

# Pengembangan Gliserol Hasil Samping Biodiesel Pada Produksi Asam Itakonat Dengan Metode Biosintesis *Aspergillus terreus*

\*Marlinda<sup>1,a</sup>, Mardhiyah Nadir<sup>2,b</sup>, dan Ramli<sup>3,c</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Petro Dan Oleo Kimia Jurusan Teknik Kimia Politeknik Negeri Samarinda

<sup>2,3</sup>Program Studi Teknologi Kimia Industri Jurusan Teknik Kimia Politeknik Negeri Samarinda

E-mail :: <sup>a</sup>lin\_syam@yahoo.co.id, <sup>b</sup> Dhiyahnadir@yahoo.com, <sup>c</sup>ramli\_polismd@yahoo.co.id

**Abstrak.** Pembuatan biodiesel di Indonesia semakin berkembang dengan program energi terbarukan. Gliserol yang dihasilkan semakin banyak selama ini kurang dimanfaatkan. Salah satu upaya pemanfaatannya adalah dengan dibuat menjadi asam itakonat. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui substat modifikasi gliserol dan waktu fermentasi terhadap konsentrasi asam itakonat yang dihasilkan. Modifikasi gliserol yaitu pencampuran gliserol dengan glukosa dengan konsentrasi 150 g/L dan gliserol dengan glukosa 250 g/L dan waktu fermentasi yang digunakan adalah 3,5,6,9, 12 dan 15 hari. Proses fermentasi aerobik dengan menggunakan laju alir udara 0,4 ml/min. Gliserol dengan konsentrasi 36% dicampur dengan glukosa konsentrasi 150 g/L dan 250 g/L perbandingan 2:1 hingga volume substrat 300 ml. Kemudian ditambahkan nutrisi tambahan sebanyak 250 ml jenis NPK dimasukkan kedalam bioreaktor aerobik batch dan mediabiakan sebanyak 10% dari substrat. setelah fermentasi berjalan sesuai variasi, hasil fermentasi di saring kemudian di rotary evaporator setelah itu dilakukan analisa konsentrasi biomassa dan analisa konsentrasi asam itakonat menggunakan HPLC. Hasil yang terbaik pada kondisi modifikasi gliserol glukosa konsentrasi 150 g/L dengan waktu fermentasi 9 hari menghasilkan konsentrasi biomassa sel sebesar 26,87 g/L dan konsentrasi asam itakonat sebesar 63,28 g/L pada pH 2.

Kata kunci: asam itakonat, aspergillus terreus, fermentasi, gliserol, modifikasi gliserol

**Abstract.** Biodiesel production in Indonesia is increasingly developing with renewable energy programs. The more glycerol produced so far has been underutilized. One effort to use it is to be made into itaconic acid. The purpose of this study was to determine the glycerol modification substrate and fermentation time to the concentration of itaconic acid produced. Glycerol modification is the mixing of glycerol with glucose with a concentration of 150 g / L and glycerol with glucose 250 g/L and the fermentation times used are 3,5,6,9, 12 and 15 days. Aerobic fermentation process using air flow rate of 0.4 ml / min. Glycerol with a concentration of 36% was mixed with 150 g/L glucose concentration and 250 g / L 2: 1 ratio to 300 ml substrate volume. Then additional nutrients of 250 ml of NPK were added to the batch aerobic bioreactor and mediated as much as 10% of the substrate. after fermentation runs according to variation, the fermentation results are filtered and then in the rotary evaporator after analysis of the biomass concentration and analysis of itaconic acid concentration using HPLC. The best results in conditions of modification of glucose glycerol concentration of 150 g / L with a fermentation time of 9 days resulted in a concentration of cell biomass of 26.87 g/L and the concentration of itaconic acid of 63.28 g/L at pH 2.

Keywords: itaconic acid, aspergillus terreus, fermentation, glycerol, glycerol modification



## 1. Pendahuluan

Pada era industrialisasi pemerintah semakin gencar mengembangkan energi terbarukan, salah satunya biodiesel. Menurut data yang di rilis Kementerian ESDM, produksi biodiesel semakin meningkat pertahunnya. Data terakhir yaitu per tanggal 11 Agustus 2013 menunjukkan, produksi biodiesel di Indonesia mencapai 954 ribu KL. Pada pembuatan biodiesel, dihasilkan produk samping berupa gliserol dengan tingkat kemurnian yang rendah, yang biasa disebut dengan *crude glycerol*. Produk ini dihasilkan sekitar 10 % dari total produk (1). Dari data tersebut, dapat disimpulkan bahwa dihasilkan sekitar 96.800 KL gliserol dari proses pembuatan biodiesel di Indonesia setiap tahunnya.

