

SKRIPSI

**BIOREMEDIASI LIMBAH OLI BEKAS KENDARAAN BERMOTOR
DENGAN LUMPUR AKTIF DENGAN VARIASI PENAMBAHAN BAKTERI
LOKAL YANG DIIDENTIFIKASI DENGAN SEKUEN 16S rDNA**

Disusun oleh:
Saut Rotona Barcio Tuamano
NPM: 110801225



UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
YOGYAKARTA
2017

**BIOREMEDIASI LIMBAH OLI BEKAS KENDARAAN BERMOTOR
DENGAN LUMPUR AKTIF DENGAN VARIASI PENAMBAHAN BAKTERI
LOKAL YANG DIIDENTIFIKASI DENGAN SEKUEN 16S rDNA**

SKRIPSI

**Diajukan kepada Program Studi Biologi
Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta
Guna memenuhi sebagai syarat untuk memperoleh derajat Sarjana S-1**

Disusun oleh:
Saut Rotona Barcio Tuamano
NPM: 110801225



**UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
YOGYAKARTA
2017**

PENGESAHAN

Megesahkan Skripsi dengan judul

**BIOREMEDIASI LIMBAH OLI BEKAS KENDARAAN BERMOTOR
DENGAN LUMPUR AKTIF DENGAN VARIASI PENAMBAHAN BAKTERI
LOKAL YANG DIIDENTIFIKASI DENGAN SEKUEN 16S rDNA**

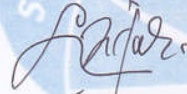
Yang dipersiapkan dan disusun oleh:

Saut Rotona Barcio Tuamano
NPM: 110801225

Telah diuji dan dipertahankan didepan Tim Penguji
Pada hari Jumat, tanggal 13 Januari 2017
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

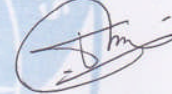
SUSUNAN TIM PENGUJI

Pembimbing Utama,



(Dra. L. Indah Murwani Yulianti, M.Si.)

Anggota Tim Penguji,



(Dra. E. Mursyanti, M.Si.)

Pembimbing Pendamping,



(Ir. Ign. Pramana Yuda, M.Si. Ph.D.)

Yogyakarta, 31 Januari 2017

UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI

Dekan,



Boy Rahardjo Sidharta, M.Sc.

PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Saut Rotona Barcio Tuamano

NPM : 110801225

Judul Skripsi: BIOREMEDIASI LIMBAH OLI BEKAS KENDARAAN BERMOTOR DENGAN LUMPUR AKTIF DENGAN VARIASI PENAMBAHAN BAKTERI LOKAL YANG DIIDENTIFIKASI DENGAN SEKUEN 16S rDNA

Menyatakan bahwa skripsi dengan judul tersebut di atas adalah benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri dan saya susun dengan sejujurnya berdasarkan norma akademik dan bukan merupakan hasil plagiat. Adapun semua kutipan dalam skripsi ini telah saya sertakan nama penulisnya dan telah saya cantumkan ke dalam Daftar Pustaka.

Pernyataan ini saya buat dengan sadar dan sebenarnya dan apabila ternyata di kemudian hari ternyata saya terbukti melanggar pernyataan saya di atas, saya bersedia menerima sanksi akademik yang berlaku (dicabut predikat kelulusan dan gelar kesarjanaan saya). Demikian pula apabila terjadi plagiarisme terhadap skripsi dengan judul tersebut, maka saya berhak menuntut pihak yang bersangkutan dengan sanksi hukum (pidana maupun perdata) dan akademik yang berlaku.

Yogyakarta, 13 Januari 2017

Yang menyatakan


Saut Rotona Barcio Tuamano
110801225

KATA PENGANTAR

Puji syukur dan terima kasih penulis haturkan kepada Tuhan Yesus Kristus atas berkat dan rahmatnya yang selalu senantiasa menyertai dan membimbing, serta memberi kelancaran kepada penulis dalam proses penelitian dan penulisan naskah skripsi dengan judul “BIOREMEDIASI LIMBAH OLI BEKAS KENDARAAN BERMOTOR DENGAN LUMPUR AKTIF DENGAN VARIASI PENAMBAHAN BAKTERI LOKAL YANG DIIDENTIFIKASI DENGAN SEKUEN 16S rDNA”. Skripsi ini dilaksanakan sebagai salah satu bentuk tanggung jawan sebagai seorang mahasiswa Biologi yang pada hakekatnya memiliki kecintaan terhadap pelestarian lingkungan. Sedemikian rupa, penelitian ini dilaksanakan semata-mata untuk memberi informasi dan pengetahuan kepada kalangan akademisi maupun masyarakat luas.

