

Kemampuan Degradasi Mikroplastik Polycaprolactone oleh Bakteri Asosiasi Karang Keras di Pantai Kartini Jepara

Muhammad Faris Azizi*, Hadi Endrawati, Agus Sabdono

Departemen Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro
Jl. Prof. Jacob Rais Tembalang, Semarang, Jawa Tengah, Indonesia
Email: azizi.2582@gmail.com

Abstrak

Jutaan ton sampah plastik global akan berakhir ke laut setiap tahunnya. Dampak adanya mikroplastik telah menjadi ancaman bagi organisme laut, salah satunya karang keras yang merupakan penyusun ekosistem terumbu karang. Penelitian ini bertujuan memperoleh bakteri asosiasi karang keras yang berpotensi mendegradasi mikroplastik dari perairan Pantai Kartini, Jepara. Sampel karang diambil dari tiga macam *life form* yaitu branching, massive, dan submassive pada kedalaman 5 – 10 meter. Sampel karang selanjutnya dilakukan pengenceran bertingkat, kemudian diinokulasi pada media agar laut zobell 2216E. Skrining uji potensi degradasi mikroplastik dilakukan menggunakan substrat tributyrin sebagai tahap awal untuk mengetahui aktivitas enzim lipolitik, dilanjutkan dengan uji polycaprolactone untuk mengetahui potensi adanya enzim poliesterase yang dapat memecah partikel mikroplastik. Tahapan analisa molekuler dilakukan meliputi ekstraksi DNA, amplifikasi DNA gen 16S rRNA, elektroforesis, dan analisa filogenetik. Hasil penelitian didapatkan sebanyak 37 isolat bakteri asosiasi karang keras dari berbagai *life form*. Delapan bakteri diketahui berpotensi memiliki aktivitas enzim lipolitik pada media tributyrin. Dilanjutkan pada uji polycaprolactone dihasilkan satu isolat bakteri dari karang massive dengan kode PK-KM-1.1 yang berpotensi mendegradasi polimer polycaprolactone. Analisa molekuler menunjukkan isolat PK-KM-1.1 memiliki kemiripan dengan *Bacillus aerius* hingga 99,71%. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa bakteri yang berasosiasi dengan karang keras berpotensi mendegradasi senyawa mikroplastik polycaprolactone dan dapat dijadikan sebagai sumber inang di dalam eksplorasi bakteri pendegradasi mikroplastik.

Kata kunci : Ekosistem, Polimer, Skrining, Enzim, Jepara

Abstract

Degradation Capability of Polycaprolactone Microplastics by Scleractinian Coral Association Bacteria at Kartini Beach Jepara

Millions of tons of global plastic waste end up in the ocean every year. The impact of this microplastic is a threat to the marine environment, one of them is scleractinian corals which is a coral reef ecosystem in the sea. The purpose of this study was to obtain the potency of microplastic-degrading coral associated bacteria from Kartini Beach, Jepara coastal waters. Coral samples were taken from three kinds of life forms, namely branching, massive, and submassive at a depth of 5-10 meters. The coral samples were diluted in stages, then inoculated on Zobell 2216E marine agar. Screening for the potential degradation of microplastics was carried out using tributyrin as an initial step to determine the activity of lipolytic enzymes, followed by polycaprolactone to determine the potential for the presence of polyesterase enzymes that can break down microplastic particles. The stages of molecular analysis carried out included DNA extraction, DNA amplification 16S rRNA gene, electrophoresis, and phylogenetic analysis. The results of the study obtained as many as 37 isolates of scleractinian coral association bacteria from various life forms. Eight bacteria were known to have lipolytic enzyme activity on tributyrin media. The polycaprolactone test was continued, which resulted in one bacterial isolate from massive coral with the code PK-KM-1.1 which has the potential to reduce microplastic polymers. The gene analysis showed that isolate PK-KM-1.1 had similarities with *Bacillus aerius* up to 99.71%. The results of this study indicate that bacteria associated with hard corals have the potential to

degrade microplastic polycaprolactone compounds and can be used as a host source in the exploration of microplastic-degrading bacteria.

Keywords : *Ecosystem, Polymer, Screening, Enzym, Jepara*

PENDAHULUAN

Berbagai produk plastik telah membawa banyak kemudahan pada semua aspek kehidupan manusia. Menurut data dari Plastics Europe (2019), produksi plastik telah meningkat dari 348 juta ton pada tahun 2017, mencapai sekitar 359 juta ton di tahun 2018. Penggunaan plastik yang berlebihan serta didukung daya tahan dan tidak adanya pengelolaan yang baik, membuat limbah plastik terbuang sia-sia (Phelan *et al.*, 2020; Eriksen *et al.*, 2014). Diperkirakan menurut Eriksen *et al.* (2014), sebanyak 5,35 triliun partikel atau kurang lebih 268.940 ton limbah plastik berada di laut. Total dari seluruh plastik global, 92,4% diantaranya memiliki diameter kurang dari 5 mm, dimana partikel tersebut merupakan mikroplastik (Cózar *et al.*, 2014; Santana *et al.*, 2016; Suaria *et al.*, 2016). Sedangkan partikel plastik ukuran 1-100 nm disebut nanoplastik (Mattsson *et al.*, 2015; EFSA (CONTAM), 2016; Hartmann *et al.*, 2019)

Organisme utama penyusun ekosistem terumbu karang di laut merupakan *Scleractinian coral* atau karang keras (deVantier dan Turak, 2017). Menurut Lamb *et al.* (2018), plastik yang terjerat di ekosistem terumbu karang Asia-Pasifik mencapai lebih dari 11 miliar sampah plastik. Pantai Utara Jawa Tengah, Kabupaten Jepara menunjukkan kondisi tutupan terumbu karang termasuk dalam kategori buruk. Buruknya kondisi tutupan karang tersebut diduga akibat aktivitas manusia seperti wisata, berenang, jaring nelayan, dan pencari kerang yang menyebabkan banyak pecahan karang akibat terinjak-injak (Suryono *et al.*, 2017). Kelimpahan mikroplastik juga ditemukan pada sedimen terumbu karang di Karang Tengah, Jepara sebanyak 96 partikel/kilogram (Muchlissin *et al.*, 2021). Kondisi cemaran mikroplastik tersebut memungkinkan mengganggu kesehatan ekosistem terumbu karang (Connors, 2017; Hall *et al.*, 2015; Lamb *et al.*, 2018).

