

PROPOSAL
Open Innovation BGA 2025
Peningkatan Oil Content



**Peningkatan Produktivitas Sawit Melalui Integrasi Konsorsium Mikroba Indonesia dan
Mikrobioma Bunga Sawit Terhadap *Elaeidobius kamerunicus* Dengan Pendekatan
Metagenomik dan Metabolomik**

Dr. Pugoh Santoso
Dr. Isnaini Rahmawati
Dr. Samira Husen Alamudi
Dr. Munawar Khalil
Dr. Asep Saefumilah

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Indonesia
Tahun 2025

A. Justifikasi

Perkembangan produksi minyak sawit di Indonesia mengalami penurunan sebesar 5.01% pada tahun 2020 menjadi 45.74 juta ton, dan kembali menurun pada tahun 2021 menjadi 45.12 juta ton (Badan Pusat Statistik, 2021). Dengan potensi yang dimiliki dan kondisi penurunan minyak sawit yang terjadi, maka produksi kelapa sawit pada aspek peningkatan hasil panen sangat penting, dimana hasil panen ini sangat bergantung pada efisiensi penyerbukan. Proses penyerbukan kelapa sawit secara alami terjadi melalui perantara polinator, kumbang *Elaeidobius kamerunicus*. Keberhasilan polinasi alami oleh *E. kamerunicus* memiliki efektivitas yang bervariasi karena beberapa faktor, diantaranya jumlah polinator, kondisi cuaca, ketersediaan serbuk sari, kondisi tanaman, dan topografi. Dalam beberapa waktu, populasi polinator juga menurun sehingga berdampak pada proses penyerbukan. Salah satu penyebab penurunan populasi polinator adalah penggunaan pestisida, khususnya insektisida yang berdampak pada perilaku, navigasi, dan keberhasilan reproduksinya. Selain itu, penurunan lainnya dalam proses penyerbukan oleh *E. Kamerunicus* dilaporkan juga bisa disebabkan karena adanya nematoda parasit yang dapat mengganggu populasi polinator (Curculionidae *et al.*, 2023).

Proses penyerbukan oleh *E. Kamerunicus* terjadi ketika bunga jantan memproduksi senyawa volatil yang dapat menarik *E. Kamerunicus* sehingga bisa membantu penyerbukan dengan membawa serbuk polen dari bunga jantan ke bunga betina. Eksplorasi senyawa volatil pada bunga jantan sudah dilaporkan pada beberapa penelitian. Sebuah penelitian berhasil mengidentifikasi 38 senyawa volatil dengan jenis yang berbeda melalui analisis GC-MS, dimana senyawa Estragole merupakan senyawa paling dominan dari bunga jantan dan betina (Lubis *et al.*, 2023). Selain senyawa volatil yang berperan dalam menarik polinator, interaksi mikrobiom pada *E. Kamerunicus* juga memiliki peran dalam proses penyerbukan. Dalam penelitian yang dilakukan dengan analisis struktur mikrobiom polinator, ditemukan *Bacillus cereus*, *Bacillus megaterium*, dan *Lysinibacillus fusiformis* yang berperan dalam meningkatkan interaksi polinator pada bunga jantan (Putri *et al.*, 2023). Selain itu, keberadaan taksa bakteri spesifik dalam nektar bunga telah dibuktikan dapat mengubah perilaku dan preferensi polinator (Fridman *et al.*, 2012).

Mikrobioma bunga pada tanaman yang memiliki komunitas bakteri, fungi, dan mikroorganisme lainnya, memainkan peran signifikan dalam kesehatan tanaman dan interaksi ekologis. Beberapa studi menunjukkan bahwa komunitas mikroba ini dapat memengaruhi aroma bunga, produksi senyawa organik volatil (VOC), dan bahkan komposisi nektar yang semuanya merupakan faktor kritis dalam menarik polinator (Vannette & Fukami, 2017; Junker *et al.*, 2018). Komposisi mikrobioma yang berbeda antara bunga jantan dan betina kelapa sawit dapat menghasilkan profil kimia yang berbeda, yang berpotensi memengaruhi perilaku *Elaeidobius kamerunicus* dalam mencari makanan. Bunga jantan dan betina kelapa sawit memiliki fungsi yang berbeda, sehingga komunitas mikroba yang dimiliki dimungkinkan juga berbeda. Selain itu, peran mikroba yang menghasilkan metabolit tertentu telah dilaporkan dalam beberapa penelitian yang berperan dalam memediasi interaksi tanaman dan polinator (Pozo *et al.*, 2020; Wei *et al.*, 2022). Pemahaman mengenai interaksi dasar antara mikrobioma bunga kelapa sawit dan polinator merupakan langkah penting untuk mengembangkan strategi pengelolaan berkelanjutan yang dapat memitigasi dampak negatif dari faktor-faktor lingkungan dan internal pada tanaman.

