

“Optimalisasi Pertanian Berkelanjutan untuk Mendukung Indonesia Emas 2045”

Akselerasi Pembrondolan Tandan Buah Segar Kelapa Sawit Menggunakan Mikroba Selulotik dan Pengaruhnya Terhadap Kualitas Minyak

Giyanto, Elisa Julianti, Mariani Sembiring, Hotnida Sinaga

Program Doktor Ilmu Pertanian Sekolah Pasca Sarjana Universitas Sumatera Utara Medan

Email: Elisa1@usu.ac.id

Abstrak

Pembrondolan Tandan Buah Segar (TBS) menggunakan mikroba merupakan inovasi baru dalam proses pengolahan minyak kelapa sawit. Kegiatan ini bertujuan untuk membrondolkan TBS sebelum proses sterilisasi (perebusan) dengan harapan brondolan dan tandan kosong (tankos) sudah terpisah dengan sempurna sebelum proses sterilisasi. Penelitian dilakukan di Laboratorium Analisa Kimia Bahan Pangan Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara, Medan dan Laboratorium Kimia Program Studi Teknologi Pengolahan Hasil Perkebunan, Institut Teknologi Sawit Indonesia (ITSI), Medan pada bulan Januari sampai Maret 2023. Metode penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial yang terdiri dari 2 faktor yaitu Faktor I : Jenis mikroorganisme (M) terdiri dari 5 taraf (M₁ = Kapang *Aspergillus niger*; M₂ = Bakteri *Bacillus subtilis*; M₃ = Kapang *Trichoderma harzianum*; M₄ = Kombinasi *Bacillus subtilis* dan *Aspergillus niger* (1 : 1); M₅ = Kombinasi *Bacillus subtilis* dan *Trichoderma harzianum* (1 : 1). Dan Faktor II : Lama fermentasi (L), terdiri dari 2 taraf (T₁ = 10 jam; T₂ = 15 jam). Banyaknya kombinasi perlakuan atau *Treatment Combination* (Tc) adalah $5 \times 2 = 10$, pada setiap perlakuan dibuat dalam 3 ulangan, sehingga jumlah sampel keseluruhan adalah 30 sampel. Hasil penelitian menunjukkan bahwa 1)Perlakuan Fermentasi TBS menggunakan mikroba kurang dari 20 jam dapat mempercepat pembrondolan buah sawit; 2)Kombinasi *Trichoderma harzianum* dengan *bacillus subtilis* merupakan mikroorganisme yang paling efektif dalam efisiensi pembrondolan buah sawit dari tandannya dengan lama fermentasi 15 jam yaitu sebesar 35,06%, lebih tinggi dari penelitian sebelumnya yaitu 22,37% pada inkubasi 60 jam; 3)Perlakuan fermentasi mikroba tidak menurunkan kualitas minyak terutama berdasarkan parameter kadar asam lemak bebas dan bilangan peroksida; 4)Kadar Asam lemak bebas kurang dari 3% dan memenuhi baku mutu ALB CPO yang ditetapkan oleh pada umumnya pabrik kelapa sawit yaitu 3-5%; dan 5)Bilangan peroksida kurang 4 meq/Kg dan memenuhi ketentuan.

Kata kunci: Pembrondolan, TBS, mikroba, CPO, mutu

Pendahuluan

Indonesia saat ini menjadi produsen minyak sawit terbesar di dunia dengan dukungan luasan lahan perkebunan sawit mencapai 14,62 juta hektar dan produksi minyak sawit mentah (*crude palm oil/CPO*) mencapai 45,12 juta ton. Dari produksi tersebut sebanyak 27,04 juta ton diekspor dengan nilai ekspor mencapai 28,68 miliar dolar AS atau sekitar 409,12 triliun dan berkontribusi 23,5% terhadap APBN (BPS, 2021). Kinerja kelapa sawit Indonesia tersebut didukung oleh keberadaan 821 pabrik kelapa sawit (PKS) dengan kapasitas produksi total sebesar 38.908 ton TBS/jam (Ditjenbun, 2021).

Pabrik kelapa sawit merupakan tempat dilakukannya pengolahan tandan buah segar kelapa sawit (TBS) dengan hasil utama berupa CPO dan inti/*kernel*. Sedangkan hasil sampingnya berupa tandan kosong, serat (*fiber*), cangkang (*shell*), lumpur (*sludge*) ataupun padatan keluaran decanter (*solid ex decanter*). Kinerja PKS diukur berdasarkan kemampuan pengelolanya dalam mencapai target pengolahan berupa produksi CPO dan inti, pengendalian kehilangan, ketercapaian mutu produk dan pengendalian biaya.

Prinsip pengolahan kelapa sawit yaitu pisah dan *kutip* dari awal, dengan cara yang cepat, mudah dan murah. Agar diperoleh minyak dan inti dengan kualitas terbaik, operator nyaman dan perusahaan untung. *Pisah* yaitu memisahkan bagian-bagian yang tidak mengandung minyak yaitu : tandan kosong, serabut, cangkang dan *sludge*. Sedangkan *kutip* yaitu mengambil bagian-bagian dari tanaman kelapa sawit yang mengandung minyak, yaitu : tandan buah segar, brondolan, CPO dan inti.

Memisahkan brondolan sawit dari tandannya merupakan salah satu tahapan yang krusial dari rangkaian pengolahan kelapa sawit. Dari proses ini dihasilkan brondolan sawit yang mengandung minyak dan tandan kosong kelapa sawit (tankos) yang tidak mengandung minyak. Pada pabrik kelapa sawit metode pemisahan ini dilakukan pada stasiun pemipilan menggunakan alat yang bernama *thresher*. Alat ini berupa drum dengan dinding berkisi kisi, yang berputar dengan kecepatan 23 rpm sehingga tandan buah rebus (TBR) akan mengalami pembantingan. Harapannya semua buah akan membrondol dan terpisah dengan tandan kosongnya.

