

**APLIKASI HIDROLITIK ENZIM DARI *Actinomyces* HALOFILIK
UNTUK SEPARASI SELULOSA DAN PRODUKSI GULA PEREDUKSI
DARI LIMBAH TANDAN KOSONG KELAPA SAWIT (TKKS)**

(Skripsi)

Oleh

**Tiara Putri Berliani
2117011051**



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
2025**

ABSTRAK

APLIKASI HIDROLITIK ENZIM DARI *Actinomyces* HALOFILIK UNTUK SEPARASI SELULOSA DAN PRODUKSI GULA PEREDUKSI DARI LIMBAH TANDAN KOSONG KELAPA SAWIT (TKKS)

Oleh

Tiara Putri Berliani

Limbah tandan kosong kelapa sawit (TKKS) merupakan biomassa lignoselulosa yang melimpah dan potensial untuk dimanfaatkan sebagai sumber gula pereduksi melalui proses hidrolisis. Namun, struktur lignoselulosa yang kompleks menyebabkan selulosa sulit diakses tanpa perlakuan awal. Penelitian ini bertujuan untuk memanfaatkan isolat *Actinomyces* halofilik sebagai sumber enzim hidrolitik untuk separasi selulosa dan produksi gula pereduksi dari limbah TKKS.

TKKS dipreparasi dan dianalisis komposisi kimianya menggunakan metode TAPPI, kemudian dilakukan *pretreatment* basa untuk membuka struktur biomassa. Isolasi *Actinomyces* dilakukan dari tanah mangrove dengan penapisan aktivitas selulolitik pada media CMC. Isolat terpilih ActCK-3 yang memiliki indeks selulolitik tertinggi digunakan untuk proses hidrolisis enzimatis. Kadar glukosa dan aktivitas enzim selulase dianalisis menggunakan metode DNS dan Spektrofotometer UV-Vis, sedangkan karakterisasi kristalinitas TKKS dilakukan dengan XRD.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa *pretreatment* menurunkan indeks kristalinitas selulosa dari 8,41% menjadi 3,80%. Komposisi karbohidrat pada TKKS sebesar 54,28%, lignin 9,43%, dan komponen lain 36,29%. Isolat ActCK-3 menghasilkan kadar glukosa tertinggi 11,89 g/L pada hari ke-3 dan aktivitas enzim selulase tertinggi 4,40 U/mL pada hari ke-3. Hasil ini membuktikan potensi *Actinomyces* halofilik dalam menghidrolisis TKKS menjadi gula pereduksi secara efisien, sehingga mampu mendukung pengembangan pemanfaatan limbah TKKS berbasis bioteknologi.

Kata kunci: *Actinomyces*, enzim hidrolitik, selulosa, gula pereduksi, TKKS

ABSTRACT

APPLICATION OF HYDROLYTIC ENZYMES FROM HALOPHILIC *Actinomyces* FOR CELLULOSE SEPARATION AND REDUCING SUGAR PRODUCTION FROM PALM EMPTY FRUIT BUNCH (PEFB) WASTE

By

Tiara Putri Berliani

Palm empty fruit bunch (PEFB) is an abundant and potential lignocellulosic biomass for use as a source of reducing sugar through a hydrolysis process. However, the complex lignocellulosic structure makes cellulose difficult to access without pretreatment. This study aims to utilize a halophilic *Actinomyces* isolate as a source of hydrolytic enzymes for cellulose separation and reducing sugar production from PEFB waste. PEFB was prepared and its chemical composition was analyzed using the TAPPI method, followed by an alkaline pretreatment to open up the biomass structure. *Actinomyces* were isolated from mangrove soil with cellulolytic activity screening on CMC media. The selected isolate, ActCK-3, which had the highest cellulolytic index, was used for the enzymatic hydrolysis process. Glucose levels and cellulase enzyme activity were analyzed using the DNS method and a UV-Vis Spectrophotometer, while the crystallinity of PEFB was characterized using XRD. The results showed that the pretreatment reduced the cellulose crystallinity index from 8.41% to 3.80%. The carbohydrate composition in PEFB was 54.28%, lignin 9.43%, and other components 36.29%. The ActCK-3 isolate produced the highest glucose content of 11.89 g/L on day 3 and the highest cellulase enzyme activity of 4.40 U/mL on day 3. These results prove the potential of halophilic *Actinomyces* in efficiently hydrolyzing PEFB into reducing sugars, thereby supporting the development of biotechnology-based PEFB waste utilization

Keywords: *Actinomyces*, hydrolytic enzymes, cellulose, reducing sugar, PEFB.

**APLIKASI HIDROLITIK ENZIM DARI *Actinomyces* HALOFILIK
UNTUK SEPARASI SELULOSA DAN PRODUKSI GULA PEREDUKSI
DARI LIMBAH TANDAN KOSONG KELAPA SAWIT (TKKS)**

Oleh

Tiara Putri Berliani

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA SAINS**

Pada

**Jurusan Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

Judul Skripsi : APLIKASI HIDROLITIK ENZIM DARI *Actinomycetes* HALOFILIK UNTUK SEPARASI SELULOSA DAN PRODUKSI GULA PEREDUKSI DARI LIMBAH TANDAN KOSONG KELAPA SAWIT (TKKS)

Nama Mahasiswa : **Tiara Putri Berliani**

Nomor Pokok Mahasiswa : 2117011051

Program Studi : Kimia

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing



Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.
NIP. 197110012005011002

Pembimbing 2

Prof. Dr. Dra. Ilim, M.S.
NIP. 196505251990032002

2. Ketua Jurusan Kimia FMIPA

Prof. Dr. Mita Rilyanti, S.Si., M.Si.
NIP. 19720530200003200

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : **Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.**



Sekretaris : **Prof. Dr. Dra. Ilim, M.S.**



Anggota : **Prof. Dr. Kamisah Delilawati
Pandiangan, S.Si., M.Si.**



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.
NIP. 197110012005011002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 13 Agustus 2025.

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Tiara Putri Berliani
NPM : 2117011051
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sebenar-benarnya, bahwa skripsi saya yang berjudul:
Aplikasi Hidrolitik Enzim dari *Actinomyces* Halofilik untuk Separasi Selulosa dan Produksi Gula Pereduksi dari Limbah Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS) merupakan benar karya saya sendiri yang tidak terdapat karya orang lain kecuali disebutkan dalam daftar pustaka. Sehingga, apa yang tercantum di dalam skripsi saya ini dapat dipertanggungjawabkan.

Kemudian, saya juga tidak keberatan jika sebagian atau seluruh data di dalam skripsi ini digunakan oleh program studi untuk kepentingan publikasi selama nama saya tercantum dalam publikasi tersebut atas kesepakatan bersama.

Demikianlah surat ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Bandar Lampung, 27 Agustus 2025

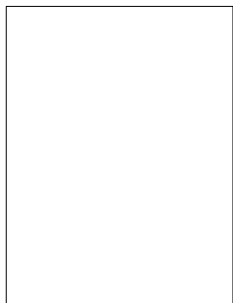
Penulis,




Tiara Putri Berliani

NPM. 2117011051

RIWAYAT HIDUP



Penulis memiliki nama lengkap Tiara Putri Berliani. Anak pertama dari dua bersaudara, putri dari Bapak Birli dan Ibu Heni Rusmida. Penulis lahir pada 01 Mei 2023 di Negeri Ratu, Lampung Barat. Penulis mengawali jenjang pendidikan dari TK Taman Bunda Khadijah Lampung Barat. Kemudian pada tahun 2009 melanjutkan pendidikan

ke sekolah dasar yaitu Madrasah Ibtidaiyah Muhammadiyah (MIM) Sukau, Lampung Barat. Selanjutnya penulis menempuh pendidikan menengah pertama di SMP Muhammadiyah 1 Sukau pada tahun 2015. Tahun 2018, penulis melanjutkan pendidikan di SMAN 02 Liwa Lampung Barat. Setelah lulus pada tahun 2021, penulis meneruskan pendidikan di Universitas Lampung, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam sebagai mahasiswa jurusan Kimia melalui jalur SBMPTN.

Selama menempuh pendidikan sebagai mahasiswa Kimia di Universitas Lampung, penulis telah mengikuti kegiatan organisasi Rohani Islam (ROIS) tahun 2021-2022. Selanjutnya pada periode kepengurusan 2022-2023 penulis menjadi anggota aktif Biro Kesekretariatan Himpunan Mahasiswa Kimia (HIMAKI) dan anggota aktif Dinas Sainpres Badan Eksekutif Mahasiswa (BEM) FMIPA Unila. Pada tahun 2023 penulis mengikuti MBKM Kewirausahaan melalui Program Kretaifitas Mahasiswa (PKM). Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) pada Bulan Januari-Februari 2024 di Desa Sukajaya Lempasing, Kec Teluk Pandan, Kab Pesawaran. Pada tahun yang sama di Bulan Juli-Agustus penulis melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di Laboratorium Lingkungan Hidup Daerah Provinsi DKI Jakarta dengan judul “Validasi Metode Pengujian COD *Low Refluks* Metode Spektrofotometri”.

Pada periode perkuliahan akhir, penulis berkesempatan menjadi Asisten Praktikum Biokimia untuk jurusan Kimia angkatan 2022 dan Jurusan Biologi angkatan 2024. Pencapaian penulis selama kuliah adalah mendapatkan pendanaan dari Belmawa pada Program Kreativitas Mahasiswa (PKM) bidang Kewirausahaan tingkat nasional. Penulis telah menyelesaikan riset penelitian dengan judul “Aplikasi Hidrolitik Enzim dari *Actinomyces* Halofilik untuk Separasi Selulosa dan Produksi Gula Pereduksi dari Limbah Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS)” pada tahun 2025 di Jurusan Kimia, Universitas Lampung.

MOTTO

“Cukuplah Allah menjadi penolong kami dan Allah adalah sebaik-baik pelindung”

(QS. Ali Imran: 173)

“dan berbuat baiklah (kepada orang lain) sebagaimana Allah telah berbuat baik
kepadamu”

(QS. Al-Qasas: 77)

‘Jika kamu tak sanggup menahan lelahnya belajar, maka kamu harus sanggup
menahan perihnya kebodohan”

(Imam Syafi’i)

“Cobalah berusaha sedikit lebih keras untuk menjadi sedikit lebih baik”

(Gordon B. Hinckley)

“The sun is always be there, waiting after the rain”

(Stray Kids)

“Lets love even our hidden sorrows”

(Seventeen)

“Your ‘struggle’ is someone’s dream, so be thankful every day”

(Penulis)



Dengan memanjatkan puji syukur kehadiran Allah SWT, karena berkat limpahan rahmat dan karunia-Nya, penulis dapat menyelesaikan karya ini. Shalawat serta salam senantiasa tercurahkan kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW, yang syafaatnya selalu dinantikan hingga hari akhir. Karya sederhana ini, penulis persembahkan sebagai wujud rasa syukur, cinta, pengabdian, dan tanggung jawab kepada:

Mak dan Bak tercinta, Birli dan Heni Rusmida, yang telah membesarkan, mendidik, dan tak pernah berhenti mendoakanku. Terima kasih atas kasih sayang dan dukungan yang tak terputus. Semoga Allah SWT membalas setiap kebaikan dan cinta yang telah kalian berikan dengan kebahagiaan yang abadi.

Adikku tersayang, M. Andika Alfarobi yang menjadi motivasi dan semangat terbesarku. Semoga Allah SWT senantiasa melindunginya.

Dosen pembimbingku Dr. Eng. Heri Satria S.Si., M.Si dan Prof. Dr. Dra. Ilim, M.S atas kesabaran, bimbingan, dan ilmu yang tak ternilai harganya. Ucapan terima kasih juga ditujukan kepada seluruh dosen dan staf Jurusan Kimia yang telah mendidik, memberikan banyak pengetahuan, serta pengalaman berharga selama penulis menempuh pendidikan di kampus ini.

Rekan-rekan satu tim, dan keluarga besar Kimia FMIPA Unila 2021 yang kehadirannya telah memberikan warna, keceriaan, dan kebersamaan yang tak terlupakan di setiap hari-hari perkuliahan. Semoga tali silaturahmi ini terus terjalin dan kita semua meraih kesuksesan bersama

dan almamater yang kubanggakan, Universitas Lampung

SANWACANA

Bismillahirrahmanirrahim

Alhamdulillah segala puji bagi Allah SWT, atas segala rahmat, nikmat dan ridho-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Aplikasi Hidrolitik Enzim dari *Actinomyces* Halofilik untuk Separasi Selulosa dan Produksi Gula Pereduksi dari Limbah Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS)” sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

Dalam perjalanan menyusun skripsi ini, penulis tak luput dari berbagai kesulitan dan rintangan yang menguji kesabaran dan keteguhan. Namun, semua hambatan tersebut dapat dilalui berkat limpahan rahmat dan rida dari Allah SWT, serta kekuatan yang diberikan-Nya. Di samping itu, dukungan, bimbingan, dan motivasi yang tulus dari orang-orang terdekat menjadi penopang utama penulis untuk terus maju hingga skripsi ini dapat diselesaikan. Oleh karena itu, dengan penuh rasa hormat dan kerendahan hati, pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Allah SWT atas segala kenikmatan, rahmat, dan karunia yang telah diberikan, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
2. Kedua orang tua Mak dan Bak, yang memiliki jasa teramat besar dalam perjalanan hidup penulis. Sebagai sumber dukungan, doa, dan motivasi tak pernah tergantikan. Selalu menjadi tempat penulis berbagi beban pikiran dan mencari solusi. Segala upaya mereka untuk memastikan penulis senantiasa dalam keadaan terlindungi, sehat, dan berkecukupan sungguh tak ternilai. Semoga segala doa mereka untuk kebahagiaan, rezeki, dan umur panjang dapat terwujud, sehingga mereka dapat terus mendampingi penulis hingga meraih kesuksesan yang diimpikan.

3. Adikku M. Andika Alfarobi, yang telah menjadi sumber motivasi penulis untuk semangat dan berjuang menyelesaikan perkuliahan dengan baik. Penulis senantiasa mendoakan semoga selalu berbakti kepada orang tua dan meraih kesuksesan yang gemilang di dunia maupun di akhirat.
4. Minan Nurlia dan Mamak Yusep yang senantiasa menjadi tempat penulis mengadu dan mencurahkan isi hati serta selalu bersedia meluangkan waktu dan memberikan bantuan.
5. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si, selaku pembimbing pertama atas segala kebaikan, keluasan ilmu, kesabaran, dan motivasi tiada henti yang beliau berikan, penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Di tengah kesibukan yang padat, beliau senantiasa meluangkan waktu dan memberikan dukungan yang tak pernah putus, sehingga penulis tidak pernah kehilangan semangat hingga mencapai titik ini. Semoga Allah SWT selalu memberikan perlindungan dan keberkahan atas semua yang telah Bapak berikan.
6. Ibu Prof. Dr. Dra. Ilim, M.S selaku pembimbing kedua atas segala saran, masukan, dan bimbingan yang sangat berharga dan bermanfaat, skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik. Bimbingan beliau telah memberikan arah yang jelas dan membantu penulis dalam menyelesaikan setiap tantangan.
7. Ibu Prof. Dr. Kamisah Delilawati Pandiangan, S.Si. M.Si., selaku pembahas atas kritik dan saran yang sangat bernilai, yang berkontribusi besar terhadap perbaikan skripsi ini. Ketersediaan beliau untuk memberikan bimbingan dan ilmu yang bermanfaat sungguh tak ternilai harganya. Penulis berdoa semoga segala kebaikan dan jerih payah beliau dibalas dengan keberkahan yang berlimpah oleh Allah SWT.
8. Ibu Hapin Afriyani M.Si, 8. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah meluangkan waktu serta memberikan bimbingan, nasihat, dan saran kepada Penulis.
9. Ibu Dr. Mita Rilyanti, M.Si., selaku ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
10. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung yang telah memberikan bimbingan

dan ilmu secara akademik maupun non-akademik, motivasi, dan segala pengalaman kepada penulis selama perkuliahan.

11. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si., sebagai Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung.
12. Seluruh karyawan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam atas waktu dan pelayanan yang telah diberikan dalam proses perkuliahan.
13. Teman seperjuangan penelitian *Actinomycetes* HR 21, Novi Purnama Sari, Anggun Marchella dan Suci Dera Jenita. Mereka adalah partner terbaik yang selalu siap bekerja sama, meluangkan waktu, dan memberikan dukungan selama proses penelitian. Kebersamaan yang terjalin, mulai dari diskusi serius, tawa yang melegakan, hingga tangis haru yang menjadi penawar lelah, akan selalu menjadi kenangan manis yang tak terlupakan. Penulis sungguh bersyukur dapat berjuang melewati masa-masa sulit ini bersama-sama. Semoga persahabatan ini terus terjalin erat dan kita semua meraih kesuksesan yang gemilang di setiap langkah yang kita ambil.
14. Kak Rahmad atas segala bentuk bantuannya kepada penulis dan teman-teman HR 21. Peran beliau sebagai kakak pembimbing di laboratorium sangat berarti. Bimbingan dan dukungannya telah mempermudah penulis dalam menjalani setiap proses penelitian. Penulis sangat menghargai waktu dan ilmu dan motivasi yang telah Kak Rahmat berikan.
15. Kakak-kakak HR 20, Kak Rahmad, Kak Widya, Kak Muti dan Kak Geo atas segala bantuan, saran, motivasi, dan dukungan selama penelitian. Semoga kakak-kakak senantiasa dilindungi Allah dan sukses selalu.
16. Teman-teman *Chemistry* 21 atas segala kebersamaan, semangat, dan kehangatan yang telah diberikan selama masa perkuliahan. Setiap keceriaan dan tawa yang dibagikan telah menjadi sumber energi positif bagi penulis. Semoga kita semua dapat meraih kesuksesan bersama di masa depan.
17. Grup K-Pop Seventeen dan Stray Kids atas lagu-lagu dan *variety show* yang telah menjadi sumber kekuatan dan motivasi di saat penulis merasa lelah. Di tengah kesendirian saat mengerjakan skripsi, mereka mampu menghadirkan keceriaan dan membantu penulis meringankan beban pikiran.
18. Almamater tercinta Universitas Lampung.

19. Semua pihak yang telah membantu dan mendukung penulis dalam penyusunan skripsi.
20. Terakhir, penghargaan tertinggi penulis berikan kepada diri sendiri yang telah bertahan dan berjuang. Ada banyak momen sulit yang telah dilalui, tetapi penulis selalu berusaha untuk tawakal dan tidak menyerah. Terima kasih karena selalu berusaha memberikan yang terbaik, menguatkan diri saat jatuh, dan terus melangkah demi meraih impian. Semoga skripsi ini menjadi awal yang indah untuk perjalanan karier dan bekal terbaik untuk kehidupan di masa mendatang.

Terima kasih yang setinggi-tingginya kepada semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini, yang namanya tidak dapat disebutkan satu per satu. Semoga Allah SWT membalas segala kebaikan dan bantuan yang telah diberikan. Penulis berharap skripsi ini dapat memberikan manfaat, tidak hanya bagi penulis pribadi, tetapi juga bagi pembaca pada umumnya.

Bandar Lampung, 27 Agustus 2025

Tiara Putri Berliani
NPM. 2117011051

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR ISI	xvi
DAFTAR TABEL	xviii
DAFTAR GAMBAR	xix
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan Penelitian	3
1.3. Manfaat Penelitian	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1. Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS)	4
2.2. Lignoselulosa	5
2.3. Hemiselulosa	6
2.4. Selulosa	8
2.5. Lignin	10
2.6. <i>Pretreatment</i>	12
2.7. <i>Technical Association of the Pulp and Paper Industry (TAPPI)</i>	13
2.8. Enzim Selulase	15
2.9. Pengukuran Aktivitas Enzim Selulase	16
2.10. Hidrolisis	18
2.11. Halofilik	21
2.12. <i>Actinomyces</i>	22
2.13. <i>X-Ray Diffraction (XRD)</i>	23
2.14. Spektrofotometer UV-Vis	25
III. METODE PENELITIAN	28
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian	28
3.2. Alat dan Bahan	28
3.3. Metode Penelitian	29
3.3.1. Preparasi Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS)	29
3.3.2. Analisis Komponen Limbah Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS) menggunakan metode TAPPI	29

3.3.2.1. Perlakuan awal tandan kosong kelapa sawit (TKKS)	29
3.3.2.2. Analisis komponen TKKS	30
3.3.3. Pengukuran Indeks Kristalinitas Limbah TKKS	31
3.3.4. Penapisan Isolat <i>Actinomyces</i>	31
3.3.5. Produksi Glukosa dan Enzim Selulase	32
3.3.6. Pembuatan Kurva Standar Glukosa	32
3.3.7. Uji Kadar Glukosa dan Aktivitas Enzim Selulase	33
3.4. Diagram Alir	34
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	35
4.1. Preparasi Limbah TKKS	35
4.2. <i>Pretreatment</i> Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS)	36
4.3. Komposisi Limbah TKKS	37
4.4. Uji Kristalinitas Biomassa TKKS	39
4.5. Penapisan Isolat <i>Actinomyces</i> dari Sedimen Mangrove.....	42
4.6. Produksi Glukosa dan Uji Aktivitas Enzim Selulase	45
V. KESIMPULAN DAN SARAN	44
5.1. Kesimpulan	44
5.2. Saran	44
DAFTAR PUSTAKA.....	45
LAMPIRAN.....	52

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Indeks aktivitas selulolitik isolat <i>Actinomyces</i>	43
2. Data puncak kristalin selulosa TKKS awal.....	61
3. Data daerah amorf dan kristalin TKKS awal	62
4. Data puncak kristalin pada selulosa setelah <i>pretreatment</i>	62
5. Data daerah amorf dan kristalin selulosa setelah <i>pretreatment</i>	63
6. Data indeks selulolitik isolat <i>Actinomyces</i>	64
7. Data standar glukosa	65
8. Data aktivitas unit enzim selulase dari isolat ActCK-3.....	68

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur lignoselulosa pada biomassa	6
2. Struktur hemiselulosa.....	7
3. Struktur selulosa.....	9
4. Prekursor unit dasar dalam lignin	11
5. Mekanisme hidrolisis selulosa secara enzimatik.....	18
6. Diagram alir penelitian.....	34
7. Limbah TKKS (a) sebelum dan (b) sesudah preparasi	35
8. Limbah TKKS (a) sebelum dan (b) sesudah <i>pretreatment</i>	37
9. Persentase komposisi biopolimer limbah TKKS	38
10. Hasil XRD serbuk TKKS sebelum (a) dan sesudah (b) <i>pretreatment</i>	41
11. Zona bening hasil penapisan isolat ActCK-3	42
12. Kadar glukosa pada sampel TKKS	47
13. Aktivitas enzim selulase isolat <i>Actinomyces</i> ActCK-3	48
14. Hasil XRD serbuk TKKS sebelum <i>pretreatment</i>	61
15. Hasil XRD serbuk TKKS sesudah <i>pretreatment</i>	62
16. Kurva standar glukosa.....	65

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Kelapa sawit merupakan salah satu komoditas unggulan Indonesia yang memiliki peran strategis dalam perekonomian nasional. Sebagai salah satu penghasil *Crude Palm Oil* (CPO) terbesar di dunia, Indonesia terus mengalami pertumbuhan disektor ini, baik dari segi luas area, produksi, maupun tenaga kerja yang terlibat. Luas area perkebunan kelapa sawit Indonesia mencapai 15,4 juta hektar pada tahun 2023 (Wikantyasning dan Marseto, 2025). Sejalan dengan semakin meningkatnya area dan produksi kelapa sawit dari tahun ke tahun, terjadi pula peningkatan volume limbahnya. Limbah kelapa sawit adalah sisa-sisa hasil pengolahan tanaman kelapa sawit yang tidak termasuk dalam produk utama, baik dalam bentuk padat maupun cairan (Haryanti *et al.*, 2014).

Limbah padat dari proses pengolahan kelapa sawit terdiri dari tandan kosong kelapa sawit (TKKS), cangkang, serabut, lumpur, dan bungkil. Penghasil limbah utama adalah TKKS yang mencapai 24% dari total limbah. TKKS merupakan lignoselulosa yang terdiri dari selulosa, hemiselulosa, dan lignin. Selulosa berfungsi sebagai kerangka utama berupa mikrofibril kristalin yang sangat teratur, terbentuk dari unit-unit glukosa. Mikrofibril selulosa ini diselimuti oleh hemiselulosa, yaitu heteropolimer bercabang yang bertindak sebagai matriks penghubung antar serat selulosa, lignin merupakan suatu polimer aromatik non-polisakarida yang menghubungkan selulosa dan hemiselulosa (Hermiati *et al.*, 2010). Komposisi lignoselulosa TKKS meliputi 33% selulosa, 30% hemiselulosa dan 34% lignin (Trisakti dan Sijabat, 2020). Berdasarkan komposisi ini, terutama

tingginya kandungan selulosa pada TKKS, menjadikannya sumber potensial untuk produksi gula pereduksi berupa glukosa.

Glukosa dapat diperoleh dari selulosa melalui proses hidrolisis, yaitu dengan memecah ikatan glikosidik pada rantai selulosa menjadi unit-unit monomernya (Angraini dan Yanti, 2021). Pada hidrolisis sempurna selulosa menghasilkan glukosa, sedangkan hemiselulosa menghasilkan beberapa monomer gula pentosa (C5) dan heksosa (C6) (Yoricya *et al.*, 2016). Metode hidrolisis dibagi menjadi dua kategori utama yaitu hidrolisis asam dan hidrolisis enzimatis. Hidrolisis asam, umumnya dilakukan menggunakan asam kuat seperti asam sulfat pada kondisi suhu dan tekanan tinggi. Sedangkan pada hidrolisis enzimatis, enzim bekerja sebagai katalis biologis yang sangat spesifik. Setiap jenis enzim mengenali dan bekerja pada substrat tertentu. Seperti enzim selulase yang digunakan untuk memecah selulosa menjadi glukosa (Amrillah *et al.*, 2022). Proses hidrolisis enzimatis untuk mendegradasi selulosa pada TKKS dilakukan menggunakan bakteri yang dapat menghasilkan enzim selulase, salah satunya adalah bakteri *Actinomycetes*.

Actinomycetes merupakan salah satu genus bakteri yang dikenal memiliki kemampuan untuk menghasilkan berbagai enzim lignoselulolitik. Enzim-enzim ini mencakup selulase yang berfungsi mendegradasi selulosa, hemiselulase yang mendegradasi hemiselulosa dan lignase yang mendegradasi lignin (Chukwuma *et al.*, 2020). Melalui aktivitas enzim selulase, mikrofibril selulosa yang terkandung dalam TKKS dapat diurai secara efektif. Enzim selulase ini bekerja dengan memutus ikatan glikosidik pada rantai selulosa, sehingga mengubah struktur polimer yang kompleks menjadi unit-unit monomer glukosa (Bayer *et al.*, 1994). Penelitian ini secara spesifik berfokus pada pemanfaatan isolat *Actinomycetes* terpilih yang menunjukkan kemampuan sebagai agen penghidrolisis selulosa. Isolat bakteri ini diaplikasikan pada limbah Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS), yang merupakan biomassa lignoselulosa melimpah, dengan tujuan utama untuk mendegradasi komponen selulosanya. Proses ini dirancang untuk secara efisien menghasilkan gula pereduksi, khususnya glukosa, yang merupakan produk dasar yang sangat bernilai dalam industri bioteknologi (Kristiani *et al.*, 2013).

1.2. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dilakukannya penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengidentifikasi kandungan karbohidrat total dan lignin pada TKKS dengan metode *Technical Association of the Pulp and Paper Industry* (TAPPI).
2. Mendapatkan isolat *Actinomyces* yang memiliki aktivitas selulolitik yang tinggi.
3. Mendapatkan indeks kristalinitas selulosa TKKS sebelum dan sesudah *pretreatment*.
4. Mendapatkan gula pereduksi dari biomassa TKKS melalui proses hidrolisis secara enzimatik menggunakan isolat *Actinomyces* terpilih.

1.3. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan mampu memberikan data proses hidrolisis selulosa dari TKKS dengan bantuan isolat *Actinomyces*.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS)

Minyak kelapa sawit adalah komoditas ekspor penting yang berdampak besar bagi perekonomian Indonesia. Indonesia merupakan salah satu produsen minyak kelapa sawit terbesar di dunia. Data Badan Pusat Statistik menunjukkan produksi minyak kelapa sawit meningkat rata-rata 9,471% setiap tahun. Akibatnya, volume limbah tandan kosong kelapa sawit (TKKS) yang dihasilkan turut meningkat. Pada tahun 2020, produksi kelapa sawit mencapai hingga 10 juta ton, dengan 20-23% dari limbah yang dihasilkan adalah berupa TKKS (Saputra *et al.*, 2022).

TTKKS merupakan produk sampingan utama yang dihasilkan dari proses pengolahan tandan buah segar menjadi minyak kelapa sawit dan inti sawit (kernel) (Sarwono *et al.*, 2023). Setelah pemrosesan, setiap ton kelapa sawit menghasilkan TKKS sekitar 20-23% atau setara 230 kg. Selain itu, proses pengolahan ini turut memproduksi limbah lain seperti cangkang sebesar 6,5% (65 kg), lumpur sawit (cangkang basah) sebesar 4% (40 kg), serat sebesar 13% (130 kg), serta limbah cair sebesar 50% (Haryanti *et al.*, 2014). Secara kimia, TKKS tersusun atas berbagai jenis serat dengan komposisi kimia yang meliputi selulosa sekitar 45,95%, hemiselulosa sekitar 16,49%, lignin sekitar 22,84%, pentosan sekitar 25,90%, α -selulosa sekitar 45,80%, abu sekitar 1,6%, holoselulosa sekitar 71,88%, dan pektin sekitar 12,85% (Rozzaq *et al.*, 2023).