Komposisi gliserol hasil samping biodiesel (GHB) umumnya bervariasi. Tergantung dari jenis katalis yang digunakan untuk memproduksi biodiesel. Namun pada umumnya, gliserol hasil samping pembuatan biodiesel mengandung komposisi 30% gliserol, 50% metanol, 13% sabun, 2% air, serta sekitar 2–3% garam (biasanya sodium atau potassium) dan 2–3% lainnya adalah pengotor. GHB memiliki *kadar gula alkohol (metanol & gliserol) yang terkandung di dalamnya cukup besar, membuat gliserol merupakan bahan baku yang baik dalam proses fermentasi dengan menggunakan mikroorganisme sebagai biokatalisator*(2). Umumnya diperlukan proses pemurnian terlebih dahulu agar gliserol hasil samping biodiesel bisa digunakan sebagai bahan baku atau substrat untuk dapat meningkatkan nilai ekonomis dari GHB. Asam itakonat adalah salah satu produk fermentasi yang menjanjikan dari kelompok asam organik untuk menggantikan monomer berbasis petrokimia. Asam itakonat umumnya dimanfaatkan untuk bahan pembuatan polimer, serta pembuatan resin. (3)

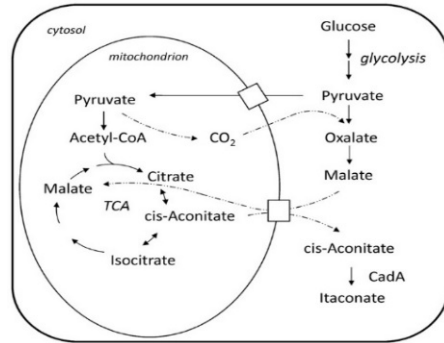
Permasalahan lingkungan dalam pengolahan biodiesel sehingga GHB digunakan sebagai sarana dalam peningkatan nilai ekonomisnya dalam pembentukan produk yang lebih bermanfaat. Akan tetapi GHB mempunyai beberapa kekurangan sebagai hasil samping biodiesel adalah kandungan gula yang ada didalamnya dalam bentuk gula alkohol (metanol dan gliserol) sehingga akan membuat substrat GHB tidak terlalu cukup memadai untuk kebutuhan nutrisi dan media tumbuh mikroorganisme untuk produksi asam itakonat. Perbaikan kualitas GHB atau modifikasi GHB sebagai salah satu cara dalam memperbaiki kinerja GHB sebagai substrat sehingga akan dapat meningkatkan produksi asam itakonat. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh jenis substrat gliserol dan modifikasi gliserol terhadap konsentrasi asam itakonat yang dihasilkan dari proses fermentasi *aspergillus terreus*.

Gliserol hasil samping produksi biodiesel (GHB) belum dapat dimanfaatkan terlalu besar, baik dalam bidang farmasi maupun makanan sebagaimana lazimnya gliserol pada umumnya. Kualitas GHB yang masih rendah karena masih adanya beberapa pengotor yang dapat menurunkan kualitas gliserol. Sehingga GHB dapat dijadikan alternatif pengolahan sekunder untuk menjadi produk yang lain. Produk berbasis ramah lingkungan yang menjadi dasar pertimbangan memanfaatkan GHB menjadi asam organik sebagai alternatif produk monomer untuk pengembangan polimer yang ramah lingkungan (4).

Asam Itakonat atau *methylene butanedioc acid, methylene succinic acid, 3-carboxy-3-butanoic acid, propylenedicarboxylite acid* adalah salah satu jenis asam organik yang dapat dengan mudah digabungkan untuk membentuk polimer dan dapat digunakan untuk menggantikan monomer berbasis petroleum dengan yang alami. Asam itakonat memiliki 5 atom karbon, serta memiliki 2 gugus karboksilat.

