

Direct Pellet PCR: Rapid Extraction-Free Method for Identification of Cellulolytic Bacteria from Empty Fruit Bunch

Edo Agam Pamungkas^{1*}, Sylvia Madusari¹, Halida Adistya Putri¹, Risa Rosita²

¹Production Technology of Plantation Crop Study Program, Politeknik Kelapa Sawit Citra Widya Edukasi, Bekasi, Jawa Barat, Indonesia;

²Science Innovation Technology Department, Southeast Asian Regional Centre for Tropical Biology (SEAMEO BIOTROP), Bogor, Jawa Barat, Indonesia;

Article History

Received : January 10th, 2026

Revised : January 20th, 2026

Accepted : January 28th, 2026

*Corresponding Author:

Edo Agam Pamungkas,

Production Technology of
Plantation Crop Study Program,
Politeknik Kelapa Sawit Citra
Widya Edukasi, Bekasi, Jawa
Barat, Indonesia;

Email:

edoagampamungkas@gmail.com

Abstract: Oil Palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) is a major industrial crop producing large amounts of empty fruit bunches (EFB), which necessitate rapid molecular methods to support microbial biodiversity studies and biotechnology applications. This study evaluated the effectiveness of Direct Pellet PCR as a rapid, extraction-free method for the molecular identification of cellulolytic bacteria isolated from EFB. Bacterial cell pellets were directly used as PCR templates to amplify the 16S rRNA gene without prior DNA extraction. The method consistently produced clear and specific amplicons of approximately 1500 bp for all isolates, indicating reliable PCR amplification. Sequence analysis showed similarity values ranging from 68.82% to 80.43% compared with reference sequences in the NCBI database, suggesting low similarity to currently available references. These findings demonstrate that Direct Pellet PCR is an efficient and cost-effective approach for rapid DNA amplification and preliminary molecular screening of cellulolytic bacteria from lignocellulosic substrates.

Keywords: 16S rRNA, cellulolytic bacteria, direct pellet PCR, empty fruit bunch, molecular identification.

Pendahuluan

Kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) merupakan komoditas perkebunan strategis di tingkat global, dengan Indonesia sebagai produsen utama. Data Badan Pusat Statistik (2023) menunjukkan bahwa produksi minyak kelapa sawit mentah (*crude palm oil/CPO*) nasional mengalami peningkatan dari 45,12 juta ton pada tahun 2021 menjadi 46,82 juta ton pada tahun 2022. Peningkatan produksi kelapa sawit berdampak langsung pada bertambahnya limbah padat hasil pengolahan, terutama tandan kosong kelapa sawit (TKKS), yang jumlahnya mencapai sekitar 22–24% dari total tandan buah segar (Gaol *et al.*, 2013). Akumulasi TKKS yang tidak dikelola secara optimal berpotensi menimbulkan dampak negatif terhadap lingkungan serta berpotensi menjadi habitat bagi perkembangan organisme

pengganggu. Oleh sebab itu, pemanfaatan TKKS secara berkelanjutan melalui pendekatan bioteknologi merupakan isu yang penting dan relevan.

Tandan kosong kelapa sawit (TKKS) merupakan residu lignoselulosa dengan komposisi kimia yang kompleks, yang tersusun atas fraksi holoselulosa berupa selulosa dan hemiselulosa serta kandungan lignin yang relatif tinggi (Dewanti, 2018). Kandungan selulosa pada TKKS dilaporkan mencapai 71–72%, sedangkan hemiselulosa berkisar antara 16–24% (Rizwan *et al.*, 2021). Kompleksitas substrat tersebut menjadikan TKKS sebagai lingkungan yang potensial bagi keberadaan mikroorganisme selulolitik, namun pada saat yang sama dapat menimbulkan kendala dalam analisis molekuler akibat keberadaan senyawa-senyawa penghambat. Bakteri selulolitik merupakan mikroorganisme yang mampu

mendegradasi selulosa dan senyawa lignoselulosa kompleks melalui aktivitas enzimatis, khususnya selulase (Suryaningrum & Samsudin, 2018). Kelompok bakteri ini memiliki peran penting dalam pengembangan industri berbasis enzim, termasuk bioenergi dan bioteknologi industri, karena efisiensi produksi serta stabilitas enzim dari mikroba yang dihasilkan (Singh *et al.*, 2019).

