

KERAGAMAN BAKTERI PENDEGRADASI POLIETILENA DI HUTAN MANGROVE AMBON

[*Diversity of Polyethylene Degrading Bacteria in Ambon Mangrove Forest*]

Rizki Estiningtyas^{1✉*}, I Putu Sastra Negara², Dwi Andreas Santosa³, I Made Sudiana⁴, Zen Ladestam Siallagan⁵, Azra Zahrah Nadhirah Ikhwani⁴, Idris Idris⁴, Atit Kanti⁶, Suyadi⁷, dan Berry Juliandi⁸

¹⁾ Program Studi Bioteknologi Tanah dan Lingkungan, Departemen Ilmu Tanah dan Sumberdaya Lahan, Fakultas Pertanian, IPB University, Jl. Meranti Kampus IPB Dramaga Bogor, Indonesia

²⁾ Politeknik Negeri Bali, Kampus Bukit Jimbaran, Bali, Indonesia

³⁾ Pusat Bioteknologi (Biotech Center) IPB University, Jl. Kamper, Gedung PAU, Kampus IPB Dramaga, Bogor, Jawa Barat, Indonesia

⁴⁾ Pusat Riset Mikrobiologi Terapan Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), Jl. Raya Bogor Km 46, Cibinong, Bogor, Jawa Barat, Indonesia.

⁵⁾ Pusat Riset Laut Dalam Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), Jl. Y. Syaranamual Guru Guru Poka, Teluk Ambon, Ambon, Maluku, Indonesia.

⁶⁾ Pusat Riset Biosistematika dan Evolusi Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), Jl. Raya Bogor Km 46, Cibinong, Bogor, Jawa Barat, Indonesia.

⁷⁾ Pusat Riset Ekologi dan Etnobotani Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), Jl. Raya Bogor Km 46, Cibinong, Bogor, Jawa Barat, Indonesia.

⁸⁾ Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Kampus IPB Dramaga, Bogor, Jawa Barat, Indonesia

*Email: rizkiestiningtyas@gmail.com

ABSTRACT

The increase in plastic waste in the environment is a threat to the earth's surface if it is not managed correctly. The type of plastic that is widely used by the community is polyethylene. Management of polyethylene can be done by biodegradation. This study aims to determine the diversity of polyethylene degrading bacteria from the Ambon mangrove forest. Isolation of polyethylene degrading bacteria was carried out using enrichment media with linear low-density polyethylene (LLDPE) plastic powder as a carbon source. The results showed that 26 isolates of polyethylene degrading bacteria were isolated from mangrove soil. Sequencing analysis of 16S rRNA genes confirmed that the all isolate belonged to the phylum Proteobacteria with subphylum *Gammaproteobacteria* and belong to genera *Microbulbifer*, *Zobellella*, *Pseudoalteromonas*, *Vibrio*, and *Pseudomonas* consist of 14 species, namely *Microbulbifer pacificus*, *Microbulbifer okinawensis*, *Microbulbifer arenaceus*, *Microbulbifer elongatus*, *Microbulbifer hydrolyticus*, *Microbulbifer salipaludis*, *Zobellella aerophila*, *Pseudoalteromonas profundus*, *Vibrio tritonius*, *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio furnissii*, *Pseudomonas alcaligenes*, *Pseudomonas marincola* and *Pseudomonas benzenivorans*.

Keywords: Ambon mangrove forest, biodegradation, polyethylene plastic.

ABSTRAK

Peningkatan sampah plastik di lingkungan merupakan ancaman bagi permukaan bumi apabila tidak dikelola dengan baik. Jenis plastik yang banyak digunakan oleh masyarakat yaitu polietilena. Pengelolaan polietilena dapat dilakukan dengan biodegradasi. Penelitian ini bertujuan mengetahui keragaman bakteri pendegradasi polietilena dari hutan mangrove Ambon. Isolasi bakteri pendegradasi polietilena dilakukan menggunakan media pengayaan dengan penambahan bubuk plastik polietilena linear berdensitas rendah (LLDPE) sebagai sumber karbon. Hasil penelitian ini didapatkan sebanyak 26 isolat bakteri pendegradasi polietilena yang diisolasi dari tanah mangrove. Berdasarkan analisis 16S rRNA, semua isolat termasuk dalam filum Proteobacteria dengan subfilum *Gammaproteobacteria* dan berasal dari 5 genus, yaitu *Microbulbifer*, *Zobellella*, *Pseudoalteromonas*, *Vibrio*, dan *Pseudomonas* yang terdiri dari 14 spesies teridentifikasi yaitu *Microbulbifer pacificus*, *Microbulbifer okinawensis*, *Microbulbifer arenaceus*, *Microbulbifer elongatus*, *Microbulbifer hydrolyticus*, *Microbulbifer salipaludis*, *Zobellella aerophila*, *Pseudoalteromonas profundus*, *Vibrio tritonius*, *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio furnissii*, *Pseudomonas alcaligenes*, *Pseudomonas marincola* dan *Pseudomonas benzenivorans*.

Kata Kunci: biodegradasi, plastik polietilena, hutan mangrove Ambon.

PENDAHULUAN

Peningkatan sampah plastik di lingkungan merupakan ancaman bagi permukaan bumi apabila tidak dikelola dengan baik. Peningkatan sampah plastik dikarenakan sifat plastik yang ringan dan murah sehingga banyak diaplikasikan dalam bidang industri, pertanian dan rumah tangga. Menurut Avio *et al.* (2017), komposisi sampah plastik berkisar 60–80% dari total sampah yang dihasilkan secara global. Plastik merupakan salah satu polimer

sintetik atau buatan manusia yang tergolong polimer kompleks yang memiliki waktu degradasi sangat lama dikarenakan struktur polimer plastik memiliki rantai panjang berulang (Sari *et al.*, 2020). Jenis plastik yang banyak digunakan oleh masyarakat yaitu polietilena (PE).

