



**PROGRAM KREATIVITAS MAHASISWA**

**OPTIMASI METODE TRANSESTERIFIKASI DAN FERMENTASI  
DALAM *RECOMBINANT ESCHERICIA COLI* SEBAGAI SUMBER  
BIODIESEL**

**PKM-GT**

**Oleh :**

<b>Ika Ikrima</b>	<b>G74070024 (2007)</b>
<b>Novi Cheriastiyana</b>	<b>G74070014 (2007)</b>
<b>Wenny Maulina</b>	<b>G74051640 (2005)</b>

**INSTITUT PERTANIAN BOGOR**

**BOGOR**

**2009**

**LEMBAR PENGESAHAN  
PROGRAM KREATIVITAS MAHASISWA**

1. Judul kegiatan : Optimasi Metode Transesterifikasi dan Fermentasi dalam *Recombinant Escherichia coli* Sebagai Sumber Biodiesel
  
2. Bidang Kegiatan : ( ) PKM-AI (  ) PKM-GT
  
3. Ketua Pelaksana Kegiatan
  - a. Nama Lengkap : Ika Ikrima
  - b. NIM : G74070024
  - c. Jurusan : Fisika
  - d. Universitas/Institut/Politeknik : Institut Pertanian Bogor

Bogor, 30 Maret 2009

Menyetujui,  
Ketua Jurusan Program Studi/  
Pembimbing Unit  
Kegiatan mahasiswa

Ketua Pelaksana  
Kegiatan

(Dr. Ir. Irzaman, M.Si)  
NIP : 132 133 395

(Ika Ikrima)  
NIM : G74070024

Pembantu atau Wakil Rektor  
Bidang Kemahasiswaan/  
Direktur Politeknik/  
Ketua Sekolah Tinggi,

Dosen Pendamping

(Prof. Dr. Ir. H. Yonny Koesmaryono, M.S)  
NIP. 131 473 999

(Dr. Ir. Irzaman, M.Si)  
NIP. 132 133 395

## KATA PENGANTAR

Dengan memanjatkan puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga kami dapat menyelesaikan karya tulis yang berjudul “Optimasi Metode Fermentasi Dan Transesterifikasi dalam *Recombinant Escherichia coli* Sebagai Sumber Biodiesel”. Shalawat serta salam tercurah pula kepada nabi besar Muhammad SAW dan sahabat-sahabat beliau.

Karya tulis ini disusun untuk mengikuti Program Kreativitas Mahasiswa Gagasan Tertulis. Melalui karya tulis ini, kami berharap masalah yang sering dihadapi masyarakat akan kelangkaan bahan bakar dan pencemaran lingkungan dapat teratasi. Salah satu caranya ialah dengan penggunaan biodiesel. Karya tulis ini membahas tentang pembuatan bioetanol melalui *Recombinant Escherichia coli* dengan metode transesterifikasi dan fermentasi sebagai sumber biodiesel.

Kami ucapkan terima kasih kepada Dr. Ir. Irzaman, M.Si sebagai dosen pembimbing yang telah banyak memberikan bimbingan dan arahan kepada kami dalam penyusunan karya tulis ini. Tidak lupa kami ucapkan pula terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dan memberikan dukungan pada kami.

Besar harapan kami karya tulis ini dapat bermanfaat bagi kami sebagai penulis dan juga bagi pembaca pada umumnya. Kami sadari masih banyak kekurangan dalam penyusunan karya tulis ini. Oleh karena itu, saran dan kritik membangun sangat kami perlukan dalam penyempurnaan karya tulis ini.

Bogor, 30 Maret 2009

Penulis

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN .....	ii
KATA PENGANTAR .....	iv
DAFTAR ISI.....	v
RINGKASAN .....	vii
PENDAHULUAN .....	1
TELAAH PUSTAKA .....	4
Recombinant Escherichia coli.....	4
Biodiesel.....	4
Proses Transesterifikasi.....	5
Proses Fermentasi .....	6
METODE PENULISAN.....	8
ANALISIS DAN SINTESIS.....	9
Jenis Recombinant Escherichia coli.....	9
Optimasi Metode Transesterifikasi dan Metode Fermentasi .....	10
Metode Transesterifikasi .....	10
Metode Fermentasi .....	11
KESIMPULAN DAN SARAN.....	13
DAFTAR PUSTAKA .....	14
DAFTAR RIWAYAT HIDUP.....	16

## DAFTAR TABEL

Tabel 1	Karakteristik biodiesel.....	5
Tabel 2	Pemakaian glukosa dan produksi etanol oleh <i>E.coli</i> ATCC 11303 pada sejumlah fermentasi .....	7
Tabel 3	Pemakaian xylosa dan produksi etanol oleh <i>E.coli</i> ATCC 11303 pada sejumlah fermentasi .....	7
Tabel 4	Jenis bakteri penghasil etanol.....	9

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1	Teknik dan evolusi metabolisme <i>Escherichia coli</i> .....	4
Gambar 2.	Reaksi antara minyak nabati dan alkohol dengan katalis.....	6
Gambar 3	Diagram alir sistem pengolahan <i>Recombinant Escherichia coli</i> menjadi minyak biodiesel.....	12

## RINGKASAN

Biodiesel sebagai salah satu *sustainable energy* yang keberadaannya sangat dibutuhkan. Dalam pengembangannya, biodiesel digunakan untuk mengembangkan energi alternatif yang memiliki *multiplier effect* secara ekonomi, lingkungan, dan ketahanan bangsa di sektor energi. Pemanfaatan jenis *Recombinant Escherichia coli* sebagai sumber biodiesel dengan optimasi metode transesterifikasi (variasi suhu, tekanan, dan konsentrasi katalis) dan fermentasi (konsentrasi hidrolisis) diharapkan mampu mensubstitusi bahan bakar solar dan mengurangi tingkat pencemaran lingkungan.