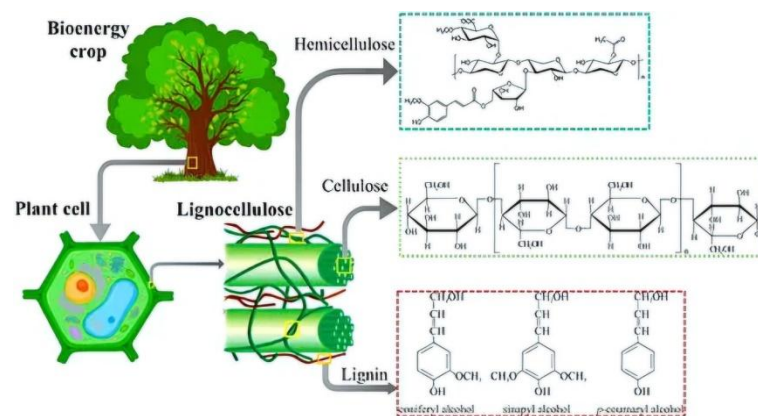
2.2. Lignoselulosa

Lignoselulosa merupakan biopolimer kompleks yang paling melimpah di alam, membentuk komponen utama biomassa tanaman. Secara struktural, biopolimer ini tersusun atas tiga makromolekul utama yang saling terikat secara kompleks yaitu selulosa, hemiselulosa, dan lignin. Komposisi masing-masing komponen bervariasi tergantung pada jenis biomassa, namun secara umum, selulosa merupakan komposisi terbesar, berkisar antara 35-50%, diikuti oleh hemiselulosa sekitar 20-35%, dan lignin sekitar 10-25% (Anindyawati, 2010).

Selulosa dan hemiselulosa berinteraksi erat melalui ikatan hidrogen, membentuk jaringan polisakarida yang kuat. Sementara itu, lignin melekat kuat pada hemiselulosa melalui ikatan kovalen, membentuk kompleks yang dikenal sebagai Kompleks Lignin-Karbohidrat (LCC) (Pu *et al.*, 2013). Adanya ikatan-ikatan kimia yang kuat dan saling berinteraksi ini menjadikan struktur lignoselulosa sangat kokoh dan resisten terhadap degradasi. Kekokohan ini menjadi penyebab utama fenomena yang disebut rekalsitransi lignoselulosa. Rekalsitransi merujuk pada ketahanan inherent lignoselulosa terhadap pemecahan oleh enzim atau bahan kimia lainnya, dimana akses reagen ke dalam struktur menjadi sangat terbatas. Rekalsitransi lignoselulosa dipengaruhi oleh dua kategori faktor utama yaitu faktor struktural yang meliputi luas permukaan spesifik selulosa, tingkat kristalinitas selulosa, derajat polimerisasi, serta ukuran dan volume pori dalam matriks lignoselulosa dan faktor kimia yang mencakup komposisi dan kandungan lignin, hemiselulosa, serta keberadaan gugus asetil pada komponen polisakarida (Zoghلامي dan Paes, 2019).

Sifat rekalsitransi lignoselulosa ini menjadi hambatan signifikan dalam pemanfaatan biomassa, seperti pada TKKS. Struktur yang sangat padat dan terlindungi oleh lignin, ditambah dengan ikatan-ikatan kimia yang kuat menyebabkan metode pengolahan lanjutan seperti hidrolisis enzimatis untuk menghasilkan gula pereduksi tidak dapat berjalan secara efektif tanpa adanya proses *pretreatment*. *Pretreatment* merupakan tahapan krusial yang bertujuan untuk mendegradasi atau memisahkan sebagian besar lignin dari selulosa dan

hemiselulosa. Selain itu, *pretreatment* juga bertujuan untuk mengurangi tingkat kristalinitas selulosa, mengubahnya menjadi bentuk yang lebih amorf (tidak teratur) (Hendriks dan Zeeman, 2009). Dengan demikian, struktur lignoselulosa pada biomassa yang awalnya memiliki ikatan kompleks menjadi lebih terbuka dan mudah diakses, memfasilitasi proses selanjutnya yaitu hidrolisis enzimatik. Proses hidrolisis enzimatik ini pada akhirnya akan menghasilkan gula pereduksi, terutama glukosa, dari selulosa (Saputra *et al.*, 2022).



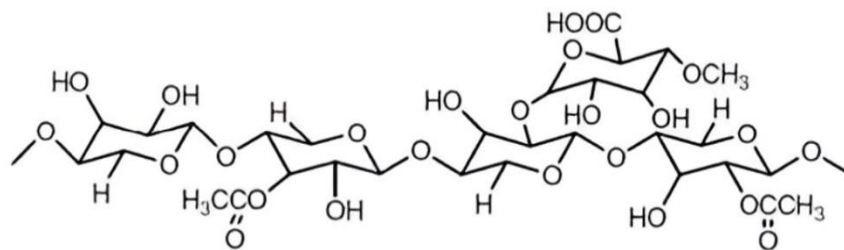
Gambar 1. Struktur lignoselulosa pada biomassa (Saputra *et al.*, 2022)

2.3. Hemiselulosa

Hemiselulosa merupakan jenis polisakarida yang menjadi komponen penting dalam dinding sel tumbuhan, berperan penting dalam menjaga kekokohan struktural jaringan tanaman. Dalam matriks lignoselulosa, hemiselulosa membentuk ikatan hidrogen yang kuat dengan mikrofibril selulosa, sehingga berfungsi sebagai penghubung yang mengikat serat-serat selulosa yang saling berinteraksi secara kompleks. Interaksi ini sangat penting karena hemiselulosa membantu menstabilkan kerangka struktural dinding sel dengan memberikan fleksibilitas sekaligus kekuatan pada strukturnya (Yuansah, 2019). Di sisi lain, hemiselulosa juga membentuk ikatan kovalen dengan lignin, yang dikenal sebagai LCC. Ikatan kovalen tersebut meliputi ikatan ester, eter terutama jenis benzil eter, serta ikatan glikosidik yang memperkuat hubungan hemiselulosa dengan lignin,

sehingga menciptakan jaringan tiga dimensi yang kompleks dan sulit diuraikan secara biologis maupun kimiawi (Lismeri *et al.*, 2018).

Secara kimia, hemiselulosa termasuk polisakarida dengan berat molekul yang lebih rendah jika dibandingkan dengan selulosa. Komposisinya terdiri dari bermacam monosakarida seperti glukosa, asam glukuronat, mannososa, arabinosa, dan xilosa, yang tersusun dalam struktur polimer bercabang dan amorf dengan tingkat polimerisasi yang umumnya berada pada kisaran antara 100 sampai 200 unit gula (Pasue dan Salah, 2019). Struktur hemiselulosa yang tidak linier dan bercabang ini menyebabkan molekulnya relatif lebih lunak, kurang kaku, serta lebih mudah dihidrolisis menjadi gula-gula monosakarida dibandingkan dengan struktur linier dan sangat terorganisir pada selulosa. Oleh karena itu, hemiselulosa memiliki rentang reaktivitas kimia yang lebih luas, baik terhadap hidrolisis asam, basa encer, maupun enzimatik, sehingga lebih mudah dipecah dalam proses konversi biomassa lignoselulosa (Lestari *et al.*, 2025).



Gambar 2. Struktur hemiselulosa (Suryanto, 2017)

Hemiselulosa adalah heteropolisakarida yang tersusun atas beberapa kelompok polisakarida berbeda, termasuk xilan, mannan, arabinogalaktan, dan arabinan. Dari komponen-komponen tersebut, xilan merupakan konstituen paling dominan dalam hemiselulosa dinding sel tanaman, terutama pada jaringan sekunder. Xilan terdiri dari rantai utama yang tersusun dari residu xilosa dan bercabang dengan monosakarida lain. Pemecahan xilan menghasilkan xilosa, gula pentosa yang dapat digunakan sebagai sumber energi dalam berbagai proses metabolik (Curry *et al.*, 2023).

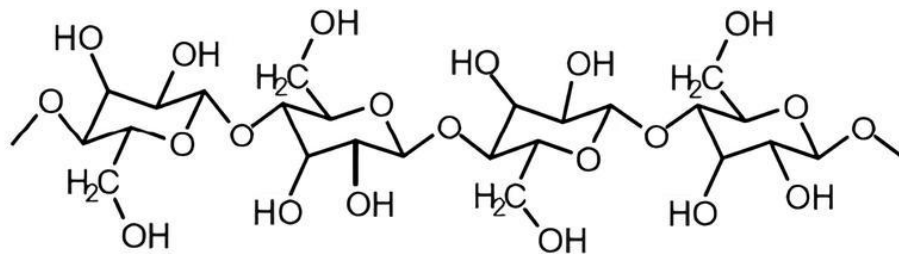
Sebagai heteropolisakarida, hemiselulosa terutama mengandung pentosa seperti xilosa, arabinosa, dan monosakarida lain seperti glukosa, galaktosa, dan mannosa yang membentuk rantai utama dan cabang bercampur. Polimer hemiselulosa sering kali mengandung residu asam uronat, yang memberikan sifat asam pada polisakarida ini serta memengaruhi interaksi fisikokimia antara hemiselulosa dengan lignin dan selulosa (Yuansah, 2019). Tingkat polimerisasi hemiselulosa yang lebih rendah dibandingkan selulosa memungkinkan molekul hemiselulosa untuk memiliki rantai yang pendek dan bercabang, sehingga sulit membentuk struktur serat panjang dan kristalin seperti selulosa. Hal ini membuat hemiselulosa lebih larut dalam larutan alkali encer, terutama karena meningkatnya percabangan rantai, yang selanjutnya meningkatkan kelarutan dan ketersediaannya untuk proses degradasi maupun ekstraksi (Sarijowan *et al.*, 2022).

Secara struktural, pola ikatan glikosidik pada hemiselulosa bervariasi tergantung pada jenis komponennya. Misalnya xilan biasanya memiliki ikatan β -(1,4)-D-xilosil pada rantai utama dengan cabang arabinosa atau glukuronsilat, sementara mannan mengandung rantai utama β -(1,4)-D-manosil. Arabinogalaktan dan arabinan memiliki struktur yang lebih bercabang dengan ikatan α -(1,5) atau β -(1,3) pada rantai utama dan cabang yang beragam (Curry *et al.*, 2023). Kompleksitas ini memberikan hemiselulosa fungsi struktural sekaligus kemudahan bagi mikroorganisme dan enzim untuk menyerang dan menghidrolisisnya dalam proses biodegradasi

2.4. Selulosa

Selulosa adalah polimer alami yang sangat berlimpah dan berkelanjutan yang biasa ditemukan pada tanaman. Polimer ini memiliki kemampuan biodegradasi dan biokompatibilitas yang sangat baik. Selulosa adalah polimer hidrofilik yang dicirikan oleh tiga gugus hidroksil reaktif per unit hidroglukosa, yang terdiri dari ribuan unit anhidroglukosa yang dihubungkan oleh ikatan 1,4- β -glukosida, yang membentuk molekul rantai linier yang panjang. Di alam, selulosa tidak ada dalam bentuk murni tetapi biasanya ditemukan sebagai bagian dari lignoselulosa, dimana

selulosa terikat erat dengan hemiselulosa dan diselubungi oleh matriks lignin yang kompleks. Oleh karena itu, diperlukan metode khusus untuk memisahkan selulosa dari hemiselulosa dan lignin (Mulyadi, 2019).



Gambar 3. Struktur selulosa (Suryanto, 2017)

Secara kimia, selulosa merupakan homopolisakarida linier yang tersusun dari unit-unit D-glukosa yang terhubung melalui ikatan glikosidik β -1,4. Setiap unit glukosa dalam rantai selulosa berada dalam konformasi kursi (*chair conformation*), dimana orientasi ikatan β -1,4 menyebabkan setiap unit glukosa berikutnya berputar sebesar 180° relatif terhadap unit sebelumnya. Konfigurasi ini menghasilkan struktur rantai yang memanjang dan cukup kaku (Klemm *et al.*, 2005). Rantai-rantai selulosa tersebut tidak berdiri sendiri, melainkan tersusun sejajar dan distabilkan oleh berbagai jenis ikatan. Ikatan hidrogen, baik yang terbentuk intra-rantai (di dalam satu rantai) maupun inter-rantai (antar rantai yang berdekatan), memiliki peranan utama dalam mempertahankan struktur selulosa. Ikatan hidrogen intra-rantai, khususnya antara gugus hidroksil pada karbon C3 dengan oksigen cincin unit glukosa berikutnya, serta antara gugus hidroksil pada karbon C6 dan oksigen cincin, memberikan kontribusi signifikan terhadap kekakuan dan stabilitas struktur rantai individual (O'Sullivan, 1997). Selain itu, ikatan hidrogen inter-rantai terjalin antara gugus hidroksil pada karbon C6 satu rantai dengan oksigen cincin pada rantai tetangga, dan antara gugus hidroksil pada karbon C3 dengan oksigen cincin dari rantai lain. Interaksi ini sangat kuat dan berfungsi untuk mengikat rantai-rantai selulosa secara simultan (Klemm *et al.*, 2005).

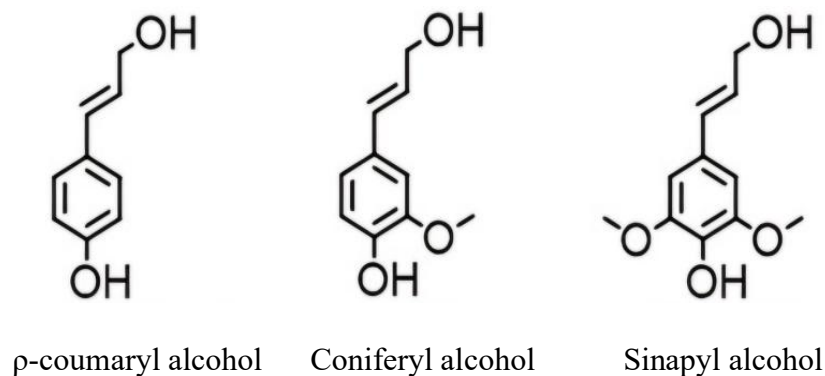
Gabungan antara ikatan glikosidik β -1,4 dan jaringan ikatan hidrogen yang meluas memungkinkan rantai selulosa berkumpul membentuk struktur mikrofibril yang sangat teratur dan kristalin. Mikrofibril ini merupakan unit struktural dasar dalam dinding sel tumbuhan dan memiliki kekuatan tarik yang tinggi. Bagian mikrofibril yang tersusun sangat teratur disebut daerah kristalin, sementara bagian yang kurang tersusun membentuk daerah amorf. Perbandingan antara daerah kristalin dan amorf ini memengaruhi sifat fisik dan reaktivitas kimia selulosa (Ioelovich, 2012). Tingginya tingkat kristalinitas dan kuatnya ikatan hidrogen inilah yang menyebabkan selulosa memiliki sifat yang sangat tidak larut dalam air serta tahan terhadap degradasi baik secara enzimatik maupun kimiawi, sehingga menjadikannya polimer struktural yang sangat tangguh.

2.5. Lignin

Di alam, lignin merupakan biopolimer kedua terbanyak setelah selulosa dalam biomassa tanaman. Lignin memiliki struktur ikatan silang yang kompleks, biasanya terbentuk melalui ikatan ester dengan hemiselulosa. Lignin mengandung berbagai gugus fungsi aktif seperti hidroksil, metoksi, karbonil, karboksil, serta cincin aromatik benzena. Prekursor utama lignin meliputi coniferyl alkohol (G), p-coumaryl alkohol (H), dan sinapyl alkohol (S) (Solihat *et al.*, 2021). Sekitar lebih dari 50% ikatan dalam lignin didominasi oleh ikatan aril eter (β -O-4'), yang merupakan ikatan paling mudah terputus selama proses konversi depolimerisasi lignin. Berbeda dengan selulosa dan hemiselulosa yang merupakan polisakarida, lignin adalah polimer fenolik heterogen dengan struktur amorf yang sangat kompleks (Rahayu *et al.*, 2019).

