

Sintesis 1,3-Propanadiol Melalui Fermentasi Gliserol Menggunakan Bakteri *Escherichia Coli* Dengan Penambahan Nutrisi Koenzim B₁₂

¹Panca Nugrahini F*, ²Sandi Ariyadi, ³Tauhid Ashadi

¹ Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Lampung
Jalan Prof. Dr. Sumantri Brojonegoro No. 1 Bandar Lampung
E-mail: pancanugrahini@gmail.com

Abstrak

Penelitian gliserol menggunakan bakteri *Escherichia coli* dengan penambahan koenzim B₁₂ sebanyak 0,1; 0,2; 0,3 % v/v pada 100 ml *crude glycerol* dengan variasi bakteri *Escherichia coli* sebanyak 7, 10 dan 13 % v/v pada temperatur 34 °C diharapkan hasil konversi gliserol maksimal. Kemudian setiap 24 jam atau 1 hari diambil sampel untuk di analisis kandungan gliserol dan kepadatan sel. Proses fermentasi dihentikan saat tidak ada lagi perubahan atau sedikit penurunan kandungan gliserol. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dengan penambahan volume inokulum dan koenzim B₁₂ akan meningkatkan konversi gliserol dan hanya volume inokulum yang mempengaruhi banyaknya sel atau kepadatan sel hal ini dikarenakan koenzim B₁₂ berfungsi untuk membantu mengubah gliserol menjadi *3-hydroxypropionaldehyde* sebelum menjadi 1,3-propanadiol. Pada hari ke-3 dan hari ke-4 kandungan gliserol sudah mulai konstan sehingga dapat dihentikan proses fermentasi. Perolehan konversi gliserol maksimal pada variabel volume inokulum 13 % dan koenzim B₁₂ 0,3 % yaitu 55,32 %.

Kata kunci: Gliserol, *Escherichia coli*, Koenzim B₁₂, Fermentasi, 1,3-propanadiol.

Abstract

The reseatch of the glycerol's fermentation using *Escherichia Coli* bacteria with the addition of 0,1; 0,2; 0,3% v/v coenzyme B₁₂ in 100 ml *crude glycerol* by the variation of 7, 10, 13% v/v *Escherichia Coli* bacteria at temperature of 34 °C to achieve the maximum conversion of glycerol. Every 24 hours, sample will be analyzed for glicerol's content and the density of cells. The fermentation process ends when the glycerol's content were constant. Research results show that the with additional volume inokulum a coenzyme b12 and will improve the conversion of glycerol and only volume inokulum that affects many cells or cell density it because a coenzyme b12 serves to help change glycerol become *3-hydroxypropionaldehyde* before becoming 1,3-propanadiol. On the day of 3rd and 4th day content glycerol have started to constant can be stopped so that the process of fermentation .Publicly-listed glycerol maximum conversion on the variables of volume 13 inokulum % and a coenzyme b12 0.3 % namely 55,32 %.

Keywords: Glycerol, *Escherichia coli*, Coenzym B₁₂, Fermentation, 1,3-Propanediol.

1. Pendahuluan

Gliserol merupakan produk samping dari pembuatan biodiesel, Gliserol merupakan senyawa hasil samping utama pada industri biodiesel. Dalam setiap pembuatan biodiesel, selain dihasilkan biodiesel untuk bahan bakar, dihasilkan juga paling sedikit 10% gliserol. biodiesel adalah bahan bakar yang memiliki sifat fisika dan kimia yang hampir sama dengan bahan bakar diesel konvensional dan juga memiliki nilai energi yang hampir setara tanpa melakukan

modifikasi pada mesin diesel. Biodiesel dijadikan sumber energi atau bahan bakar alternatif untuk komponen pencampur minyak diesel ataupun bahan bakar pengganti minyak diesel. (Johnson dan Taconi, 2007).

Peningkatan produksi biodiesel secara otomatis menyebabkan peningkatan produksi gliserol. Produksi biodiesel di Indonesia yang saat ini mencapai 2 juta kiloliter (KL) per tahun akan segera meningkat menjadi 5 juta KL per tahun

(Yusgiantoro, 2014), dengan demikian ketersediaan gliserol di Indonesia mencapai 500.000 KL/tahun.

