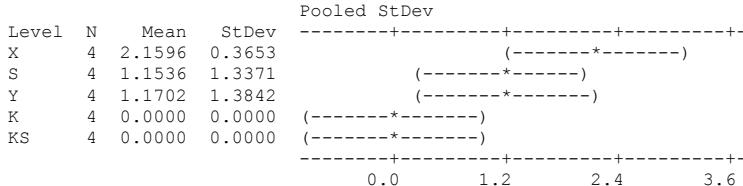
Perlakuan	N	Mean	Grouping
X	4	3.5850	A
S	4	2.4454	A
Y	4	0.0000	B
K	4	0.0000	B
KS	4	-1.2156	B

One-way ANOVA: Panen 4

Source	DF	SS	MS	F	P
Perlakuan	4	13.375	3.344	4.36	0.016
Error	15	11.512	0.767		
Total	19	24.887			

S = 0.8761 R-Sq = 53.74% R-Sq(adj) = 41.41%

Individual 95% CIs For Mean Based on Pooled StDev



Pooled StDev = 0.8761

Grouping Information Using Tukey Method

Perlakuan	N	Mean	Grouping
X	4	2.1596	A
S	4	1.1702	A B
Y	4	1.1536	A B
KS	4	0.0000	B
K	4	0.0000	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Plastik Transparan

One-way ANOVA: Panen 1

Source	DF	SS	MS	F	P
Perlakuan	4	15.841	3.960	3.97	0.022
Error	15	14.972	0.998		
Total	19	30.813			

S = 0.9991 R-Sq = 51.41% R-Sq(adj) = 38.45%

Individual 95% CIs For Mean Based on
Pooled StDev

Level	N	Mean	StDev	
X	4	2.5654	1.0263	(-----*-----)
S	4	0.7785	1.5571	(-----*-----)
Y	4	1.8839	0.2092	(-----*-----)
K	4	1.0416	1.2121	(-----*-----)
KS	4	0.0000	0.0000	(-----*-----)

Pooled StDev = 0.9991

Grouping Information Using Tukey Method

Perlakuan	N	Mean	Grouping
X	4	2.5654	A
Y	4	1.8839	A B
K	4	1.0416	A B
S	4	0.7785	A B
KS	4	0.0000	B

One-way ANOVA: Panen 2

Source	DF	SS	MS	F	P
Perlakuan	4	20.25	5.06	4.53	0.013
Error	15	16.75	1.12		
Total	19	37.00			

S = 1.057 R-Sq = 54.73% R-Sq(adj) = 42.66%

Individual 95% CIs For Mean Based on
Pooled StDev

Level	N	Mean	StDev	
X	4	2.121	1.074	(-----*-----)
S	4	2.312	0.586	(-----*-----)
Y	4	1.513	2.022	(-----*-----)
K	4	0.000	0.000	(-----*-----)
KS	4	0.000	0.000	(-----*-----)

0.0 1.2 2.4 3.6

Pooled StDev = 1.057

Grouping Information Using Tukey Method

Perlakuan	N	Mean	Grouping
S	4	2.312	A
X	4	2.121	A B
Y	4	1.513	A B
KS	4	0.000	B
K	4	0.000	B

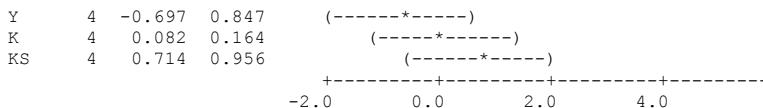
One-way ANOVA: Panen 3

Source	DF	SS	MS	F	P
Perlakuan	4	51.76	12.94	8.95	0.001
Error	15	21.69	1.45		
Total	19	73.46			

S = 1.203 R-Sq = 70.47% R-Sq(adj) = 62.59%

Individual 95% CIs For Mean Based on Pooled

StDev	Level	N	Mean	StDev	
	X	4	0.845	0.991	(-----*-----)
	S	4	4.019	2.143	(-----*-----)



Pooled StDev = 1.203

Grouping Information Using Tukey Method

Perlakuan	N	Mean	Grouping
S	4	4.019	A
X	4	0.845	B
KS	4	0.714	B
K	4	0.082	B
Y	4	-0.697	B

One-way ANOVA: Panen 4

Source	DF	SS	MS	F	P
Perlakuan	4	32.230	8.057	8.29	0.001
Error	15	14.577	0.972		
Total	19	46.807			

S = 0.9858 R-Sq = 68.86% R-Sq(adj) = 60.55%

Individual 95% CIs For Mean Based on
Pooled StDev

Level	N	Mean	StDev	-----+-----+-----+-----+-----+-----
X	4	0.6998	1.0783	(-----*-----)
S	4	2.3118	1.7373	(-----*-----)
Y	4	3.3223	0.4299	(-----*-----)
K	4	0.3511	0.7022	(-----*-----)
KS	4	0.0000	0.0000	(-----*-----)

-----+-----+-----+-----+-----+-----

0.0 1.5 3.0 4.5

Pooled StDev = 0.9858

Grouping Information Using Tukey Method

Perlakuan	N	Mean	Grouping
Y	4	3.3223	A
S	4	2.3118	A B
X	4	0.6998	B C
K	4	0.3511	B C
KS	4	0.0000	C

Keterangan :

- Perlakuan X : Inokulum Campur,
- Perlakuan S : Inokulum Air Sampah,
- Perlakuan Y : Inokulum Yeast M 2.3,
- Perlakuan K : Kontrol MSM Steril,
- Perlakuan KS : Kontrol Sampah.

Lampiran 8 : Karakter Koloni Mikroorganisme

Inokulum	Kode Botol	Pengenceran	Koloni	Karakter				Jumlah		
				Bentuk	Tepi	Elevasi	Warna			
Inokulum Campur (Inokulum X)	Bakteri	XH	XH	10^{-1}	XH1 XH2 XH16 XH3	Circular Circular Rhizoid Circular	Entire Entire Curled Entire	Convex Flat Flat Convex	Putih Bening Putih Kuning	49 84 36 19
				10^{-2}	XH16 XH8 XH5 XH9	Rhizoid Circular Circular Circular	Curled Entire Entire Curled	Flat Pulvinate Convex Convex	Putih Kuning Putih kekuningan Putih kekuningan	6 3 9 8
				10^{-3}	XH10 XH5 XH11 XH12 XH13	Circular Circular Circular Circular Circular	Curled Entire Undulate Entire Filamentous	Convex Convex Convex Raised Flat	Kuning Putih kekuningan Putih kekuningan Bening Bening	26 180 4 24 52
				10^{-4}	XH17 XH14 XH6 XH18	Irregular Circular Circular Irregular	Lobate Curled Entire Undulate	Raised Raised Flat Flat	Putih Kuning Putih Putih	1 6 5 2
				10^{-5}	XH6 XH19 XH7	Circular Spindle Circular	Entire Entire Filamentous	Flat Convex Flat	Putih Kuning Putih tengah biru	1 1 1
				10^{-6}	XH15	Circular	Entire	Raised	Putih	2
				10^{-7}	XH6	Circular	Entire	Flat	Putih	3
				10^{-8}	XH3 XH4	Circular Punctiform	Entire Entire	Convex Flat	Kuning Putih	1 2
				10^{-9}	XH7	Circular	Filamentous	Flat	Putih tengah biru	1
				10^{-10}	-	-	-	-	-	-
Inokulum Campur (Inokulum X)	Bakteri	XP	XP	10^{-1}	XP12 XP7 XP1	Rhizoid Circular Circular	Lobate Filamentous Entire	Flat Flat Convex	Putih Bening Putih Putih	5 6 92
				10^{-2}	XP9 XP2	Irregular Circular	Lobate Entire	Flat Flat	Putih Putih	1 1
				10^{-3}	XP10 XP1	Irregular Circular	Lobate Entire	Flat Convex	Kuning Putih	1 6
				10^{-4}	XP9 XP1 XP5 XP6	Irregular Circular Circular Circular	Lobate Entire Entire Erose	Flat Convex Raised Convex	Putih Putih Kuning Bening Putih	1 2 2 1
				10^{-5}	XP4	Circular	Entire	Raised	Putih	1
				10^{-6}	XP11	Irregular	Undulate	Flat	Putih	2
				10^{-7}	-	-	-	-	-	-
				10^{-8}	XP3 XP8	Circular Circular	Entire Entire	Convex Pulvinate	Putih Kekuningan Kuning	4 2
				10^{-9}	XP9 XP4	Irregular Circular	Lobate Entire	Flat Raised	Putih Putih	1 1
				10^{-10}	-	-	-	-	-	-
Inokulum Campur (Inokulum X)	Bakteri	XT	XT	10^{-1}	XT7 XT1 XT2 XT4 XT5 XT8	Circular Circular Circular Circular Circular Circular	Filamentous Entire Entire Entire Entire Filamentous	Flat Convex Convex Flat Flat Flat	Putih tengah biru Putih Putih Kekuningan Bening Kuning bening Putih	2 74 13 11 5 6
				10^{-2}	XT9 XT10 XT2 XT6	Circular Filamentous Circular Circular	Filamentous Curled Entire Entire	Umbonate Raised Convex Convex	Putih Putih Putih Kekuningan Bening	8 1 4 65
				10^{-3}	XT9 XT9	Circular Circular	Entire Filamentous	Convex Umbonate	Putih Kekuningan Putih	2 1
				10^{-4}	XT11 XT1 XT2	Filamentous Circular Circular	Filamentous Entire Entire	Umbonate Convex Convex	Putih Putih Putih Kekuningan	3 50 2
				10^{-5}	XT2	Circular	Entire	Convex	Putih Kekuningan	3
				10^{-6}	XT2	Circular	Entire	Convex	Putih Kekuningan	9
				10^{-7}	-	-	-	-	-	-
				10^{-8}	XT1	Circular	Entire	Convex	Putih	35
				10^{-9}	-	-	-	-	-	-
				10^{-10}	XT1 XT3 XT11	Circular Circular Irregular	Entire Entire Curled	Convex Flat Flat	Putih Putih Kekuningan Kuning	2 1 2
Y	8	XH	10^{-1}	XH1	Circular	Filamentous	Flat	Putih	31	