Produksi bioetanol dari *Recombinant Escherichia coli* sebagai sumber biodiesel dengan optimasi metode transesterifikasi menggunakan etanol murni dan KOH dengan variasi suhu 48°C, 60°C, dan 65°C, selama 50 - 60 menit. Variasi tekanan dikombinasikan dengan variasi suhu kemudian didiamkan selama 12 jam. Dilanjutkan dengan pengambilan sejumlah gliserin dengan penambahan metanol yang ditujukan untuk meningkatkan tingkat kemurnian biodiesel.

Produksi bioetanol dari *Recombinant Escherichia coli* sebagai sumber biodiesel dengan optimasi metode fermentasi dari glukosa (5g/L), xylose (80g/L), dan arabnose (5g/L) dibuat dengan 42,5g/L ethanol selama 96 jam yang menghasilkan 0,49 alkohol per 1 gram gula menggunakan *Recombinant Escherichia coli*. Bakteri yang dapat menghasilkan bioetanol adalah *Escherichia coli* ATCC 11303. *Escherichia coli* ini membawa plasmid pLOI297 yang mampu menghasilkan bahan biodiesel.

Biodiesel sebagai salah satu *sustainable energy* yang berasal dari diesel dan setara dengan proses minyak, yang dihasilkan tumbuhan seperti minyak tumbuhan dimana akan diolah menjadi bahan bakar. Minyak tumbuhan ini dapat berupa *Waste Cooking Oils* (WCO). Pada dasarnya biodiesel adalah senyawa ester metil/etil dan asam-asam lemak yang dihasilkan dari reaksi antara minyak nabati dengan metanol/etanol.

Biodiesel merupakan bahan yang bersih dan tidak menyebabkan polusi. Selain sebagai alternatif energi, biodiesel juga dapat mengatasi masalah pencemaran lingkungan. Pemanfaatan biodiesel dapat mengurangi jumlah CO<sub>2</sub> dalam atmosfer sekitar kurang dari 60% jika dibandingkan dengan minyak bumi. Penggunaan biodiesel dapat digunakan secara langsung atau murni dalam bentuk campuran dengan minyak solar tanpa perlu memodifikasi bentuk mesin kendaraan.

Penulisan karya tulis ini bertujuan untuk membuat bioetanol dari *Recombinant Escherichia coli* sebagai sumber biodiesel. Melalui karya tulis ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai kemungkinan pemanfaatan jenis *Recombinant Escherichia coli* sebagai sumber biodiesel melalui optimasi metode transesterifikasi (variasi suhu, tekanan, dan konsentrasi katalis) dan fermentasi

(konsentrasi hidrolisis) sehingga diharapkan mampu mensubstitusi bahan bakar solar dan mengurangi tingkat pencemaran lingkungan.

Penulisan karya tulis ini bersifat kajian pustaka atau *library research*. Data disajikan secara deskriptif sehingga menunjukkan suatu kajian ilmiah yang dapat dikembangkan dan diterapkan lebih lanjut. Objek kajian dalam karya tulis ini adalah produksi bioetanol dari *Recombinant Escherichia coli* sebagai sumber biodiesel dengan menggunakan optimasi metode fermentasi dan transesterifikasi. Sumber biodiesel yang dihasilkan dapat menjadi bahan substitusi bahan bakar solar dan dapat mengurangi pencemaran lingkungan.

Informasi yang digunakan ialah informasi yang berkaitan dengan sumber energi alternatif, biodiesel, serta literatur tentang *Recombinant Escherichia coli* sebagai salah satu sumber penghasil biodiesel. Informasi diperoleh dari berbagai literatur baik berupa artikel pada surat kabar, majalah, jurnal, internet, maupun buku yang relevan dengan objek yang akan dikaji. Masalah yang akan dibahas dalam karya tulis ini adalah analisis jenis *Recombinant Escherichia coli* yang dapat menghasilkan bioetanol; optimasi parameter suhu, tekanan, dan konsentrasi katalis dengan metode transesterifikasi; serta optimasi parameter konsentrasi dalam proses hidrolisis dengan metode fermentasi.



## PENDAHULUAN

Perkembangan dari proses biologi ke transformasi biomassa lebih berguna dalam pengangkutan energi yang difokuskan pada produksi dari salah satu pengangkutan energi, salah satunya hidrogen, metana atau etanol. Di antara produk-produk tersebut, hanya metana yang dilepaskan dari pengubahan bahan organik di alam. Sedangkan hidrogen dan etanol menjadi penengah selama penurunan proses anaerob dan selanjutnya dimetabolisme ke dalam bentuk metana di alam.

