

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Oli

Minyak bumi adalah suatu campuran cairan yang terdiri dari berjuta-juta senyawa kimia, yang paling banyak adalah senyawa hidrokarbon yang terbentuk dari dekomposisi yang dihasilkan oleh fosil tumbuh-tumbuhan dan hewan (William, 1995). Menurut (Jasji, 1996) Minyak bumi merupakan senyawaan kimia yang terdiri dari unsur-unsur karbon, hidrogen, sulfur, oksigen, halogenida dan logam. Senyawa yang hanya terdiri dari unsur karbon dan hidrogen dikelompokkan kedalam senyawa hidrokarbon.

Sifat-sifat minyak bumi sangat bervariasi dan jenis produk yang dapat dihasilkan juga dapat sangat banyak. Suatu operasi yang tentu dioperasikan di dalam semua kilang adalah destilasi yang memisahkan minyak bumi kedalam fraksi-fraksinya berdasarkan daerah didihnya. Operasi lainnya dapat sedikit atau banyak jumlahnya, dapat sederhana atau kompleks, tergantung pada produk-produk yang akan dibuat (Hardjono, 2001).

Ada beberapa macam cara penggolongan produk jadi yang dihasilkan oleh kilang minyak. Diantaranya produk jadi kilang minyak dapat dibagi menjadi produk bahan bakar minyak (BBM) dan produk bukan bahan bakar minyak (BBBM). Produk jadi BBBM berupa LPG, pelarut, minyak pelumas (oli), gemuk, aspal, malam parafin, hitam karbon dan kokas. Minyak pelumas (oli) terdapat dalam bagian minyak bumi yang mempunyai daerah didih yang paling

tinggi, yaitu sekitar 400°C keatas. Fraksi minyak pelumas (oli) dipisahkan dari residu hasil distilasi minyak bumi dengan dengan distilasi hampa (Hardjono, 2001).

Menurut Raharjo (2010) oli biasanya diperoleh dari pengolahan minyak bumi yang dilakukan melalui proses destilasi bertingkat berdasarkan titik didihnya. Menurut Environmental Protection Agency (EPA's), proses pembuatan oli melalui beberapa tahap, yaitu:

- a) Distilasi.
- b) *Deasphalting* untuk menghilangkan kandungan aspal dalam minyak.
- c) Hidrogenasi untuk menaikkan viskositas dan kualitas.
- d) Pencampuran katalis untuk menghilangkan lilin dan menaikkan temperatur pelumas parafin.
- e) *Clay or Hydrogen finishing* untuk meningkatkan warna, stabilitas dan kualitas oli pelumas.

Oli merupakan zat kimia yang digunakan pada kendaraan bermotor yang berguna untuk mengurangi keausan pada mesin. Penggunaan utama oli yaitu terdapat pada oli mesin. Umumnya oli terdiri dari 90% minyak dasar (base oil) dan 10% zat tambahan. Pada sistem penggerakannya ketika mesin dihidupkan mesin yang bergerak akan terjadi pergesekan pada logam yang akan menyebabkan pelepasan partikel dari peristiwa tersebut Surtikanti dan Surakusumah (2004).

Menurut Hagwell dkk. (1992) oli mesin adalah campuran kompleks hidrokarbon dan senyawa-senyawa organik lain yang digunakan untuk melumasi

bagian-bagian mesin kendaraan agar mesin bekerja dengan lancar. Menurut Sukirno (2010) fungsi utama suatu pelumas adalah untuk mengendalikan friksi dan keausan. Namun pelumas juga melakukan beberapa fungsi lain yang bervariasi tergantung di mana pelumas tersebut diaplikasikan, pertama pencegahan korosi dimana pelumas berfungsi sebagai *preservative*. Pada saat mesin bekerja pelumas melapisi bagian mesin dengan lapisan pelindung yang mengandung adiktif untuk menetralkan bahan korosif. Kedua pengurangan panas, pelumas tersebut mampu menghilangkan panas yang dihasilkan baik dari gesekan atau sumber lain seperti pembakaran atau kontak dengan zat tinggi.

