

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tandan kosong kelapa sawit (TKKS) merupakan salah satu limbah padat pengolahan kelapa sawit yang melimpah. Setiap pengolahan 1 ton tandan buah segar (TBS) akan dihasilkan sebanyak 22–23% TKKS atau sebanyak 220–230 kg TKKS. Limbah ini belum dimanfaatkan secara baik oleh sebagian besar pabrik kelapa sawit (PKS) di Indonesia. Komponen terbesar dalam limbah padat tersebut adalah selulosa (Fauzi, 2012), sehingga bakteri yang banyak tumbuh pada substrat ini adalah bakteri selulolitik.

Bakteri merupakan agen biologi penting yang mempunyai kemampuan dalam biodegradasi limbah. Kemampuan adaptasi bakteri yang tinggi memungkinkan untuk tumbuh pada substrat dan lingkungan yang tidak mendukung bagi pertumbuhan organisme lain (Bollag dan Bollag, 1992). Menurut Alimoeso (2009, *cit.* Yuniar, 2013) bakteri selulolitik akan mengeluarkan enzim selulase untuk mendegradasi selulosa menjadi senyawa C sederhana agar memperoleh energi dan sumber karbon. Bakteri selulolitik mempunyai peran terbesar dalam mendegradasi TKKS, karena selulase yang diproduksi merupakan enzim yang berperan dalam proses biokonversi limbah-limbah organik berselulosa yang spesifik memotong ikatan β -1,4 glikosidik pada selulosa, yaitu melibatkan enzim endoglukanase, eksoglukanase, dan β -glukosidase (Gerhartz, 1990; Miyamoto, 1997; Meryandini *et al.*, 2009).

Enzim selulase banyak digunakan dalam berbagai industri, tidak hanya di industri bioetanol, tetapi juga di industri pulp dan kertas, tekstil, deterjen, makanan dan pakan, pembuatan bir dan pertanian (Heikinheimo, 2002; Iqbal *et al.*, 2004; Karmakar dan Ray, 2011; Kuhad, Gupta dan Singh, 2011). Selulase dapat dihasilkan

oleh mikroba, salah satunya adalah bakteri. Kultur bakteri cukup sederhana, tumbuh dengan cepat, dan memiliki waktu generasi yang singkat, dan manfaat lainnya. Dengan demikian, bakteri memiliki potensi penerapan yang baik (Westers, Westers dan Quax, 2004). Enzim selulase bakteri bersifat stabil, pertumbuhannya cepat, memiliki variabilitas genetik yang luas, dan lebih mudah untuk direkayasa genetik. (Alam, Manchur dan Anwar, 2004; Kim *et al.*, 2009).

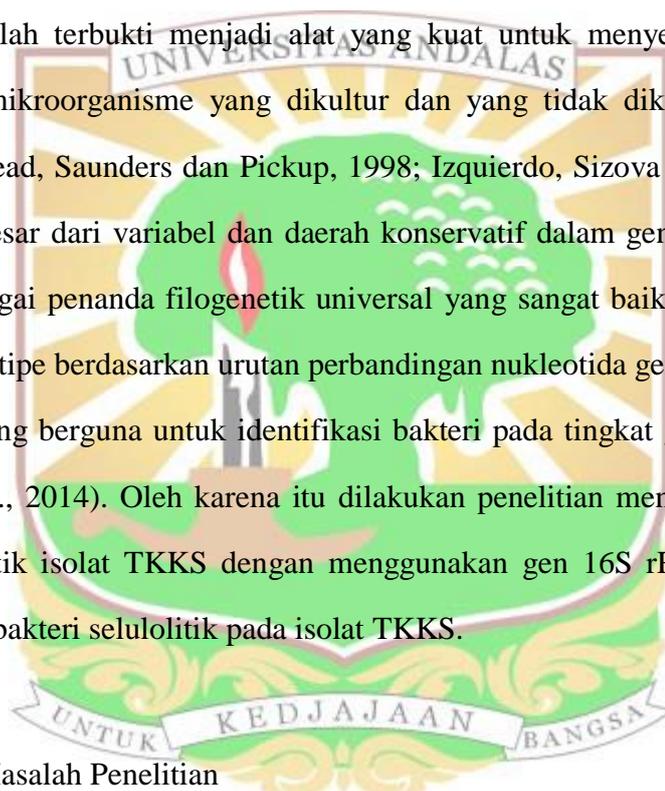
Studi identifikasi bakteri selulolitik telah banyak dilaporkan antara lain karakterisasi dan identifikasi bakteri selulolitik dari usus rayap pekerja *Macrotermes gilvus* ditemukan jenis *Bacillus megaterium*, *B. flexus* dan *B. abyssalis* (Ferbiyanto, Rusmana dan Raffiudin, 2015). Isolasi dan identifikasi bakteri selulolitik saluran pencernaan keong emas (*pomacea canaliculata*) ditemukan *Burkholderia pseudomallei*, *Buttiauxella* sp., *Kluyvera* sp., dan *Actinobacillus* sp. (Al-Arif *et al.*, 2012), dan isolasi dan identifikasi bakteri selulolitik yang terlibat dalam degradasi serat selulosa alam ditemukan *Pseudomonas asplenii* dan *Cellvibrio mixtus* subsp. *mixtus* (Lednická *et al.*, 2000).