Guna mendukung keberhasilan proses pemipilan maka TBS terlebih dahulu dilakukan proses sterilisasi (perebusan), yaitu perlakuan uap panas bertekanan selama waktu tertentu pada bejana tertutup. Sterilisasi bertujuan untuk melunakan daging buah, melemahkan ikatan antara

brondolan dengan tangkainya sehingga nantinya mudah membrondol. Uap yang digunakan adalah uap bekas dari proses pembangkit listrik tenaga uap di PKS itu sendiri yang masih mempunyai tekanan $\pm 3 \text{ kg/cm}^2$ dengan temperatur sekitar 120-140°C. Proses sterilisasi ini pada umumnya akan memakan waktu antara 90 sampai dengan 110 menit untuk setiap satu siklus perebusan. Sistem perebusan yang digunakan adalah sistem tiga puncak (*treaple peak*). Uap yang dibutuhkan untuk proses sterilisasi pada umumnya sebesar 0,26 - 0,4 ton/ton TBS (Sivasothy et al, 1986; Deptan, 2006; Mangoensoekarjo, 2008; Pahan, 2008; Sitepu, 2011; dan Nasution, 2018).

Jumlah uap dan waktu yang dibutuhkan untuk proses sterilisasi dapat diilustrasikan sebagai berikut. Sebuah PKS dengan kapasitas 45 ton/jam beroperasi selama 20 jam sehari mempunyai bejana rebusan horizontal sebanyak 3 buah dengan kapasitas masing-masing sebesar 25 ton TBS. Dengan asumsi bahwa kapasitas tercapai maka dalam sehari PKS tersebut akan mengolah TBS sebanyak 900 ton. Uap yang dibutuhkan untuk mesterilisasi TBS tersebut = 900 ton TBS x 280 kg/ton TBS = 252.000 kg = 252 ton. Waktu yang dibutuhkan untuk mensterilisasi TBS jika uap cukup untuk mengoperasikan ketiga bejana rebusan secara bersamaan = $(900 \text{ ton TBS}) / (25 \text{ ton TBS} \times 3 \text{ rebusan}) \times 100 \text{ menit} = 1200 \text{ menit} = 20 \text{ jam}$. Fakta ini menunjukkan bahwa diperlukan cukup banyak waktu dan energi untuk menterilisasi TBS sebagai perlakuan awal untuk memudahkan proses pemipilan.

Perlu diketahui bahwa sterilisasi di atas dilakukan terhadap TBS yang terdiri dari buah sawit (brondolan) sebanyak 66-67% dan tandan kosong sebanyak 21-23% (PORIM, 1990; Deptan, 2006). Artinya bahwa waktu dan energi untuk sterilisasi TBS tersebut akan terbuang 21-23 % untuk mentreatmen tandan kosong, sebuah objek yang tidak mengandung minyak dan seyogyanya dipisahkan sedini mungkin dari sistem pengolahan. Ini adalah tantangan baru di bidang pengolahan kelapa sawit. Yaitu sterilisasi itu seharusnya hanya untuk brondolan saja tidak dengan tandan kosongnya. Artinya TBS harus sudah dibrondolan terlebih dahulu sebelum dilakukan sterilisasi. Jika ini bisa dilakukan maka akan ada penghematan baik dari segi waktu pengolahan maupun energi yang dibutuhkan dan kedepannya tidak menutup kemungkinan akan mempengaruhi desain proses pengolahan.

Konsekuensi dari ide baru ini adalah bagaimana menemukan metode membrondolan TBS sebelum proses sterilisasi, artinya proses pembrondolan TBS tanpa perlakuan panas sebelumnya. Sinaga (2019) melakukan penelitian pembrondolan TBS menggunakan mikroorganisme meliputi: *Bacillus subtilis*, *Aspergillus niger*, *Trichoderma harzianum*, Kombinasi *Bacillus subtilis* dan *Aspergillus niger*, serta Kombinasi *Bacillus subtilis* dan

Trichoderma harzianum, dan dengan waktu fermentasi yaitu: 20 jam, 40 jam, dan 60 jam. Metode aplikasi mikroorganisme pada TBS dilakukan dengan cara penyemprotan dengan dosis isolate sebanyak 5% dari berat TBS. Hasil penelitian menunjukkan bahwa jenis mikroorganisme dan waktu fermentasi berpengaruh nyata terhadap efisiensi pembrondolan sawit. Efisiensi pembrondolan tertinggi dicapai oleh *Aspergillus niger* dengan waktu fermentasi 60 jam.

Fakta di lapangan mengharuskan TBS yang sudah dipanen agar segera diangkut ke PKS untuk diolah kurang dari 24 jam. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian lanjutan dari Sinaga (2019) dengan jenis mikroorganisme yang sama tetapi waktu fermentasi kurang dari 20 jam yaitu 10 dan 15 jam dengan dosis isolat dinaikan menjadi 7,5% dari berat TBS. Dari hasil penelitian ini diharapkan memperoleh informasi pengaruh waktu fermentasi yang kurang dari 24 jam terhadap kemudahan pembrondolan buah sawit.

