

ANTIBACTERIAL AND BIODEGRADATION NATURE TEST OF EDTA-Ag IMMOBILIZED SILICA COMPOSITE PLASTICS AND CHITOSAN

Hermania Em Wogo*, Martha C. W. Ndoen, Pius Dore Ola
Jurusan Kimia FST Undana, Jl. Adi Sucipto Penfui Kupang Indonesia

Article Received: 20 August 2019

Article Accepted: 10 October 2019

Abstract

It has been conducted a research, which it aims to know the antibacterial and biodegradation nature of EDTA-Ag and chitosan immobilized silica composite plastics. Silica used was from rice hull processing products. Chitosan used was 0.3 and 0.7 g. Antibacterial assay was conducted over *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria. The result obtained showed that the biggest inhibitory is at variation of chitosan 0.7 g, which over *Staphylococcus aureus* bacteria is 15.6 mm and *Escherichia coli* bacteria is 16,7 mm. While, in biodegradation assay, the highest degradation percentage is at chitosan variation 0.3 g, namely 32.17%.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, biodegradation, antibacteria

Abstrak

Telah dilakukan penelitian dengan tujuan untuk mengetahui sifat antibakteri dan biodegradasi dari plastik komposit silika terimobilisasi EDTA-Ag dan kitosan. Silika yang digunakan berasal dari hasil pengolahan sekam padi. Kitosan yang digunakan adalah sebesar 0,3 dan 0,7 gram. Pengujian antibakteri dilakukan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Hasil yang diperoleh menunjukkan daya hambat terbesar adalah pada variasi kitosan 0,7 gram dimana pada bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 15,6 mm dan bakteri *Escherichia coli* sebesar 16,7 mm. Sedangkan pada uji biodegradasi, persen degradasi tertinggi adalah pada variasi kitosan 0,3 gram yaitu 32,17%.

Kata Kunci: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, biodegradasi, antibakteri

Pendahuluan

Plastik memiliki peranan penting dalam kebutuhan sehari-hari dan terus mengalami peningkatan dalam penggunaannya. Plastik yang digunakan saat ini merupakan plastik yang terbuat dari minyak bumi sehingga sulit terdegradasi di lingkungan dan memiliki pengaruh terhadap kesehatan manusia. Hal ini menyebabkan bertambahnya persoalan lingkungan dan kesehatan. Oleh karena itu, dikembangkan plastik berbahan dasar polimer alami yang dapat terdegradasi di lingkungan dan juga memiliki sifat antibakteri.

Abu sekam padi mengandung silika yang dapat dimanfaatkan menjadi natrium silikat (Na_2SiO_3) yang kemudian dapat disintesis menjadi silika gel. Silika gel dapat digunakan sebagai bahan antibakteri yang dimodifikasi dengan menggunakan logam yang mempunyai sifat bakterisida. Menurut Gazra dkk (2000), logam berat yang memiliki sifat bakterisida adalah Cu, Ag, Zr dan Hg. Selain itu, terdapat juga kitosan yang dapat digunakan sebagai agen antibakteri¹.

Kitosan merupakan agen antibakteri yang dapat digunakan sebagai bahan baku dalam pembuatan plastik², karena kitosan memiliki gugus fungsional amina ($-\text{NH}_2$) yang bermuatan positif, sehingga mampu menarik molekul asam amino bermuatan negatif pembentuk protein dalam mikroba. Kitosan bersifat tahan air, tidak beracun dan terbukti dapat menghambat pertumbuhan jamur, bakteri dan kapang sehingga berfungsi sebagai pengawet³. Oleh karena itu, pada penelitian ini disintesis plastik antibakteri dari komposit silika gel terimobilisasi EDTA-Ag dan kitosan yang juga diharapkan dapat terdegradasi dilingkungan.