Fadli, *et al.* (2015) melaporkan bahwa diperoleh lima isolat bakteri penghasil enzim selulase dari limbah TKKS dengan indeks selulolitik antara 1.3612 - 7.429. Tiga isolat bakteri penghasil enzim selulase tertinggi adalah Isolat ITK 9, ITK 10 dan ITK 12 dengan nilai indeks selulolitik (IS) berturut-turut sebesar 3.8665, 5.18425 dan 7.429. Nilai IS ketiga isolat tersebut lebih besar atau sama dengan 2 (≥ 2) yang mana menurut Sari (2012) bahwa nilai $IS \geq 2$ mengindikasikan bahwa isolat tersebut sebagai penghasil selulase potensial, sehingga dilakukan identifikasi terhadap ketiga isolat bakteri tersebut.

Proses karakterisasi bakteri berdasarkan karakter fenotip bakteri seperti pewarnaan Gram, morfologi koloni, dan aktivitas enzim seringkali tidak bersifat statis dan dapat berubah seiring dengan adanya evolusi. Kesalahan identifikasi seringkali

terjadi dikarenakan hadirnya karakteristik fenotip bakteri yang tidak biasa ataupun kurangnya pengalaman dalam menginterpretasikan data karakter fenotip. Hal ini menimbulkan hadirnya metode identifikasi secara molekuler menggunakan gen 16S rRNA (Petti, *et al.*, 2005). Metode identifikasi bakteri menggunakan sekuen 16S rRNA, memiliki beberapa keunggulan dibandingkan dengan metode konvensional diantaranya karena kecepatan dan keakuratan hasilnya (Dwinanto, 2011).

Selama beberapa dekade terakhir, analisis urutan sekuen 16S RNA ribosom (16S rRNA) telah terbukti menjadi alat yang kuat untuk menyelidiki keragaman mikroba dari mikroorganisme yang dikultur dan yang tidak dikultur dari sampel lingkungan. (Head, Saunders dan Pickup, 1998; Izquierdo, Sizova dan Lynd, 2010). Jumlah yang besar dari variabel dan daerah konservatif dalam gen 16S rRNA telah ditetapkan sebagai penanda filogenetik universal yang sangat baik. Oleh karena itu, penentuan genotipe berdasarkan urutan perbandingan nukleotida gen 16S rRNA telah menjadi alat yang berguna untuk identifikasi bakteri pada tingkat genus dan spesies (Nisiotou, *et al.*, 2014). Oleh karena itu dilakukan penelitian mengenai identifikasi bakteri selulolitik isolat TKKS dengan menggunakan gen 16S rRNA untuk dapat diketahui jenis bakteri selulolitik pada isolat TKKS.



1.2 Rumusan Masalah Penelitian

Berdasarkan latar belakang di atas maka didapatkan perumusan masalah sebagai berikut:

1. Apa sajakah jenis tiga isolat bakteri selulolitik yang potensial dari limbah tandan kosong kelapa sawit?
2. Bagaimanakah kedekatan filogenetik tiga isolat bakteri selulolitik yang potensial dari limbah tandan kosong kelapa sawit?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui jenis tiga isolat bakteri selulolitik yang diisolasi dari limbah tandan kosong kelapa sawit.
2. Mengetahui hubungan kedekatan tiga isolat bakteri selulolitik tersebut ditinjau dari pohon filogeninya.

1.4 Manfaat Penelitian

Dengan penelitian ini diharapkan jenis bakteri potensial penghasil enzim selulase dari limbah tandan kosong kelapa sawit telah diketahui sehingga dapat digunakan sebagai acuan untuk penelitian lanjutan.

