

## Potensi Limbah Padat Kelapa Sawit sebagai *Antibrowning* dan *Repellent Aedes Aegypti*

### (Potential of Solid Oil Palm Waste as an Antibrowning Repellent of *Aedes Aegypti*)

La Ode Sumarlin\*, Faturrahman, Sri Yadihal Chalid

(Diterima Juli 2018/Disetujui Februari 2019)

#### ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang potensi limbah padat kelapa sawit sebagai *antibrowning* dan *repellent Aedes aegypti*. Seiring dengan peningkatan luas perkebunan kelapa sawit maka jumlah limbah kelapa sawit pun meningkat. Limbah padat, cair, dan gas kelapa sawit dapat mencemari lingkungan sehingga diperlukan metode penanggulangan untuk mengatasinya. Selulosa, hemiselulosa, dan lignin yang terkandung di dalam limbah padat kelapa sawit dapat mengalami fermentasi anaerobik secara alami menghasilkan enzim sampah (*Garbage Enzyme*) yang digunakan sebagai *antibrowning* dan *repellent Aedes aegypti*. Indeks *browning* dan kadar polifenol diuji dengan metode Spektrofotometri UV Vis, sedangkan uji *repellent* menggunakan nyamuk *Aedes aegypti* dan formula dioleskan pada kulit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tingkat keasaman (pH) berkisar antara 3,54–4,15. Sifat *antibrowning* tertinggi terdapat pada Serabut Kelapa Sawit (SKS) dan Bungkil Kelapa Sawit (BKS) dengan nilai indeks *browning* sebesar 0,037 dengan penghambatan relatif (*antibrowning*) sebesar 78%. Sementara itu, sifat *repellent* pada nyamuk *Aedes aegypti* tertinggi terjadi pada formulasi Tandan Kosong Sawit (TKS) + Serabut Kelapa Sawit (SKS) dengan persentase penolakan efektif sebesar 79,76%. Oleh karena itu, limbah kelapa sawit hasil fermentasi memiliki potensi sebagai *antibrowning* dan *repellent* nyamuk *Aedes aegypti*.

Kata kunci: *antibrowning*, fermentasi, limbah padat kelapa sawit, *repellent*

#### ABSTRACT

A research was conducted to study the potential of solid oil palm waste as an antibrowning and as a repellent of *Aedes aegypti*. The amount of oil palm waste is increasing along with the expansion of oil palm plantation. A prevention method is needed to overcome solid, liquid, and gaseous wastes of oil palm which pollute the environment. Cellulose, hemicellulose, and lignin contained in solid waste of oil palm can be anaerobically fermented naturally to produce garbage enzyme which can be used as an antibrowning and as a repellent of *Aedes aegypti*. Browning index and polyphenol level were tested with UV Vis spectrophotometry while repellent level was tested using *Aedes aegypti* mosquito and a formula applied to the skin. The result showed that the acidity level (pH) was between 3.54–3.15. The highest antibrowning properties were found in oil palm fiber (SKS) and palm oil cake (BKS) with a browning index value of 0.037 with a relative inhibition (antibrowning) of 78%. Meanwhile, the highest repellent properties toward *Aedes aegypti* was showed by the on palm empty fruit bunch (TKS) + oil palm fiber (SKS) with 79.76% effective rejection percentage. There fore, fermented oil palm waste has an antibrowning effect and a repellent *Aedes aegypti* mosquito.

Keywords: antibrowning, natural anaerobic fermentation, repellent, solid palm oil waste

#### PENDAHULUAN

Perkebunan kelapa sawit Indonesia setiap tahun mengalami peningkatan luas areal dan jumlah pelaku usaha yang membuka lahan baru. Luas perkebunan kelapa sawit di Indonesia pada tahun 2015 adalah 11.260.000 ha yang diperkirakan menjadi 12.307.677 ha pada tahun 2017 (Direktorat Jenderal Perkebunan 2016). Peningkatan luas areal kelapa sawit tersebut akan berdampak pada peningkatan jumlah limbah

kelapa sawit yang dihasilkan pascaproses produksi minyak kelapa sawit.

Jenis limbah padat, cair, dan gas dihasilkan setelah proses produksi minyak kelapa sawit (Fang 2011). Limbah padat ini di antaranya dapat berupa Tandan Kosong Sawit (TKS), Cangkang Kelapa Sawit (CKS), Serabut Kelapa Sawit (SKS), Bungkil Kelapa Sawit (BKS), dan bentuk cair yang dikenal dengan POME (*Palm Oil Mills Effluent*). Sementara itu, limbah gas bersumber dari gas buangan pabrik kelapa sawit pada proses produksi CPO.

Limbah kelapa sawit terdiri atas limbah padat dan limbah cair yang terdiri dari air kondensat, air lumpur, dan air hidrosiklon. Satu ton Tandan Buah Segar (TBS) menghasilkan 23% TKS, 4% *wet decanter solid*, 6,5%

Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Syarif Hidayatullah Jakarta, Jl. Ir H Juanda No. 95 Ciputat Tangerang Selatan, Banten 15412

\* Penulis Korespondensi: Email: [sumarlin@uinjkt.ac.id](mailto:sumarlin@uinjkt.ac.id)

CKS, 13% SKS, dan 50% limbah cair (Deptan 2006). Bahkan setiap TBS yang diolah di pabrik kelapa sawit dapat menghasilkan 25–26% TKS (Herawan & Rivani 2010). Dengan demikian, diperkirakan jumlah limbah padat pada pabrik berkapasitas 60 ton/jam adalah sebesar 27.900 ton/hari.

Berbagai upaya dilakukan untuk memanfaatkan limbah kelapa sawit, di antaranya pemanfaatan limbah sabut untuk penguat sifat mekanik komposit *fiber glass*, di industri kertas dalam pembuatan pulp, dan sebagai alternatif media tanam. Selain itu, dapat pula dijadikan alternatif pengganti solar dan batubara pada pembangkit listrik (Haryati *et al.* 2014). Bahkan Munthe *et al.* (2015) telah memanfaatkan cangkangnya untuk meningkatkan kualitas nilai kalor, kadar air, densitas, dan kadar abu untuk bahan baku pembuatan biobriket arang.

Potensi lain yang dapat dijajaki adalah pemanfaatan limbah kelapa sawit hasil fermentasi sebagai *antibrowning* (anti-pencokelatan) dan *repellent* (anti-serangga). Salah satu metode fermentasi alami, yaitu metode yang dikembangkan oleh Rosukon Poompanvong melalui fermentasi limbah organik rumah tangga menjadi produk yang diberi nama *garbage enzyme*. Sumarlin *et al.* (2013) juga telah melakukan fermentasi sampah dari berbagai campuran kulit buah berdasarkan metode yang dikembangkan oleh Rosukon Poompanvong selama 3 bulan. Hasilnya menunjukkan bahwa proses fermentasi dapat menstimulasi lipase dan selulase. Namun, data fermentasi untuk limbah kelapa sawit belum ada sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut.