Proses pembuatan asam itakonat yang paling disukai adalah dengan proses fermentasi. Faktor-faktor yang mempengaruhi pembentukan asam itakonat antara lain mikroorganisme dapat mempengaruhi pembentukan asam itakonat, mikroorganisme yang sering digunakan dalam pembuatan asam itakonat adalah *Aspergillus terreus* atau *Aspergillus Niger*. Selain mikroorganisme faktor substrat pun dapat mempengaruhi yield asam itakonat, substrat yang besar didapatkan dari fermentasi dengan glukosa dan sukrosa sebagai substrat. Kemudian kondisi operasi, proses fermentasi asam itakonat akan maksimal pada saat kandungan glukosa terbatas, yaitu pada konsentrasi gula 100 – 150 g/L sehingga dapat dikatakan bahwa asam itakonat merupakan hasil dari metabolisme sekunder. Selama fermentasi, pH dijaga sekitar 2 dan suhu dijaga sekitar 37 °C. Proses fermentasi ini merupakan fermentasi aerob. Oksigen ditambahkan selama proses fermentasi karena kondisi anaerob akan mengganggu pertumbuhan sel (5).

Tahapan pembuatan asam itakonat dapat dilihat pada Gambar 1 dibawah ini:



Gambar 1. Tahapan Reaksi Pembentukan Asam Itakonat

Reaksi pembentukan asam itakonat dimulai dari substrat (bahan baku) seperti glukosa, molekul karbonnya diproses melalui tahap glikolisis menjadi piruvat. Kemudian jalur terbagi dan bagian dari karbon dimetabolisme untuk menjadi Asetil-CoA melepaskan molekul karbon dioksida. Bagian lain diubah menjadi oksaloasetat sehingga molekul karbon dioksida yang dilepas sebelumnya tergabung lagi. Pada tahap pertama dari siklus asam sitrat, terbentuk sitrat. Tahap selanjutnya yaitu, sitrat melepas  $H_2O$  sehingga menjadi cis-Aconitate. Pada tahap terakhir, cis-Aconitate masuk ke jalur / tahap khusus dan diurai oleh enzim Cis-Aconitate Decarboxylase (Cad). Di tahap ini terjadi reaksi dekarboksilasi yaitu reaksi kimia yang menyebabkan sebuah gugus karboksil ( $-COOH$ ) terlepas dari senyawa semula menjadi karbon dioksida ( $CO_2$ ) hingga terbentuk asam itakonat (6). Asam Itakonat mempunyai banyak manfaat antara lain dapat digunakan sebagai penyedia polimer plastik, resin untuk pencampur cat, deterjen, cleaner, dan dental adhesive.

Dalam industri fermentasi diperlukan substrat yang murah, mudah tersedia, dan efisien penggunaannya. Usaha selalu dilakukan untuk menemukan substrat baru yang lebih murah dan lebih baik, tetapi kadang kadang timbul masalah baru dalam hal cara penyimpanannya, ataupun kemudahannya untuk disterilisasi. Beberapa faktor yang mempengaruhi pemilihan substrat untuk fermentasi yaitu, tersedia dan mudah didapat, sifat fermentasi, harga dan pengolahan lingkungan (7).

## 2. Metode Penelitian

Bahan baku yang digunakan berupa substrat gliserol hasil samping biodiesel yang telah dimurnikan dengan kadar sekitar 36%, sedangkan nutrisi yang digunakan  $NH_4NO_3$ ,  $KH_2PO_4$ ,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , dan kapang *Aspergillus Tereus*. Alat yang digunakan adalah fermentor kapasitas 1000 ml yang dilengkapi dengan pompa untuk penyedia oksigen, pH meter, piknometer dan alat-alat gelas untuk proses fermentasi.

### Tahap Pembuatan Starter (inokulasi *Aspergillus tereus*)

Menimbang nutrient broth sebanyak 52 g kemudian masukkan ke dalam gelas kimia yang berisi 1 L aquadest. Diaduk kemudian memasukkan ke dalam *autoclave*, setelah dikeluarkan dari *autoclave* menambahkan *Aspergillus Tereus* sebanyak 2 ose. Inkubasi selama 24 jam.

