



Smart Genetic engineering strategies for sustainable polyhydroxybutyrate (PHB) production from carbon-rich oil palm wastes

Oleh:

- Ganies Riza Aristya, S.Si., M.Sc., Ph.D.
- Muhammad Fauzi Arif, S.Si., M.Sc.
- Lucia Arum Sekar Meysari
- Azizah Tyas Nugrahanty
- Bagas Alfian Dwiaryanda

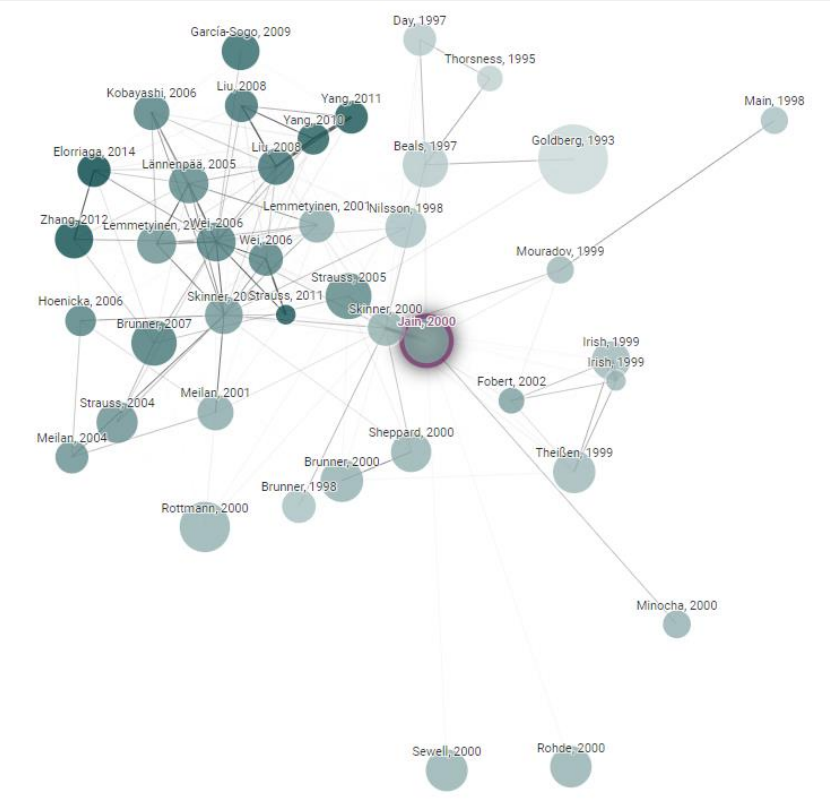


TUJUAN PROJECT

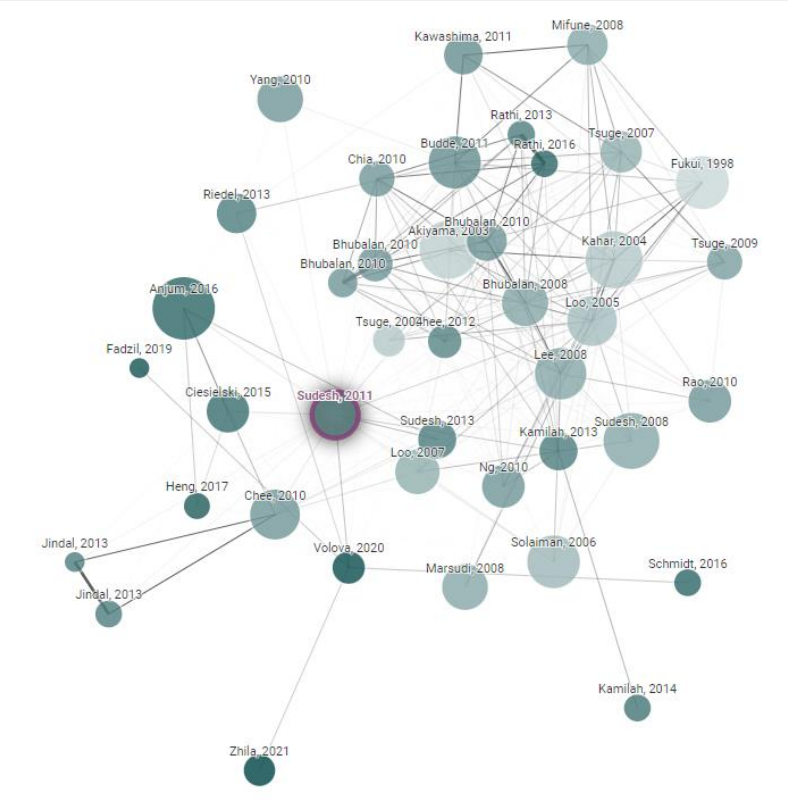


1. Comprehensive analyses of Genetic Engineering technology for microbial PHB synthesis from cheap carbon resources
2. Analyses on recent advances in engineering strategies for PHB production and their feasibility in carbon-rich wastes valorization especially from oil palm waste
3. Demonstrate the broad applicability of Genetic Engineering technology focus on performances of engineered PHB-producing strains in advanced fermentation strategies and co-production systems.

JUSTIFIKASI RISET/PROJECT



Penelitian Molecular Genetic di tanaman sawit yang telah diterapkan mulai dari tahun 1993 sampai sekarang



Penelitian sintesis polyhydroxybutyrate sebagai biopolimer biodegradable plastic dari tanaman sawit telah diterapkan mulai dari tahun 1998 sampai sekarang

Table 3

Comparison of PHB production from engineered yeast.

Engineered yeast	Carbon sources	Growth conditions	PHB conc. (g/L)	PHB yield/carbon sources (mg/g)	PHB content of biomass (%) ^a	References
<i>S. cerevisiae</i> strain C13ABYS86	Glucose	Flask	–	–	6.7	(Breuer et al., 2002)