Ketersediaan gliserol yang semakin banyak, membuat gliserol tidak lagi menjadi barang mahal, karena merupakan produk samping dari produksi biodiesel.

Upaya pemanfaatan gliserol antara lain dengan proses fermentasi menggunakan mikroba bertujuan mengkonversi gliserol menjadi etanol, dan senyawa kimia lainnya seperti 1,2 propanadiol dan 1,3 propanadiol (1,3-PDO). Beberapa produk lain yang dihasilkan melalui konversi gliserol antara lain 1,3-propanadiol, 1,2-propanadiol, dihidroksiaseton, hidrogen, poligliserol, asam suksinat, poliester, dan polihidroksialkanoat (Pachauri dkk, 2006). Gliserol dapat dikonversi menjadi berbagai macam produk baik berupa bahan bakar alternatif maupun material baru yang mempunyai nilai tambah. Konversi gliserol dapat menghasilkan metanol, asetaldehida, propionaldehida, akrolein, allil alkohol, etanol, formaldehida, karbon monoksida, karbon dioksida dan hidrogen (Buhler dkk, 2002).

Pada penelitian ini, gliserol hasil samping produksi biodiesel dikonversi menjadi 1,3-propanadiol. Pada umumnya senyawa 1,3-propanadiol berasal dari turunan minyak bumi maka sintesis 1,3-propanadiol (1,3-PDO) yang berasal dari gliserol sangat baik karena menggunakan sumber yang dapat diperbaharui (*renewable*) (Dasari, 2006). 1,3-PDO digunakan untuk kebutuhan industri seperti industri makanan, kosmetik, dan sabun atau deterjen.

Konversi gliserol tertinggi yaitu untuk senyawa 1,3-PDO sebesar 0,6-0,65 mol produk/konsumsi gliserol. Upaya pemanfaatan gliserol lainnya yaitu dengan reaksi antara gliserol dan asam benzoate menghasilkan senyawa 1,2-propanadiol, namun reaksi ini memerlukan suhu dan tekanan yang tinggi serta menggunakan katalis yang mahal. (Ganesh, 2012)

Bahagia dkk. (2014) melakukan penelitian pembuatan 1,3-PDO dari gliserol yang

difermentasi oleh *klebsiella pneumonia* dengan penambahan memvariasikan volume inokulum adalah 5, 7, dan 10% volume gliserol, waktu fermentasi adalah 1, 2, dan 3 hari lalu suhu fermentasi adalah 25 dan 37 °C. Kemurnian 1,3-Propanediol pada 1, 2 dan 3 hari adalah 59,444; 60,7145; dan 73,7002%. Kemurnian 1,3-Propanediol penambahan volume bakteri 5, 7, dan 10% (v / v) adalah 63,5320; 72,9740; dan 73,7002%. Kemurnian 1,3-Propanediol pada 25 dan 37 °C adalah 62,4343 dan 73,7002%. Kondisi terbaik pada penelitian Bahagia dkk adalah pada waktu 3 hari, volume inokulum 10% volume gliserol, dan pada suhu 37 °C.

Zheng ma dkk. (2009) melakukan penelitian untuk memproduksi 1,3-PDO dari gliserol yang difermentasikan dengan *Escherichia coli* dan *Saccharomyces cerevisiae*, senyawa 1,3-PDO dapat dihasilkan dengan cara fermentasi oleh *Escherichia coli* yang dapat memproduksi 8-9 g/l 1,3-PDO.

Oleh karena itu pemanfaatan gliserol menjadi 1,3-PDO dengan menggunakan reaksi fermentasi perlu dikembangkan. Akan dilakukan penelitian fermentasi gliserol oleh *Escherichia coli*. Bakteri *Escherichia coli* dipilih mengingat ketersediaan dan harga yang lebih murah dari *klebsiella pneumonia*.