Salah satu ekosistem yang terancam terkontaminasi secara terus menerus dari kegiatan antropogenik adalah ekosistem mangrove. Mangrove dikenal sebagai salah satu ekosistem

*Kontributor Utama

*Diterima: 16 Maret 2022 - Diperbaiki: 28 Juli 2022- Ditetujui: 23 Desember 2022

yang dinamik karena pengaruh fisik, kimia dan biologis seperti pasang surut air laut, asupan air tawar dari daratan, akumulasi mineral serta proses dekomposisi materi dan aktivitas mikroba (Andreas, 2019). Dampak dari kegiatan antropogenik yang terjadi di mangrove yaitu adanya sampah plastik. Keberadaan sampah plastik di areal mangrove dapat berasal dari hanyutan sungai ataupun dari aktivitas pembuangan sampah secara liar. Hal ini dapat mengakibatkan penumpukan sampah plastik di hutan mangrove yang berakibat pada pencemaran lingkungan dan penurunan estetika hutan mangrove. Sebagai kawasan yang dinamis dan berpengaruh pada pasang surut, keberadaan sampah plastik menyebar ke seluruh kawasan hutan mangrove (Yunanto *et al.*, 2021). Salah satu hutan mangrove yang terancam terkontaminasi yaitu mangrove yang terdapat di Pulau Ambon. Pulau Ambon menghasilkan sampah sekitar 150 ton perhari, 62% sampah tersebut berasal dari daerah perkotaan dan sekitar 38% masuk ke laut/ekosistem pesisir (Suyadi *et al.*, 2020).

Pengelolaan limbah plastik dapat dilakukan secara kimia, fisika dan biologi. Salah satu strategi dalam mengendalikan pencemaran plastik dengan pendekatan teknologi bioremediasi. Teknologi bioremediasi adalah teknologi yang menggunakan sistem biologis untuk meremediasi lingkungan yang tercemar. Bioremediasi dilakukan dengan memanfaatkan potensi mikroba pribumi yang ditumbuhkan dalam lingkungan yang terpapar bahan pencemar secara lebih terkontrol (Anggiani, 2020).

Kelemahan dari proses biodegradasi polietilena yaitu proses biodegradasi yang lama dan membutuhkan skala yang besar. Salah satu mikroba yang digunakan sebagai agens bioremediasi yaitu bakteri. Proses degradasi oleh bakteri dilakukan karena adanya aktivitas enzimatis tertentu yang memutus rantai polimer menjadi oligomer dan monomer sehingga memudahkan akumulasi oleh bakteri untuk proses degradasi lebih lanjut (Usha *et al.*, 2011). Beberapa bakteri yang dapat mendegradasi polietilena yaitu *Kocuria palustris*, *Bacillus pumilus* dan *B. subtilis* yang diisolasi dari air laut di India (Harshvardhan *et al.*, 2013) dan *Staphylococcus* sp., *Streptococcus* sp., *Diplococcus* sp., *Micrococcus* sp., *Moraxella* sp. dan *Pseudomonas* sp. yang diisolasi dari tanah mangrove di India (Kathiresan, 2003). Hasil penelitian Sudhakar *et al.* (2007) menunjukkan bahwa *Bacillus cereus* yang diisolasi dari air laut di India mampu mendegradasi LDPE sebesar 5% selama 1 tahun dan Auta *et al.* (2017) melaporkan *B. cereus* yang diisolasi dari ekosistem mangrove di Malaysia mampu mendegradasi mikroplastik jenis polietilena sebesar 1,6% selama 40 hari. Oleh sebab

itu masih diperlukan upaya untuk mendapatkan bakteri dari lingkungan asal yang mampu mendegradasi polietilena dalam waktu yang lebih singkat.

Pada penelitian ini, dilakukan isolasi dan identifikasi bakteri pendegradasi polietilena dari tanah hutan mangrove Ambon. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui keragaman bakteri pendegradasi plastik dari hutan mangrove Ambon, Maluku.

BAHAN DAN CARA KERJA

Sampel tanah yang digunakan diambil dari hutan mangrove di Desa Nania dan Tawiri, Ambon, Maluku. Pada setiap lokasi pengambilan sampel terdapat 3 zona yaitu *landward* (NNA 0 [Nania zona *landward* 3°37'46.6" S 128°14'10.4" E], TWR 0 [Tawiri zona *landward* 3°41'48.1" S 128°06'16.5" E]), *middle* (NNA 50 [Nania zona *middle* 3°37'47.9" S 128°14'10.0" E], TWR 50 [Tawiri zona *middle* 3°41'49.1" S 128°06'17.6" E]) dan *seaward* (NNA 100 [Nania zona *seaward* 3°37'49.2" S 128°06'17.6" E], TWR 100 [Tawiri zona *seaward* 3°41'49.1" S 128°06'17.6" E]). Zona *landward* merupakan zona yang berada di daratan yang tidak terendam air dan tidak mengalami pasang surut. Zona *middle* merupakan zona yang terendam air selama ±4–6 jam perhari dengan jarak 50 meter dari daratan. Zona *seaward* merupakan zona yang selalu terendam dengan jarak 100 meter dari daratan. Sampel tanah diambil pada kedalaman 0–30 cm dengan menancapkan pipa dengan panjang 30 cm ke dalam tanah pada titik yang telah ditentukan, kemudian ditutup agar tanah tidak keluar dari pipa. Selanjutnya pipa diberi label dan disimpan di dalam *ice box*.

Isolasi mikroba pendegradasi plastik menggunakan teknik pengayaan dalam media ONR7 yang mengandung 0,1% (b/v) bubuk plastik polietilena linear berdensitas rendah (LLDPE) sebagai sumber karbon. Sampel tanah ditimbang sebanyak 1 g dan ditambahkan ke dalam 100 ml media ONR7 yang mengandung 0,1 g LLDPE bubuk. Sampel diinkubasi dalam inkubator bergoyang pada suhu 28 °C dengan kecepatan 120 rpm selama 21 hari untuk memperoleh kultur konsorsium (Skariyachan *et al.*, 2014; Priya *et al.*, 2015).

Selanjutnya, kultur konsorsium dipindahkan ke media ONR7a yang mengandung 0,1% (b/v) bubuk plastik polietilena linear berdensitas rendah (LLDPE) pada pengenceran dari 10⁻² sampai 10⁻⁴. Setelah diinkubasi selama 7 hari pada suhu ruang, koloni yang tumbuh diduga merupakan bakteri pendegradasi polietilena. Kemurnian biakan diuji dengan diinokulasikan kembali pada media kaya, yaitu *marine agar* (MA). Isolat bakteri yang diperoleh diseleksi awal berdasarkan morfologi

koloni dan struktur dinding selnya yang dilakukan melalui uji Gram (Riffiani, 2010; Skariyachan *et al.*, 2014).