<i>Arxula adeninivorans</i> strain G1211	Galactose	Flask	–	–	0.107	(Terentiev et al., 2004)
<i>Arxula adeninivorans</i> strain RKS	Glucose	Bioreactor		13.5	7.5	(Carlson and Srienc, 2006)
<i>S. cerevisiae</i> strain KY1	Galactose					(Abd-El-Haleem et al., 2007b)
<i>S. cerevisiae</i> strain SCKK006	Glucose	Flask	–	–	7.06	(Kocharin et al., 2012)
<i>S. cerevisiae</i> strain SCKK006	Ethanol	Bioreactor	–	0.13	–	
<i>S. cerevisiae</i> strain SCKK033	Glucose	Flask	0.09	6.09	–	
<i>S. cerevisiae</i> strain SCKK006	Ethanol		–	0.27	–	(Kocharin et al., 2013)
<i>S. cerevisiae</i> strain SCKK006	Glucose	Bioreactor	–	16.11	–	
<i>S. cerevisiae</i> strain SCKK006	Ethanol		–	5.59	–	(Kocharin and Nielsen, 2013)
<i>S. cerevisiae</i> strain SCKK006	Glucose:Ethanol		–	16.55	–	
<i>S. cerevisiae</i> strain TMB 4443	Xylose	Flask	0.045	18.34	1.04	(Sandström et al., 2015)
<i>S. cerevisiae</i> strain TMB 4443		Bioreactor	0.101	1.17	0.49	(Sandström et al., 2015)
<i>R. glutinis</i> strain #100–29	Glucose, 30 g/L	Flask	0.52	1.99	11.4	This study
<i>R. glutinis</i> strain #100–29	Glucose, 40 g/L		0.3	17.3	6.56	
<i>R. glutinis</i> strain #100–29	Glucose, 50 g/L		0.14	6.73	3.07	
<i>R. glutinis</i> strain #100–29	Galactose, 30 g/L		0.23	2.33	5.59	
<i>R. glutinis</i> strain #100–29	Crude glycerol, 30 g/L		0.13	8.52	4.42	
<i>R. glutinis</i> strain #100–29	Waste cooking oil, 30 g/L		0.002	4.38	1.11	
<i>R. glutinis</i> strain #100–29	Glucose, 30 g/L	Bioreactor	1.3	0.54	28.87	
<i>R. glutinis</i> strain #100–29	Crude glycerol, 30 g/L		2.87	43.35	62	