Dampak adanya mikroplastik ini telah mengancam organisme laut. Hasil penelitian menurut Green (2016) menjelaskan apabila mikroplastik telah masuk ke dalam tubuh suatu organisme, maka akan menyebabkan rasa kenyang yang tidak tercerna, stres, komplikasi reproduksi,

dan bersifat racun. Adanya mikroplastik di laut memungkinkan timbulnya dampak pada ekosistem terumbu karang (Hall *et al.*, 2015; Connors, 2017; Lamb *et al.*, 2018; Axworthy dan Padilla-Gamiño, 2019; Corona *et al.*, 2020). Respon karang terhadap paparan mikroplastik akan mengeluarkan *mucus* / lendir yang berlebih sebagai mekanisme pembersihan (Hall *et al.*, 2015; Reichert *et al.*, 2018). Hal ini dapat mengakibatkan karang merasa stres dan memperkuat kerentanan terhadap penyakit, *bleaching*, dan *necrosis* (Reichert *et al.*, 2018). Salah satu alternatif pencegahan cemaran mikroplastik adalah melalui biodegradasi (Kirstein *et al.*, 2019; Montazer, Najafi and Levin, 2020; Yuan *et al.*, 2020).

Penelitian tentang plastik biodegradable menjadi sorotan para peneliti sebagai upaya untuk memecahkan masalah mengurangi polusi plastik. Salah satu polimer plastik yang dapat terdegradasi adalah polycaprolactone (PCL), yang merupakan bahan makromolekul dengan biodegradabilitas yang baik. Penggunaan tributyrin yang merupakan lemak, digunakan sebagai substrat skinning esterase dalam bioteknologi, sehingga dapat mempelajari degradasi mikroba di substrat yang berbeda (Liu *et al.*, 2019). Menurut Suzuki *et al.* (2021), banyak produk yang tersedia sebagai plastik biodegradable tetapi tidak dapat dengan mudah terdegradasi di lingkungan laut. Oleh karena itu, ada kekhawatiran dimungkinkan merusak ekosistem laut yang mirip dengan kerusakan yang disebabkan oleh komoditas plastik non-biodegradable. Kebanyakan penelitian tentang plastik biodegradable berfokus pada modifikasi bahan untuk meningkatkan efek degradasi, tetapi kurang pada degradasi plastik dari perspektif mikroorganisme. Mikroba yang dapat tumbuh di berbagai kondisi stres tertentu dan mampu mendegradasi polimer bahan plastik perlu diselidiki lebih lanjut untuk kelestarian lingkungan yang lebih baik (Auta *et al.*, 2018)

MATERI DAN METODE

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri asosiasi karang (*scleractinian coral*) diantaranya massive (*Favia* sp.), submassive (*Favites* sp.), dan branching (*Acropora* sp.) yang

diambil dari perairan Pantai Kartini, Jepara. Isolat tersebut selanjutnya diuji menggunakan substrat tributyrin dan polycaprolactone (PCL) di Laboratorium *Tropical and Marine Biotechnology* Gedung J Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Diponegoro, Semarang. Metode yang digunakan dalam pengambilan sampel yaitu *purposive sampling*, dimana telah ditentukannya jenis sampel yaitu *scleractinian coral* dan lokasi sampel yang akan diambil (Turner, 2020). Lokasi yang dipilih yaitu Pantai Kartini yang ada di Jepara, Jawa Tengah. Sampel karang diambil sesuai dengan bentuk formasi pertumbuhan antara lain branching, submassive, dan massive. Metode yang kedua yaitu menggunakan metode eksperimental laboratoris. Menurut Brüggemann dan Bizer (2015), eksperimental laboratoris adalah jenis eksperimen yang terencana dengan memberikan perlakuan sesuai dengan faktor sebab akibat dalam ruang lingkup laboratorium.

Pengambilan Sampel

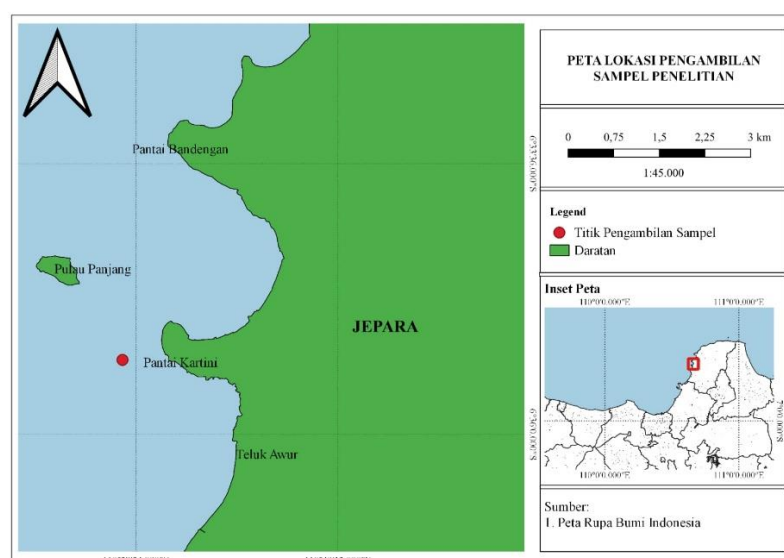
Titik sampling ditentukan dengan cara berenang menggunakan *diving gear* di sepanjang daerah sampling, sambil mengamati objek yang akan dijadikan target penelitian. Metode ini disebut dengan metode Manta Tow, dimana menurut Moran (1992) dan Prasetya *et al.* (2018), digunakannya metode ini mampu memberikan penilaian visual pada area yang luas dalam waktu singkat. Koordinat lokasi sampling diambil menggunakan *Global Position System*