Isolat bakteri diidentifikasi berdasarkan analisis gen 16S rRNA. Ekstraksi DNA dilakukan dengan metode pendidihan. Amplifikasi gen 16S rRNA dilakukan menggunakan pasangan primer 27F (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') dan 1492R (5'-TACGGHTACCTTGTTACGACTT-3') (de Fretes *et al.* 2019). Amplifikasi dilakukan dengan komposisi reaksi PCR terdiri atas 3 µl cetakan DNA, 12,5 µl DreamTaq™ Green PCR Master Mix (2X) (Thermo Scientific, Lithuania), 1 µl primer forward, 1 µl primer reverse dan 7,5 µl nuclease free water dengan total 25 µl. Proses amplifikasi PCR dilakukan di Arktik Thermal Cycler (Thermoscientific) dengan kondisi pre-denaturasi pada suhu 96 °C selama 5 menit, denaturasi pada suhu 96 °C selama 30 detik, penempelan pada suhu 55 °C selama 30 detik, proses elongasi pada suhu 72 °C selama 60 detik, dan elongasi akhir pada

suhu 72 °C selama 7 menit. Proses PCR berlangsung sebanyak 30 siklus. Hasil amplifikasi kemudian dipurifikasi dan disekuensing menggunakan jasa dari Macrogen, Inc., Korea Selatan. Analisis urutan nukleotida menggunakan program BLAST berdasarkan *GenBank*. Pembuatan pohon filogenetik menggunakan *software* MEGA X dengan metode *Neighbor-joining* (Nadeem *et al.*, 2021).

HASIL

Isolasi bakteri pendegradasi polietilena

Sebanyak 26 isolat bakteri pendegradasi polietilena diisolasi dari enam sampel tanah mangrove (Tabel 1). Isolat terbanyak diperoleh pada sampel TWR 0, sedangkan jumlah terkecil pada sampel TWR 100. Jumlah keseluruhan isolat terbanyak berdasarkan lokasi adalah Nania sejumlah 14 isolat, sedangkan Tawiri adalah 12 isolat. Adapun berdasarkan zona, isolat terbanyak diperoleh pada zona *landward* (13 isolat) yang diikuti oleh zona *middle* (8 isolat) dan *seaward* (5 isolat).

Tabel 1. Perolehan isolat bakteri dari sampel tanah mangrove. (*Obtain bacterial isolates from mangrove soil samples*).

Lokasi	Zona	Kode sampel	Jumlah bakteri pendegradasi polietilena
Nania	<i>Landward</i>	NNA 0	6
Nania	<i>Middle</i>	NNA 50	4
Nania	<i>Seaward</i>	NNA 100	4
Tawiri	<i>Landward</i>	TWR 0	7
Tawiri	<i>Middle</i>	TWR 50	4
Tawiri	<i>Seaward</i>	TWR 100	1
Total			26 isolat

Pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis dilakukan untuk mengetahui kemurnian koloni yang diisolasi. Semua koloni yang diisolasi merupakan Gram negatif dan memiliki bentuk sel batang (Tabel 2).

Identifikasi bakteri pendegradasi polietilena

Hasil analisis molekuler (Tabel 3) menunjukkan terdapat 9 isolat yang memiliki persentase tingkat kemiripan >99% dan telah memiliki nama spesies referensi. Sementara itu, sisanya terdapat 17 isolat yang memiliki persentase tingkat kemiripan <99%.

Hasil analisis filogenetik berdasarkan sekuen 16S rRNA menggunakan metode *Neigbor Joining* dan *B. cereus* sebagai *outgroup* dapat dilihat pada (Gambar 1). Kontruksi pohon filogenetik

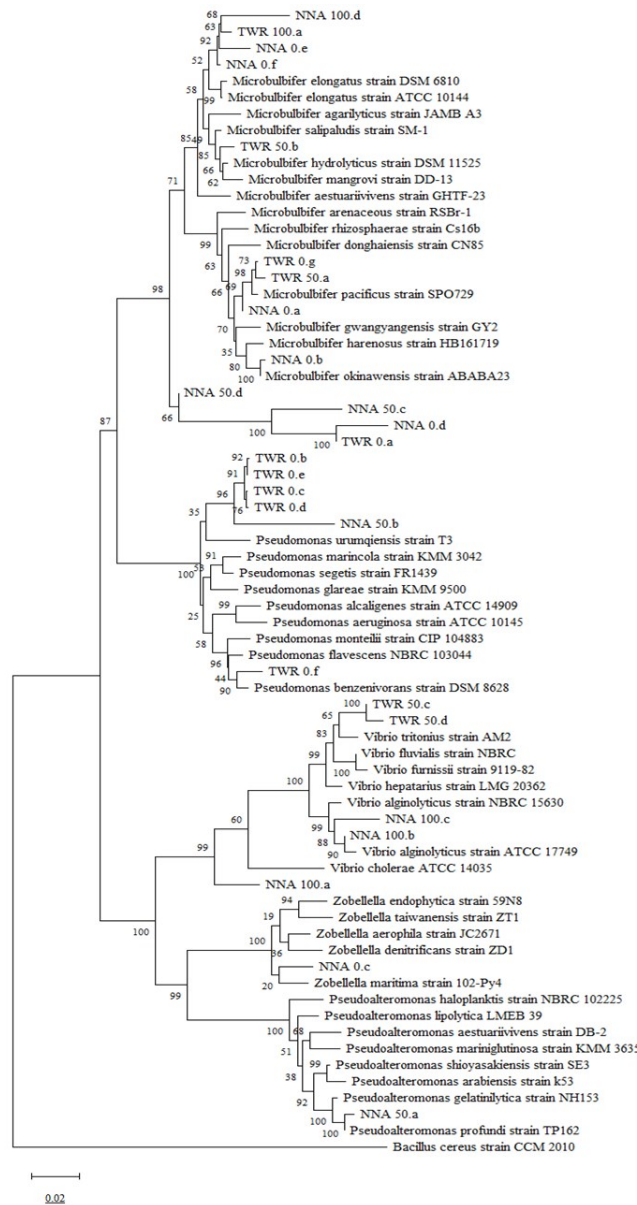
menunjukkan bahwa semua isolat masuk ke dalam filum Proteobacteria dengan subfilum gamma proteobacteria dengan 5 genus yaitu *Microbulbifer*, *Zobellella*, *Pseudoalteromonas*, *Vibrio* dan *Pseudomonas*. Terdapat 13 isolat yang masuk ke dalam genus *Microbulbifer*, 1 isolat yang masuk ke dalam genus *Zobellella*, 1 isolat yang masuk ke dalam genus *Pseudoalteromonas*, 5 isolat yang masuk ke dalam genus *Vibrio* dan 6 isolat yang masuk ke dalam genus *Pseudomonas*. Terdapat 14 spesies yaitu *M. pacificus*, *M. okinawensis*, *M. arenaceous*, *M. elongatus*, *M. hydrolyticus*, *M. salipaludis*, *Zobellella aerophila*, *Pseudoalteromonas profundi*, *Vibrio tritonius*, *V. alginolyticus*, *V. furnissii*, *P. alcaligenes*, *P. marincola* dan *P. benzenivorans* yang mewakili 26 isolat yang diidentifikasi.

