

**UJI AKTIVITAS DAN IDENTIFIKASI BAKTERI
PENDEGRADASI POLIURETAN DARI SERASAH RUMPUT
GAJAH (*Pennisetum purpureum* Schumach.) DAN KAYU JATI
(*Tectona grandis* Linn. f.) LAPUK**

TESIS

**Disusun untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat Magister
Program Studi Biosains**



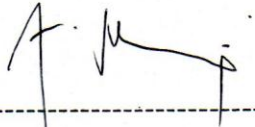

**Oleh
Farah Aldila
S901508006**

**PROGRAM PASCA SARJANA
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
SURAKARTA
2019**

**UJI AKTIVITAS DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PENDEGRADASI
POLIURETAN DARI SERASAH RUMPUT GAJAH (*Pennisetum
purpureum* Schumach.) DAN KAYU JATI
(*Tectona grandis* Linn. f.) LAPUK**


TESIS

**Oleh
Farah Aldila
NIM S901508006**

Komisi Pembimbing	Nama	Tanda Tangan	Tanggal
Pembimbing I	Dr. Ari Susilowati, M.Si. NIP. 19690428 199702 2 006		27/19 /6
Pembimbing II	Dr. Ratna Setyaningsih, M.Si. NIP. 19660714 199903 2 001		27/19 /6

**Telah dinyatakan memenuhi syarat
Pada tanggal27-06-..... 2019**

Ketua Program Studi Biosains
Program Pascasarjana UNS



Dr. Ari Susilowati, M.Si.
NIP. 19690428 199702 2 006

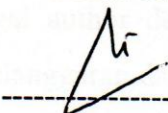



**UJI AKTIVITAS DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PENDEGRADASI
POLIURETAN DARI SERASAH RUMPUT GAJAH (*Pennisetum
purpureum* Schumach.) DAN KAYU JATI
(*Tectona grandis* Linn. f.) LAPUK**

TESIS

Oleh
Farah Aldila
NIM S901508006

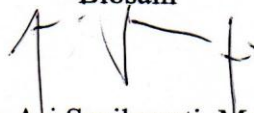
Telah dipertahankan di depan penguji
dan dinyatakan telah memenuhi syarat
pada tanggal 26 - 07 - 2019

Tim Penguji :

Jabatan	Nama	Tanda Tangan	Tanggal
Ketua	Dr. Artini Pangastuti, M.Si. NIP. 19750531 200003 2 001		31 / 2019 07
Sekretaris	Prof. Dr. Sunarto, M.S. NIP. 19540605 199103 1 002		31 / 2019 07
Anggota	Dr. Ari Susilowati, M.Si. NIP. 19690428 199702 2 006		31 / 2019 07
Penguji	Dr. Ratna Setyaningsih, M.Si. NIP. 19660714 199903 2 001		31 / 2019 07

Mengetahui :


 Direktur
 Program Pascasarjana UNS
Prof. Drs. Sutarno, M.Sc., Ph.D
 NIP. 19600809 198612 1 0014

Ketua Progam Studi
 Biosain

Dr. Ari Susilowati, M.Si.
 NIP. 19690428 199702 2 006

PERNYATAAN KEASLIAN DAN PERSYARATAN PUBLIKASI

Saya menyatakan dengan sebenarnya bahwa :

1. Tesis yang berjudul “Uji Aktivitas Dan Identifikasi Bakteri Pendegradasi Poliuretan Dari Serasah Rumput Gajah (*Pennisetum Purpureum* Schumach.) Dan Kayu Jati (*Tectona Grandis* Linn. F.) Lapuk“ ini adalah karya penelitian saya sendiri dan tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik, serta tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali secara tertulis dikutip dalam daftar pustaka. Apabila ternyata di dalam naskah Proposal Tesis ini dapat dibuktikan terdapat unsur jiplakan, saya bersedia Tesis serta gelar Magister saya dibatalkan, serta diproses berdasarkan peraturan perundang-undangan yang berlaku.
2. Publikasi sebagian atau keseluruhan isi tesis pada jurnal atau forum ilmiah harus menyatakan tim promotor sebagai author dan PPs UNS sebagai institusinya. Apabila saya melakukan pelanggaran dari ketentuan publikasi ini, maka saya bersedia mendapat sanksi akademik yang berlaku.