Sifat *antibrowning* (anti-pencokelatan) bahan akan memengaruhi bahan pangan agar lebih menarik dan memiliki rasa alami yang lebih kuat karena pencokelatan (*browning*) akan mengurangi kualitas produk pangan dan minat konsumen. Diduga sifat *antibrowning* limbah kelapa sawit hasil fermentasi berasal dari senyawa organik yang bersifat asam lemah. Igoe (2011) menyebutkan bahwa asam asetat termasuk ke dalam golongan asidulan. Altunkaya dan Gokmen (2009) menyebutkan bahwa pencokelatan buah dapat dicegah dengan cara penghambatan enzim polifenoloksidase (PPO) oleh asidulan karena dapat mengurangi kekuatan ikatan antara PPO dengan atom Cu sebagai kofaktornya. Penghambatan itu terjadi pada pH kurang dari 4. Selain itu, sistein yang terkandung dalam limbah kelapa sawit juga dapat memiliki fungsi yang sama, tetapi melalui pemeringkatan o-kuinon sebagai pembentuk warna cokelat.

Di samping itu, senyawa hasil fermentasi dapat juga digunakan sebagai *repellent* (penolak serangga) karena adanya asam organik yang terbentuk. Asam organik ini diduga merupakan hidrokarbon berantai pendek yang bersifat volatil. Keberadaan senyawa-senyawa volatil ini diduga dapat menghalangi nyamuk untuk mendekati kulit ketika bahan hasil fermentasi dioleskan pada kulit. Hal ini terjadi karena senyawa volatil dapat mengubah asam laktat yang merupakan atraktan bagi nyamuk (Hoel *et al.* 2007).

Namun demikian, data kemampuan limbah kelapa sawit hasil fermentasi sebagai *antibrowning* dan *repellent* masih belum diteliti lebih lanjut karena belum tersedia data yang memadai. Oleh karena itu, penelitian lebih lanjut untuk mempelajari potensi kemampuan limbah kelapa sawit hasil fermentasi sebagai *antibrowning* dan *repellent* sangat penting untuk dilakukan sehingga diversifikasi pemanfaatan limbah kelapa sawit makin banyak dan berkembang.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di Pusat Laboratorium Terpadu (PLT) Fakultas Sains dan Teknologi UIN Syarif Hidayatullah Jakarta. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret–Agustus 2012.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini berupa SKS, BKS, dan TKS yang berasal dari pasca-produksi minyak kelapa sawit di PT. Perkebunan Nusantara (PN) VIII Kertajaya, Kecamatan Malimping, Provinsi Banten. Sampel tersebut tidak dapat langsung digunakan karena ukurannya besar, sehingga pada sampel SKS dan TKS dilakukan penarikan seratnya dengan tangan, agar serat tersebut dapat masuk ke dalam botol plastik yang berfungsi sebagai fermentor. Sampel BKS ditumbuk dengan batu untuk memecah lapisan luarnya yang keras.

Selain itu digunakan gula palem (merek Palm Suiker) yang mengandung sukrosa dan asam-asam amino. Gula palem ini didapatkan dari toko bahan-bahan untuk membuat kue. Kemudian air, buah apel, asam asetat 2%, aseton, reagen Folin-Ciocalteu, larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  5%, standar asam klorogenat, larutan gula pasir 10%, pelet ikan, dan *losion* anti-nyamuk komersial. Untuk menguji efek *repellent*, digunakan telur nyamuk *Aedes aegypti* yang didapatkan dari Laboratorium Entomologi Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor.

Peralatan dalam penelitian ini yaitu, botol plastik bertutup, saringan, pH meter Mettler Toledo jenis Delta 320, kertas Whatman No. 3, Spektrofotometer UV-Vis Amersham Biosciences jenis Ultrospec 100 pro, vorteks, *centrifuge* Sorvall jenis RC 5C Plus, aspirator, botol berkapas, dan peralatan gelas kimia. Untuk menguji *repellent*, digunakan kandang nyamuk berukuran 50 x 50 x 50 cm. Kandang terbuat dari kaca dan salah satu sisinya dikosongkan. Sisi tersebut ditutup dengan kain *tile* yang bagian tengahnya digunting melingkar sebagai jalan untuk memasukkan tangan. Untuk menjaga agar nyamuk tidak keluar, kain *tile* tersebut dijepit dengan penjepit kayu pada bagian yang digunting (Gambar 1).

### Fermentasi

Sampel limbah padat kelapa sawit dicampurkan dengan gula palem dan air, kemudian ditempatkan di dalam botol plastik berukuran 1.500 mL. Perbandingan limbah padat kelapa sawit, gula palem, dan air, yaitu 3:1:10. Fermentasi ini dilakukan dengan membuat

formulasi jenis limbah padat kelapa sawit yang digunakan (Tabel 1).

Limbah padat kelapa sawit yang telah ditimbang, kemudian dimasukkan ke dalam botol plastik. Dilakukan 80 g gula palem dengan 800 mL air, kemudian larutan tersebut dimasukkan ke dalam botol plastik yang telah terisi limbah padat kelapa sawit. Botol plastik ditutup rapat dan sampel dihomogenkan dengan cara dikocok. Fermentasi dilakukan selama 3 bulan dan ditutup rapat, namun pada bulan pertama tutup botol sesekali dilonggarkan setiap hari untuk mengeluarkan gas yang terbentuk. Sementara itu, pada bulan selanjutnya ditutup rapat dan tidak dilonggarkan.

**Pemisahan Hasil Fermentasi**

Setelah fermentasi selama 3 bulan, dilakukan penyaringan untuk mendapatkan residu dan cairan hasil fermentasi. Penyaringan dilakukan menggunakan saringan teh. Hasil penyaringan disimpan di dalam botol baru. Hasil fermentasi ini yang digunakan dalam pengujian selanjutnya.

**Uji Antibrowning**

• **Indeks *browning* (Leeratanarak et al. 2006)**

Pada pengukuran indeks *browning* ini dilakukan beberapa modifikasi, antara lain penggunaan apel sebagai bahan, perendaman dengan hasil fermentasi, dan waktu perendaman. Apel digunakan untuk mengetahui seberapa jauh terjadinya pencokelatan. Apel yang telah dikupas akan mengalami oksidasi dan berubah warnanya menjadi cokelat, warna cokelat ini yang menjadi indikator penentuan indeks *browning*.

Apel dipotong dan dikupas kulitnya, lalu dipotong hingga mendapatkan potongan apel dengan massa 8

g. Potongan apel kemudian direndam di dalam 30 mL masing-masing hasil fermentasi selama 1 menit. Sebagai kontrol, apel direndam dalam akuades. Setelah itu, potongan apel yang direndam dengan hasil fermentasi dibilas dengan akuades. Kemudian potongan apel dikeringkan dengan menggunakan kertas yang dapat menyerap cairan. Potongan apel digerus dengan alu dan mortar, kemudian 2 g bagiannya diekstraksi dengan 20 mL larutan asam asetat 2%, lalu disaring dengan kertas Whatman No. 3. Filtrat dicampur dengan aseton dengan volume yang sama, kemudian disaring kembali. Larutan berwarna yang dihasilkan diukur pada panjang gelombang 420 nm menggunakan Spektrofometer UV Vis (tiga kali pengulangan). Hasil pengukuran indeks *browning* dinyatakan dalam istilah *optical density*. Data indeks *browning (optical density)* tersebut dianalisis menggunakan analisis varian dan uji Duncan ( $P < 0,05$ ).

• **Penentuan kadar polifenol**

Pada penentuan kadar polifenol ini dilakukan beberapa modifikasi, antara lain penggunaan apel sebagai bahan, perendaman dengan hasil fermentasi, dan waktu perendaman. Apel ini digunakan untuk mengetahui seberapa banyak kadar polifenol yang tersisa. Apel yang telah dikupas akan mengalami oksidasi dan kandungan polifenol di dalamnya akan berkurang karena telah dioksidasi menjadi o-kuinon dan melanin.