Hasil dan Pembahasan

Preparasi Abu Sekam Padi

Sekam padi yang digunakan berasal dari Noelbaki, Kupang Tengah, Nusa Tenggara Timur. Tujuan pengarangan adalah menguraikan senyawa-senyawa organik seperti selulosa dan lignin menjadi uap air, karbon dan juga karbon dioksida sehingga menurunkan temperatur dan mempercepat proses pengabuan. Pengarangan yang dilakukan mengakibatkan terjadi perubahan warna sekam padi menjadi hitam yang menunjukkan bahwa senyawa-senyawa organik tersebut belum teroksidasi sempurna walau telah terdekomposisi. Dilakukan pengarangan sebelum diabukan sehingga panas reaksi yang diperlukan lebih rendah. Sekam padi hasil pengarangan ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Sekam padi hasil pengarangan

Selanjutnya dilakukan pengabuan dengan ditanur. Tujuan pentanuran adalah untuk menghilangkan sisa komponen organik dan mengoksidasi secara sempurna semua karbon menjadi CO_2 , hidrogen menjadi H_2O dan silika menjadi SiO_2 . Pengabuan dilakukan pada suhu 700°C untuk menghasilkan silika yang berstruktur amorf. Silika yang berstruktur amorf mempunyai sifat yang tidak stabil sehingga mudah dilebur dan bereaksi. Apabila pengabuan

dilakukan pada temperatur di bawah 700°C maka kadar silika yang dihasilkan akan lebih rendah, sebaliknya apabila pengabuan dilakukan pada temperatur di atas 700°C maka akan menghasilkan silika berstruktur kristal yang bersifat stabil sehingga sangat sukar dilebur dan bereaksi⁴. Abu hasil pentanuran berwarna putih menunjukkan adanya kandungan silika yang tinggi dan berstruktur amorf⁵. Abu sekam padi hasil pengabuan ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Abu sekam padi hasil pengabuan

Kemudian abu sekam dimurnikan menggunakan larutan HCl dan dibilas kembali dengan akuades sampai pH netral. Tujuan pemurnian menggunakan larutan HCl (kondisi asam) adalah untuk menghilangkan oksida-oksida logam on logam yang merupakan pengotor dalam abu sekam padi seperti Na₂O, K₂O, MgO, CaO, P₂O₅ dan Fe₂O₃⁶. Proses pemurnian silika menggunakan asam klorida ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Pemurnian silika menggunakan HCl

Pembilasan menggunakan akuades sampai pH netral dilakukan untuk menghilangkan ion Cl⁻ karena ion H⁺ akan membentuk ikatan dengan molekul H₂O membentuk ion hidronium (H₃O⁺) yang akan mengikat ion Cl⁻ tersebut⁷. Rendemen silika dalam abu sekam padi diperoleh sebesar 468,04 gram dengan kadar silika sebesar 93,608%. Silika hasil. Pemurnian ditunjukkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Silika hasil pemurnian

Pembuatan Larutan Natrium Silikat

Alasan dilakukan pendidihan terlebih dahulu dikarenakan silika hanya dapat dilebur dengan memanfaatkan kelarutannya yang sangat besar pada $\text{pH} \geq 10$ sehingga dapat mempermudah proses peleburan⁴. Hasil peleburan berupa padatan berwarna putih keabuan dengan tekstur berongga-rongga seperti pada Gambar 5. Larutan hasil penyaringan merupakan larutan natrium silikat (Gambar 6). Indikator awal terbentuknya larutan natrium silikat yaitu akan terasa licin jika larutan mengenai permukaan kulit⁸.



