

**ANALISIS KEANEKARAGAMAN MIKROBA HASIL
NEXT GENERATION SEQUENCING (NGS) PADA PROSES
ANAEROBIC DIGESTION LIMBAH POME (*PALM OIL MILL
EFFLUENT*) DAN TANAH GAMBUT DALAM PRODUKSI
GAS METAN**

TUGAS AKHIR



ANGGIE TRI AGUSTI

1162005020

**PROGRAM STUDI TEKNIK LINGKUNGAN
FAKULTAS TEKNIK DAN ILMU KOMPUTER
UNIVERSITAS BAKRIE**

JAKARTA

2020

**ANALISIS KEANEKARAGAMANMIKROBA HASIL
NEXT GENERATION SEQUENCING (NGS) PADA PROSES
ANAEROBIC DIGESTION LIMBAH POME (*PALM OIL MILL
EFFLUENT*) DAN TANAH GAMBUT DALAM PRODUKSI
GAS METAN**

TUGAS AKHIR

Diajukan sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar Sarjana Teknik



ANGGIE TRI AGUSTI

1162005020

**PROGRAM STUDI TEKNIK LINGKUNGAN
FAKULTAS TEKNIK DAN ILMU KOMPUTER**

UNIVERSITAS BAKRIE

JAKARTA

2020

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Tugas Akhir ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun yang dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Angie Tri Agusti

NIM : 1162005020

Tanda Tangan : 


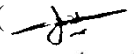

Tanggal : 24 Agustus 2020

HALAMAN PENGESAHAN

Nama : Angie Tri Agusti
NIM : 1162005020
Program Studi : Teknik Lingkungan
Fakultas : Teknik dan Ilmu Komputer
Judul Skripsi : Analisis Keanekaragaman Mikroba Hasil *Next Generation Sequencing* (NGS) Pada Proses *Anaerobic Digestion* Limbah POME (*Palm Oil Mill Effluent*) Dan Tanah Gambut Dalam Produksi Gas Metan

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan untuk melakukan penelitian pada Program Studi Teknik Lingkungan, Fakultas Teknik dan Ilmu Komputer, Universitas Bakrie.

DEWAN PENGUJI

Pembimbing : Aqil Azizi, S.Pi., M.Appl.Sc., Ph.D ()
Penguji 1 : Sandra Madonna, S.Si., M.T. ()
Penguji 2 : Diki Surya Irawan, S.T., M.Si. ()

Ditetapkan di : Jakarta

Tanggal : 24 Agustus 2020

KATA PENGANTAR

Dengan mengucapkan syukur Alhamdulillah atas kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karunia – Nya, akhirnya penulis dapat menyelesaikan penyusunan Tugas Akhir ini sebagai salah satu prasyarat dalam menyelesaikan Program Studi Teknik Lingkungan Universitas Bakrie. Pada Tugas Akhir ini penulis membahas tentang Analisis Keanekaragaman Mikroba Hasil *Next Generation Sequencing* (NGS) Pada Proses *Anaerobic Digestion* Limbah POME (*Palm Oil Mill Effluent*) Dan Tanah Gambut Dalam Produksi Gas Metan.

Pada proses penyusunannya hingga terwujudnya Tugas Akhir ini, penulis banyak mendapat bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak. Untuk itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Keluarga yang selalu mendukung dan mendoakan Penulis agar diberikan kelancaran dalam penulisan Proposal Tugas Akhir.
2. Yth. Bapak Aqil Azizi, S.Pi., M.Appl.Sc., Ph.D selaku Ketua Program Studi S1 Teknik Lingkungan Universitas Bakrie dan Dosen Pembimbing Tugas Akhir
3. Bapak Diki Surya Irawan, S.T., M.Si selaku dosen pembimbing akademik penulis selama menempuh pendidikan di Universitas Bakrie sekaligus Dosen Penguji II Tugas Akhir .
4. Ibu Sandra Madonna, S.Si., M.T., selaku dosen penguji I Tugas Akhir yang sudah memberikan masukan terhadap penyusunan Tugas Akhir
5. Ibu Sirin Fairus, S.T.P., M.T., Ibu Deffi Ayu Puspito Sari, S.TP., M.Agr., Ph.D., Ibu Prisma Nursetyowati, S.T., M.T., Ibu Irna Rahmaniar, S. T., M.T., selaku Dosen Program Studi Teknik Lingkungan Universitas Bakrie yang telah memberikan ilmu yang bermanfaat bagi Penulis.
6. Mas Erdy selaku *staff* program studi Teknik Lingkungan Universitas Bakrie.
7. Dwiany Mustika Sari dan Ilham Ardi Wiratama selaku teman seperbimbingan Tugas Akhir yang selalu memberikan dukungan kepada

penulis dalam penyusunan Tugas Akhir Ini.