Struktur lignin terdiri atas unit fenilpropanoid yang saling terhubung secara acak melalui berbagai ikatan kovalen, membentuk jaringan tiga dimensi bercabang. Unit dasar penyusun lignin adalah monolignol, yaitu alkohol hidroksisinamil terdiri atas p-kumaril alkohol, koniferil alkohol, dan sinapil alkohol. Ketiga monolignol tersebut dikenal sebagai unit p-hidroksifenil (H), guaiasil (G), dan siringil (S) secara berurutan. Perbedaan ketiganya terletak pada jumlah dan posisi

gugus metoksil ($-\text{OCH}_3$) yang melekat pada cincin aromatik (Chabannes *et al.*, 2001). Unit H (p-hidroksifenil) berasal dari p-kumaril alkohol dan tidak memiliki gugus metoksil, unit G (guaiasil) berasal dari koniferil alkohol dengan satu gugus metoksil pada posisi 3, dan unit S (siringil) berasal dari sinapil alkohol yang memiliki dua gugus metoksil pada posisi 3 dan 5. Komposisi relatif antara unit H, G, dan S bervariasi tergantung pada jenis tanaman; misalnya, lignin pada kayu lunak (*softwood*) didominasi oleh unit G, sedangkan pada kayu keras (*hardwood*) terdapat campuran unit G dan S, dan tanaman herba seperti rumput menunjukkan pola komposisi yang berbeda (Ragauskas *et al.*, 2014).



Gambar 4. Prekursor unit dasar dalam lignin (Kakroodi dan Sain, 2016)

Lignin memiliki berat molekul yang tinggi dan karakter hidrofobik yang kuat akibat melimpahnya cincin aromatik dan gugus metoksil (Ragauskas *et al.*, 2014). Lignin umumnya tidak larut dalam air maupun sebagian besar pelarut organik biasa, namun dapat larut dalam larutan alkali encer tertentu (Li *et al.*, 2015). Struktur amorf lignin memberikan elastisitas pada dinding sel, sementara berbagai gugus fungsional seperti hidroksil, metoksil, karbonil, dan karboksil memberikan reaktivitas kimia tertentu (Vanholme *et al.*, 2010). Stabilitas lignin yang tinggi terhadap degradasi biologis maupun kimiawi disebabkan oleh adanya ikatan aril-alkil dan ikatan eter yang kuat (Himmel *et al.*, 2007). Rasio karbon terhadap oksigen dalam lignin adalah sekitar 2:1, lebih tinggi dibandingkan selulosa, sehingga lignin memiliki kandungan energi yang lebih besar dan berpotensi sebagai bahan baku untuk produksi bahan bakar serta senyawa aromatik seperti

fenol, benzena, toluena, dan xilena (Rahayu *et al.*, 2019). Dalam tanaman, lignin berperan penting dalam memberikan kekuatan struktural, impermeabilitas, serta ketahanan terhadap invasi mikroba dan stres oksidatif. Karena sifatnya yang tidak larut dalam air, proses degradasi lignin tergolong sulit. Namun, lignin dapat larut dalam air pada suhu sekitar 180°C dengan kondisi netral. Kelarutan lignin dalam kondisi asam bervariasi tergantung pada jenis prekursor yang menyusunnya, baik p-coumaryl, coniferyl, sinapyl alcohol, maupun kombinasi ketiganya (Pradana *et al.*, 2017).

2.6. *Pretreatment*

Pretreatment untuk TKKS adalah langkah awal dan sangat penting dalam proses konversi biomassa lignoselulosa menjadi produk bernilai tinggi seperti gula pereduksi, bioetanol, atau bahan kimia lainnya. Pada dasarnya, *pretreatment* adalah serangkaian proses fisik, kimia, atau biologis atau kombinasinya yang bertujuan untuk memodifikasi dan membuka struktur kompleks dari biomassa lignoselulosa. Lignoselulosa, yang tersusun dari selulosa, hemiselulosa, dan lignin, memiliki struktur yang sangat kuat dan resisten terhadap degradasi. Hal ini dikenal sebagai rekalsitran biomassa. Lignin membentuk matriks pelindung di sekitar serat selulosa dan hemiselulosa, sementara selulosa sendiri memiliki struktur kristalin yang padat dengan ikatan hidrogen kuat, membuat akses enzim atau bahan kimia lainnya menjadi sulit (Himmel *et al.*, 2007). Tanpa *pretreatment*, proses hidrolisis selulosa menjadi gula pereduksi berjalan sangat lambat, tidak efisien, dan menghasilkan rendemen yang rendah (Moiser *et al.*, 2005).

Metode *pretreatment* bisa dilakukan dengan beberapa cara seperti *pretreatment* fisik, kimia dan biologis. *Pretreatment* fisik melibatkan pemecahan biomassa secara fisik untuk mengurangi ukuran partikel dan meningkatkan luas permukaan seperti proses penggilingan (*milling*). Meskipun efektif dalam mengurangi ukuran, metode fisik seringkali membutuhkan energi tinggi dan tidak secara signifikan menghilangkan lignin atau mengurangi kristalinitas selulosa secara drastis

(Hendriks dan Zeeman, 2009). Metode kimia menggunakan berbagai reagen untuk melarutkan atau memodifikasi komponen lignoselulosa. *pretreatment* asam dilakukan dengan menggunakan asam encer seperti asam sulfat pada suhu tinggi untuk menghidrolisis hemiselulosa menjadi gula sederhana, sekaligus mengganggu struktur lignin dan selulosa (Moiser *et al.*, 2005). *Pretreatment* basa dilakukan dengan menggunakan larutan alkali seperti NaOH dan Ca(OH)_2 untuk menghilangkan lignin dan sebagian hemiselulosa, serta menyebabkan pembengkakan selulosa yang meningkatkan porositas. *Pretreatment* basa cenderung kurang menyebabkan degradasi gula dibandingkan asam dan cocok untuk memfasilitasi hidrolisis selulosa (Taherzadeh dan Karimi, 2007). *Pretreatment* biologis adalah metode *pretreatment* lignoselulosa yang memanfaatkan aktivitas mikroorganisme, terutama jamur untuk memodifikasi atau mendegradasi komponen-komponen biomassa, khususnya lignin dan hemiselulosa (Sarnthiyakul dan Koottatep, 2010). Jamur yang bisa digunakan seperti jamur pelapuk putih dikenal memiliki sistem enzim ekstraseluler yang kuat dan tidak spesifik, seperti lignin peroksidase, mangan peroksidase, dan lakase, yang secara efisien mampu memecah struktur lignin yang kompleks. Selain itu, jamur ini juga dapat menghasilkan enzim-enzim yang mendegradasi hemiselulosa. Dengan mendegradasi lignin, matriks pelindung di sekitar selulosa menjadi berkurang, sehingga selulosa menjadi lebih terekspos dan kristalinitasnya dapat sedikit berkurang, memungkinkan hidrolisis enzimatis yang lebih efektif (Kumar *et al.*, 2009).

2.7. *Technical Association of the Pulp and Paper Industry (TAPPI)*

Metode TAPPI merujuk pada serangkaian standar pengujian yang dirancang dan diterbitkan oleh *Technical Association of the Pulp and Paper Industry (TAPPI)*. Organisasi ini merupakan badan global terkemuka yang menyediakan panduan teknis, standar, dan metode pengujian khusus untuk industri pulp, kertas, dan pengemasan. Prosedur-prosedur standar ini berfungsi untuk mengukur, mengevaluasi, dan mengkarakterisasi berbagai sifat pulp, kertas, produk

turunannya, serta bahan baku yang digunakan dalam proses produksinya. Tujuan utama dari metode ini adalah untuk menjamin konsistensi, kualitas, dan komparabilitas hasil pengujian di seluruh sektor industri

Metode TAPPI memiliki signifikansi krusial dalam industri pulp dan kertas karena menyediakan kerangka kerja pengujian yang terstandarisasi.

Implementasi metode standar ini menjamin bahwa produsen, pemasok, dan konsumen dapat memverifikasi keseragaman pengujian produk di berbagai lokasi, sehingga memfasilitasi komparasi data yang akurat dan reliabel. Cakupan pengujian ini sangat luas, meliputi karakterisasi sifat fisik seperti kekuatan tarik, ketahanan sobek, gramasi, ketebalan, dan opasitas, serta sifat kimia seperti kadar abu dan pH.

Metode TAPPI menyajikan suatu set standar pengujian yang telah divalidasi dan terperinci dengan detail untuk menganalisis kandungan berbagai bahan dalam biomassa lignoselulosa, seperti TKKS. Salah satu contohnya adalah Metode TAPPI T 264 cm-07 yang berfokus pada Persiapan Kayu untuk Analisis Kimia. Metode ini merupakan panduan standar untuk menyiapkan sampel kayu atau biomassa lignoselulosa lainnya sebelum dilakukan analisis kimia yang lebih mendalam, seperti penentuan kadar lignin atau karbohidrat. Penyusunan metode TAPPI ini dilakukan melalui diskusi dan kesepakatan para ahli di industri terkait. Ada beberapa jenis kategori metode pengujian, yaitu *Official Method*, *Provisional Method*, *Standard Practice*, *Classical Method*, *Withdrawn Method*, dan *Useful Method (UM)*. Setiap kategori ini menunjukkan perbedaan dalam tingkat pengesahan dan proses pemeriksaannya. Meskipun *Useful Methods* tidak melalui proses kesepakatan yang ketat, kategori metode standar lainnya harus melalui peninjauan dan masukan dari berbagai pihak terkait untuk memastikan metode tersebut relevan dan dapat diandalkan.

2.8. Enzim Selulase

Enzim berfungsi sebagai biokatalisator yang berperan penting dalam memfasilitasi dan mempercepat berbagai proses biologis. Enzim-enzim ini merupakan kategori protein spesifik yang tidak hanya mengatur tetapi juga menjalankan transformasi kimiawi di dalam sistem biologis, sehingga berkontribusi pada keseluruhan fungsi metabolisme organisme hidup (Komari dan Susilo, 2022). Di antara enzim-enzim ini, selulase secara sistematis disebut sebagai β -1,4-glukan hidrolase sangat penting karena kemampuannya untuk menghidrolisis selulosa. Enzim-enzim ini bisa memecah ikatan β -1,4 glikosidik yang ada dalam selulosa, siklodekstrin, selobiosa, dan turunan selulosa lainnya yang pada akhirnya mengubahnya menjadi gula yang lebih sederhana seperti glukosa (Souhoka dan Latupeirissa, 2018). Pemecahan enzimatik selulosa menjadi glukosa difasilitasi oleh tiga jenis utama enzim selulase: endo- β -1,4 glukanase, ekso- β -1,4-glukanase, dan β -glukosidase. Secara khusus, ekso- β -1,4-D glukanase bekerja dengan cara mendegradasi selulosa dari ujung pereduksi dan non-pereduksi untuk menghasilkan selobiosa dan/atau glukosa, sedangkan β glukosidase (juga dikenal sebagai selobiase) bertanggung jawab untuk memecah lebih lanjut selobiosa menjadi molekul glukosa (Bhat, 2000).

Secara umum, enzim selulase tidak hanya bersumber dari mikroorganisme tetapi juga dari tanaman dan hewan (Wijaya, 2020). Produksi enzim selulase sangat menonjol di antara mikroba selulolitik, yang meliputi kapang dan bakteri. Kapang selulolitik yang umum digunakan meliputi spesies seperti *trichoderma*, *aspergillus*, dan *penicillium* (Seprianto, 2017). Disisi lain, bakteri selulolitik menunjukkan tingkat pertumbuhan yang lebih cepat dibandingkan dengan jenis bakteri lainnya, sehingga memungkinkan siklus produksi yang lebih cepat dari mikroorganisme yang menguntungkan ini (Ananda *et al.*, 2023). Beberapa spesies bakteri selulolitik telah diidentifikasi di lingkungan tanah, termasuk *Cellulomonas*, *Cytophaga*, *Pseudomonas*, *Bacilli*, dan berbagai *Actinomycetes* (Seprianto, 2017). Keragaman sumber ini menyoroti potensi yang signifikan

untuk memanfaatkan enzim selulase dalam berbagai aplikasi bioteknologi yang bertujuan untuk memproduksi gula pereduksi

2.9. Pengukuran Aktivitas Enzim Selulase

Pengukuran aktivitas enzim selulase dilakukan dengan mengukur jumlah gula pereduksi yang terbentuk sebagai hasil pemutusan ikatan glikosidik pada substrat selulosa. Jenis substrat yang digunakan bervariasi sesuai dengan aktivitas selulase yang hendak dianalisis. Untuk mengukur aktivitas endoglukanase sering digunakan karboksimetilselulosa (CMC) karena merupakan turunan selulosa yang larut dalam air dan memiliki tingkat kristalinitas yang rendah, sehingga enzim dapat menyerang ikatan β -1,4 secara acak. Sebaliknya, untuk menilai aktivitas eksoglukanase atau selulase total yang mampu mengurai selulosa kristalin, substrat seperti avicel atau kertas saring selulosa digunakan karena mewakili selulosa dalam bentuk yang lebih terstruktur dan kompleks (Ghose, 1987).

Metode yang paling umum dipakai untuk kuantifikasi gula pereduksi adalah metode Asam Dinitrosalisilat (DNS) (Miller, 1959). Prinsip dasar metode ini adalah reaksi redoks antara gula pereduksi yang mengandung gugus aldehida atau keton bebas dengan 3,5-dinitrosalisilat pada kondisi alkalis dan suhu tinggi. Dalam reaksi tersebut, gugus aldehida atau keton mengalami oksidasi, sementara DNS direduksi menjadi asam 3-amino-5-nitrosalisilat (Saqib *et al.*, 2010). Produk reduksi ini menghasilkan warna oranye-merah dengan intensitas yang berbanding lurus terhadap konsentrasi gula pereduksi dalam sampel. Kelebihan metode DNS meliputi kemudahan penggunaan, biaya yang relatif murah, serta kemampuan untuk mendeteksi berbagai jenis gula pereduksi hasil hidrolisis polisakarida. Namun metode ini tidak spesifik hanya untuk glukosa, melainkan mengukur total gula pereduksi, dan senyawa lain dapat memengaruhi hasil pengukuran (Saqib *et al.*, 2010).

Prosedur standar DNS dimulai dengan pencampuran larutan enzim dan substrat pada konsentrasi tertentu, kemudian diinkubasi pada suhu dan pH optimal untuk enzim tersebut. Waktu inkubasi dikontrol secara ketat agar konsisten. Setelah periode inkubasi selesai, reaksi dihentikan dengan penambahan reagen tertentu atau perubahan kondisi lingkungan, seperti pemanasan singkat atau penambahan asam atau basa kuat, untuk mendenaturasi enzim. Selanjutnya, absorbansi larutan diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang sekitar 540 nm (Ghose, 1987).