			10^{-2}	-	-	-	-	-	-
			10^{-3}	-	-	-	-	-	-
			10^{-4}	-	-	-	-	-	-
			10^{-5}	-	-	-	-	-	-
			10^{-6}	-	-	-	-	-	-
			10^{-7}	-	-	-	-	-	-
			10^{-8}	-	-	-	-	-	-
			10^{-9}	-	-	-	-	-	-
			10^{-10}	-	-	-	-	-	-
			10^{-1}	XP4	Filamentous	Filamentous	Convex	Putih tengah kuning Putih tengah biru	5
		XP		XP1	Circular	Filamentous	Convex	Putih tengah kuning Putih tengah biru	11
			10^{-2}	XP2	Circular	Filamentous	Convex	Putih tengah kuning Putih tengah biru Putih	1
				XP1 XP3	Circular Circular	Filamentous Filamentous	Convex Convex	Putih tengah biru Putih	2 2
			10^{-3}	-	-	-	-	-	-
			10^{-4}	-	-	-	-	-	-
			10^{-5}	-	-	-	-	-	-
			10^{-6}	-	-	-	-	-	-
			10^{-7}	-	-	-	-	-	-
			10^{-8}	-	-	-	-	-	-
			10^{-9}	-	-	-	-	-	-
			10^{-10}	-	-	-	-	-	-
		XT	10^{-1}	XT2	Circular	Filamentous	Convex	Putih tengah kuning Putih tengah biru	13
				XT1 XT3	Circular Circular	Filamentous Entire	Convex Pulvinate	Putih	27 16
			10^{-2}	XT4	Circular	Filamentous	Convex	Putih	1
			10^{-3}	XT1	Circular	Filamentous	Convex	Putih tengah biru	1
			10^{-4}	-	-	-	-	-	-
			10^{-5}	-	-	-	-	-	-
			10^{-6}	-	-	-	-	-	-
			10^{-7}	-	-	-	-	-	-
			10^{-8}	-	-	-	-	-	-
			10^{-9}	-	-	-	-	-	-
			10^{-10}	-	-	-	-	-	-
		SH	10^{-1}	SH2 SH4 SH1 SH5 SH6 SH7	Circular Circular Circular Circular Circular Irregular	Erose Entire Entire Entire Filamentous Lobate	Umbonate Flat Convex Umbonate Umbonate Raised	Kuning Putih Putih Kekuningan Putih Kekuningan Putih Putih	2 5 1 1 1 2
			10^{-2}	SH3 SH8 SH9	Circular Irregular Spindle	Erose Curled Entire	Umbonate Flat Convex	Putih Kekuningan Putih Kekuningan Putih kekuningan	1 2 1
			10^{-3}	SH1	Circular	Entire	Convex	Putih kekuningan	1
			10^{-4}	-	-	-	-	-	-
			10^{-5}	-	-	-	-	-	-
			10^{-6}	SH1	Circular	Entire	Convex	Putih Kekuningan	1
			10^{-7}	-	-	-	-	-	-
			10^{-8}	SH1	Circular	Entire	Convex	Putih Kekuningan	1
			10^{-9}	SH1 SP7	Circular Irregular	Entire Lobate	Convex Raised	Putih Kekuningan Putih	2 1
			10^{-10}	SP1	Circular	Entire	Convex	Putih Kekuningan	2
		SP	10^{-1}	SP7 SP6 SP1	Irregular Irregular Circular	Filamentous Curled Entire	Umbonate Raised Convex	Putih Kekuningan Putih tengah bening Putih kekuningan	13 80 13
			10^{-2}	SP5 SP8 SP2 SP1 SP3	Irregular Filamentous Circular Circular Circular	Curled Filamentous Entire Entire Filamentous	Raised Flat Convex Convex Umbonate	Putih kekuningan Putih Kuning Putih kekuningan Putih kekuningan	13 1 1 2 1
			10^{-3}	SP6 SP2	Irregular Circular	Curled Entire	Raised Convex	Putih tengah bening Kuning	1 6
			10^{-4}	-	-	-	-	-	-
			10^{-5}	SP1	Circular	Entire	Convex	Puith kekuningan	3
			10^{-6}	SP4 SP1	Circular Circular	Undulate Entire	Convex Convex	Kuning Putih Kekuningan	1 2

	Yeast		10^{-7}	SP9	Circular	Filamentous	Flat	Putih	1
			10^{-8}	SP1 SP4	Circular Circular	Entire Undulate	Convex Convex	Putih Kekuningan Putih Kekuningan	7 1
			10^{-9}	SP1	Circular	Entire	Convex	Putih kekuningan	5
			10^{-10}	SP1 SP3	Circular Circular	Entire Filamentous	Convex Umbonate	Putih kekuningan Putih kekuningan	7 1
			10^{-1}	ST1 ST4 ST7	Circular Circular Irregular	Entire Filamentous Curled	Convex Umbonate Raised	Putih Putih Putih bening	13 219 117
			10^{-2}	ST1 ST2 ST7 ST10	Circular Circular Irregular Filamentous	Entire Entire Curled Filamentous	Convex Flat Raised Umbonate	Putih Putih Putih bening Putih	1 1 8 25
			10^{-3}	ST1 ST8 ST9 ST7	Circular Irregular Irregular Irregular	Entire Filamentous Filamentous Curled	Convex Flat Flat Raised	Putih Putih Kuning Putih tengah bening	3 2 6 2
			10^{-4}	ST1 ST5	Circular Circular	Entire Entire	Convex Convex	Putih Putih kekuningan	2 2
			10^{-5}	ST2	Circular	Entire	Flat	Putih	1
			10^{-6}	ST1 ST6	Circular Circular	Entire Entire	Convex Convex	Putih Kuning	1 4
			10^{-7}	ST1 ST2 ST3	Circular Circular Circular	Entire Entire Filamentous	Convex Flat Flat	Putih Putih Putih	2 1 1
			10^{-8}	ST1	Circular	Entire	Convex	Putih	7
			10^{-9}	-	-	-	-	-	-
			10^{-10}	ST6 ST4	Circular Circular	Entire Filamentous	Convex Umbonate	Kuning Putih	1 1
			10^{-1}	SH2 SH3 SH1 SH4	Circular Circular Circular Circular	Entire Filamentous Filamentous Filamentous	Pulvinate Pulvinate Convex Convex	Putih kekuningan Putih Putih Putih tengah biru	3 2 3 1
			10^{-2}	SH1	Circular	Filamentous	Convex	Putih	1
			10^{-3}	-	-	-	-	-	-
			10^{-4}	-	-	-	-	-	-
			10^{-5}	-	-	-	-	-	-
			10^{-6}	-	-	-	-	-	-
			10^{-7}	-	-	-	-	-	-
			10^{-8}	-	-	-	-	-	-
			10^{-9}	-	-	-	-	-	-
			10^{-10}	-	-	-	-	-	-
			10^{-1}	SP1	Circular	Entire	Pulvinate	Putih Kekuningan	10
			10^{-2}	SP1	Circular	Entire	Pulvinate	Putih Kekuningan	1
			10^{-3}	-	-	-	-	-	-
			10^{-4}	-	-	-	-	-	-
			10^{-5}	-	-	-	-	-	-
			10^{-6}	-	-	-	-	-	-
			10^{-7}	-	-	-	-	-	-
			10^{-8}	-	-	-	-	-	-
			10^{-9}	-	-	-	-	-	-
			10^{-10}	-	-	-	-	-	-
			10^{-1}	ST1 ST2	Circular Circular	Entire Entire	Pulvinate Pulvinate	Putih Putih Kekuningan	1 7
			10^{-2}	-	-	-	-	-	-
			10^{-3}	-	-	-	-	-	-
			10^{-4}	-	-	-	-	-	-
			10^{-5}	-	-	-	-	-	-
			10^{-6}	-	-	-	-	-	-
			10^{-7}	-	-	-	-	-	-
			10^{-8}	-	-	-	-	-	-
			10^{-9}	-	-	-	-	-	-
			10^{-10}	-	-	-	-	-	-
			10^{-1}	KSH1 KSH2	Circular Irregular	Entire Undulate	Flat Flat	Putih Putih bening	11 1
			10^{-2}	KSH3	Circular	Entire	Flat	Putih bening	6
			10^{-3}	KSH3	Circular	Entire	Flat	Putih bening	4
			10^{-4}	KSH4 KSH5	Circular Irregular	Entire Undulate	Umbonate Raised	Putih bening Putih kekuningan	1 2
			10^{-5}	KSH3	Circular	Entire	Flat	Putih bening	1
			10^{-6}	KSH1	Circular	Entire	Flat	Putih	4
			10^{-7}	-	-	-	-	-	-
Kontrol (KS)	Bakteri	KSH	10^{-1}	KSH1 KSH2	Circular Irregular	Entire Undulate	Flat Flat	Putih Putih bening	11 1
			10^{-2}	KSH3	Circular	Entire	Flat	Putih bening	6
			10^{-3}	KSH3	Circular	Entire	Flat	Putih bening	4
			10^{-4}	KSH4 KSH5	Circular Irregular	Entire Undulate	Umbonate Raised	Putih bening Putih kekuningan	1 2
			10^{-5}	KSH3	Circular	Entire	Flat	Putih bening	1
			10^{-6}	KSH1	Circular	Entire	Flat	Putih	4
			10^{-7}	-	-	-	-	-	-

			10^{-8}	KSH6 KSH7	Irregular Circular	Curled	Flat Raised	Putih	1
			10^{-9}	KSH7	Circular	Curled	Raised	Putih	1
Yeast	KSP	KSP	10^{-10}	KSH7	Circular	Curled	Raised	Putih	3
			10^{-1}	KSP1	Irregular	Lobate	Flat	Putih	1
			10^{-2}	KSP2 KSP3	Circular Circular	Entire Entire	Flat Flat	Putih bening Putih	3 1
			10^{-3}	KSP2	Circular	Entire	Flat	Putih bening	1
			10^{-4}	-	-	-	-	-	-
			10^{-5}	KSP2	Circular	Entire	Flat	Putih bening	1
			10^{-6}	-	-	-	-	-	-
			10^{-7}	-	-	-	-	-	-
			10^{-8}	KSP3	Circular	Entire	Flat	Putih	1
			10^{-9}	-	-	-	-	-	-
			10^{-10}	KSP3	Circular	Filamentous	Filamentous	Putih	1
	KST	KST	10^{-1}	KST1	Circular	Curled	Raised	Putih	111
			10^{-2}	KST2	Circular	Entire	Raised	Putih bening	12
			10^{-3}	KST2	Circular	Entire	Raised	Putih bening	6
			10^{-4}	-	-	-	-	-	-
			10^{-5}	-	-	-	-	-	-
			10^{-6}	KST3	Circular	Curled	Raised	Kuning	1
			10^{-7}	-	-	-	-	-	-
			10^{-8}	-	-	-	-	-	-
			10^{-9}	KST4	Irregular	Undulate	Flat	Putih	2
			10^{-10}	KST5	Irregular	Filamentous	Flat	Putih	1
Yeast	KSH	KSH	10^{-1}	-	-	-	-	-	-
			10^{-2}	-	-	-	-	-	-
			10^{-3}	-	-	-	-	-	-
			10^{-4}	-	-	-	-	-	-
			10^{-5}	KSP1	Circular	Filamentous	Flat	Putih	1
			10^{-6}	-	-	-	-	-	-
			10^{-7}	-	-	-	-	-	-
			10^{-8}	-	-	-	-	-	-
			10^{-9}	-	-	-	-	-	-
			10^{-10}	-	-	-	-	-	-
Yeast	KSP	KSP	10^{-1}	-	-	-	-	-	-
			10^{-2}	-	-	-	-	-	-
			10^{-3}	-	-	-	-	-	-
			10^{-4}	-	-	-	-	-	-
			10^{-5}	-	-	-	-	-	-
			10^{-6}	-	-	-	-	-	-
			10^{-7}	KSP1	Circular	Filamentous	Flat	Putih	1
			10^{-8}	KSP1	Circular	Filamentous	Flat	Putih	1
			10^{-9}	-	-	-	-	-	-
			10^{-10}	KSP1	Circular	Filamentous	Flat	Putih	1
Yeast	KST	KST	10^{-1}	-	-	-	-	-	-
			10^{-2}	-	-	-	-	-	-
			10^{-3}	KST2	Irregular	Filamentous	Flat	Putih	1
			10^{-4}	-	-	-	-	-	-
			10^{-5}	KST1	Circular	Filamentous	Flat	Putih	1
			10^{-6}	-	-	-	-	-	-
			10^{-7}	-	-	-	-	-	-
			10^{-8}	-	-	-	-	-	-
			10^{-9}	-	-	-	-	-	-
			10^{-10}	-	-	-	-	-	-