(GPS) yang berada pada koordinat S 06°35'8.5" dan E 110°38'24,8" di perairan Pantai Kartini. Lokasi titik pengambilan sampel dapat dilihat pada Gambar 1.

Sampling dilakukan pada bulan Juli 2020 menggunakan peralatan *diving gear* pada kedalaman 5 – 10 meter dibawah permukaan air laut. Sampel karang diambil dari tiga macam *life form*, antara lain karang *branching*, *massive*, dan *submassive*. Pengambilan jaringan karang dengan cara menatah sebagian koloni karang untuk memotong sebagian jaringan menggunakan tatah dan palu. Sampel karang yang telah dipotong dimasukkan dalam kantong *zip lock*, kemudian disimpan dalam *cool box*. Pengukuran parameter lingkungan juga dilakukan pada setiap titik pengambilan sampel meliputi suhu, salinitas, pH, dan oksigen terlarut. Sampel fragmen karang selanjutnya dilakukan pendataan pengamatan darat meliputi dokumentasi dan identifikasi karang.

Isolasi dan Purifikasi Bakteri Asosiasi Karang

Metode yang digunakan dalam proses isolasi bakteri yaitu *Spread plate method* (Sanders, 2012). Sampel karang sebelumnya dibilas terlebih dahulu dengan air laut steril kemudian ditumbuk menggunakan mortar dan alu. Sampel karang yang telah halus ditimbang sebanyak 1 g, kemudian dimasukkan ke dalam falcon tube yang berisi 9 ml air laut steril untuk dilakukan serial dilutions (pengenceran bertingkat). Pengenceran dilakukan sampai dengan 10^{-3} kemudian diambil 10 μ l dari



Gambar 1. Peta Lokasi Pengambilan Sampel Karang

masing- masing seri pada pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-3} dan dituang ke dalam cawan petri steril berisi media Zobell 2216E. Sampel diratakan menggunakan spreader kemudian di inkubasi pada suhu 30°C selama 2×24 jam. Beberapa petri berisi media agar steril disiapkan sebagai kontrol lingkungan yang berfungsi untuk membedakan apakah bakteri yang tumbuh merupakan bakteri asosiasi karang atau bakteri kontaminan (Sibero *et al.*, 2017). Koloni bakteri yang telah tumbuh kemudian diamati morfologi bentuk dan warna permukaan (Christopher dan Bruno, 2003; Kotwzan *et al.*, 2011; Leboffe dan Pierce, 2011). Setiap koloni yang memiliki bentuk dan warna permukaan berbeda, dipisahkan dengan *streak method* (metode goresan) ke cawan petri steril baru berisi Zobell 2216E untuk didapatkan isolat murni.

Skrining Uji Potensi Degradasi Plastik

Skrining potensi degradasi plastik dapat dilakukan dengan mendeteksi adanya enzim yang mampu memecah lipid (lipolitik). Polyesterase merupakan enzim lipolitik yang dapat diketahui dengan uji esterase non spesifik, yaitu dengan menggunakan substrat tributirin pada media agar. Skrining menggunakan tributirin sangat baik dalam mendeteksi aktivitas lipase, esterase, peptidase, dan fosfolipase karena merupakan substrat universal dengan trigliserida asam lemak rantai pendek (Molitor *et al.*, 2019). Skrining selanjutnya menggunakan substrat polycaprolactone sebagai penelusuran lebih lanjut mengenai enzim polyesterase, yaitu enzim untuk hidrolisis polyester (bahan utama pembuatan plastik) (Schwarz *et al.*, 2019; Molitor *et al.*, 2019).

Skrining Uji Substrat Tributyrin

Skrining uji substrat tributyrin dilakukan mangacu pada penelitian yang dilakukan Molitor *et al.* (2019), yaitu dengan mengemulsi 1% (v/v) tributyrin (Glyceryl tributyrate) dalam air suling steril dan ditambahkan 50 g/L gum arabic. Penggunaan gum arabic berfungsi sebagai reagen pengemulsi trigliserida. Homogenkan campuran kurang lebih selama 1 menit untuk menghasilkan emulsi yang stabil (Filloux dan Ramos, 2014).

Penjelasan mengenai langkah pembuatan, terdapat sedikit modifikasi dari jurnal Molitor *et al.* (2019), yaitu media cair Marine Zobell Broth 2216E dan gum arabic dihomogenkan dengan *magnetic stirrer hot plate*. Pada saat kondisi panas tributyrin (Glyceryl tributyrate) dituang dan agar dimasukkan sedikit demi sedikit hingga homogen,

kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf. Media dengan substrat tributyrin dituang ke dalam cawan petri steril dan didiamkan selama 15 menit sampai membentuk agar. Bakteri diinokulasi dalam cawan petri kemudian diinkubasi pada suhu optimal pertumbuhan organisme selama 16 jam. Zona bening diamati sebagai hasil positif setelah diinkubasi semalaman (*overnight*), untuk bakteri dengan ekspresi jumlah enzim yang sedikit atau kurang aktif, inkubasi selama 2 – 7 hari pada suhu 4°C .