Identifikasi bakteri selulolitik secara molekuler umumnya dilakukan melalui amplifikasi gen target yang diawali dengan proses ekstraksi DNA. Namun, metode ekstraksi DNA konvensional cenderung memerlukan waktu dan biaya yang relatif tinggi serta penggunaan reagen dan peralatan khusus, sehingga berpotensi menjadi kendala dalam pelaksanaan skrining cepat maupun pada laboratorium dengan keterbatasan fasilitas. Metode *Direct PCR* dikembangkan sebagai alternatif lebih sederhana dengan memungkinkan amplifikasi DNA secara langsung dari pelet sel tanpa melalui tahapan ekstraksi, melalui perlakuan fisik sederhana seperti *heat shock* dan *vortexing* (Jeon *et al.*, 2023; Harahap, 2025). Namun demikian, evaluasi penerapan metode ini pada bakteri selulolitik berasal dari substrat lignoselulosa kompleks seperti TKKS masih terbatas, terutama terkait keberhasilan amplifikasi dan kualitas pita DNA yang dihasilkan.

Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efektivitas metode *Direct Pellet PCR* sebagai pendekatan amplifikasi DNA tanpa tahapan ekstraksi DNA dalam identifikasi molekuler bakteri selulolitik asal TKKS. Identifikasi molekuler dalam penelitian ini digunakan sebagai indikator untuk mengevaluasi keberhasilan penerapan metode, mencakup kualitas pita DNA serta tingkat keberhasilan proses amplifikasi. Penerapan metode ini diharapkan menjadi alternatif yang lebih cepat dan efisien dalam mendukung kegiatan skrining, eksplorasi biodiversitas mikroorganisme, serta pengkajian potensi pemanfaatan bioteknologi bakteri selulolitik berbasis limbah kelapa sawit.

Bahan dan Metode

Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada Juli-September 2024 di Laboratorium Bioteknologi, SEAMEO BIOTROP, Bogor Jawa Barat. Kegiatan Isolasi bakteri dan pemurnian isolat telah dilakukan di Laboratorium Pupuk Hayati, Sulung Research Station, PT. Sawit Sumbermas Sarana Tbk., Citra Borneo Indah Group, Pangkalanbun Kalimantan Tengah dan kegiatan Peremajaan isolat dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Politeknik Kelapa Sawit Citra Widya Edukasi, Bekasi Jawa Barat.

Desain Penelitian

Penelitian ini termasuk eksperimental laboratoris dengan pendekatan deskriptif. Penelitian ini menggunakan tiga isolat bakteri selulolitik yang berasal dari tiga lokasi sampling TKKS yang berbeda. Sampel diambil menggunakan metode purposive sampling, untuk dilakukan isolasi bakteri selulolitik, selanjutnya isolat selulolitik diperoleh dimurnikan hingga menghasilkan tiga kultur bakteri yang mewakili masing-masing lokasi dan digunakan pada seluruh tahapan penelitian.

Bahan

Bahan penelitian ini tiga kultur cair isolat bakteri selulolitik yang berasal dari tiga lokasi yang berbeda dan diberikan kode. Isolat bakteri berasal dari tandan kosong kelapa sawit (TKKS) dari tiga lokasi diantaranya berasal dari: kebun pupuk organik SRS (PO); kebun sawit PT. SSMS (PL); pabrik Sulung (PK). Isolasi menggunakan media selektif bakteri selulolitik CMC (*Carboxy Methyl Cellulose*) terlampir pada tabel 1, yang mengacu dalam *Handbook of Microbiological Media* (Atlas, 1993). Primer 16s rRNA pasangan primer 27F, primer 1492R, akuabidest (ddH₂O), Agarose, PCR MIX 2x MyTaq HS Red Mix (Bioline Reagent, Ltd., United Kingdom), buffer TAE 1x, FluoroSafe DNA Stain, 100bp DNA ladder.