Apel dipotong dan dikupas kulitnya, lalu dipotong hingga potongan apel memiliki massa 17 g. Potongan apel kemudian direndam di dalam 30 mL masing-masing hasil fermentasi selama 1 menit. Sebagai kontrol, apel direndam dalam akuades. Setelah itu, potongan apel yang direndam dengan hasil fermentasi dibilas dengan akuades. Kemudian potongan apel dikeringkan dengan menggunakan kertas. Potongan apel ini digerus dengan alu dan mortar, lalu 15 g bagiannya dilarutkan dalam 100 mL akuades, kemudian diekstrak. Setelah itu dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 448 x g (Radius rotor 100 mm) selama 20 menit. Sebanyak 0,5 mL bagian atas yang terpisah (supernatan) diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Setelah itu, pada tabung reaksi tersebut ditambahkan lagi sejumlah campuran berupa 0,5 mL etanol 95%, 2,5 mL akuades, dan 2,5 mL Folin Ciocalteau. Campuran tersebut dibiarkan selama 5 menit, lalu ditambahkan lagi 0,5 mL Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 5% (b/v) dan dihomogenkan menggunakan vorteks. Campuran yang mengandung sampel tersebut dibiarkan dalam



Gambar 1 Kandang nyamuk.

Tabel 1 Formulasi sampel fermentasi

Formulasi	Sampel			Total
	BKS	TKS	SKS	
Bungkil kelapa sawit (BKS)	240 g			240 g
Tandan kosong sawit (TKS)		240 g		240 g
Serabut kelapa sawit (SKS)			240 g	240 g
BKS + TKS	120 g	120 g		240 g
BKS + SKS	120 g		120 g	240 g
TKS + SKS		120 g	120 g	240 g
BKS + TKS + SKS	80 g	80 g	80 g	240 g

ruang gelap selama satu jam hingga larutan berwarna hijau tua. Larutan berwarna tersebut diukur dengan spektrofotometer (panjang gelombang 725 nm). Larutan standar menggunakan penentuan total fenolik ini menggunakan asam klorogenat dengan variasi konsentrasi antara 0,00–0,25 mg/mL (tiga kali pengukuran). Data kadar polifenol dianalisis menggunakan analisis varian dan uji Duncan ( $P < 0,05$ ).

#### • Uji repellent

Dilakukan pengembangbiakkan nyamuk *Aedes aegypti* dari telur nyamuk dengan cara memasukkan telurnya ke dalam wadah plastik berukuran 30 x 20 x 5 cm yang berisi air. Telur akan menetas menjadi larva lalu diberi pakan pelet ikan. Setiap dua hari sekali air dalam nampan diganti. Ketika larva telah tumbuh menjadi pupa, lalu dimasukkan ke dalam gelas plastik berisi air, kemudian dimasukkan ke dalam kandang nyamuk.

Pupa kemudian berkembang menjadi nyamuk. Nyamuk yang baru menetas diberi pakan air gula dengan konsentrasi 10% yang dimasukkan ke dalam botol berkapas. Setelah nyamuk berumur 3–5 hari, nyamuk siap digunakan untuk pengujian. Sebelum diuji, nyamuk dipuaskan dari pakan air gula.

Pengujian dilakukan dengan membuat garis persegi panjang dengan ukuran 15 x 8 cm pada kain kelambu yang selanjutnya disebut area uji. Parameter yang diukur adalah jumlah hinggapan nyamuk pada area uji tersebut selama 5 menit (U.S. *Environmental Protection Agency*) dan diulangi sebanyak 3 kali. Digunakan punggung tangan manusia sebagai atraktan bagi nyamuk. Untuk kontrol negatif, punggung tangan tanpa perlakuan didekatkan dengan jarak sekitar 1 cm dari kain kelambu dan posisinya berada di depan area uji. Untuk kontrol tanpa tangan, tidak digunakan punggung tangan pada saat pengujian. Untuk kontrol positif, punggung tangan dioleskan dengan *losion* penolak nyamuk komersial secara merata. Untuk pengujian sampel, punggung tangan dioleskan dengan 5 mL filtrat hasil fermentasi secara merata. Persen keefektifan penolakan diukur dengan menggunakan persamaan (Rajkumar & Jebanesan 2005).

$$ER (\%) = \frac{NC - NT}{NC} \times 100 (\%)$$

Keterangan:

ER : Persen penolakan efektif

NC : Jumlah nyamuk pada kontrol

NT : Jumlah nyamuk pada perlakuan

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Indeks Browning

Indeks *browning* merupakan salah satu indikator untuk mengetahui tingkat pencokelatan yang terjadi pada buah dan sayuran. Objek penelitian yang digunakan di sini ialah buah apel. Nilai indeks *browning* didapatkan dari tingkat pencokelatan yang terukur oleh spektrofotometer pada panjang gelombang 420 nm. Apel yang telah diiris akan mengalami proses pencokelatan karena pecahnya plastida yang merupakan tempat penyimpanan enzim polifenoloksidase (PPO). Enzim PPO yang terlepas dapat mengkatalisis dua reaksi berbeda, yaitu hidroksilasi monofenol dan oksidasi o-difenol menjadi o-kuinon. Selanjutnya, terjadi polimerasi non-enzimatik o-kuinon membentuk melanin, yaitu pigmen yang memiliki warna gelap (Queiroz *et al.* 2008).

Apel yang direndam dengan masing-masing formulasi sampel fermentasi sebagian besar berbeda nyata. Indeks *browning* apel yang direndam dengan hasil fermentasi formulasi SKS, TKS, BKS, SKS + BKS, dan TKS + BKS tidak berbeda nyata. Namun, kelima formulasi tersebut nilainya lebih rendah dan berbeda nyata dari indeks *browning* pada kontrol. Formulasi TKS + SKS dan BKS + TKS + SKS memiliki nilai indeks *browning* yang berbeda nyata dan nilainya lebih tinggi dibandingkan dengan formulasi lainnya. Namun, nilai ini masih lebih rendah jika dibandingkan dengan kontrol. Hal ini memperlihatkan bahwa semua hasil fermentasi dapat menghambat terjadinya pencokelatan pada apel. Formulasi dengan penghambatan terbaik, yaitu SKS dan formulasi BKS yang memiliki nilai indeks *browning* paling rendah dan bernilai sama, yaitu 0,037. Jika dibandingkan dengan kontrol secara relatif terjadi penghambatan pencokelatan (*antibrowning*) sebesar 78%.