Secara umum terdapat 2 macam oli bekas, yaitu oli bekas industri (*light industrial oil*) dan oli hitam (*black oil*). Oli bekas industri relatif lebih bersih dan mudah dibersihkan dengan perlakuan sederhana, seperti penyaringan dan pemanasan. Oli hitam berasal dari pelumasan otomotif. Oli ini dalam pemakaiannya mendapat beban termal dan mekanis yang lebih tinggi. Dalam oli hitam terkandung partikel logam dan sisa pembakaran. Oli mengandung bahan-bahan kimia, di antaranya hydro karbon dan sulfur, karena bekerja melumasi logam-logam, oli bekas juga mengandung sisa bahan bakar, tembaga, besi, aluminium, magnesium dan nikel dan lain-lain. (Raharjo, 2007).

B. Dampak Limbah Oli

Oli bekas secara ilegal dibuang di tempat-tempat yang tidak sepatasnya, ini adalah suatu pencemaran lingkungan yang berdampak global dan menyebabkan

keprihatinan yang menarik perhatian publik di berbagai negara (Rolling dkk., 2002). Menurut Surtikanti dan Surakusumah (2004) senyawa hidrokarbon pada oli bekas kendaraan merupakan suatu limbah buangan berbahaya dan beracun yang merupakan dampak dari penggunaan kendaraan bermotor. Menurut Keith dan Telliard (1979) setelah masa pemakaian oli sebagai pelumas berakhir, maka oli bekas akan mengandung lebih banyak hidrokarbon, logam dan *polycyclic aromatic hydrocarbon* (PAH) bersifat mutagenik dan karsinogenik.

PAH yang masuk ke dalam darah akan diserap oleh jaringan lemak dan mengalami oksidasi dalam hati membentuk fenol. Berikutnya akan terjadi reaksi konjugasi membentuk glukoronida yang larut dalam air, kemudian masuk ke ginjal. Senyawa antara yang terbentuk adalah epoksida yang beracun dan dapat menyebabkan kerusakan pada tulang sumsum. Keracunan PAH yang kronis dapat menyebabkan kelainan pada darah, termasuk menurunnya sel darah putih, zat beku darah, dan sel darah merah yang menyebabkan anemia. Akibatnya, akan merangsang timbulnya preleukemia, kemudian leukemia yang pada akhirnya menyebabkan kanker (Philp, 1995).

Oli bekas merupakan golongan limbah B3, karena oli bekas dapat menyebabkan tanah menjadi tandus dan kehilangan unsur haranya, sedangkan sifatnya yang tidak dapat larut dalam air dapat menyebabkan pencemaran air, selain itu oli juga mudah terbakar (Mukhlisoh, 2012). Hidrokarbon minyak bumi ini mengandung hidrokarbon alifatik, hidrokarbon alisiklik, dan

hidrokarbon aromatik (Speight, 1980). Menurut Udiharto (2000) keberadaan senyawa ini dalam limbah akan menyebabkan degradasi kualitas lingkungan.

Dampak terhadap tumbuhan, yaitu toksisitas akibat kontak langsung yaitu hidrokarbon melarutkan struktur membran lipid sel (Bossert dan Bartha, 1984). Hidrokarbon dapat menghambat laju fotosintesis karena mempengaruhi permeabilitas membran sel dan mengurangi penyerapan cahaya matahari oleh kloroplas (Mason, 1996). Pengaruh tidak langsung yaitu adanya kompetisi penggunaan nutrisi mineral dan oksigen antara akar tumbuhan dan mikroorganisme pendegradasi hidrokarbon dan mendorong terbentuknya kondisi anaerobik, sehingga dihasilkan senyawa fitotoksik seperti H_2S . Selain itu minyak (oli) dengan sifatnya yang hidrofobik dapat menyebabkan struktur tanah menjadi buruk sehingga membatasi kemampuannya dalam menyerap air dan udara (Bossert dan Bartha, 1984).