Amplifikasi DNA

Metode Amplifikasi menggunakan tiga isolat kultur cair bakteri selulolitik, proses lysis bakteri dilakukan langsung pada thermocycler. Metode ini bakteri diamplifikasi langsung tanpa proses isolasi DNA dengan menggunakan

metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Primer yang digunakan (Sharma *et al.*, 2020) adalah 16S rRNA dengan pasangan primer 27F (5'- AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG-3') dan 1492R (5'- GGT TAC CTT ACG ACT T-3').

Proses amplifikasi DNA, dilakukan dengan melakukan sentrifugasi sebanyak 1 mL selama 3 menit dengan kecepatan 7,500 rpm. Pelet hasil sentrifugasi yang dihasilkan langsung digunakan tanpa proses ekstraksi DNA (Rosita, 2021). Reaksi PCR dengan volume total 50 µL, menggunakan PCR MIX 2x MyTag HS red mix (Bioline, UK) dengan templat DNA 5 µL, primer *forward* dan *reverse* 2 µL, 2x MyTag HS red mix 25 µL, dan *nuclease-free water* 16 µL. Tabung PCR tube 0.2 mL ditempatkan pada thermocycler dengan PCR program pada Tabel 2, dilakukan sebanyak 30 siklus (Rosita, 2021).

Tabel 1. Komposisi Media CMC

No.	Bahan	Jumlah (g/500mL)
1	K ₂ HPO ₄	0.25
2	KH ₂ PO ₄	0.25
3	NH ₄ SO ₄	0.5
4	MgSO ₄ .2H ₂ O	0.05
5	CaCl ₂	0.05
6	NaCl	3
7	<i>Ekstrak khamir</i>	0.05
8	CMC	2.5
9	Aquadesh	5
10	Agar	0.5

Tabel 2. PCR Program

PCR Program	Suhu	Waktu
Pradenturasi	95°C	1 menit 30 detik
Denaturasi	95°C	30 detik
Annealing	50°C	30 detik
Extension	72°C	1 menit 30 detik
Final Extension	72°C	5 menit

Elektroforesis DNA Sampel

Elektroforesis merupakan metode yang digunakan untuk memvisualisasikan produk PCR dari ketiga sampel DNA bakteri. Proses elektroforesis menggunakan Gel agarosa yang digunakan untuk mengevaluasi ukuran fragmen dan kualitas DNA. Elektroforesis dilakukan pada gel agarosa 1% dengan buffer TAE 1x ditambahkan 3 µL pewarna DNA Fluorosafe DNA stain sebagai agen visualisasi. Penentuan ukuran fragmen DNA dilakukan dengan

menggunakan penanda molekuler 100 bp DNA ladder. Proses elektroforesis dijalankan pada tegangan 100 V DC selama 45 menit. Hasil migrasi DNA kemudian diamati menggunakan UV transilluminator Vilber Lourmat ETX-20.M (Vilber, France), dan hasil elektroforegram dari sampel didokumentasikan menggunakan kamera digital.

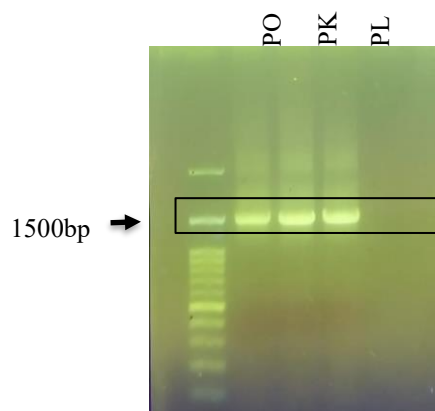
Analisis Sampel Bakteri

Produk PCR yang telah berhasil diamplifikasi dan dinyatakan memiliki kualitas yang baik selanjutnya, dikemas ulang untuk dilakukan proses analisis sekuensing. Sebanyak 35 µL produk PCR beserta primer *forward* dan *reverse* dikirimkan ke PT. Genetika Science untuk dilakukan pembacaan urutan nukleotida DNA (DNA sequencing). Hasil pembacaan kemudian dilakukan analisis bioinformatika menggunakan software Bioedit dan proses identifikasi dengan menu BLASTN (*Basic Local Alignment Search Tool Nucleotide*) pada website NCBI (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