Hasil analisis menunjukkan bahwa sampel SKS yang memiliki indeks *browning* dan pH terendah, yaitu 0,037 dan 3,54 (Tabel 2). Sampel BKS + TKS + SKS memiliki indeks *browning* dan pH tertinggi, yaitu 0,063 dan 4,15. Nilai pH yang rendah menyebabkan hasil fermentasi memiliki kemampuan untuk menghambat reaksi pencokelatan pada buah apel. Fenomena ini

Tabel 2 Indeks *browning* apel, nilai pH, dan kadar polifenol sampel hasil fermentasi

Formulasi	Indeks <i>browning</i> /OD	Kadar polifenol (mg/mL)	pH
SKS	0,037 <sup>a</sup>	0,043 <sup>ab</sup>	3,54
TKS	0,054 <sup>ab</sup>	0,041 <sup>ab</sup>	3,89
BKS	0,037 <sup>a</sup>	0,044 <sup>ab</sup>	3,73
TKS + SKS	0,062 <sup>b</sup>	0,036 <sup>a</sup>	3,71
SKS + BKS	0,051 <sup>ab</sup>	0,044 <sup>ab</sup>	4,05
TKS + BKS	0,053 <sup>ab</sup>	0,039 <sup>ab</sup>	3,79
BKS + TKS + SKS	0,063 <sup>b</sup>	0,047 <sup>b</sup>	4,15
Akuades (kontrol negatif)	0,170 <sup>c</sup>	0,044 <sup>ab</sup>	

Keterangan: BKS = Bungkil kelapa sawit, TKS = tandan kosong sawit, SKS = serabut kelapa sawit, dan OD = *optical density*.

telah dinyatakan oleh Altunkaya dan Gokmen (2009) bahwa asidulan dapat menghambat aktivitas enzim PPO. Pada pH rendah, logam Cu yang merupakan gugus prostetik pada enzim PPO dapat terlepas dan dikelat oleh asam organik, contohnya oleh asam asetat (Gambar 2). Keterkaitan proses pembentukan kompleks logam Cu ini seperti yang digambarkan oleh Akbiyik *et al.* (2012) bahwa kehadiran asam buah dalam bahan makanan dapat membantu mencegah reaksi oksidasi logam pada proses katalisis. Terhambatnya oksidasi logam enzim PPO akan mencegah terbentuknya o-kuinon yang secara otomatis akan mencegah terbentuknya melanin (senyawa kompleks pembentuk warna cokelat). Jika melanin tidak terbentuk, maka warna cokelat yang disebabkan oleh pigmen ini tidak terjadi (Gambar 3).

Semua formulasi hasil fermentasi bersifat asam dan terjadi penurunan pH setelah sampel mengalami proses fermentasi jika dibandingkan dengan TKS sebelum proses fermentasi yang bernilai 9,08. Hal ini dikarenakan dalam proses fermentasi diproduksi energi dan senyawa-senyawa organik yang berfungsi sebagai donor dan akseptor elektron. Proses ini menghasilkan asam-asam organik yang bertindak sebagai penerima elektron (Rahman 1987).

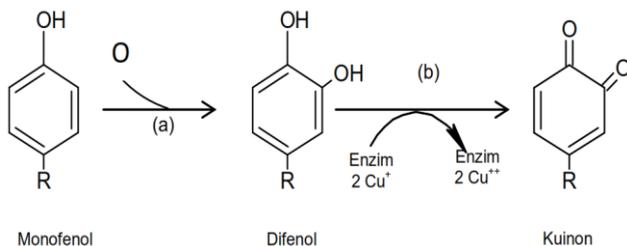
Pada proses fermentasi awal, digunakan gula palem yang mengandung sukrosa dan diurai menjadi glukosa dan fruktosa sebagai sumber karbon awal oleh mikroorganisme *indigenous* untuk memperbanyak diri. Martina *et al.* (2002) menyebutkan bahwa setelah kadar glukosa tidak mencukupi sebagai sumber karbon maka mikroorganisme menggunakan enzim lain untuk mendapatkan sumber karbon lainnya, yaitu dengan menghidrolisis selulosa dari limbah kelapa sawit menjadi glukosa. Substrat ini digunakan sebagai sumber karbon setelah senyawa sukrosa, glukosa, dan fruktosa dari gula palem telah habis. Kandungan utama

pada limbah kelapa sawit, yaitu selulosa, hemiselulosa, dan lignin yang setelah didegradasi menjadi senyawa sederhana dapat menjadi sumber bahan organik bagi mikroorganisme.

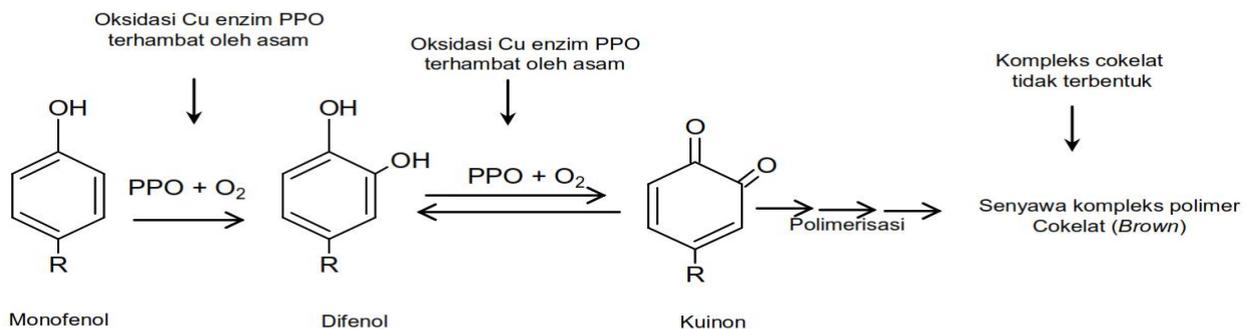
Penguraian selulosa dilakukan secara bertahap. Pertama digunakan enzim endoglukanase (endo-1,4-β-glukanase) berfungsi untuk menghidrolisis bagian yang tidak teratur atau amorf pada struktur selulosa dan menghasilkan ujung terminal baru. Selobiohidrolase (ekso-1,4-β-glukanase) kemudian melanjutkan proses degradasi selulosa pada bagian yang teratur atau kristalin. Kedua enzim ini menghasilkan produk selobiosa. Lalu enzim β-glukosidase menguraikan selobiosa menjadi dua molekul glukosa (Perez *et al.* 2002) (Gambar 4). Glukosa yang dihasilkan dari degradasi selulosa ini selanjutnya dimanfaatkan oleh mikroorganisme dengan enzim yang dihasilkannya dapat mengubah glukosa menjadi produk lainnya seperti asam asetat, etanol, aseton, dan metana (Anindyawati 2010). Senyawa asam organik seperti asam asetat yang terbentuk ini yang berperan dalam menurunkan pH hasil fermentasi.

Perbedaan nilai pH pada hasil fermentasi dapat terjadi karena perbedaan komposisi selulosa, hemiselulosa, dan lignin pada tiap jenis limbah kelapa sawit. Terutama kandungan lignin pada komposisinya. Martina *et al.* (2002) menyebutkan bahwa selulosa yang berikatan dengan lignin akan menyulitkan enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme untuk menguraikannya. Erwinsyah *et al.* 2012 menyebutkan bahwa kandungan lignin pada TKS dan SKS adalah sebesar 22,59 dan 21,56%, sedangkan menurut Knudsen 1997 (dalam Dias 2010) bahwa kandungan lignin BKS adalah sebesar 14%.