8. Syauqy Khansa Arifa selaku teman seperjuangan Tugas Akhir yang selalu memberikan dukungan positif dan menyemangati penulis dalam penyusunan Tugas Akhir.
9. Teman – teman seperjuangan Teknik Lingkungan Universitas Bakrie angkatan 2016 Shylviana Denauli, Medinah Nur Khalifah, Nathalie Anjanie Poetri, Werin Erofani Sinaga, Rr. Alifianatifa Anandya P, Malikhattrun Nikmah, Alifia Rahmah, Anggita Ariesta, Nur Nadila Rahmanti, Novita, Diyah Maharani, Tricahyo Firdaus, Yogi Supiarman, Lingga Damarmeru, Wildan Kusuma Ramadhan, Agung Tri Kuncoro yang selalu mendukung dalam penyusunan Tugas Akhir Ini.
10. Teman – teman Desaaigha Yumni Amanda Poetri, Ayu Sepriwanti, Syafitri Rinjani, Licia Septi Hendri, Zakia Nur Halima, Nia Febri Yani G, Zikri Fadhillah, Fikri ‘Adli Tetrandi dan Achmad Raafi yang selalu menyemangati penulis dalam penyusunan Tugas Akhir ini.
11. Danty Welmin dan Suciarti dari Sekolah Tinggi Ilmu Statistika yang sudah membantu penulis dalam memahami metode statistika.
12. Semua Pihak yang sudah membantu penyusunan Tugas Akhir ini sampai selesai.

Akhir kata, penulis menyadari bahwa masih ada kekurangan baik dalam penyusunan maupun penulisan Tugas Akhir ini. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun demi kesempurnaan di masa yang akan datang. Penulis juga mengharapkan karya tulis ini dapat bermanfaat bagi diri sendiri khususnya dan bagi para pembaca umumnya.

Jakarta, 22 Agustus 2020



Angie Tri Agusti

HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI

Senagai civitas akademik Universitas Bakrie, saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Anggie Tri Agusti
NIM : 1162005020
Program Studi : Teknik Lingkungan
Fakultas : Teknik dan Ilmu Komputer
Jenis Tugas Akhir : Studi Eksperimental

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Bakrie **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty-Free Right*)** atas karya ilmiah saya yang berjudul

Analisis Keanekaragaman Mikroba Hasil *Next Generation Sequencing* (NGS) Pada Proses *Anaerobic Digestion* Limbah POME (*Palm Oil Mill Effluent*) Dan Tanah Gambut Dalam Produksi Gas Metan

Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Bakrie berhak menyimpan, mengalihmedia,formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data(*database*), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta untuk kepentingan akademis.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Jakarta

Pada tanggal : 24 Agustus 2020

Yang menyatakan



Anggie Tri Agusti

**ANALISIS KEANEKARAGAMAN MIKROBA HASIL NEXT
GENERATION SEQUENCING (NGS) PADA PROSES ANAEROBIC
DIGESTION LIMBAH POME (PALM OIL MILL EFFLUENT) DAN
TANAH GAMBUT DALAM PRODUKSI GAS METAN**