Tabel 2. Morfologi sel dan koloni isolat bakteri pendegradasi polietilena. (*Cell and colony morphology of isolates of polyethylene degrading bacteria*).

Isolat	Morfologi koloni				Morfologi sel	
	Bentuk	Tepian	Elevasi	Warna	Gram	Bentuk sel
NNA 0.a	Bulat	Melengkung	Tumbuh kedalam media	Putih kekuningan	-	Batang
NNA 0.b	Bulat	Rata	Tumbuh kedalam media	Putih kekuningan	-	Batang
NNA 0.c	Tidak beraturan	Melengkung	Flat	Putih bening	-	Batang
NNA 0.d	Bulat	Melengkung	Tumbuh kedalam media	Putih kekuningan	-	Batang
NNA 0.e	Bulat	Melengkung	Tumbuh kedalam media	Putih kekuningan	-	Batang
NNA 0.f	Bulat	Bergelombang	Tumbuh kedalam media	Putih	-	Batang
NNA 50.a	Bulat	Melengkung	Flat	Putih bening	-	Batang
NNA 50.b	Bulat	Melengkung	Flat	Putih susu	-	Batang
NNA 50.c	Bulat	Rata	Tumbuh kedalam media	Putih susu	-	Batang
NNA 50.d	Bulat	Bergelombang	Tumbuh kedalam media	Putih susu	-	Batang
NNA 100.a	Bulat	Bergelombang	Flat	Putih bening	-	Batang
NNA 100.b	Tidak beraturan	Bergelombang	Flat	Putih	-	Batang
NNA 100.c	Bulat	Bergelombang	Flat	Putih	-	Batang
NNA 100.d	Bulat	Bergelombang	Tumbuh kedalam media	Putih susu	-	Batang
TWR 0.a	Tidak beraturan	Bergelombang	Flat	Putih bening	-	Batang
TWR 0.b	Bulat	Bergelombang	Flat	Putih	-	Batang
TWR 0.c	Tidak beraturan	Bergelombang	Tumbuh kedalam media	Putih bening	-	Batang
TWR 0.d	Tidak beraturan	Berlekuk	Flat	Putih bening	-	Batang
TWR 0.e	Bulat	Melengkung	Flat	Putih bening	-	Batang
TWR 0.f	Tidak beraturan	Bergelombang	Flat	Putih	-	Batang
TWR 0.g	Bulat	Melengkung	Cembung	Putih	-	Batang
TWR 50.a	Bulat	Melengkung	Cembung	Putih	-	Batang
TWR 50.b	Bulat	Rata	Tumbuh kedalam media	Putih	-	Batang
TWR 50.c	Bulat	Bergelombang	Flat	Putih bening	-	Batang
TWR 50.d	Bulat	Bergelombang	Flat	Putih	-	Batang
TWR 100.a	Bulat	Bergelombang	Tumbuh kedalam media	Putih	-	Batang

Tabel 3. Hasil analisis pensejajaran basa nukleotida gen 16S rRNA dengan pangkalan data nukleotida di GenBank. (*The results of the nucleotide base alignment analysis of the 16S rRNA gene with the nucleotide database at GenBank*).

Isolat	Konsorsium	Panjang basa	No. aksesori padanan	Spesies padanan	Query cover (%)	Tingkat kemiripan (%)
NNA 0.a	NNA 0	1357	NR_115928	<i>Microbulbifer pacificus</i> strain SPO729	100	99,41
NNA 0.b	NNA 0	1383	NR_112917	<i>Microbulbifer okinawensis</i> strain ABABA23	99	99,07
NNA 0.c	NNA 0	1390	NR_117862	<i>Zobellella aerophila</i> strain JC2671	99	97,34
NNA 0.d	NNA 0	764	NR_114885	<i>Microbulbifer salipaludis</i> strain SM-1	99	97,06
NNA 0.e	NNA 0	1382	NR_025246	<i>Microbulbifer elongatus</i> strain DSM 6810	99	98,05
NNA 0.f	NNA 0	1372	NR_025246	<i>Microbulbifer elongatus</i> strain DSM 6810	100	98,69
NNA 50.a	NNA 50	1409	NR_152699	<i>Pseudoalteromonas profunda</i> strain TP162	99	99,57
NNA 50.b	NNA 50	1073	NR_025232	<i>Pseudomonas alcaligenes</i> strain ATCC 14909	95	99,01
NNA 50.c	NNA 50	1014	NR_112059	<i>Microbulbifer elongatus</i> strain ATCC 10144	98	99,16
NNA 50.d	NNA 50	965	NR_112059	<i>Microbulbifer elongatus</i> strain ATCC 10144	100	99,07
NNA 100.a	NNA 100	1325	NR_113781	<i>Vibrio alginolyticus</i> strain NBRC 15630	100	96,46
NNA 100.b	NNA 100	1394	NR_118258	<i>Vibrio alginolyticus</i> strain ATCC 17749	100	99,71
NNA 100.c	NNA 100	1403	NR_118258	<i>Vibrio alginolyticus</i> strain ATCC 17749	100	96,94
NNA 100.d	NNA 100	1376	NR_114913	<i>Microbulbifer hydrolyticus</i> strain DSM 11525	99	96,19
TWR 0.a	TWR 0	1030	NR_112059	<i>Microbulbifer elongatus</i> strain ATCC 10144	99	99,40
TWR 0.b	TWR 0	1382	NR_041592	<i>Pseudomonas marincola</i> strain KMM 3042	99	97,68
TWR 0.c	TWR 0	1370	NR_041592	<i>Pseudomonas marincola</i> strain KMM 3042	99	97,66
TWR 0.d	TWR 0	1395	NR_041592	<i>Pseudomonas marincola</i> strain KMM 3042	99	97,49
TWR 0.e	TWR 0	1397	NR_041592	<i>Pseudomonas marincola</i> strain KMM 3042	99	97,92
TWR 0.f	TWR 0	1394	NR_116904	<i>Pseudomonas benzenivorans</i> strain DSM 8628	99	98,56
TWR 0.g	TWR 0	1303	NR_115928	<i>Microbulbifer pacificus</i> strain SPO729	100	99,39
TWR 50.a	TWR 50	1400	NR_115928	<i>Microbulbifer pacificus</i> strain SPO729	99	98,39
TWR 50.b	TWR 50	1393	NR_025232	<i>Microbulbifer salipaludis</i> strain SM-1	99	98,92
TWR 50.c	TWR 50	1417	NR_134830	<i>Vibrio tritonius</i> strain AM2	100	97,89
TWR 50.d	TWR 50	1073	NR_037067	<i>Vibrio furnissii</i> strain 9119-82	98	98,72
TWR 100.a	TWR 100	1376	NR_114913	<i>Microbulbifer hydrolyticus</i> strain DSM 11525	99	98,25