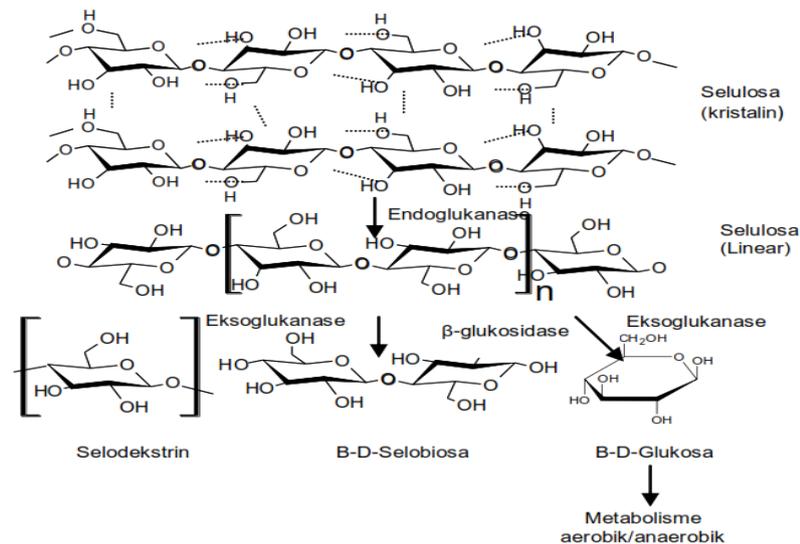
Kesulitan penguraian oleh selulase terhadap lignin karena enzim tersebut memiliki afinitas yang kuat dengan lignin. Selulase secara spesifik memutus ikatan β-1,4-glikosidik pada selulosa, sehingga saat sisi aktif selulase berikatan dengan lignin, tidak terjadi reaksi katalitik apapun. Hal ini menyebabkan tidak ada glukosa yang dapat digunakan oleh mikroorganisme asetogenik untuk menghasilkan senyawa asam organik seperti asam asetat dan asam organik lainnya. Oleh karena itu, tidak terjadi penurunan pH pada sampel fermentasi. Data tersebut selaras dengan pH yang dihasilkan dalam penelitian ini, yaitu formulasi TKS adalah sebesar 3,89 merupakan yang tertinggi



Gambar 2 Reaksi enzimatik oleh PPO (Queiroz *et al.* 2008).



Gambar 3 Proses penghambatan enzim pencokelatan oleh asam (*antibrowning*).



Gambar 4 Alur degradasi selulosa menjadi glukosa (Schellenberger 2011 termodifikasi).

dibandingkan dengan formulasi SKS dan BKS, yaitu sebesar 3,54 dan 3,73. Akan tetapi, data pH SKS dan BKS tidak linear dengan keberadaan lignin. Hal ini dimungkinkan karena proses penguraian selulosa secara enzimatik pada bahan hasil fermentasi tidak hanya disebabkan oleh satu faktor namun dipengaruhi oleh berbagai faktor di antaranya suhu, jumlah substrat, dan bahan lain yang mungkin terdapat dalam sampel hasil fermentasi. Bagaimana interaksi semua faktor ini perlu adanya kajian lebih lanjut.

#### Kadar Polifenol

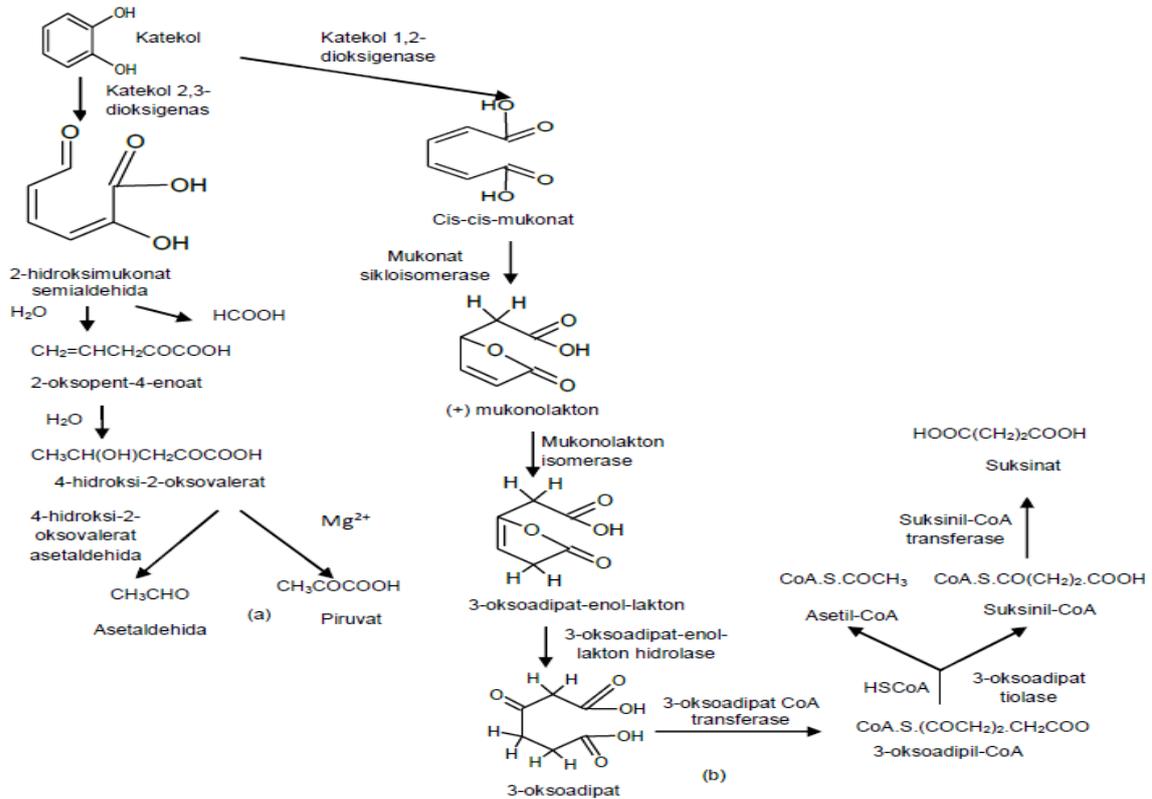
Kadar polifenol yang terukur pada apel yang telah direndam dengan hasil fermentasi dan kontrol menjadi indikator sejauh mana terjadinya reaksi pencokelatan pada apel tersebut. Kadar polifenol yang lebih rendah memperlihatkan bahwa senyawa polifenol pada apel telah teroksidasi oleh enzim PPO menjadi bentuk oksidasinya, yaitu o-kuinon. Hasil analisis menunjukkan bahwa kadar polifenol apel yang direndam dengan masing-masing hasil fermentasi dan kontrol tidak berbeda nyata (Tabel 2).

Data kadar polifenol tersebut tidak sejalan dengan data indeks *browning*. Data indeks *browning* menunjukkan bahwa formulasi SKS dan formulasi BKS memiliki daya hambat terbaik pada pencokelatan apel, sedangkan pada data kadar polifenol tidak. Diduga kondisi ini terjadi karena senyawa polifenol yang terkandung di dalam apel dapat dikatalisis oleh enzim selain PPO dan membentuk senyawa turunan selain o-kuinon. Enzim tersebut, yaitu katekol 2,3-dioksigenase (C23O) dan katekol 1,2-dioksigenase (C12O). Kedua enzim ini dapat dihasilkan oleh *Pseudomonas putida*. Kita *et al.* (1999) telah meneliti struktur 3 dimensi katekol 2,3-dioksigenase yang diisolasi dari *Pseudomonas putida*, sedangkan Nakai *et al.* (1990) menyebutkan katekol 1,2-dioksigenase selain dapat diisolasi dari *Pseudomonas arvilla* juga dapat dimurnikan dari *Pseudomonas putida*. Berdasarkan penelitian Gumel *et al.* (2012), *Pseudomonas putida* dapat diisolasi dari limbah kelapa sawit.