Metodologi

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Analisa Kimia Bahan Pangan Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara, Medan dan Laboratorium Kimia Program Studi Teknologi Pengolahan Hasil Perkebunan, ITSI, Medan pada bulan Januari sampai Maret 2023. Metode penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial yang terdiri dari 2 faktor yaitu Faktor I : Jenis mikroorganisme (M) terdiri dari 5 taraf (M₁ = Kapang *Aspergillus niger*; M₂ = Bakteri *Bacillus subtilis*; M₃ = Kapang *Trichoderma harzianum*; M₄ = Kombinasi *Bacillus subtilis* dan *Aspergillus niger* (1 : 1); M₅ = Kombinasi *Bacillus subtilis* dan *Trichoderma harzianum* (1 : 1). Dan Faktor II : Lama fermentasi (L), terdiri dari 2 taraf (T₁ = 10 jam; T₂ = 15 jam). Banyaknya kombinasi perlakuan atau *Treatment Combination* (Tc) adalah $5 \times 2 = 10$, pada setiap perlakuan dibuat dalam 3 ulangan, sehingga jumlah sampel keseluruhan adalah 30 sampel. Pada penelitian ini juga dilakukan proses fermentasi tanpa mikroba (spontan) sebagai kontrol.

Bahan penelitian yang digunakan adalah Tandan Buah Segar (TBS) kelapa sawit dari jenis Tenera yang diperoleh dari kebun praktek ITSI dengan tingkat kematangan optimum yaitu buah pada fraksi kematangan 1, yang dapat dilihat dari persentase buah luar yang membrondol sebanyak 12,5-25% dan buah berwarna kemerahan (Lubis, 2011). Mikroorganisme yang digunakan untuk proses fermentasi adalah Bakteri selulolitik

(*Bacillus subtilis*) dan kapang *Aspergillus niger* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) USU serta khamir *Trichoderma harzianum* yang diperoleh dari Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Jakarta.

Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Potato Dextrose Agar* (PDA) dan *Potato Dextrose Broth* (PDB), Nutrien Agar, etanol, indikator fenolphtalein, NaOH, heksan, asam asetat, chloroform, KI, akuades, sodium thiosulfat, indikator amilum, dan N-hexane.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Efisiensi Pembondolan Tandan Buah Segar (TBS)

Efisiensi pembondolan merupakan gambaran mudah tidaknya bondolan dipisahkan dari tandannya karena pengaruh perlakuan penelitian. Penggunaan mikroba bertujuan untuk mengoptimalkan pembondolan kelapa sawit yang berfungsi menjaga kualitas minyak, selain itu juga sebagai pendekatan keberlanjutan dalam industri kelapa sawit. Hasil analisa uji anova diperoleh hasil sebagai berikut :

Tabel 1. Hasil Anova pengaruh mikroba terhadap efisiensi bondolan

Sumber	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Mikroba	2,068,088	4	517,022	23,874	0,000
	389,818	18	21.657 ^a		
Inkubasi	477,523	1	477,523	22,050	0,000
	389,818	18	21.657 ^a		
Kelompok	92,541	2	46,270	2,137	0,147
	389,818	18	21.657 ^a		
Bakteri * Inkubasi	622,178	4	155,544	7,182	0,001
	389,818	18	21.657 ^a		

Tabel 1. menunjukkan bahwa nilai interaksi mikroba dan lama inkubasi terhadap efisiensi pembondolan berpengaruh nyata (nilai sig 0,001 < α). Perlakuan mikroba secara tunggal berpengaruh sangat nyata terhadap efisiensi pembondolan (nilai sig 0,000 < α). Perlakuan lama inkubasi secara tunggal juga berpengaruh sangat nyata terhadap efisiensi bondolan (nilai sig 0,000 < α). Uji lanjut menggunakan DMRT diperoleh hasil pada Tabel 2. Berdasarkan tabel 2. dapat diketahui bahwa interaksi mikroba dengan inkubasi 10 jam, bakteri *Aspergillus niger* (M1) tidak berbeda nyata dengan *Aspergillus niger* + *Bacillus subtilis* (M4) namun berbeda nyata dengan *Bacillus subtilis* (M2), *Trichoderma harzianum* (M3) dan *Trichoderma harzianum* + *bacillus subtilis* (M5). Pada interaksi mikroba dengan lama inkubasi 15 jam diperoleh bahwa M1 berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Efisiensi pembondolan tertinggi berdasarkan lama inkubasi terdapat pada M5T2 yaitu *Trichoderma harzianum* +

bacillus subtilis dengan waktu inkubasi 10 jam sebesar 35,06%. Efisiensi brondolan terendah terdapat pada M1T1 yaitu dengan *Aspergillus niger* dengan waktu inkubasi 10 Jam yaitu 5,78%.

Bakteri *Bacillus subtilis* menghasilkan enzim protease, amilase, lipase, serta kitinase sebagai enzim pengurai dinding sel patogen. *Trichoderma harzianum* merupakan jamur yang bersifat selulolitik yang menghasilkan selulase untuk mendegradasi selulosa. Kombinasi bakteri dan jamur tersebut meningkatkan degradasi selulosa untuk merontokkan buah. Menurut (Safaria, Idiawati and Zaharah, 2013) Produksi enzim selulase dihasilkan dari proses fermentasi sabut kelapa dari metabolisme *Aspergillus niger* dan *Trichoderma reesei*.