Skrining Uji Substrat Polycaprolactone

Skrining uji dengan polycaprolactone adalah uji untuk mengetahui potensi adanya enzim poliesterase. Media uji dibuat dengan teknik pengendapan dan penguapan pelarut yang mengandung polycaprolactone, dimana metode ini diadopsi dari Jarrett *et al.* (1984) kemudian dimodifikasi oleh Molitor *et al.* (2019) dengan sedikit adanya penambahan. Tahapan yang dilakukan yaitu membuat campuran larutan emulsi 500 mg biji polycaprolactone dengan 10 ml acetone yang dipanaskan pada suhu 50°C sambil terus diaduk. Media sebagai nutrisi dibuat dengan mencampurkan 2 g Tryptone, 2 g NaCl, 0,5 g Yeast, 5 g Agar Bacteriological pada 200 ml air steril dan diautoklaf. Media nutrisi steril disaat masih hangat dicampurkan dengan larutan suspensi polycaprolactone hangat dan dituang sebanyak 4 ml dan diaduk merata. Media uji dituang kurang lebih 20 ml ke dalam cawan petri steril dan didiamkan hingga membentuk agar. Bakteri diinokulasi dalam media tersebut dan diinkubasi pada suhu optimal pertumbuhan organisme selama 16 jam atau semalaman. Zona bening diidentifikasi sebagai indikasi hasil positif. Apabila bakteri dengan ekspresi jumlah enzim sedikit atau kurang aktif dapat diinkubasi selama 2-7 hari pada suhu 4°C .

Identifikasi Molekuler

Tahapan identifikasi molekuler diawali dengan ekstraksi DNA menggunakan Zymo® DNA Extraction Kit untuk bakteri. Selanjutnya dilakukan amplifikasi DNA menggunakan Polymerase Chain Reaction (PCR), yaitu mesin *Thermo Cycler* yang berfungsi dalam merplikasi atau memperbanyak DNA. Proses amplifikasi merujuk pada jurnal dos Santos *et al.* (2019) dan Witzke *et al.* (2020), dengan sedikit modifikasi dalam langkah kerjanya. Komposisi campuran bahan yang digunakan dalam proses amplifikasi

DNA yaitu primer 27F (0,25 µl), primer 1492R (0,25 µl), ddH₂O atau aquabidest (11 µl), DNA template (1 µl), dan EconoTaq PLUS GREEN 2X Master Mix (12,5 µl) sehingga total volume 25 µl. Tabung Eppendorf PCR ditutup dan dihomogenkan sehingga reagen PCR dan DNA template tercampur. Penggunaan primer ini termasuk jenis primer universal (umum) yang digunakan untuk 16S rRNA yaitu (Forward) 27F (5'-AGAGTTTGTACMTGGCTCAG-3') dan (Reverse) 1492R (5'-TACGGYTACCTTGTACGACTT-3'). Poses amplifikasi dilakukan sebanyak 35 siklus dengan perlakuan temperatur proses pemisahan untai DNA ganda (*denaturation*) 94 °C selama 2 menit, penempelan primer (*annealing*) pada suhu 50,7 °C selama 30 detik, dan pemanjangan segmen DNA (*extention*) pada suhu 72°C selama 5 menit. Ekspektasi dari hasil amplifikasi penggunaan primer 27F dan 1492R adalah kurang lebih 1.400 bp.

Tahapan selanjutnya dilakukan visualisasi DNA melalui proses elektroforesis dan diamati hasil amplifikasinya di dalam UV Gel Documentation. Sampel hasil amplifikasi yang telah divisualisasi dan mendapatkan band/pita DNA yang jelas, kemudian dilakukan sekuensing dengan metode sanger (*Sanger dideoxy sequencing*) oleh di PT. Genetika Science.

Hasil sekuensing yang telah diperoleh dari PT. Genetika Science kemudian diidentifikasi dan dibandingkan dengan basis data/GenBank dalam *National Center for Biotechnology Information* (NCBI). Proses identifikasi menggunakan software MEGA X dan koneksi internet untuk mencari basis data dengan *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST) pada (www.ncbi.nlm.nih.gov). Hasil identifikasi diambil dengan nilai *identification* dan *query cover* (%) tertinggi yang ditampilkan oleh spesies pada database NCBI (Kumar *et al.*, 2018). Hasil BLAST selanjutnya diolah dan direkonstruksi dalam aplikasi MEGA X menjadi pohon filogenetik. Menurut Hosein *et al.* (2017), tingkat kemiripan sekuens dengan spesies dalam NCBI berkisar 98% - 100% dengan 97% - 100% *query coverage*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Bentuk *life form* karang yang diambil diantaranya *massive* (*Favia* sp.), *submassive* (*Favites* sp.), dan *branching* (*Acropora* sp.). Pengambilan sampel karang menimbang pada luasan polip pada tiap – tiap bentuk pertumbuhan. Isolat yang tumbuh dengan baik dari hasil *spread*

plate method, dihasilkan dari pengenceran 10⁻¹ dan 10⁻². Morfologi koloni bakteri diidentifikasi berdasarkan pada (Christopher dan Bruno, 2003; Kolwzan *et al.*, 2011; Leboffe dan Pierce, 2011). Hasil isolasi dan purifikasi bakteri yang dapat dikultur dari karang keras Pantai Kartini, Jepara didapatkan sebanyak 37 isolat. Kelimpahan bakteri asosiasi yang didapat pada tiap jenis *life form* karang dapat dilihat pada Tabel 1.