Terlaksananya penelitian dan penulisan skripsi ini, penulis sadar banyak mendapat bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis selayaknya mengucapkan terima kasih kepada:

1. Drs. B. Boy Rahardjo Sidharta, M.Sc. selaku Dekan Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta.
2. Dra. L. Indah Murwani Yulianti, M.Si. selaku Dosen Pembimbing Utama yang selalu memberikan pengarahan, solusi, dan ilmu selama penelitian dan penulisan berlangsung.
3. Ir. Ign. Pramana Yuda, M.Si. Ph.D. selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang selalu memberikan pengarahan, solusi, dan ilmu selama penelitian dan penulisan berlangsung.
4. Drs. A Wibowo Nugroho Jati, M.S. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang selama masa kuliah selalu memberikan pengarahan, solusi, nasehat dalam perencanaan pengambilan mata kuliah setiap semester.

5. Seluruh Dosen, Staf Tata Usaha, dan Laboran Fakultas Teknobiologi Atma Jaya Yogyakarta yang selama masa kuliah hadir memberikan kehangatan dan keceriaan.
6. Papa, Mama, Turi, Veto, Lovi dan semua Keluarga yang selalu mendukung dalam segala aspek dan memberikan doa.
7. Seluruh staf dan laboran Laboratorium Mikrobiologi Pusat Studi Bioteknologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta terutama kepada Ibu Tri dan Mas Miftah yang membantu dalam kelancaran penelitian molekuler.
8. Seluruh staf dan laboran Laboratorium Fisika-Kimia Air Balai Besar Teknik Kesehatan Lingkungan dan Pengendalian Penyakit Yogyakarta yang membantu dalam kelancaran penelitian berupa uji BOD dan TSS.
9. Seluruh staf dan laboran Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada Yogyakarta yang membantu dalam kelancaran penelitian berupa uji TPH.
10. Direktur, Kaprodi-kaprodi, Staf-staf dan Teman-teman Student Staff “Pasca Sarjana” yang memberikan kesempatan untuk berpengalaman dalam dunia pekerjaan.
11. Seluruh teman-teman Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta terutama untuk geng *Eight-clusive* yang sudah melanjutkan karir untuk masa depan masing-masing.
12. Teman-teman se-rekan kerja Pengurus Harian Marching Band Atma Jaya Yogyakarta 2013/2014 “Geng Motor” Ali, Bundho, Mitha, Louisa, Vio, Reny, dan Vikas yang sudah melanjutkan karir untuk masa depan masing-masing.
13. Teman-teman gabungan dari “Barcio’s Angels” dan “Nyinyir” Febri, Sisi, Deta, Nafira, Dipta, Melda, Ori yang mengisi hari-hari selama kuliah.
14. Team Marching Band Atma Jaya Yogyakarta. Viva MBA!
15. Mia teman “best” dari semester satu, Fiktarina teman bareng nyekrip, Abram teman wisata kuliner Jogja serta main Pump dan Mai-Mai, Oca dan Igna teman sekaligus adik ketemu gede.

16. KHGB “Kos Hijau Gang Buntu” Bony, Jimayer, Indra, Ado, Yesia, Jerry, Hubert, Alberd, Arens, dan Owen

17. Semua pihak yang telah memberikan bantuan baik berupa saran, bimbingan dan arahan sehingga skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik.

Akhir kata, penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penulisan dan penyusunan naskah ini. Oleh karena itu, penulis sangat terbuka menerima saran, kritik, masukan, koreksi, dan pertanyaan yang membangun sehingga skripsi ini menjadi lebih baik lagi dan dapat menambah pengetahuan penulis dan bermanfaat bagi semua pihak di masa yang akan datang.

Yogyakarta, Januari 2017

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
Judul.....	i
Pengesahan.....	ii
Pernyataan Bebas Plagiarisme.....	iii
Kata Pengantar.....	iv
Lembar Persembahan.....	vii
Daftar Isi.....	viii
Daftar Tabel.....	x
Daftar Gambar.....	xi
Daftar Lampiran.....	xii
Intisari.....	xiii
I. PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Keaslian Penelitian.....	4
C. Masalah Penelitian.....	6
D. Tujuan Penelitian.....	7
E. Manfaat Penelitian.....	7
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	8
A. Oli.....	8
B. Dampak Limbah Oli.....	10
C. Lumpur Aktif.....	13
D. Mikrobial Pendegradasi Hidrokarbon.....	16
E. Sekuen 16S rDNA (Gen 16S rRNA).....	18
F. Hipotesis.....	21
III. METODE PENELITIAN.....	22
A. Waktu dan Tempat Penelitian.....	22
B. Alat dan Bahan.....	22
1. Pengujian Bioremediasi Limbah Oli Bekas Kendaraan Bermotor.....	23
2. Identifikasi Bakteri Lokal Dominan Secara Molekuler.....	24
C. Rancangan Percobaan.....	25
D. Tahapan Penelitian.....	26
1. Pembuatan Lumpur Aktif.....	27
2. Pembuatan Medium dan Sterilisasi.....	27
a. Medium <i>Nutrient Agar</i> (NA).....	27
b. Medium <i>Nutrient Broth</i> (NB) Cair.....	27
c. Sterilisasi Alat dan Medium.....	28
3. Isolasi Bakteri.....	28