Oleh karena itu, produksi dari dua pengangkutan energi tersebut memerlukan pemisahan fisik dari proses individual dalam penurunan rantai anaerob atau menggunakan pendekatan mikrobiologi kedalam pengontrolan kondisinya. Hal ini dapat menjadikannya biodiesel melalui proses biomassa dan menghasilkan *fuel*, daya, dan zat kimia dari biomassa tersebut.

Biodiesel sebagai salah satu *sustainable energy* yang berasal dari diesel dan setara dengan proses minyak, yang dihasilkan tumbuhan seperti minyak tumbuhan serta dapat diolah menjadi bahan bakar. Minyak tumbuhan ini dapat berupa *Waste Cooking Oils* (WCO). Pada dasarnya biodiesel adalah senyawa ester metil/etil dan asam-asam lemak yang dihasilkan dari reaksi antara minyak nabati dengan metanol/etanol.

Biodiesel ini tidak menyebabkan pemanasan global seperti pada minyak bumi yang menghasilkan banyak gas CO<sub>2</sub> yang dapat merusak ozon. Biodiesel ini dapat mengurangi jumlah CO<sub>2</sub> dalam atmosfer sekitar kurang dari 60% daripada minyak bumi, dengan pengembangan biodiesel ini berarti mengembangkan energi alternatif yang memiliki *multiplier effect* secara ekonomi, lingkungan, dan ketahanan bangsa di sektor energi. Biodiesel dapat digunakan sebagai bahan bakar diesel dan membakar 75% lebih bersih daripada minyak bumi dengan harga yang sama. Biodiesel yang berfasa cair dapat dicampur dengan petroleum dengan berbagai komposisi tanpa bahan adiktif. Selain itu, Biodiesel tidak menghasilkan sulfur,

CO<sub>x</sub>, dan NO<sub>x</sub>, serta tidak menyebabkan iritasi pada mata (Ahring dan Westermann, 2007).

Hemiselulosa banyak dihasilkan dari proses residu dan melalui perlakuan dengan mencairkan penurunan asam tersebut dengan mencampurkan monosakarida yang mengandung pentosa dan xylosa sebagai komponennya, yang setara dengan arabinosa, glukosa dan galaktosa (Takabashi, Carvalhal, dan Alterthum, 1994). Efisiensi fermentasi dari xylosa dan Hemiselulosa lainnya merupakan unsur pokok yang terjamin kegunaannya untuk perkembangan jalannya proses perekonomian melalui produksi bioetanol dari biomassa seperti gula tebu atau sekam jagung (Chandra *et al*, 2007).

Pengenalan kode genetik dari piruvat dekarboksilase dan enzim alkohol dehidrogenase dari *Zymomonas mobilis* kedalam *E.coli* dihasilkan mikroorganisme yang memproduksi etanol dari ditemukannya gula dalam residu organik (Jarboe *et al*, 2007). Penggunaan bersama atau sendiri dari gula pada konsentrasi berbeda menggunakan hidrolisis hemiselulosa sebagai material mentah untuk produksi etanol.

Perumusan masalah dari penulisan karya ilmiah ini difokuskan untuk memanfaatkan *Recombinant Escherichia coli* sebagai sumber biodiesel. Proses pembuatan bioetanol dilakukan dengan transesterifikasi dan fermentasi.

Konversi memerlukan berbagai tahap penelitian. Penelitian akan dilakukan dengan metode fermentasi dari piruvat dekarboksilase dan enzim alkohol dehidrogenase dari *Zymomonas mobilis* untuk memperoleh bioetanol. Pada metode transesterifikasi akan dilakukan variasi suhu, tekanan dan konsentrasi katalis. Sifat yang tidak mudah terbakar dari senyawa transesterifikasi mengakibatkan karakter biodiesel mudah diamati dengan menggunakan uji kromatografi, viskositas, densitas dan hidrogenator. Selain perlakuan konversi perlu juga diperhatikan jenis katalis yang digunakan.

Tujuan umum dari penulisan karya ilmiah ini adalah pembuatan bioetanol dari *Recombinant Escherichia coli* sebagai sumber biodiesel. Tujuan khusus dari penelitian ini adalah menganalisis jenis *Recombinant Escherichia coli* yang dapat menghasilkan bioetanol, mengoptimasi parameter suhu, tekanan, dan konsentrasi katalis dengan metode transesterifikasi serta mengoptimasi parameter konsentrasi dalam proses hidrolisis dengan metode fermentasi.

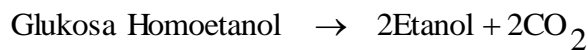
Adapun keluaran yang diharapkan dari penulisan karya ilmiah ini adalah memberikan informasi mengenai kemungkinan pemanfaatan jenis *Recombinant Escherichia coli* sebagai sumber biodiesel dengan optimasi metode transesterifikasi (variasi suhu, tekanan, dan konsentrasi katalis) dan fermentasi (konsentrasi hidrolisis) sehingga diharapkan mampu mensubstitusi bahan bakar solar dan mengurangi tingkat pencemaran lingkungan.