^a Based on the initial carbon sources introduced in the medium. The boldtypes show the higher value of PHB productivity from this study.

Hasil - hasil Riset sebelumnya yang dilakukan menunjukkan bahwa PHB diproduksi paling optimal dari proses rekayasa genetika di dalam Yeast engineered menggunakan media limbah industri dan pada penelitian ini akan kami optimalkan pada limbah alami dan libah hasil produksi kelapa sawit.

BIG PICTURE RISET/PROJECT

Roadmap Penelitian

Penelitian yang telah dilakukan:

- 1.Desain peta plasmid untuk tiga jalur ekspresi PHB di *E.coli*
- 2.Skrining dan fermentasi bakteri dengan kombinasi PHB syntetic genes menggunakan Lac-promoter di shaker glass dan bioreaktor



Prototype produk sudah dapat diimplementasikan di akhir tahun 2024

Produk sudah dapat diimplementasikan di big bioreactor dan industri di akhir tahun 2025

2023

- Inovasi Polimer Biodegradable Plastik Berdasarkan Tranformasi Genetik dari *Microbial Cell Factory* (yeast)
- Redesain plasmid vektor untuk penyisipan 3 *syntetic genes*
- Transformasi PHB genes in genom yeast dengan *new strong promoter*
- **Novelty:** menggunakan aplikasi bioinformatika dengan penguatan data transformasi genetik pada organisme eukaryotic dan aplikasi biologi molekuler

2024

- Aplikasi genom editing pada rekombinan yeast
- Aplikasi limbah kelapa sawit sebagai sumber carbon fermentasi rekombinan yeast
- Aplikasi kombinasi fermentasi rekombinasi yeast untuk produksi dan peningkatan lipid
- **Novelty:** menggunakan kombinasi sumber karbon dari sampah kelapa sawit yang akan menambah produksi biomasa dan PHB content