Gambar 1. Kontruksi pohon filogenetik isolat bakteri pendegradasi polietilena menggunakan metode Neighbour Joining dengan nilai ulangan bootstrap 1000x. (*Phylogenetic tree construction of isolates of polyethylene degrading bacteria using the Neighbor Joining method with a bootstrap replication value of 1000x*).

PEMBAHASAN

Metode isolasi dengan media pengayaan akan menyeleksi jenis bakteri yang tumbuh dan memperkaya jenis bakteri yang mampu menggunakan media diperkaya sebagai sumber karbon satu-satunya, dalam hal ini polietilena. Bakteri yang berpotensi memanfaatkan polietilena akan tumbuh dan berkembang pada media ini, sedangkan bakteri yang tidak mampu memanfaatkan polietilena akan mati. Teknik ini

mampu mengisolasi bakteri pendegradasi *low density polyethylene* dari tempat pembuangan sampah sebagaimana yang telah dilaporkan oleh Mehmood *et al.* (2016).

Polietilena merupakan polimer yang hidrofobik dan memiliki ikatan yang kuat secara kimia. Mikrob tidak dapat mengangkut polimer plastik polietilena langsung dari luar membran sel ke dalam sel. Hal ini disebabkan sifat polimer plastik polietilena yang hidrofobik serta rantai polimer

yang panjang. Pada awalnya, bakteri akan menempel pada plastik dan membentuk biofilm, kemudian bakteri memecah molekul kompleks dengan memanfaatkan enzim intraseluler dan ekstraseluler yang mereka miliki. Senyawa dengan berat molekul rendah yang dihasilkan dari pemecahan molekul kompleks tersebut selanjutnya dimanfaatkan oleh bakteri sebagai sumber karbon dan sumber energi (Arutchelvi *et al.*, 2008).

Berdasarkan hasil identifikasi gen 16S rRNA terdapat 9 isolat yang memiliki persentase tingkat kemiripan >99%. Berdasarkan pedoman yang direkomendasikan oleh Janda dan Abbot (2007), kriteria untuk identifikasi spesies adalah kemiripan sekuens dengan persentase minimum sebesar 99% dan ideal pada nilai 99,5%. Persentase tersebut menggambarkan jumlah basa nukleotida identik yang digunakan bersama oleh kueri dan urutan referensi dibagi dengan jumlah basa nukleotida yang diurutkan. Nilai persentase 97–98% digunakan sampai identifikasi tingkat genus, sehingga terdapat 14 isolat yang teridentifikasi memiliki genus yang sama dengan spesies referensi namun memiliki kemungkinan masuk dalam spesies baru (Petti, 2007). Selain itu, terdapat 3 isolat yang kurang identik di tingkat spesies dan maupun genus dikarenakan kemiripan di bawah 97%. Bakteri tersebut kemungkinan bakteri baru yang perlu diidentifikasi lebih lanjut.

Mangrove merupakan ekosistem yang menggabungkan sifat laut dan darat sehingga keanekaragaman hayatinya melimpah dan memiliki karakteristik seperti salinitas yang tinggi, nilai pH yang lebih rendah dan keasaman yang lebih tinggi dan kandungan bahan organik yang tinggi (Liu *et al.*, 2019). Pada penelitian ini berhasil diisolasi bakteri pendegradasi polietilena dari filum Proteobacteria. Proteobacteria merupakan bakteri dominan pada sedimen mangrove (Afiani *et al.*, 2019). Filum Proteobacteria merupakan bakteri gram negatif dan merupakan kelompok bakteri terbesar dalam prokariota (Kersters *et al.*, 2006). Hasil penelitian Oberbeckmann *et al.* (2014) memperoleh bakteri dari filum *Bacteroidetes* dan juga *Proteobacteria* dari lautan yang dapat menempel pada permukaan plastik.

Bakteri pendegradasi polietilena paling banyak terisolasi dalam penelitian ini termasuk dalam genus *Microbulbifer*. *Microbulbifer* biasanya ditemukan di lingkungan salinitas tinggi termasuk sedimen laut, pesisir dan tanah mangrove (Baba *et al.*, 2011; Kampf *et al.*, 2012; Zhang *et al.*, 2012). Genus *Microbulbifer* diketahui memiliki kemampuan mendegradasi polietilena jenis polietilena linear berdensitas rendah (LLDPE) yang dibuktikan dengan adanya perubahan morfologi pada permukaan polietilena (Li *et al.*, 2020). Pada penelitian ini berhasil diisolasi 13 isolat (50%)

bakteri pendegradasi polietilena dari genus *Microbulbifer* yang diidentifikasi sebagai *M. pacificus*, *M. okinawensis*, *M. arenaceous*, *M. elongatus*, *M. salipaludis* dan *M. hydrolyticus*. Semua sampel teridentifikasi ke dalam *Microbulbifer* dengan perolehan terbanyak pada spesies *M. elongatus* (5 dari 26 isolat, ~19%). Spesies ini juga ditemukan di kedua lokasi (Nania dan Tawiri). Penelitian lain juga berhasil mengisolasi spesies ini dari akar mangrove di pesisir Thuwal, Jeddah, Arab Saudi (Bibi *et al.*, 2017). Jeong *et al.* (2013) melaporkan *M. pacificus* ditemukan pada lingkungan laut di Korea dan Al-Amoudi *et al.* (2016) melaporkan *M. salipaludis* ditemukan pada ekosistem pesisir di Arab Saudi. Namun sampai saat ini, spesies *M. pacificus*, *M. okinawensis*, *M. arenaceous*, *M. salipaludis* dan *M. elongatus* yang mampu mendegradasi polietilena belum pernah dilaporkan sebelumnya. Adapun *M. hydrolyticus* yang diisolasi dari air limbah pabrik pulp kaya lignin dilaporkan mampu mendegradasi LLDPE (Li *et al.*, 2020).