Hidrokarbon dapat menyebabkan terganggunya perkembangbiakan burung karena lingkungan menjadi tidak sesuai untuk penetasan telur dan terdapatnya unsur beracun. Beberapa percobaan menunjukkan bahwa minyak yang diberikan pada kulit telur mallard (*Anas platyrhynchos*) menyebabkan telur tidak menetas karena terdapat kmpinen aromatik yang toksik bagi telur. Pada dosis 10 μl , embrio menjadi abnormal yang ditandai dengan berubahnya bentuk paruh, susunan tulang dan bulu burung yang tidak lengkap (Mason, 1996).

Susanto (1973) menjelaskan akibat-akibat jangka pendek dari pencemaran hidrokarbon sudah banyak dilaporkan. Molekul-molekul hidrokarbon dapat

merusak membran sel yang berakibat pada keluarnya cairan sel dan berpenetrasinya bahan tersebut ke dalam sel. Ikan-ikan yang hidup di lingkungan yang tercemar oleh oli dan senyawa hidrokarbon akan mengalami berbagai gangguan struktur dan fungsi tubuh. Secara langsung oli dapat menimbulkan kematian pada ikan. Hal ini disebabkan oleh kekurangan oksigen, keracunan karbondioksida dan keracunan langsung oleh bahan beracun yang terdapat dalam minyak.

Akibat jangka panjang menurut Sumadilaga (1995) pencemaran hidrokarbon ternyata dapat pula menimbulkan beberapa masalah yang serius terutama bagi biota yang masih muda. Mengingat dampak pencemaran oli baik dalam konsentrasi rendah maupun tinggi cukup serius. Sehingga manusia terus berusaha untuk mencari teknologi yang paling mudah, murah dan tidak menimbulkan dampak lanjutan.

C. Lumpur Aktif

Bioremediasi didefinisikan sebagai proses pemulihan secara biologi terhadap komponen lingkungan yang tercemar (Baker dan Herson, 1994). Menurut Ginting (2007) proses pengolahan limbah dengan cara biologi ialah memanfaatkan mikroorganisme untuk menguraikan senyawa organik dalam limbah menjadi senyawa yang sederhana. Pengolahan limbah dengan cara biologis dilakukan melalui tiga cara, yaitu pengolahan secara aerob, pengolahan secara anaerob, dan pengolahan secara fakultatif.

Proses lumpur aktif adalah salah satu proses pengolahan limbah secara biologi, yang pada prinsipnya memanfaatkan mikroorganisme yang mampu memecah bahan organik dalam limbah. Proses lumpur aktif adalah proses dimana limbah dan lumpur aktif dicampur dalam satu reaktor (Sutapa, 2000). Mikroorganisme sendiri selain menguraikan dan menghilangkan kandungan material, juga menjadikan material yang terurai tadi sebagai tempat berkembang biaknya (Metcalf dan Eddy, 2004).

Menurut Megasari dkk. (2012) lumpur aktif (*actived sludge*) adalah proses pertumbuhan mikrobial tersuspensi yang pertama kali dilakukan di Inggris pada awal abad 19. Sejak itu proses ini diadopsi seluruh dunia sebagai pengolahan limbah sekunder secara biologi. Proses ini pada dasarnya merupakan pengolahan aerobik yang mengoksidasi material organik menjadi CO_2 dan H_2O , NH_4 , dan sel biomassa baru.

Mekanisme terjadi dua tahap, yaitu penyerapan secara fisika-kimiawi dan interaksi antara partikel – partikel terlarut menjadi suspensi yang kemudian terpisahkan dari limbah. Tahap selanjutnya adalah stabilisasi yang dapat berlangsung secara paralel melalui penyerapan polutan organik ke dalam partikel biomassa yang diuraikan menjadi gas CO_2 dan H_2O oleh aktivitas mikrobial. Proses lumpur aktif sangat sensitif terhadap perubahan kondisi dan lonjakan beban polutan (Megasari dkk., 2012).