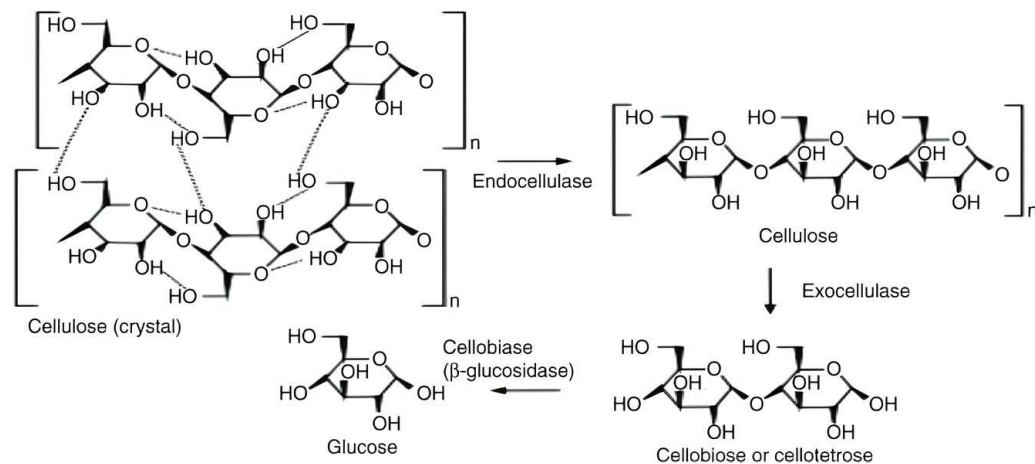
Langkah berikutnya adalah pembuatan kurva standar, yang diperoleh dengan mengukur absorbansi serangkaian larutan glukosa dengan konsentrasi yang sudah diketahui. Data absorbansi dan konsentrasi tersebut kemudian diplot untuk menghasilkan kurva kalibrasi dengan pola linier. Dengan menggunakan kurva ini, nilai absorbansi sampel dapat dikonversi menjadi konsentrasi gula pereduksi yang tepat (Ghose, 1987). Dengan demikian, spektrofotometer berfungsi sebagai alat kuantifikasi yang presisi untuk menentukan jumlah gula pereduksi yang dilepaskan selama hidrolisis enzimatis selulosa, memungkinkan perhitungan aktivitas enzim secara akurat.

Analisis aktivitas enzim juga dapat dilakukan secara kualitatif, yaitu untuk mendeteksi ada atau tidaknya gula pereduksi (seperti glukosa, fruktosa, maltosa, laktosa, tetapi tidak sukrosa) dalam suatu sampel dengan menggunakan uji Benedict (Baharudin, 2014). Dimana sampel yang mengandung gula pereduksi terbentuk uji positif berupa endapan merah bata, hal ini dikarenakan gula pereduksi memiliki gugus aldehida atau keton bebas yang dapat mereduksi ion tembaga(II) (Cu^{2+}) berwarna biru dalam reagen Benedict menjadi ion tembaga(I) (Cu^{+}) yang tidak larut. Ion tembaga(I) ini kemudian membentuk endapan tembaga(I) oksida (Cu_2O) yang berwarna kuning, hijau, oranye, atau merah bata (Galung, 2021).

2.10. Hidrolisis

Hidrolisis adalah proses kimiawi penting yang mengubah polisakarida menjadi monosakarida, yang secara efektif memecah karbohidrat kompleks menjadi unit gula yang lebih sederhana. Hidrolisis lignoselulosa meliputi dua metode utama yaitu hidrolisis enzimatik, yang menggunakan enzim selulase, dan hidrolisis asam, yang dapat dilakukan dengan menggunakan asam encer pada suhu tinggi atau asam kuat pada suhu dan tekanan yang lebih rendah (Kristiani *et al.*, 2013).

Berbagai metode telah dilaporkan untuk mengkonversi TKKS, termasuk aplikasi katalis enzim yang berasal dari bakteri *Actinomyces*, yang telah berhasil menghasilkan enzim selulase untuk hidrolisis enzimatik selulosa TKKS.



Gambar 5. Mekanisme hidrolisis selulosa secara enzimatik

Mekanisme hidrolisis enzimatik selulosa menjadi glukosa merupakan suatu proses biokatalitik kompleks yang memerlukan kerja sinergis dari berbagai jenis enzim selulase yang spesifik. Kelompok enzim ini secara umum terdiri dari endoglukanase, eksoglukanase (selobiohidrolase), dan β -glukosidase. Pada inisiasi proses hidrolisis, endoglukanase (spesifiknya endo-1,4- β -D-glukanase) memulai dengan secara acak menyerang dan memutus ikatan glikosidik β -1,4 yang terdapat pada daerah amorf (struktural yang tidak teratur) dari serat selulosa. Pemotongan ikatan ini esensial karena tidak hanya menghasilkan fragmen-fragmen selulosa yang lebih pendek atau oligosakarida dengan ukuran molekul yang bervariasi, tetapi juga secara krusial menciptakan ujung-ujung rantai baru yang akan menjadi

substrat bagi enzim berikutnya. Tahap selanjutnya yaitu eksoglukanase (ekso-1,4- β -D-glukanase atau selobiohidrolase) yang kemudian beraksi pada ujung-ujung rantai selulosa yang telah terbuka tersebut. Enzim ini memiliki kemampuan untuk menyerang baik dari ujung reduksi maupun non-reduksi dari rantai selulosa, secara progresif memecah polisakarida tersebut menjadi disakarida selobiosa, yaitu unit dimer yang tersusun atas dua molekul glukosa (Lynd *et al.*, 2002).. Tahap terakhir dalam mekanisme ini melibatkan β -glukosidase (atau selobiase). Enzim ini memainkan peran yang sangat signifikan dalam menghidrolisis selobiosa, produk utama yang dihasilkan oleh eksoglukanase, menjadi dua molekul glukosa tunggal. Selain itu, β -glukosidase juga mampu mengkonversi oligosakarida yang lebih pendek menjadi glukosa. Aktivitas enzim ini menjadi sangat penting karena akumulasi selobiosa dalam sistem dapat secara substansial menghambat aktivitas katalitik baik dari endoglukanase maupun eksoglukanase. Oleh karena itu, kerja sama yang terkoordinasi dari ketiga jenis enzim ini mutlak diperlukan untuk memastikan tercapainya hidrolisis selulosa yang efisien dan optimal, menghasilkan glukosa sebagai produk akhir (Agustina *et al.*, 2017).

Selain menggunakan hidrolisis enzimatik, alternatif lain yang dapat dilakukan adalah dengan menggunakan katalis asam atau basa yang sesuai untuk memfasilitasi proses hidrolisis. Pada penelitian Devita *et al* (2015) telah diperoleh data yang menunjukkan keefektifan asam karboksilat dan asam sulfat sebagai katalis untuk mengubah selulosa menjadi glukosa dan produk sampingan lainnya khususnya asam maleat telah terbukti menghidrolisis 95% selobiosa mencapai hasil glukosa maksimum sekitar 90%. Ketika selulosa (khususnya avicel) dihidrolisis menggunakan asam maleat sebagai katalis, hasilnya sekitar 13,8% lebih tinggi daripada yang diperoleh dengan asam sulfat, yang hanya menghasilkan 8,23%. Peningkatan produksi glukosa ini sangat menguntungkan karena glukosa yang berasal dari asam maleat tidak mudah terdegradasi, sehingga lebih mudah difermentasi (Devita *et al.*, 2015).

Metode hidrolisis enzimatik memiliki sejumlah keunggulan yang signifikan jika dibandingkan dengan hidrolisis asam dalam proses konversi selulosa menjadi glukosa. Salah satu keunggulan utama hidrolisis enzimatik adalah proses

dilakukan pada kondisi yang lebih mild. Berbeda dengan hidrolisis asam yang umumnya membutuhkan suhu tinggi serta penggunaan asam dengan konsentrasi kuat dan bersifat korosif, hidrolisis enzimatis dijalankan pada suhu yang lebih rendah (biasanya antara 45-55 °C) dan pH yang netral hingga sedikit asam (pH 4,5-5,5). Kondisi yang lebih rendah ini tidak hanya mengurangi konsumsi energi dan biaya pemeliharaan peralatan akibat minimnya korosi, tetapi juga menekan risiko degradasi gula hasil hidrolisis menjadi senyawa sampingan yang tidak diinginkan seperti hidroksimetilfurfural (HMF) dan furfural. Senyawa-senyawa tersebut dikenal sebagai inhibitor fermentasi yang dapat menghambat tahap selanjutnya pada produksi bioetanol atau produk lainnya (Taherzadeh dan Karimi, 2007). Selain itu, hidrolisis enzimatis menunjukkan spesifisitas reaksi yang tinggi, di mana enzim selulase secara selektif memutus ikatan β -1,4 glikosidik pada selulosa sehingga menghasilkan glukosa dengan kemurnian lebih tinggi dan minimnya produk sampingan berbahaya (Virlandi, 2008). Berbeda dengan hidrolisis asam yang memecah rantai polisakarida secara acak sehingga berpotensi menghasilkan campuran gula dan senyawa kompleks lain yang memerlukan proses pemurnian lebih mahal. Efisiensi konversi yang lebih tinggi pada hidrolisis enzimatis juga sering diperoleh melalui kerja sinergis berbagai enzim dalam kompleks selulase (Agustina *et al.*, 2017). Walaupun laju reaksi hidrolisis enzimatis pada kondisi tertentu cenderung lebih lambat dibandingkan hidrolisis asam, kemampuan enzim menghasilkan produk dalam jumlah lebih besar pada kondisi yang lebih moderat menjadikan metode ini lebih menguntungkan secara jangka panjang.

Kemampuan *Actinomyces* yang luar biasa dalam mendegradasi lignoselulosa dapat dimanfaatkan tidak hanya untuk proses delignifikasi tetapi juga untuk sakarifikasi, karena genus ini dikenal dengan kemampuannya untuk menghasilkan enzim hidrolitik ekstraseluler (Ouchari *et al.*, 2019). Fungsi ganda ini menjadikan *Actinomyces* sebagai aset berharga dalam aplikasi bioteknologi yang bertujuan untuk menghasilkan gula pereduksi.

2.11. Halofilik

Bakteri halofilik merupakan kelompok mikroorganisme yang memiliki kemampuan khas untuk hidup dan berkembang pada lingkungan dengan kadar garam (salinitas) tinggi. Habitat alami bakteri ini ditemukan di berbagai ekosistem hipersalin, meliputi laut dalam, danau garam, tambak garam, sedimen asin, serta makanan yang diawetkan dengan garam (Putri *et al*, 2020). Adaptasi bakteri halofilik terhadap lingkungan dengan salinitas tinggi dilakukan melalui dua mekanisme utama untuk mempertahankan turgor sel serta fungsi enzimatisnya. Mekanisme pertama adalah akumulasi senyawa kompatibel (*compatible solutes*) dalam sitoplasma, yang mencakup ectoine, glisin betaine, trehalosa, dan prolin. Senyawa tersebut bersifat non-toksik meskipun terkandung pada konsentrasi tinggi dan berperan sebagai osmolit yang menyeimbangkan tekanan osmotik internal sel dengan lingkungan eksternal yang hipersalin, sehingga mencegah kehilangan air dan lisis sel (Pooja dan Gupta, 2011). Mekanisme kedua, yang ditemukan terutama pada kelompok halofil ekstrem, melibatkan modifikasi protein intraseluler. Protein-protein ini memiliki kandungan asam amino bermuatan negatif yang tinggi pada permukaannya, yang memungkinkan stabilitas dan fungsi enzim tetap terjaga meski pada konsentrasi garam tinggi dengan berinteraksi secara elektrostatis dengan ion garam, khususnya ion K⁺ (Oren, 2008).

Actinomyces yang diisolasi dari sedimen tanah mangrove merupakan kelompok mikroorganisme yang menunjukkan sifat halofilik. Ekosistem mangrove yang mempunyai karakteristik fluktuasi antara darat dan laut serta paparan air payau hingga air asin secara periodik, menciptakan kondisi yang mendorong pertumbuhan mikroorganisme dengan toleransi atau bahkan ketergantungan pada garam (Imada, 2005). Oleh karena itu, sedimen di daerah mangrove merupakan habitat yang kaya akan *Actinomyces* halofilik. *Actinomyces* dikenal sebagai produsen berbagai senyawa bioaktif, termasuk antibiotik, enzim, dan metabolit sekunder yang berpotensi diaplikasikan pada bidang farmasi, pertanian, serta industri (Kurniawan *et al.*, 2019). Keberadaan *Actinomyces* halofilik dari

lingkungan mangrove memperkaya potensi ini, karena metabolit yang dihasilkannya umumnya stabil dan aktif pada kondisi ekstrem seperti pH ekstrem, suhu tinggi, maupun konsentrasi garam tinggi. Kondisi tersebut menjadikan *Actinomycetes* halofilik sumber yang prospektif biokatalis yang tahan terhadap kondisi ekstrim (Zulfahmi *et al.*, 2021).

Bakteri halofilik mempunyai berbagai potensi penerapan dalam bidang bioteknologi. Enzim yang dihasilkan oleh bakteri ini, yang dikenal dengan istilah haloenzim, memiliki aktivitas dan stabilitas luar biasa pada kondisi ekstrem, sehingga sangat menarik untuk diaplikasikan dalam industri yang membutuhkan operasi dengan kondisi khusus, seperti industri deterjen, farmasi, maupun pengolahan limbah (Moreno *et al.*, 2009). Bakteri halofilik, terutama yang berwarna merah, turut berperan dalam peningkatan kemurnian natrium klorida (NaCl) selama proses produksi garam dengan mekanisme pengendapan kotoran (Oren, 2010). Kemampuan bertahan hidup bakteri ini di lingkungan berkadar garam tinggi menjadikan mereka kandidat potensial untuk bioremediasi limbah di daerah pesisir maupun limbah industri yang mengandung garam dalam konsentrasi tinggi. Selain itu, bakteri halofilik merupakan sumber potensial dalam penemuan senyawa bioaktif baru, termasuk antibiotik, antioksidan, serta enzim yang stabil dan aktif dalam kondisi ekstrem (Asih *et al.*, 2023).

2.12. *Actinomycetes*

Actinomycetes adalah mikroorganisme yang banyak ditemukan di lingkungan terestrial dan akuatik, termasuk hutan bakau dan sedimen laut. Organisme ini termasuk dalam kelompok mesofilik dan termofilik, sehingga memperluas jangkauan ekologi mereka. *Actinomycetes* terkenal karena kemampuannya menghasilkan beragam senyawa bioaktif, termasuk berbagai enzim yang memiliki banyak aplikasi dalam bioteknologi (Saini *et al.*, 2015).

Salah satu kontribusi penting *Actinomycetes* terletak pada produksi enzim lignoselulolitik yang sangat bermanfaat dalam berbagai industri berbasis lignoselulosa. Enzim-enzim ini sangat efektif untuk hidrolisis biomassa lignoselulosa (Saini *et al.*, 2015). Pembentukan enzim-enzim hidrolitik ini pada *Actinomycetes* melibatkan serangkaian proses genetik dan seluler yang terkoordinasi. Proses dimulai ketika *Actinomycetes* mendeteksi adanya substrat spesifik di lingkungannya, seperti serat selulosa atau bahan organik lainnya. Deteksi ini memicu mekanisme regulasi genetik yang kompleks. Molekul-molekul kecil hasil degradasi awal substrat (disebut induser) bertindak sebagai sinyal. Induser ini berinteraksi dengan protein regulator dalam sel, yang kemudian mengaktifkan atau menekan ekspresi gen-gen pengkode enzim hidrolitik tertentu. Misalnya, kehadiran selulosa menginduksi ekspresi gen-gen selulase. Setelah gen diaktifkan, terjadi proses transkripsi (gen disalin menjadi mRNA) dan translasi (mRNA diterjemahkan menjadi protein enzim). Banyak dari enzim ini bersifat ekstraseluler, yang berarti mereka memiliki urutan sinyal khusus yang memungkinkan mereka untuk disekresikan keluar dari sel ke lingkungan eksternal. Di lingkungan inilah, enzim-enzim tersebut kemudian mulai bekerja memecah substrat kompleks menjadi molekul yang lebih sederhana, yang kemudian dapat diserap dan dimanfaatkan oleh *Actinomycetes* untuk pertumbuhan dan metabolismenya (Saini *et al.*, 2015). Nilai strategis penggunaan *Actinomycetes* dalam degradasi limbah lignoselulosa terbukti karena sistem enzim hidrolitiknya yang lengkap, yang melebihi mikroba lainnya (Satria *et al.*, 2011). Persenjataan enzimatik yang komprehensif ini memungkinkan *Actinomycetes* untuk secara efisien mengurai bahan lignoselulosa yang kompleks, menjadikannya sumber daya yang berharga untuk produksi gula pereduksi melalui proses hidrolisis.