Katekol adalah salah satu senyawa yang termasuk ke dalam senyawa polifenol. Enzim C23O merupakan enzim yang dapat mengkatalisis pemecahan katekol dan katekol tersubstitusi dalam jalur degradasi katekol. Oleh karena itu, enzim C23O merupakan kunci dari banyak jalur bakterial dalam mendegradasi senyawa aromatik. Dua atom oksigen digabungkan ke dalam substrat katekol pada dua atom karbon yang berdekatan di cincin aromatik, salah satu karbon mengikat gugus hidroksil, sedangkan yang satu lagi tidak tersubstitusi (Okuta *et al.* 2003). Reaksi ini membentuk senyawa 2-hidroksimukonat semialdehida. Kemudian dengan adanya molekul  $H_2O$ , maka terjadi pelepasan gugus format sehingga membentuk senyawa 4-oksopent-4-enoat. Senyawa ini dihidrolisis kembali oleh  $H_2O$  membentuk 4-hidroksi-2-oksovalerat. Ion  $Mg^{2+}$  dan 4-hidroksi-2-oksovalerat asetaldehida liase menyebabkan senyawa tersebut kembali terurai menjadi asetaldehida dan piruvat (Gambar 5).

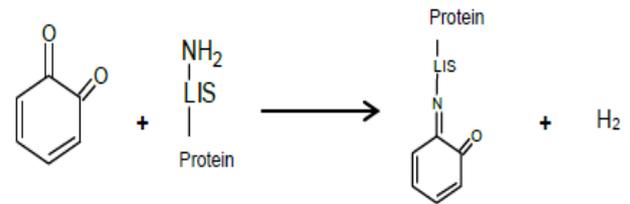
Enzim C12O memiliki peran utama dalam pemecahan cincin aromatik katekol menjadi cis-cis-asam mukonat dengan kehadiran 1 mol oksigen (Nadaf & Ghosh 2011) dalam jalur degradasi katekol menjadi β-ketoadipat. Kemudian dengan masuknya ion  $H^+$ , senyawa ini dikatalisis oleh enzim mukonat sikloisomerase membentuk mukonolakton. Lalu mukonolakton dapat dikatalisis oleh enzim mukonolakton isomerase membentuk senyawa 3-oksoadipat enol lakton. Senyawa ini diubah menjadi 3-oksoadipat dengan bantuan molekul  $H_2O$  dan dikatalisis oleh enzim β-ketoadipat enol-lakton hidrolase. Kemudian dengan adanya 3-oksoadipat CoA transferase, terjadi penempelan gugus CoA pada gugus karboksil membentuk 3-oksoadipil-CoA. HSCoA dan 3-oksoadipat tiolase menyebabkan senyawa tersebut membentuk dua senyawa, yaitu Asetil-CoA dan Suksinil-CoA. Terjadi pelepasan gugus CoA dari Suksinil-CoA dengan bantuan Suksinil-CoA transferase, sehingga terbentuk Suksinat (Gambar 5).

Polifenol yang dioksidasi oleh PPO menjadi o-kuinon, selain dapat berpolimerisasi menjadi pigmen



Gambar 5 Jalur degradasi katekol, (a) katekol 2,3-dioksigenase, dan (b) katekol 1,2-dioksigenase (Zeyullah *et al.* 2009).

melanin, juga dapat bereaksi dengan senyawa lain, seperti protein. Ciocan dan Bara (2007) menyebutkan bahwa untuk menstabilkan radikal bebasnya, kuinon dapat berikatan dengan asam amino nukleofilik dalam protein. Hal ini terlihat pada reaksi antara o-kuinon dengan lisin dan membentuk ikatan antara o-kuinon dan lisin terjadi pada gugus karbonil o-kuinon dan gugus amina lisin (Palupi *et al.* 2007). Reaksi tersebut pada akhirnya membentuk kuinonimin (Gambar 6).



Gambar 6 Reaksi antara o-kuinon dengan lisin (Palupi *et al.* 2007).

Ketiadaan pigmen melanin karena penghambatan pada pembentukan o-kuinon atau penghambatan pada polimerisasi o-kuinon menjadi melanin menyebabkan data kadar polifenol yang tersisa pada apel yang telah direndam hasil fermentasi dan kontrol, tidak linear dengan data indeks *browning* yang mewakili kuantitas melanin yang terbentuk. Namun, data ini setidaknya menunjukkan dugaan pola *antibrowning* hasil fermentasi limbah kelapa sawit terjadi melalui berbagai mekanisme yang kepastiannya harus dikaji lebih lanjut (Gambar 5). Selain itu, hasil ini juga menunjukkan bahwa kondisi asam merupakan faktor yang dominan mendorong terjadinya penghambatan terhadap enzim pencokelatan (PPO). Data fenolik yang tidak berbeda nyata dari kontrol menunjukkan bahwa proses penghambatan terjadi juga pada reaksi polimerisasi pembentukan warna cokelat (Gambar 3) sebab o-kuinon (senyawa fenolik) diduga dapat juga teridentifikasi melalui uji total fenolik.

**Uji Repellent**

Pengujian *repellent* dilakukan dengan mengukur persentase penolakan efektif nyamuk oleh hasil fermentasi dan dilakukan perbandingan dengan losion

*repellent* komersial sebagai kontrol positif. Persentase ini dihitung berdasarkan jumlah hinggapan nyamuk pada area uji. Hasilnya menunjukkan bahwa rata-rata persentase penolakan efektif hasil fermentasi terhadap nyamuk *Aedes aegypti* (Tabel 3).

Hasil fermentasi dengan formulasi TKS, TKS + SKS dan BKS + TKS + SKS memiliki nilai yang tidak berbeda nyata dari kontrol positif (*losion* anti-nyamuk komersial). Hal ini menunjukkan bahwa persentase penolakan efektif yang dimiliki oleh ketiga formulasi tersebut mendekati kemampuan yang dimiliki oleh kontrol positif yang digunakan sebagai pembanding, yaitu 89,28%. Namun, formulasi SKS, BKS, SKS + BKS, dan TKS + BKS memiliki nilai yang berbeda nyata jika dibandingkan dengan kontrol positif. Data ini menunjukkan bahwa meskipun keempat formulasi di atas memiliki kemampuan menolak nyamuk, kemampuannya masih jauh di bawah kontrol positif.

Formulasi TKS + SKS memiliki persentase penolakan efektif nyamuk yang paling besar dibandingkan dengan formulasi hasil fermentasi lainnya. Hal ini menunjukkan kadar senyawa kimia yang memiliki kemampuan menolak nyamuk lebih tinggi pada

formulasi ini. Menurut Nerio *et al.* (2010) senyawa volatil yang diisolasi dari tumbuhan, ditemukan memiliki kemampuan melawan bermacam arthropoda *haematophagous*. Senyawa volatil ini akan mengganggu reseptor dari nyamuk yang biasanya dapat mendeteksi asam laktat, karbondioksida, dan bau lainnya yang berasal dari kulit manusia. Senyawa volatil yang diduga terkandung dalam hasil fermentasi ialah asam organik dengan rantai pendek yang terbentuk pada saat proses fermentasi.