Lampiran 9: Subkultur dan Starter

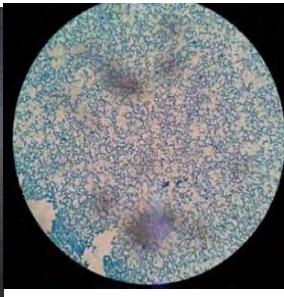
Inokulum Campur



Inokulum Air Sampah



Inokulum Yeast M 2.3



Lampiran 10: Kolom Winoogradsky**Inkubasi 0 minggu**

Inokulum Campur Koleksi Laboratorium (X)

Plastik Hitam



Plastik Putih



Plastik Transparan



Inokulum Air Sampah (S)

Plastik Hitam



Plastik Putih



Plastik Transparan



Inokulum Yeast M 2.3 (Y)

Plastik Hitam



Plastik Putih



Plastik Transparan



Kontrol (K)

Plastik Hitam



Plastik Putih



Plastik Transparan

**Kontrol Sampah (KS)**

Plastik Hitam



Plastik Putih



Plastik Transparan

**Inkubasi 12 minggu**

Inokulum Campur Koleksi Laboratorium (X)

Plastik Hitam



Plastik Putih



Plastik Transparan



Inokulum Air Sampah (S)

Plastik Hitam



Plastik Putih



Plastik Transparan



Inokulum Yeast M 2.3 (Y)

Plastik Hitam



Plastik Putih



Plastik Transparan



Kontrol (K)

Plastik Hitam



Plastik Putih



Plastik Transparan



Kontrol Sampah (KS)

Plastik Hitam

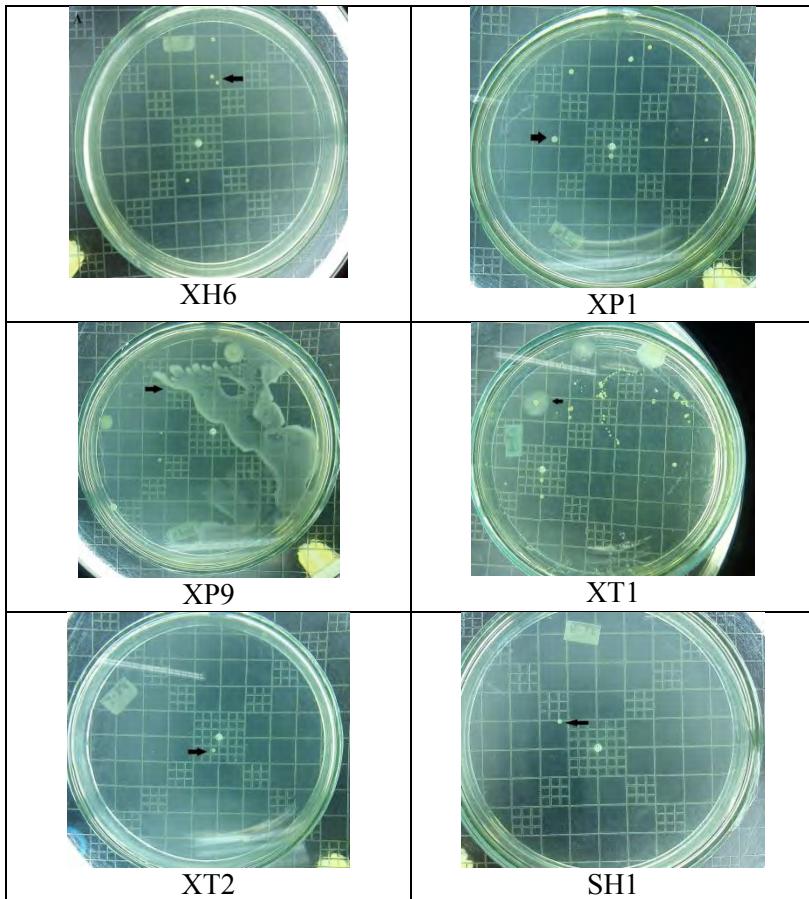


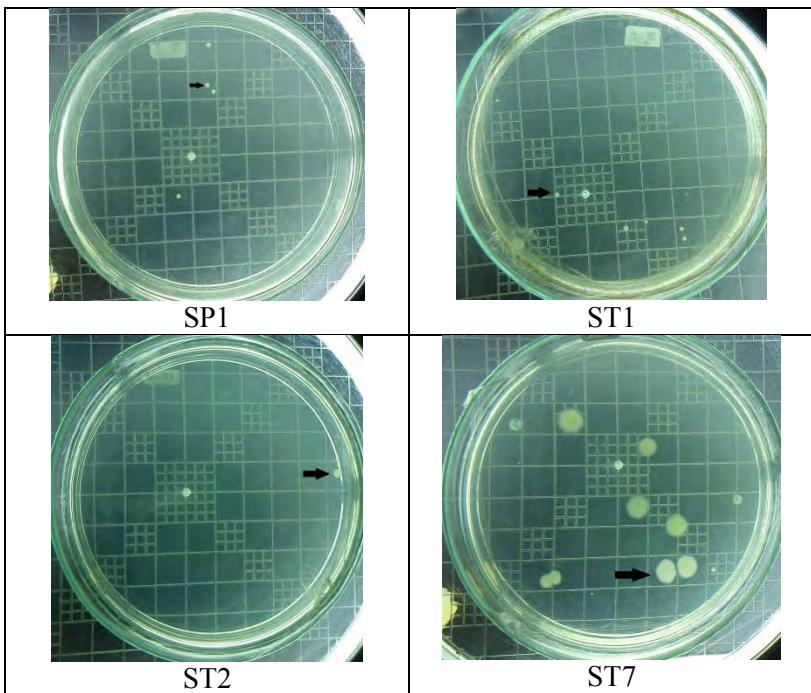
Plastik Putih



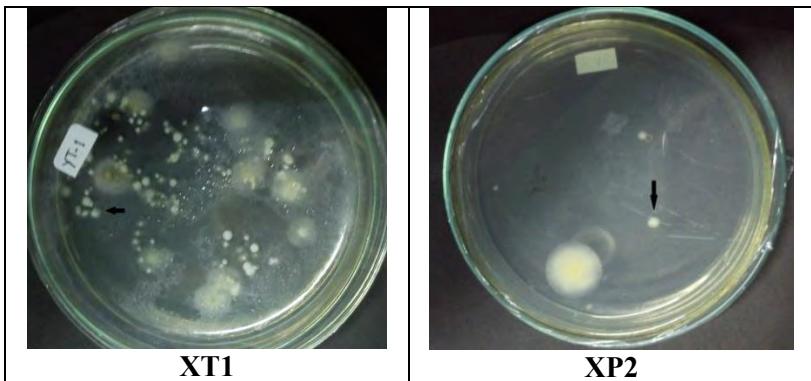
Plastik Transparan

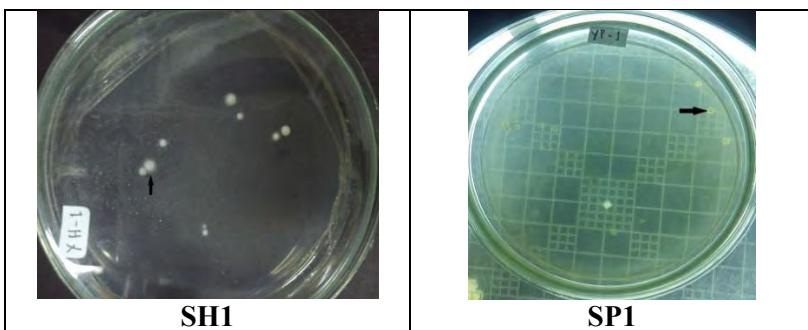


Lampiran 11 : Koloni Kandidat Biodegradasi Plastik**Bakteri**



Yeast





BIODATA PENULIS



Laellatul Badriyah, lahir di Pati, 25 Desember 1993 sebagai anak pertama dari tiga bersaudara dari pasangan bapak Ahmad Ruba'i dan Ibu Anis Yufaidah. Penulis memulai jenjang pendidikan formal di TK Darma Wanita Angkatan Kidul Pati, SDN Angkatan Kidul I Pati, MTs Tuan Sokolangu Gabus Pati, kemudian SMAN 3 Pati dan terakhir di Institut Teknologi Sepuluh Nopember di Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.

Selama kuliah di Institut Teknologi Sepuluh Nopember penulis pernah menjadi anggota redaksi Majalah BIOGONAL Biologi ITS sebagai editor, Surveyor di Ecology Laboratory Biologi ITS, menjadi bendahara umum di paguyuban IKMP (Ikatan Keluarga Mahasiswa Pati) dan aktif dalam berbagai kepanitiaan. Di antara aktivitas studi, penulis juga pernah menjadi asisten praktikum mata kuliah Struktur Perkembangan Tumbuhan I, Ekologi Tumbuhan, Perkembangan Hewan dan Sistematika Hewan.

Penulis yang akrab dipanggil Ella ini selain hobi jalananter, juga tertarik untuk menjadi seorang peneliti. Ketertarikan tersebut dimulai sejak bangku SMA dimana Penulis aktif dalam ekstrakurikuler KIR dan beberapa kali menjuarai perlombaan KIR tingkat SMA, ketertarikan pada dunia penelitian berlanjut hingga perguruan tinggi dengan fokus bidang mikrobiologi. Kemampuan penulis dalam bidang mikrobiologi juga ditunjang dengan Kerja Praktek di Balai Laboratorium Kesehatan Yogyakarta, sehingga untuk memenuhi syarat kelulusan mata kuliah Tugas Akhir dalam menempuh jenjang S1 Biologi penulis melakukan penelitian

dengan judul “**Biodegradasi Plastik oleh Mikroorganisme Air Sampah dalam Kolom Winogradsky**” di bawah bimbingan Dr.rer.nat. Ir. Maya Shovitri, M.Si.