Surakarta, Juli 2019

Mahasiswa,

Farah Aldila
S901508006

Farah Aldila. NIM. S901508006. 2019. Uji Aktivitas Dan Identifikasi Bakteri Pendegradasi Poliuretan Dari Serasah Rumput Gajah (*Pennisetum Purpureum* Schumach.) Dan Kayu Jati (*Tectona Grandis* Linn. F.) Lapuk. Tesis. Pembimbing I: Dr. Ari Susilowati, M.Si., pembimbing II : Dr. Ratna Setyaningsih, M.Si. Program Studi Biosain, Program Pascasarjana Universitas Sebelas Maret Surakarta.

ABSTRAK

Poliuretan merupakan bahan polimer dengan struktur kimia yang fleksibel, sehingga dapat diolah menjadi berbagai macam produk. Polimer tersebut memiliki kekuatan tensil dan titik leleh yang tinggi, sehingga menjadikannya sangat kuat dan sukar terdegradasi secara alami. Poliuretan memiliki potensi besar sebagai bahan pencemar, sehingga apabila tidak segera ditangani dapat menimbulkan bahaya bagi kelestarian lingkungan hidup. Metode penanggulangan yang dianggap ramah lingkungan adalah dengan menggunakan mikroorganisme tertentu sebagai pengurai. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh isolat bakteri yang mampu mendegradasi poliuretan. Bakteri yang hidup pada serasah rumput gajah ataupun pada kayu jati yang telah lapuk, diduga dapat mendegradasi polimer lignoselulosa yang sangat kompleks pada tempat hidupnya, sehingga diharapkan pula memiliki kemampuan untuk mendegradasi polimer kompleks seperti poliuretan.

Isolasi bakteri dilakukan dengan menginokulasikan sampel serasah rumput gajah dan kayu jati lapuk pada media *Luria Bertani* (LB) yang telah dikombinasikan dengan penambahan poliuretan (Impranil). Seleksi bakteri potensial dilakukan dengan melihat adanya zona bening yang terbentuk pada media seleksi. Aktivitas biodegradasi diamati dengan IR-spektrofotometri. Identifikasi bakteri dilakukan berdasarkan pengamatan karakter morfologi dan sekuen gen penyandi 16S rRNA yang diamplifikasi dengan *Polymerase Chain Reactions* (PCR) menggunakan primer 63f dan 1387r. Urutan basa nukleotida hasil sekuensing disejajarkan dengan data *GeneBank* menggunakan program BLAST-N (*Basic Local Alignment Search Tool Nucleotida*) dari situs NCBI (*National Center for Biotechnology Information*).

Penelitian ini menghasilkan 4 bakteri potensial, yakni K9, K10 dan R2 yang teridentifikasi memiliki kemiripan dengan *Bacillus* sp., serta bakteri R5 yang memiliki kemiripan dengan genus *Brevibacillus* sp.

Kata kunci : biodegradasi, poliuretan, rumput gajah, kayu jati.

Farah Aldila. NIM. S901508006. 2019. Activity Test and Identification of Polyurethane Degrading Bacteria from Elephant Grass Litter (*Pennisetum Purpureum* Schumach.) and Decayed Teak Wood (*Tectona Grandis* Linn. F.). Tesis. Supervisors I: Dr. Ari Susilowati, M.Si.; II : Dr. Ratna Setyaningsih, M.Si. Bioscience, Graduate Program, Sebelas Maret University, Surakarta.

