

**APLIKASI BAKTERI HIDROKARBONOKLASTIK (*Alcaligenes* sp. DAN  
*Bacillus* sp.) PADA TANAH TERCEMAR LIMBAH MINYAK PELUMAS  
BEKAS DENGAN TEKNIK BIOAUGMENTASI**

**SKRIPSI**

*Diajukan Sebagai Salah Satu Persyaratan Memperoleh Gelar Sarjana Sains*



**MARCLORYNE AGNESIA  
15032033/2015**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS NEGERI PADANG  
2019**

**HALAMAN PERSETUJUAN SKRIPSI**  
**APLIKASI BAKTERI HIDROKARBONOKLASTIK (*Alcaligenes* sp. DAN**  
***Bacillus* sp.) PADA TANAH TERCEMAR LIMBAH MINYAK PELUMAS**  
**BEKAS DENGAN TEKNIK BIOAUGMENTASI**

Nama : Marcloryne Agnesia  
NIM/TM : 15032033/2015  
Program Studi : Biologi  
Jurusan : Biologi  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Padang, April 2019

Disetujui Oleh:

Pembimbing



Dr. Yuni Ahda, S.Si, M.Si  
NIP. 19690629 199403 2 003

## PENGESAHAN LULUS UJIAN SKRIPSI

Dinyatakan lulus setelah dipertahankan di depan Tim Penguji Skripsi

Program Studi Biologi Jurusan Biologi

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Negeri Padang

**Judul** : Aplikasi Bakteri Hidrokarbonoklastik (*Alcaligenes* sp. dan *Bacillus* sp.) pada Tanah Tercemar Limbah Minyak Pelumas Bekas dengan Teknik Bioaugmentasi

**Nama** : Marcloryne Agnesia

**NI M/TM** : 15032033/2015

**Program Studi** : Biologi

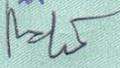
**Jurusan** : Biologi

**Fakultas** : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

**Institusi** : Universitas Negeri Padang

Padang, April 2019

### Tim Penguji

	Nama	Tanda Tangan
1. Ketua	: Dr. Yuni Ahda, S.Si, M.Si	1. 
2. Sekretaris	: Dr. Hj. Vauzia, M.Si	2. 
3. Anggota	: Indra Hartanto, S.TP, MP	3. 

## SURAT PERNYATAAN TIDAK PLAGIAT

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

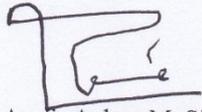
Nama : Marcloryne Agnesia  
NIM/TM : 15032033/2015  
Program Studi : Biologi  
Jurusan : Biologi  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dengan ini menyatakan bahwa, skripsi saya dengan judul “Aplikasi Bakteri Hidrokarbonoklastik (*Alcaligenes* sp. dan *Bacillus* sp.) pada Tanah Tercemar Minyak Pelumas Bekas dengan Teknik Bioaugmentasi” adalah benar hasil karya sendiri dan bukan hasil plagiat dari karya orang lain. Sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya, pendapat yang ditulis atau diterbitkan orang lain kecuali sebagai acuan atau kutipan dengan mengikuti tata penulisan karya ilmiah yang lazim.

Demikianlah pernyataan ini saya buat dengan penuh kesadaran dan rasa tanggung jawab sebagai anggota masyarakat ilmiah.

Padang, 6 Mei 2019

Diketahui oleh,  
Ketua Jurusan Biologi



Dr. Azwir Anhar, M. Si.  
NIP.19561231 198803 1 009

Saya yang menyatakan,



Marcloryne Agnesia  
NIM. 15032033

## ABSTRAK

**Marcloryne Agnesia, 2019.** “Aplikasi Bakteri Hidrokarbonoklastik (*Alcaligenes* sp. dan *Bacillus* sp.) pada Tanah Tercemar Limbah Minyak Pelumas Bekas dengan Teknik Bioaugmentasi”

Minyak pelumas bekas merupakan salah satu bahan pencemar pada kawasan tanah. Jika dibiarkan secara terus menerus, limbah minyak pelumas bekas yang mencemari tanah ini bisa berdampak pada kesehatan manusia dan berkurangnya kesuburan tanah. Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk mengatasi pencemaran ini adalah bioremediasi. Salah satu teknik bioremediasi adalah bioaugmentasi, yaitu proses pemasukan mikroorganisme yang alami ataupun yang telah direkayasa secara genetika ke lingkungan tercemar.