Eksplorasi dan pemetaan interaksi komunitas mikroba pada bunga jantan dan betina serta polinator kelapa sawit melalui pendekatan **metagenomik** dan **metabolomik** belum ada penelitian spesifik yang melaporkan sejauh pengetahuan penulis sampai saat ini. Oleh karenanya, penelitian ini dilakukan untuk mengidentifikasi mikroba berupa bakteri maupun yeast, dan metabolit spesifik

yang dihasilkan dan terlibat dalam menarik polinator, sehingga dapat meningkatkan efisiensi penyerbukan alami oleh *E. Kamerunicus*.

B. Tujuan Riset

Untuk meningkatkan produktivitas pada kelapa sawit, penelitian ini akan melakukan dua pendekatan. **Pendekatan pertama**, riset ini akan membuat **konsorsium mikroba** yang telah diisolasi dari **wilayah Indonesia**. Dalam hal ini, mikroba yang akan dipergunakan adalah strain dari *Bacillus* lokal seperti yang dilaporkan oleh Fridman *et al.*, 2012, strain *Sterptomices* lokal karena strain ini dilaporkan banyak menghasilkan metabolik sekunder sehingga strain ini memungkinkan untuk membunuh patogen perusak pada penyerbukan, dan *Plant Growth-Promoting Rhizobacteria* yang berfungsi sebagai pemicu pertumbuhan. **Pendekatan kedua**, penelitian ini akan menginvestigasi secara komprehensif interaksi kompleks antara komunitas mikroba (mikrobioma) yang berasosiasi dengan bunga jantan dan betina pada kelapa sawit (*Elaeis guineensis*) serta perannya dalam mekanisme penyerbukan. Pendekatan **metagenomik** dan **metabolomik** akan diterapkan untuk mengetahui interaksi tersebut dan keterkaitannya dengan polinator *Elaeidobius kamerunicus*. Fokus analisis pada riset ini akan diarahkan pada identifikasi mikroba dan metabolit yang berperan dalam produksi senyawa volatil yang menarik polinator, khususnya *Elaeidobius kamerunicus*, dengan uji bioassay yang bertujuan untuk mengungkap mekanisme molekuler yang mendasari interaksi antara mikroba, tanaman, dan polinator, serta memberikan dasar ilmiah untuk pengembangan strategi pengelolaan mikrobioma dalam upaya meningkatkan efisiensi penyerbukan dan produksi kelapa sawit. Dalam hal ini, sampel bunga jantan dan betina akan dikumpulkan pada berbagai tahap perkembangan dari perkebunan kelapa sawit yang representatif, kemudian diikuti ekstraksi DNA total dan sekuensing DNA generasi berikutnya (NGS) dengan pendekatan *shotgun metagenomics* untuk menganalisis komposisi dan keanekaragaman komunitas mikroba. Selanjutnya, ekstraksi metabolit dan analisis akan menggunakan kromatografi gas-spektrometri massa (GC-MS) untuk mengidentifikasi dan mengkuantifikasi jumlah metabolit yang dihasilkan. Integrasi data metagenomik dan metabolomik akan dilakukan untuk mengidentifikasi hubungan antara komposisi mikroba dan profil metabolit dengan mengkombinasikan menggunakan analisis statistik multivariat untuk mengidentifikasi perbedaan signifikan antara mikrobioma dan metabolom bunga jantan dan betina. Mikroba yang sangat berpotensi terhadap polinator yang diperoleh pada tahapan riset ini akan dikoleksikan untuk selanjutnya dibuat **konsorsium mikroba** untuk pengujian tahap lanjut.

C. Metodologi

a. Pengumpulan Sampel Bunga Kelapa Sawit

Pemilihan bunga jantan dan betina dilakukan pada tahap perkembangan saat mekar penuh di perkebunan kelapa sawit Bumitama Gunajaya Agro. Pengambilan sampel dilakukan menggunakan alat steril dan dimasukkan ke dalam plastik polietilen steril. Sampel yang diambil adalah bagian kelopak, putik, dan benangsari. Sebagian bahan disimpan dalam nitrogen cair untuk analisis metabolomik dan disimpan pada suhu -80°C.

b. Isolasi Mikrobioma (Bakteri dan Yeast)

Penelitian ini menggunakan 2 jenis media untuk mengisolasi bakteri dan yeast, yaitu LB atau MRS dan PDA. Sterilisasi permukaan dilakukan menggunakan etanol 70% dan NaOCl 0.5% selama beberapa detik. Inokulasi sampel dengan metode *streak plating* dengan menggosok jaringan bungan pada permukaan media dengan pola zig zag. Sampel kemudian dihancurkan

menggunakan mortar dan diencerkan menggunakan PBS 1x. Pengenceran berseri dilakukan sampai tingkat 10^{-3} . Sebanyak 100 μ L sampel terdilusi disebar pada media. Inkubasi dilakukan pada suhu 30°C selama 16-20 jam. Isolasi koloni tunggal dan pemurniaan dilakukan untuk analisis morfologi melalui pewarnaan gram bakteri.