Zita dan Hermansson (1997) menyatakan proses lumpur aktif dalam pengolahan limbah tergantung pada pembentukan flok lumpur aktif yang

terbentuk oleh mikroorganisme (terutama bakteri), dan partikel inorganik. Selama pengendapan flok, material yang terdispersi, seperti sel bakteri dan flok kecil, menempel pada permukaan flok. Pembentukan flok lumpur aktif dan penjernihan dengan pengendapan flok akibat agregasi bakteri dan mekanisme adesi. Flokulasi dan sedimentasi flok tergantung pada hipobisitas internal dan eksternal dari flok dan material eksopolimer dalam flok, dan tegangan permukaan larutan mempengaruhi hidropobisitas lumpur granular dari reaktor lumpur anaerobik.

Kasmidjo (1991) mempertegas pentingnya pembentukan flok dalam proses lumpur aktif dalam campuran cairan dan tipe mikroorganisme yang ada pada lumpur. Mikroorganisme pada penanganan limbah secara biologis berasal dari tangki aerasi itu sendiri yang sebelumnya telah mengalami proses aklimatisasi atau penyesuaian diri. Pengujian menunjukkan bahwa mikroorganisme yang terdapat di lumpur aktif sangat bervariasi dari sistem yang satu dengan sistem yang lainnya.

Analisis lumpur aktif yang perlu dilakukan dalam pengolahan limbah industri, yaitu volume lumpur yang dilakukan untuk menguji kecepatan pengendapan lumpur (Siregar, 2005). Selain itu juga menurut Pescod (1973) Kebutuhan Oksigen Biologi (BOD) dilakukan sebagai prosedur oksidasi dimana organisme hidup bertindak sebagai medium untuk menguraikan bahan organik menjadi CO_2 dan H_2O . Menurut Sawyer dan McCarty (1978) waktu yang diperlukan dalam proses oksidasi sehingga bahan organik dapat terurai menjadi

karbondioksida dan air adalah tidak terbatas. Nilai BOD 5 hari merupakan bagian dari total BOD dan nilai BOD 5 hari merupakan 70-80% dari nilai BOD total.

Menurut Milasari dan Ariyati (2010) Faktor-faktor yang Mempengaruhi pengolahan limbah dengan lumpur aktif yaitu oksigen, nutrisi (makronutrisi, mikronutrisi), pH, temperatur, dan komposisi organisme. Menurut Sutapa (2000) mikroorganisme dalam lumpur aktif, flok lumpur aktif mengandung sel-sel bakteri baik itu anorganik maupun organik. Ukuran flok ini bervariasi dari $< 1\mu\text{m}$ (ukuran sel bakteri) hingga $1000\mu\text{m}$ atau lebih.

D. Mikrobia Pendegradasi Hidrokarbon

Berbagai macam cara yang telah dilakukan untuk mengatasi pencemaran lingkungan lahan tercemar dari limbah oli bekas kendaraan bermotor. Salah satunya adalah dengan melibatkan agen biologis berupa mikroorganisme yang memiliki kemampuan mendegradasi senyawa hidrokarbon (Goenadi dan Isroi, 2003). Menurut Kasmidjo (1991) pada umumnya terdapat spesies bakteri dari genus *Bacillus*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Zooglea*, dan *Nitrobacter*.

Mikroorganisme yang sering digunakan dalam proses bioremediasi dengan menggunakan mikroba yang paling dominan yang ditemukan pada hidrokarbon yaitu bakteri yang memiliki kemampuan mendegradasi senyawa hidrokarbon untuk keperluan metabolisme dan perkembangannya disebut bakteri hidrokarbonoklastik atau bakteri petrorilik. Bakteri hidrokarbonoklastik dapat diperoleh dengan cara mengisolasi bakteri dari tempat yang mengandung

hidrokarbon. Pemanfaatan bakteri hidrokarbonoklastik yang diisolasi langsung dari habitatnya (bakteri lokal) sebagai agen pendegradasi hidrokarbon dapat mempersingkat waktu bioremediasi (Atlas dan Bartha, 1997).