Bau khas senyawa kimia bahan alam dapat masuk secara ekstraseluler. Kemoreseptor yang berupa silia pada antena nyamuk akan menangkap bau khas tersebut yang akan berikatan dengan OBPs (*Odoran binding reseptor*). Penelitian Bohbot dan Dickens (2010) menyimpulkan bahwa mekanisme penolakan nyamuk oleh senyawa volatil, yaitu dengan cara mengganggu aktivitas glomerulus di dalam *olfactory*

*sensory neurons* (OSNs) (Gambar 7). OSNs adalah sel yang dapat mengubah sinyal bau menjadi elektron yang dikirim ke otak. Glomerulus pada sistem ini berfungsi sebagai sinapsis yang menghubungkan antara reseptor bau dengan otak serangga. Gangguan ini menghasilkan input sinyal penciuman tidak diterjemahkan dengan baik sehingga pada akhirnya mengakibatkan gangguan perilaku nyamuk.

Pada proses fermentasi, selain asam organik yang dapat bermanfaat sebagai *repellent* nyamuk juga dapat dihasilkan asam organik yang bertindak sebagai atraktan, yaitu asam laktat. Atraktan adalah zat yang dapat menarik nyamuk untuk mendekat. Hal ini dapat mengganggu proses penolakan nyamuk karena justru nyamuk akan tertarik jika mencium bau asam laktat yang disertai adanya gas CO<sub>2</sub> di sekitarnya (Bosch *et al.* 2000). Hal ini mengakibatkan kemampuan hasil fermentasi dalam menolak nyamuk lebih rendah dibandingkan dengan *repellent* komersial.

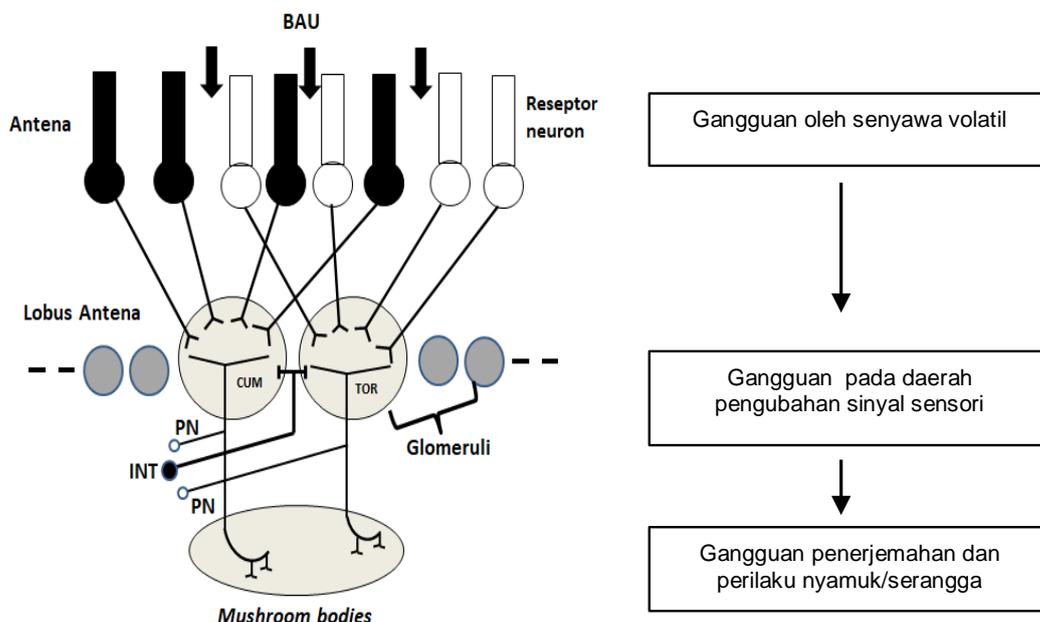
Tabel 3 Persentase penolakan efektif hasil fermentasi pada nyamuk

Formulasi	% Penolakan efektif
SKS	41,67 <sup>a</sup>
TKS	69,64 <sup>abc</sup>
BKS	52,98 <sup>ab</sup>
TKS + SKS	79,76 <sup>bc</sup>
SKS + BKS	39,88 <sup>a</sup>
TKS + BKS	41,07 <sup>a</sup>
BKS + TKS + SKS	57,14 <sup>abc</sup>
Kontrol positif	89,28 <sup>c</sup>
Minyak atsiri rimpang temu mangga 2,5%*	74,70

Keterangan: Perbedaan nyata dengan tingkat kepercayaan 95% dilihat dari superskrip pada kolom yang sama (Runadi & Sofian 2012).

### KESIMPULAN

Hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa sifat *antibrowning* tertinggi terdapat pada Serabut Kelapa Sawit (SKS) dan Bungkil Kelapa Sawit (BKS) dengan nilai indeks *browning* sebesar 0,037 dengan penghambatan relatif (*antibrowning*) sebesar 78%. Sementara itu, sifat *repellent* terhadap nyamuk *Aedes aegypti* tertinggi terjadi pada formulasi Tandan Kosong Sawit (TKS) + Serabut Kelapa Sawit (SKS) dengan persentase penolakan efektif sebesar 79,76%. Oleh karena itu, limbah kelapa sawit hasil fermentasi memiliki potensi sebagai *antibrowning* dan *repellent* nyamuk *Aedes aegypti*.



Keterangan: CUM: *cumulus*, TOR: *toroid*, PN: *principal output neurons*, dan INT: *interneurons*.  
Gambar 7 Alur *olfactory* serangga (Modifikasi dari Chen & Shepherd 2002).

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada PT. Smart tbk yang telah membiayai penelitian ini melalui skema riset kompetitif.