Gambar 5. Silika hasil peleburan

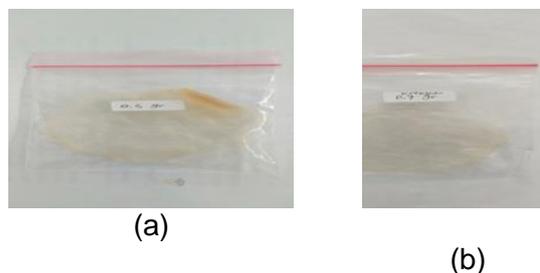


Gambar 6. Larutan natrium silikat

Pembuatan Plastik Antibakteri

Pada pembuatan plastik antibakteri digunakan silika gel terimobilisasi EDTA-Ag dan kitosan dengan variasi 0,3 dan 0,7 gram yang kitosan dilarutkan dalam asam asetat 1% yang disertai pengadukan selama 24 jam. Alasan digunakan asam asetat sebagai pelarut karena kitosan bersifat basa dan kebanyakan larut pada asam organik atau mineral encer melalui protonasi gugus amino bebas pada $\text{pH} < 6,5$. Asam asetat cair memiliki konstanta dielektrik yang kecil sehingga lebih cenderung membentuk pasangan ion dan lebih sering digunakan dalam membentuk senyawa kompleks dan bersifat protik hidrofilik yaitu senyawa asam yang menukarkan sebuah proton (bersifat asam) dan hidrofilik karena larut dalam air. Tujuan dilakukan pengadukan selama 24 jam agar kitosan dapat larut secara sempurna dalam larutan asam asetat sehingga mudah bereaksi dengan bahan lainnya. Kemudian ditambahkan silika gel terimobilisasi EDTA-Ag dengan volume natrium silikat 30 mL karena memiliki luas permukaan yang lebih besar daripada variasi volume natrium silikat 10 dan 50 mL.

Campuran larutan tersebut kemudian disaring dan dicetak dalam cawan petri. Tujuan dilakukan penyaringan adalah untuk memisahkan larutan dari endapan sampel yang mungkin tidak larut sempurna. Selanjutnya larutan dikeringkan pada suhu 65°C selama 7 jam. Tujuan dilakukan pengeringan adalah agar larutan dapat membentuk plastik. Kemudian plastik yang terbentuk dilepaskan dari cawan petri dengan menggunakan NaOH 3 M dan dicuci dengan menggunakan akuades yang dilakukan berulang-ulang hingga netral ($\text{pH}=7$). Kemudian plastik dikeringkan kembali pada suhu kamar. Hal ini dimaksudkan agar tidak merusak struktur plastik yang dihasilkan. Plastik yang terbentuk seperti pada Gambar 11(a) dan (b).



Gambar 11. Plastik dengan variasi kitosan (a) 0,3 gram dan (b) 0,7 gram

Pengujian Sampel Plastik

Uji biodegradasi

Tujuan dilakukan uji biodegradasi adalah untuk mengetahui suatu bahan dapat terdegradasi dengan baik atau tidak dilingkungan. Sampel plastik ditanam di dalam tanah yang tidak jauh dari tempat pembuangan sampah dengan kedalaman tanah 5 cm, 10 cm dan disimpan dipermukaan tanah. Penanaman dilakukan selama 21 hari (3 minggu). Data uji biodegradasi ditunjukkan pada Tabel 1, 2 dan 3.

Tabel 1. Data Uji Biodegradasi Plastik pada Permukaan Tanah

JenisSampel	W1, (g)	W2, (g)	Degradasi (%)
A	0,0703	0,0687	2,276
B	0,0414	0,0405	2,174

Tabel2. Data Uji Biodegradasi Plastik pada Kedalaman Tanah 5 cm

JenisSampel	W1, (g)	W2, (g)	Degradasi (%)
A	0,0411	0,0389	5,353
B	0,0463	0,0455	1,728

Tabel 3. Data Uji Biodegradasi Plastik pada Kedalaman Tanah 10 cm

JenisSampel	W1, (g)	W2, (g)	Degradasi (%)
A	0,0230	0,0156	32,174
B	0,0478	0,0415	13,179

Keterangan: Sampel A adalah plastik dengan variasi kitosan 0,3 gram dan sampel B adalah plastik dengan variasi kitosan 0,7 gram.