Penelitian ini bertujuan mengetahui persen volume inokulum dan persen nutrisi koenzim B₁₂ untuk mendapatkan konversi gliserol maksimal dengan Variasi persen volume inokulum adalah 7, 10, dan 13% dari volume kerja yaitu 100 ml produk samping dari proses biodiesel, persen nutrisi koenzim B₁₂ 0.1, 0.2, 0.3%. waktu fermentasi dilihat dan dianalisis konsentrasi sel dan konsentrasi gliserol tiap 24 jam dan dihentikan saat sudah konstan atau tidak ada perubahan terhadap waktu. Dengan menggunakan persamaan:

$$\text{konversi gliserol (\%)} = \left(\frac{m_1 - m_2}{m_1} \right) \times 100 \quad (1)$$

Keterangan:

(%) : konversi gliserol
 m_1 = : mol gliserol mula
 m_2 = : mol gliserol akhir

2. Metodologi

Alat dan bahan pada penelitian ini adalah water bath, haemocytometer, rangkaian alat Titrasi. Gliserol, *Escherichia coli* didapat dari Baristand Lampung, nutrient broth, dan koenzim B₁₂

2.1 Pembuatan Nutrient Broth

Menyiapkan 1,35 gr nutrient broth padat dan 100 ml aquades. Larutkan semua zat bahan medium satu persatu ke dalam 50 ml aquades

pada erlenmeyer 250 ml, kemudian aduk sambil memanaskan hingga semua larut. Tambahkan dengan sisa aquades hingga volume medium 100 ml. didinginkan dan ditutup.

2.2 Kultur Escherichia Coli

Menyiapkan 30 ml *Nutrient Broth* ke dalam gelas ukur, tambahkan 1 ose bakteri *E. coli* ke dalam 30 ml nutrient broth.

2.3 Fermentasi Gliserol

Gliserol 100 ml ditambahkan ke dalam erlenmeyer, dan kemudian ditambahkan *E. coli* yang telah dikultur sebanyak 7, 10, dan 13 % (v/v) dari total dan koenzim B₁₂ sebagai tambahan nutrisi sebanyak 0,1, 0,2, 0,3 % (v/v), Setelah itu fermentor ditutup.

2.3 Analisis Sampel

Pada penelitian ini analisis sampel gliserol menggunakan analisis titrasi dan analisis jumlah sel menggunakan Haemocytometer.

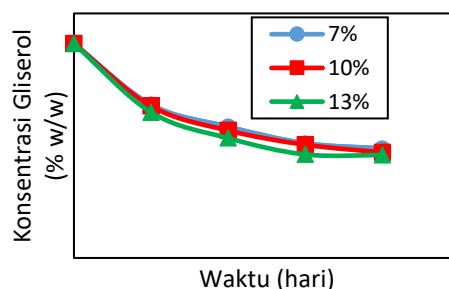
3. Hasil dan Pembahasan

telah dilakukan sintesis senyawa 1,3-propanadiol (1,3-PDO) dari bahan baku crude glycerol. Proses sintesis 1,3-PDO dengan proses fermentasi menggunakan bakteri *Escherichia coli* dengan penambahan koenzim B₁₂. Prosedur yang

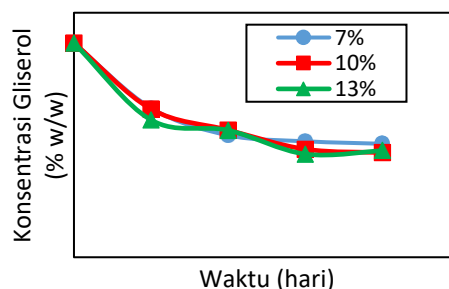
dilakukan menggunakan prosedur penelitian Bahagia dkk., (2014), namun bakteri yang digunakan adalah *Escherichia coli*. Konsentrasi volume inokulum 7, 10, dan 13 % v/v dan konsentrasi koenzim 0,1 ; 0,2 dan 0,3 % v/v pada suhu 34 °C. Proses fermentasi dilakukan di *water batch* pada temperatur 34°C dengan variabel tersebut dan diamati serta dianalisis setiap 24 jam atau 1 hari sampai tidak ada lagi perubahan kandungan gliserol.

Penurunan kandungan gliserol pada larutan inokulum untuk semua variasi pada hari ke-4 sudah sangat kecil sehingga tidak dilanjutkan, karena tidak ada lagi gliserol yang terkonversi dan banyaknya koloni bakteri yang tidak berkembang. Konversi maksimal pada fermentasi gliserol ialah 54,50 % pada volume inokulum 13% v/v dan konsentrasi 0,3 % v/v.