Biodegradasi Plastik Putih dalam Kolom Winogradsky

Laellatul Badriyah dan Maya Shovitri
 Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
 Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS)
 Jl. Arief Rahman Hakim, Surabaya 60111 Indonesia
e-mail: maya@bio.its.ac.id

Abstrak—Plastik merupakan polimer sintetis yang paling banyak digunakan di masyarakat. Sifat plastik yang sulit untuk didegradasi menyebabkan plastik menjadi sumber pencemaran di lingkungan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi mikroorganisme air sampah dan inokulum campur koleksi laboratorium, serta yeast M 2.3 dalam mendegradasi plastik putih. Metode biodegradasi plastik yang digunakan adalah kolom Winogradsky. Penelitian ini menggunakan botol berukuran 600 ml yang berisi 300 gram pasir steril, medium MSM, inokulum air sampah (S), inokulum campur (X) serta yeast M 2.3 (Y), dan plastik uji warna putih. Parameter yang diukur adalah persen degradasi, *Optical Density (OD)* biofilm dan kolom air selama 3 bulan masa inkubasi dengan waktu panen 3 minggu sekali. Hasil yang diperoleh dari penelitian ini adalah Inokulum X, S dan Y memiliki kemampuan yang sama dalam mendegradasi plastik putih. Degradasi plastik putih paling tinggi terjadi pada inokulum X setelah 9 minggu masa inkubasi dengan persentase degradasi 3,6%, dimana kerapatan sel pada masa inkubasi setelah 9 minggu untuk biofilm dengan λ 600nm adalah 0,036 dan λ 540nm adalah 0,039, serta kerapatan sel pada kolom air dengan λ 600nm adalah 0,034 dan λ 540nm adalah 0,055.

Kata Kunci— Air sampah, Biodegradasi, Mikroorganisme, dan Plastik Putih.

I. PENDAHULUAN

PLASTIK merupakan polimer sintetis yang sulit untuk terdegradasi, hal tersebut disebabkan karena plastik mempunyai kerapatan massa molekul yang tinggi, dimana polietilen memiliki kerapatan 0,91 hingga 0,97 gram/cm³, sehingga mengalami penumpukan di lingkungan rata-rata mencapai 25 miliar ton per tahun [1].

Banyaknya masalah yang ditimbulkan oleh keberadaan sampah plastik di lingkungan, membuat sampah plastik menjadi fokus utama dalam bidang penelitian. salah satunya yaitu biodegradasi plastik. Biodegradasi dapat dilakukan oleh mikroorganisme seperti bakteri, jamur, yeast dan alga. Biodegradasi bahan organik dapat terjadi secara aerob maupun anaerob. Proses biodegradasi terjadi melalui beberapa tahapan yaitu biodeteriorasi, biofragmentasi, asimilasi dan mineralisasi [2]. Proses biodegradasi akan lebih efektif dengan menggunakan jenis mikroorganisme yang memiliki karakter degradasi yang berbeda, dimana terdapat mikroorganisme yang berperan dalam pemecahan polimer dan ada yang berperan dalam pemanfaatan monomer [3].

Dari hasil penelitian tentang biodegradasi plastik yang telah dilakukan sebelumnya, didapatkan beberapa jenis bakteri yang mampu mendegradasi polimer plastik dengan enzim yang diproduksinya, *Pseudomonas* spp. dapat mendegradasi plastik dengan enzim serin hydrolase dan esterase [4]. *Brevibacillus borstelensis* dapat mengurangi berat molekul polietilen 11-30% [5]. Selain bakteri, yeast juga mampu melakukan degradasi terhadap polimer plastik dengan enzim yang dimilikinya. Beberapa yeast mampu mendegradasi polimer plastik, contohnya yaitu *Candida rugosa* yang memiliki enzim esterase dan urease sehingga mampu mendegradasi poliuretan [4].

Ainiyah dan Shovitri [6] telah menunjukkan bahwa konsorsium bakteri tanah sampah dalam kolom Winogradsky dapat mendegradasi plastik berwarna hitam rata-rata lebih baik dari plastik berwarna lainnya. Kolom Winogradsky merupakan ekosistem mikrobia buatan yang berfungsi sebagai sumber kultur bakteri jangka panjang. Kolom ini selain berfungsi menyediakan sumber makanan untuk inokulum, kolom ini juga berfungsi untuk menguji proses degradasi. Dalam kolom Winogradsky lingkungan bakteri untuk proses degradasi dapat dikondisikan secara aerob dan anaerob untuk skala laboratorium [7]. Selain itu, pada penelitian ini juga digunakan air sampah TPA sebagai inokulum baru untuk mendegradasi plastik. Air sampah ini mengandung bahan-bahan kimia dan mikroorganisme[8]. Sehingga dalam penelitian ini akan dilakukan pengujian untuk mencari inokulum yang paling potensial dengan membandingkan inokulum air sampah, inokulum campur koleksi laboratorium dan yeast M 2.3 dalam mendegradasi plastik dengan metode kolom Winogradsky.

II. METODOLOGI

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari – Juni 2015 di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi, Jurusan Biologi FMIPA ITS Surabaya.

B. Pengambilan Air Sampah

Air sampah yang digunakan merupakan air pada tumpukan sampah di TPA Benowo Surabaya. Air sampah disaring dengan saringan kasar untuk memisahkan air dengan serpihan sampah. Filtrat hasil penyaringan disaring ulang menggunakan kertas saring Whatman grade 1 dengan ukuran pori-pori 11 µm. Grade kertas saring dipilih berdasarkan pada

ukuran bakteri yang memiliki diameter 0,2 – 2,0 μm dan panjang 2 – 8 μm [9].

C. Pembuatan Starter inokulum campur (Inokulum X) dan Inokulum Yeast M 2.3 (Inokulum Y)

Inokulum campur merupakan inokulum campur dari tanah sampah penelitian yang dilakukan oleh Ainiyah dan Shovitri[6]. Pertama dilakukan pembuatan subkultur sebanyak 3 kali. Subkultur-1 adalah 1 ml inokulum kultur campuran tanah sampah dari kolom Winogradsky dimasukkan dalam 9 ml medium *Nutrient Broth* (NB) dan diinkubasi selama 24 jam. Subkultur-2 adalah 5 ml subkultur-1 diinokulasikan dalam medium NB 50 ml dan diinkubasi selama 24 jam. Subkultur-3 adalah 10 ml subkultur-2 diinokulasikan dalam medium NB 100 ml dan diinkubasi selama 24 jam. Subkultur-3 sebanyak 100 ml digunakan untuk membuat starter sebanyak 500ml. Starter dimasukkan dalam medium *Mineral Salt Medium* (MSM) dengan perbandingan 70% medium MSM : 30% starter. Starter dalam medium MSM dilihat kurva pertumbuhannya menggunakan Spektrofotometer dengan panjang gelombang 600nm, dengan pengamatan setiap 24 jam. Starter yang digunakan adalah 10% dari total medium dalam kolom Winogradsky.

Subkultur Inokulum yeast M2.3 sama halnya dengan inokulum campur, hanya saja medium untuk subkultur menggunakan YMB dan waktu inkubasi 24 - 48 jam , dimana pada subkultur1 1 ose kultur murni inokulum Y diinokulasikan dengan cara digores di atas medium *Yeast Malt Extract Agar* (YMEA) miring dan diinkubasi selama 24 - 48 jam. Subkultur-2 adalah 1 ose subkultur-1 dimasukkan dalam 10 ml medium *Yeast Malt Broth* (YMB) dan diinkubasi selama 24 - 48 jam. Subkultur dilanjutkan hingga subkultur 4 dan perlakuan selanjutnya sama dengan pembuatan starter pada inokulum campur.

D. Persiapan Plastik Uji

Plastik uji yang digunakan adalah kantong plastik belanja (tas kresek) warna putih. Plastik uji dipotong dengan ukuran 10 x 3 cm, masing-masing plastik uji disterilkan dengan direndam alkohol 70% selama kurang lebih 30 menit dan dikering anginkan sekaligus dengan UV pada LAF (Bio 60-M) selama kurang lebih 30 menit. Selanjutnya plastik uji dioven pada suhu 80°C selama 24 jam. Plastik uji ditimbang menggunakan *Analytical balance* (Shimadzu) untuk mengetahui berat kering awal plastik. Plastik diberi tanda supaya mudah untuk dibedakan. Plastik di UV pada LAF kembali untuk menyeterilkan plastik uji.

E. Biodegradasi Plastik

Metode biodegradasi plastik yang digunakan adalah kolom *Winogradsky* sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Ainiyah dan Shovitri[6]. Inokulum yang digunakan dalam tahap biodegradasi ini adalah inokulum air sampah yang selanjutnya disebut dengan inokulum S, inokulum campur koleksi laboratorium yang selanjutnya disebut dengan inokulum X, dan inokulum yeast M 2.3 disebut dengan inokulum Y. Kontrol negatif dibuat tanpa penambahan inokulum mikroorganisme pada kolom Winogradsky dengan kode K dan kontrol air sampah steril dengan kode KS. Proses

biodegradasi ini menggunakan botol plastik berukuran 600 ml dan berisi 300 gram pasir steril. Inokulum X dan Y berisi 315 ml medium MSM dan 35 ml inokulum, inokulum S berisi 350ml air sampah, sedangkan untuk perlakuan kontrol K ditambahkan 350 ml medium MSM steril dan kontrol KS berisi 350ml air sampah steril. untuk inokulum kode K. Botol Winogradsky untuk inokulum kode S berisi 300 gram pasir steril dan 350 ml filtrat air sampah. Kolom Winogradsky untuk masing-masing inokulum dibuat 3 kali ulangan.

Plastik dimasukkan ke dalam medium yang telah berisi inokulum mikroorganisme uji dengan menggunakan pinset steril hingga terendam dalam medium. Proses biodegradasi ini dilakukan selama 3 bulan dengan metode destruktif untuk setiap tiap 3 minggunya dengan pemanenan sebanyak 4 kali. Biodegradasi terjadi apabila terdapat selisih penurunan antara berat kering plastik setelah inkubasi dengan berat kering awal plastik.

F. Pengukuran Optical Density (OD) Mikroorganisme di Kolom Air dan Biofilm

Pengukuran OD dilakukan setiap 3 minggu sekali pada waktu pemanenan plastik selama masa inkubasi dengan masing-masing 3 kali ulangan untuk setiap kolom Winogradsky. Pengukuran OD biofilm dilakukan dengan cara memisahkan potongan plastik dari biofilm mikroorganisme sesuai dengan metode modifikasi yang digunakan oleh Ainiyah dan Shovitri (2014). Potongan plastik hasil panen dimasukkan kedalam botol falcon berisi 30 ml akuades steril dan divortex dengan kecepatan 2000 rpm selama 30 detik. Proses ini diulangi sebanyak 5 kali untuk membersihkan biofilm. Biofilm yang telah terpisah dari plastik kemudian diukur densitasnya menggunakan spektrofotometer. Inokulum S, X, K dan KS diukur dengan Spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm dan 540 nm. Sedangkan inokulum Y diukur dengan Spektrofotometer dengan panjang gelombang 540 nm.