### Tahap modifikasi substrat

Substrat yang digunakan berupa gliserol hasil samping biodiesel yang akan dimodifikasi dengan gliserol dengan konsentrasi 150g/L dan 250 g/L dengan perbandingan 2:1

### Tahap Fermentasi Asam Itakonat

Menyiapkan larutan substrat berupa gliserol modifikasi dengan cara pencampuran gliserol (GHB) dengan glukosa konsentrasi 150g/L sebanyak 300 ml dengan perbandingan 2:1 dimasukkan kedalam fermentor kemudian ditambahkan nutrisi berupa  $NH_4NO_3$  0,1g,  $KH_2PO_4$  0,025g dan  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0,025g diaduk sampai homogen dan diatur pH sampai 5,5. Kemudian dimasukkan starter *Aspergillus Tereus* sebanyak 10% (v/v) dari substat kemudian dimasukkan ke dalam fermentor. Difermentasi dengan menggunakan fermentor aerobik yang dibantu dengan alat penyedia oksigen. Fermentasi dilakukan (3, 6, 9,12 dan 15 hari). Setelah fermentasi selesai dengan waktu yang ditentukan substrat dimasukkan kedalam inkubator selama 1 hari. Kemudian disaring untuk mengambil biomassa dan filtrat yang dihasilkan di murnikan dengan menggunakan *rotary evaporator*.

### Penentuan Konsentrasi Asam Itakonat



Konsentrasi asam itakonat ditentukan dengan menggunakan metode kromatografi. Gas kromatografi yang digunakan adalah Varian 450. Suhu injektor diatur sebesar 200°C, suhu oven sebesar 170°C dan suhu detektor sebesar 200°C.

### 3. Hasil Dan Pembahasan

Proses pembuatan asam itakonat dengan proses fermentasi menggunakan *aspergillus terreus* sebagai biokatalisator. Asam itakonat merupakan hasil metabolit lanjutan dari asam sitrat yang dapat dihasilkan oleh *aspergillus terreus*. Keaktifan reaksi mikrobial dapat dilihat dari parameter biomassa sel untuk metabolisme hasil metabolit dan parameter pembentukan asam itakonat atau konsentrasi asam itakonat yang dihasilkan (8).

#### Konsentrasi Biomassa Sel

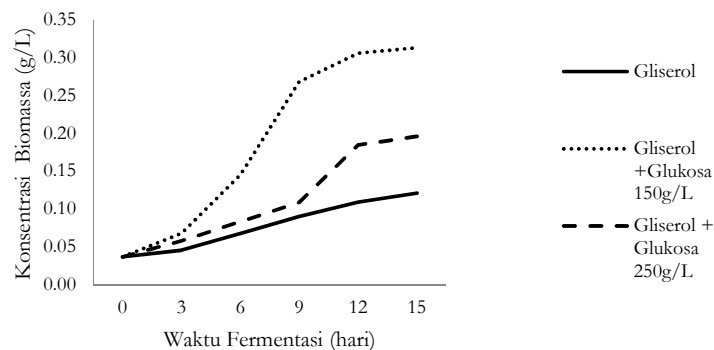
Kombinasi waktu fermentasi dan konsentrasi glukosa dalam substrat pada pembuatan asam itakonat berdasarkan data pH terlihat interaksi nyata antar perlakuan tersebut. Glukosa merupakan nutrisi yang dibutuhkan oleh mikroorganisme untuk tumbuh dan metabolisme sel untuk menghasilkan metabolit berupa enzim untuk pembentukan asam itakonat. Penunjukan data tidak langsung pH dapat menunjuk aktivitas mikroorganisme yang tinggi. Hubungan antara waktu fermentasi dan modifikasi gliserol terhadap pH dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hubungan antara waktu fermentasi dan modifikasi gliserol terhadap pH.

Waktu Fermentasi(hari)	pH		
	Gliserol	Gliserol + Glukosa 150g/L	Gliserol + Glukosa 250g/L
0	5,5	5,5	5,5
3	5,0	5,0	5,0
6	4,5	3,5	4,0
9	3,5	2,0	3,0
12	3,5	2,0	3,0
15	3,5	2,5	3,0

Kombinasi perlakuan waktu fermentasi dan jenis modifikasi substrat terhadap pH akan terkait dengan proses pertumbuhan mikroorganisme. Pada awal pH masih menunjukkan pH 5,5 sampai waktu fermentasi tertentu pH akan bergerak menuju ke pH asam sehingga akan menunjukkan aktifitas mikroorganisme sudah berjalan dengan baik dan terjadi pembentukan asam-asam organik salah satunya asam itakonat mulai berlangsung (9).