Penggunaan WCO sebagai bahan baku biodiesel diharapkan mampu mengatasi masalah pencemaran lingkungan. Informasi titik optimum proses transesterifikasi diharapkan menjadi acuan dalam pembuatan biodiesel dalam limbah WCO sehingga mampu menghasilkan biodiesel dengan katalis optimum namun dengan tetap memperhatikan segi ekonomis. Efisiensi fermentasi dari xylosa dan Hemiselulosa lainnya merupakan unsur pokok yang terjamin kegunaannya untuk perkembangan jalannya proses perekonomian melalui produksi bioetanol dari biomassa.

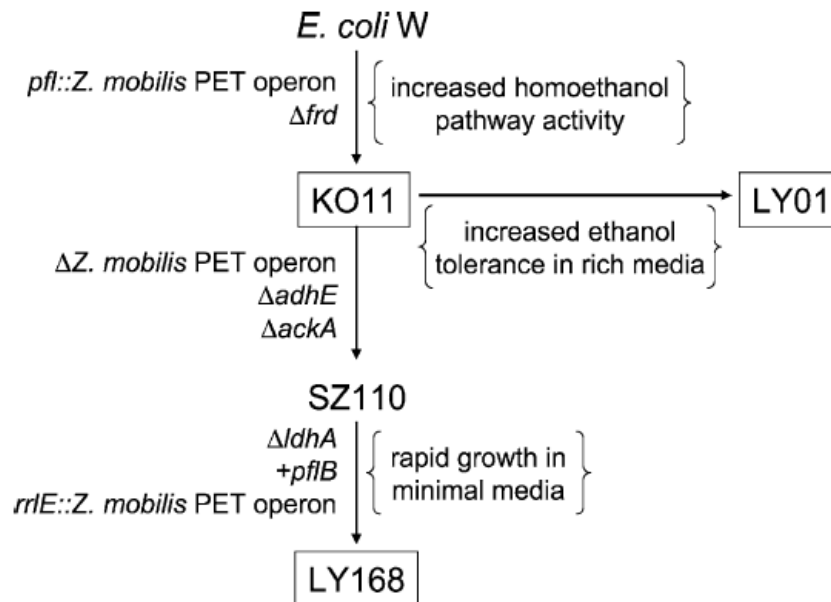
## TELAAH PUSTAKA

### *Recombinant Escherichia coli*

Dalam perkembangan ethanologik *Escherichia coli* dimasukkan dalam kombinasi secara langsung dari teknik dan evolusi metabolisme. Produksi bakteri etanol terdiri dari *pyruvate decarboxylase* (PDC) and *alcohol dehydrogenase* (ADH) yang menyediakan produksi setimbang dari dua molekul etanol per glukosa.



Produksi bakterial etanol menghasilkan kesetimbangan konversi dari glukosa dalam etanol (Jarboe *et al*, 2007).



Gambar 1. Teknik dan evolusi metabolisme *Escherichia coli*.

### **Biodiesel**

Biodiesel dapat didefinisikan sebagai bahan bakar yang dapat diperbaharui dan diproduksi melalui reaksi kimia alkohol dengan minyak nabati, hewani, atau lemak hewan (Ahring dan Westermann, 2007). Biodiesel merupakan ester asam lemak

dari minyak goreng cair yang mempunyai sifat lebih encer, tidak mudah membeku terutama jika dipergunakan di negara ‘dingin’ (Galbe *et al*, 2007).

Sifat *biodegradable* biodiesel didasarkan pada karakternya yang mudah dicerna oleh mikroba. Biodiesel secara nyata dapat mengurangi pencemaran, hidrokarbon yang tidak terbakar, karbon monoksida, sulfat, polisiklikaromatik hidrokarbon, dan hujan asam. Kandungan belerang yang sangat rendah akan memungkinkan penggunaan katalis pada sistem gas buang. Jika dipergunakan bersama minyak solar, biodiesel dapat mengurangi atau menghilangkan kebutuhan belerang dalam minyak diesel. Secara umum, karakteristik biodiesel untuk konsumsi mesin diesel tertera dalam Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik Biodiesel

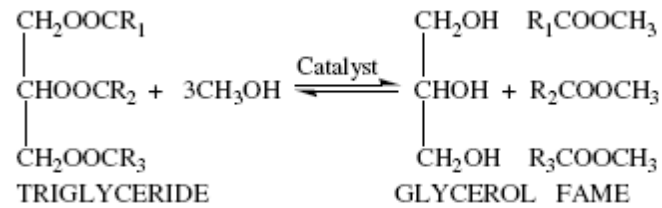
Karakteristik	Biodiesel
Komposisi	Metil Ester
Bilangan Setana	550.000
Densitas (g/mL)	0,8624
Viskositas (cST)	55.500
Titik Kilat (C)	1.720.000
Energi yang dihasilkan(MJ/kg)	401.000

### Proses Transesterifikasi

Biodiesel diperoleh dari trigliserida minyak nabati melalui proses transesterifikasi. Proses ini dilakukan dengan mereaksikan minyak nabati, alkohol (metanol), dan katalis sehingga dihasilkan ester yang sifat fisiknya mirip dengan minyak solar. Reaksi umum yang terjadi adalah sebagai berikut:



Reaksi tersebut berlaku reversibilitas, sehingga kita bisa meningkatkan laju reaksi ke kanan yang berarti akan memberikan kita kesempatan untuk peningkatan hasil FAME (*Fatty Acid Methyl Ester*) yang diinginkan, dua hal yang bisa dilakukan adalah menambahkan konsentrasi metanol dan mengurangi/mengambil gliserin (Duncan, 2002).