Pengukuran OD kolom air pada Inokulum S, X dan Y diambil menggunakan pipet steril sebanyak 2 ml dari kolom Winogradsky dan dimasukkan dalam kuvet, pengambilan dilakukan secara steril. Inokulum S dan X diukur menggunakan Spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm. Sedangkan inokulum Y diukur dengan Spektrofotometer dengan panjang gelombang 540 nm.

G. Presentasi Kehilangan Berat Plastik

Pengukuran kehilangan berat plastik dilakukan setiap 3 minggu, dimana 3 potongan plastik uji diambil dari kolom Winogradsky dengan menggunakan pinset secara aseptis. Plastik dipisahkan dari biofilm seperti pada metode pengukuran OD biofilm. Plastik uji kemudian disterilisasi dengan alkohol 70% dan dikeringanginkan. Setelah kering, plastik uji dimasukkan kedalam oven pada suhu 80°C selama 24 jam dan ditimbang berat keringnya. Berikut rumus perhitungan persentase kehilangan berat plastik[10]:

$$\text{Persentase Kehilangan Berat} = \frac{W_i - W_f}{W_i} \times 100\% \quad (1)$$

Keterangan:

W_i = berat kering awal sebelum degradasi (gram);

W_f = berat kering akhir setelah proses degradasi (gram).

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji biodegradasi plastik dalam penelitian ini menggunakan metode kolom Winogradsky (Gambar 1) dengan menggunakan inokulum berupa mikroorganisme yang berasal dari air sampah TPA Benowo (Inokulum S), inokulum campur koleksi laboratorium (Inokulum X) yang sebelumnya sudah terdeteksi mampu mendegradasi plastik, serta inokulum yeast M 2.3 (Inokulum Y) yang juga merupakan koleksi laboratorium. Inokulum Y kedekatannya cenderung terhadap genus *Candida* [11] dengan nilai indeks lipolitik 1,73. Kolom Winogradsky merupakan ekosistem buatan yang memungkinkan beragam mikroorganisme dapat berkembang dan membentuk stratifikasi sesuai dengan kebutuhan elektron donor dan aseptornya [7]. Pada penelitian ini kolom Winogradsky diisi dengan pasir dan medium mineral untuk inokulum X dan inokulum Y, sedangkan untuk inokulum S diisi dengan pasir dan substrat alami berupa air sampah sebagai sumber inokulum mikroorganisme. Potongan plastik yang ditanam pada substrat pasir diukur persentase degradasi plastiknya, kerapatan sel pada biofilm dan kolom air selama 12 minggu masa inkubasi, dengan interval pengukuran 3 minggu sekali.



Gambar 1. Kolom Winogradsky Biodegradasi Plastik Putih dengan Inokulum S.

Keterangan: a. Air sampah (350 ml), b. Potongan plastik putih ukuran 3×10 cm (3 lembar/ botol), c. Pasir steril (300gram).

Biodegradasi plastik adalah proses dimana polimer plastik akan dipecah oleh mikroorganisme menjadi oligomer dan monomer penyusunnya dengan mengeluarkan enzim ekstraseluler dan intraseluler pada proses biodegradasi ini [12]. Monomer plastik ditransfer ke dalam sel mikroorganisme melalui membran khusus. Molekul yang diserap oleh mikroorganisme dapat digunakan sebagai sumber karbon dan sumber energi. Produk akhir dari metabolisme mikroorganisme akan menghasilkan biomassa, CO₂, H₂O dan CH₄ [2].

Tabel 1.

Inokulum	Persentase Kehilangan Berat Plastik Putih			
	3 minggu	6 Minggu	9 Minggu	12 Minggu
Inokulum X	2.3 a	2.2 a	3.6 a	2.6 a
Inokulum S	1.9 a	1.7 ab	2.5 a	1.2 ab
Inokulum Y	2.0 a	1.7 ab	-1.2 b	1.2 ab
K	0 b	0 c	0 b	0 b
KS	0.1 b	0.8 bc	0 b	0 b

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada analisa Tukey ANOVA dengan tingkat kepercayaan 0,05.

X : Inokulum kultur campur koleksi laboratorium;

S : Inokulum air sampah;

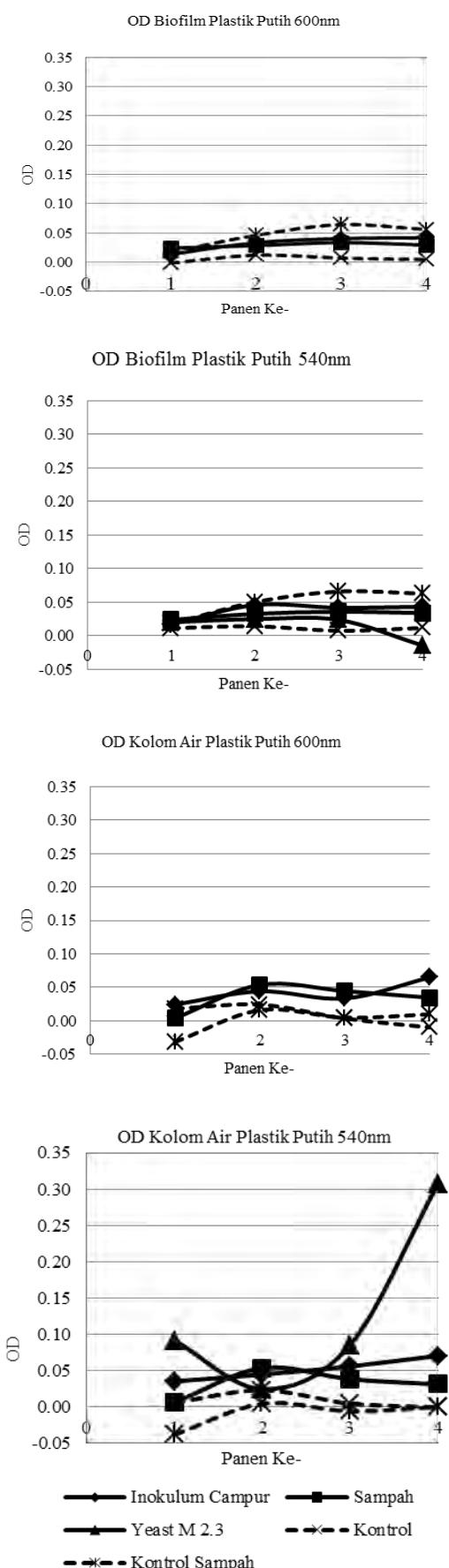
Y : Inokulum yeast M 2.3;

K : Kontrol MSM steril;

KS : Kontrol sampah steril.

Berdasarkan rata-rata persentase degradasi plastik (Tabel 1), inokulum X memiliki kemampuan paling tinggi dalam mendegradasi plastik putih. Setelah 3 minggu masa inkubasi persentase degradasi inokulum X mencapai 2,3% sedangkan degradasi optimum terjadi setelah 9 minggu masa inkubasi atau panen 3 sebesar 3,6%. Hal tersebut menunjukkan bahwa inokulum X sudah teradaptasi dengan baik dalam mendegradasi plastik, sehingga hasil degradasinya menunjukkan pola yang stabil. Kerapatan sel semua inokulum uji cenderung stabil dari setelah 3 minggu masa inkubasi hingga setelah 12 minggu masa inkubasi (Gambar 2), hal tersebut menunjukkan bahwa dengan kerapatan sel yang sama, masing-masing inokulum memiliki kemampuan yang berbeda dalam mendegradasi plastik. Namun berdasarkan analisa statistika ANOVA-One way (Tabel 1) jenis inokulum X, S, dan Y menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata secara signifikan pada semua jenis inokulum uji dari setelah 3 minggu masa inkubasi hingga setelah 12 minggu masa inkubasi.

Berdasarkan presentase degradasi plastik putih, inokulum X dan S memiliki kemampuan degradasi lebih tinggi. Hal ini mungkin karena inokulum X sudah teradaptasi metabolismenya untuk mendegradasi plastik pada penelitian sebelumnya, dan inokulum S yang diambil dari tumpukan sampah juga teradaptasi untuk mendekomposisi tumpukan sampah segar dimana inokulum tersebut berasal. Konsorsium adalah kumpulan 2 atau lebih mikroorganisme baik bakteri maupun yeast, yang saling menguntungkan dalam sinergi proses metabolismenya [13]. Inokulum konsorsium akan lebih optimal dalam melakukan suatu proses degradasi karena adanya perbedaan proses metabolisme yang bisa saja merupakan proses metabolisme bertingkat, ada satu mikroorganisme yang bertugas memecah polimer plastik menjadi monomer dan mikroorganisme yang memanfaatkan monomer dan produk samping hasil degradasi sebagai sumber karbon dan energinya [12]. Hal ini diduga juga terjadi pada inokulum X dan S dalam proses degradasi plastik uji.



Gambar 2. Optical Density Biofilm dan Kolom Air Selama Masa Inkubasi

Inokulum Y merupakan inokulum tunggal yeast genus *Candida*. Yeast merupakan mikroorganisme eukariotik. Yeast dapat mensekresikan enzim ekstraseluler ke lingkungan dan memperoleh nutrien dengan cara absorpsi [14]. Menurut [4], genus *Candida* memiliki enzim esterase yang dapat memecah gugus ester pada polimer plastik. Pada uji biodegradasi (Tabel 1) terlihat bahwa kemampuan inokulum Y berfluktuasi. Kemampuan degradasi plastik turun setelah 9 minggu masa inkubasi, dan naik kembali setelah 12 minggu masa inkubasi. Ketidakstabilan ini mungkin karena inokulum merupakan inokulum tunggal. Sedangkan degradasi plastik memerlukan kompleks enzim yang mungkin dihasilkan oleh lebih dari satu mikroorganisme [3].

Pada grafik kerapatan sel (Gambar 2) pertumbuhan inokulum Y sangat tinggi pada kolom air setelah 12 minggu masa inkubasi. Ini menunjukkan bahwa inokulum Y lebih banyak hidup pada kolom air daripada di permukaan plastik membentuk biofilm. Kondisi ini mungkin merupakan salah satu penyebab rendahnya persentase degradasi plastik oleh inokulum Y dibandingkan dengan inokulum X dan inokulum S.

IV. KESIMPULAN

Inokulum X, S dan Y memiliki kemampuan yang sama dalam mendegradasi plastik putih. Degradasi plastik putih paling tinggi terjadi pada inokulum X setelah 9 minggu masa inkubasi dengan persentase degradasi 3,6%, dimana kerapatan sel pada masa inkubasi setelah 9 minggu untuk biofilm dengan λ 600nm adalah 0.036 dan λ 540nm adalah 0,039, serta kerapatan sel pada kolom air dengan λ 600nm adalah 0.034 dan λ 540nm adalah 0,055.