Anggie Tri Agusti

ABSTRAK

Sejak 2011 beberapa perusahaan kelapa sawit tertarik menggunakan metan dan biogas sebagai pembangkit tenaga listrik untuk kebutuhan internal pabrik dan menggantikan penggunaan minyak solar. Peraturan Menteri Nomor 27 tahun 2014 mengenai feed-in tariff energi terbarukan dari biogas dan biomassa mendorong minat penjualan listrik dari proyek konversi POME menjadi energi ke jaringan Perusahaan Listrik Negara (PLN). Sehingga para pemilik pabrik dapat menjual listrik kepada PLN. POME (*Palm Oil Mill Effluent*) merupakan limbah dengan bahan organik tinggi, yang membahayakan perairan bila dibuang secara langsung dan melepaskan gas metan ke atmosfer. Tanah gambut mengandung banyak metanogen diharapkan berpotensi sebagai sumber mikroba dalam mendekomposisi limbah organik termasuk POME. Dekomposisi bahan organik menjadi metan melalui beberapa proses oleh berbagai jenis mikroba yang berbeda. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui potensi produksi gas metan dari POME dan tanah gambut, menganalisis keanekaragaman mikroba, dominansi mikroba dan memprediksi peran dari mikroba dominan pada proses pembentukan metan. Keanekaragaman ini dapat diketahui dengan analisis menggunakan indeks Shannon-wiener, indeks Simpson dan kelimpahan relatif yang selanjutnya di analisa dengan *Principal Component Analysis* (PCA). POME sebagai substrat dan tanah gambut sebagai inokulum pada anaerobic digestion terbukti meningkatkan produksi gas metan dibandingkan tanpa substrat dan tanah gambut dengan jumlah gas metan sebanyak 900 ml/L berbanding 750 ml/L. Keanekaragaman hasil NGS (*Next Generation Sequencing*) bakteri terdiri dari 40 filum dan 127 ordo, dan archaea terdiri dari 3 filum dan 11 ordo. Mikroba yang berperan pada pembentukan metan adalah *Acidobacteriales*, *Solibacterales*, *Bacteroidales*, *Anaerolineales*, *E2*, *Methanomicrobiales*, *Methanosarcinales*. Hasil penelitian ini dapat menjadi landasan perusahaan kelapa sawit untuk mengembangkan proyek pembangunan pembangkit listrik tenaga biogas, dengan memanfaatkan limbah POME dan tanah gambut.

Kata Kunci : *Anaerobic Digestion*, Gas Metan, *Next Generation Sequencing* (NGS), *Palm Oil Mill Effluent* (POME), Tanah Gambut –

NEXT-GENERATION SEQUENCING (NGS) BIODIVERSITY ANALYSIS ON ANAEROBIC DIGESTION PROCESS OF POME WASTE (PALM OIL MILL EFFLUENT) AND PEAT SOIL IN METHANE GAS PRODUCTION

Anggie Tri Agusti

ABSTRACT

Since 2011, several palm oil companies have been interested in using methane and biogas as power plants for internal mill needs and replacing the use of diesel oil. Ministerial Regulation Number 27 of 2014 regarding the feed-in tariff for renewable energy from biogas and biomass has encouraged interest in selling electricity from the POME-to-energy conversion project to the State Electricity Company (PLN) network. So that factory owners can sell electricity to PLN. POME is a waste with high organic matter, which endangers the water if disposed of directly and releases methane gas into the atmosphere. Peat soil contains many methanogens that are expected to have the potential as a source of microbes in decomposing organic waste including POME. The decomposition of organic matter into methane goes through several processes by different types of microbes. The purpose of this study was to determine the potential for methane gas production from POME and peat soils, to analyze microbial diversity, microbial dominance and to predict the role of dominant microbes in the methane formation process. This diversity can be identified by analysis using the Shannon-Wiener index, Simpson's index, and relative abundance which is further analyzed by Principal Component Analysis (PCA). POME as a substrate and peat soil as an inoculum in anaerobic digestion has been shown to increase methane gas production compared to non-substrate and peat soil with methane gas amounts of 900 ml / L versus 750 ml / L. The diversity of results from NGS (Next Generation Sequencing) bacteria consists of 40 phyla and 127 orders, and archaea consists of 3 phyla and 11 orders. The microbes that play a role in methane formation are *Acidobacteriales*, *Solibacterales*, *Bacteroidales*, *Anaerolineales*, *E2*, *Methanomicrobiales*, *Methanosarcinales*. The results of this research can become the basis for oil palm companies to develop a biogas power plant development project, utilizing POME waste and peat soil.