Gambar 2. Reaksi antara minyak nabati dan alkohol dengan katalis.

Transesterifikasi merupakan proses kimiawi yang mempertukarkan kelompok alkoksi pada senyawa ester dengan alkohol (Wikipedia Indonesia, 2006). Proses transesterifikasi melibatkan pengeluaran gliserin dari minyak dan mereaksikan asam lemak bebasnya dengan alkohol (misalnya metanol) menjadi alkohol ester (*Fatty Acid Methyl Ester/FAME*) atau biodiesel.

Reaksi transesterifikasi trigliserida (minyak nabati) dengan metanol akan menghasilkan biodiesel atau FAME (Duncan, 2002). Biodiesel dibuat dengan mereaksikan *Crude Palm Oil* (CPO) dengan metanol atau etanol melalui reaksi esterifikasi yang dilanjutkan dengan reaksi transesterifikasi berkatalis menjadi senyawa ester dengan produk samping gliserin. Pada saat ini gliserin juga merupakan produk dengan harga jual yang cukup tinggi.

### Proses Fermentasi

Proses fermentasi dilakukan melalui proses hidrolisis. Hidrolisis enzimatis dari material mentah dan fermentasi hidrolisis gula dapat dilakukan terpisah atau secara bersamaan. Dua proses hidrolisis yang digunakan adalah SHF (*separate hydrolysis and fermentation*) atau SSF (*simultaneous saccharification and fermentation*). Susunan proses SSF secara umum mempertimbangkan keuntungan dari penurunan harga produksi etanol. Secara keseluruhan, hasil yang lebih menguntungkan adalah dengan menggunakan *thermostable enzyme* dalam proses hidrolisisnya (Viikari *et al*, 2007).

Konsentrasi glukosa, xylosa, dan arabinosa dalam proses hidrolisis dapat dikembangkan untuk teknologi konversi biomassa pada produksi *fuel* etanol

menggunakan ethanologenic *E.coli* (Takabashi, Carvalhal, dan Alterthum, 1994). Tabel 2 menunjukkan pemakaian glukosa dan produksi etanol oleh *E.coli* ATCC 11303 pada sejumlah fermentasi, sedangkan Tabel 3 menunjukkan pemakaian xylosa dan produksi etanol oleh *E.coli* ATCC 11303 pada sejumlah fermentasi.

Tabel 2. Pemakaian glukosa dan produksi etanol oleh *E.coli* ATCC 11303 pada sejumlah fermentasi

Waktu (jam)	GLUKOSA					
	80 g/L		100 g/L		120 g/L	
	Glukosa (g/L)	Ethanol (g/L)	Glukosa (g/L)	Ethanol (g/L)	Glukosa (g/L)	Ethanol (g/L)
0	79,3	0	95,1	0	120,0	0
24	0	36,3	15,9	38,4	51,0	30,8
48	0	35,6	0	40,3	3,5	43,9
72	0	36,0	0	41,0	0	51,0
80	0	38,4	0	45,8	0	55,0

Tabel 3. Pemakaian xylosa dan produksi etanol oleh *E.coli* ATCC 11303 pada sejumlah fermentasi

Waktu (jam)	XYLOSA					
	80 g/L		100 g/L		120 g/L	
	Xylosa (g/L)	Ethanol (g/L)	Xylosa (g/L)	Ethanol (g/L)	Xylosa (g/L)	Ethanol (g/L)
0	80,0	0	100,0	0	120,0	0
48	21,2	28,9	53,9	25,8	88,9	20,9
72	0	36,4	20,3	40,2	58,6	35,8
96	0	37,5	10,2	41,8	37,8	42,2
120	0	36,5	8,2	42,8	29,5	46,9
142	0	40,1	8,2	44,6	25,2	49,4

## METODE PENULISAN

Penulisan dalam karya tulis ini bersifat kajian pustaka atau *library research*. Data yang diperoleh disajikan secara deskriptif sehingga menunjukkan suatu kajian ilmiah yang dapat dikembangkan dan diterapkan lebih lanjut.

Adapun objek penulisan ilmiah ini adalah produksi bioetanol dari *Recombinant Escherichia coli* sebagai sumber biodiesel dengan menggunakan optimasi metode fermentasi dan transesterifikasi. Sumber biodiesel yang dihasilkan dapat dijadikan bahan substitusi bahan bakar solar dan mengurangi tingkat pencemaran lingkungan.

Informasi yang dikumpulkan adalah informasi yang berkaitan dengan sumber energi alternatif, biodiesel dan literatur tentang *Recombinant Escherichia coli* sebagai salah satu bahan penghasil biodiesel. Informasi ini diperoleh dari berbagai literatur baik berupa artikel di dalam surat kabar, majalah, jurnal, internet maupun buku yang relevan dengan objek yang akan dikaji.