Penelitian ini dilakukan secara eksperimen dengan rancangan acak lengkap 2 faktor, yaitu faktor A untuk perlakuan jenis bakteri (*Bacillus* sp., *Alcaligenes* sp., dan konsorsium kedua jenis bakteri tunggal), sedangkan faktor B merupakan frekuensi bioaugmentasi (1, 2, 3, 4, 5, dan 6 kali bioaugmentasi). Dengan begitu, maka diperoleh sebanyak 18 unit kombinasi antar perlakuan. Hasil yang diamati adalah persentase penurunan TPH pada setiap perlakuan. Pengamatan dilakukan setiap 7 hari sekali selama total masa inkubasi 42 hari.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsorsium bakteri *Bacillus* sp. dan *Alcaligenes* sp. dengan jumlah frekuensi bioaugmentasi sebanyak 6 kali adalah kombinasi perlakuan yang terbaik dalam mendegradasi TPH yang terdapat pada tanah tercemar minyak pelumas bekas serta terdapat interaksi antara perlakuan jenis bakteri dengan jumlah bioaugmentasi. Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa jenis bakteri dan total jumlah bakteri dapat berpengaruh terhadap degradasi TPH pada tanah tercemar minyak pelumas bekas.

kata kunci: Bioremediasi, Bioaugmentasi, *Bacillus* sp., *Alcaligenes* sp, Konsorsium, TPH (*Total Petroleum Hydrocarbon*).

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji syukur penulis sampaikan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunianya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “**Aplikasi Bakteri Hidrokarbonoklastik (*Alcaligenes sp.* dan *Bacillus sp.*) pada Tanah Tercemar Limbah Minyak Pelumas Bekas dengan Teknik Bioaugmentasi**”. Shalawat dan salam untuk Nabi Muhammad SAW yang telah membawa umat manusia dari kejahiliahn kepada peradaban yang berilmu pengetahuan dan berakhlak mulia.

Dalam penyelesaian skripsi ini penulis banyak mendapat sumbangan pikiran, ide, bimbingan, dorongan, serta motivasi yang sangat berarti. Untuk itu, penulis ucapkan terimakasih kepada pihak-pihak berikut ini.

1. Ibu Dr. Yuni Ahda, S.Si, M.Si. sebagai dosen pembimbing yang telah banyak menyediakan waktu, tenaga, pikiran, dan kesabaran dalam memberikan bimbingan, arahan, saran, dan motivasi dalam menyelesaikan skripsi ini.
2. Ibu Dr. Hj. Vauzia, M.Si dan Bapak Indra Hartanto, S.TP, MP sebagai dosen penguji yang telah memberikan masukan, saran, kritik, arahan dan koreksi untuk perbaikan skripsi.
3. Ibu Dr. Dwi Hilda, S.Si, M. Biomed sebagai dosen pembimbing akademik yang telah memberikan bimbingan, nasihat dan arahan selama perkuliahan.
4. Bapak Pimpinan Jurusan Biologi, Bapak/Ibu Dosen Jurusan Biologi, Bapak/Ibu PLP dan Laboran serta Karyawan Jurusan Biologi FMIPA UNP yang telah membantu kelancaran penulis dalam menempuh pendidikan.

5. Teristimewa untuk kedua orang tua dan keluarga yang telah memberikan dukungan moral, materi, serta doa yang tak pernah putus untuk penulis.
6. Rekan-rekan tim penelitian bioremediasi yang telah memberikan bantuan dan pelajaran yang sangat berarti.
7. Rekan-rekan mahasiswa, khususnya Biologi Sains A 2015 dan adik-adik angkat di biologi, serta pihak lainnya yang telah memberikan dukungan dan bantuan selama penelitian.

Semoga segala bantuan yang telah Bapak/Ibu dan rekan-rekan mahasiswa berikan menjadi amal ibadah di sisi Allah SWT. Penulis telah berusaha semaksimal mungkin untuk menyelesaikan skripsi ini, namun jika masih terdapat kesalahan yang luput dari koreksi penulis, penulis menyampaikan maaf dan mengharapkan kritik dan saran untuk kesempurnaan skripsi ini. Harapan penulis semoga skripsi ini bermanfaat bagi para pembaca.