Hubungan antara aktifitas mikroorganisme dengan pH terkait dengan keaktifitas mikroorganisme sel dalam metabolisme sel. Ukuran ke aktifitas sel dapat dilihat dengan pertumbuhan sel apakah telah mengalami pertumbuhan atau tidak. Aktifitas pertumbuhan sel dapat diukur dengan konsentrasi biomassa sel. Hubungan antara waktu fermentasi dan modifikasi substrat dengan konsentrasi biomassa sel dapat dilihat pada grafik 1.



Gambar 2. Hubungan Antara Waktu Fermentasi dan Modifikasi gliserol terhadap konsentrasi biomassa sel.

Hubungan yang terjadi antara waktu fermentasi dan modifikasi gliserol dengan konsentrasi biomassa sel terlihat saling berhubungan. Apabila waktu semakin lama maka konsentrasi biomassa semakin tinggi ini terlihat pada masing masing substrat gliserol dan gliserol modifikasi. Pada saat waktu fermentasi antara 0-3



hari untuk semua jenis substrat gliserol dan modifikasi gliserol menunjukkan fase adaptasi mikroorganisme dengan substrat, waktu fermentasi 6-12 hari menunjukkan fase pertumbuhan mikroorganisme karena pada waktu fermentasi tersebut dapat menghasilkan konsentrasi biomassa yang cenderung naik sangat signifikan ini dapat terjadi karena kebutuhan mikroorganisme akan makro nutrisi dapat terjangkau untuk proses metabolisme sel *aspergillus terreus*. Sedangkan untuk 12-15 hari *aspergillus terreus* mengalami fase stationer atau fase diam, hal ini dapat disebabkan karena kebutuhan mikroorganisme akan nutrisi semakin menurun sehingga metabolisme mikroorganisme pun semakin rendah aktivitas yang terjadi (10).

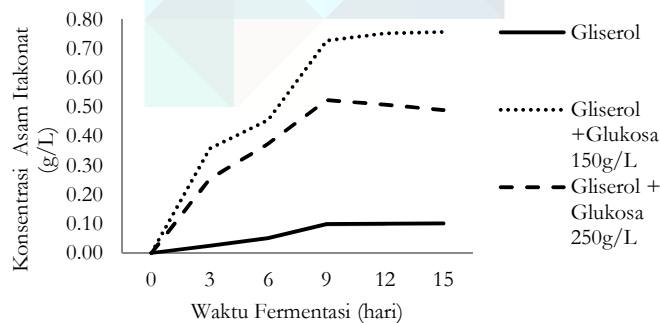
Ada perbedaan yang terjadi pada modifikasi gliserol 250g/L mengalami kenaikan populasi sel pada hari ke 12 hal ini dapat disebabkan karena apabila konsentrasi glukosa terlalu tinggi maka akan menurunkan aktifitas mikroorganisme atau kecepatan fermentasi semakin menurun sehingga membutuhkan waktu fermentasi yang lebih lama. Hal ini dapat disebabkan karena terjadi plasmolisis dinding sel mikroorganisme yang menyebabkan dinding sel mikroorganisme pecah (11).

Modifikasi substrat gliserol dapat dilakukan dengan konsentrasi glukosa lebih besar dari 150 g/L dan lebih kecil dari 250g/L untuk memperbaiki nutrisi substrat untuk aktivitas mikroorganisme dalam proses pembuatan asam itakonat. Gliserol juga mengandung glukosa alkohol sehingga dapat pula digunakan sebagai sumber nutrisi tetapi kemampuan aktivitas selnya agak lambat dalam proses metabolisme sel sehingga modifikasi substrat dilakukan agar pemanfaatan gliserol sebagai hasil samping biodiesel dapat dimanfaatkan.

Proses pertumbuhan sel terjadi untuk semua substrat sekitar 6 hari hanya konsentrasi biomassa terjadi kenaikan pertumbuhan yang berbeda-beda, ini dapat terjadi karena kandungan nutrisi glukosa yang ada di tiap substrat untuk kebutuhan metabolisme juga berbeda sehingga pola pengembangan laju kenaikan populasi mikroorganisme untuk substrat gliserol glukosa 150g/L mengalami kenaikan yang lebih besar dibandingkan substrat gliserol dan gliserol glukosa 250g/L.