Setelah dilakukan pengumpulan data informasi, semua hasil diseleksi untuk mengambil data dan informasi yang relevan dengan masalah yang dikaji. Untuk menyajikan masalah yang akan dibahas, maka dalam penulisan ilmiah ini dibagi atas tiga pokok bahasan, yaitu Analisis jenis *Recombinant Escherichia coli* yang dapat menghasilkan bioetanol, optimasi parameter suhu, tekanan, dan konsentrasi katalis menggunakan metode transesterifikasi serta optimasi parameter konsentrasi dalam proses hidrolisis menggunakan metode fermentasi.



## ANALISIS DAN SINTESIS

### **Jenis Recombinant *Escherichia coli***

Produksi bakteri penghasil etanol terdiri dari *pyruvate decarboxylase* (PDC) and *alcohol dehydrogenase* (ADH) yang menyediakan produksi setimbang dari dua molekul etanol per glukosa. Tabel 4 menunjukkan jenis bakteri penghasil etanol.

Tabel 4. Jenis bakteri penghasil etanol

Organism	Xylose (g L <sup>-1</sup> )	Medium	Ethanol (g L <sup>-1</sup> )	Yield (g g <sup>-1</sup> )	Refs.
<i>E. coli</i> LY168	90	Min	45.5	0.51	<sup>a</sup>
<i>E. coli</i> LY168	90	LB	45.3	0.50	<sup>a</sup>
<i>E. coli</i> KO11	90	LB	43.2	0.48	<sup>a</sup>
<i>E. coli</i> LY01	90	LB	42.4	0.47	[18]
<i>E. coli</i> FBR5 (pLOI297)	95	LB	41.5	0.44	[44]
<i>E. coli</i> KO11	90	Min	26.9	0.30	<sup>a</sup>
Non-recombinant <i>E. coli</i> SE2378	50	LB	20.5	0.41	[46]
<i>K. oxytoca</i> M5A1 (pLOI555)	100	LB	46.0	0.46	[17]
<i>Z. mobilis</i> CP4 (pZB5)	80 + 8 G	YE	36.6	0.42	[154]
<i>Z. mobilis</i> CP4 (pZB5)	60	YE	23.0	0.38	[154]
<i>Z. mobilis</i> CP4 (pZB5)	25	YE	11.0	0.44	[155]
<i>Z. mobilis</i> ZM4/Ac (pZB5)	60	LB	11.0	0.44	[156]
<i>S. sp</i> strain 1400 (pLNH32)	50	YEP	23.0	0.46	[157]
<i>S. cerevisiae</i> RE700A (pKDR)	50	YEP	23.0	0.46	[158]
<i>S. cerevisiae</i> RWB202-AFX	20	Synth	8.6	0.43	[159]
<i>S. cerevisiae</i> RWB217	20	Synth	8.7	0.44	[160]

*Keterangan:*

LB ekstrak ragi + trypton

Min mineral + 1 mM betain

YE ekstrak ragi ditambahkan dengan fosfat

YEP ditambahkan dengan ekstrak ragi dan pepton

Synth mineral ditambahkan dengan campuran vitamin

8 G 8 g glukosa yang ditambah per liter

Berdasarkan tabel 4, bakteri yang dapat menghasilkan bioetanol adalah *Escherichia coli* ATCC 11303. *Escherichia coli* ini membawa plasmid pLOI297 yang mampu menghasilkan bahan biodisel. Bahan yang digunakan untuk menghasilkan

bioetanol adalah *Escherichia coli* ATCC 11303 yang membawa plasmid pLOI297, glukosa (5g/L), xylosa (80g/L) and arabnosa (5g/L), trypton (10 g/L), ekstrak ragi (5 g/L), NaCl (5 g/L), metanol, dan KOH.

### **Optimasi Metode Transesterifikasi dan Metode Fermentasi**

Untuk menghasilkan bioetanol dari *Recombinant Escherichia coli* sebagai alternatif biodisel dapat dilakukan dengan 2 metode yaitu metode transesterifikasi dan fermentasi.

#### **Metode Transesterifikasi**

Dalam proses transesterifikasi dibutuhkan sejumlah metil alkohol dan KOH yang dicampur pada tangki reaktor kurang lebih 10 menit hingga KOH terlarut dengan sempurna. Proses pertama transesterifikasi adalah pemurnian *Escherichia coli* ATCC 11303. Tahap pemurnian ini menggunakan air yang mengandung zat asam. Larutan ini dapat diperoleh dengan mencampur asam asetat ( $\text{CO}_3\text{COOH}$ ) dengan air ( $\text{H}_2\text{O}$ ). Perbandingan campuran adalah 40% dari *Escherichia coli*. Air dengan kandungan asam tersebut berfungsi untuk mengeluarkan angin didekat dasar tangki sehingga gelembung-gelembung dan udara terangkat. Setelah melalui tahapan pada proses tersebut maka akan dihasilkan bioetanol murni dan gliserin. Hasil dari proses pemurnian tersebut kemudian dimasukkan *Waste Cooking Oils* (WCO) ke dalam reaktor dengan menambahkan 25% (dengan volume WCO) etanol murni dan KOH dalam berbagai variasi konsentrasi. Variasi konsentrasi KOH/liter WCO adalah 6,00 gram; 6,25 gram; 6,50 gram; dan 6,75 gram.