Hasil dan Pembahasan

DNA Amplikon

Hasil visualisasi produk PCR dari ketiga sampel (Gambar 2.) menunjukkan pita DNA berukuran 1500bp dengan pita DNA yang baik ditandai munculnya pita tunggal, tebal, dan jelas. ukuran fragmen yang sesuai dengan target berdasarkan penanda DNA (*DNA ladder*). Pita tersebut memiliki intensitas yang cukup, tidak terlalu tipis maupun terlalu tebal, serta tidak menunjukkan pita *smear* atau pita nonspesifik.

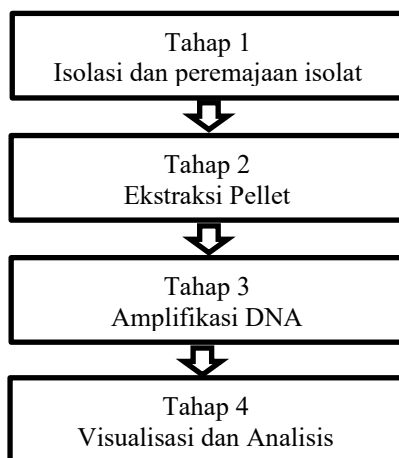


Gambar 1. Hasil visualisasi ketiga sampel.

Kondisi ini menunjukkan bahwa proses amplifikasi menggunakan primer 16S rRNA dengan pasangan 27F dan 1492R berlangsung secara spesifik dan optimal. Hasil visualisasi ini menunjukkan bahwa dengan metode direct PCR dapat digunakan dalam proses amplifikasi DNA dan menghasilkan pita DNA yang baik, serta dapat digunakan untuk tahapan analisis berikutnya.

Diagram workflow metode Direct Pellet PCR

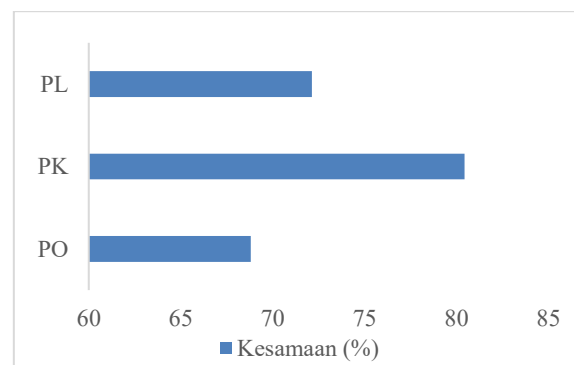
Pelaksanaan metode Direct Pellet PCR terlampir pada Gambar 2. Penelitian ini dilakukan melalui empat tahapan utama, yaitu isolasi dan peremajaan isolat, ekstraksi pellet sel, amplifikasi DNA, dan terakhir yaitu analisis dan visualisasi. Media selektif Carboxymethyl Cellulose (CMC) sebagai media kultur bakteri selulolitik. Pelet diperoleh dari proses sentrifugasi sumber DNA tanpa melalui tahap ekstraksi dan purifikasi. Proses amplifikasi DNA dilakukan menggunakan program PCR. Tahapan amplifikasi dan analisis molekuler bertujuan untuk mengevaluasi kualitas pita DNA yang dihasilkan serta menilai keberhasilan penerapan metode yang digunakan. Direct Pellet PCR mampu menghasilkan pita DNA yang jelas dan spesifik, sehingga metode ini efektif, cepat, dan efisien untuk analisis molekuler isolat bakteri selulolitik.