### Konsentrasi Asam Itakonat

Proses fermentasi *aspergillus terreus* dalam biosintesis asam itakonat dapat terjadi di intraseluler dan ekstraseluler. Asam itakonat merupakan asam lanjutan yang dihasilkan oleh mikroorganisme *aspergillus terreus*. Aktivitas metabolisme sel dalam pertumbuhan sel akan mempengaruhi hasil produksi asam itakonat, hubungan waktu fermentasi dan modifikasi substrat gliserol terhadap konsentrasi asam itakonat dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 2. Hubungan waktu fermentasi dan modifikasi substrat terhadap konsentrasi asam itakonat

Pengaruh waktu fermentasi dan modifikasi substrat terhadap konsentrasi asam itakonat dapat memberikan pengaruh yang cukup besar. Semakin lama waktu fermentasi akan memberikan efek peningkatan konsentrasi asam itakonat.

Pembentukan asam itakonat untuk substrat gliserol pada waktu fermentasi yang semakin lama akan memberikan hasil yang semakin tinggi tetapi dengan konsentrasi asam itakonat yang masih rendah sehingga akan memberikan hasil itakonat yang masih rendah. Untuk substrat modifikasi gliserol dengan glukosa 150g/L akan menghasilkan asam itakonat yang lebih tinggi dibandingkan dengan gliserol glukosa 250g/L. Hal ini dapat disebabkan karena pada modifikasi gliserol glukosa 250g/L memberikan efek plasmolisis dinding sel mikroorganisme sehingga pertumbuhan *aspergillus terreus* menjadi lambat, dengan begitu proses metabolisme menjadi terganggu utamanya pada saat pengubahan enzim cis aconitate masuk kedalam sel dan di urai menjadi enzim cis aconitate decarboxylase (CAD) ditahap inilah terjadi reaksi karboksilase melepas gugus (-COOH) terlepas menjadi CO<sub>2</sub> hingga terbentuk asam itakonat. Terhambatnya pembentukan asam itakonat ini membuat hasil asam itakonat menjadi berkurang seiring dengan berkurangnya jumlah biomassa



sel pada kondisi tersebut. (12)

Asam itakonat dapat terbentuk dengan konsentrasi yang tinggi pada waktu fermentasi sekitar 6-12 hari karena pada waktu inilah terjadi proses pertumbuhan mikroorganisme pada fase eksponensial atau fase pertumbuhan dipercepat kondisi inilah yang memungkinkan mikroorganisme dapat tumbuh dengan kebutuhan nutrisi yang mencukupi dan kebutuhan lingkungan yang sesuai pada pH sekitar 2-3. Pengaruh modifikasi gliserol terhadap konsentrasi asam itakonat sangat terlihat nyata, apabila gliserol tidak dimodifikasi dengan glukosa tetap bisa digunakan sebagai substrat untuk menghasilkan asam itakonat tetapi konsentrasi rendah dan hasilnya masih sedikit karena perlu pemurnian yang lama. Hasil asam itakonat untuk berbagai modifikasi substrat dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Jumlah Asam Itakonat yang dihasilkan

waktu fermentasi (hari)	Volume hasil Asam Itakonat (ml)			Jumlah Asam Itakonat yang dihasilkan (g)		
	Gliserol	Gliserol+	Gliserol +	Gliserol	Gliserol+	Gliserol +
		Glukosa 150g/L	Glukosa 250g/L		Glukosa 150g/L	Glukosa 250g/L
0	0	0	0	0,00	0,00	0,00
3	356	485	390	0,91	17,34	9,89
6	350	520	410	1,76	23,70	15,34
9	365	578	426	3,60	42,00	22,30
12	370	542	412	3,71	40,77	20,92
15	365	530	398	3,69	40,11	19,46

Dari tabel 2 dapat dilihat hasil itakonat yang terbanyak dapat dihasilkan pada substrat gliserol glukosa 150g/L sebanyak 42 g dalam waktu fermentasi 9 hari. hasil asam itakonat ini tidak membutuhkan proses pemurnian yang terlalu lama sehingga hasil volume asam itakonat yang dihasilkan pun semakin banyak. Pemanfaatan gliserol sebagai hasil samping biodiesel dapat digunakan sebagai substrat untuk pembuatan asam itakonat dengan media biakan *aspergillus tereus* dengan proses fermentasi yang lebih lama dan memerlukan proses pemurnian juga yang lebih lama serta menghasilkan asam itakonat yang lebih sedikit sehingga membutuhkan bahan baku gliserol yang lebih banyak untuk hasil yang lebih optimal.

