

ABSTRAK

Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS) merupakan limbah biomassa terbanyak di Indonesia yang mengandung lignoselulosa. Komponen lignoselulosa terdiri dari selulosa, hemiselulosa, serta lignin. Lignin adalah komponen bagian terluar yang memiliki struktur aromatik kompleks yang membungkus selulosa sehingga menghalangi enzim dalam menghidrolisis selulosa untuk dimanfaatkan lebih lanjut. Selulosa dapat dimanfaatkan sebagai bahan produksi bioetanol jika lignin telah terdegradasi, sehingga perlu dilakukan proses *pretreatment* secara biologi. *Bio-pretreatment* dilakukan menggunakan isolat bakteri InaCC A1159 *Streptomyces griseorubens* karena mampu menghasilkan enzim ligninase (lignin peroksidase, mangan peroksidase, dan lakase). Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kondisi optimum proses delignifikasi dari InaCC A1159 *Streptomyces griseorubens* dengan metode *Response Surface Methode* (RSM) variasi massa, pH, dan waktu., serta menentukan aktivitas enzim ligninase yang dihasilkan dalam mendegradasi lignin.

Penelitian ini dilakukan beberapa tahap. Tahap awal yaitu peremajaan bakteri dan dilanjutkan pembuatan rancangan percobaan RSM menggunakan *Design Expert 13*. Tahap selanjutnya yaitu proses *pretreatment* berdasarkan rancangan percobaan RSM. Hasil *pretreatment* kemudian dilakukan penyaringan, penetralan dan pengeringan hingga diperoleh residu dan enzim kasar. Tahap selanjutnya dilakukan analisis komponen pada TKKS *raw material* dan hasil *pretreatment* dan dilanjutkan perhitungan nilai lignin *removal*. Hasil lignin *removal* yang diperoleh akan digunakan untuk analisis kondisi optimum degradasi lignin menggunakan metode RSM. Enzim kasar yang diperoleh digunakan untuk uji aktivitas enzim ligninase untuk mengetahui hubungan antara aktivitas enzim dengan kadar lignin *removal* yang dihasilkan.

Hasil penelitian ini diperoleh InaCC A1159 *Streptomyces griseorubens* dapat mendegradasi lignin dengan kondisi optimum yaitu pada massa substrat 7g, pH 9, dan waktu inkubasi 14 hari dengan lignin *removal* sebesar 21,84% dan kadar lignin 30,6%. Aktivitas enzim ligninase yang diperoleh paling tinggi pada

kondisi yang sama dengan liginin peroksidase 35,84 U/mL, mangan peroksidase 48,89 U/mL, dan lakase 0,773 U/mL. Hal tersebut menunjukkan bahwa kondisi lingkungan pada proses pertumbuhan bakteri dapat memengaruhi produksi enzim yang dihasilkan yang dihasilkan oleh bakteri, serta semakin tinggi aktivitas enzim ligninase juga meningkatkan jumlah lignin *removal* pada pada biomassa.

Kata kunci: TKKS; lignin; *pretreatment*; *Streptomyces griseorubens*; RSM; enzim ligninase.

ABSTRACT

Empty fruit bunches (EFB) are the most abundant lignocellulosic biomass waste in Indonesia. Lignocellulose consists of cellulose, hemicellulose, and lignin. Lignin is the outermost component with a complex aromatic structure that envelops the cellulose, thereby preventing enzymes from hydrolyzing the cellulose for further utilization. Cellulose can be utilized as a feedstock for bioethanol production if the lignin has been degraded; therefore, a biological pretreatment process is necessary. Bio-pretreatment was performed using the bacterial isolate InaCC A1159 *Streptomyces griseorubens* because it is capable of producing ligninase enzymes (lignin peroxidase, manganese peroxidase, and laccase). This study aims to determine the optimal conditions for the delignification process using InaCC A1159 *Streptomyces griseorubens* via the Response Surface Methodology (RSM) by varying mass, pH, and time, as well as to determine the activity of the ligninase enzymes produced in degrading lignin.

This study was conducted in several stages. The initial stage involved bacterial cultivation, followed by the creation of an RSM experimental design using Design Expert 13. The next stage involved the pretreatment process based on the RSM experimental design. The pretreatment results were then filtered, neutralized, and dried to obtain residues and crude enzymes. The subsequent stage involved analyzing the components of the raw material and pretreatment results, followed by calculating the lignin removal value. The obtained lignin removal results were used to analyze the optimal conditions for lignin degradation using the RSM method. The crude enzyme obtained was used to test ligninase enzyme activity to determine the relationship between enzyme activity and the resulting lignin removal rate.

The results of this study indicate that InaCC A1159 *Streptomyces griseorubens* can degrade lignin under optimal conditions, namely a substrate mass of 7 g, pH 9, and an incubation time of 14 days, with a lignin removal rate of 21,84% and a lignin content of 30,6%. The highest ligninase enzyme activity was obtained under the same conditions as lignin peroxidase (35,84 U/mL), manganese peroxidase (48,89 U/mL), and laccase (0,773 U/mL). This indicates that

environmental conditions during bacterial growth can influence the production of enzymes produced by bacteria, and that higher ligninase activity also increases the amount of lignin removal in the biomass.

Keywords: TKKS; lignin; pretreatment; *Streptomyces griseorubens*; RSM; ligninase enzymes.