

JURNAL METAMORFOSA

Journal of Biological Sciences

ISSN: 2302-5697

<http://ojs.unud.ac.id/index.php/metamorfosa>

Isolasi Bakteri Selulolitik *Indigenous* Pendegradasi Limbah Tandan Kosong Kelapa Sawit

Isolation Of Indigenous Cellulolytic Bacteria Degrading Oil Palm Empty Fruit Bunches

Agustinur^{1*}, Yusrizal²

^{1,2}*Program studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Teuku Umar
Kampus Alue Peunyareng Meulaboh – Aceh Barat, Aceh, Indonesia*

**Email: agustinur.hamka@gmail.com*

INTISARI

Pertumbuhan industri kelapa sawit yang terus meningkat sampai saat ini menyebabkan limbah yang dihasilkan juga semakin banyak. Salah satu bagian dari kelapa sawit yang terbuang dan akhirnya menjadi limbah adalah tandan kosong kelapa sawit (TKKS). Komponen terbesar yang terkandung di dalam TKKS adalah selulosa. Komponen ini sangat sulit mengalami degradasi karena berbentuk kristal dan tidak dapat larut dalam air. Beberapa agens hayati dari kelompok bakteri diketahui dapat mendegradasi selulosa karena memiliki kemampuan selulolitik. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri dari limbah TKKS yang memiliki potensi selulolitik, sehingga nantinya dapat dimanfaatkan dalam mendegradasi limbah TKKS secara optimal. Tahapan penelitian dimulai dari pengambilan sampel TKKS terdekomposisi yang berada di area perkebunan kelapa sawit PT Agro Sinergi Nusantara Kabupaten Aceh Jaya, Aceh. Kemudian sampel tersebut dilakukan tahapan isolasi bakteri. Hasil isolasi tersebut telah diperoleh sebanyak 18 isolat bakteri. Selanjutnya isolat-isolat tersebut dipurifikasi dan diuji potensi selulolitiknya dengan cara ditumbuhkan pada media CMC. Berdasarkan hasil uji potensi selulolitik diperoleh sebanyak 15 isolat yang memiliki potensi dengan indikator terbentuknya zona bening di sekeliling koloni. Di antara 15 isolat tersebut terdapat 4 isolat bakteri dengan kategori potensi selulolitik tinggi berdasarkan nilai indeks selulolitiknya yaitu isolat BK608, BK610, BK713 dan BK818, dengan indeks selulolitik berturut-turut sebesar 9,94; 6,67; 5,39 dan 4,83.

Kata kunci: Bakteri; Selulolitik; Indigenous; Degradasi; Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS)

ABSTRACT

The growth of palm oil industry increasing continuously nowadays causes more waste produced from this commodity. One part of oil palm that is wasted and eventually becomes waste is oil palm empty fruit bunches (OPEFB). The largest component contained in OPEFB is cellulose. This component is very difficult to degrade because it is crystalline and insoluble in water. Several biological agents from the bacterial group are known to degrade cellulose because they have cellulolytic abilities. This study aims to isolate bacteria from OPEFB waste which has cellulolytic potential that can be used to degrade EFB waste optimally. The research stages began with sampling the decomposed OPEFB in the oil palm plantation area of PT Agro Sinergi Nusantara, Aceh Jaya Regency, Aceh. Then the bacterial isolation was carried out from the sample. The isolation results were 18 bacterial isolates. Furthermore, these isolates were purified and tested for the cellulolytic ability by inoculating on CMC media. The results of the cellulolytic ability test was 15 isolates had potency indicated of the formation of a clear zone around the colony. Among the 15 isolates, there were 4 bacterial isolates with high

cellulolytic potency categories based on cellulolytic index, namely isolates BK608, BK610, BK713 and BK818, with a cellulolytic index respectively 9.94; 6.67; 5.39 and 4.83.