Padang, April 2019

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>ABSTRAK .....</b>	<b>i</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>ii</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>iv</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>v</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>vi</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
A.Latar Belakang.....	1
B.Batasan Masalah .....	5
C.Rumusan Masalah.....	5
D.Tujuan Penelitian .....	6
E.Manfaat penelitian.....	6
F.Hipotesis Penelitian.....	7
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
A.Minyak Pelumas dan Senyawa Hidrokarbon.....	8
B.Peranan Bakteri Hidrokarbonoklastik dalam Menurunkan TPH .....	10
C.Bioremediasi dengan Teknik Bioaugmentasi.....	16
D.Faktor Lingkungan.....	19
<b>BAB III METODE PENELITIAN</b>	
A.Jenis Penelitian .....	23
B.Waktu dan Tempat Penelitian .....	23
C.Alat dan Bahan.....	23
D.Rancangan Penelitian.....	24
E.Prosedur Penelitian.....	25
F.Analisis Data .....	28
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
A. Hasil Penelitian.....	29
4.1 Degradasi TPH .....	29
4.2 Analisis Data .....	30
4.2.1 Hasil Analisis Data.....	30
4.2.2 Uji Lanjut DNMRT pada Taraf 5% .....	31
B. Pembahasan.....	32
<b>BAB V. PENUTUP.....</b>	<b>39</b>
A.Kesimpulan .....	39
B.Saran .....	39
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>40</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>45</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Strain bakteri dan rantai karbon yang dimanfaatkannya.....	13
Tabel 2. Kombinasi perlakuan antara jenis bakteri dengan jumlah bioaugmentasi .....	24
Tabel 3. Hasil ANOVA persentase degradasi TPH selama 6 minggu. ....	30
Tabel 4. Hasil uji lanjut DNMRT taraf 5% interaksi jenis bakteri dan frekuensi bioaugmentasi.....	31

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Data persentase degradasi TPH minggu ke-1 (bioaugmentasi 1) sampai minggu ke-6 (bioaugmentasi ke-6) .....	45
Lampiran 2. Uji lanjut duncan jenis bakteri.....	45
Lampiran 3. Uji lanjut duncan frekuensi bioaugmentasi .....	46
Lampiran 4. Uji lanjut duncan interaksi jenis bakteri dan frekuensi bioaugmentasi .....	46

## **BAB I PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang**

Jumlah alat transportasi yang semakin meningkat dipicu oleh pertumbuhan populasi dan kendaraan bermotor. Hal ini mendorong peningkatan jumlah kegiatan usaha bengkel yang melayani jasa perawatan dan perbaikan kendaraan bermotor. Kegiatan usaha bengkel memiliki dampak positif dan dampak negatif. Dampak positifnya adalah memberi kontribusi bagi Pendapatan Asli Daerah (PAD), memberikan kesejahteraan, serta memberikan kesempatan kerja untuk masyarakat. Sebaliknya, kegiatan usaha bengkel berpotensi menimbulkan persoalan lingkungan berupa kebisingan, pencemaran tanah, pencemaran air, pencemaran udara, ataupun gangguan kesehatan. Selain itu, persoalan lingkungan yang lebih serius dapat ditimbulkan oleh limbah bahan berbahaya dan beracun (B3) yang terkandung di dalam minyak pelumas bekas (Bawamenewi, 2015).

Minyak pelumas adalah campuran kompleks hidrokarbon dan senyawa-senyawa organik lain yang digunakan untuk melumasi bagian-bagian mesin mobil agar mesin bekerja dengan lancar. Setelah masa pemakaian sebagai pelumas berakhir, maka minyak pelumas bekas akan mengandung lebih banyak logam dan *Polycyclic Aromatic Hydrocarbon* (PAH). PAH bersifat mutagenik dan karsinogenik. Senyawa PAH bila 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 sumsum tulang. 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 (Basuki, 2011).