Berdasarkan data pada Tabel 1, 2 dan 3 dapat dijelaskan bahwa semakin tinggi kadar kitosan maka semakin lambat degradasinya, hal ini disebabkan karena kitosan memiliki sifat sukar larut dalam air (hidrofobik) yang terkandung didalam tanah. Penyebab lainnya yaitu karena kitosan memiliki sifat antibakteri sehingga semakin besar konsentrasi kitosan maka ketahanannya terhadap bakteri semakin besar juga¹². Semakin besar kedalaman tanah maka persen degradasinya juga semakin besar. Hal ini kemungkinan disebabkan karena semakin dalam tanah maka ketersediaan oksigen menurun sehingga memudahkan mikroorganisme untuk beradaptasi.

Uji antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Alasan dilakukan uji antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* karena telah mewakili bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Sel gram positif mempunyai dinding sel dengan lapisan peptidoglikan yang tebal¹³. Bakteri gram negatif memiliki peptidoglikan yang lebih tipis daripada bakteri gram positif (Sunatmo, 2007). Data besar daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dari sampel plastik dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Data besar daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dari sampel plastik.

Jenis Bakteri	Besar Daya Hambat (nm)			
	Jenis Sampel			
	A	B	Positif (Tetrasiklin kontrol)	Negatif (Akuades)
<i>Staphylococcus aureus</i>	13	15,6	20,7	0
<i>Escherichia coli</i>	4,4	16,7	20	0

Berdasarkan data pada Tabel 4 dapat dijelaskan bahwa daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* lebih kecil daripada daya hambat terhadap bakteri *Escherichia coli*. Hal ini dikarenakan adanya perbedaan struktur dinding sel kedua jenis bakteri tersebut. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif. Bakteri gram positif memiliki tiga lapisan peptidoglikan yang terdiri dari fosfolipid, protein dan lipopolisakarida dengan kandungan lipid sebesar 11-22%¹⁴. Dinding sel bakteri gram positif tersusun atas lapisan peptidoglikan yang membentuk struktur yang tebal dan kaku, dikelilingi lapisan asam teikoat dan pada beberapa spesies mempunyai lapisan polisakarida. Sedangkan *Escherichia coli* termasuk bakteri gram negatif. Bakteri gram negatif hanya terdiri dari dua lapisan yaitu lipopolisakarida dan protein dengan kandungan lipid sebesar 1-4%. Dinding sel bakteri gram negatif terdiri atas satu atau lebih lapisan peptidoglikan yang tipis dan membran dibagian luar lapisan peptidoglikan. Karena hanya mengandung sedikit lapisan peptidoglikan dan tidak mengandung asam teikoat, maka dinding sel bakteri gram negatif lebih rentan terhadap pengaruh fisik, seperti pemberian antibiotik dan bahan antibakteri lainnya.

Efek antibakteri kitosan berasal dari gugus amina bebas ($-NH_2$) kitosan terprotonasi menjadi gugus amina kationik ($-NH_3^+$) sehingga dapat berinteraksi dengan permukaan sel bakteri yang bermuatan negatif. Interaksi elektromagnetik antara kitosan dan dinding sel bakteri, diakibatkan karena dinding sel bakteri tersusun atas protein, lipopolisakarida atau peptidoglikan serta asam teikoat yang mengandung alkohol dan fosfat. Adanya interaksi

elektromagnetik ini mengakibatkan kerusakan pada dinding sel, pelemahan kekuatan dinding sel, bentuk dinding sel menjadi abnormal dan pori-pori dinding sel membesar. Akibat kerusakan dinding sel proses pertukaran zat-zat dari luar dan ke dalam sel menjadi terganggu, membran sel menjadi rusak dan mengalami lisis sehingga aktivitas metabolisme akan terhambat dan pada akhirnya mengalami kematian⁹. Oleh karena itu, berdasarkan data yang dihasilkan dapat dijelaskan bahwa semakin besar konsentrasi kitosan maka semakin besar daya hambat terhadap bakteri. Hal ini kemungkinan dikarenakan semakin banyak gugus amina bebas ($-NH_2$) kitosan terprotonasi menjadi gugus amina kationik ($-NH_3^+$) sehingga dapat berinteraksi dengan permukaan sel bakteri yang bermuatan negatif.