Keyword: Bacteria, Cellulolytic, Indigenous, Degrading, Oil Palm Empty Fruit Bunches (OPEFB)

PENDAHULUAN

Kelapa sawit merupakan salah satu komoditas perkebunan yang memiliki nilai tinggi dalam perekonomian Indonesia. Saat ini, areal perkebunan kelapa sawit tersebar hampir di seluruh provinsi. Luas lahan kelapa sawit diperkirakan telah mencapai lebih dari 11,67 juta Ha dengan total produksi sebanyak 33,5 juta ton (Ditjenbun, 2016). Peningkatan produksi kelapa sawit diikuti pula dengan semakin bertambahnya limbah yang dihasilkan. Salah satu bagian kelapa sawit yang terbuang menjadi limbah adalah tandan kosong. Setiap pengolahan 1 ton tandan buah segar (TBS) akan dihasilkan tandan kosong kelapa sawit (TKKS) sebanyak 25% dari total tandan segar kelapa sawit yang dihasilkan (Santi *et al.*, 2018). Limbah tersebut belum dapat dimanfaatkan secara optimal oleh pabrik kelapa sawit, serta memerlukan waktu yang relatif lama untuk proses dekomposisi, yaitu sekitar 2-3 bulan (Trisakti *et al.*, 2017). Komponen terbesar yang terkandung dalam TKKS ini adalah lignoselulosa, dengan persentase selulosa mencapai 45,95%. Komponen ini sangat sulit terdegradasi karena berbentuk kristal dan tidak larut dalam air (Bassil *et al.*, 2015).

Mikroorganisme seperti bakteri selulolitik dapat mendegradasi selulosa karena memiliki kemampuan selulolitik untuk mendegradasi bahan organik (Febrianti *et al.*, 2017). Bakteri ini merupakan bakteri yang mampu menghasilkan enzim selulase untuk menghidrolisis selulosa menjadi produk yang lebih sederhana. Beberapa studi identifikasi bakteri selulolitik telah banyak dilaporkan antara lain karakterisasi dan identifikasi bakteri selulolitik dari usus rayap pekerja *Macrotermes gilvus* ditemukan jenis *Bacillus megaterium*, *B. flexus*, *B. abyssalis* (Ferbianto *et al.*, 2015) serta *Rigidoporus microporus* yang merupakan mikroorganisme yang menyerang akar tanaman (Putri *et al.*, 2019). Isolasi dan identifikasi bakteri selulolitik saluran pencernaan keong

emas (*pomacea canaliculata*) ditemukan *Burkholderia pseudomallei*, *Buttiauxella* sp., *Kluyvera* sp., dan *Actinobacillus* sp. (Al-Arif, 2012), serta isolasi dan identifikasi bakteri selulolitik yang terlibat dalam degradasi serat selulosa alam ditemukan *Pseudomonas asplenii* dan *Cellvibrio mixtus* subsp. *mixtus* (Lednicka dan Sings, 2000).

Penggunaan bakteri indigenous lebih diutamakan karena bakteri tersebut memiliki sifat toleransi yang tinggi terhadap kondisi lingkungan asalnya (Torsvik and Ovreas, 2008). Bakteri indigenous yang berhasil diisolasi dari berbagai limbah sebagian besar menunjukkan biodiversitas dan aktivitas potensial untuk dikembangkan.

BAHAN DAN METODE

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tandan kosong kelapa sawit (TKKS) yang sedang mengalami dekomposisi. Sampel diambil di perkebunan kelapa sawit milik PT Agro Sinergi Nusantara, Aceh Jaya. Media isolasi dan pertumbuhan bakteri yang digunakan adalah *Nutrient Agar* (NA) merk Oxoid, sementara untuk pengujian potensi selulolitik digunakan media *Carboxymethyl Cellulose* (CMC) dengan komposisi per liter yaitu Agar 10 g; NaNO₃, 2 g; K₂HPO₄, 0,5 g; MgSO₄.7H₂O, 0,02 g; MnSO₄.7H₂O, 0,02 g; FeSO₄.7H₂O, 0,02 g; CaCl₂.2H₂O, 5 g; 0,5% CMC (Arifin *et al.*, 2019).

Pengambilan sampel

Sampel berupa kompos dari limbah pertanian kelapa sawit diambil dari bagian atas dan tengah dari tumpukan TKKS. Kemudian diukur pH dan suhunya. Sampel kemudian dimasukkan ke dalam wadah untuk dibawa ke laboratorium.