Uji dilakukan menggunakan substrat tributyrin terhadap total 37 isolat bakteri. Penggunaan tributyrin dikarenakan merupakan substrat universal dengan trigliserida asam lemak rantai pendek aktivitas lipase dan esterase (Litthauer *et al.*, 2010; Carrazco-Palafox *et al.*, 2018; Molitor *et al.*, 2019). Hasil isolat bakteri aktif ditandai dengan adanya zona hambat berupa warna bening disekeliling bakteri yang berjumlah delapan isolat bakteri. Bakteri aktif tersebut menunjukkan indikator positif adanya zona bening. Koloni bakteri memberikan respon adanya zona bening pada media tributyrin, diduga bakteri tersebut menghasilkan enzim lipolitik yang mampu menghidrolisis rantai pendek asam lemak trigliserida (Salwoom *et al.*, 2019). Menurut Kaushal, Khatri dan Arya (2021), studi menunjukkan enzim pendegradasi plastik umumnya dilakukan oleh esterase, cutinase, lipase. Semua enzim ini bekerja pada polimer plastik dengan cara memotong rantai karbon secara hidrolisis menjadi subunit yang lebih kecil. Hal ini menunjukkan skrining awal kedelapan isolat bakteri tersebut berpotensi mendegradasi mikroplastik.

Hasil isolat aktif dari skrining tributyrin, dilakukan konfirmasi dengan uji skrining substrat polycaprolactone (PCL). Dimana biji PCL merupakan poliester alifatik yang digunakan dalam proses campuran pembuatan plastik PET (*Polietilena tereftalat*) (Schwarz *et al.*, 2019). Satu isolat bakteri dari total delapan bakteri yang aktif pada skrining tributyrin, menunjukkan adanya zona hambat pada substrat polycaprolactone. Aktivitas pertumbuhan bakteri yang di inkubasi pada inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam dan pada suhu 4°C selama 144 jam (6 hari). Isolat bakteri kode PK-KM-1.1 menunjukkan adanya zona bening setelah 24 jam. Zona bening meningkat seiring bertambahnya waktu inkubasi, yang dapat dilihat pada Gambar 2.

Menurut Molitor *et al.* (2019), zona bening terbentuk karena koloni bakteri tersebut diduga memproduksi enzim polyesterase. Hal ini

didukung dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Suzuki *et al.* (2021), dimana enzim yang digunakan dalam melarutkan PCL kemudian digunakan sebagai sumber karbon, sehingga memungkinkan timbulnya siklus karbon yang dapat mendegradasi bahan plastik.

Sampel bakteri asosiasi karang yang mampu menghasilkan zona bening pada media PCL didapat dari karang dengan bentuk pertumbuhan massive. Hal ini didukung dengan penelitian yang dilakukan oleh Liang *et al.* (2017), dimana diversitas bakteri asosiasi karang massive lebih tinggi. Menurut Ochsenkühn *et al.* (2018), perbedaan populasi mikroba pada setiap karang disebabkan oleh dinamika fluida yang berbeda akibat dari struktur pertumbuhan karang. Kondisi karang yang menetap seperti karang massive, mengakibatkan mikrobion karang harus dapat lebih tahan terhadap stres dari lingkungan.

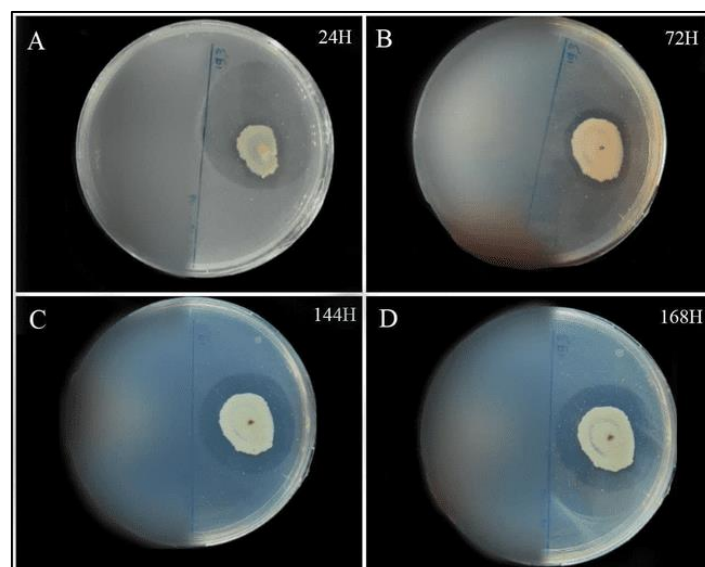
Hasil amplifikasi sampel bakteri 16S rDNA PK-KM-1.1 menunjukkan bahwa isolat memiliki *single band*. *UV Gel Documentation* menampilkan hasil amplifikasi PCR berupa 16S rRNA yang ditunjukkan adanya *single band* dengan panjang

urutan gen 1439 bp (*base pair*/pasang basa). Hasil yang diperoleh yaitu isolat PK-KM-1.1 menunjukkan 99,72% tingkat kekerabatan yang sangat dekat dengan *Bacillus aerius* (Acc Number NR 118439.1). Hasil pengolahan data dari urutan basa nitrogen menunjukkan adanya pengelompokan (*clustering*) kekerabatan yang ditampilkan dalam bagan pohon filogenetik. Isolat bakteri kode PK-KM-1.1 menunjukkan memiliki kemiripan dengan spesies *Bacillus aerius*, seperti yang terlihat pada Gambar 3.