Efek antibakteri dari logam Ag yang memiliki afinitas yang tinggi, menyebabkan kerusakan pada dinding bakteri melalui interaksi partikel Ag dengan fosfor dan sulfur yang terkandung pada DNA yang menyebabkan DNA akan kehilangan kemampuan replikasi dan mencegah pembelahan serta pertumbuhan sel. Kemampuan penghambatan pertumbuhan bakteri pada plastik komposit tersebut diakibatkan oleh pembentukan kompleks oleh ion logam Ag dan kitosan. Adanya interaksi kitosan dengan ion logam Ag diperankan oleh atom N dari gugus amina ($-NH_2$) dan atom O dari gugus hidroksi ($-OH$) yang merupakan situs aktif pada kitosan¹⁰.

Reaksi pembentukan kompleks antara kitosan dan ion logam Ag terjadi melalui ikatan kovalen koordinasi oleh atom N dari gugus NH_2 kitosan dan gugus $-OH$ dari kitosan yang juga berperan dalam interaksi dengan ion logam kepadatan muatan positif dari kitosan. Setelah terbentuk kompleks, kepadatan muatan positif dari kitosan akan meningkat sehingga menyebabkan daya tarik antara permukaan sel bakteri semakin tinggi. Sementara itu, reaksi kelat yang dibentuk oleh kitosan dan ion logam akan berinteraksi dengan permukaan sel luar bakteri seperti protein, fosfolipid, asam lemak, sehingga menyebabkan membran sitoplasma terganggu. Hal ini berdampak pada terganggunya aktivitas metabolisme dan pertumbuhan sel bakteri¹⁰.

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan, bahwa daya hambat terbesar adalah pada variasi kitosan 0,7 gram dimana pada bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 15,6 mm dan bakteri *Escherichia coli* sebesar 16,7 mm. Sedangkan pada uji biodegradasi, persen degradasi tertinggi adalah pada variasi kitosan 0,3 gram yaitu 32,17%.