Isolasi Bakteri

Sebanyak 25 gram sampel kompos TKKS dimasukkan ke dalam erlenmeyer berisi 225 ml aquades lalu divorteks dan dilakukan pengenceran berseri sampai didapat pengenceran 10^{-8} . Media yang digunakan untuk isolasi bakteri yaitu media Nutrien Agar (NA). Dari pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-8} diambil sebanyak 100 μ l suspensi kemudian diinokulasi pada media dengan menggunakan metode sebar (*spread plate*). Selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang 25°C selama 48 jam (Cappucino *et al.*, 2014).

Pemurnian Bakteri

Pemurnian bakteri dilakukan dengan mengambil koloni yang tumbuh terpisah dan menunjukkan karakter morfologi yang berbeda, kemudian diinokulasikan pada media baru dengan metode goresan secara kuadran dan diulang sebanyak 2 kali sehingga diperoleh koloni tunggal. Selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Isolat murni yang telah diperoleh kemudian ditumbuhkan pada media NA baru untuk digunakan pada uji lanjut.

Uji Potensi Selulolitik Isolat Bakteri

Uji potensi selulolitik dilakukan dengan menggunakan metode titik ke dalam media CMC plate dan diinkubasi pada suhu ruang 25°C selama 48 jam. Uji aktivitas selulolitik dilakukan dengan metode Gram's iodine dan dilakukan secara duplo (Kasana *et al.*, 2008). Koloni bakteri yang memiliki potensi aktivitas selulolitik diindikasikan dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni setelah diuji dengan Gram's iodine dan dibiarkan selama 3-5 menit. Selanjutnya dihitung Indeks aktivitas selulolitik dengan rumus:

$$IS = \frac{\text{diameter zona bening} - \text{diameter koloni}}{\text{diameter koloni}}$$

Karakterisasi Morfologi Isolat Bakteri Selulolitik Terpilih

Isolat bakteri yang menunjukkan potensi selulolitik dikarakterisasi morfologinya dengan

mengamati karakter koloni pada media pertumbuhan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil isolasi bakteri dari tandan kosong kelapa sawit diperoleh sebanyak 18 isolat bakteri. Bakteri tersebut mampu tumbuh pada lingkungan asalnya yang memiliki kisaran pH 4,5 – 6,6 dan suhu 50°C. pH dan suhu tersebut merupakan kondisi ketika proses dekomposisi sedang berlangsung dan memungkinkan keterlibatan mikroorganisme seperti bakteri, actinomisetes dan jamur (Ayilara *et al.*, 2020).

Hasil uji potensi selulolitik pada media CMC menunjukkan dari 18 isolat yang diujikan terdapat sebanyak 15 isolat yang menunjukkan potensi selulolitik, dengan indeks selulolitik seperti yang ditunjukkan pada Tabel 1. Isolat bakteri yang mampu tumbuh pada media CMC mengindikasikan bahwa isolat tersebut mampu mendegradasi dan memanfaatkan selulosa sebagai sumber karbon utama (Arifin *et al.*, 2019).

Tabel 1. Hasil uji potensi selulolitik isolat bakteri asal TKKS terdekomposisi

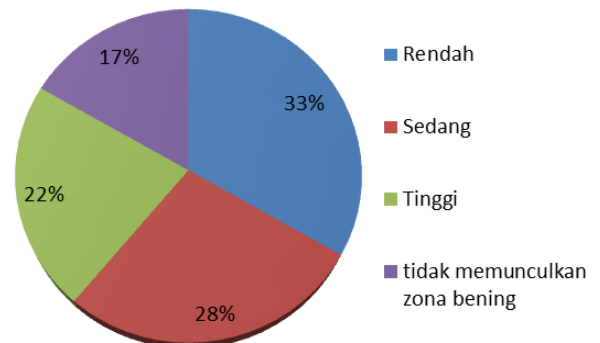
No	Kode Isolat	Indeks Selulolitik
1	BK612	3,89
2	BK503	1,87
3	BK814	1,44
4	BK605	3,25
5	BK713	5,39
6	BK402	2,67
7	BK607	0,88
8	BK611	1,67
9	BK609	0,52
10	BK818	4,83
11	BK817	2,22
12	BK815	3,22
13	BK504	1,22
14	BK608	9,94
15	BK610	6,67