ABSTRACT

Polyurethane is a polymer material with a flexible chemical structure, therefore it can be processed into a variety of products. The polymer has a high tensile strength and melting point, making it very strong and difficult to be naturally degrade, which made it a potential pollutant to the environmen. Countermeasure methods that are considered the most environmentally friendly is to use certain microorganisms as decomposers. The aim of the study was to obtain potential bacterial isolates which able to degrade polyurethanes. Bacteria that live on elephant grass litter or the decayed teak wood, are thought to be able to degrade lignocellulose polymers that are very complex in their place of life, so it is also expected to have the ability to degrade complex polymers such as polyurethane.

Bacterial isolation was carried out by inoculating samples of elephant grass litter and decayed teak wood on Luria Bertani (LB) media which had been combined with the addition of polyurethane (Impranil). Potential bacteria activity shown by the clear zone formed araound the colony. Biodegradation activity was observed by IR-spectrophotometry. Bacterial identification was carried out based on observations of morphological characters and sequences of 16S rRNA encoding genes amplified with Polymerase Chain Reactions (PCR) using primers 63f and 1387r. The sequence of nucleotide bases from sequencing results is aligned with the GeneBank data using the BLAST-N (Basic Local Alignment Search Tool Nucleotida) program from the NCBI website (National Center for Biotechnology Information).

This study produced 4 potential bacteria, namely K9, K10 and R2 which were identified to have similarities with *Bacillus* sp., And R5 bacteria which had similarities with the genus *Brevibacillus* sp.

Kata kunci : biodegradation, polyurethane, elephant gras,teak wood.

MOTTO

"Dan janganlah kamu berputus asa dari rahmat Allah. Sesungguhnya tiada berputus dari rahmat Allah melainkan orang-orang yang kufur"
(QS Yusuf : 87)

"Maka sesungguhnya bersama kesulitan itu ada kemudahan"
(QS. Al Insyirah : 5)

"A Life Without a risk is a life unlived"

"Ketakutan tidak ada di mana pun kecuali dalam pikiran"

HALAMAN PERSEMBAHAN

Karya ini kupersembahkan pada :

Ayah rahimahulloh, yang selalu memberi doa dan spirit untuk menempuh jenjang ini.

Ibu serta adikku yang selalu memberi doa, dukungan, semangat dan keceriaan, sehingga tidak dapat saya diskripsikan seluruhnya.

Suami dan anakku yang selalu memberikan doa, kasih sayang, dukungan, harapan, motivasi dan recharge energi...*you are my world.*

Almamaterku, Universitas Sebelas Maret.

KATA PENGANTAR

Syukur alhamdulillah penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas limpahan rahmat dan karunia-Nya yang tiada terhingga sehingga tesis dengan judul "Uji Aktivitas Dan Identifikasi Bakteri Pendegradasi Poliuretan Dari Serasah Rumput Gajah (*Pennisetum Purpureum* Schumach.) Dan Kayu Jati (*Tectona Grandis* Linn. F.) Lapuk" ini dapat terselesaikan. Penyusunan tesis ini merupakan suatu syarat untuk memperoleh gelar kesarjanaan strata 2 (S2) pada Prodi Biosain Program Pasca Sarjana, Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Nilai penting dari penelitian ini adalah dalam penemuan agen pendegradasi poliuretan baru yang diisolasi dari bahan organik alam, sehingga dapat memperkaya keberagaman jenis bakteri sebagai salah satu agen bioremediasi lingkungan. Identifikasi bakteri yang diperoleh, selanjutnya dapat digunakan dan dikembangkan untuk mengetahui enzim yang dihasilkan sehingga dapat dimanfaatkan lebih lanjut dalam upaya biodegradasi limbah.