Daftar Pustaka

1. Gazra, R.M, Olguin, M.T, Garcia, S. Alcantara, O, dan Rodriguez F.G., 2000, Silver Suported on Natural Mexican Zeolite As an Antibacterial, *J. Micro and Mesap, Mater*, 39, 431-444.
2. Hyung, J.J., Sung C.Y., Seong, G.O., 2003, Preparation and Antibacterial Effect of Ag-SiO₂ Thin Films by Sol-Gel Method, *Biomaterials*, 24, 4921-4928.
3. Prasetyo, K.W., 2004, Pemanfaatan Limbah Cangkang Udang sebagai Bahan Pengawet Kayu Ramah Lingkungan. S Hut *UPT Balitbang Biomaterial LII Cibinong*, Bogor.
4. Nuryono, 2004, *Pengaruh Konsentrasi NaOH pada Destruksi Silika Abu Sekam Padi Cara Basah*, Prosiding Seminar Nasional MIPA diselenggarakan oleh FMIPA UNDIP, 4 Desember 2004.
5. Bolle, T.C.M., 2010, *Sintesis Silika Gel Terimobilisasi Dithizon dari Abu Sekam Padi*, Skripsi, Jurusan Kimia, FST, Universitas Nusa Cendana, Kupang.
6. Noni, P., 2015, *Sintesis Silika Gel Terimobilisasi EDTA sebagai Adsorben Ion Pb(II)*, Skripsi, Jurusan Kimia, FST, Universitas Nusa Cendana, Kupang.
7. Wogo, H.E., Nitbani, F.O., dan Tjitda P.J.P., 2013, Sintesis Lempung Terinterkalasi Anilin dan Pemanfaatannya sebagai Adsorben Fenol, *Sains dan Terapan Kimia*, Vol. 7, No. 1, Jurusan Kimia FST Universitas Nusa Cendana, Kupang.
8. Ngatidjo., Faried, F dan Lestari, I., 2011, Pemanfaatan Abu Sekam Padi (ASP) Payo dari Kerinci Sebagai Sumber Silika dan Aplikasinya Dalam Ekstraksi Fasa Padat Ion Tembaga (II), *Jurnal Penelitian Universitas Jambi Seri Sains*, Vol. 13, No. 2, Hal. 47-52.
9. Adoe, K.A., Wogo, H.E dan Siburian, R.A.F., 2016, *Sintesis Silika Gel Terimobilisasi EDTA-Ag sebagai Bahan Antibakteri Escherichia Coli*, Prosiding Seminar Nasional 1 Laboratorium Riset Terpadu Undana, hal. 187-196.
10. Wogo, H.E., Kedjo, G.Y., Selan, O.Th.E dan Ola, A.R.B., 2017, *Sintesis Plastik Antibakteri*, Prosiding Seminar Nasional 2 Laboratorium Riset Terpadu Undana 2017, hal. 15-23.
11. Nuryono dan Narsito, 2005, Pengaruh Konsentrasi Asam Terhadap Karakter Silika Gel Hasil Sintesis dari Natrium Silikat, *Indo. J. Chem*, 5 (1): 23-30.
12. Coniwanti, P., Linda, L., dan Mardiyah, R.A., 2014, Pembuatan Film Plastik Biodegradable dari Pati Jagung dengan Penambahan Kitosan dan Pemplastis Gliserol, *Jurnal Teknik Kimia*, 20 (4): 22-30.
13. Sunatmo, T.I., 2007, *Eksperimen Mikrobiologi Dalam Laboratorium*, Penerbit Ardy Agency, Bogor.
14. Anisah, Khotimah, S., dan Yanti, H.A., 2014, Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rimpang Jeringau (*Acorus calanus L.*) Terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, *Jurnal Protobiont*, Vol. 3(3): 1-5, Program Studi Biologi, Fakultas FMIPA, Universitas Tanjungpura, Pontianak.

Metodologi

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini berupa peralatan gelas, ayakan 60 mesh, magnetic stirrer dan cawan petri.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini berupa sekam padi, HCl, NaOH, CH₃COOH, AgNO₃, EDTA dan kitosan.

Metode

Preparasi Abu SekamPadi

Sekam padi dibersihkan dari kotoran, dicuci, dibilas dan dikeringkan pada suhu 110 °C selama 1 jam. Kemudian diambil 1000 g sekam padi disangrai hingga berwarna hitam dan diabukan selama 4 jam pada suhu 700 °C. Sampel digerus dandiyak menggunakan ayakan 60 mesh. Diambil 20 g abu sekam padi hasil ayakan dan dicuci dengan 120 mL HCl 6 M dandiadukselama 1 jam. Kemudian dibilas kembali dengan akuades sampai pH netral dan dikeringkan pada suhu 110 °C selama 2 jam.

Pembuatan Larutan Natrium Silikat

Sebanyak 20 gram sekam abu padi dilarutkan dengan NaOH 2 M sebanyak 330 mL, dididihkan sambil diaduk hingga mengental dan didestruksi selama 30 menit pada suhu 500 °C, ditambahkan akuades 200 mL dan didinginkan selama 1 malam dan disaring.