Keywords: Anaerobic Digestion, Methane Gas, Next Generation Sequencing (NGS), Palm Oil Mill Effluent (POME), Peat Soil -

DAFTAR ISI

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
KATA PENGANTAR.....	v
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI	vii
ABSTRAK.....	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR SINGKATAN	xv
BAB I.....	1
PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
1.5 Ruang Lingkup Penelitian	4
BAB II	5
TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Pengolahan Kelapa Sawit	5
2.2 <i>Anaerobic Digestion</i>	6
2.4.1 Konversi Bahan Organik pada Proses Anaerob Menjadi Biogas	7
2.4.2 Komponen Pembangkit Tenaga Listrik Tenaga Biogas.....	9
2.5 Tanah gambut	10
2.6 Analisis Metagenom.....	11
2.7 <i>Next Generation Sequencing (NGS)</i>	11
2.8 <i>Operational Taxonomy Unit (OTU)</i>	12
2.9 Keanekaragaman.....	13
2.10 Kelimpahan Relatif	15
2.11 <i>Principal Component Analysis (PCA)</i>	15

2.12 XLStat 2020.....	16
2.13 Bioaugmentasi	16
2.12Penelitian Terdahulu	17
BAB III.....	19
METODOLOGI PENELITIAN.....	19
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	19
3.2 Alat dan Bahan Penelitian	19
3.3 Metode Penelitian	19
3.4 Diagram Alir Penelitian.....	19
3.5 Pengambilan Data Sekunder.....	20
3.5.2 Tahap-Tahap Analisa Metagenom	21
3.6 Pengolahan Data <i>Next Generation Sequencing</i> (NGS).....	22
3.6.1 Perhitungan Indeks Keanekaragaman	22
3.6.2 Perhitungan Kelimpahan Relatif.....	23
3.6.3 <i>Principal Component Analysis</i> (PCA)	24
BAB IV	31
4.1 Produksi Metan	31
4.2 Hasil <i>Next Generation Sequencing</i> (NGS).....	33
4.2.1 Hasil <i>Next Generation Sequencing</i> (NGS) pada Bakteri.....	33
4.2.2 Hasil <i>Next Generation Sequencing</i> (NGS) pada Archaea	45
4.3 Perubahan Keanekaragaman Bakteri dan Archaea pada <i>Anaerobic Digestion</i>	50
4.4 <i>Principal Component Analysis</i> (PCA)	53
4.4.1 PCA Bakteri Dari Sampel <i>Anaerobic Diegstion</i> A dan B.....	53
4.4.2 PCA Bakteri Dari Seluruh Sampel.....	54
4.4.3 PCA Archaea DariSampel <i>Anaerobic Diegstion</i> A dan B	55
4.4.4. PCA Archaea Dari Seluruh Sampel	56
4.5 Aplikasi Hasil Produksi Metan Dari <i>Anaerobic Digestion</i> POME Dan Tanah Gambut	57
KESIMPULAN DAN SARAN.....	59
5.1 Kesimpulan.....	59
5.2 Saran.....	59
DAFTAR PUSTAKA	60

LAMPIRAN	65
Lampiran 1. OTU Table hasil Next Generation Sequencing (NGS).....	66
Lampiran 2. Perhitungan Indeks Shannon-Wiener	67
Lampiran 3. Hasil Indeks Shannon Wiener dan Indeks Simpson pada sampel Tanah Gambut.....	69
Lampiran 4. Perhitungan Kelimpahan Relatif.....	76
Lampiran 5. Hasil Analisis <i>Principal Component Analysis</i> (PCA)	77