Tahapan kedua memanaskan sampel dalam reaktor dengan variasi suhu 48°C, 60°C, dan 65°C, selama 50 - 60 menit. Variasi tekanan dikombinasikan dengan variasi suhu kemudian didiamkan selama 12 jam. Larutan kemudian menjadi potasium metoksida.

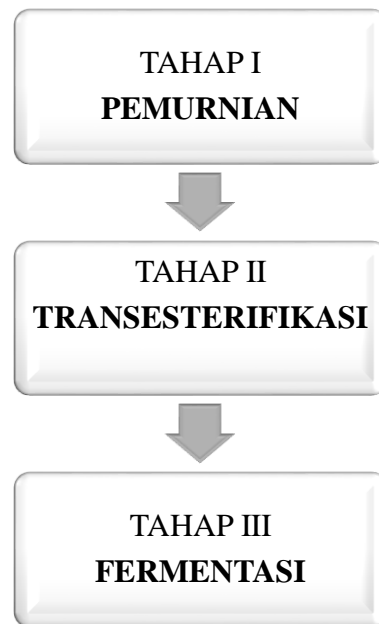
Minyak nabati kemudian dialirkan atau ditransfer ke reaktor utama untuk menghasilkan minyak nabati atau biodiesel yang diinginkan. Tangki reaktor harus disesuaikan untuk mempercepat determinasi volume. Metoksida kemudian dialirkan kedalam reaktor dan proses pencampuran pun dimulai. Dalam proses

eterifikasi ini dibutuhkan waktu kira-kira 60 menit. Ester kemudian ditransfer dengan pompa atau secara grafitasi kedalam tangki penampungan. Setiap bak memproduksi kurang lebih 500 liter per hari oleh sebab itu harus disiapkan dua bak dalam sehari.

Tahapan ketiga adalah pengambilan sejumlah gliserin dari hasil tahapan pertama dan kedua, kemudian menuangkan kembali biodiesel yang dihasilkan ke dalam reaktor dan ditambahkan metanol dari sisa proses pertama dan kedua dengan jumlah yang sama pada tahapan pertama juga pemberian katalis KOH, yang ditujukan untuk meningkatkan tingkat kemurnian biodiesel.

### **Metode Fermentasi**

Pada tahapan metode fermentasi, *Escherichia coli* ATCC 11303 yang membawa plasmid pLOI297 diletakkan dalam medium dengan pendinginan ( $-20^{\circ}\text{C}$ ) dalam 40% gliserol dan pertumbuhan medium yang kompleks mengandung 2% glukosa dan 10 mg/L tetracyclin. Mediumnya terdiri dari trypton (10 g/L), ekstrak ragi (5 g/L) dan NaCl (5 g/L). Fermentasi dilakukan pada medium tersebut dengan menggunakan larutan buffer potassium fosfat ( $\text{pH} = 7$ ) pada konsentrasi akhir 0,2 M. Fermentasi dari glukosa (5g/L), xylosa (80g/L) dan arabinosa (5g/L) dibuat dengan 42,5g/L ethanol selama 96 jam yang menghasilkan 0,49 alkohol per 1 gram gula menggunakan *Recombinant Escherichia coli*. Konsentrasi glukosa, xylosa dan arabinosa dalam proses hidrolisis dapat dikembangkan untuk teknologi konversi biomassa pada produksi *fuel* etanol menggunakan ethanologenic *E.coli*. Untuk menghasilkan etanol dari fermentasi dapat dilakukan variasi konsentrasi yaitu glukosa dan xylosa (80g/L, 100g/L, 120g/L). Semakin banyak konsentrasi glukosa dan xylosa yang terkandung pada ethanologenic *E.coli* maka semakin banyak etanol yang dihasilkan. Dua proses hidrolisis tersebut dapat digunakan dengan metode SHF (*separate hydrolysis and fermentation*) atau SSF (*simultaneous saccharification and fermentation*).



Gambar 3. Diagram alir sistem pengolahan *Recombinant Escherichia coli* menjadi minyak biodiesel.

## **KESIMPULAN DAN SARAN**

### **Kesimpulan**

Berdasarkan pembahasan yang telah penulis sampaikan dalam tulisan ini maka dapat disimpulkan bahwa *Escherichia coli* ATCC 11303 sangat potensial dalam menghasilkan etanol karena mengandung plasmid pLOI297 sebagai sumber energi berupa biodiesel yang setara dengan minyak bumi. Untuk menghasilkan etanol sebagai bahan biodiesel dari *Recombinant Escherichia coli* dapat dilakukan dengan optimasi metode transesterifikasi dan fermentasi. Biodiesel dari *Recombinant Escherichia coli* akan mengembangkan energi alternatif yang memiliki *multiplier effect* secara ekonomi, lingkungan, dan ketahanan bangsa di sektor energi.