Tabel 2. Pengaruh Jenis Mikroba dan Waktu Inkubasi terhadap Efisiensi Pembrondolan TBS (%)

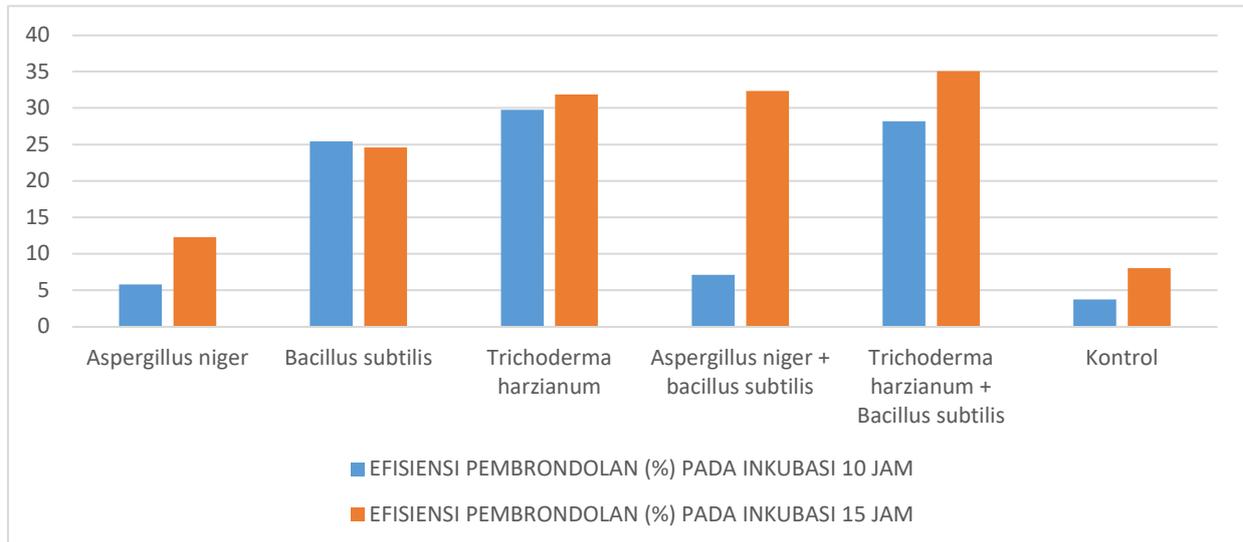
Mikroba (M)	Waktu Inkubasi (T)		Rerata
	T1 (10 jam)	T2 (15 jam)	
M1	5,78 c	12,29 c	9.037
M2	25,43 b	24,59 b	25.01
M3	29,77 ab	31,85 ab	30.81
M4	7,09 c	32,36 ab	19.73
M5	28,18 ab	35,06 a	31.62
Rerata	19.25	27.23	

Keterangan : M1 = *Aspergillus niger*; M2 = *Bacillus subtilis*; M3 = *Trichoderma harzianum*; M4 = *Aspergillus niger* + *Bacillus subtilis*; M5 = *Trichoderma harzianum* + *bacillus subtilis*

Pada masa inkubasi, TBS ditempatkan pada wadah tertutup sehingga lingkungannya sesuai dengan pertumbuhan mikroba. Selain itu sebagai sumber energi bagi mikroba diperoleh dari TBS itu sendiri. Karena TBS merupakan bahan organik yang mengandung karbon. Unsur nitrogen juga merupakan sumber energi bagi mikroba. N diperoleh mikroba diasumsikan dari *bacillus subtilis*. Menurut (Efendi, Yusra and Efendi, 2017) bakteri *Bacillus subtilis* mempunyai aktivitas proteolitik sehingga bakteri menyediakan kebutuhan senyawa bernitrogen yang dapat diangkut ke dalam sel.

Perlakuan *Aspergillus niger* dengan waktu inkubasi 10 Jam merupakan efisiensi pembrondolan terendah. Hal ini disebabkan oleh pertumbuhan dan perkembangan *Aspergillus niger* dalam lama inkubasi 10 jam belum optimal untuk fermentasi TBS sehingga nilai efisiensi brondolan yang dicapai minimum. Lama inkubasi *Aspergillus niger* untuk membrondolkan TBS bergantung pada kondisi suhu, ph, kadar nitrogen dan kadar oksigen. Semakin lama waktu inkubasi yang dilakukan terhadap fermentasi TBS maka akan meningkatkan pertumbuhan *Aspergillus niger* sehingga efektivitas terhadap efisiensi brondolan tercapai. Hal senada dilakukan oleh (Sinaga, 2019) menyatakan bahwa *Aspergillus niger* dengan lama inkubasi 60

jam lebih efektif dalam perontokkan TBS karena *Aspergillus niger* menghasilkan beberapa enzim ekstra seluler seperti amilase, amiloglukosidase, pektinase, selulase, katalase dan glukosidase. Enzim pektinase dan selulase merupakan penyebab buah mudah lepas dari tandannya.



Gambar 4. Efisiensi Pembondolan Tandan Buah Segar dengan Fermentasi Mikroba

Efisiensi pembondolan tertinggi pada penelitian ini yaitu 35,06 % dicapai oleh perlakuan kombinasi *Trichoderma harzianum* dan *Bacillus subtilis* pada inkubasi 15 jam. Hasil ini lebih tinggi dari yang dicapai penelitian sebelumnya (Sinaga, 2019) yaitu 22,37 % yang dicapai oleh perlakuan *Aspergillus niger* pada inkubasi 60 jam. Hal ini menunjukkan tanda-tanda baik bahwa ternyata TBS bisa dipercepat pembondolannya pada waktu kurang dari 20 jam.

Pengaruh jenis mikroba, Lama inkubasi dan status perebusan terhadap kadar Asam Lemak bebas.