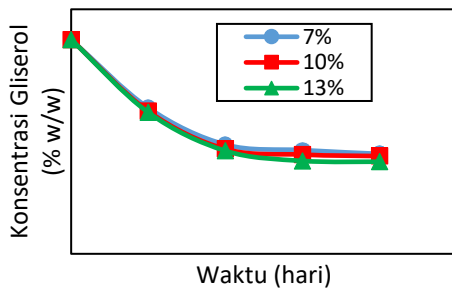
3.1 Pengaruh Volume Inokulum dan Waktu Fermentasi Terhadap Konsentrasi Gliserol



Gambar 1. Pengaruh waktu dan volume inokulum terhadap konsentrasi gliserol pada konsentrasi koenzim B₁₂ 0,1%



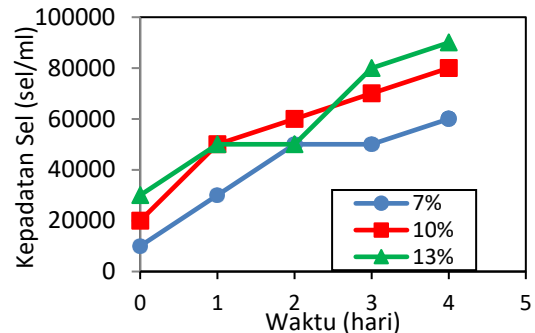
Gambar 2. Pengaruh waktu dan volume inokulum terhadap konsentrasi gliserol pada konsentrasi koenzim B₁₂ 0,2%



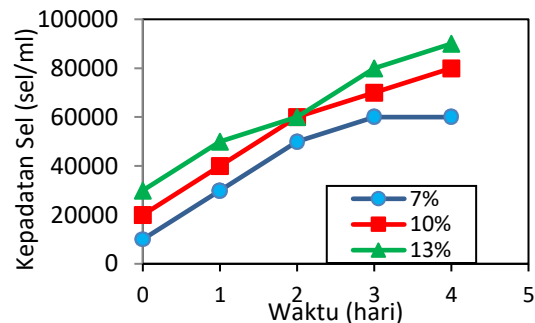
Gambar 3. Pengaruh waktu dan volume inokulum terhadap konsentrasi gliserol pada konsentrasi koenzim B₁₂ 0,3%

Dari Gambar 1 sampai 3 menunjukkan bahwa pengaruh waktu dan volume inokulum sangat berpengaruh terhadap perubahan konsentrasi/kandungan gliserol. Kandungan gliserol tiap hari selalu mengalami penurunan, ini menunjukkan bahwa ada gliserol yang terkonversi menjadi senyawa 1,3-propanadiol. Waktu fermentasi pada tiap run mengalami peningkatan yang signifikan sampai hari ke 2, dikarenakan pertumbuhan bakteri *escherichia coli* yang cepat. pada hari ke 4, tiap run mulai mengalami penurunan konsentrasi gliserol yang kecil akibat dari koloni bakteri yang semakin banyak dan media kultur yang berkurang. Volume inokulum pada penelitian ini berpengaruh terhadap konsentrasi gliserol, semakin besar volume inokulum semakin besar juga gliserol yang terkonversi karena semakin besar volume inokulum semakin besar juga jumlah koloni bakteri, sehingga jumlah gliserol yang terkonversi pun semakin besar. Nilai konversi gliserol dapat dilihat dari penurunan kandungan gliserol pada tiap sampelnya. Bahagia dkk (2014) melakukan penelitian fermentasi gliserol menunjukkan hal yang sama, semakin besar volume inokulum maka semakin besar kemurnian produk yang dihasilkan. Dari perhitungan yang terlampir pada lampiran maka, konversi gliserol tertinggi pada volume inokulum 13% dan konsentrasi koenzim B₁₂ masing-masing 0,1 ; 0,2 ; 0,3% yaitu sebesar 50,98% ; 51,22% ; 55,32%.