Kemampuan mikrobia mendegradasi hidrokarbon telah lama diteliti terutama pada era 70-an dan 80-an, pada saat itu lahan pertanian dijadikan tempat pembuangan minyak. Banyak senyawa yang terbentuk hidrokarbon akhirnya diketahui dapat diuraikan oleh mikrobia. Terdapat sekitar 21 genus bakteri, 10 genus fungi, dan 5 genus yeast yang dapat mendegradasi hidrokarbon (Mason, 1996). Mikrobia seperti bakteri dapat menggunakan hidrokarbon dari minyak mentah dan fraksi-fraksinya baik secara utuh maupun sebagian, dan minyak tersebut dapat diuraikan secara sempurna (Alexander, 1997).

Mikrobia yang pada umumnya berkembang di lingkungan terkontaminasi hidrokarbon sebagian besar adalah bakteri dan kapang. Bakteri merupakan golongan yang lebih dominan dan memiliki peran yang sangat menonjol dalam menguraikan atau mendegradasi limbah, hal ini karena bakteri mempunyai kisaran pH yang bervariasi dan dapat pula tumbuh pada unsur nitrogen rendah sehingga berbeda dengan mikrobia lain yang hidup dengan faktor pembatas tertentu (Ginting, 2007).

Bakteri yang sudah diketahui dapat memecah hidrokarbon alifatik seperti etana, propana, antara lain *Mycobacterium*, *Pseudomonas* dan *Flovobacterium*. Adapun kelompok bakteri yang dapat mendegradasi hidrokarbon aromatik seperti naftalena adalah *Pseudomonas*, *Bacillus* dan *Nocardia* (Alexander, 1997).

Berdasarkan penelitian Bossert dan Bartha (1984), terdapat 22 genera bakteri yang hidup dilingkungan minyak, isolat yang mendominasi terdiri dari beberapa genera yakni, *Alcaligenes*, *Artrobacter*, *Acinobacter*, *Nocardia*, *Achromobacter*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, dan *Pseudomonas*.

E. Sekuen 16S rDNA (Gen 16S rRNA)

Pendekatan genotipik dalam identifikasi bakteri terus mengalami perkembangan. Pendekatan ini banyak di pilih karena memungkinkan mengidentifikasi bakteri waktu relatif singkat, dan tingkat kesalahan lebih rendah karena lebih objektif. Dibandingkan dengan identifikasi melalui pendekatan fenotipik membutuhkan waktu yang relatif lama, penilaian cenderung sukjetif, dan terbatas pada bakteri yang mampu di kulturkan di medium buatan (Drancourt dkk., 2000).

Salah satu metode terbaik dalam mengidentifikasi spesies bakteri yaitu dengan mengetahui struktur DNA atau dengan teknik sekuen gen 16S rRNA. Secara umum analisis gen 16S rRNA yang dikembangkan oleh Carl Woese yang banyak digunakan, yaitu melibatkan terminasi atau penghentian reaksi sintesis DNA *in vitro* yang spesifik untuk sekuen tertentu menggunakan substrat nukleotida yang telah dimodifikasi. Sekuen RNA menyandikan informasi yang diperlukan bagi makhluk hidup untuk melangsungkan hidup dan berkembang biak (Alberts dkk., 2002).

Dinilai dari beberapa pertimbangan, metode ini dinilai lebih baik dibandingkan dengan metode analisis fenotipik. Pertimbangan yang pertama adalah gen 16S rRNA dari hampir seluruh spesies bakteri telah ditentukan urutan basa nitrogennya sehingga dapat dijadikan pedoman jika ditemukan spesies baru (Acinas dkk., 2004). Pertimbangan yang kedua adalah urutan basa nitrogen gen 16S rRNA memiliki keragaman intraspesifik yang lebih rendah dibandingkan gen pengkode protein yang lain, serta sifat dari fragmen 16S rDNA yang lestari (Oren, 2004).