2.13. *X-Ray Diffraction (XRD)*

X-Ray Diffraction (XRD) adalah metode analisis yang digunakan untuk mengidentifikasi material kristalin. Indeks kristalinitas selulosa adalah faktor

penting untuk memahami sifat dan reaktivitas biomassa lignoselulosa.

Pengukuran indeks ini didasarkan pada perbedaan pola difraksi yang dihasilkan oleh bagian selulosa yang tersusun rapi (kristalin) dan bagian yang tidak beraturan (amorf). Area kristalin menunjukkan puncak difraksi yang tajam dan jelas pada pola XRD, mengikuti hukum Bragg (French, 2014). Sebaliknya, area amorf menghasilkan puncak difraksi yang lebih lebar dan menyebar (Segal *et al.*, 1959).

Prinsip dasar pengukuran indeks kristalin menggunakan XRD terletak pada perbedaan pola difraksi yang dihasilkan oleh susunan atom yang teratur dan tidak teratur. Daerah kristalin, dengan struktur yang sangat teratur, menghasilkan puncak-puncak difraksi yang tajam dan terdefinisi dengan baik pada pola XRD, sesuai dengan hukum Bragg. Sebaliknya, daerah amorf yang tidak memiliki susunan teratur, akan menghasilkan puncak yang lebih lebar dan menyebar, sering terlihat sebagai "hump" pada pola difraksi (Segal *et al.*, 1959). Posisi, intensitas, dan lebar puncak-puncak ini memberikan informasi krusial mengenai jarak antarbidang kristal, tingkat kristalinitas, dan ukuran kristalinitas, yang semuanya memengaruhi sifat dan reaktivitas biomassa lignoselulosa. Pola XRD selulosa menunjukkan puncak-puncak karakteristik pada sudut 2θ tertentu. Puncak utama yang paling intens dan sering digunakan untuk menghitung indeks kristalinitas (CrI) biasanya muncul di sekitar $2\theta=22^\circ-23^\circ$. Selain itu, puncak-puncak lain yang umumnya teramati untuk selulosa berada pada $2\theta=14.5^\circ-15^\circ$. Kehadiran puncak-puncak ini dengan intensitas yang tinggi dan lebar yang sempit mengindikasikan tingkat kristalinitas yang baik. Pergeseran sedikit pada posisi puncak atau perubahan pada intensitas dan lebarnya dapat menjadi indikator adanya modifikasi struktural pada selulosa (French, 2014)

XRD dapat dimanfaatkan untuk mengidentifikasi struktur kristalin (kualitatif) dan fasa (kuantitatif) dalam suatu bahan dengan memanfaatkan radiasi gelombang elektromagnetik sinar-X. Selain itu, XRD juga dapat digunakan untuk memperoleh informasi detail lain seperti susunan berbagai jenis atom dalam kristal, keberadaan cacat, orientasi, dan cacat kristal (Hakim *et al.*, 2019).

Prinsip dasar XRD adalah difraksi cahaya yang melalui celah kristal. Difraksi cahaya oleh kisi-kisi atau kristal ini terjadi apabila radiasi yang digunakan memiliki panjang gelombang yang setara dengan jarak antaratom, yaitu sekitar 1 Angstrom. Radiasi yang umum digunakan meliputi sinar-X, elektron, dan neutron. Sinar-X, sebagai foton berenergi tinggi, memiliki panjang gelombang berkisar antara 0,5 hingga 2,5 Angstrom (Rani, 2022).

Ketika berkas sinar-X berinteraksi dengan suatu material, sebagian berkas akan diabsorpsi, ditransmisikan, dan sebagian lainnya dihamburkan atau terdifraksi. Hamburan terdifraksi inilah yang dideteksi oleh XRD. Berkas sinar-X yang dihamburkan dapat saling menghilangkan karena fasanya berbeda, atau saling menguatkan karena fasanya sama. Berkas sinar-X yang saling menguatkan inilah yang disebut sebagai berkas difraksi. Hukum Bragg merumuskan persyaratan yang harus dipenuhi agar berkas sinar-X yang dihamburkan dapat menjadi berkas difraksi (Hakim *et al.*, 2019).

2.14. Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometri sinar tampak (UV-Vis) adalah metode untuk mengukur energi cahaya yang diserap oleh suatu sistem kimia pada panjang gelombang spesifik. Dalam proses ini, elektron pada ikatan molekul akan tereksitasi ke tingkat energi yang lebih tinggi saat menyerap sejumlah energi dari cahaya yang melewati larutan (Agustin dan Agustina, 2021).

Metode ini mengukur jumlah radiasi ultraviolet atau cahaya tampak yang diserap oleh suatu zat dalam larutan. Instrumen spektrofotometer menggunakan sumber radiasi elektromagnetik pada rentang ultraviolet dekat (190-380 nm) dan cahaya tampak (380-780 nm). Instrumen ini kemudian mengukur rasio intensitas dua berkas cahaya dalam rentang spektrum yang terlihat. Teknik spektrofotometri ini dikenal karena sifatnya yang sederhana, cepat, cukup spesifik, dan dapat diaplikasikan pada sampel senyawa dalam jumlah kecil. Hukum dasar yang melandasi spektrofotometri adalah hukum Lambert-Beer (Wahyudi *et al.*, 2024).

Spektrofotometer bekerja berdasarkan hukum Lambert-Beer. Prinsip ini menyatakan bahwa ketika seberkas sinar dilewatkan melalui suatu larutan pada panjang gelombang tertentu, sebagian sinar akan diteruskan dan sebagian lainnya akan diserap oleh larutan tersebut. Besarnya absorbansi (A) sinar yang diserap oleh larutan berbanding lurus dengan konsentrasi zat penyerap (C) di dalamnya, serta jarak yang ditempuh sinar (a) dalam larutan (atau ketebalan larutan, b).

$$\text{Hukum Lambert-Beer: } A = a.b.C$$

Keterangan:

A = Serapan (absorbans)

C = Konsentrasi

a = Koefisiensi serapan spesifik

b = Tebal larutan

Pada spektrofotometer UV-*Vis*, zat diukur dalam bentuk larutan. Analit yang dapat diukur dengan instrumen ini meliputi analit berwarna atau analit yang dapat dibuat berwarna. Analit berwarna secara alami menyerap cahaya. Sebaliknya, analit yang tidak berwarna harus direaksikan dengan zat tertentu. Reaksi ini bertujuan untuk membentuk senyawa yang mampu menyerap cahaya pada panjang gelombang spesifik, sehingga dapat terdeteksi oleh spektrofotometer (Warono dan Syamsudin, 2013).

Spektrofotometer UV-*Vis* dimanfaatkan untuk analisis fosfat pada sedimen, berlandaskan prinsip interaksi antara radiasi elektromagnetik dengan materi berupa molekul atau atom. Radiasi elektromagnetik ini mencakup cahaya tampak (*visible*), ultraviolet (UV), dan inframerah, sementara materi yang berinteraksi umumnya memiliki elektron valensi. Interaksi antara cahaya dan materi dapat bermanifestasi dalam bentuk emisi, absorpsi, atau hamburan, yang masing-masing mendasari spektroskopi emisi, absorpsi, dan hamburan. Spektrofotometer UV-*Vis* secara spesifik mengandalkan fenomena absorpsi. Secara sederhana, komponen utama spektrofotometer UV-*Vis* meliputi sumber cahaya, yang umumnya berupa lampu Tungsten/Wolfram untuk spektrum *visible* (400-800 nm) dan lampu

Deuterium untuk spektrum ultraviolet (0-400 nm). Selanjutnya, terdapat monokromator yang berfungsi untuk menyeleksi panjang gelombang spesifik. Sampel ditempatkan dalam kuvet atau sel sampel, yang idealnya berbentuk persegi panjang dengan lebar 1 cm, memiliki permukaan optis lurus dan sejajar, transparan, tidak reaktif terhadap bahan kimia, tahan lama, serta berdesain sederhana namun kokoh. Sinar yang melewati sampel kemudian ditangkap oleh detektor, dan sinyal listrik dari detektor ini diolah oleh unit read out untuk ditampilkan sebagai nilai transmitansi atau absorbansi pada layar perangkat (Angraini dan Yanti, 2021).

Spektrofotometer UV-*Vis* hadir dalam dua tipe utama: *single-beam* dan *double-beam*. Spektrofotometer UV-*Vis single-beam* dirancang untuk mengukur absorbansi pada satu panjang gelombang tertentu, dengan rentang terendah 190-210 nm dan tertinggi 800-1000 nm. Sementara itu, spektrofotometer UV-*Vis double-beam* memanfaatkan dua berkas sinar yang dihasilkan oleh pemecah sinar, dan digunakan pada rentang panjang gelombang 190-750 nm (Abriyani *et al.*, 2023).

III. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan dari bulan Januari 2025 hingga bulan Mei 2025 di Laboratorium Biokimia, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. TKKS diperoleh dari Desa Margodadi, Kecamatan Jati Agung, Kabupaten Lampung Selatan. Isolat *Actinomyces* diisolasi dari tanah mangrove yang diambil dari Hutan Mangrove Cukunyinyi, Kecamatan Padang Cermin, Kabupaten Pesawaran, Provinsi Lampung. Analisis penentuan substrat serbuk TKKS menggunakan XRD yang dilakukan di Badan Riset dan Inovasi Nasional, Kecamatan Tanjung Bintang, Kabupaten Lampung Selatan. Analisis penentuan gula pereduksi menggunakan Spektrofotometer UV-Vis menggunakan asam 3,5-dinitrosalisilat (DNS) dan *Technical Association and Paper Industry* (TAPPI) dilakukan di Laboratorium Biokimia FMIPA Universitas Lampung.

3.2. Alat dan Bahan

Adapun alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah: *Ultra Low Temperature Freezer (lab freez)*, *Laminar Air Flow* (LAF) Airtech HVS-1300, *autoclave* GEA LS-35 L EDWN 63, *waterbath* (Mammert W 350), oven (T60 Heracus), *Shaker* Labtech LSI EDAM 97, Inkubator Precistern P'selecta, *Sentrifuse* Hermle Z327K, spektrofotometer *Uv-Vis* (Shimadzu UV-1780), *X-Ray Diffraction* (XRD), *magnetic stirrer* CB161 Stuart, neraca analitik DJ-V220A, pH meter (pH mobile 827 Metrohm), *hot plate*, *blender* (philips), *grinder*, gelas

beaker berbagai volume, Erlenmeyer, bunsen, tabung reaksi, rak tabung reaksi, labu ukur berbagai volume, pipet tetes, mikropipet, spatula, cawan petri, *spinbar*, gunting, pengaduk kaca, ayakan 60 mesh, mortar dan alu serta jarum ose. Adapun bahan-bahan yang digunakan pada penelitian adalah: substrat TKKS, sedimen tanah mangrove, asam sulfat pekat (H_2SO_4), media *International Streptomyces Project-2* (ISP-2), *carboxymethyl cellulose* (CMC), alkohol, kalsium karbonat, spritus, natrium klorida (NaCl), *congo-red*, reagen asam 3,5 dinitrosalisilat (DNS), buffer fosfat pH 7 dan akuades.

3.3. Metode Penelitian

3.3.1. Preparasi Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS)

TKKS diperoleh dari Desa Margodadi, Kecamatan Jati Agung, Kabupaten Lampung Selatan. Bahan ini kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari selama lima hari. Setelah proses pengeringan, TKKS digunting hingga berukuran kecil, lalu dihaluskan menggunakan *grinder* untuk menghasilkan tepung TKKS. Tepung yang telah jadi kemudian diayak menggunakan ayakan 60 *mesh* (250 μm) dan disimpan dalam wadah tertutup. Tepung TKKS ini digunakan sebagai biomassa yang akan di hidrolisis sehingga mendapatkan glukosa.

3.3.2. Analisis Komponen Limbah Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS) menggunakan metode TAPPI

3.3.2.1. Perlakuan awal tandan kosong kelapa sawit (TKKS)

Tahap awal perlakuan TKKS melibatkan penggunaan basa. Proses ini dimulai dengan menimbang 15 g tepung TKKS dan memasukkannya ke dalam Erlenmeyer 500 mL, serta menambahkan sebanyak 300 mL larutan NaOH 1M. Setelah penambahan, campuran dihomogenisasi menggunakan *shaker* dengan kecepatan 100 rpm selama 3 menit dan dipanaskan dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Selanjutnya, sampel disaring dan dicuci dengan akuades

hingga filtratnya jernih, lalu dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C. Tepung TKKS yang diperoleh dilakukan analisis untuk mendapatkan komposisi lignin dan selulosanya menggunakan metode TAPPI serta diuji kristalinitasnya dengan XRD.

3.3.2.2. Analisis komponen TKKS

Analisis komponen TKKS dilakukan sesuai dengan metode Chesson Datta, mengacu pada standar TAPPI T264 cm-97. Sebanyak 1 gram sampel TKKS (berat A) ditambahkan ke dalam 120 mL akuades. Campuran ini kemudian dipanaskan dalam penangas air pada suhu 100°C selama satu jam. Selanjutnya, hasil penyaringan diperoleh, dan residu dicuci dengan air panas hingga mencapai pH netral. Residu tersebut dikeringkan dalam oven dan ditimbang hingga mendapatkan berat konstan (berat B).

Residu berat B yang telah diperoleh ditambahkan 150 mL H₂SO₄ 0,5M. dan dipanaskan pada suhu 100°C selama 1 jam. Kemudian campuran disaring dan residu dicuci dengan air panas hingga netral. Residu yang diperoleh dikeringkan dalam oven dan ditimbang hingga mendapatkan berat konstan (berat C).

Residu hasil berat C ditambahkan 10 mL H₂SO₄ 72%, lalu direndam pada suhu kamar selama 4 jam. Campuran ditambahkan 120 mL H₂SO₄ 5M dan dipanaskan pada suhu 100°C dalam penangas air selama 2 jam. Residu disaring dan dicuci dengan akuades hingga netral, kemudian dipanaskan dalam oven dengan suhu 150°C. Didinginkan residu dalam desikator dan ditimbang hingga berat konstan (berat D).