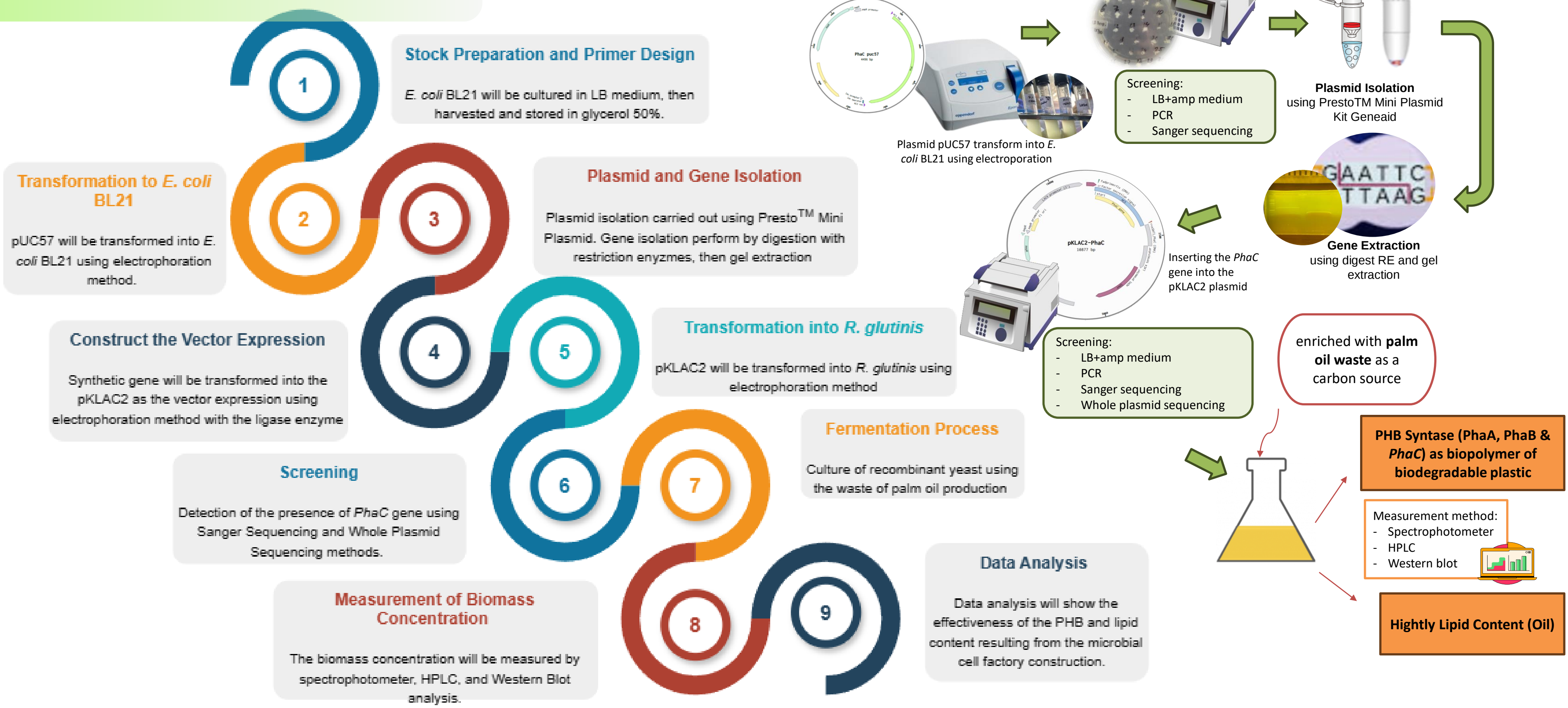
2025

- Aplikasi Perbanyak PHB dengan menggandeng industri
- Produksi biomasa dan PHB content yang tinggi untuk diproduksi di industri
- Produksi lipid dari sumber yeast engineered hasil fermentasi menggunakan limbah kelapa sawit
- **Novelty:** menggunakan pendekatan aplikasi NGS dan *advance molecular technology*

PHB SEBAGAI BIOPOLIMER UNTUK PRODUKSI BIODEGRADABLE PLASTIK DARI MEDIA LIMBAH KELAPA SAWIT

- Mendapatkan strain rekombinan yeast yang baru dan unggul penghasil PHB sebagai biopolimer pembuat *biodegradable plastic* dari media limbah kelapa sawit
- Mengatasi limbah sampah plastik dengan biodegradable plastik yang aman dan ramah lingkungan

GANTT CHART PELAKSANAAN



RAB RISET/PROJECT (BIAYA, MPP, ALAT DAN BAHAN)

1. Gaji/upah				
No	Uraian	Volume	Satuan	Jumlah (Volume x Satuan)
Gaji/Upah				
1	Peneliti Utam	1	5.500.000	5.500.000
2	Peneliti Madya	2	4.500.000	9.000.000
3	Teknisi	4	2.000.000	8.000.000
4	Enumerator	2	1.500.000	3.000.000
5	Surveyor	2	1.500.000	3.000.000
6	Bendahara	1	1.250.000	1.250.000
7	Tukang panen	4	1.000.000	4.000.000
8	Tukang kebersihan	2	750.000	1.500.000
Honorarium				
Sub Total				35.250.000