Vibrio merupakan bakteri Gram negatif, mempunyai bentuk sel batang, motil, mesofilik, kemoorganotrofik dan mempunyai metabolisme ananerob fakultatif. *Vibrio* biasanya terdapat pada lingkungan perairan terutama laut dan diketahui hidup secara bebas atau berasosiasi sebagai simbiosis dengan hewan akuatik di perairan laut atau muara (Gao *et al.*, 2012). Pada sampel NNA 100 dan TWR 50 dari genus ini teridentifikasi ke dalam tiga spesies, yaitu *V. alginolyticus*, *V. tritonius* dan *V. furnissii*. Ragul *et al.* (2014) melaporkan *Vibrio* sp. (*Vibrio alginolyticus* dan *Vibrio parahaemolyticus*) sebagai konsorsium dari laut untuk mendegradasi *low linear density polyethylene* yang dicampur dengan 30% polivinil alkohol. Hal ini dibuktikan dengan adanya perubahan morfologi permukaan plastik. Adapun *V. tritonius* dan *V. furnissii* belum dilaporkan sebelumnya memiliki kemampuan dalam mendegradasi plastik, terutama polietilena.

Genus *Zobellella* termasuk ke dalam famili *Aeromonadaceae* yang merupakan bakteri Gram negatif, heterotrofik dan bersifat motil (Song *et al.*, 2018). Kelompok bakteri pada genus ini belum banyak dilaporkan jenisnya sejak pertama kali diperkenalkan 16 tahun lalu (Lin dan Shieh, 2006). Pada penelitian ini berhasil diisolasi satu isolat *Z. aerophila* dari sampel tanah hutan mangrove sampel NNA 0. Yi *et al.* (2011) juga telah melaporkan *Z. aerophila* yang diisolasi dari sampel pasir pantai Dokdo, Korea. Adapun studi terkait biodegradasi plastik dari genus ini belum dilaporkan sebelumnya. Namun, jenis *Z. maritima* yang dekat kekerabatannya dengan *Z. aerophila* diketahui mampu mendegradasi hidrokarbon aromatik polisiklik (Lee *et al.*, 2018).

Genus *Pseudoalteromonas* merupakan bakteri

Gram negatif, heterotrofik, aerob dan motil. *Pseudoalteromonas* menghasilkan enzim ekstraseluler, antibiotik dan polisakarida. *Pseudoalteromonas* mampu tumbuh di lingkungan yang dingin dan toleran terhadap garam (Chen *et al.*, 2020). Davidov *et al.* (2020) melaporkan bahwa *Pseudoalteromonas* ditemukan pada sampel plastik polietilena dengan pendekatan *metabarcoding*. Spesies dari *Pseudoalteromonas* tersebar luas di lingkungan laut seperti sedimen, pesisir dan muara. Pada penelitian ini berhasil ditemukan satu isolat *Pseudoalteromonas profunda* dari sampel NNA 50. Hasil penelitian Zhang *et al.* (2016) melaporkan *Pseudoalteromonas profunda* ditemukan pada sampel batuan dari laut dalam. Saat ini *Pseudoalteromonas profunda* yang mampu mendegradasi polietilena belum pernah dilaporkan.

Pseudomonas merupakan bakteri berbentuk batang, bersifat motil karena memiliki flagel serta mampu tumbuh pada suhu 4°C atau di bawah suhu 43°C dan tumbuh pada pH 5,3–9,7 (Suyono *et al.*, 2011). Hasil penelitian Kyaw *et al.* (2012) menunjukkan adanya aktivitas biodegradasi LDPE oleh berbagai spesies *Pseudomonas* yang mampu mendegradasi hingga 20% selama 120 hari. *Pseudomonas* dapat menghasilkan enzim serine hidrolase, esterase dan lipase yang memiliki kemampuan mendegradasi plastik. Proses pendegradasian sampah plastik oleh enzim tersebut dapat berlangsung secara optimal jika tidak terdapat inhibitor yang mampu menghambat aktivitas enzim di lingkungan (Trevino *et al.*, 2012). *Pseudomonas* aktif melekat dan membentuk biofilm di permukaan sampah plastik selama proses biodegradasi. Salah satu jenis plastik yang dapat didegradasi oleh bakteri ini yaitu polietilena (Yoon *et al.*, 2012). Pada penelitian ini, tiga spesies *Pseudomonas* berhasil diidentifikasi, yaitu *P. alcaligenes*, *P. marincola* dan *P. benzenivorans*. Ketiganya berasal dari sampel NNA 50 dan TWR 0. *Pseudomonas* merupakan kelompok bakteri kosmopolitan yang banyak ditemukan pada tanah, air dan tanaman. Romanenko *et al.* (2008) melaporkan *P. marincola* ditemukan pada lingkungan laut. *P. marincola* dan *P. benzenivorans* yang telah diisolasi dari ekosistem mangrove dan mampu mendegradasi polietilena belum pernah dilaporkan. *P. alcaligenes* yang diisolasi dari tanah yang tercemar plastik mampu mendegradasi polietilena sebesar 20% selama 30 hari (Begum *et al.*, 2015).