## DAFTAR PUSTAKA

- Akbıyık T, Sönmezoğlu I, Güçlü K, Tor I, Apak R. 2012. Protection of Ascorbic Acid from Copper(II)-Catalyzed Oxidative Degradation in the Presence of Fruit Acids: Citric, Oxalic, Tartaric, Malic, Malonic, and Fumaric Acids. *International Journal of Food Properties*. 15: 398–411. <https://doi.org/10.1080/10942912.2010.487630>
- Altunkaya A, Gokmen V. 2009. Effect of Various Anti-Browning Agents on Phenolic Compounds Profile of Fresh Lettuce (*Sativa L.*). *Food Chemistry*. 117: 122–126. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.03.085>
- Anindyawati T. 2010. Potensi Selulase dalam Mendegradasi Lignoselulosa Limbah Pertanian untuk Pupuk Organik. *Berita Selulosa*. 45(2): 70–77.
- Bohbot JD, Dickens JC. 2010. Insect Repellents: Modulators of Mosquito Odorant Receptor Activity. *PLoS ONE*. 5(8): 1–11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0012138>
- Bosch OJ, Martin G, Jurgen B. 2000. Contribution of Fatty Acids to Olfactory Host Finding of Female *Aedes aegypti*. *Chemical Senses*. 25: 323–330. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.chemse.a014042>
- Chen WR, Shepherd GM. 2002. Putting odor maps in sync. *Nature Neuroscience*. 5: 505–506. <https://doi.org/10.1038/nn0602-505>
- Ciocan ID, Bara II. 2007. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Analele Științifice ale Universității „Alexandru Ioan Cuza”, Secțiunea Genetică și Biologie Moleculară*. 8(2007): 151–156.
- Deptan. 2006. *Pedoman Pengelolaan Limbah Industri Kelapa Sawit*. Jakarta (ID): Ditjen PPHP, Departemen Pertanian.
- Dias FN. 2010. Supplementation of Palm Kernel Expeller to Grazing Dairy Farms in New Zealand. [Tesis]. New Zealand (NZ). Massey University, Palmerston North.
- Direktorat Jenderal Perkebunan. 2016. Statistik Perkebunan Indonesia. Sekretariat Direktorat Jenderal Perkebunan. Direktorat Jenderal Kementerian Pertanian
- Erwinsyah, Sugesty S, Hidayat T. 2012. Aplikasi Enzim Lipase pada Pulp Tandan Kosong Sawit untuk Kertas Cetak, Moulding dan Media Tanaman Kecambah Kelapa Sawit. Dalam *Prosiding Seminar Insentif Riset SINas (InSINas), Membangun Sinergi Riset Nasional Untuk Kemandirian Teknologi*. Bandung (ID): 29–30 November 2012.
- Fang C. 2011. Comparison of UASB and EGSB reactors performance, for treatment of raw and deoiled palm oil mill effluent (POME). *Journal of Hazardous Materials*. 189: 229–234. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.02.025>
- Gumel AM, Annuar MSM, Heidelberg T. 2012. Biosynthesis and Characterization of Polyhydroxyalkanoates Copolymers Produced by *Pseudomonas putida* Bet001 Isolated from Palm Oil Mill Effluent. *PLoS ONE*. 7(9): 1–9.
- Haryanti A, Norsamsi, Putri SFS, Novy PP. 2014. Studi Pemanfaatan Limbah Padat Kelapa Sawit. *Konversi*. 3(2): 20–29.
- Herawan T, Rivani M. 2010. Produksi Aseton-Butanol-Etanol dari Hidrolisat Tandan Kosong Kelapa Sawit. Laporan Penelitian Kerjasama PPKS-PTPN IV, 16.
- Hoel DF, Kline DL, Allan SA, Grant A. 2007. Evaluation of Carbon Dioxide, 1-Octen-3-ol, and Lactic Acid as Baits in Mosquito Magnet™ Pro Traps for *Aedes albopictus* in North Central Florida. *Journal of the American Mosquito Control Association*. 23(1): 11–17. [https://doi.org/10.2987/8756-971X\(2007\)23\[11:EOCDOA\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.2987/8756-971X(2007)23[11:EOCDOA]2.0.CO;2)
- Igoe RS. 2011. *Dictionary of Food Ingredients: Fifth Edition*. Springer. New York (US): 243 hlm. <https://doi.org/10.1007/978-1-4419-9713-5>
- Kita A, Kita S, Fujisawa I, Inaka K, Ishida T, Horiike K, Nozaki M, Miki K. 1999. An archetypical extradiol-cleaving catecholic dioxygenase: the crystal structure of catechol 2,3-dioxygenase (metapyrocatechase) from *Pseudomonas putida* MT-2. *Structure*. 7(1): 25–34. [https://doi.org/10.1016/S0969-2126\(99\)80006-9](https://doi.org/10.1016/S0969-2126(99)80006-9)
- Knudsen KEB. 1997. Carbohydrate and lignin contents of plant materials used in animal feeding. *Animal Feed Science Technology*. 67: 319–338.
- Leeratanarak N, Devahastin S, Chiewchan N. 2006. Drying Kinetics and Quality of Potato Chips Undergoing Different Drying Techniques. *Journal of Food Engineering*. 77: 635–643. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.07.022>
- Martina A, Yuli N, Sutisna M. 2002. Optimasi Beberapa Faktor Fisik terhadap Laju Degradasi Selulosa Kayu Albasia (*Paraserianthes falcataria* (L.) Nielsen) dan Karboksimetil selulosa (CMC) secara Enzimatis oleh Jamur. *Jurnal Natur Indonesia*. 4(2): 156–163.
- Munthe MG, Achwil PM, Rindang A. 2015. Pemanfaatan Cangkang Kelapa Sawit dan Limbah Kelapa Sawit (Sludge) Sebagai Bahan Baku Pembuatan Biobriket Arang. *Jurnal Rekayasa Pangan dan Pertanian*. 3(4): 518–525.

- Nadaf NH, Ghosh JS. 2011. Purification and Characterization of Catechol 1,2-dioxygenase from *Rhodococcus* sp. NCIM 2891. *Research Journal of Environmental and Earth Science*. 3(5): 608–613.
- Nakai C, Horiike K, Kuramitsu S, Kagamiyama H, Nozaki M. 1990. Three Isozymes of Catechol 1,2-Dioxygenase (Pyrocatechase), cycyc, r/3, and &3, from *Pseudomonas arvilla* C-1. *The Journal of Biological Chemistry*. 265(2): 660–665.
- Nerio LS, JO Verbel, E Stashenko. 2010. Repellent Activity of Essential Oils: A Review. *Bioresource Technology*. 101: 372–378. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.07.048>
- Okuta A, Ohnishi K, Yagame S, Harayama S. 2003. Intersubunit Interaction and Catalytic Activity of Catechol 2,3-dioxygenases. *Biochemical Journal*. 371: 557–564. <https://doi.org/10.1042/bj20021657>
- Palupi NS, Zakaria FR, Prangdimurti E. 2007. Pengaruh Pengolahan terhadap Nilai Gizi Pangan. Modul e-Learning ENBP, Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan IPB. Bogor (ID).
- Perez J, Munoz-Dorado J, de la Rubia T, Martinez J. 2002. Biodegradation and Biological Treatments of Cellulose, Hemicellulose and Lignin: An Overview. *International Microbiology*. 5: 53–63. <https://doi.org/10.1007/s10123-002-0062-3>
- Queiroz C, Lopes MLM, Fialho E, Mesquita VLV. 2008. Polyphenol Oxidase: Characteristics and Mechanisms of Browning Control. *Food Reviews International*. 24(4): 361–375. <https://doi.org/10.1080/87559120802089332>
- Rahman A. 1987. *Pengantar Teknologi Fermentasi*. Laboratorium Mikrobiologi Pangan, Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi, Institut Pertanian Bogor. Bogor (ID).
- Rajkumar S, Jebanesan A. 2005. Scientific Note: Oviposition Deterrent and Skin Repellent Activities of *Solanum trilobatum* Leaf Extract Againsts The Malarial Vector *Anopheles stephensi*. *Journal of Insect Science*. 5(15): 1–3. <https://doi.org/10.1673/031.005.1501>
- Runadi D, Sofian FF. 2012. Aktivitas Larvasida dan Repelen Ekstrak Minyak Atsiri Rimpang Temu Mangga (*Curcuma mangga* Val.) Terhadap Larva dan Nyamuk *Aedes aegypti*. Dalam Prosiding Simposium Nasional Kimia Bahan Alam XX. Jakarta (ID): 9–10 Oktober 2012.
- Schellenberger S. 2011. Impact of Oxygen and Pesticides on Microbial Cellulose Degradation in Aerated Agricultural Soils: A Microscaled Analysis of Processes and Prokaryotic Populations. [Dissertation]. University of Bayreuth. Bayreuth (DE).
- Sumarlin LO, Mulyadi D, Suryatna, Asmara Y. 2013. Identifikasi Potensi Enzim Lipase Dan Selulase Pada Sampah Kulit Buah Hasil Fermentasi. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*. 18(3): 159–166.
- Zeyauallah Md, Abdelkafe AS, Zabya WB, Ali A. 2009. Biodegradation of catechols by micro-organisms- A short review. Biodegradation of catechols by micro-organisms-A short review. *African Journal of Biotechnology*. 8(13): 2.916–2.922.