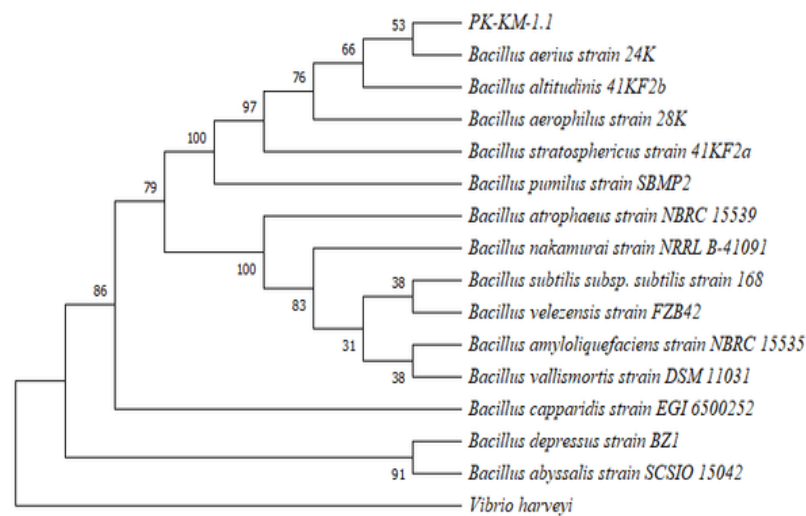
Pada jurnal Suzuki *et al.* (2021), juga memberikan referensi jika PCL dapat didegradasi oleh berbagai mikroba laut, salah satunya dari genus *Bacillus* dengan memproduksi cutinase yaitu enzim hidrolitik. Menurut Liu *et al.* (2019), mikroorganisme pendegradasi PCL mensekresikan enzim ekstraseluler PCL hidrolase yang mendegradasi makro molekul menjadi molekul yang lebih kecil, kemudian diserap kedalam sel dan dikeluarkan menjadi senyawa yang tidak membahayakan terhadap lingkungan. Berdasarkan pernyataan tersebut bahwa bakteri *Bacillus aerius* memiliki kesamaan dengan isolat PK-KM-1.1.

Tabel 1. Kelimpahan Bakteri Asosiasi Karang di Tiap Jenis Pertumbuhan Karang

Sampel	Karang <i>Submassive</i>	Karang <i>Massive</i>	Karang <i>Branching</i>	TOTAL
Kelimpahan	12	8	17	37



Gambar 2. Pengamatan zona bening bakteri PK-KM-1.1 pada substrat *polycaprolactone*. (A) Pengamatan setelah 24 jam inkubasi suhu 37°C, (B) Pengamatan setelah 72 jam inkubasi suhu 4°C, (C) Pengamatan setelah 144 jam inkubasi suhu 4°C, (D) Pengamatan setelah 168 jam inkubasi suhu 4°C.



Gambar 3. Pohon Filogenetik Isolat bakteri PK-KM-1.1

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa terdapat isolat bakteri asosiasi karang *scleractinian* massive dengan kode PK-KM-1.1 yang memiliki kemiripan dengan *Bacillus aerius* berpotensi sebagai biodegradasi terhadap mikroplastik polycaprolactone dan dapat dijadikan sebagai sumber inang di dalam eksplorasi bakteri pendegradasi mikroplastik.

DAFTAR PUSTAKA

- Auta, H.S., Emenike, C.U., & Fauziah, S.H. 2017. Distribution and importance of microplastics in the marine environmentA review of the sources, fate, effects, and potential solutions. *Environment International*, 102: 165–176. doi: 10.1016/j.envint.2017.02.013
- Axworthy, J.B., & Padilla-Gamiño, J.L. 2019. Microplastics ingestion and heterotrophy in thermally stressed corals. *Scientific Reports*, 9(1): p.18193. doi: 10.1038/s41598-019-54698-7
- Brüggemann, J., & Bizer, K. 2015. Laboratory experiments in innovation research: a methodological overview and a review of the current literature. *Journal of Innovation and Entrepreneurship*, 5(1):1-13. doi: 10.1186/s13731-016-0053-9
- Carrasco-Palafox, J., Rivera-Chavira, B. E., Ramírez-Baca, N., Manzanares-Papayanopoulos, L.I., & Nevárez-Moorillón, G.V. 2018. Improved method for qualitative screening of lipolytic bacterial strains. *MethodsX*, 5: 68–74. doi: 10.1016/j.mex.2018.01.004
- Christopher, K., & Bruno, E. 2003. *Identification of Bacterial Species* (M.A. O'Donnell (ed.); Chapter 8). Department of Biological Sciences University of Alberta.
- Connors, E.J. 2017. Distribution and biological implications of plastic pollution on the fringing reef of Mo'orea, French Polynesia. *PeerJ*, 5: e3733. doi: 10.7717/peerj.3733
- Corona, E., Martin, C., Marasco, R., & Duarte, C. M. 2020. Passive and Active Removal of Marine Microplastics by a Mushroom Coral (*Danafungia scruposa*). *Frontiers in Marine Science*, 7: 1–9. doi: 10.3389/fmars.2020.00128
- Cózar, A., Echevarría, F., González-Gordillo, J. I., Irigoien, X., Úbeda, B., Hernández-León, S., Palma, Á.T., Navarro, S., García-de-Lomas, J., Ruiz, A., Fernández-de-Puelles, M.L., & Duarte, C.M. 2014. Plastic debris in the open ocean. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(28): 10239–10244. doi: 10.1073/pnas.1314705111
- DeVantier, L., & Turak, E. 2017. Species richness and relative abundance of reef-building corals in the Indo-West Pacific. *Diversity*, 9(3):p.25. doi: 10.3390/d9030025
- dos Santos, H.R.M., Argolo, C.S., Argolo-Filho, R. C., & Loguercio, L.L. 2019. A 16S rDNA PCR-based theoretical to actual delta