Residu hasil berat D diabukan dan ditimbang (berat E). Kemudian dihitung masing-masing komposisi dengan persamaan 1 dan 2:

$$\text{Kadar Lignin: } \frac{D-E}{\text{Berat Sampel}} \times 100\% \quad (1)$$

$$\text{Kadar Selulosa: } \frac{C-D}{\text{Berat Sampel}} \times 100\% \quad (2)$$

Keterangan:

C: berat C

D: berat D

E: berat E

3.3.3. Pengukuran Indeks Kristalinitas Limbah TKKS

Substrat TKKS yang telah di- *pretreatment* dan TKKS tanpa *pretreatment*, dianalisis menggunakan instrumen XRD. Detektor XRD akan mengumpulkan data pada rentang sudut 5-60°/2θ. Tegangan yang dipilih adalah 40 kV dengan arus sebesar 30 mA. Indeks kristalinitas selulosa dapat dihitung menggunakan metode empiris yang ditunjukkan pada Persamaan 3 (Dwisa dan Mahyudin, 2021).

$$\%CrI = \frac{\text{Area Fase Kristalin}}{\text{Area Fase Kristalin} + \text{Amorf}} \times 100 \% \quad (3)$$

3.3.4. Penapisan Isolat *Actinomyces*

Pengujian aktivitas selulolitik pada isolat *Actinomyces* dilakukan dengan mengkultur isolat *Actinomyces* terpilih pada media ISP-2 yang disubstitusi dengan 0,5 g CMC. Penambahan CMC bertujuan untuk menentukan kemampuan selulolitik *Actinomyces*. Media disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 40 menit. Setelah disterilisasi, media dituang ke dalam cawan petri dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 5-7 hari. Selanjutnya, media pertumbuhan bakteri yang telah diinkubasi dicuci dengan reagen *Congo Red* dan dibilas menggunakan NaCl 1%, perlakuan ini diulangi selama 3 kali (Satria dan Nurhasanah, 2020). Kehadiran zona bening di sekitar koloni mengindikasikan adanya aktivitas selulolitik pada isolat. Indeks aktivitas selulolitik dapat diukur menggunakan Persamaan 4.

$$\text{Indeks aktivitas} = \frac{A-B}{B} \quad (4)$$

Keterangan :

A: Diameter zona bening (mm)

B: Diameter koloni (mm)

Hasil penapisan isolat *Actinomyces* ini kemudian dihitung aktivitas selulolitiknya, dan diambil salah satu bakteri dengan indeks selulolitik tertinggi untuk proses hidrolisis enzimatis untuk menghasilkan glukosa dan enzim selulase.

3.3.5. Produksi Glukosa dan Enzim Selulase

Produksi glukosa dari isolat *Actinomyces* dilakukan melalui inokulasi isolat terpilih pada media fermentasi. Media fermentasi yang digunakan adalah media ISP-2. Dalam media ditambahkan biomassa TKKS sejumlah 1 gram lalu dilarutkan dalam aquades. Dilakukan perlakuan yang sama dengan pembahan CMC pada Erlenmeyer yang berbeda sebagai kontrol. Pelarutan bahan dibantu dengan pemanasan menggunakan *hotplate*, lalu media disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Isolat *Actinomyces* diinokulasi ke dalam media tersebut dan diinkubasi menggunakan *shaker*. Pemanenan enzim dilakukan setiap 24 jam sekali selama 7 hari. Produk yang dihasilkan dipisahkan dari sel-selnya melalui proses sentrifugasi pada kecepatan 5000 rpm selama 20 menit. Kemudian ekstrak kasar enzim yang didapatkan disimpan dalam *freezer* dengan suhu -20°C untuk menjaga kondisi enzim. Ekstrak kasar yang didapatkan akan digunakan untuk uji kadar glukosa dan aktivitas enzim selulase dengan menentukan konsentrasi gula pereduksi menggunakan kurva standar glukosa.

3.3.6. Pembuatan Kurva Standar Glukosa

Kurva standar glukosa dibuat dari larutan induk dengan konsentrasi 5 g/L. Larutan induk ini kemudian dibuat menjadi deret standar dengan konsentrasi berturut-turut 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 dan 1 g/L. Setiap larutan standar tersebut kemudian ditambahkan pereaksi DNS dan diukur absorbansinya menggunakan Spektrofotometer UV-Vis.

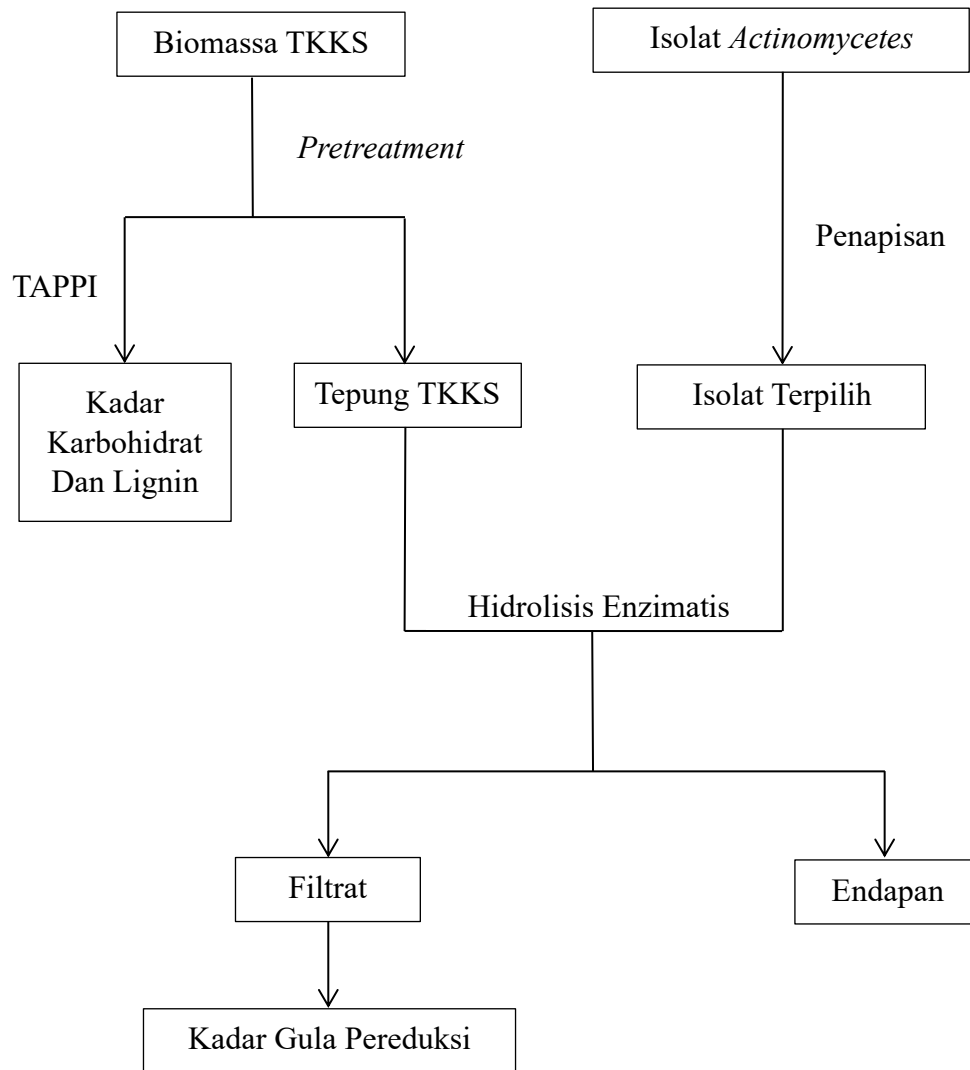
Hasil pengukuran akan memberikan informasi mengenai persamaan regresi linier yang akan digunakan untuk menghitung hasil uji kadar glukosa dan aktivitas enzim selulase.

3.3.7. Uji Kadar Glukosa dan Aktivitas Enzim Selulase

Uji kadar glukosa dan aktivitas enzim selulase dilakukan menggunakan metode DNS. Sebanyak 0,5 mL enzim dimasukkan kedalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 0,5 mL CMC. Campuran ini kemudian diinkubasi dalam *waterbath* pada suhu 37°C selama 30 menit. Selanjutnya, 1 mL reagen DNS ditambahkan untuk menghentikan reaksi, lalu campuran dipanaskan dalam air mendidih selama 15 menit. Setelah itu, tabung reaksi didinginkan dan dilakukan pengenceran 10 kali (4,5 mL aquades ditambahkan 0,5 mL enzim). Kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-*Vis* pada panjang gelombang 540 nm.

3.4. Diagram Alir

Adapun diagram alir dari penelitian ini adalah sebagai berikut:



Gambar 6. Diagram alir penelitian

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Kandungan kimia pada limbah TKKS yang telah dianalisis dengan metode TAPPI terdiri dari lignin 9,43%, selulosa 54,28% dan komponen lain 36,29%.
2. Isolat *Actinomyces* terpilih diperoleh dengan kode ActCK-3 memiliki indeks selulolitik sebesar 0,435.
3. Hasil pengukuran kristalinitas pada TKKS sebelum *pretreatment* menunjukkan hasil sebesar 8,41% dan sesudah *pretreatment* sebesar 3,80%, dengan 2θ pada puncak $22,25^\circ$.
4. Kadar glukosa tertinggi terdapat pada hari ke-3 sebesar 11,89 g/L dengan aktivitas enzim selulase sebesar 4,40 U/mL, dan kadar glukosa terendah terdapat pada hari ke-7 sebesar 11,48 g/L dengan aktivitas enzim selulase sebesar 4,24 U/mL.

5.2. Saran

Penelitian ini berhasil memperoleh glukosa sebesar 11,89 g/L dari limbah TKKS menggunakan isolat *Actinomyces* sebagai agen pendegradasi selulosa. Namun, penelitian ini memiliki kelemahan karena hanya menggunakan parameter waktu hidrolisis. Oleh karena itu, disarankan untuk melakukan penelitian lanjutan dengan mengoptimalkan parameter lain seperti konsentrasi inokulum dan ukuran partikel substrat TKKS, guna meningkatkan efektivitas hidrolisis dan mendapatkan data yang lebih komprehensif.

DAFTAR PUSTAKA

- Abriyani, E., Widyaningsih, A., Pangestu, A. D., Dewi, S. R dan Setiawan, S. 2023. Penetapan Kadar Salbutamol Sediaan Tablet Secara Spektrofotometri Ultraviolet. *Jurnal Pendidikan Dan Konseling*. 5(1). 813–822.
- Agustin, L dan Agustina, R. 2021. Komparasi Unjuk Kerja Peralatan Spektrofotometer Uv-Vis Perkin Elmer Lambda 3 Dengan Hitachi U-2900 Pada Penentuan Total Phenolic Content. *Jurnal Teknik Ilmu Dan Aplikasi*, 9(1), 42–45.
- Agustina, A., Rismayani dan Yurnalis. 2017. Hidrolisis Enzimatik Selulosa dari Ampas Sagu Menggunakan Campuran Selulase dari *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger*. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*. 6(3). 1–8.
- Amrillah, N. A. Z., Hanum, F. F dan Rahayu, A. 2022. Studi Efektivitas Metode Ekstraksi Selulosa dari Agricultural Waste. *Seminar Nasional Penelitian LPPM UMJ*. 8.
- Ananda, D., Rasyidah, R dan Mayasari, U. 2023. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Selulolitik Dari Lumpur Mangrove Pantai Pandaratan Kecamatan Sarudik Kabupaten Tapanuli Tengah Provinsi Sumatera Utara. *Bioma : Berkala Ilmiah Biologi*. 25(1). 20–27.
- Angraini, N dan Yanti, F. 2021. Penggunaan spektrofotometer Uv-Vis untuk analisis nutrisi fosfat pada sedimen dalam rangka pengembangan modul praktikum oseanografi kimia. *Jurnal Penelitian Sains*. 23(2). 78–83.
- Anindyawati, T. 2010. Potensi Selulase Dalam Mendegradasi Lignoselulosa Limbah Pertanian Untuk Pupuk Organik. *Jurnal Berita Selulosa*. 45(2). 70–77.
- Asih, E. N. N., Fitri, D. A., Kartika, A. G. D., Astutik, S dan Efendy, M. 2023. Potensi Bakteri Halofilik Ekstrem dari Tambak Garam Tradisional sebagai Penghambat Aktivitas Bakteri *Salmonella* sp. *Journal of Marine Research*. 12(3). 382-390.
- Baharudin, M. 2014. Aktivitas Enzim Selulase Kasar dari Isolat Bakteri Larva *Cossus cossus* dalam Hidrolisis Jerami Padi. *Jurnal Kimia VALENSI*. 4(2).

128–133.

- Bayer, E. A., Morag, E dan Lamed, R. 1994. The cellulosome - A treasure-trove for biotechnology. *Trends in Biotechnology*. 12(9). 379–386.
- Bhat, M. K. 2000. Cellulases and related enzymes in biotechnology. *Biotechnology Advances*. 18(5). 355–383.
- Cappuccino, J. G dan Sherman, N. 2014. *Microbiology: A Laboratory Manual* 10th ed. Pearson Education
- Chukwuma, O. B., Rafatullah, M., Tajarudin, H. A dan Ismail, N. 2020. Lignocellulolytic enzymes in biotechnological and industrial processes: A review. *Sustainability (Switzerland)*. 12(18). 1–31.
- Curry, T. M., Peña, M. J dan Urbanowicz, B. R. 2023. An update on xylan structure, biosynthesis, and potential commercial applications. *The Cell Surface*. 9(1). 0–3.
- Devita, C., Pratjojo, W dan Sedyawati, S. M. R. 2015. Perbandingan Metode Hidrolisis Enzim dan Asam dalam Pembuatan Sirup Glukosa Ubi Jalar Ungu. *Indonesian Journal of Chemical Science*. 4(1). 15–19.
- Fatriasari, W., Masruchin, N dan Hermiati, E. 2015. Selulosa: Karakteristik dan Pemanfaatannya. In *Etika Jurnalisme Pada Koran Kuning : Sebuah Studi Mengenai Koran Lampu Hijau*. 16(2). LIPI Press.
- French, A. D. 2014. Idealized powder diffraction patterns for cellulose polymorphs. *Jurnal Cellulose*. 21(2). 885-896.
- Galung, F. S. 2021. Analsis Kandungan Karbohidrat (Glukosa) pada Salak Golla-Golla *Salacca edulis*. *Journal of Agritech Science*. 5(1). 10–14.
- Ghose, T. K. 1987. Measurement of Cellulase Activities. *Pure and Applied Chemistry*. 59(2). 257-268.
- Hakim, L., Dirgantara, M dan Nawir, M. 2019. Karakterisasi Struktur Material Pasir Bongkahan Galian Golongan C Dengan Menggunakan X-Ray Difraction (XRD) di Kota Palangkaraya. *Jurnal Jejaring Matematika Dan Sains*. 1(1). 44–51.
- Han, M., Gao, S., Lu, M., Ma, Z., Li, S., Zhao, W dan Li, C. 2011. Optimization of cellulase production by a newly isolated *Aspergillus niger* strain An-28 using response surface methodology. *African Journal of Biotechnology*. 10(23). 4882-4890.
- Hartari, W. R., Delvitasari, F., Maryanti, M., Undadraja, B., Hasbullah, F dan Deksono, G. A. 2023. Pengujian Lignoselulosa Tandan Kosong Kelapa Sawit