Tabel 3. menunjukkan bahwa kombinasi perlakuan mikroba, waktu inkubasi dan status perebusan terhadap kadar asam lemak bebas (ALB) secara statistik tidak berpengaruh nyata (nilai sig 0,971 > α 0,05). Perlakuan mikroba secara tunggal berpengaruh sangat nyata terhadap kadar ALB (Nilai sig 0,000 < α). Perlakuan lama inkubasi secara tunggal berpengaruh tidak nyata terhadap kadar ALB (nilai sig 0,262 > α). Pengaruh status perebusan secara tunggal berpengaruh sangat nyata terhadap ALB (nilai sig 0,000 < α). Interaksi jenis mikroba dengan lama inkubasi berpengaruh tidak nyata terhadap kadar ALB (nilai sig 0,419 > α). Interaksi lama inkubasi dengan status perebusan berpengaruh tidak nyata terhadap kadar ALB (nilai sig 0,596

> α). Interaksi jenis mikroba dengan status perebusan berpengaruh nyata terhadap kadar ALB (nilai sig $0,022 < \alpha$). Adapun data penelitian dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 3. Anova pengaruh jenis mikroba, lama inkubasi dan status perebusan terhadap kadar asam lemak bebas

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Model	196,958 ^a	22	8,953	1011,688	0,000
Mikroba	0,245	4	0,061	6,935	0,000
Inkubasi	0,011	1	0,011	1,297	0,262
Perebusan	0,517	1	0,517	58,433	0,000
Kelompok	0,003	2	0,002	0,188	0,829
Mikroba * Inkubasi	0,035	4	0,009	1,000	0,419
Inkubasi * Perebusan	0,003	1	0,003	0,286	0,596
Mikroba * Perebusan	0,115	4	0,029	3,242	0,022
Mikroba * Inkubasi * Perebusan	0,005	4	0,001	0,130	0,971
Error	0,336	38	0,009		
Total	197,294	60			

a. R Squared = ,998 (Adjusted R Squared = ,997)

Tabel 4. Pengaruh Jenis Mikroba, Lama Inkubasi dan Status Perebusan Terhadap Kadar ALB

Mikroba	Lama Inkubasi	R1 (Tidak Direbus)	R2 (Rebus)	Rataan
<i>Aspergillus niger</i> (M1)	T1 (10 Jam)	1,93	1,58	1,76
	T2 (15 jam)	1,93	1,59	1,76
	Rataan (M1 x T x R)	1,93	1,58	
<i>Bacillus subtilis</i> (M2)	T1 (10 Jam)	1,89	1,75	1,82
	T2 (15 jam)	1,95	1,77	1,86
	Rataan (M2 x T x R)	1,92	1,76	
<i>Trichoderma harzianum</i> (M3)	T1 (10 Jam)	1,98	1,81	1,89
	T2 (15 jam)	1,91	1,79	1,85
	Rataan (M3 x T x R)	1,94	1,80	
<i>Aspergillus niger + bacillus subtilis</i> (M4)	T1 (10 Jam)	1,25	1,73	1,49
	T2 (15 jam)	1,65	1,58	1,62
	Rataan (M4 x T x R)	1,45	1,66	
<i>Trichoderma harzianum + Bacillus subtilis</i> (M5)	T1 (10 Jam)	1,93	1,83	1,88
	T2 (15 jam)	1,88	1,80	1,84
	Rataan (M5 x T x R)	1,91	1,82	
Kontrol	T1 (10 Jam)	1,84	1,89	1,87
	T2 (15 jam)	1,75	1,65	1,70
	Rataan (K x T x R)	1,80	1,77	

Tabel 4. dapat dilihat bahwa perlakuan jenis mikroba dapat meningkatkan kadar ALB bila dibandingkan dengan tanpa menggunakan mikroba dengan lama inkubasi 10 jam dan tidak mengalami perebusan yaitu 1,84 %. Perlakuan M3T1R1 memiliki kadar ALB tertinggi sebesar 1,98 % dari perlakuan lainnya. Kapang jenis *trichoderma* dapat menghasilkan berbagai jenis enzim seperti protease, lipase, pektinase dan selulase (Rogers,2022; (Hatta, Sjoftan and Sundu, 2014). *Trichoderma* merupakan mikroorganisme jenis jamur yang dapat menghasilkan enzim lipase dan enzim selulase pada proses fermentasi buah. Untuk menghasilkan enzim tersebut *Trichoderma* membutuhkan substrat yang kaya akan minyak dan selulosa sebagai sumber karbon dan energi. Oleh karena itu TBS merupakan substrat yang baik dalam fermentasi *Trichoderma* sehingga pembentukan enzim lipase menjadi optimum. Keberadaan enzim lipase akan menghidrolisis minyak yang terdapat dalam brondolan kelapa sawit menjadi asam lemak bebas dan gliserol. Hasil penelitian mengindikasikan bahwa pembentukan enzim lipase lebih optimum dari pada enzim selulosa sehingga menyebabkan kadar ALB yang diperoleh tinggi. Kadar ALB terendah diperoleh dari hasil fermentasi tanpa perebusan adalah perlakuan M4T1R1 sebesar 1,25 %. Hasil tersebut lebih rendah dari kontrol hal ini disebabkan oleh kombinasi *Aspergillus niger* dengan *bacillus subtilis* dapat menghasilkan lebih dominan menghasilkan enzim selulase yang dapat menghidrolisis selulosa menjadi glukosa. Menurut (Jadhav, More and Khan, 2013) *Aspergillus niger* merupakan kapang yang mampu menghasilkan enzim selulase tertinggi dibandingkan dengan *A. Oryzae*, *A. Flavus* *P. Chrysogenum* dan *F. Moneliforme*. Selain itu, *Aspergillus niger* mampu menghasilkan enzim selulose khususnya β -glukosidase dalam jumlah yang tinggi dan enzim yang dihasilkan bersifat ekstraseluler (Yusak, 2004). Sedangkan *Bacillus subtilis* bersifat mesofilik. Bakteri *Bacillus subtilis* menghasilkan enzim protease, amilase, lipase, serta kitinase sebagai enzim pengurai dinding sel patogen (Hatmanti, 2000). Enzim selulase yang dihasilkan dari hasil fermentasi TBS tersebut menyebabkan kadar ALB rendah.