Salah satu upaya secara biologis dalam mengatasi akibat pencemaran hidrokarbon pada tanah adalah dengan melakukan bioremediasi. Bioremediasi merupakan penggunaan mikroorganisme yang telah dipilih untuk ditumbuhkan pada polutan tertentu sebagai upaya untuk menurunkan kadar polutan tersebut. Pada saat proses bioremediasi berlangsung, enzim-enzim yang diproduksi oleh mikroorganisme memodifikasi struktur polutan beracun menjadi tidak kompleks (Priadie, 2012). Menurut Sopiah (2012), untuk meningkatkan keefektifan penggunaan mikroorganisme dalam bioremediasi dapat dilakukan dengan dua strategi, yaitu biostimulasi yang merupakan suatu teknik menambahkan nutrisi tertentu dengan tujuan merangsang aktivitas mikroorganisme setempat (indigenous); dan yang kedua adalah bioaugmentasi, yaitu dengan mengintroduksi mikroorganisme tertentu pada daerah yang akan diremediasi. Dalam beberapa hal, teknik bioaugmentasi juga diikuti dengan penambahan nutrisi tertentu.

Bioaugmentasi merupakan penambahan populasi yang sangat terkonsentrasi ke situs terkontaminasi dengan senyawa beracun dan merugikan. Teknik ini cocok digunakan untuk situs yang tidak memiliki jumlah sel mikroba yang mencukupi dan kemampuan metabolisme bakteri asli yang masih kurang (Swannell *et al.* dalam Tyagi, 2010).

Berdasarkan hasil penelitiannya, Towell (2011) menyimpulkan bahwa bioaugmentasi menggunakan inokulum pendegradasi hidrokarbon yang diberikan ke tanah mengalami peningkatan respirasi secara signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa bioaugmentasi inokulum tersebut bekerja dengan baik terhadap penurunan *14C-phenyldodecane* pada hidrokarbon. Towell (2011), juga menyatakan bahwa proses degradasi hidrokarbon tidak hanya bergantung pada proses katabolik inokulum yang digunakan pada bioremediasi, tetapi juga dipengaruhi oleh jumlah inokulum yang dimasukkan kedalam tanah.

Biodegradasi minyak pelumas bekas pada suatu lokasi dapat terjadi karena bantuan berbagai kelompok mikroorganisme, terutama bakteri yang berasal dari lokasi tercemar. Mikroorganisme kelompok ini yang juga dikenal sebagai kelompok petrofil mampu mendegradasi kisaran luas target yang ada pada cemaran berminyak (Basuki, 2011).

Sinaga (2013), melaporkan bahwa *Bacillus* sp. ICBB 7859 dan ICBB 9461 mampu menurunkan *Total Petroleum Hydrocarbon* (TPH) minyak pelumas bekas sampai di bawah 1% selama enam minggu, dan *Bacillus* sp. ICBB 5071 mampu menurunkan TPH minyak pelumas bekas sampai di bawah 1% selama lima minggu.

Gofar (2012), telah menemukan 9 isolat bakteri hidrokarbonoklastik yang mampu tumbuh pada medium mengandung minyak bumi secara *in vitro*. Dua isolat terbaik dalam mendegradasi senyawa hidrokarbon minyak bumi adalah: *Pseudomonas alcaligenes* (I5) dan *Alcaligenes faecalis* (I8). *P. alcaligenes* dan *A. faecalis* mampu menurunkan TPH berturut-turut sebesar 63 dan 70%.

Kemampuan kedua isolat dalam mendegradasi senyawa hidrokarbon 6,5-7,0 kali lebih tinggi dibandingkan kontrol.

Ahda, dkk (2016) telah berhasil mengisolasi bakteri pendegradasi hidrokarbon pada lingkungan tercemar minyak pelumas bekas. Ahda dkk (2018), juga telah mengidentifikasi isolat bakteri yang berpotensi sebagai pendegradasi minyak pelumas bekas. Berdasarkan karakteristik morfologi dan uji biokimiawi, ada tiga spesies bakteri yang didapatkan dari tanah tercemar minyak pelumas bekas pada bengkel di kota Padang, yaitu *Bacillus* sp.1 (isolat D1 dan D3), *Bacillus* sp.2 (isolat D2), dan *Alcaligenes* sp. (isolat D4). Isolat bakteri D4 merupakan isolat terbaik dengan hasil positif terhadap berbagai uji biokimia seperti uji katalase dan oksidase, serta uji daerah halo yang menunjukkan bahwa isolat *Bacillus* sp. (C1) dan *Alcaligenes* sp. (D4) ini memiliki potensi untuk mendegradasi minyak pelumas bekas.

Fransiska (2018), telah melakukan penelitian bioremediasi terhadap perbaikan lingkungan tercemar limbah minyak pelumas bekas dengan metode biostimulasi menggunakan isolat *Bacillus* sp. (C1) dan *Alcaligenes* sp. (D4).