- dengan Waktu Delignifikasi H_2SO_4 Menggunakan Uap Bertekanan. *Jurnal Agro Industri Perkebunan*. 11(3). 151–158.
- Haryanti, A., Norsamsi, Sholiha, P. S. F dan Putri, N. P. 2014. Studi Pemanfaatan Limbah Padat Kelapa Sawit. *Jurnal Konversi*. 3(2). 57–66.
- Hendriks, A. T. W. M dan Zeeman, G. 2009. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*. 100(1). 10–18.
- Hermiati, E., Mangunwidjaja, D., Sunarti, T. C., Suparno, O dan Prasetya, B. 2010. Pemanfaatan Biomassa Lignoselulosa Ampas Tebu untuk Produksi Bioetanol. *Jurnal Litbang Pertanian*. 29(4). 121–130.
- Himmel, M. E., Ding, S. Y., Johnson, D. K., Adney, W. S., Nimlos, M. R., Brady, J. W dan Foust, T. D. 2007. Biomass Recalcitrance: Engineering Plants and Enzymes for Biofuels Production. *Journal of Science*. 316(5827). 996–1002.
- Imada, C. 2005. Enzyme inhibitors from marine microorganisms. *Pure and Applied Chemistry*. 77(11). 1963–1969.
- Ioelovich, M. 2012. Cellulose as a Smart Polymer. *Journal of Polymer Science and Technology*. 1(1). 1-10.
- Ismail Pasue, I dan Salah, E. 2019. Analisis Lignin, Selulosa Dan Hemi Selulosa Jerami Jagung Hasil Di Fermentasi *Trichoderma Viride* Dengan Masa Inkubasi Yang Berbeda. *Jambura Journal of Animal Science*. 1(2). 62–67.
- Kakroodi, A. R dan Sain, M. 2016. Lignin-Reinforced Rubber Composites. In *Lignin in Polymer Composites*. Elsevier Inc.
- Kanti, A. 2005. Cellulolytic Actinomycetes isolated from soil in Bukit Duabelas National Park, Jambi. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*. 6(2). 85-89.
- Klemm, D., Philipp, B., Heinze, T., Heinze, W dan Wagenknecht, W. 2005. *Comprehensive Cellulose Chemistry: Fundamentals and Analytical Methods*. Wiley-VCH Verlag GmbH and Co.
- Komari, N dan Susilo, T. B. 2022. *Enzimologi: Macam, fungsi, dan aplikasi enzim*. CV Banyubening Cipta Sejahtera.
- Kristiani, A., Sembiring, K. C., Abimanyu, H dan Aulia, F. 2013. Hidrolisis Lignoselulosa Pelepah dan Tandan Kosong Kelapa Sawit dengan Katalis Zirkonia Tersulfatasi. *Jurnal Keilmuan Teknologi Informasi*. 15(2). 74–77.
- Kumar, R., Singh, S dan Singh, O. V. 2009. Bioconversion of lignocellulosic biomass to bioethanol: An overview. *Critical Reviews in Biotechnology*. 29(2). 151–173.

- Kurniawan, A., Lestari, P dan Sari, D. F. 2019. Potensi Antibakteri Senyawa Bioaktif dari Isolat Actinomyces Asal Sedimen Mangrove Karimunjawa. *Jurnal Sains dan Teknologi Lingkungan*. 11(2). 115–123.
- Lestari, Y. P. I., Ridha, M. R., Khatami, M. R dan Putri, A. A. 2025. Kajian : kandungan alfa-selulosa, lignoselulosa, dan hemiselulosa pada tumbuhan air dan aplikasinya dalam ilmu farmasi. *Jurnal Ilmiah Farmasi Akademi Farmasi*. 8(1). 134–144.
- Li, M., Pu, Y dan Ragauskas, A. J. 2015. Current Understanding and Challenges of Lignin Bioengineering for the Production of Biofuels and Biochemicals. *Industrial Biotechnology*. 11(2). 70-80.
- Lisneri, L., Utami, R. S., Darni, Y., Hanif, M dan Riyanto, A. 2018. Produksi Gula Reduksi dari Batang Ubi Kayu dengan Hidrolisis Menggunakan Asam Encer dan Induksi Medan Elektromagnetik. *Jurnal Rekayasa Kimia & Lingkungan*. 13(1). 8–14.
- Lynd, L. R., Lutter, J. B dan Tolman, J. K. 2002. *Enzymatic hydrolysis of lignocellulosic biomass*. In *Enzymatic Degradation of Insoluble Polysaccharides* (pp. 231-252). American Chemical Society
- Ma, C., Ma, X., Jia, J., Li, Y., Wang, P., Wei, D dan Li, S. 2013. Bioethanol production from lignocellulosic biomass. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 97(11). 4785-4801.
- Miller, G. L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*. 31(3). 426–428.
- Moiser, N., Wyman, C., Dale, B., Elander, R., Lee, Y. Y., Holtzapple, M dan Ladisch, M. 1999. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*. 68(1). 1-15.
- Moreno, M. D. L., García, M. T., Ventosa, A dan Mellado, E. 2009. Characterization of Salinicola sp. IC10, a lipase and protease producing extreme halophile. *FEMS Microbiology Ecology*. 68(1). 59-71.
- Mulyadi, I. 2019. Isolasi dan Karakterisasi Selulosa : Review. *Jurnal Saintika UNPAM*. 1(2). 177–182.
- O’Sullivan, A. C. 1997. Cellulose: the structure slowly unravels. *Cellulose*. 4(3). 173–207.
- Olsson, L dan Nielsen, J. 2003. Fermentation in the presence of inhibitors. In *Bioreaction Engineering Principles* (3rd ed., pp. 293–309). Springer.
- Oren, A. 2010. *Thoughts on the “Missing Link” Between Saltworks Biology and*

Solar Salt Quality. Proceedings of the 10th International Conference on Salt Production Technology.

- Ouchari, L., Boukeskase, A., Bouizgarne, B dan Ouhdouch, Y. 2019. Antimicrobial potential of actinomycetes isolated from the unexplored hot Merzouga desert and their taxonomic diversity. *Biology Open*. 8(2). 1–7.
- Park, S., Baker, J. O., Himmel, M. E., Parilla, P. A dan Johnson, D. K. 2010. Cellulose crystallinity index: measurement techniques and their impact on interpreting cellulase performance. *Biotechnology for Biofuels*. 3(1). 1–10.
- Pooja, S dan Gupta, M. 2011. Halophilic bacteria and their compatible solutes: osmoregulation and potential application. *Current Science*. 100(10). 1516–1521.
- Pradana, M. A., Ardhyanta, H dan Farid, M. 2017. Pemisahan Selulosa dari Lignin Serat Tandan Kosong Kelapa Sawit dengan Proses Alkalisasi untuk Penguat Bahan Komposit Penyerap Suara. *Jurnal Teknik ITS*. 6(2). 413–416.
- Pu, Y., Hu, F., Huang, F., Wang, S., Liu, C., Yang, B dan Ragauskas, A. J. 2013. Expanding the knowledge of the lignin-carbohydrate complex: a review. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 97(9). 3843–3860.
- Putri, D. S., Haryati, T dan Astuti, D. 2020. Bakteri Halofilik: Adaptasi dan Aplikasinya dalam Bioremediasi Lingkungan Tercemar. *Jurnal Ilmu Lingkungan*. 18(2). 260–270.
- Ragauskas, A. J., Kim, C. S., Dordick, J. S., Decker, S. R dan Wyman, C. E. 2014. Understanding Lignin Structure and Its Role in Plant Biomass Utilization. *Biotechnology for Biofuels*. 7(1). 1–17.
- Rahayu, F., Murianigrum, M dan Nurindah. 2019. Pemanfaatan Lignin dari Biomassa Rami, Kenaf, dan Agave Untuk Sumber Bioenergi. *Buletin Tanaman Tembakau, Serat, & Minyak Industri*. 11(2). 73–85.
- Rani, S. R. A. 2022. Studi Analisis Data Difraksi Sinar-X pada Material Zircon Pasir Alam Melalui Metode Rietveld. *Jurnal Fisika Dan Terapannya*. 9(1). 16–22.
- Rozzaq, A. R., Nasution, Q. F. N., Lubis, A. M.P dan Harahap, A. A. 2023. Pemanfaatan Limbah Kelapa Sawit (Tandan Kosong Kelapa Sawit) Sebagai Pilihan Organik Tamaman Yang Ramah Lingkungan Di Kabupaten Labuhan Batu Utara. *Zahra: Journal of Health and Medical Research*. 3(2). 183–190.
- Saini, A., Aggarwal, N. K., Sharma, A dan Yadav, A. 2015. Actinomycetes: A Source of Lignocellulolytic Enzymes. *Enzyme Research*. 11(2). 1–15.
- Salem, M. Z. M., Ali, A. S., Al-Othman, Z. A dan El-Shamy, O. F. 2023.

- Synthesis, characterization and applications of cellulose-based materials: A review. *Journal of Hazardous Materials Advances*. 10(03). 78.
- Saputra, B. Y. E., Fahmi, M. F dan Widjaja, T. 2022. Fraksinasi Lignoselulosa dari TKKS dengan Metode Steam Explosion Pretreatment Disertai Penambahan Asam Formiat. *Jurnal Teknik ITS*. 11(2).
- Saputri, L. H., Hafiz, M dan Fadli, M. 2023. Comparison of Fiber Characteristics of Emphy Fruit Bunches (EFB) after Steaming and Boiling Treatment in Pulp Synthesis. *Formosa Journal of Applied Sciences*. 2(1), 43–56.
- Saqib, A. A. N., Alam, M. Z dan Sarwar, S. 2010. Comparison of Dinitrosalicylic Acid (DNS) and Phenol-Sulfuric Acid (PSA) Methods for Reducing Sugar Estimation. *Journal of Applied Sciences*. 10(15). 1639-1643.
- Sarijowan, V., Katja, D. G., Runtuwene, M. R. J dan Suryanto, E. 2022. Ekstraksi dan Fraksinasi Hemiselulosa dari Limbah Sagu Baruk (*Arenga microcarpha* Beccari) Sebagai Antioksidan. *Journal Chemistry Progress*. 15(1). 39–46.
- Sarnthiyakul, T dan Koottatep, T. 2010. Biological pretreatment of rice straw by *Phanerochaete chrysosporium* for enzymatic hydrolysis. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 37(11). 1185–1191.
- Sarwono, E., Rahayu, D. E., Millati, D. W dan Sariyadi. 2023. Proses pengomposan tandan kosong kelapa sawit (TKKS): analisis fisik dan kenampakan organisme. *Agrointek*. 17(2). 317–327.
- Satria, H., Herasari, D dan Yuwono, S. D. 2011. Kinetika Fermentasi Produksi Selulase Dari Isolat Actinomyces AcP-7 Pada Media Padat Jerami Padi. *Jurnal Kimia Dan Kemasan*. 33(2). 152.
- Satria, H dan Nurhasanah. 2010. Degradasi Lignin oleh Isolat Lokal Actinomyces pada Substrat Limbah Jerami Padi. *Jurnal Sains MIPA*. 16(3). 135–142.
- Segal, L., Creely, J. J., Martin Jr, A. E dan Conrad, C. M. 1959. An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using the X-ray diffractometer. *Textile Research Journal*. 29(10). 786-794
- Seprianto. 2017. Isolasi Dan Penapisan Bakteri Selulolitik Dari Berbagai Jenis Tanah Sebagai Penghasil Enzim Selulase. *Indonesian Journal of Biotechnology and Biodiversity*. 1(2). 64–80.
- Setiawati, N. H., Lestari, D dan Raharjo, S. 2015. Pengaruh Pretreatment Asam Sulfat terhadap Indeks Kristalinitas Selulosa dari Limbah Padat Kelapa Sawit. *Jurnal Rekayasa Kimia dan Lingkungan*. 10(1). 1–7.
- Singh, A., Singh, N dan Singh, B. 2019. Bioconversion of lignocellulosic biomass

- for sustainable biofuel production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 102. 12-25
- Souhoka, F. A dan Latupeirissa, J. 2018. Sintesis dan Karakterisasi Selulosa Asetat (CA). *Indonesian Journal of Chemical Research*. 5(2). 58–62.
- Sumarni, S., Subandi, M dan Wiyanti, S. L. 2014. Skrining dan Karakterisasi Actinomycetes Selulolitik dari Tanah untuk Produksi Selulase. *Jurnal Biologi Indonesia*. 10(1). 11-19.
- Suryanto, H. 2017. Analisis Struktur Serat Selulosa Dari Bakteri. *Prosiding SNTT*. 3. 17–22.
- Taherzadeh, M. J dan Karimi, K. 2007. Acid-based hydrolysis processes for ethanol from cellulosic biomass: A review. *Bioresource Technology*. 98(3), 661-671.
- Teather, R. M dan Wood, P. J. 1982. Use of Congo Red-polysaccharide interactions in enumeration and characterization of cellulolytic bacteria from the bovine rumen. *Applied and Environmental Microbiology*. 43(4). 777-780
- Trisakti, B dan Sijabat, I. P. 2020. Profil pH dan Volatile Suspended Solids pada Proses Pengomposan Tandan Kosong. *Jurnal Teknik Kimia USU*. 09(1). 11–15.
- Ulfa, A., Khotimah, S dan Linda, R. 2014. Kemampuan Degradasi Selulosa oleh Bakteri Selulolitik yang Diisolasi dari Tanah Gambut. *Jurnal Protobiont*. 3(2). 259-267.
- Vanholme, R., Demedts, B., Morreel, K., Ralph, J dan Boerjan, W. 2010. Lignin biosynthesis and structure. *Plant Physiology*. 153(3). 895-905.
- Wahyudi, D., Siregar, I. K dan Agustiawan, D. 2024. Pengelolaan Kebun Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq) Fase Tanaman Belum Menghasilkan Berbasis Instrumen Presisi GPS Android. *Jurnal Budidaya Perkebunan Kelapa Sawit Dan Karet*. 8(2). 1–9.
- Warono, D dan Syamsudin. 2013. Unjuk Kerja Spektrofotometer untuk Analisa Zat Aktif Ketoprofen. *Jurnal Konversi*. 2(2). 57–65.
- Wijaya, I. M. M. 2020. Produksi enzim selulase kasar dari bakteri selulolitik. *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*. 7(2). 190–199.
- Wikantyasning, H dan Marseto. 2025. The Effect Of Area Area , Production , And Number Of Workers On The Productivity Of Oil Palm Plantations In Indonesia In 2014-2023. *Journal of Management Economics and Accounting*. 2(3). 45–56.

- Yoricya, G., Aisyah, S., Dalimunthe, P., Manurung, R dan Bangun, N. 2016. Hidrolisis Hasil Delignifikasi Tandan Kosong Kelapa Sawit dalam Sistem Cairan Ionik Choline Chloride. *Jurnal Teknik Kimia USU*. 5(1). 1–7.
- Yuansah, S. C. 2019. The Potential for Non-Digestible Sugar Production from Cellulose and Hemicellulose using Enzymatic Hydrolysis. *Canrea Journal: Food Technology, Nutritions, and Culinary Journal*. 2(2). 69–74.
- Zoghلامي, A dan Paes, G. 2019. Lignocellulosic Biomass: Understanding Recalcitrance and Predicting Hydrolysis. *Frontiers in Chemistry*. 7(1). 1–11.
- Zulfahmi, Z., Yuliana, A dan Adji, R. 2021. Skrining Aktivitas Antifungi dan Antibakteri Actinomycetes dari Ekosistem Mangrove Aceh. *Jurnal Kedokteran Hewan*. 15(2). 101–108.