Gambar 2. Diagram Workflow Direct Pellet PCR Analisis Sampel Bakteri

Hasil identifikasi molekuler berdasarkan analisis sekuensing gen 16S rRNA terhadap tiga isolat selulolitik menunjukkan tingkat kemiripan/homologi yang bervariasi (Gambar 3). Ketiga isolat memiliki nilai identitas maksimum

berkisar antara 68,82–80,43%. Isolat dengan kode PK menunjukkan nilai identitas tertinggi sebesar 80,43% dengan kemiripan terhadap spesies *Aeromonas enteropelogenes* (NR_044846.1). Isolat PL memiliki nilai identitas sebesar 72,14% menunjukkan kemiripan dengan *Nitrosomonas stercoris* (NR_146824.1). Isolat berkode PO memiliki kesamaan pada spesies *Methylobacillus caricis* berdasarkan nilai identitas maksimum sebesar 68,82% (NR_179144.1). Ketiga isolat bakteri selulolitik (PO, PL, dan PK) memiliki nilai identitas dengan kemiripan <97% dengan spesies bakteri yang ada pada genbank National Center For Biotechnology Information (NCBI).



Gambar 3. Grafik persentase Kesamaan Sekuens Gen 16S rRNA Isolat PO, PK, dan PL terhadap Sekuens Referensi GenBank.

Pembahasan

DNA Amplikon

Hasil dari penelitian ini diketahui bahwa, metode direct pellet PCR langsung pada thermocycler merupakan metode yang dapat digunakan dalam amplifikasi DNA bakteri. Metode amplifikasi DNA tanpa proses isolasi DNA juga dilakukan oleh Rosita (2021) pada identifikasi *Mikoriza sp.* dan Identifikasi *Escherichia coli* (Harahap *et al.*, 2025). Metode amplifikasi sampel direct PCR tanpa isolasi DNA memiliki beberapa kelebihan. (1) metode amplifikasi DNA tanpa menggunakan lisozim. Lisozim relatif mahal dan membutuhkan lemari penyimpanan yang sesuai (-80°C) untuk menjaga kualitas enzimnya, (2) Mempermudah proses identifikasi sampel dan mempersingkat waktu analisis molekuler, (3) Memperkecil biaya penelitian. Penggunaan metode direct PCR mampu memperkecil biaya dan efisiensi waktu

dalam proses ekstraksi (Videvall *et al.*, 2017). Proses lisis dinding sel dan akses terhadap asam nukleat untuk amplifikasi PCR dapat dilakukan tanpa proses ekstraksi dan purifikasi tambahan, namun efisiensi direct PCR bergantung pada jenis mikroorganismenya, pada mikroorganisme yang lebih kompleks diperlukan langkah lisis tambahan, meskipun secara keseluruhan metode ini tetap efektif dan cepat untuk mengamplifikasi gen (Harahap *et al.*, 2025).

Analisis Sampel Bakteri

Isolat bakteri selulolitik yang digunakan dalam penelitian ini teridentifikasi ke dalam beberapa spesies berdasarkan hasil analisis sekuens gen 16S rRNA, dengan mengacu pada hasil penelitian Pamungkas *et al.* (2025). Spesies *Methylobacillus caricis* termasuk ke dalam genus *Methylobacillus* yang dikenal sebagai bakteri metilotrof obligat berbentuk batang dan bersifat Gram-negatif (Yordy dan Weaver, 1977), serta dilaporkan ditemukan pada daerah perakaran rumput teki (Agafonova *et al.*, 2017). Spesies bakteri *Nitrosomonas stercoris* merupakan bakteri Gram-negatif kemoautotrof pengoksidasi amonia yang toleran terhadap konsentrasi amonium tinggi dan pertama kali diisolasi dari kotoran sapi terkomposkan (Nakagawa dan Takahashi, 2015). Sementara itu, *Aeromonas enteropelogenes* merupakan bakteri Gram-negatif yang pertama kali diidentifikasi dari feses manusia di India (Schubert *et al.*, 1990).

Isolat menunjukkan kedekatan dengan genus tertentu, namun belum dapat ditetapkan sebagai spesies karena nilai kesamaan sekuens <97%. Ketiga kultur isolat memiliki tingkat kemiripan di bawah ambang batas penetapan spesies, sehingga tidak dapat dikonfirmasi sebagai spesies yang telah teridentifikasi. Oleh karena itu, isolat berpotensi merepresentasikan takson yang berbeda dan masih memerlukan analisis lanjutan untuk memastikan status taksonominya (Pamungkas *et al.*, 2025).