UCAPAN TERIMA KASIH

L. Badriyah mengucapkan terima kasih kepada dosen pembimbing Ibu Dr.rer.nat. Ir. Maya Shovitri, M.Si, para dosen penguji Bapak Dr.techn. Endry Nugroho P., S.Si, M.T. dan Ibu Kristanti Indah Purwani, S.Si, M.Si, atas kritik, saran dan masukannya demi kesempurnaan tugas akhir ini, serta terima kasih kepada LPPM ITS atas Hibah Penelitian Unggulan PT dengan nomor kontrak 003246.96/IT2.11/PN.08/2015. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada ayah, ibu serta adek- adek atas doa dan kasih sayangnya. Penelitian ini juga tidak lepas dari bantuan dan dukungan teman-teman seperjuangan dan seluruh pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] J. Arutchelvi, M. Sudhakar, A. Arkatkar, M. Doble, S. Bhaduri, and P. V. Uppara . "Biodegradation of Polyethylene and Polypropylene". *Indian Journal of Biotechnology* Vol. &, January. (2008).
- [2] A. Guzman, N. Gnutek and H. Janik. "Biodegradable Polymers For Food Packaging – Factors Influencing Their Degradation And Certification Types – A Comprehensive Review". *Chemical Technology*. Vol. 5, No. 1. (2011).
- [3] M. K. Sangale, M. Shahnewaz, and A. B. Ade. "A Review on Biodegradation of Polythene: The Microbial Approach". *J Bioremed Biodeg* 3:164 (2012).

- [4] H. Bhardwaj, R. Gupta, and A. Tiwari. „Microbial Population Associated With Plastic Degradation. Open Access Scientific Reports”. Volume 1 . Issue 5.(2012).
- [5] D. Hadad, S. Geresh, and A. Sivan. “Biodegradation of Polyethylene by The Thermophilic Bacterium *Brevibacillus borstelensis*” *J Appl Microbiol* 98: 1093-1100. (2005).
- [6] D. N. Ainiyah dan M. Shovitri. “Bakteri Tanah Sampah Pendegradasi Plastik dalam Kolom Winogradsky”. *Jurnal Sains Dan Seni POMITS* Vol. 3, No.2, (2014) 2337-3520 (2301-928X Print).
- [7] M. T. Madigan, J. M. Martinko, D. A. Stahl and D. P. Clark. “*Brock. Biology of Microorganisms*” 12th Edition. San Fransisco: Benjamin Cummings. (2012).
- [8] D. Rilawati. “Kajian Penggunaan Boisca untuk Pemanfaatan Air Lindi (*Leachate*) Menjadi Pupuk Cair”. *Tesis. Program Studi Ilmu Lingkungan Minat Utama Pengelolaan Sumber Daya Air. Program Pasca Sarjana Universitas Sebelas Maret Surakarta.* (2009)
- [9] G. J. Tortora, B. R. Funke and C. L. Case. “*Microbiology An Introduction 10th Edition. USA: Benjamin Cummings*”. (2010).
- [10] E. Rohaeti. ”Karakterisasi Biodegradasi Polimer. Prosiding Seminar Nasional Penelitian”. Pendidikan dan Penerapan MIPA, Fakultas MIPA, Universitas Negeri Yogyakarta (2009).
- [11] S. Zunaidah dan N. H. Alami, “Isolasi dan Karakterisasi Yeast dari Rhizosphere *Avicennia Marina* Wonorejo”. *JURNAL SAINS DAN SENI POMITS* Vol. 3, No.1, (2014) 2337-3520 (2301-928X Print).
- [12] A. A. Shah, F. Hasan, A. Hameed and S. Ahmed. “Biological Degradation Of Plastics: A Comprehensive Review”. *Biotechnology Advances* 26 (2008) 246–265.
- [13] J. M. Willey, L. M. Sherwood, and C. J. Woolverton. “*Prescott, Harley, and Klein's Microbiology Seventh Edition*”. New York: The McGraw-Hill Companies. (2008).
- [14] I. Gandjar, W. Sjamsuridzal, dan A. Oetari. “*Mikologi Dasar dan Terapan*”. Jakarta: Yayasan Obor Indonesia. (2006).



POTENSI MIKROORGANISME AIR SAMPAH SEBAGAI PENDEGRADASI PLASTIK DALAM KOLOM WINOGRADSKY

Oleh:

Laellatul Badriyah (1511100049)

Dosen Penguji 1: Dr. techn. Endry Nugroho P., M.T

Dosen Penguji 2: Kristanti Indah Purwani S.Si., M.Si.

Dosen Penguji 3: Dr.rer.nat. Ir. Maya Shovitri, M.Si

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Permasalahan

Batasan Masalah

Tujuan

Manfaat

Latar Belakang



Plastik mengalami penumpukan di lingkungan mencapai 25 miliar ton per tahun (Arutchelvi *et al.*, 2008).

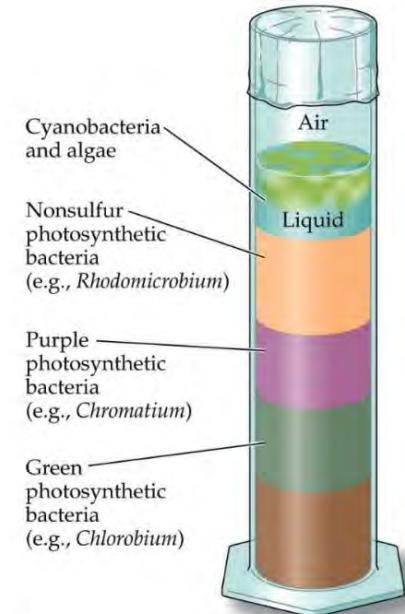
Susah terdegradasi

**Isolasi
mikroorganisme**



Air sampah berasal dari kelembaban hasil dekomposisi sampah yang bercampur dengan sebagian besar air hujan yang merembes melalui sampah sehingga komponen sampah yang tersuspensi dapat terlarut (Abbas *et al.*, 2009).

Ainiyah dan Shovitri (2014) telah menunjukkan bahwa konsorsium bakteri tanah sampah dalam kolom Winogradsky dapat mendegradasi plastik berwarna hitam rata-rata lebih baik dari plastik berwarna lainnya.



Microbial Life 2e, Box 5.3



Inokulum yang paling potensial dengan membandingkan inokulum mikroorganisme air sampah, inokulum campur koleksi laboratorium dari penelitian Ainiyah dan shovitri (2014) dan inokulum yeast M 2.3 dalam mendegradasi plastik dengan metode kolom Winogradsky.

Permasalahan

Permasalahan yang akan dikaji pada penelitian ini adalah bagaimana potensi inokulum air sampah dan inokulum campur, serta inokulum yeast M 2.3 dalam mendegradasi plastik.

Batasan Masalah

1. Air sampah yang digunakan berasal dari TPA Benowo dan tidak diteliti kandungan airnya,
2. Plastik yang digunakan adalah kantong plastik belanja (tas kresek) warna hitam dan putih serta plastik transparan bungkus makanan,
3. Inokulum campur koleksi laboratorium yang digunakan berasal dari penelitian terdahulu (Ainiyah dan Shovitri, 2014) dari kolom Winogradsky plastik hitam,
4. Inokulum yeast M 2.3 berasal dari koleksi Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Biologi ITS.

Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi inokulum air sampah dan inokulum campur, serta inokulum yeast M 2.3 dalam mendegradasi plastik.

Manfaat

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi positif bagi pengembangan ilmu pengetahuan dan teknologi, khususnya dalam bidang mikrobiologi dan lingkungan, memberikan informasi tentang kemampuan mikroorganisme yang mampu mendegradasi plastik dengan baik, sehingga dapat menunjang penelitian selanjutnya dan menambah koleksi bakteri dan yeast pendegradasi plastik untuk Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Biologi ITS. Penelitian ini juga diharapkan dapat memberikan solusi dalam pengelolaan limbah plastik agar dapat mengurangi angka pencemaran plastik di lingkungan.

METODOLOGI

Metode yang Dilakukan

Pengambilan dan penyaringan air sampah

Pembuatan starter inokulum campur dan inokulum yeast M 2.3

Persiapan plastik uji

Uji Biodegradasi plastik

Persentase kehilangan berat plastik

Pengukuran pH, OD biofilm dan kolom air

Karakterisasi dan perhitungan koloni mikroorganisme

Analisis data menggunakan Anova *One-way*

Tabel Variasi Perlakuan Plastik Uji

Kode		Jumlah Plastik Uji	Jumlah inokulum (ml)	Jumlah MSM (ml)	Jumlah air sampah (ml)
S	H	3	-	-	350
	P	3	-	-	350
	T	3	-	-	350
Y	H	3	35	315	-
	P	3	35	315	-
	T	3	35	315	-
X	H	3	35	315	-
	P	3	35	315	-
	T	3	35	315	-
K	H	3	-	350	-
	P	3	-	350	-
	T	3	-	350	-
KS	H	3	-	-	350
	P	3	-	-	350
	T	3	-	-	350

Keterangan:

S = Inokulum air sampah

Y = Inokulum yeast M 2.3

X = Inokulum campur

K = Kontrol

KS= Kontrol Sampah

H= Kantong Plastik Belanja warna Hitam

P = Kantong Plastik Belanja warna Putih

T = Plastik Bening Bungkus Makanan

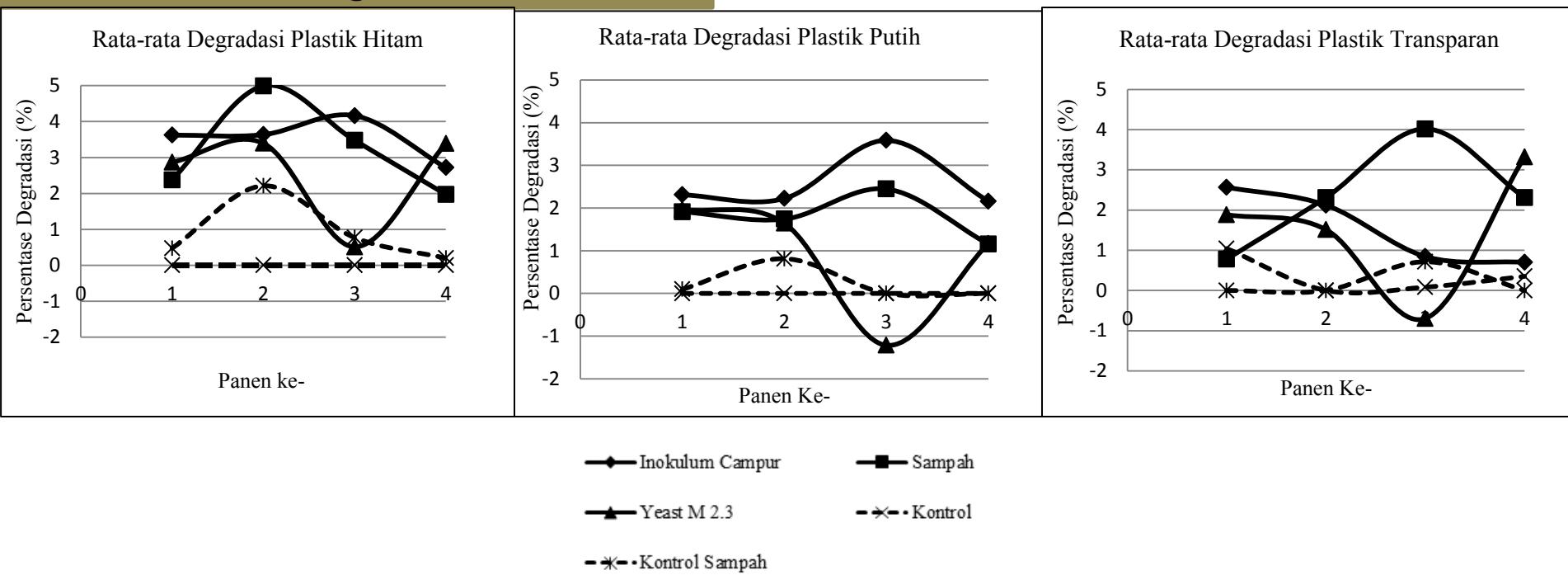
- Dilakukan kali ulangan untuk tiap jenis plastik dalam inokulum
- Inkubasi dilakukan selama 12 minggu dengan pemanenan setiap minggu sekali

HASIL & PEMBAHASAN

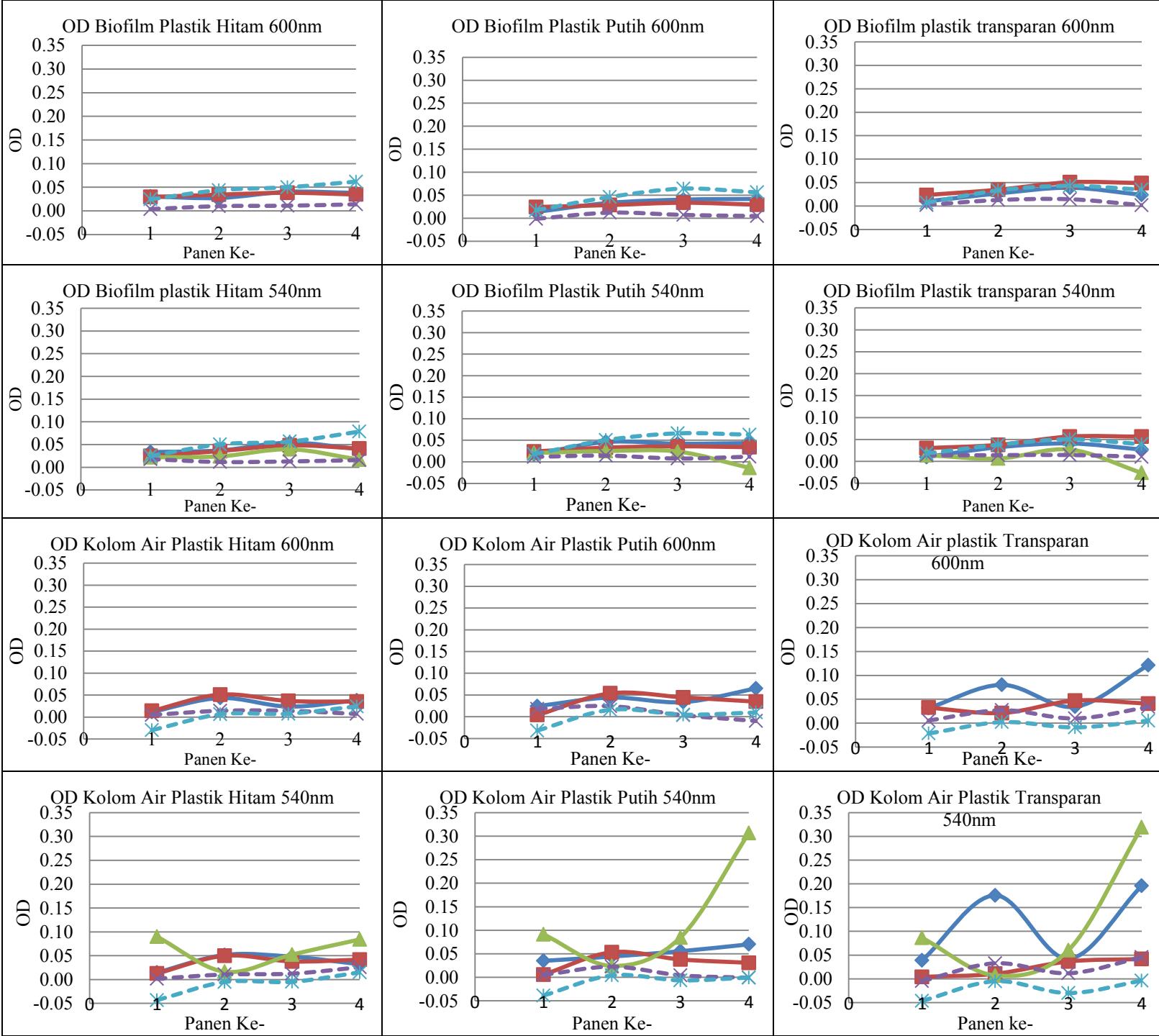


Biodegradasi Plastik

Persentase Degradasi Plastik



Inokulum X memiliki kemampuan lebih baik dalam mendegradasi plastik hitam, putih maupun plastik transparan bungkus makanan. Inokulum X dalam mendegradasi plastik hitam dan putih memperlihatkan pola yang sama, sedangkan pada plastik transparan terjadi penurunan setelah 6 minggu masa inkubasi hingga setelah 12 minggu masa inkubasi.



Tabel Persentase Kehilangan Berat Plastik Hitam

Tabel 4.1 Persentase Kehilangan Berat Plastik Hitam

Inokulum	Persen Kehilangan Berat Plastik (%)			
	3 Minggu	6 Minggu	9 Minggu	12 Minggu
Inokulum X	3.6a	3.6b	4.2 a	2.7a
Inokulum S	2.4a	4.9 a	3.5 a	2.0 ab
Inokulum Y	2.9a	3.4 b	0.5 b	3.9 a
K	0 b	0 d	0 b	0 b
KS	0.4b	2.2 c	0.8 b	0.2 b

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada analisa Tukey ANOVA dengan tingkat kepercayaan 0,05.

X : Inokulum kultur campur koleksi laboratorium;

S : Inokulum air sampah

Y : Inokulum yeast M 2.3

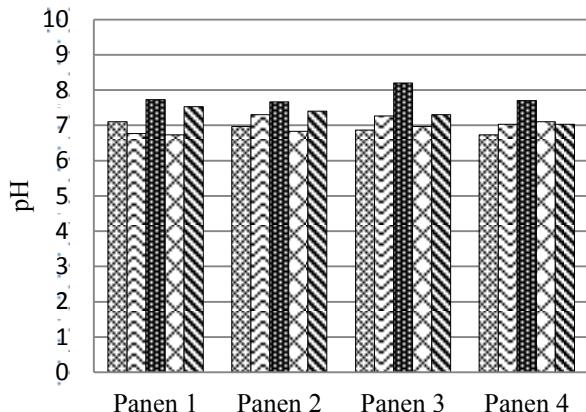
K : Kontrol MSM steril

KS : Kontrol sampah steril

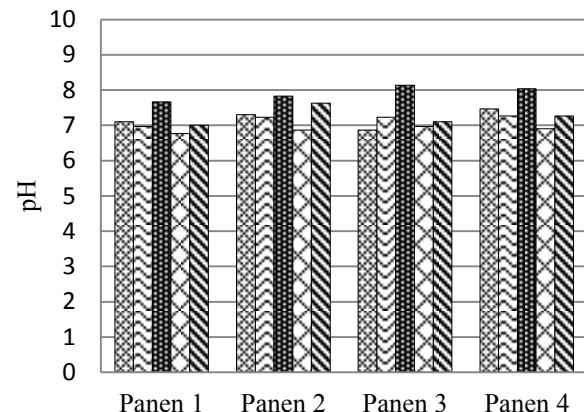
Persentase degradasi plastik hitam pada analisa statistika ANOVA-*One way* menunjukkan bahwa jenis inokulum X, S, dan Y tidak berbeda nyata secara signifikan dalam kemampuannya mendegradasi plastik hitam dari panen pertama hingga panen ke-4.