Perlakuan fermentasi TBS dengan perebusan menghasilkan semua perlakuan memiliki kadar ALB lebih rendah dibandingkan dengan kontrol pada lama inkubasi 10 jam yaitu 1,89 %. Sedangkan pada lama inkubasi 15 jam perlakuan M5T2R2 memiliki kadar ALB yang lebih tinggi sebesar 1,80% dari kontrol yaitu 1,65%. Hal ini menunjukkan bahwa kombinasi *Trichoderma harzianum* dengan *Bacillus subtilis* menghasilkan enzim lipase. Fermentasi buah menggunakan *Trichoderma harzianum* dapat menghasilkan enzim lipase dan Fermentasi menggunakan *Bacillus subtilis* juga menghasilkan enzim lipase. Keberadaan enzim lipase yang

tinggi akan menghidrolisis minyak menjadi asam lemak bebas dan gliserol. Semakin tinggi kandungan enzim dalam TBS maka akan semakin tinggi juga kadar ALB nya.

Semua perlakuan penelitian terhadap asam lemak bebas menunjukkan hasil yang baik yaitu asam lemak bebas kurang dari 2%. Hal ini menunjukkan bahwa minyak sawit yang dihasilkan dari TBS yang dipercepat pembrondolannya menggunakan mikroba masih dalam ambang batas mutu minyak yang ditetapkan oleh pada umumnya PKS yaitu 3-5%.

Pengaruh Jenis Mikroba, Waktu Inkubasi Dan Status Perebusan Terhadap Bilangan Peroksida

Peroksida merupakan senyawa yang terbentuk akibat oksidasi minyak. Peroksida dapat menyebabkan bau tengik, perubahan warna menjadi gelap dan penurunan kualitas minyak. Pengukuran terhadap kerusakan minyak disebut dengan bilangan peroksida. Hasil uji anova ditampilkan pada Tabel 5.

Tabel 5. Anova Pengaruh Jenis Mikroba, Lama Inkubasi dan Status Perebusan Terhadap Bilangan Peroksida

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Model	110.932 ^a	22	5,042	16,235	0,000
Mikroba	12,698	4	3,174	10,221	0,000
Inkubasi	0,017	1	0,017	0,054	0,818
Perebusan	0,344	1	0,344	1,106	0,300
Kelompok	0,685	2	0,343	1,103	0,342
Mikroba * Inkubasi	1,834	4	0,458	1,476	0,229
Inkubasi * Perebusan	4,659	1	4,659	15,002	0,000
Mikroba * Perebusan	1,567	4	0,392	1,262	0,302
Mikroba * Inkubasi * Perebusan	12,378	4	3,095	9,964	0,000
Error	11,802	38	0,311		
Total	122,734	60			

a. R Squared = ,904 (Adjusted R Squared = ,848)

Berdasarkan table tersebut menunjukkan bahwa interaksi jenis mikroba, lama inkubasi dan status perebusan berpengaruh sangat nyata terhadap bilangan peroksida (nilai sig 0,000 < α 0,05). Interaksi jenis mikroba secara tunggal berpengaruh sangat nyata terhadap bilangan peroksida (nilai sig 0,000 < α 0,05). Interaksi lama inkubasi secara tunggal berpengaruh tidak nyata terhadap bilangan peroksida (nilai sig 0,818 > α). Interaksi perebusan secara tunggal berpengaruh tidak nyata terhadap kadar peroksida (nilai sig 0,300 > α). Interaksi jenis mikroba dengan lama inkubasi berpengaruh tidak nyata terhadap bilangan peroksida (nilai sig 0,229 > α). Interaksi lama inkubasi dengan perebusan berpengaruh sangat nyata terhadap kadar

peroksida (nilai sig $0,000 < \alpha 0,05$). Interaksi jenis mikroba dengan perebusan berpengaruh tidak nyata terhadap bilangan peroksida (nilai sig $0,302 > \alpha$). Uji lanjut DMRT disajikan pada Tabel 11.