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Penelitian terdahulu	17
Tabel 3.1 Komposisi <i>Anaerobic Digestion</i>	21
Tabel 3.2 Kode Sampel Hasil Sekuens	21
Tabel 3.3 Data Kelimpahan Archaea Tanpa Sampel Tanah Gambut dan POME	25
Tabel 3.4 <i>Summary Statistics</i>	25
Tabel 3.5 <i>Eigenvalues Table</i>	26
Tabel 3.6 <i>Loading Factor Table</i>	27
Tabel 3.7 Tabel Korelasi Antara Variabel dan Faktor	27
Tabel 3.8 Kosinus Kuadrat dari Variabel	28
Tabel 3.9 <i>Factor Scores Table</i>	29
Tabel 4.1 Produksi Metan Pada <i>Anaerobic Digestion</i> A, B dan C	31
Tabel 4.2 Produksi Metan Pada <i>Anaerobic Digestion</i> A dan B	33
Tabel 4.3 Indeks Keanekaragaman Bakteri (<i>Alpha Diversity</i>) berdasarkan jumlah sekuens	34
Tabel 4.4 Kelimpahan Relatif dan Perubahan Komunitas Bakteri Sampai Level Ordo Dalam <i>Anaerobic Digestion</i>	36
Tabel 4.5 Indeks Keanekaragaman Archaea (<i>Alpha Diversity</i>) berdasarkan jumlah sekuens	46
Tabel 4.6 Perubahan Komunitas Archaea Pada Level Ordo Dalam <i>Anaerobic Digestion</i>	47
Tabel 4.7 Peran Mikroba Dominan Pada Tiap Fase	52
Tabel 4.8 Contoh Perhitungan Kelimpahan Relatif	76

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Diagram Pembangkit Tenaga Listrik Tenaga Biogas	9
Gambar 3.1 Diagram Alir Penelitian	20
Gambar 3.2 Diagram Alir Pengambilan Kesimpulan Peran Mikroba Yang Didapatkan Dari Kelimpahan Relatif.....	24
Gambar 3.3 <i>Scree Plot</i>	27
Gambar 3.4 <i>Loading Plot</i>	28
Gambar 3.5 Grafik <i>Score Plot</i>	29
Gambar 3.6 Grafik <i>Score Plot</i>	29
Gambar 3.7 Grafik <i>Biplot/Scatter Plot</i>	30
Gambar 4. 1 Produksi Total Metan Pada <i>Anaerobic Digestion</i> A, B dan C	32
Gambar 4.2 Produksi Metan Pada <i>Anaerobic Digestion</i> A dan B.....	33
Gambar 4.3 Kelimpahan Relatif Filum Bakteria Hasil <i>Next Generation Sequencing</i> (NGS).	43
Gambar 4.4 Kelimpahan Relatif Ordo Bakteria hasil <i>Next Generation Sequencing</i> (NGS).	44
Gambar 4.5 Kelimpahan Relatif Filum Archaea Hasil <i>Next Generation Sequencing</i> (NGS).	48
Gambar 4.6 Kelimpahan Relatif Ordo Archaea Hasil <i>Next Generation Sequencing</i> (NGS).	48
Gambar 4.7 Grafik <i>Biplot</i> antara komponen utama F1 dan F2	53
Gambar 4.8 Grafik <i>Biplot</i> antara komponen utama F1 dan F2	54
Gambar 4.9 Grafik <i>Biplot</i> antara komponen utama F1 dan F2	55
Gambar 4. 10 Grafik <i>Biplot</i> antara komponen utama F1 dan F2	56

DAFTAR SINGKATAN

AcoD	: <i>anaerobic co-digestion</i>
BLASTN	: <i>Basic Local Alignment Search Tool Nucleotide</i>
BOD	: <i>Biochemical Oxygen Demand</i>
C ₂ H ₅ OH	: methyl alkohol
CH ₃ OH	: methanol
CH ₄	: Metan
CO ₂	: Karbon Dioksida
COD	: <i>Chemical Oxygen Demand</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
FOG	: <i>Fats, oil and Grease</i>
GRK	: Gas rumah kaca
H ₂	: Hidrogen
H ₂ O	: Uap Air
H ₂ S	: Hidrogen Sulfida
IPCC	: <i>Intergovernmental Panel on Climate Change</i>
KR	: Kelimpahan Relatif
LPG	: <i>Liquefies Petroleum Gas</i>
N ₂	: Nitrogen
NGS	: <i>Next Generation Sequencing</i>
NH ₃	: Amonia
OTU	: <i>Operational Taxonomy Unit</i>
PCA	: <i>Principal Component Analysis</i>
PCR	: Polymerase Chain Reaction
PLN	: Perusahaan Listrik Negara
POME	: <i>Palm Oil Mill Effluent</i>
P-S	: Peat Soil (Tanah Gambut)
rRNA	: <i>Ribosomal ribonucleic acid</i>
SBS	: <i>Squencing-By-Synthesis</i>
VFA	: <i>Volatil Fatty Acid</i>