KESIMPULAN

Pada penelitian ini berhasil diisolasi 26 isolat bakteri pendegradasi polietilena dari tanah hutan mangrove Ambon. Berdasarkan analisis gen 16S rRNA, isolat bakteri tersebut berasal dari subfilum gamma proteobacteria dengan genus *Microbulbifer*, *Zobellia*, *Pseudoalteromonas*, *Vibrio* dan

Pseudomonas yang terdiri dari 14 spesies yaitu *M. pacificus*, *M. okinawensis*, *M. arenaceous*, *M. elongatus*, *M. hydrolyticus*, *M. salipaludis*, *Z. aerophila*, *P. profunda*, *V. tritonius*, *V. alginolyticus*, *P. alcaligenes*, *P. marincola*, dan *P. benzenivorans*. *M. elongatus*, *M. pacificus*, *M. okinawensis*, *M. arenaceous*, *Z. aerophila*, *P. profunda*, *V. tritonius*, *V. furnissii*, *P. marincola* dan *P. benzenivorans* yang mampu mendegradasi polietilena belum pernah dilaporkan sebelumnya, sehingga penelitian ini memberikan informasi baru bahwa bakteri tersebut berpotensi dalam mendegradasi polietilena.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Pusat Riset Mikrobiologi Terapan, BRIN yang telah menyediakan fasilitas dan terima kasih kepada tim survey lapangan dari Pusat Riset Laut Dalam, Ambon serta terima kasih kepada Newton Fund yang telah mendanai penelitian ini sehingga penelitian ini dapat dilaksanakan.

DAFTAR PUSTAKA

- Afiani, N.F., D., Febrian dan D., Falahudin., 2019. Isolasi bakteri pendegradasi minyak mentah dan polisiklik aromatic hidrokarbon dari sedimen mangrove Bintan. *Oceanologi dan Limnologi di Indonesia*. 4(3), pp. 155–165.
- Al-Amoudi, S., E., Magbubah, M.F., Simoes, S., Bougouffa, I., Soloviev, J.A.C., Archer, F.F., Lafi and V.B., Bajic., 2016. Bioprospecting red sea coastal ecosystems for culturable microorganisms and their antimicrobial potential. *Marine Drugs*. 165, pp. 1–14 .
- Andareas, P., 2019. Biodegradasi minyak solar menggunakan isolat bakteri *Indigenous Mangrove Tritih Kulon*, Cilacap. *Jurnal KRIDATAMA*. 1(1), pp. 18–27.
- Anggiani, M., 2020. Potensi mikroorganisme sebagai agen bioremediasi mikroplastik di laut. *Oseana*. 45(2), pp. 40–49
- Arutchelvi, J., M., Sudhakar, A., Arkatkar, M., Doble, S., Bhaduri and P.V., Uppara., 2008. Biodegradation of polyethylene and polypropylene. *Indian Journal of Biotechnology*. 7, pp. 9–22.
- Auta, H.S., C.U., Emenike and S.H., Fauziah., 2017. Screening of *Bacillus* strains isolated from mangrove ecosystems in Peninsular Malaysia for microplastic degradation. *Environmental Pollution*. 231, pp. 1552–1559.
- Avio, C.G., S., Gorbi and F., Regoli., 2017. Plastics and microplastics in the oceans: From emerging pollutants to emerged threat. *Marine Environmental Research*. 128, pp. 2–11.
- Baba, A., M., Miyazaki, T., Nagahama and Y., Nogi., 2011. *Microbulbifer chitinolyticus* sp. nov. and *Microbulbifer okinawensis* sp. nov.,

- chitin-degrading bacteria isolated from mangrove forest. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 61, pp. 2215–2220.
- Begum, M.A., B., Varalakshmi and K., Umamageswari., 2015. Bioegradation of polythene bag using bacteria isolated from soil. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 4(11), pp. 674–680.
- Bibi, F., I., Ullah, S.A., Alvi, S.A., Bakhsh, M., Yasir, A.A.K., Al-Ghamdi and E.I., Azhar., 2017. Isolation, diversity and biotechnological potential of rhizo-and endophytic bacteria associated with mangrove plants from Saudi Arabia. *Genetics and Molecular Research*. 16 (2), pp. 1–12
- Chen, X.L., Y., Wang, P., Wang and Y.Z., Zhang., 2020. Proteases from the marine bacteria in the genus *Pseudoalteromonas*: diversity, characteristics, ecological roles and application potentials. *Marine Life Science and Technology*. 2, pp. 309–323.
- Davidov, K., E.I., Kounio, I., Yakovenko, Y., Kouchеров, M.R., Blum and M., Oren., 2020. Identification of plastic associated species in the Mediterranean Sea using DNA metabarcoding with Nanopore MinION. *Scientific Reports*. 10(1).
- de Fretes, C., L.I., Sutiknowati dan D., Falahudin., 2019. Isolasi dan identifikasi bakteri toleran logam berat dari sedimen Mangrove di Pengudang dan Tanjung Uban, Pulau Bintan, Indonesia. *Oseanologi dan Limnologi di Indonesia*. 4(2), pp. 71–77.
- Gao, Z.M., J., Xiao, X.N., Wang, L.W., Ruan, X.L., Chen and Y.Z., Zhang., 2012. *Vibrio xiamenensis* sp. nov., a cellulose-producing bacterium isolated from mangrove soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 62, pp. 1958–1962.
- Harshvardhan, K and B., Jha., 2013. Biodegradation of low-density polyethylene by marine bacteria from pelagic waters, Arabian Sea, India. *Marine Pollution Bulletin*. 77, pp. 100–106.
- Janda, J.M and S.L., Abbot., 2007. 16S rRNA gene sequencing for bacterial identification in the diagnostic laboratory: pluses, perils and pitfalls. *Journal of clinical microbiology*. 45 (9), pp. 2761–2764.
- Jeong, S.H., S.H., Yang, H.M., Jin, J.M., Kim, K.K., Kwon and C.O., Jeon., 2013. *Microbulbifer gwangyangensis* sp. nov., and *Microbulbifer pacificus* sp. nov., isolated from marine environments. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 63, pp. 1335–1341.
- Kampfer, P., A.B., Brun, C.C., Young, P.D., Rekha, K., Martin, H.J., Busse and W.M., Chen., 2012. *Microbulbifer taiwanensis* sp. nov., isolated from coastal soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 62, pp. 2485–2489.
- Kathiresan, K., 2003. Polythene and plastics-degrading microbes from the mangrove soil. *Rev Biol Trop*. 51, pp. 629–634.
- Kersters, K., P., De Vos, M., Gillis, J., Swings, P., Vandamme and E., Stackebrandt., 2006. Introduction to the Proteobacteria. *Prokaryotes*. 5, pp. 2–37.
- Kyaw, B.M., R., Champakalakshmi, M.K., Sakharkar, C.S., Lim and K.R., Sakharkar., 2012. Biodegradation of low-density polyethylene (LDPE) by *Pseudomonas* species. *Indian J Microbiol*. 52(3), pp. 411–419.
- Lee, D.W., H., Lee, B., Kwon, J.S., Khim, U.H., Yim, H., Park, B., Park, I., Choi, B.S., Kim and J., Kim., 2018. *Zobellella maritima* sp. nov., a polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading bacterium, isolated from beach sediment. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 68 (7), pp. 2279–2284.
- Li, Z., R., Wei, M., Gao, Y., Ren, B., Yu, K., Nie, H., Xu and L., Liu., 2020. Biodegradation of low-density polyethylene by *Microbulbifer hydrolyticus* IRE-31. *Journal of Environmental Management*. 263, pp. 1–8.
- Lin, Y.T and W.Y., Shieh., 2006. *Zobellella denitrificans* gen. nov., sp. nov. and *Zobellella taiwanensis* sp. nov., denitrifying bacteria capable of fermentative metabolism. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 56, pp. 1209–1215.
- Liu, H and Y., Tian., 2019. The study of microbial diversity in mangrove wetland ecological system based on 16S rDNA library. *International Journal of Environmental Monitoring and Analysis*. 7(2), pp. 48–55.
- Mehmod, C.T., I.A., Qazi, I., Hashmi, S., Bhargava and S., Deepa., 2016. Biodegradation of low-density polyethylene (LDPE) modified with dye sensitized titania and starch blend using *Stenotrophomonas pavanii*. *Int Biodeterior Biodegrad*. 113, pp. 276–286.
- Nadeem, H., K.B., Alia, F., Muneer, I., Rasul, M.H., Siddique, F., Azeem and M., Zubair., 2021. Isolation and identification of low-density polyethylene degrading novel bacterial strains. *Archiver of Microbiology*. pp.