- approach on culturable mock communities revealed severe losses of diversity information. *BMC Microbiology*, 74(19): 1–14.
- EFSA (COTAM). 2016. Presence of microplastics and nanoplastics in food, with particular focus on seafood. *EFSA Journal*, 14(6): p.e04501. doi: 10.2903/j.efsa.2016.4501
- Eriksen, M., Lebreton, L.C.M., Carson, H.S., Thiel, M., Moore, C.J., Borerro, J.C., Galgani, F., Ryan, P.G., & Reisser, J. 2014. Plastic Pollution in the World's Oceans: More than 5 Trillion Plastic Pieces Weighing over 250,000 Tons Afloat at Sea. *PLoS ONE*, 9(12): 1–15. doi: 10.1371/journal.pone.0111913
- Filloux, A., & Ramos, J.L. 2014. Preface. *Pseudomonas methods and protocols. Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, Vol. 1149. doi: 10.1007/978-1-4939-0473-0
- Green, D.S. 2016. Effects of microplastics on European flat oysters, *Ostrea edulis* and their associated benthic communities. *Environmental Pollution*, 216: 95–103. doi: 10.1016/j.envpol.2016.05.043
- Hall, N.M., Berry, K.L.E., Rintoul, L., & Hoogenboom, M.O. 2015. Microplastic ingestion by scleractinian corals. *Marine Biology*, 162(3):725–732. doi: 10.1007/s00227-015-2619-7
- Hartmann, N.B., Hüffer, T., Thompson, R.C., Hassellöv, M., Verschoor, A., Dagaard, A. E., Rist, S., Karlsson, T., Brennholt, N., Cole, M., Herrling, M. P., Hess, M.C., Ivleva, N.P., Lusher, A.L., & Wagner, M. 2019. Are We Speaking the Same Language? Recommendations for a Definition and Categorization Framework for Plastic Debris. *Environmental Science and Technology*, 53(3): 1039–1047. doi: 10.1021/acs.est.8b05297
- Hosein, F.N., Austin, N., Maharaj, S., Johnson, W., Rostant, L., Ramdass, A.C., & Rampersad, S. N. 2017. Utility of DNA barcoding to identify rare endemic vascular plant species in Trinidad. *Ecology and Evolution*, 7(18): 7311–7333. doi: 10.1002/ece3.3220
- Jarrett, P., Benedict, C.V., Bell, J.P., Cameron, J.A. & Huang, S.J. 1984. Mechanism of the Biodegradation of Polycaprolactone. pp. 181–192. Plenum Press, New York 1984. doi: 10.1007/978-1-4613-2433-1
- Kaushal, J., Khatri, M., & Arya, S. K. 2021. Recent insight into enzymatic degradation of plastics prevalent in the environment: A mini - review. *Cleaner Engineering and Technology*, 2: p.100083. doi: 10.1016/j.clet.2021.100083
- Kirstein, I.V., Wichels, A., Gullans, E., Krohne, G., & Gerdt, G. 2019. The plastisphere – Uncovering tightly attached plastic “specific” microorganisms. *PLoS ONE*, 14(4): 1–17. doi: 10.1371/journal.pone.0215859
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., & Tamura, K. 2018. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6): 1547–1549. doi: 10.1093/molbev/msy096
- Lamb, J.B., Willis, B.L., Fiorenza, E.A., Couch, C. S., Howard, R., Rader, D.N., True, J.D., Lisa, A.K., Ahmad, A., Jompa, J., & Harvell, C.D. 2018. Commentary: Plastic waste associated with disease on coral reefs. *Frontiers in Marine Science*, 5: 26–29. doi: 10.3389/fmars.2018.00237
- Leboffe, M.J., & Pierce, B.E. 2011. A Photographic Atlas for the Microbiology laboratory. In David Ferguson (Ed.), *Englewood, Colo* (4th editio). Morton Publishing Company. doi: 10.2174/187152008785133128
- Liang, J., Yu, K., Wang, Y., Huang, X., Huang, W., Qin, Z., Pan, Z., Yao, Q., Wang, W., & Wu, Z. 2017. Distinct bacterial communities associated with massive and branching scleractinian corals and potential linkages to coral susceptibility to thermal or cold stress. *Frontiers in Microbiology*, 8: 1–10. doi: 10.3389/fmicb.2017.00979
- Litthauer, D., Abbai, N.S., Piater, L.A., & van Heerden, E. 2010. Pitfalls using tributyrin agar screening to detect lipolytic activity in metagenomic studies. *African Journal of Biotechnology*, 9(27): 4282–4285. doi: 10.4314/ajb.v9i27.
- Liu, X., Hille, P., Zheng, M., Gao, P., Shang, K., Wei, R., Liu, T., & Qu, L. 2019. Diversity of polyester degrading bacteria in surface sediments from Yangtze River Estuary. *AIP Conference Proceedings*, 2122: 1–7. doi: 10.1063/1.5116502
- Mattsson, K., Hansson, L. A., & Cedervall, T. 2015. Nano-plastics in the aquatic environment. *Environmental Sciences: Processes and Impacts*, 17(10): 1712–1721. doi: 10.1039/c5em00227c
- Molitor, R., Bollinger, A., Kubicki, S., Loeschke, A., Jaeger, K. E., & Thies, S. 2019. Agar plate-based screening methods for the identification of polyester hydrolysis by *Pseudomonas* species. *Microbial Biotechnology*, 13(1): 274–284. doi: 10.1111/1751-7915.13418