Isolat yang memiliki potensi selulolitik ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar koloni bakteri sebagai salah satu akibat penguraian selulosa sebagai sumber

karbon utama yang ada dalam media. Penguraian tersebut dapat dilakukan karena bakteri mampu mensekresikan enzim selulase yang merupakan kelompok enzim yang dapat memutus ikatan β -1-4 glikosidik dalam molekul selulosa (Nelson and Cox, 2017). Menurut Hamka *et al.* (2016) kemampuan aktivitas selulase bakteri selulolitik sudah terlihat pada waktu inkubasi selama 36 jam.

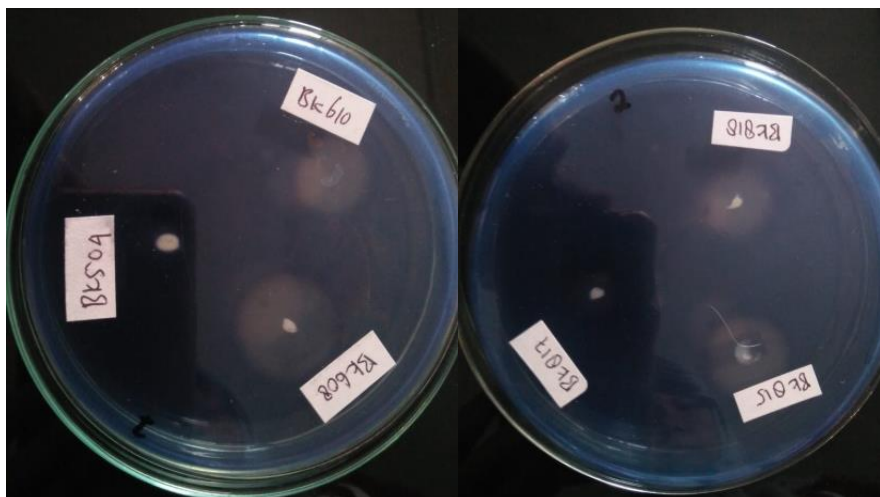
Data Tabel 1 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan indeks selulolitik diantara isolat yang diujikan. Perbedaan indeks selulolitik tersebut diduga karena enzim selulase yang dihasilkan oleh masing-masing bakteri memiliki potensi yang berbeda dalam menguraikan substrat yang ada pada media pertumbuhan. Isolat dengan kode BK608 merupakan isolat paling potensial dalam mendegradasi selulosa dengan indeks selulolitik sebesar 9,94. Menurut Dar *et al.* (2015), terdapat 3 kategori tingkat degradasi selulosa, yaitu tingkat degradasi tinggi jika indeks selulolitik yang dihasilkan lebih dari 4, tingkat degradasi sedang jika indeks selulolitik berada pada kisaran 2,0-3,9, dan tingkat degradasi rendah jika indeks selulolitik pada kisaran 0,5-1,9. Pada penelitian ini terdapat sebanyak 4 isolat bakteri yang menunjukkan potensi degradasi selulosa yang tinggi, yaitu isolat

dengan kode BK608, BK610, BK713 dan BK818 dengan indeks selulolitik berturut-turut sebesar 9,94; 6,67; 5,39 dan 4,83 (Tabel 1).



Gambar 1. Persentase jumlah isolat bakteri berdasarkan kategori potensi selulolitik

Persentase paling banyak adalah isolat dengan kemampuan degradasi rendah, yaitu sebesar 33% (Gambar 1), dan hanya 17% yang merupakan isolat yang tidak memperlihatkan zona bening. Isolat tersebut diduga tidak mampu menguraikan selulosa dengan baik karena aktivitas enzim selulasenya yang rendah. Dalam hal ini bakteri tersebut menggunakan sumber karbon yang lain dalam proses pengomposan TKKS.