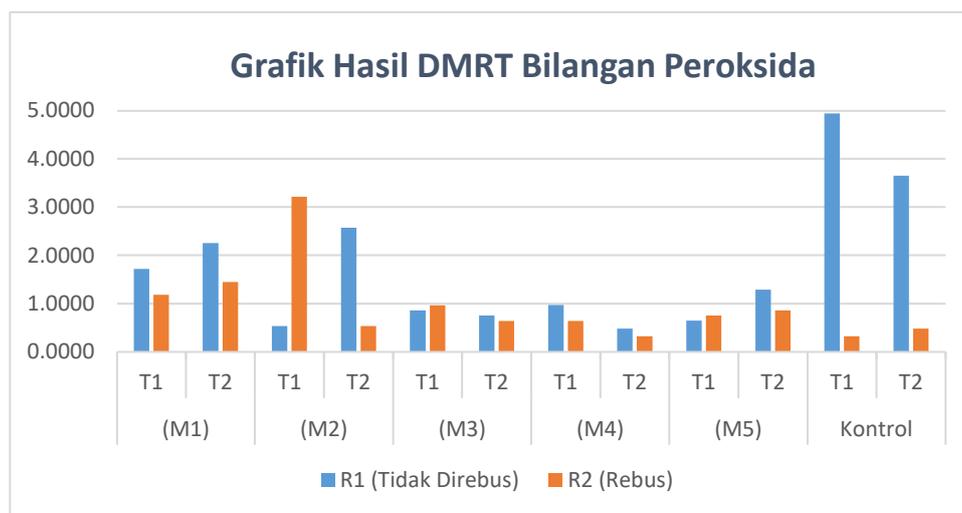
Tabel 5. menunjukkan bahwa perlakuan *Aspergillus niger* dengan lama inkubasi 10 jam dan direbus (M1T1R2) berbeda tidak nyata terhadap perlakuan menggunakan *Trichoderma harzianum* dengan lama inkubasi 10 jam atau 15 jam baik direbus ataupun tidak direbus (M3T1R1, M3T1R2, M3T2R1 dan M3T2R2); perlakuan *Aspergillus niger* dan *Bacillus subtilis* dengan lama inkubasi 10 jam dan direbus atau tanpa rebus (M4T1R1 dan M4T1R2); dan *Trichoderma harzianum* + *Bacillus subtilis* dengan lama inkubasi 10 jam dan direbus atau tanpa rebus (M5T1R1 dan M5T1R2). Hal ini menunjukkan mikroba jenis kapang berpengaruh terhadap bilangan peroksida. *Aspergillus* dan *Trichoderma* menghasilkan enzim lipase. Enzim lipase menyebabkan terbentuknya asam lemak bebas. Semakin tinggi ALB yang terkandung dalam minyak sawit maka akan menyebabkan kerusakan minyak berupa perubahan bau menjadi tengik. Menurut (Cowan, dkk, 2012) Bau tengik terjadi karena proses oksidasi pada suhu kamar terhadap asam lemak tidak jenuh sehingga terbentuk persenyawaan peroksida yang bersifat labil sehingga menyebabkan bilangan peroksida minyak yang dihasilkan tinggi. Selain itu adanya pengaruh suhu dan lama inkubasi juga dapat meningkatkan bilangan peroksida. Suhu yang optimum untuk pertumbuhan *Aspergillus* dan *Trichoderma* berkisar 15-35 C. Bilangan peroksida berbanding lurus dengan lama proses pengolahan minyak, semakin lama proses pengolahan minyak maka semakin tinggi bilangan peroksida yang dihasilkan. Faktor penyebabnya adalah waktu tunda pengolahan minyak pada TBS menyebabkan kapang terus mengalami pertumbuhan melalui proses fermentasi dan dibantu oleh faktor lingkungan yang mendukung.

Perlakuan dengan *Bacillus subtilis* (M2), lama inkubasi dan status perebusan berbeda nyata terhadap bilangan peroksida. Hasil ini menunjukkan bahwa lama inkubasi 10 jam dengan direbus berbeda tidak nyata dengan lama inkubasi 15 jam dengan perebusan. Tetapi berbeda nyata terhadap lama inkubasi 15 jam tidak direbus dan lama inkubasi 10 yang mengalami perebusan. Hal ini menunjukkan bahwa adanya perlakuan suhu dan lama fermentasi berpengaruh terhadap perkembangan bakteri. Berdasarkan kurva fase pertumbuhan bakteri, pada lama inkubasi 0 - 10 jam bakteri mengalami fase lag (adaptasi) dimana bakteri menyesuaikan diri dengan lingkungan sekitarnya. Lama inkubasi 10 – 15 jam bakteri mengalami fase log (pertumbuhan) dimana bakteri membelah dengan cepat dan konstan mengikuti kurva logaritmik. Adanya perlakuan penambahan suhu melalui perebusan diduga

pertumbuhan bakteri maksimal dan sampai pada akhir fase log dan menuju ke fase stationer dimana bakteri bertahan dengan perlakuan suhu 100 °C. Pada lama inkubasi 15 jam dengan perlakuan direbus bakteri berada pada fase kematian sehingga nilainya sama dengan fase lag.

Tabel 6. Hasil Uji DMRT Pengaruh Jenis Mikroba, Lama Inkubasi Dan Status Perebusan Terhadap Bilangan Peroksida.

Mikroba	Lama Inkubasi	R1 (Tidak Direbus)	R2 (Rebus)
<i>Aspergillus niger</i> (M1)	T1 (10 Jam)	1,72 bcd	1,18 def
	T2 (15 jam)	2,25 abc	1,45 cde
<i>Bacillus subtilis</i> (M2)	T1 (10 Jam)	0,54 ef	3,22 a
	T2 (15 jam)	2,57 ab	0,53 ef
<i>Trichoderma harzianum</i> (M3)	T1 (10 Jam)	0,86 def	0,96 def
	T2 (15 jam)	0,75 def	0,64 def
<i>Aspergillus niger</i> + <i>bacillus subtilis</i> (M4)	T1 (10 Jam)	0,97 def	0,64 def
	T2 (15 jam)	0,48 ef	0,32 f
<i>Trichoderma harzianum</i> + <i>Bacillus subtilis</i> (M5)	T1 (10 Jam)	0,64 def	0,75 def
	T2 (15 jam)	1,29 cdef	0,86 def



Gambar 5. Grafik Hasil DMRT Bilangan Peroksida

Gambar 5. menunjukkan bilangan peroksida yang tertinggi dengan perlakuan rebus yaitu pada perlakuan *Bacillus subtilis* dengan lama inkubasi 10 jam (M2T1R2) sebesar 3,22 mek O₂/kg diatas kontrol sebesar 0,32 mek O₂/kg. Sedangkan bilangan peroksida yang terendah pada perlakuan *Aspergillus niger* dan *bacillus subtilis* dengan lama inkubasi 15 jam (M4T2R2) sebesar 0,32 mek O₂/kg dibawah kontrol sebesar 0,48 mek O₂/kg. Bilangan peroksida yang dihasilkan masih dibawah ambang batas normal yaitu 1 – 5,0 meq/kg (Ketaren, 1986). *Bacillus subtilis* merupakan bakteri probiotik yang dapat menghasilkan enzim lipase dan esterase yang

dapat menghidrolis trigliserida menjadi ALB. Adanya proses hidrolisis tersebut meningkatkan ALB yang mudah teroksidasi oleh oksigen sehingga menyebabkan bilangan peroksida minyak tinggi.