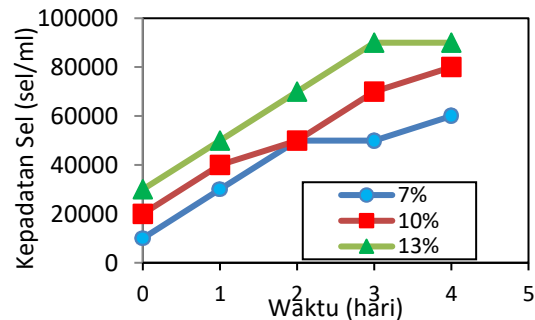
3.2 Pengaruh Volume Inokulum dan Waktu Fermentasi Terhadap Kepadatan Sel



Gambar 4. Pengaruh Waktu Dan Volume Inokulum Terhadap Kepadatan Sel Pada Konsentrasi Koenzim B₁₂ 0,1%



Gambar 5. Pengaruh Waktu Dan Volume Inokulum Terhadap Kepadatan Sel Pada Konsentrasi Koenzim B₁₂ 0,2%



Gambar 6. Pengaruh Waktu Dan Volume Inokulum Terhadap Kepadatan Sel Pada Konsentrasi Koenzim B₁₂ 0,3%

Dari Gambar 4.7 sampai 4.9 terlihat bahwa waktu fermentasi dan volume inokulum berpengaruh pada kepadatan sel. Kepadatan sel merupakan jumlah banyaknya sel bakteri *escherichia coli* pada

tiap ml. Jumlah sel mengalami peningkatan pada tiap hari, namun pada hari ke 4 perkembangan sel tidak signifikan pada hari ke 1 sampai hari 3, hal ini disebabkan semakin banyak jumlah sel pada larutan namun nutrisi dan gliserol mulai berkurang. Volume inokulum terlihat pada grafik sangat berpengaruh pada kepadatan sel, semakin banyak volume inokulum yang diberikan semakin besar juga kepadatan sel dikarenakan pada larutan inokulum mengandung sel sebanyak 1×10^7 sel, maka semakin banyak volume inokulum maka semakin banyak jumlah sel yang ada. Kepadatan sel tertinggi terdapat pada volume inokulum 13% dan hari ke 4 yaitu 9×10^4 sel.

3.3 Metode Analisis

Metode analisis yang digunakan yaitu titrasi untuk analisis kandungan gliserol dan Chromatography Gas untuk analisis 1,3-propanediol.

4. Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini antara lain Peningkatan volume inokulum dan konsentrasi koenzim B₁₂ dapat meningkatkan konversi gliserol dan Konversi gliserol tertinggi pada persen volume inokulum 13% dan persen nutrisi koenzim B₁₂ 0,3% yaitu 55,32 %.

Daftar Pustaka

Almeida, JRM., Léia, C.L.F., dan Betania, F.Q., (2012) *Biodiesel biorefinery: opportunities and challenges for microbial roduction of fuels and chemicals from glycerol waste*, Biotechnol and Biofuels, 48-54

Bahagia, Jekky., Anggraini, dewi, Batubara, Fatimah (2014). *Fermentation of Glycerol from Biodiesel Waste to 1,3-Propanediol by Klebsiella Pneumoniae*. proceedings of the 5th Sriwijaya International seminar on

Energy and Environmental science and Technology, 132-136.

Ganesh, Irisappan, (2012). *Metabolically Engineered Escherichia coli as a Tool for the Production of Bioenergy and Biochemicals from Glycerol*. Biotechnology and Bioprocess Engineering, 671-678.

Johnson, D.T., Taconi, K.A., (2007) *The glycerin: options for the value-added conversion of crude glycerol resulting from biodiesel production*. Enviromental Progress, 338-349.

Kirk dan othmer (1979) Kirk – Othmer emyclopedia of chemical technology. Taiwan : John Wiley & Sons, Inc. vol

Pachauri, N., He, B., (2007), *Value-added utilization of crude glycerol from biodiesel production: a survey of current research activities*, ASABE Annual Internasional Meeting, Oregon onvention Center, American Society of Agricultural and Biological Engineers, Portland.

Ullmann's. 2005. *Encyclopedia of Industrial Chemistry*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. GaA : Weinheim

Zheng Ma. Zhiming Rao. Liyu Xu. Xiangru Liao. Huiying Fang. Bin Zhuge. Jian Zhuge (2009) *Expression of dha Operon Required for 1,3-PD Formation in Escherichia coli and Saccharomyces cerevisiae*. Curr Microbiol, 191-198.