RNA (*Ribonucleic acid*) merupakan polimer yang tersusun dari sejumlah nukleotida yang setiap nukleotidanya memiliki satu gugus fosfat, satu gugus pentosa, dan satu gugus basa nitrogen. RNA memiliki tiga tipe yaitu *messenger* RNA (mRNA), *transfer* RNA (tRNA), *ribosomal* RNA (rRNA). *Ribosomal* RNA (rRNA) disandikan oleh sebagian DNA sehingga bagian tersebut disebut DNA ribosom (rDNA). Pada bakteri ternyata bagian ini memperlihatkan tidak banyak perubahan selama evolusi, sehingga analisis sekuen rRNA merupakan cara yang paling akurat untuk menentukan kekerabatan bakteri (Boye dkk., 1999).

Ribosomal RNA pada prokariot memiliki sub unit besar dan kecil dengan koefisien sedimentasi (unit Svedberg), sub unit besar disebut 5S dengan ukuran nukleotida 120 dan 23S dengan ukuran nukleotida 2900, sedangkan sub unit kecil disebut 16S dengan ukuran nukleotida 1500. Bagian sub unit kecil atau 16S rRNA inilah urutan basa nukleotida tidak berubah selama evolusi (Boye dkk., 1999). Gen 16S rRNA merupakan bagian dari subunit kecil ribosom dan

berperan penting dalam pengenalan ujung 5'-mRNA serta memposisikan pada letak yang tepat dalam ribosom (Clarridge III, 2004).

Tiga jenis rRNA yang dimiliki prokariot, gen penyandi 16S rRNA paling sering digunakan sebagai penanda molekuler karena memiliki ukuran basa yang paling ideal dari segi analisis dibandingkan gen penyandi 5S rRNA dan 23S rRNA. Molekul 5S rRNA memiliki ukuran basa yang terlalu pendek sehingga tidak ideal untuk analisis, sementara molekul 23S rRNA memiliki struktur sekunder yang cukup panjang sehingga menyulitkan analisis (Weisburg dkk., 1991). Penggunaan urutan gen 16S rRNA sebagai penanda genetik telah dipejari secara filogenetik dan taksonomi dalam identifikasi bakteri karena memiliki beberapa alasan. Alasan tersebut antara lain (1) kehadirannya hampir pada semua bakteri, (2) fungsi dari gen 16S rRNA dari waktu ke waktu tidak berubah, dan (3) gen 16S rRNA mempunyai panjang 1.500 bp sehingga cukup besar untuk tujuan informatika (Janda dan Abbott, 2007).

Menurut Clarridge III (2004) bahwa Urutan gen 16S rRNA telah ditentukan untuk banyak strain. *Genbank* sebagai bank data terbesar urutan nukleotida, menyimpan lebih dari 20 juta urutan nukleotida dan hamper lebih dari 90.000 adalah gen 16S rRNA. Hal ini menunjukkan banyak urutan nuklotida yang disimpan sebelumnya adalah untuk membandingkan urutan dari suatu strain yang baru diketahui. Selain itu, gen 16S rRNA bersifat universal dalam bakteri sehingga dapat digunakan untuk menganalisis hubungan kekerabatan antar

bakteri mulai dari tingkat genus dari berbagai filum sampai pada tingkat strain yaitu spesies dan sub spesies.

F. Hipotesis

1. Penambahan bakteri lokal dominan pada lumpur aktif dapat meningkatkan kemampuan bioremediasi oli bekas kendaraan bermotor sebesar 5% sampai dengan 50%.
2. Bakteri lokal dominan yang berperan dalam bioremediasi oli bekas kendaraan bermotor yang adalah genus *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Bacillus*, dan *Staphylococcus*.