Aspergillus niger dapat menurunkan bilangan peroksida dengan cara mengubah ALB menjadi asam lemak volatil yang mudah menguap dan tidak teroksidasi. Dari hasil penelitian (Hamid, Purwadaria and ..., 1999) fermentasi bungkil kelapa dengan *Aspergillus niger* selama 4 hari diperoleh bahwa *Aspergillus niger* dapat menurunkan bilangan peroksida dari 106,7 ppm menjadi 21,3 ppm.

Perlakuan perebusan diasumsikan juga dapat mempengaruhi bilangan peroksida. Hasil penelitian menunjukkan perlakuan sterilisasi pada *Bacillus subtilis* menyebabkan bilangan peroksida tertinggi dibandingkan dengan perlakuan yang lainnya. Sedangkan perlakuan sterilisasi pada *Aspergillus niger* dapat menurunkan bilangan peroksida menjadi terendah jika dibandingkan dengan perlakuan lainnya.

Bilangan peroksida tertinggi dari hasil tanpa sterilisasi diperoleh pada perlakuan *Bacillus subtilis* dengan lama inkubasi 15 jam (M2T2R1) sebesar 2,57 mek O₂/kg dibawah kontrol sebesar 3,65 mek O₂/kg. Sedangkan bilangan peroksida terendah dari hasil tanpa sterilisasi diperoleh pada perlakuan *Aspergillus niger* dan *bacillus subtilis* dengan lama inkubasi 15 jam (M4T2R1) sebesar 0,48 mek O₂/kg dibawah kontrol sebesar 3,65 mek O₂/kg. Semua perlakuan penelitian terhadap bilangan peroksida menunjukkan hasil yang baik yaitu kurang dari 5%. Hal ini menunjukkan bahwa minyak sawit yang dihasilkan dari TBS yang dipercepat pembrondolannya menggunakan mikroba masih dalam ambang batas mutu minyak khususnya bilangan peroksida yaitu 1-5 meq/kg (Ketaren, 1986).

Kesimpulan dan Saran

Kesimpulan

1. Perlakuan Fermentasi TBS menggunakan mikroba kurang dari 20 jam dapat mempercepat pembrondolan buah sawit.
2. Kombinasi *Trichoderma harzianum* dengan *bacillus subtilis* merupakan mikroorganisme yang paling efektif dalam efisiensi pembrondolan buah sawit dari tandannya dengan lama fermentasi 15 jam yaitu sebesar 35,06%, lebih tinggi dari penelitian sebelumnya yaitu 22,37% pada inkubasi 60 jam.
3. Perlakuan fermentasi mikroba tidak menurunkan kualitas minyak terutama berdasarkan parameter kadar asam lemak bebas dan bilangan peroksida.

4. Kadar Asam lemak bebas kurang dari 3% dan memenuhi baku mutu ALB CPO yang ditetapkan oleh pada umumnya pabrik kelapa sawit yaitu 3-5%.
5. Bilangan peroksida kurang 4 meq/Kg dan memenuhi ketentuan

Saran

1. Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk menemukan metode penyiapan isolat yang lebih mudah dan terjangkau oleh masyarakat non akademik.
2. Diperlukan penelitian lebih lanjut yaitu perlakuan fermentasi TBS menggunakan mikroba indigenous yang langsung diisolasi dari TBS, yang diduga memiliki kemampuan degradasi selulosa yang lebih baik.
3. Perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang pengaruh varietas TBS terhadap efisiensi pembrondolan. Karena ada dugaan varietas keluaran dari produsen kecambah tertentu, mempunyai kecenderungan lebih mudah membrondol.

Daftar Pustaka

- Efendi, Y., Yusra, Y. and Efendi, V.O. (2017) 'Optimasi Potensi Bakteri *Bacillus subtilis* sebagai Sumber Enzim Protease', *Akuatika Indonesia*, 2(1), p. 87. Available at: <https://doi.org/10.24198/jaki.v2i1.23417>.
- Hamid, H., Purwadaria, T. and ... (1999) 'Perubahan nilai bilangan peroksida bungkil kelapa dalam proses penyimpanan dan fermentasi dengan *Aspergillus niger*', *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*, 4(2), pp. 101–107. Available at: <http://balitnak.litbang.pertanian.go.id/phocadownload/JITV/101-106.pdf>.
- Hatta, U., Sjoifjan, O. and Sundu, B. (2014) 'Pengaruh fermentasi kombinasi jamur *Pleurotus ostreatus* dengan *Trichoderma viridae* terhadap kandungan nutrisi dan aktivitas enzim selulase bungkil kopra', *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*, 24(2), pp. 20–30. Available at: <https://www.jiip.ub.ac.id/index.php/jiip/article/view/169>.
- Jadhav, A.R.A., More, S., and Khan, S. (2013) 'Cellulase Production By Utilizing Agricultural Wastes.', *Agriculture And Forestry Science*, 1(7), pp. 6–9.
- Safaria, S., Idiawati, N. and Zaharah, T.A. (2013) 'No Title', *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 2(1), pp. 46–51.
- Sinaga, P.P. (2019) 'Evaluasi proses pemisahan buah dari tandan buah segar kelapa sawit dengan cara fermentasi', *Tugas Akhir. Universitas Sumatera Utara, Medan*. [Preprint].
- Yusak, Y. (2004) 'Pengaruh Suhu Dan Buffer Asetat Terhadap Hidrolisa CMC Oleh Enzim *Aspergillus niger* Dalam Media Campuran Onggok dan Dedak', *Sains Kimia*, 8(2), pp. 35–37.