Dalam hasil penelitiannya, Fransiska (2018), menyatakan bahwa tingkat keberhasilan proses bioremediasi isolat C1 dan D4 selama 30 hari telah mencapai 28,02% dan 28,30%. Sementara itu, persentase tertinggi dalam bioremediasi menggunakan metode biostimulasi ini adalah perlakuan konsorsium kedua jenis isolat bakteri tersebut, yaitu sebanyak 31,26%.

Berdasarkan hasil tersebut, maka penulis meneruskan penelitian aplikasi isolat bakteri *Bacillus* sp. (C1) dan *Alcaligenes* sp. (D4) pada tanah tercemar

limbah minyak pelumas bekas menggunakan teknik bioaugmentasi. Penelitian ini dilakukan dengan meninjau persentase penurunan nilai TPH pada tanah tercemar limbah minyak pelumas bekas sebagai hasil dari proses bioremediasi. Dalam hal ini, penulis melakukan bioremediasi dengan teknik bioaugmentasi menggunakan bakteri *Bacillus* sp. dan *Alcaligenes* sp. serta kompos kotoran sapi 3% sebagai sumber nutrisi tambahannya.

## **B. Batasan Masalah**

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Bakteri yang digunakan adalah:
  - Isolat tunggal (*Bacillus* sp. dan *Alcaligenes* sp) dan
  - Konsorsium (*Bacillus* sp. + *Alcaligenes* sp.)
2. Sumber nutrisi tambahan untuk bakteri yang digunakan adalah kompos kotoran sapi sebanyak 3% dari jumlah tanah.
3. Frekuensi bioaugmentasi bakteri *Bacillus* sp. dan *Alcaligenes* sp. terhadap tanah tercemar limbah minyak pelumas bekas adalah 1, 2, 3, 4, 5, dan 6 kali bioaugmentasi.
4. Yang diamati dalam penelitian ini adalah penurunan TPH (*Total Petroleum Hydrocarbon*) pada tanah.

## **C. Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang dan batasan masalah, masalah dalam penelitian ini dirumuskan dalam bentuk pertanyaan sebagai berikut:

1. Bakteri manakah yang paling baik dalam menurunkan kadar TPH pada tanah tercemar limbah minyak pelumas bekas dengan metode bioaugmentasi?

2. Pada bioaugmentasi ke-berapakah didapatkan penurunan kadar TPH pada tanah tercemar minyak pelumas bekas yang paling baik?
3. Apakah terdapat interaksi antara jenis bakteri dan jumlah bioaugmentasi dalam menurunkan kadar TPH pada tanah tercemar limbah minyak pelumas bekas?

#### **D. Tujuan Penelitian**

Berdasarkan rumusan masalah, tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Menentukan jenis bakteri yang paling baik dalam menurunkan kadar TPH pada tanah tercemar limbah minyak pelumas bekas dengan metode bioaugmentasi.
2. Menentukan jumlah bioaugmentasi yang paling baik dalam menurunkan kadar TPH pada tanah tercemar minyak pelumas bekas.
3. Mengetahui interaksi antara jenis bakteri dan jumlah bioaugmentasi dalam menurunkan kadar TPH pada tanah tercemar minyak pelumas bekas.

#### **E. Manfaat penelitian**

1. Memberikan pengetahuan kepada masyarakat tentang keberhasilan metode bioaugmentasi dalam menangani pencemaran lingkungan, khususnya pencemaran tanah oleh limbah minyak pelumas bekas.
2. Menambah wawasan ilmu pengetahuan di bidang Bioteknologi dan Mikrobiologi.
3. Memberikan sumber informasi bagi penelitian selanjutnya dalam proses bioremediasi minyak pelumas bekas.

**F. Hipotesis Penelitian**

1. Terdapat jenis bakteri yang paling baik dalam proses bioremediasi dengan menggunakan metode bioaugmentasi pada limbah minyak pelumas bekas.
2. Terdapat frekuensi bioaugmentasi yang paling baik dalam menurunkan kadar TPH pada tanah tercemar minyak pelumas bekas.
3. Terdapat interaksi antara jenis bakteri dan jumlah bioaugmentasi dalam menurunkan kadar TPH pada tanah tercemar minyak pelumas bekas.