Pembuatan Silika Gel Terimobilisasi EDTA-Ag

Larutan natrium silikat dengan volume yang berbeda yakni 10, 30 dan 50 mL dimasukkan ke dalam wadah plastik, masing-masing ditambahkan 5 mL larutan EDTA 0,005 M dan 5 mL larutan AgNO₃ 0,005, dihomogenkan, ditambahkan sedikit demi sedikit larutan HCl 3 M sambil diaduk hingga terbentuk gel, didiamkan selama 1 malam, disaring dan dicuci dengan akuades sampai netral (pH=7), dikeringkan selama 1 jam pada suhu 110 °C, digerus dan diayak dengan menggunakan ayakan 60 mesh.

Pembuatan Plastik Antibakteri

Kitosan dengan variasi 0,3 dan 0,7 gram dilarutkan masing-masing dalam 50 mL larutan CH₃COOH 1% (v/v) dandiaduk selama 24 jam, ditambahkan silika gel terimobilisasi EDTA-Ag hasil karakterisasi pada prosedur d yang memiliki luas permukaan paling besar. Kemudian larutan disaring dan masing-masing rasio kitosan dicetak 50 mL ke dalam cawan petri (diameter 15 cm) dandikeringkan pada suhu 65 °C selama 7 jam. Kemudian plastik yang

terbentuk dilepaskan dari cawan petri dengan menggunakan NaOH 3 M dan dicuci secara bertahap sampai netral (pH=7) dengan menggunakan akuades dan dikeringkan pada suhu kamar.

Pengujian Sampel Plastik

Uji Biodegradasi Plastik

Uji biodegradasi dengan cara sampel ditanam dalam tanah dalam jangka waktu tertentu dengan memperhatikan faktor-faktor penyebab terjadinya biodegradasi seperti cahaya, jenis tanah, kedalaman lubang dan diameter lubang. Setelah periode waktu tertentu sampel lalu diangkat, dibersihkan dengan air suling, dikeringkan dan ditimbang berat sampel yang tersisa (Rohaeti, 2009). Persen kehilangan berat dapat dihitung menggunakan rumus:

$$\% \text{ Degradasi} = \frac{w_1 - w_2}{w_1} \times 100 \%$$

Dimana W1 adalah berat plastik sebelum diuji biodegradasi dan W2 adalah berat plastik setelah uji biodegradasi.

Uji Antibakteri Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Pembuatan media padat NA dilakukan dengan cara ditimbang 25 g media NA, dilarutkan dalam akuades dan dipanaskan sampai semua bahan larut dan mengental. Kemudian ditempatkan larutan pada erlenmeyer dan ditutup menggunakan kapas. Alat dan bahan disterilisasi dengan cara dibungkus semua alat dan bahan yang akan digunakan dengan menggunakan kertas, disterilkan dalam alat sterilisasi pada suhu 121 °C selama 30 menit, dikeluarkan dan disimpan dalam *laminarty air flow*.

Kultur murni bakteri *Staphylococcus aureus* dan bakteri *Escherichia coli* diambil menggunakan ose steril. Kemudian dilarutkan dalam tabung reaksi yang berisi media cair NA sebanyak 2 mL. Selanjutnya ditumbuhkan dalam inkubator selama 18-24 jam pada temperatur 37 °C. Kemudian bakteri hasil pembiakan diambil 1 mata ose kemudian dimasukkan ke dalam 9 mL NaCl 0,9% (sebagai pengenceran 10⁻¹) dan dilakukan seterusnya sampai pengenceran 10⁻⁵. Dari pengenceran 10⁻⁵ tersebut dipindahkan 1 mL ke dalam cawan petri, kemudian dituangkan media agar setebal 1 cm secara perlahan agar merata kemudian dibiarkan.

Uji antibakteri dilakukan dengan metode zona bening. Sampel dipotong dengan bentuk kertas cakram. Kemudian diambil dan diletakkan ke dalam cawan petri yang berisi nutrient agar. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Daerah hambatan terlihat sebagai bagian yang bening di sekitar kertas cakram (diukur dalam milimeter).