4. Karakterisasi Bakteri Dominan.....	29
a. Pengamatan Morfologi Koloni.....	29
b. Pengecatan Gram.....	30
c. Identifikasi Bakteri.....	30
5. Identifikasi Bakteri Lokal Dominan Secara Molekuler.....	31
a. Isolasi DNA Isolat.....	31
b. Visualisasi DNA Isolat.....	33
1) Persiapan dan Pembuatan <i>Agarose Gel</i>	33
2) Proses Elektroforesis (Melihat Genom Isolat).....	34
3) Proses Elektroforesis (Melihat DNA Isolat).....	34
c. Uji Kemurnian DNA Isolat.....	35
d. Amplifikasi DNA Isolat.....	36
6. Pembuatan Starter dan Stok Isolat.....	37
7. Perhitungan Jumlah Bakteri Secara Tidak langsung.....	38
8. Aplikasi Lumpur Aktif.....	39
9. Uji aktifitas Degradasi.....	40
a. Pengukuran BOD (<i>Biochemical Oxygen Demand</i>).....	40
b. Pengukuran TSS (<i>Total Suspended Solid</i>).....	42
c. Pengukuran TPH (<i>Total Petroleum Hydrocarbon</i>) Metode <i>Gas Chromatography</i>	43
E. Analisis Data.....	44
1. Bioremediasi Limbah Oli Bekas Kendaraan Bermotor.....	44
2. Identifikasi Bakteri Lokal Dominan Secara Molekuler.....	45
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	46
A. Isolasi dan Pemurnian Bakteri Dominan.....	46
B. Morfologi Isolat Bakteri.....	49
C. Identifikasi Secara Molekuler.....	51
D. Kepadatan Isolat Bakteri SB1 dan SB2.....	59
E. Kualitas Limbah Cair Oli Bekas Kendaraan Bermotor.....	61
F. Pengukuran Aktifitas Degradasi.....	62
1. BOD (<i>Biochemical Oxygen Demand</i>).....	62
2. TSS (<i>Total Suspended Solid</i>).....	69
3. TPH (<i>Total Petroleum Hydrocarbon</i>).....	74
V. SIMPULAN DAN SARAN.....	80
A. Simpulan.....	80
B. Saran.....	81
DAFTAR PUSTAKA.....	82
LAMPIRAN.....	93

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Rancangan Percobaan Penambahan Jenis dan Penambahan Volume Isolat Bakteri Dominan dalam Melakukan Bioremediasi Limbah Oli Bekas Kendaraan Bermotor pada Teknik Lumpur Aktif.....	26
Tabel 2. Pengaplikasian Lumpur aktif.....	39
Tabel 3. Kualitas Limbah Oli Bekas Kendaraan Bermotor Sebelum Degradasi.....	61
Tabel 4. Kadar BOD (mg/L) pada Limbah Oli Bekas Kendaraan Bermotor.....	64
Tabel 5. Kadar TSS (mg/L) pada Limbah Oli Bekas Kendaraan Bermotor.....	70
Tabel 6. Kadar TPH (mg/L) pada Limbah Oli Bekas Kendaraan Bermotor.....	75

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Flok-Flok yang Terbentuk.....	46
Gambar 2. Koloni Bakteri Dominan.....	48
Gambar 3. Isolasi Murni dari Pemilihan Bakteri Lokal Dominan H.I.3 = Isolat Murni SB1; K.II.3 = Isolat Murni SB2.....	49
Gambar 4. Morfologi Koloni Isolat SB1 dan SB2.....	50
Gambar 5. Pengecatan Gram.....	51
Gambar 6. Pellet DNA Isolat SB1 dan SB2.....	52
Gambar 7. Visualisasi Hasil Ekstraksi DNA.....	52
Gambar 8. Visualisasi Hasil Amplifikasi DNA.....	55
Gambar 9. Visualisasi Hasil Purifikasi DNA.....	55
Gambar 10. Ringkasan Hasil Pencarian dengan BLAST (Kiri-SB1; Kanan- SB2).....	56
Gambar 11. <i>Taxonomy Repots</i> dengan BLAST (SB1).....	57
Gambar 12. <i>Taxonomy Reports</i> dengan BLAST (SB2).....	58
Gambar 13. Pohon Filogenetik Isolat Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon....	59
Gambar 14. Nilai BOD pada hari ke 14.....	66
Gambar 15. Nilai TSS pada Hari ke 14.....	72
Gambar 16. Nilai TPH pada Hari ke-14.....	77