3. Biaya perjalanan, seminar (termasuk honor narasumber), dan publikasi					
No	Uraian	Lokasi/Tempat /Tujuan	Volume	Satuan	Jumlah (Volume x Satuan)
1	Koordinasi penelitian	Yogyakarta - Samarinda - Makassar	2	5.000.000	10.000.000
2	Lumpsum	Yogyakarta - Samarinda - Makassar	2	2.500.000	5.000.000
5	Publikasi jurnal Q2	Bioresourches Technology	1	25.000.000	25.000.000
6	Publikasi jurnal Nasional Sinta 2	Biogenesis	1	3.000.000	3.000.000
Sub Total					43.000.000
1	Management fee	UGM & Unlam	1	10.000.000	10.000.000
GRAND TOTAL					300.000.000

2. Biaya pembelian bahan dan/atau peralatan produksi termasuk sewa laboratorium dan uji pasar					
No	Uraian	Spesifikasi	Volume	Satuan	Jumlah (Volume x Satuan)
1	Kebun Percobaan	Lahan	1	3.000.000	3.000.000
2	Pengaturan perairanan	Unit	1	5.000.000	5.000.000
3	PCR	Unit	1	3.000.000	3.000.000
4	Real Time PCR	Unit	1	4.000.000	4.000.000
5	Elektroforesis	Unit	2	2.000.000	4.000.000
6	LAR	Unit	1	4.000.000	4.000.000
7	Bioreaktor	Unit	3	1.500.000	4.500.000
8	Sewa jasa dan pelayanan laboratorium	Unit	1	5.000.000	5.000.000
9	Operasional mikrosentrifugasi	Unit	1	1.000.000	1.000.000
10	Operasional nanodrop	Unit	1	3.000.000	3.000.000
11	Pemeliharaan Qubit	Unit	1	2.500.000	2.500.000
12	Sewa Mesin Inkubator	Unit	2	1.500.000	3.000.000
13	Sewa Mesin pemecah biji sawit	Unit	1	5.000.000	5.000.000
14	Electrophoration	Unit	2	6.000.000	12.000.000
15	Kit preparasi palsmid dan bakteri	Unit	2	5.000.000	10.000.000
16	Kit isolasi DNA	Unit	2	3.000.000	6.000.000
17	Kit analisis preparasi anatomis	Unit	2	2.000.000	4.000.000
18	Kit analisis preparasi morfologi	Unit	2	2.000.000	4.000.000
19	Kit analisis taksonomis	Unit	1	3.000.000	3.000.000
20	Kit PCR (KAPA 2G Robust HotStart ReadyMix 500x25µL)	Unit	2	2.000.000	4.000.000
21	Primer CO1	Unit	5	500.000	2.500.000
22	Primer RBCL	Unit	10	400.000	4.000.000
23	Primer UPA	Unit	10	400.000	4.000.000
24	Primer RFLP	Unit	10	500.000	5.000.000
25	Primer spesifik	Unit	2	2.500.000	5.000.000
26	Enzim	Unit	3	2.000.000	6.000.000
27	White tip	Unit	7	800.000	5.600.000
28	Yellow tip	Unit	10	500.000	5.000.000
29	Blue tip	Unit	10	750.000	7.500.000
30	Gloves	Unit	20	100.000	2.000.000
31	Masker	Unit	5	800.000	4.000.000
32	Kloroform	Unit	2	900.000	1.800.000
33	Isopropanol	Unit	3	1.000.000	3.000.000
34	TE Buffer 50 mL EACH	Unit	5	800.000	4.000.000
35	Loading dye	Unit	2	2.000.000	4.000.000
36	Fluorosafe (ml)	Unit	2	3.000.000	6.000.000
37	Agarose (100gr)	Unit	2	5.000.000	10.000.000