### **Saran**

Suatu harapan yang besar bagi masyarakat ilmiah untuk dapat mengembangkan penelitian lebih lanjut mengenai topik yang diangkat untuk mengefisienkan penggunaan *Recombinant Escherichia coli* sebagai pemanfaatan energi sebagai sumber biodiesel yang mampu mensubsitusikan bahan bakar solar dan mengurangi tingkat pencemaran lingkungan yang menjadi masalah akhir-akhir ini.

## DAFTAR PUSTAKA

Ahring, B.K. dan P. Westermann. 2007. *Coproduction of Bioethanol with Other Biofuels*. Adv Biochem Engin/Biotechnol. **108**, page 289–302.

Chandra, R.P., R. Bura, W.E. Mabee, A. Berlin, X. Pan, dan J.N. Saddler. 2007. *Substrate Pretreatment: The Key to Effective Enzymatic Hydrolysis of Lignocellulosics?*. Adv Biochem Engin/Biotechnol. **108**, page 67–93.

Comas, J., F. Mariño, M. Laborde, dan N. Amadeo. 2004. *Bio-ethanol steam reforming on Ni/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> catalyst*. Chemical Engineering Journal. **98**, page 61–68.

Duncan, J. 2002. *Blending Ethanol Into Petrol an Overview*. Energy Efficiency and Conservation Authority.

Duncan, J. 2003. *Cost of Biodiesel Production*. Energy Efficiency and Conservation Authority.

Galbe, M. dan G. Zacchi. 2007. *Pretreatment of Lignocellulosic Materials for Efficient Bioethanol Production*. Adv Biochem Engin/Biotechnol. **108**, page 41–65.

Galbe, M., P. Sassner, A. Wingren dan G. Zacchi. 2007. *Process Engineering Economics of Bioethanol Production*. Adv Biochem Engin/Biotechnol. **108**, page 303–327.

Jarboe, L.R., T.B. Grabar, L.P. Yomano, K.T. Shanmugan, dan L.O. Ingram. 2007. *Development of Ethanologenic Bacteria*. Adv Biochem Engin/Biotechnol. **108**, page 237–261.

Takabashi, D.F., M.L. Carvalhal, dan F. Alterthum. 1994. *Ethanol Production from Pentoses and Hexoses by Recombinant Escherichia coli*. Biotechnology Letters. **7** (16), page 747-750.

Viikari, L., M. Alapuranen, T. Puranen, J. Vehmaanperä, dan M. Siika-aho. 2007. *Thermostable Enzymes in Lignocellulose Hydrolysis*. *Adv Biochem Engin/Biotechnol.* **108**, page 121–145.

## DAFTAR RIWAYAT HIDUP

### KETUA KELOMPOK

- Nama Lengkap : Ika Ikrima  
TTL : Magetan, 02 Agustus 1988  
NIM : G74070024  
Fakultas/Departemen : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam/Fisika  
Perguruan Tinggi : Institut Pertanian Bogor  
Alamat : Jalan Thamrin No.2C Magetan Jawa Timur 63314  
Pengalaman Organisasi : 1. Pengurus Dewan Galang SMPN 1  
PONOROGO  
2. Wakil Ketua Rohis SMAN 1 MADIUN  
3. Kepala Divisi Keilmuan Himafi IPB  
4. Divisi Humas Ikatan Mahasiswa dan Pelajar  
Magetan  
5. Divisi Eksternal Paguyuban Sadulur Madiun  
Prestasi : 1. Olimpiade Matematika SMA Tingkat  
Kota/Kabupaten  
2. Olimpiade Matematika SMA Tingkat Propinsi  
3. Lulus Seleksi IPB Jalur USMI  
4. Asisten Praktikum Fisika Dasar IPB

### ANGGOTA KELOMPOK

1. Nama Lengkap : Novi Cheriastiyana  
TTL : Payakumbuh, 16 November 1988  
NIM : G74070014  
Fakultas/Departemen : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam/Fisika  
Perguruan Tinggi : Institut Pertanian Bogor  
Alamat : Jl. Bara 5 Dramaga Bogor 16680  
Pengalaman Organisasi : 1. OSIS SMA 3 Payakumbuh  
2. MPK SMA 3 Payakumbuh



3. Divisi Humas Liga futsal IKMP  
4. Divisi Infokom Himafi 2009
- Prestasi : 1. Finalis Olimpiade Fisika Tingkat Kota  
Payakumbuh  
2. Lulus Seleksi IPB jalur USMI
2. Nama Lengkap : Wenny Maulina  
TTL : Jakarta, 04 November 1987  
NIM : G74051640  
Fakultas/Departemen : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam/Fisika  
Perguruan Tinggi : Institut Pertanian Bogor  
Alamat : Jl. Kesatuan Rt 02 Rw 01 No.44 Kukusan Beji  
Depok 16425
- Pengalaman Organisasi : 1. Anggota Tim Khusus Kompetisi Fisika, Pesta  
Sains Indonesia 2006  
2. Panitia Gebyar Nusantara 2006  
3. Anggota Konsumsi Kompetisi Fisika, Pesta  
Sains Indonesia 2007
- Prestasi : 1. Lulus seleksi IPB jalur USMI  
2. Asisten Praktikum Fisika Dasar 2006