Penulis menyadari bahwa tulisan ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran yang bersifat membangun sehingga tulisan ini dapat menjadi lebih baik dan bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Surakarta, Juli 2019

Penulis

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah, puji syukur kami panjatkan kehadirat Alloh SWT sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul “Uji Aktivitas Dan Identifikasi Bakteri Pendegradasi Poliuretan Dari Serasah Rumput Gajah (*Pennisetum Purpureum* Schumach.) Dan Kayu Jati (*Tectona Grandis* Linn. F.) Lapuk”. Pada kesempatan ini, dengan segenap kerendahan hati, penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Rektor Universitas Sebelas Maret Surakarta yang telah memberikan izin belajar di Universitas Sebelas Maret.
2. Direktur Program Pascasarjana Universitas Sebelas Maret Surakarta yang telah memberikan izin belajar di program studi Biosains.
3. Ketua Program Studi Biosains yang telah memberikan bimbingan dan dukungan dalam menyelesaikan pembelajaran.
4. Dr. Ari Susilowati, M.Si, selaku dosen pembimbing I, atas bimbingan dan perhatiannya kepada penulis dalam melakukan penyusunan tesis.
5. Dr. Ratna Setyaningsih, M.Si, selaku dosen pembimbing II yang telah banyak memberikan arahan dan saran selama penyusunan tesis.
6. Dr. Artini Pangastuti, M.Si., selaku dosen penguji atas masukan dan kritik yang diberikan sehingga tesis ini dapat menjadi lebih baik.
7. Prof. Dr. Sunarto, M.S., selaku dosen penguji yang telah memberikan banyak masukan dan saran dalam perbaikan tesis ini.
8. Semua dosen di Program Studi Biosains yang telah memberikan banyak ilmu dan pengalaman kepada penulis.
9. Ayah rohimahulloh, ibu, adik, suami dan anakku atas ketulusan, doa dan semangat yang tiada pernah habis, serta teman-teman Prodi Biosains, yang selalu memberikan dukungan, motivasi dan keceriaan.

Semoga Alloh membalas semua kebaikan yang telah diberikan, dengan balasan yang jauh lebih baik, *jazzakumulloh khoiron katsiiron*.

DAFTAR ISI

	Hal
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN PEMBIMBING	ii
HALAMAN PENGESAHAN PENGUJI.....	iii
PERNYATAAN ORISINALITAS PROPOSAL TESIS.....	iv
ABSTRAK.....	v
ABSTRACT.....	vi
MOTTO.....	vii
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	viii
KATA PENGANTAR	ix
UCAPAN TERIMA KASIH.....	x
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang Masalah	2
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian.....	5
D. Manfaat Penelitian	5
BAB II LANDASAN TEORI	
A. Tinjauan Pustaka	6
1. Poliuretan.....	6
2. Biodegradasi poliuretan	8
a. Bakteri Pendegradasi Poliuretan	8
b. Analisis menggunakan IR-spektrofotometer.....	11
3. Rumput gajah (<i>Pennisetum purpureum</i> Schumach).....	12
4. Kayu Jati (<i>Tectona grandis</i> linn)	15
5. Gen 16S rRNA	17
B. Kerangka Berfikir.....	18
C. Hipotesis	22
BAB III METODE PENELITIAN	
A. Tempat dan Waktu Penelitian	23
B. Alat dan Bahan Penelitian	23
1. Alat.....	23
2. Bahan.....	24
C. Prosedur Penelitian.....	24
1. Pengambilan sampel	24

2.	Pembuatan media pengayaan.....	24
3.	Isolasi bakteri potensial pendegradasi poliuretan.....	25
4.	Pemurnian bakteri	26
5.	Seleksi untuk memperoleh isolat bakteri potensial	26
6.	Pengujian struktur poliuretan dengsn Infra Red (IR) Spektrofotometer	27
7.	Identifikasi isolat terpilih	27
	a. Pengamatan morfologi koloni	27
	b. Pewarnaan gram	28
8.	Ekstraksi, amplifikasi dan identifikasi DNA bakteri	28
9.	Analisis data	30
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		
A.	Isolat bakteri serasah rumput gajah dan kayu jati lapuk yang memiliki aktivitas degradasi terhadap poliuretan	31
B.	Aktivitas degradasi oleh bakteri potensial pendegradasi poliuretan dalam medium selektif cair	35
C.	Aktivitas degradasi oleh bakteri potensial pendegradasi poliuretan berdasarkan Uji FTIR	37
D.	Identitas bakteri potensial pendegradasi poliuretan berdasarkan karakter morfologi	42
E.	Identitas bakteri potensial pendegradasi poliuretan berdasarkan karakter molekuler gen 16S rRNA	44
F.	Hubungan kekerabatan bakteri potensial pendegradasi poliuretan berdasarkan gen 16S rRNA	47
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN		
A.	Kesimpulan.....	50
B.	Saran	50
DAFTAR PUSTAKA		xvi