Gambar 2. Hasil uji potensi selulolitik isolat bakteri pada media CMC (Sumber: Dokumentasi pribadi, 2020)

Sementara isolat dengan kemampuan degradasi selulosa kategori tinggi terdapat sebanyak 22%, dengan indikasi terbentuknya

zona bening di sekitar koloni bakteri (Gambar 2). Zona bening tersebut jelas terlihat setelah diuji dengan Gram's Iodin selama 3-5 menit.

Bagian zona bening merupakan produk hidrolisis selulosa berupa gula sederhana yang tidak membentuk kompleks ikatan dengan iodine. Sementara warna biru tua atau kehitaman merupakan sisa selulosa yang tidak teruraikan sehingga membentuk kompleks selulosa-iodine (Kasana *et al.*, 2008).

Keempat isolat yang menunjukkan potensi selulolitik tinggi dilakukan karakterisasi

sederhana secara morfologi dengan mengamati karakter bentuk, tepian, pigmentasi, optikal dan elevasi koloni seperti yang terlihat pada Tabel 2. Terdapat 3 isolat yang memiliki bentuk tak beraturan (*irreguler*) dan tepian bergelombang. Terdapat 3 isolat pula yaitu BK713, BK818 dan BK610 dengan optikal *opaque* atau tidak tembus cahaya.

Tabel 2. Karakterisasi morfologi koloni isolat bakteri dengan kategori potensi selulolitik tinggi

Kode Isolat	Bentuk koloni	Tepian koloni	Pigmentasi	Optikal	Elevasi
BK713	Tak beraturan	Bergelombang	Krem	Opaque	Konveks
BK818	Tak beraturan	Bergelombang	Krem	Opaque	Rata
BK608	Tak beraturan	Bergelombang	Putih	Transparan	Rata
BK610	Bulat	Rata	Krem	Opaque	Rata

Dari beberapa kajian potensi selulolitik bakteri, kelompok *Bacillus* merupakan salah satu kelompok paling banyak ditemukan dan memiliki kemampuan selulolitik. Khianngam *et al.* (2014) yang mengisolasi bakteri selulolitik dari kelapa sawit juga memperoleh sebanyak 8 isolat dari genus *Bacillus*, 1 isolat genus *Paenibacillus* dan 1 isolat genus *Lysinibacillus*. Rahayu *et al.* (2014) juga menemukan kelompok *Bacillus* paling banyak diantara isolat bakteri lain yang menunjukkan potensi selulolitik. Sejumlah isolat tersebut mampu mengradasi karboksimetil selulosa (CMC) yang digunakan sebagai satu-satunya sumber karbon.

KESIMPULAN DAN SARAN

Hasil isolasi bakteri dari sampel tandan kosong kelapa sawit diperoleh sebanyak 18 isolat, dengan 15 isolat yang memiliki potensi selulolitik. Isolat BK608, BK610, BK713 dan BK818 merupakan isolat yang memiliki potensi selulolitik kategori tinggi dengan indeks selulolitik berturut-turut sebesar 9,94; 6,67; 5,39 dan 4,83.

Empat isolat dengan potensi terbaik tersebut sebaiknya perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk identifikasi molekuler serta pengujian aktivitas enzim selulase pada setiap isolat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat (DRPM), Ditjen Penguatan Riset dan Pengembangan Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi yang telah membiayai seluruh penelitian ini melalui hibah bersaing skema Penelitian Dosen Pemula. Serta ucapan terima kasih kepada saudara Ovi Olivia dan Rahmat Hidayatdi yang telah banyak membantu dalam pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Arif, M.A., W. Darmanto, N.N.T. Puspansih dan Suwarno. 2012. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Selulolitik dengan Aktivitas Tinggi dalam Saluran Pencernaan Keong Mas (*Pomacea canaliculata*). *JBP*. 14(2): 86-92.
- Arifin, Z., I.B.W. Gunam, N.S. Antara dan Y. Setio. 2019. Isolasi Bakteri Selulolitik Pendegradasi Selulosa dari Kompos. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. 7(1): 30-37.
- Ayilara, M.S., O.S. Olanrewaju, O.O. Babalola and O. Odeyemi. 2020. Waste Management through Composting: Challenges and Potentials. *Sustainability*. 12 (4456): 1-23.
- Bassil, N., A. Bewsher, O.R. Thompson and J.R. Lloyd. 2015. *Microbial Degradation*