c. Identifikasi Mikroba dengan Shotgun Metagenomik

Ekstraksi DNA dari koloni tunggal dilakukan dengan menggunakan DNeasy blood and tissue kit (Qiagen, Gemany) sesuai dengan protokol kit. DNA genom yang sudah berhasil diisolasi akan diukur konsentrasinya menggunakan NanoDrop ND-2000 UV-vis spectrophotometer (-ermo Fisher Scientific, USA). Hasil isolasi DNA genom akan dilakukan konfirmasi secara kualitatif menggunakan elektroforesis gel agarose 1%. Purifikasi DNA dilakukan menggunakan Qiaquick DNA purification kit untuk selanjutnya dilakukan sekuensing 16s rRNA dan 18s rRNA, dan sekuensing dengan metode *shotgun* sekuensing.

d. Analisis Metabolomik

Koloni tunggal bakteri dan/atau yeast yang diperoleh ditumbuhkan pada media cair. Pemisahan sel dan supernatan dilakukan melalui sentrifugasi 13.000rpm 10 menit. Analisis metabolit intraseluler dan ekstraseluler dilakukan untuk mengidentifikasi profil metabolit yang dihasilkan. Metabolit intraseluler diisolasi dengan metode lisis sel menggunakan 0.5% lisis buffer dan ultrasonifikasi untuk memecah sel dan melepaskan metabolit. Purifikasi metabolit dengan AKTA *purification system*. Analisis biomassa dilakukan dengan GC-MS.

e. Analisis Bioinformatika

Analisis data dilakukan dengan beberapa tahapan. *Assembly* dilakukan dengan teknik de novo menggunakan software Newbler. *Binning* dilakukan untuk mengidentifikasi mengelompokkan contig ke dalam spesies menggunakan software MetaCLuster. Tahap anotasi dilakukan menggunakan beberapa software untuk data metagenomik yang ingin diperoleh. KEGG untuk mengidentifikasi fungsi senyawa tertentu, UniProt untuk identifikasi taksonomi dan fungsi biologis, TIGRFAM untuk database famili protein, MG-RAST untuk analisis filogenetik dan fungsi metagenom.

f. Pembuatan Konsorsium Mikroba

Konsorsium mikroba akan dibuat dengan menggunakan strain *Bacillus*, *Streptomyces*, dan *Plant Growth-Promoting Rhizobacteria* koleksi Indonesia. Semua mikroba yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah mikroba termofilik yang akan memberikan keuntungan bahwa mikroba tersebut akan tetap bekerja optimal walaupun suhu berubah sangat panas.

D. Kebutuhan Biaya

Deskripsi	Biaya (Rp)
Honor	90.000.000
Biaya Bahan Habis Pakai	107.000.000
Sewa alat, jasa analisis, dan pengolahan data	50.000.000
Biaya Perjalanan	15.000.000
Biaya Operasional Lainnya	8.000.000
Publikasi artikel (Proofreading dan biaya publikasi) dan paten	30.000.000
Total	300.000.000

E. Ganchart

No	Kegiatan	Bulan ke-											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	Perencanaan dan Desain Penelitian	x											
2	Pengumpulan Sampel Bunga Kelapa Sawit		x										
3	Isolasi Mikroba dan Ekstraksi DNA dan RNA dari Sampel Bunga		x	x	x								
4	Analisis Metagenomik (Sekeensing DNA)				x	x	x						
5	Analisis Metabolomik						x	x					
6	Analisis Data Bioinformatika dan Statistik							x	x	x			
7	Pembuatan Konsorsium Mikroba	x	x	x	x								
8	Pengujian efektivitas konsorsium mikroba					x	x	x					
7	Interpretasi Hasil dan Penyusunan Laporan								x	x	x	x	
8	Publikasi Hasil Penelitian (Jurnal/Konferensi)										x	x	x

F. Analisis Cost dan Benefit

Pemahaman mendalam tentang bagaimana mekanisme interaksi antara komunitas mikroba pada bunga dengan polinator berkontribusi untuk memberikan temuan tentang interaksi ekologis kelapa sawit. Lebih jauh, melalui penelitian ini dapat dikembangkan untuk teknik pertanian berkelanjutan yang ramah lingkungan melalui **pengembangan konsorsium** yang mengandung mikroba menguntungkan untuk meningkatkan efisiensi penyerbukan dan hasil panen kelapa sawit. Dari hasil penelitian ini juga bisa dilakukan pengembangan Bio-atraktan, serta biopestisida yang dapat mengendalikan hama dan penyakit pada bunga kelapa sawit, sehingga mengurangi ketergantungan pada pestisida kimia. Selain itu, penggunaan **mikroba Indonesia** dan **Plant Growth-Promoting Rhizobacteria** untuk pembuatan konsorsium pada **pendekatan pertama** akan meningkatkan biodiversitas mikroba dilahan sawit yang akan memperbaiki tekstur tanah secara alami.