Meskipun nilai kesamaan sekuens ketiga isolat hanya berada pada kisaran 68–80%, metode Direct Pellet PCR tetap berhasil menghasilkan ampikon berukuran 1500 bp yang jelas, spesifik, dan layak untuk analisis downstream. Rendahnya tingkat kemiripan sekuens lebih mencerminkan divergensi genetik isolat terhadap data referensi, bukan indikasi kegagalan amplifikasi. Temuan ini menegaskan

bahwa Direct Pellet PCR merupakan metode yang cepat, sederhana, dan bebas ekstraksi yang tetap mampu menghasilkan kualitas ampikon yang baik untuk identifikasi awal bakteri selulolitik dari TKKS. Dengan efektivitas dan efisiensinya, metode ini berpotensi menjadi alternatif praktis bagi laboratorium dengan fasilitas terbatas.

Kesimpulan

Penelitian ini menunjukkan bahwa Direct Pellet PCR mampu menghasilkan ampikon 16S rRNA yang jelas dan spesifik dari isolat bakteri selulolitik TKKS meskipun nilai kesamaan sekuens hanya berada pada kisaran 68–80%. Hal ini menegaskan bahwa rendahnya kemiripan sekuens tidak memengaruhi keberhasilan amplifikasi. Sebagai metode yang cepat, sederhana, dan bebas ekstraksi, Direct Pellet PCR terbukti efektif untuk identifikasi awal mikroorganisme dan berpotensi menjadi alternatif praktis bagi laboratorium dengan fasilitas terbatas.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Badan Pengelola Dana Perkebunan Kelapa Sawit (BPD PKS) atas dukungan beasiswa penuh selama studi dan penelitian. Apresiasi juga disampaikan kepada Sulung Research Station, PT. Sawit Sumbermas Sarana Tbk., Citra Borneo Indah (CBI Group), dan Southeast Asian Regional Centre for Tropical Biology (SEAMEO BIOTROP) atas fasilitasi dan dukungan penelitian. Terima kasih turut disampaikan kepada Politeknik Kelapa Sawit Citra Widya Edukasi atas dukungan fasilitas dan infrastruktur penelitian.

Referensi

Agafonova, N.V., Kaparullina, E.N., Doronina, N.V., & Trotsenko, Y.A. (2017). *Methylobacillus caricis* sp. nov., an Obligate Methylophilic Isolated from Roots of Sedge (*Carex* sp.). *Mikrobiologiya*, 86(6), 720-728.
<https://doi.org/10.1134/S0026261717060042>