38	Amplop	Unit	10	10.000	100.000
39	Label	Unit	10	50.000	500.000
40	Tissue	Unit	10	50.000	500.000
41	Alumunium foil	Unit	12	50.000	600.000
42	Konsumsi rapat persiapan	Unit	25	50.000	1.250.000
43	Konsumsi rapat evaluasi	Unit	25	50.000	1.250.000
44	Konsumsi rapat laporan kemanjuan	Unit	25	50.000	1.250.000
45	Konsumsi rapat laporan akhir	Unit	50	50.000	2.500.000
46	Fotokopi dan jilid	Unit	250	5.000	1.250.000
47	Dokumentasi	Unit	5	350.000	1.750.000
48	Flash disk	Unit	5	200.000	1.000.000
49	Kertas HVS	Unit	5	50.000	250.000
50	Kertas Buram	Unit	10	50.000	500.000
51	Bolpoint	Unit	10	50.000	500.000
52	Map/Folder	Unit	5	50.000	250.000
53	Tinta printer	Unit	10	10.000	100.000
54	Label	Unit	20	40.000	800.000
55	Spidol marker (fine)	Unit	10	40.000	400.000
56	Buku Penelitian (log book)	Unit	10	50.000	500.000
57	Buku Kendali	Unit	4	300.000	1.200.000
58	Surat menyurat dan pengiriman laporan	Unit	10	30.000	300.000
59	Tip ex	Unit	1	50.000	50.000
60	Penghapus dan penggaris	Unit	2	25.000	50.000
61	Greenhouse pemurnian benih	Unit	1	4.500.000	4.500.000
62	Analisis keragaman morfologi dan anatomi galur	Unit	30	200.000	6.000.000
63	Analisis sequence	Unit	3	5.000.000	15.000.000
Sub Total				211.750.000	

DAMPAK RISET/PROJECT

Dampak Finansial:

1. **Efisiensi Biaya Produksi:** Penggunaan limbah kelapa sawit sebagai bahan baku dapat mengurangi biaya produksi secara signifikan dibandingkan dengan menggunakan bahan baku lain yang harus dibeli. Limbah kelapa sawit tersedia secara lokal dan dapat diperoleh dengan biaya yang lebih rendah.
2. **Peningkatan Profitabilitas:** Dengan menurunkan biaya produksi, perusahaan dapat meningkatkan margin keuntungan. Hal ini mampu menghasilkan pertumbuhan finansial yang signifikan dalam jangka panjang.
3. **Nilai Tambah Produk:** PHB yang dihasilkan dari limbah kelapa sawit dapat memiliki nilai tambah yang lebih tinggi di pasar karena sifatnya yang ramah lingkungan dan sumbernya yang berkelanjutan. Ini dapat memungkinkan harga jual yang lebih tinggi, meningkatkan pendapatan dan profitabilitas perusahaan.

Dampak Non-Finansial:

1. **Pengurangan Limbah:** Penggunaan limbah kelapa sawit untuk produksi PHB mengurangi jumlah limbah yang dibuang ke lingkungan, yang dapat mengurangi dampak negatif terhadap ekosistem lokal dan kesehatan masyarakat sekitar pabrik kelapa sawit.
2. **Peningkatan Keberlanjutan:** Menggunakan limbah kelapa sawit untuk produksi PHB mendukung prinsip-prinsip keberlanjutan dengan memanfaatkan sumber daya yang ada secara lebih efisien dan mengurangi ketergantungan pada bahan baku baru.
3. **Pengembangan Teknologi Hijau:** Penelitian dalam rekayasa genetika untuk produksi PHB juga dapat mendorong pengembangan teknologi hijau yang dapat diterapkan di industri lain, mengarah pada inovasi dan keberlanjutan di sektor industri yang lebih luas.
4. **Pengurangan Emisi Karbon:** Dengan mengurangi penggunaan bahan bakar fosil dan limbah organik, produksi PHB dari limbah kelapa sawit dapat membantu mengurangi emisi karbon, mendukung tujuan global untuk mengatasi perubahan iklim.



Bumitama Gunajaya Agro

**THANK
YOU**

—