### Kesimpulan

Gliserol dapat dijadikan substrat pada pembuatan asam itakonat dengan nutrisi yang lebih baik dengan cara modifikasi gliserol dengan glukosa 150g/L. Semakin lama waktu fermentasi semakin tinggi konsentrasi asam itakonat yang dihasilkan sekitar 75,67 g/L, sedangkan modifikasi gliserol glukosa yang dapat menghasilkan asam itakonat yang lebih besar dengan kadar glukosa lebih besar dari 150g/L dan lebih kecil dari 250g/L.

### Ucapan Terima Kasih

Terima kasih Kepada Kemenristek Dikti yang telah memberikan Pendanaan Penelitian Strategis Nasional 2016-2018 dan kepada P3M Politeknik Negeri Samarinda yang telah banyak membantu terkait Pelayanan Administrasi dan informasi terkait Penelitian dan Pengabdian Masyarakat.

### Referensi

- [1]. Kementerian Energi dan Sumber Daya Mineral, 2013. Program Percepatan Pemanfaatan Bahan Bakar Nabati. <http://www.esdm.go.id/siaran-pers/55-siaran-pers/6424-program-percepatan-pemanfaatan-bahan-bakar-nabati.html>, diakses pada 29 Februari 2016



- [2]. Dasari MA, Kiatsimkul P, Sutterlin WR, Suppes GJ. Low-pressure Hydrogenolysis of Glycerol to Propylene Glycol. *Applied Catalyst A*.2005. 281:225-231.
- [3] Suleman, Nita. Pemanfaatan Limbah Pemurnian Gliserol Hasil Samping Produksi Biodiesel Untuk Pembuatan Pupuk Potasium. Gorontalo. Universitas Negeri Gorontalo.2012.
- [4] Azis, Isalmi., et al. 2008. *Pemurnian Gliserol Dari Hasil Samping Pembuatan Biodiesel Menggunakan Bahan Baku Minyak Goreng Bekas*. Jakarta : Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Syarif Hidayatullah.
- [4]. Wilke, Th. Biotechnical Production of Itaconic Acid. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2002.
- [5]. Bentley, R., and C. P. Thiessen. Biosynthesis of itaconic acid in *Aspergillus terreus*. III. The properties and reaction mechanism of cis-aconitic acid decarboxylase. *J. Biol. Chem*. 1957. 226:703–720.
- [6] Farobie O. Pemanfaatan Gliserol Hasil Samping Produksi Biodiesel Jarak Pagar sebagai Bahan Penolong Penghancur Semen. [Tesis]. Bogor : Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.2006.
- [7] Asad-ur-Rehman, Saman WRG, Nomura N, Sato S, Matsumura M. Pre-treatment and utilization of raw glycerol from sunflower oil biodiesel for growth and 1, 3-propanediol production by *Clostridium butyricum*. *J Chem Technol biotechnol*. 2008;83:1072–1080.
- [8] M. I. Juy, J.A. Orejas, M.E. Lucca. Study of itaconic acid production by *Aspergillus terreus* MJL05 strain with Different Variable. 2010.
- [9]. EL-Imam ama, Kazeem Mo, Odebisi MB, Mushaffa AO, Abidoye AO. Production Of itaconic acid from *Jatropha Curcas* seed cake by *aspergillus terreus*. *Not Sci Biol*.2013;5(1):57
- [10] Choirunnisa Lely. Pengaruh Konsentrasi Strarter dan Lama Fermentasi Terhadap Karakteristik Fruith Ghurt Kulit Buah Naga, Skripsi UIN Maulana malik Ibrahim, 2017
- [11]. Jarry, A., Seraudie, Y. Production of itaconic acid by fermentation. US Pat. N°. 1995. 5.457.040.
- [12] Henke, M.O., G.S. De Hoog, U. Gross, G.Zimmermann, D. Kraemer, and M. Weig. 2002. Human deep tissue infection with an entomopathogenic *Beauveria* species. *J. Clinical Microbiology* 40: 2698-2702.



Pemakalah :  
Marlinda  
13.36-13.49 WIB

Pertanyaan : Gliserolnya berapa banyak? (Aldy)	Jawaban : Kadarnya 36%, perbandingannya 3:2.
--	---