- Montazer, Z., Najafi, M.B.H., & Levin, D.B. 2020. Challenges with verifying microbial degradation of polyethylene. *Polymers*, 12(1): p.123. doi: 10.3390/polym12010123
- Moran, P. J., & De'Ath, G. 1992. Suitability of the manta tow technique for estimating relative and absolute abundances of crown-of-thorns starfish (*Acanthaster planci* L.) and corals. *Marine and Freshwater Research*, 43(2): 357–378. doi: 10.1071/MF9920357
- Muchlissin, S.I., Widyananto, P.A., Sabdono, A., Karna, O., Kelautan, I., Perikanan, F., Diponegoro, U., Kelautan, I., Perikanan, F., Diponegoro, U., Soedarto, J.P.H., & Tengah, S.J. 2021. Kelimpahan Mikroplastik Pada Sedimen Ekosistem Terumbu di Taman Nasional Laut Karimunjawa. *Jurnal Kelautan Tropis*, 24(1): 1–6.
- Ochsenkühn, M.A., Schmitt-Kopplin, P., Harir, M., & Amin, S. A. 2018. Coral metabolite gradients affect microbial community structures and act as a disease cue. *Communications Biology*, 1(1): p.184 doi: 10.1038/s42003-018-0189-1
- Phelan, A.A., Ross, H., Setianto, N.A., Fielding, K., & Pradipta, L. 2020. Ocean plastic crisis—Mental models of plastic pollution from remote Indonesian coastal communities. *PLoS ONE*, 15: 1–29. doi: 10.1371/journal.pone.0236149
- Plastics Europe, 2019. *Plastics - the Facts 2019*. pp.14-35. PlasticsEurope AISBL. Rue Belliard 40, box 16. 1040 Brussels – Belgium.
- Prasetia, I. N. D., Supriharyono, Anggoro, S., & Sya'Rani, L. 2018. Identification of coral recruitment in Lembongan Island, Nusa Penida, Bali. *Journal of Physics: Conference Series*, 1040(1): p.012011. doi: 10.1088/1742-6596/1040/1/012011
- Reichert, J., Schellenberg, J., Schubert, P., & Wilke, T. 2018. Responses of reef building corals to microplastic exposure. *Environmental Pollution*, 237: 955–960. doi: 10.1016/j.envpol.2017.11.006
- Salwom, L., Rahman, R.N.Z.R.A., Salleh, A.B., Shariff, F.M., Convey, P., Pearce, D., & Ali, M.S.M. 2019. Isolation, characterisation, and lipase production of a cold-adapted bacterial strain *Pseudomonas* sp. LSK25 isolated from Signy Island, Antarctica. *Molecules*, 24(4): 1–14. doi: 10.3390/molecules24040715
- Sanders, E.R. 2012. Aseptic laboratory techniques: Plating methods. *Journal of Visualized Experiments*, 63: 1–18. doi: 10.3791/3064
- Santana, M.F.M., Ascer, L.G., Custódio, M.R., Moreira, F.T., & Turra, A. 2016. Microplastic contamination in natural mussel beds from a Brazilian urbanized coastal region: Rapid evaluation through bioassessment. *Marine Pollution Bulletin*, 106(1–2): 183–189. doi: 10.1016/j.marpolbul.2016.02.074
- Schwarz, A.E., Ligthart, T.N., Boukris, E., & van Harmelen, T. 2019. Sources, transport, and accumulation of different types of plastic litter in aquatic environments: A review study. *Marine Pollution Bulletin*, 143:92–100. doi: 10.1016/j.marpolbul.2019.04.029
- Sibero, M.T., Sabdaningsih, A., Cristianawati, O., Nuryadi, H., Radjasa, O.K., Sabdono, A., & Trianto, A. 2017. Isolation, Identification and Screening Antibacterial Activity from Marine Sponge-Associated Fungi Against Multidrug-Resistant (MDR) *Escherichia coli*. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 55(1): p.012028. doi: 10.1088/1755-1315/55/1/012028
- Suaria, G., Avio, C.G., Mineo, A., Lattin, G.L., Magaldi, M.G., Belmonte, G., Moore, C.J., Regoli, F., & Aliani, S. 2016. The Mediterranean Plastic Soup: Synthetic polymers in Mediterranean surface waters. *Scientific Reports*, 6: 1–10. doi: 10.1038/srep37551
- Suryono, S., Munasik, M., Ario, R. & Handoyo, G. 2017. Inventarisasi Bio-Ekologi Terumbu Karang Di Pulau Panjang, Kabupaten Jepara, Jawa Tengah. *Jurnal Kelautan Tropis*, 20(1): 60–64.
- Suzuki, M., Tachibana, Y., & Kasuya, K. ichi. 2021. Biodegradability of poly(3-hydroxyalkanoate) and poly(ε-caprolactone) via biological carbon cycles in marine environments. *Polymer Journal*, 53(1):47–66. doi: 10.1038/s41428-020-00396-5
- Turner, D.P. 2020. Sampling Methods in Research Design. *Headache*, 60(1): 8–12. doi: 10.1111/head.13707
- Wright, S.L., Rowe, D., Thompson, R.C., & Galloway, T.S. 2013. Microplastic ingestion decreases energy reserves in marine worms. *Current Biology*, 23(23): R1031–R1033. doi: 10.1016/j.cub.2013.10.068
- Yuan, J., Ma, J., Sun, Y., Zhou, T., Zhao, Y., & Yu, F. 2020. Microbial degradation and other environmental aspects of microplastics/plastics. *Science of the Total Environment*, 715: p.136968. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.136968