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Pengukuran Kualitas Limbah Oli Bekas Kendaraan Bermotor Sebelum Melalui Proses Degradasi.....	93
Lampiran 2. Analisis Varian (Anava) dan Uji Duncan BOD Oli Bekas Kendaraan Bermotor.....	94
Lampiran 3. Analisis Varian (Anava) dan Uji Duncan BOD (Persentase Penurunan) Oli Bekas Kendaraan Bermotor.....	96
Lampiran 4. Analisis Varian (Anava) dan Uji Duncan TSS Oli Bekas Kendaraan Bermotor.....	98
Lampiran 5. Analisis Varian (Anava) dan Uji Duncan TSS (Persentase Penurunan) Oli Bekas Kendaraan Bermotor.....	99
Lampiran 6. Analisis Varian (Anava) dan Uji Duncan TPH Oli Bekas Kendaraan Bermotor.....	101
Lampiran 7. Analisis Varian (Anava) dan Uji Duncan TPH (Persentase Penurunan) Oli Bekas Kendaraan Bermotor.....	103
Lampiran 8. <i>Chromatogram</i> Urutan Basa Nitrogen Isolat SB1.....	105
Lampiran 9. <i>Chromatogram</i> Urutan Basa Nitrogen Isolat SB2.....	107

INTISARI

Oli merupakan salah satu olahan minyak bumi yang dapat diartikan sebagai pelumas mesin, peredam panas, dan sebagai pelindung dari karatnya mesin. Limbah oli bekas merupakan produk yang tidak mungkin dihindari oleh setiap industri bengkel-bengkel kendaraan bermotor dan menyebabkan pencemaran terhadap lingkungan karena adanya senyawa hidrokarbon yang terkandung di dalamnya. Pengolahan kembali oli bekas kendaraan bermotor telah banyak dilakukan secara fisika dan kimia yang membutuhkan biaya besar dan kurang ramah lingkungan, oleh karena itu penelitian ini dilakukan dengan metode bioremediasi melalui teknik lumpur aktif yang diberi penambahan bakteri lokal dominan. Bakteri lokal yang berperan dapat diidentifikasi secara genotip dengan menggunakan analisis (molekuler) rangkaian PCR dengan sekeun 16S rDNA. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri lokal dalam meremediasi oli bekas kendaraan bermotor melalui metode lumpur aktif yang dapat diketahui hubungan kekerabatannya antar jenis atau genus dari bakteri tersebut.

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap Faktorial dengan variasi penambahan jenis isolat bakteri lokal dominan dan variasi penambahan volume isolat bakteri lokal dominan dengan tiga kali pengulangan. Isolasi dan identifikasi bakteri lokal dari lumpur aktif oli bekas kendaraan bermotor menghasilkan 2 isolat dominan yakni isolat SB1 termasuk genus *Pseudomonas* dan memiliki hubungan kekerabatan yang sangat dekat dengan *Pseudomonas aeruginosa*, dan isolat SB2 termasuk genus *Achromobacter* dan memiliki hubungan kekerabatan yang sangat dekat dengan *Achromobacter insolitus*. Kemampuan remediasi oli bekas kendaraan bermotor diukur dari parameter BOD (*Biochemical Oxygen Demand*), TSS (*Total Suspended Solid*), dan TPH (*Total Petroleum Hydrocarbon*). Kepadatan isolat bakteri SB1 sebesar 137×10^6 dan isolat SB2 sebesar 295×10^6 . Isolat SB2 mampu melakukan remediasi yang ditunjukkan dengan adanya penurunan kadar BOD menjadi 127,78 mg/L dengan persentase penurunan sebesar 31,65% dan menurunkan kadar TPH menjadi 192,30 mg/L dengan persentase penurunan sebesar 15,04%; serta SB1 mampu menurunkan kadar TSS. Volume isolat sebanyak 20 ml mampu melakukan remediasi yang ditunjukkan dengan adanya penurunan kadar BOD menjadi 97,22 mg/L dengan persentase penurunan sebesar 48,88% dan menurunkan kadar TSS menjadi 298,67 mg/L dengan persentase penurunan sebesar 58,42%; serta volume isolat sebanyak 40 ml mampu menurunkan TPH.

Kata Kunci: Oli Bekas Kendaraan Bermotor, Lumpur Aktif, Bakteri lokal, 16S rDNA