pH Kolom Air Selama Proses Degradasi

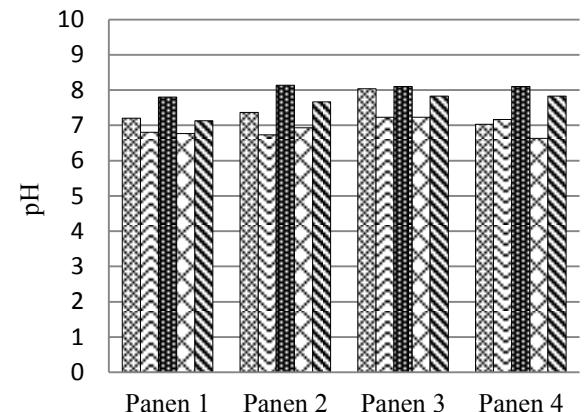
pH Plastik Hitam



pH Plastik Putih



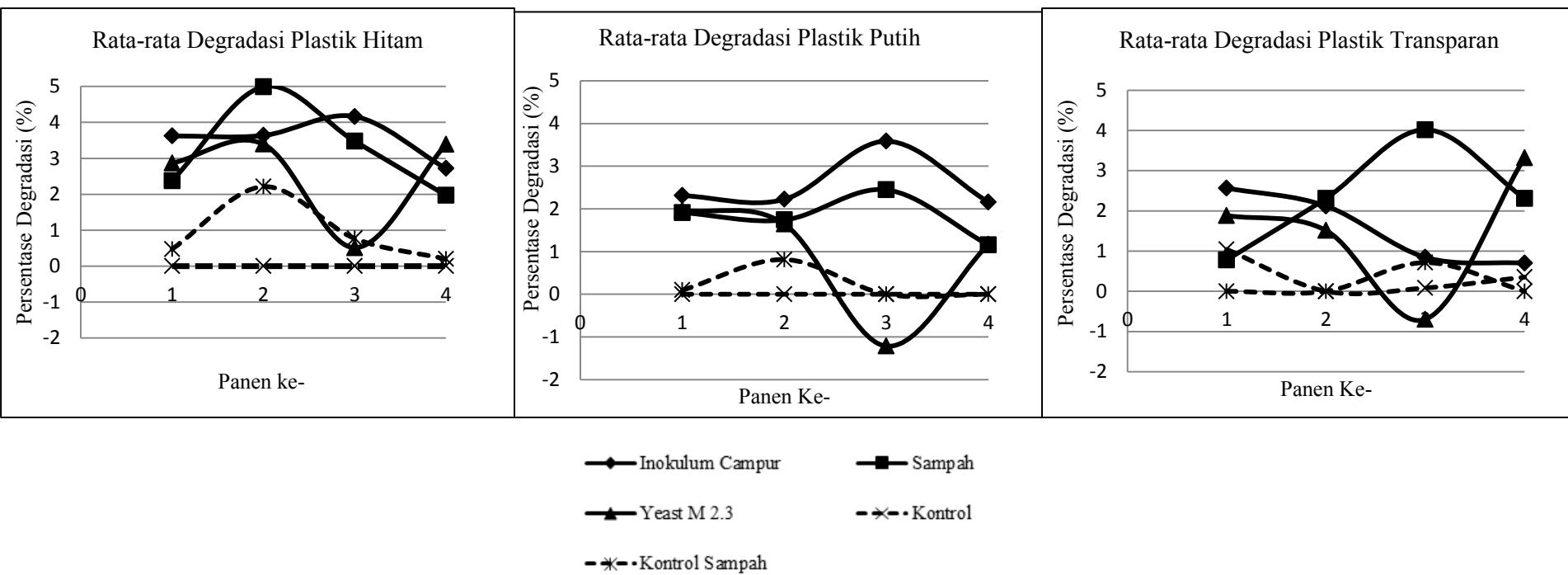
pH Plastik Transparan



Inokulum Campur **Sampah**
 Yeast M 2.3 **Kontrol**
 Kontrol Sampah

Hasil pengukuran pH pada setiap waktu panen adalah netral $7 \pm 0,3$ untuk setiap inokulum, kecuali pada inokulum Y yang memiliki nilai $pH 8 \pm 0,3$.

Persentase Degradasi Plastik



Degradasi pada plastik putih dan transaparan memiliki pola yang sama dengan degradasi plastik hitam.

Tabel Persentase Kehilangan Berat Plastik Putih dan Transparan

Plastik	Inokulum	Persen Kehilangan Berat Plastik (%)			
		3 Minggu	6 Minggu	9 Minggu	12 Minggu
Putih	Inokulum X	2.3 a	2.2 a	3.6 a	2.6 a
	Inokulum S	1.9 a	1.7 ab	2.5 a	1.2 ab
	Inokulum Y	2.0 a	1.7 ab	-1.2 b	1.2 ab
	K	0 b	0 c	0 b	0 b
	KS	0.1 b	0.8 bc	0 b	0 b
Transparan	Inokulum X	2.6 a	2.1 ab	0.9 b	0.7 bc
	Inokulum S	0.8 ab	2.3 a	4.0 a	2.3 ab
	Inokulum Y	1.9 ab	1.5 ab	-0.7 b	3.3 a
	K	1.0 ab	0 b	0.1 b	0.4 bc
	KS	0 b	0 b	0.7 b	0 c

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada analisa Tukey ANOVA dengan tingkat kepercayaan 0,05.

X : Inokulum kultur campur koleksi laboratorium;

S : Inokulum air sampah

Y : Inokulum yeast M 2.3

K : Kontrol MSM steril

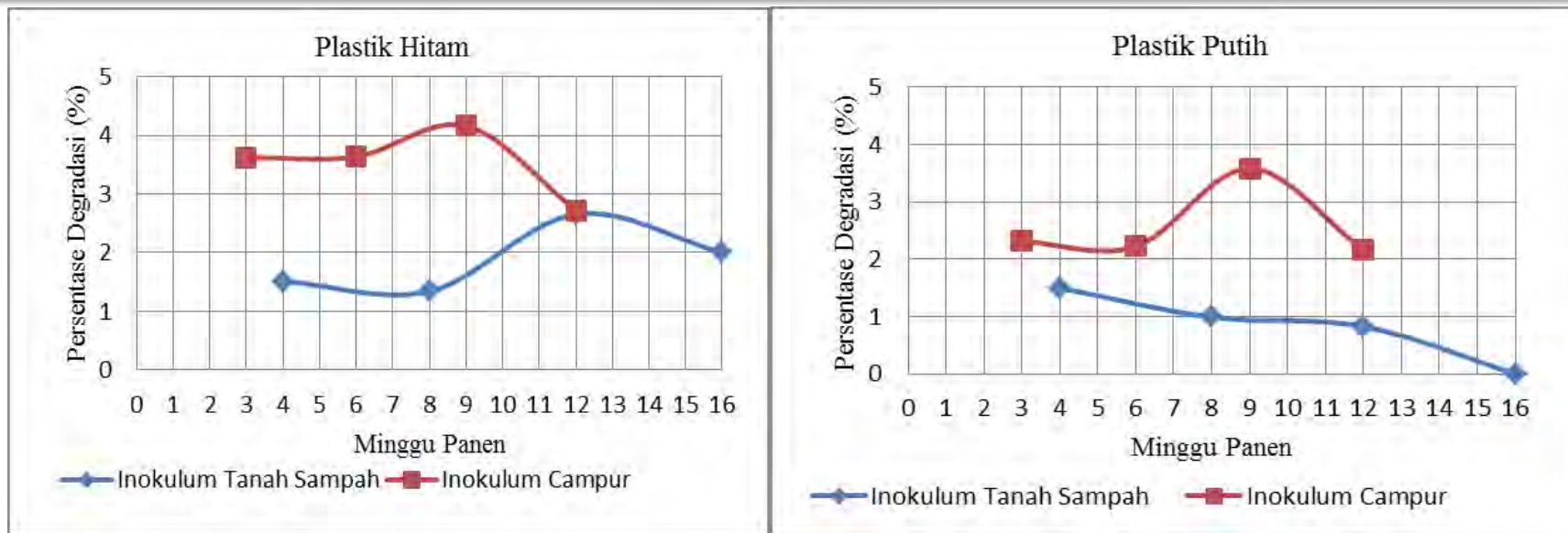
KS : Kontrol sampah steril

Analisa Scanning Electron Microscopy (SEM)



Keterangan: Permukaan Plastik Putih Inokulum Campur (Inokulum X) dengan Magnifikasi 5.00 KX. Tanda panah menunjukkan partikel yang menempel.

Perbandingan Hasil Degradasi Plastik Inokulum X dengan Penelitian Terdahulu

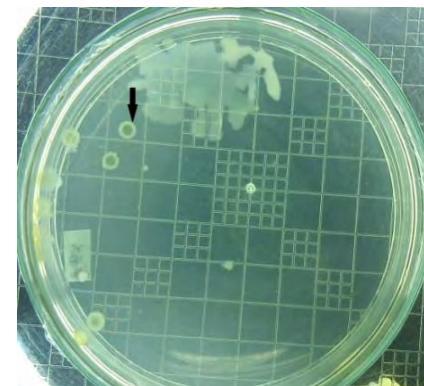


Nilai rata-rata persentase degradasi plastik putih dan hitam pada penelitian sekarang jauh lebih tinggi inokulum X dari pada penelitian Ainiyah dan Shovitri (2014).

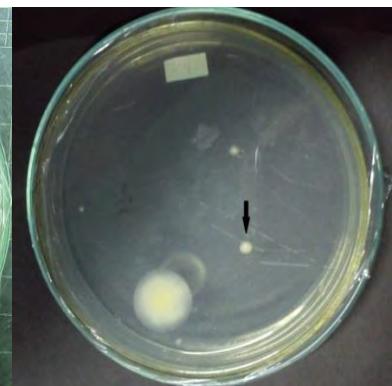
Inokulum X sudah teradaptasi sistem metabolisme dan enzimatisnya, sehingga walaupun masa inkubasi proses biodegradasi plastik berlangsung singkat akan menghasilkan persentase degradasi yang lebih baik.

Karakterisasi Mikroorganisme

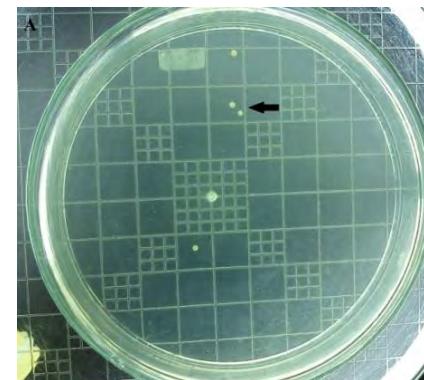
- Koloni kandidat inokulum X: koloni bakteri XH6, XP1, XP9, XT1 dan XT2, serta koloni yeast XP1 dan XT1. Koloni XT1 memiliki karakter yang sama dengan koloni PPs3 yaitu bentuk circular, tepi entire, elevasi convex dan warna putih kekuningan.
- Koloni kandidat Inokulum S: koloni bakteri SH1, SP1, ST1, ST2 dan ST7, serta koloni yeast SH1 dan SP1.
- Koloni yang mampu mendegradasi plastik pada kontrol sampah adalah: koloni bakteri KSH3, KSP2 dan KST2, serta koloni yeast KSP1.



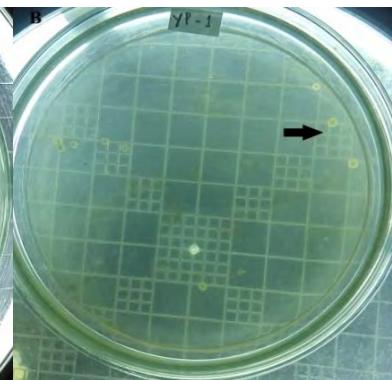
Bakteri XH6



Yeast XP1



Bakteri SP1



Yeast SP1

KESIMPULAN

Inokulum X, S dan Y memiliki kemampuan dalam degradasi plastik, namun persentase degradasi ketiga inokulum tersebut tidak berbeda nyata terhadap plastik hitam putih maupun transparan. Pada plastik hitam degradasi optimal terjadi setelah 6 minggu masa inkubasi oleh inokulum S mencapai 4,9%. Plastik putih degradasi optimal terjadi setelah 9 minggu masa inkubasi oleh inokulum X dengan nilai 3,6% dan pada plastik transparan terjadi pada inokulum S setelah 9 minggu masa inkubasi dengan persentase degradasi 4%. . Koloni bakteri yang diduga potensial adalah XH6, XP1, XP9, XT1, XT2, SH1, SP1, ST1, ST2,dan ST7, serta koloni yeast adalah XP1, XT1, SH1 dan SP1.



POTENSI MIKROORGANISME AIR SAMPAH SEBAGAI PENDEGRADASI PLASTIK DALAM KOLOM WINOGRADSKY

Oleh:
Laellatul Badriyah (1511100049)

TERIMA KASIH

Selasa, 28 Maret 2015