



MENGESAHKAN  
Salinan fotocopy sesuai dengan aslinya  
Surabaya,

UNIVERSITAS SURABAYA  
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI  
Dekan,

Dr. rer. nat. Maria Goretti M. Purwanto

## LAPORAN PENELITIAN MADYA

Mutasi *Enterobacter ludwigii* untuk Produksi Biohidrogen melalui  
Penghambatan Jalur Pembentukan Asam

Oleh:

**Yusnita Liasari, S.TP., M.TP.**  
**Dr. Dra. Mariana Wahjudi, M.Si.**

FAKULTAS Teknobiologi  
UNIVERSITAS SURABAYA

Mei, 2014

## HALAMAN PENGESAHAN LAPORAN PENELITIAN MADYA

1. a. Judul Penelitian : Mutasi *Enterobacter luteolus* untuk Produksi Biohidrogen melalui Penghambatan Jalur Pembentukan Asam
- b. Bidang Ilmu : MIPA/Biologi
2. Ketua Peneliti
  - a. Nama Lengkap dan Gelar : Yusnita Liasari, S.TP., M.P
  - b. Jenis Kelamin : Perempuan
  - c. Golongan/Pangkat dan NPK : Asisten Ahli 150 (209020)
  - d. Jabatan Fungsional : Dosen dan Peneliti
  - e. Fakultas/Jurusan : Teknobiologi
  - f. Pusat Penelitian : Lab. Bioteknologi Mikroorganisme dan Lab Purifikasi dan Biologi Molekuler
3. Jumlah Anggota Peneliti : 1 orang
  - a. Nama Anggota Peneliti 1 : Dr. Dra. Mariana Wahjudi, M.Si.
4. Lokasi Penelitian : Fakultas Teknobiologi, Ubaya
5. Kerjasama dengan Institusi Lain : -
  - a. Nama Institusi : -
  - b. Alamat Institusi : -
  - c. Telp/Faksimil : -
  - d. E-mail : -
6. Lama Penelitian : 12 bulan
7. Biaya yang Diperlukan : Rp. 12.500.000,-  
(dua belas juta lima ratus ribu rupiah)

Surabaya, 1 Juni 2014



(Mama Goreti M. Purwanto)

Ketua Peneliti,

(Yusnita Liasari, S.TP., M.P)  
NPK. 190023

Menyetujui,  
Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Ubaya



(Dr. Ynan Nursari Simanjuntak, S.H., M.Hum.)  
NPK : 196008

## DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN .....	ii
DAFTAR ISI .....	iii
DAFTAR GAMBAR .....	iv
DAFTAR TABEL .....	iv
ABSTRAK DAN KATA KUNCI .....	v
BAB I. PENDAHULUAN .....	1
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA .....	9
BAB III. TUJUAN PENELITIAN .....	9
BAB IV. METODE PENELITIAN .....	10
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN .....	14
BAB VI. SIMPULAN DAN SARAN .....	28
DAFTAR PUSTAKA .....	29

## DAFTAR GAMBAR

### Gambar

4.1	Skema Kerja Penelitian.	13
5.1	Koloni Transkonyugan Variasi A8 (A), B8 (B), A24 (C), dan B24 (D) pada Media LB Agar kanamisin	14
5.2	Hasil Uji Mutan No. 31-60 (Kotak 1-30) Variasi B24 pada Media PRDA (A) dan SCA-kanamisin 100 µg/ml (B).	15
5.3	Hasil Uji Mutan No. 36 dan 37 Campuran B24 (B24-36 dan B24-37) pada Media PRDB.	16
5.4	Kurva Absorbansi Mutan-Mutan Variasi A8 yang Mengalami Penurunan Produktivitas Asam Organik	17
5.5	Kurva Absorbansi Mutan-Mutan Variasi B8 yang Mengalami Penurunan Produktivitas Asam Organik	18
5.6	Kurva Absorbansi Mutan-Mutan Variasi A24 yang Mengalami Penurunan Produktivitas Asam Organik	18
5.7	Kurva Absorbansi Mutan-Mutan Variasi B24 yang Mengalami Penurunan Produktivitas Asam Organik	19
5.8	Perbandingan Produktivitas Biohidrogen Mutan Uji A24	20
5.9	Perbandingan Produktivitas Biohidrogen Mutan Uji B24	21

## DAFTAR TABEL

### Tabel

5.1	Hasil Uji Produksi Asam dan Uji Penggunaan Sitrat oleh Berbagai Variasi Mutan	15
5.2	Data Hasil Uji Produksi Asam Organik dan Gas oleh Berbagai Variasi Mutan	16
5.3	Data Hasil Kuantifikasi Produksi Asam Organik oleh Berbagai Variasi Mutan	17

## **Mutasi *Enterobacter ludwigii* untuk Produksi Biohidrogen melalui Penghambatan Jalur Pembentukan Asam**

Yusnita Liasari, S.TP., M.P.  
Dr. Dra. Mariana Wahjudi, M.Si.

### **ABSTRAK**

Pemakaian minyak bumi di Indonesia meningkat tiap tahun tetapi peningkatan kebutuhan energi ini tidak sebanding dengan cadangan energi yang tersedia. Menipisnya cadangan minyak bumi dan isu pemanasan global telah meningkatkan minat pengembangan sumber energi alternatif terbarukan yang lebih ramah lingkungan, seperti etanol dan hidrogen. Biohidrogen, H<sub>2</sub>, dapat diproduksi oleh berbagai bakteri anaerobik obligatif dan anaerobik fakultatif, seperti *Enterobacter*, dari sumber karbon gula sederhana berupa glukosa, sukrosa dan hanya sebagian kecil dapat memanfaatkan hidrolisat pati dan selulosa. Dalam rangka meningkatkan produksi H<sub>2</sub> secara optimal, pada penelitian ini, akan dilakukan upaya peningkatan kualitas produksi H<sub>2</sub> oleh *Enterobacter ludwigii*, strain lokal koleksi bakteri Fakultas Teknobiologi, Ubaya, hasil isolasi di Surabaya. *Strain improvement* akan dilakukan secara mutasi random dengan transposon dari plasmid pUTmini-Tn5-luxCDABE-Tc. Urutan DNA transposon pada plasmid ini akan menyisip pada genom secara acak. Proses skrining dilakukan berdasarkan kemampuan menghasilkan asam oleh koloni mutant pada media kompleks berisi indikator pH bromokresol ungu. Penentuan posisi penyisipan dapat ditentukan secara amplifikasi dengan *teknik polymerase chain reaction* (PCR) dan sekuensing urutan DNA hasil amplifikasi. Diharapkan diperoleh mutant-mutant transposon yang tersisipi gen-gen pada jalur metabolisme pembentukan asam dan jalur beralih ke pembentukan H<sub>2</sub> secara optimal.

Penelitian ini bertujuan untuk (1) menghasilkan mutant *Enterobacter ludwigii* yang memiliki kemampuan menghasilkan H<sub>2</sub> yang lebih tinggi dari tipe aslinya.

**Kata kunci:** mutan transposon, *Enterobacter ludwigii* strain local, biogas