- Arslan, M., Tezcan, Camci, H., & Avci, MK. (2021). Effect of DNA Concentration on Band Intensity and Resolution in Agarose Gel Electrophoresis. *Van Health Science Journal*, 14(3) 326-333. <https://doi.org/10.52976/vansaglik.969547>
- Atlas RM. (1993). *Handbook of Microbiological Media*. Boca Raton (AS): CRC Press. ISBN 0849329442, 9780849329449
- Biswas C., Dey P. & Satpathy S. (2013). A method of direct PCR without DNA extraction for rapid detection of begomoviruses infecting jute and mesta. *Letters in Applied Microbiol*, 58 350-355. doi: 10.1111/lam.12196. Epub 2013 Dec 9. PMID: 24261838.
- BPS (Badan Pusat Statistik). (2020). *Statistik Kelapa Sawit Indonesia 2019*. Direktorat Statistik Tanaman Pangan, Hortikultura, dan Perkebunan, editor. Jakarta (ID): Badan Pusat Statistik/BPS–Statistics Indonesia.
- BPS (Badan Pusat Statistik). (2023). *Statistik Kelapa Sawit Indonesia 2022*. Direktorat Statistik Tanaman Pangan, Hortikultura, dan Perkebunan, editor. Jakarta (ID): Badan Pusat Statistik/BPS–Statistics Indonesia
- Dewanti, P.W. (2018). Potensi Selulosa dari Limbah Tandan Kosong Kelapa Sawit untuk Bahan Baku Bioplastik Ramah Lingkungan. *Jurnal Teknologi Lingkungan*. 19(1) 81-88. doi:10.29122/jtl.v19i1.2644
- Gaol, M.R.L.L., Sitorus, R., Yanthi, S., Surya, I., & Manurung, R. (2013). Pembuatan Selulosa Asetat dari α -Selulosa Tandan Kosong Kelapa Sawit. *Jurnal Teknik Kimia USU*, 2(3), 33-39.
- Harahap, D.A., Yamamoto, Z., Widjaja, S.S., & Mayastri, E. (2025). Direct PCR for *Escherichia coli*: a straightforward and cost-effective method. *Jurnal Kesmas dan Gizi (JKG)*. 7(2) 223-228. doi: 10.35451/jkg.v7i2.2606
- Jeon, H., Son, H., & Min, K. (2023). Detailed Protocol to Perform Direct PCR Using Filamentous Fungal Biomass-Tips and Considerations. *Bio Protoc*. 2023 Nov 5;13(21):e4889. doi: 10.21769/BioProtoc.4889. PMID: 37969756; PMCID: PMC10632164.
- Kislichkina, A.A., Sizova, A.A., Skryabin, Y.P., Dentovskaya, S.V., & Anisimov, A.P. (2025). Evaluation of 16S rRNA genes sequences and genome-based analysis for identification of non-pathogenic *Yersinia*. *Front Microbiol*. 7;15:1519733. doi: 10.3389/fmicb.2024.1519733. PMID: 39845053; PMCID: PMC11753223.
- Mori H., Maruyama F. & Kurokawa K. (2010). Software Open Access VITCOMIC: visualization tool for taxonomic compositions of microbial communities based on 16S rRNA gene sequences. *BMC Bioinformatics*. 11:332. <http://www.biomedcentral.com/1471-2105/11/332>.
- Mori, H., Maruyama, F., & Kurokawa, K. (2010). VITCOMIC: visualization tool for taxonomic compositions of microbial communities based on 16S rRNA gene sequences. *BMC Bioinformatics*. 18;11:332. doi: 10.1186/1471-2105-11-332. PMID: 20565810; PMCID: PMC2894824.
- Nakagawa, T., & Takahashi, R. (2015). *Nitrosomonas stercoris* sp. nov., a Chemoautotrophic Ammonia-Oxidizing Bacterium Tolerant of High Ammonium Isolated from Composted Cattle Manure. *Microbes Environ*. 30(3):221-7. doi: 10.1264/jsme2.ME15072. Epub 2015 Jul 4. PMID: 26156554; PMCID: PMC4567560.
- Pamungkas, E.A. (2025) *Analisis aktivitas selulase dan identifikasi molekuler bakteri selulolitik asal limbah tandan kosong kelapa sawit menggunakan marka Gen 16S rRNA*. Skripsi. Politeknik Kelapa Sawit Citra Widya Edukasi, Bekasi, Indonesia.
- Pamungkas, E.A., Madusari, S., Putri, H.A. & Rosita, R. (2025). The Diversity and Characterisation of Cellulolytic Bacteria Isolated From Various Conditions of Empty Fruit Bunches in Oil Palm Plantation. *Jurnal Bioteknologi dan Biosains Indonesia*, 12(1) 119-129. <https://doi.org/10.55981/jbbi.2025.10238>
- Rahmasita, M.E., Farid, M., & Ardhyanta, H. (2017). Analisa Morfologi Serat Tandan Kosong Kelapa Sawit Sebagai Bahan Penguat Komposit Absotpsi Suara. *Jurnal Teknik ITS*. 6(2): 23337-2520. doi:10.12962/j23373539.v6i2.24332.