- of Cellulosic Material Under Intermediate Level Waste Simulated Conditions. *Mineralogical Magazine*. 79 (6): 1433-1441.
- Cappucino, J.G. and N. Sherman. 2014. *Microbiology: A Laboratory Manual*, 10th Edition. Pearson. New York.
- Dar, M.A., K.D. Pawar, J.P. Jadhav, dan R.S. Pandit. 2015. Isolation of Cellulolytic Bacteria from the Gastro-intestinal Tract of *Achatina Fulica* (Gastropoda: Pulmonata) and their Evaluation for Cellulose Biodegradation. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 98: 73–80.
- Ditjenbun. 2016. *Statistik Perkebunan Indonesia: Tree Crop Estate Statistics of Indonesia*. Ditjenbun. Jakarta.
- Febrianti, E., Periadnadi dan Nurmiati. 2017. Kecepatan Pertumbuhan dan Aktivitas Enzim Lignin Peroksidase Isolat Kapang Lignoselulolitik dalam Upaya Penanggulangan Sampah Organik Lignoselulosa. *Jurnal Metamorfosa*. 4 (1): 72-78.
- Ferbiyanto, A., I. Rusmana and R. Raffiudin. 2015. Characterization and Identification of Cellulolytic Bacteria from Gut of Worker *Macrotermes gilvus*. *Hayati Journal of Biosciences*. 22(2015): 197-200.
- Hamka, M. Rahman dan T.A. Susanti. 2016. Uji Aktivitas Selulase Bakteri Selulolitik yang Berasal dari Tandan Kosong Kelapa Sawit. *Buletin Loupe*. 13(1): 1-10.
- Kasana, Salwan, Dhar, Dutt dan Gulati. 2008. A Rapid dan Easy Method for the Detection of Microbial Cellulases on Agar Plates Using Gram's Iodine. *Current Microbiology*. 57 (2008): 503–507.
- Khiangnam, S., Y. Pootaeng-on, T. Techakriengkrai and S. Tanasupawat. 2014. Screening and Identification of Cellulase Producing Bacteria Isolated from Oil Palm Meal. *Journal of Applied Pharmaceutical Sciences*. 4(4): 90-96.
- Lednicka, D. And J. Swings. 2000. Isolation and Identification of Cellulolytic Bacteria Involved In the Degradation of Natural Cellulosic Fibres. *Systematic and Applied Microbiology*. 23(2): 292-299.
- Nelson, D.L. and M.M. Cox. 2017. *Lehninger Principles of Biochemistry 7th Edition*. Madison. New York.
- Putri, D., N. Nasir dan A. Agustien. Kemampuan Jamur Akar Putih (*Rigidoporus microporus* (Swatz:Fr) Van Ov.) dalam Mendegradasi Limbah Selulosa. *Jurnal Metamorfosa*. 6 (1): 102-105.
- Rahayu, A.G., Y. Haryani dan F. Puspita. 2014. Uji Aktivitas Selulolitik dari Tiga Isolat Bakteri *Bacillus* sp. Galur Lokal Riau. *JOM FMIPA*. 1(2): 319-327.
- Santi, L.P., D.N. Kalbuadi, and D. H. Goenadi. 2018. Empty Fruit Bunches As A Potential Source For Biosilica Fertilizer For Oil Palm. Prosiding Seminar Nasional Biologi Tropika pada 28 Juli 2018. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Torsvik, V. and L. Ovreas. 2008. Microbial Diversity, Liofe Strategies, and Adaptation to Life in Extreme Soils, in *Microbiology of Extreme Soils*. pp.15-43.
- Trisakti, B., P.Mhardela, T. Husaini, Irvan and H. Daimon. 2017. Production of Oil Palm Empty Fruit Bunch Compost for Ornament Plant Cultivation. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. 309 (2018): 1-8.