- 1–7.
- Oberbeckmann, S., M.G.J., Loeder, G., Gerdts and A.M., Osborn., 2014. Spatial and seasonal variation in diversity and structure of microbial biofilms on marine plastics in Northern European waters. *FEMS Microbiol Ecol.* 90(2), pp. 478–492.
- Petti, C.A., 2007. Detection and identification of microorganisms by gene amplification and sequencing. *Clin Infect Dis.* 44(8), pp. 1108–1114.
- Priya, A., A.K., Mandal, A.S., Ball, M., Manefield, B., Lal and P.M., Sarma., 2015. Mass culture strategy for bacterial yeast co-culture for degradation of petroleum hydrocarbons in marine environment. *Marine Pollution Bulletin.* pp. 1–9.
- Ragul, S.S., S.G., Bhat, M., Chandrasekaran, V., Francis and E.T., Thachil. 2014. Biodegradation of polyvinyl alcohol-low linear density polyethylene-blended plastic film by consortium of marine benthic vibrios. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 11, pp. 1827–1834.
- Riffiani, R., 2010. Isolasi bakteri pendegradasi Phenanthrene dari Batanta Salawati Raja Ampat Papua. *Jurnal Biologi Indonesia.* 6(2), pp. 153–161.
- Romanenko, L.A., M., Uchino, B.M., Tebo, N., Tanaka, G.M., Frolova and V.V., Mikhailov., 2008. *Pseudomonas marincola* sp. nov., isolated from marine environments. *Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.* 58, pp. 706–710.
- Sari, D.P., H., Amir dan R., Elvia., 2020. Isolasi bakteri dari tanah tempat pembuangan akhir (TPA) air sebakul sebagai agen biodegradasi limbah plastik Polyethylene. *Jurnal Pendidikan dan Ilmu Kimia.* 4(2), pp. 98–106.
- Skariyachan, S., M., Megha, M.N., Kini, K.M., Mukund, A., Rizvi and K., Vasist., 2014. Selection and screening of microbial consortia for efficient and ecofriendly degradation of plastic garbage collected from urban and rural areas of Bangalore, India. *Environ Monit Assess.* 187, pp. 1–14.
- Song, Z., Q.W., Sun, A.X., Liang, X.X., Zhang, L.B., Li and L., Liu., 2018. *Zobellella endophytica* sp. nov., isolated from the roots of *Phragmites communis* in the Kumtag Desert. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.* 68, pp. 3807–3811.
- Sudhakar, M., M., Doble, P.S., Murthy and R., Venkatesan., 2007. Marine microbe-mediated biodegradation of low- and high-density polyethylenes. *International Biodeterioration and Biodegradation.* 92, pp. 1743–1752.
- Suyadi, C.Y and Manullang., 2020. Distribution of plastic debris pollution and its implications on mangrove vegetation. *Marine Pollution Bulletin.* 160, pp. 2–9.
- Suyono, Y dan F., Salahudin., 2011. Identifikasi dan karakterisasi bakteri *Pseudomonas* pada tanah yang terindikasi terkontaminasi logam. *Jurnal Biopropal Industri.* 2(1), pp. 8–13.
- Trevino, A.L., G.G., Sanchez, R.R., Herrera and C.N., Aguilar., 2012. Microbial enzymes involved in polyurethane biodegradation: a review. *J Polym Environ.* 20, pp. 258–265.
- Usha, R., T., Sangeetha and M., Palaniswamy., 2011. Screening of polyethylene degrading microorganisms from garbage soil. *Agriculture Research Center Journal International.* 2(4), pp. 200–204.
- Yi, H., J., Song, J.C., Cho and J., Chun., 2011. *Zobellella aerophila* sp. nov., isolated from seashore sand, and emended description of the genus *Zobellella*. *Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.* 61, pp. 2491–2495.
- Yoon, M.G., H.J., Jeon and M.N., Kim. 2012. Biodegradation of polyethylene by soil bacterium and *AlkB* cloned recombinant cell. *J Bioremed Biodegrad.* 3(4), pp. 1–8.
- Yunanto, A., N., Fitriah dan N., Widagti., 2021. Karakteristik mikropalstik pada ekosistem pesisir di kawasan mangrove perancang, Bali. *Journal of Fisheries and Marine Research.* 5 (2), pp. 436–444.
- Zhang, D.C., Y.X., Liu, H.J., Huang and J., Wu., 2016. *Pseudoalteromonas profundus* sp. nov., isolated from a deep sea seamount. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.* 66, pp. 4416–4421.
- Zhang, D.S., Y.Y., Huo, X.W., Xu, Y.H., Wu, C.S., Wang, X.F., Xu and M., Wu., 2012. *Microbulbifer marinus* sp. nov and *Microbulbifer yueqingensis* sp. nov., isolated from marine sediment. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.* 62, pp. 505–510.