- Rizwan, M., Gilani, S.R., Durrani, A.I., & Naseem, S. (2021). Cellulose extraction of *Alstonia scholaris*: A comparative study on efficiency of different bleaching reagents for its isolation and characterization. *Int J Biol Macromol.* 30;191:964-972. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2021.09.155. Epub 2021 Oct 1. PMID: 34597697.
- Rosita, R. (2021). *Pertumbuhan dan kemampuan fitoremediasi Brachiaria decumbens Stapf yang diperkaya Claroideoglomus etunicatum dan Bacillus sp. pada tanah bekas tambang batu bara*. Tesis, IPB Repository, Institut Pertanian Bogor, Bogor, Indonesia.
- Rosita, R., Aprianda, E., Hazra, F., & Eris, D.D. (2023). Characterization of Phosphate Solubilizing Bacteria From Tree Types of Rhizosphere and Their Potency to Increase Growth of Corn (*Zea mays*). *Jurnal Ilmiah Biologi Eksperimen dan Keanekaragaman Hayati.* 10(1) 30-39. doi: <https://doi.org/10.23960/jbekh.v10i1.288>.
- Schubert RHW., Hegazi M. & Wahlig W. (1990). *Aeromonas enteropelogenes* species nova. *Hyg Med* 15;471-472.
- Sharma, S., Kumar, S., Khajuria, A., Ohri P., & Kaur, R. (2020). Biocontrol potential of chitinases produced by newly isolated *Chitinophaga* sp. S167. *World Journal Microbiol. Biotechnol.* 11;36(6):90. doi: 10.1007/s11274-020-02864-9. PMID: 32524202.
- Singh, R.S., Singh, T., Pandey, A. (2019), Microbial enzymes-an overview, *Advances in enzyme technology.* 1-40. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64114-4.00001-7>.
- Suryaningrum, L.H., & Samsudin, R. (2018). Potensi enzim selulase dalam mendegregasi material lignoselulosa sebagai bahan pakan ikan. *Prosiding seminar nasional hasil riset pengolahan produk dan bioteknologi kelautan dan perikanan 2018 Pertemuan ilmiah ke10 kongres MPHI, Okt.* 16-17, BBRP2BKP & MPHPI, Jakarta, pp: 71-76.
- Syahputra, A., Mutaqin, K.H., & Damayanti, T.A. (2016). Komparasi Metode Isolasi DNA Patogen Antraknosa dan Bulai untuk Deteksi PCR. *Jurnal Fitopatologi Indonesia.* 12(4), 124-132. DOI: 10.14692/jfi.12.4.124
- Tahir, A.A., Mohd Barnoh, N.F., Yusof, N., Mohd Said, N.N., Utsumi, M., Yen, A.M., Hashim, H., Mohd Noor, M.J.M., Akhir, F.N.M., Mohamad, S.E., Sugiura, N., Othman, N., Zakaria, Z., & Hara, H. (2019). Microbial Diversity in Decaying Oil Palm Empty Fruit Bunches (OPEFB) and Isolation of Lignin-degrading Bacteria from a Tropical Environment. *Microbes Environ.* 27;34(2):161168. doi:10.1264/jsme2.ME18117. Epub 2019 Apr 23. PMID: 31019143; PMCID: PMC6594733.
- Tallei, T.E., Rembet, R.E., Pelealu, J.J. & Kolondam, B.J. (2016). Sequence Variation and Phylogenetic Analysis of *Sansevieria trifasciata* (Asparagaceae). *Bioscience Research.* 13(1): 01-07.
- Videvall, E., Strandh, M., Engelbrecht, A., Cloete, S., & Cornwallis, C.K. (2017). Direct PCR offers a fast and reliable alternative to conventional DNA isolation methods for gut microbiomes. *mSystems.* 2:e00132-17. <https://doi.org/10.1128/mSystems.00132-17>.
- Yordy, J.R., & Weaver, T.L. (1977). *Methylobacillus*: a New Genus of Obligately Methylophilic Bacteria. *International Journal of Systematic And Evolutionary Microbiology.* 27(3) 247-255.
- Yusnia, E.D., Gunam, I.B.W., & Antara, N.S. (2019). Isolasi dan Skrining Bakteri Selulolitik dari Beberapa Tanah Hutan di Bali. *Jurnal Rekayasa & Manajemen Agroindustri.* DOI: <https://doi.org/10.24843/JRMA.2019.v07.i01.p02>.