DAFTAR TABEL

	Hal
Tabel 1. Bakteri hasil isolasi dari kayu jati lapuk.....	31
Tabel 2. Bakteri hasil isolasi dari serasah rumput gajah.....	32
Tabel 3. Bakteri yang memiliki aktivitas biodegradasi terhadap poliuretan.....	34
Tabel 4. Karakter morfologi koloni bakteri potensial pendegradasi poliuretan.....	43
Tabel 5. Karakter morfologi sel bakteri potensial pendegradasi poliuretan.....	43
Tabel 6. Kemiripan sekuen gen 16s rRNA bakteri potensial pendegradasi poliuretan, menggunakan program BLAST-N	45

DAFTAR GAMBAR

	Hal
Gambar 1. Struktur kimia poliuretan	7
Gambar 2. Mekanisme biodegradasi rantai poliuretan oleh enzimesterase	10
Gambar 3. Lignoselulosa dalam dinding sel	10
Gambar 4. Rumput gajah.....	14
Gambar 5. Pohon jati.....	15
Gambar 6. Skema kerangka berfikir	21
Gambar 7. Aktivitas degradasi poliuretan pada media selektif agar	35
Gambar 8. Aktivitas degradasi poliuretan pada medium cair setelah diinkubasi selama 10 hari dengan isolat potensial hasil isolasi	35
Gambar 9. Spektrum infra merah poliuretan (Impranil DL 1380) kontrol tanpa perlakuan, area absorbansi 1735 cm ⁻¹ menunjukkan keberadaan gugus ester	37
Gambar 10. Spektrum infra merah poliuretan setelah inkubasi selama 10 hari dengan isolat K9, terjadi perubahan peak pada area absorbansi 1735 cm ⁻¹	38
Gambar 11. Spektrum infra merah poliuretan setelah inkubasi selama 10 hari dengan isolat K10. Area absorbansi 1735 cm ⁻¹ menghilang dan area absorbansi 1637 cm ⁻¹ menjadi lebih tajam	39
Gambar 12. Spektrum infra merah poliuretan setelah inkubasi selama 10 hari dengan isolat R2. Area absorbansi 1735 cm ⁻¹ menjadi lebih dangkal dan area absorbansi 1636 cm ⁻¹ menjadi lebih tajam	40
Gambar 13. Spektrum infra merah poliuretan setelah inkubasi selama 10 hari dengan isolat R5. Area absorbansi 1735 cm ⁻¹ menghilang dan area absorbansi 1632 cm ⁻¹ menjadi lebih tajam	40
Gambar 14. Elektroforegram amplikon gen penyandi 16S rRNA keempat isolat bakteri potensial pendegradasi poliuretan	44
Gambar 15. Pohon filogenetik bakteri potensial pendegradasi poliuretan dengan beberapa spesies bakteri potensial terdekat berdasarkan gen penyandi 16S rRNA dengan metode Neighbor Joining (NJ)	48

DAFTAR LAMPIRAN

	Hal
Lampiran 1. Hasil analisis Contig sekuen gen 16S rRNA masing-masing bakteri potesial pendegradasi poliuretan.....	52
Lampiran 2. Persentase kemiripan bakteri dengan data di <i>GeneBank</i> berdasarkan sekuen penyandi 16S rRNA	54
Lampiran 3. Hasil uji poliuretan kontrol dan poliuretan setela inkubasi dengan isolat potensial	56