

## PENGARUH *ADAPTIVE LABORATORY EVOLUTION* (ALE) TERHADAP TINGKAT TOLERANSI DAN FIKSASI CO<sub>2</sub> PADA *Euglena* sp. SERTA PROFIL EKSPRESI GEN YANG TERLIBAT DALAM JALUR FIKSASI KARBON

### INTISARI

Dalam beberapa dekade terakhir, aplikasi teknologi *Carbon Capture and Utilization* (CCU) semakin banyak dikembangkan sebagai upaya mereduksi emisi CO<sub>2</sub> yang dihasilkan oleh kegiatan industri skala besar. Melalui proses fotosintesis, mikroalga dinilai memiliki kelebihan sebagai agen karbon mitigasi yang berkelanjutan. Namun dalam aplikasinya, mikroalga masih memiliki kendala yaitu pertumbuhannya yang cenderung terhambat ketika dikultivasikan dalam konsentrasi CO<sub>2</sub> yang tinggi. Pada penelitian ini digunakan *Euglena* sp. strain lokal yang diisolasi dari lahan gambut di daerah Dieng, Indonesia. *Euglena* sp. strain lokal ini memiliki kemampuan tumbuh yang baik pada konsentrasi 15% CO<sub>2</sub>, sehingga penelitian ini bertujuan untuk meningkatkan kemampuan toleransi dan fiksasi CO<sub>2</sub> *Euglena* sp. strain lokal dengan menggunakan metode *Adaptive Laboratory Evolution* (ALE) terhadap konsentrasi CO<sub>2</sub> yang tinggi, serta mengetahui profil ekspresi gen *carbonic anhydrase* (CA) dan Rubisco yang terlibat dalam jalur fiksasi karbon. Kultivasi metode ALE dilakukan secara bersambung hingga sepuluh siklus yang dimulai dari konsentrasi 30% CO<sub>2</sub> kemudian dilanjutkan ke konsentrasi 60% CO<sub>2</sub>. Parameter seperti laju pertumbuhan spesifik, kurva pertumbuhan, berat kering biomassa, kandungan klorofil a dan b, serta level ekspresi gen CA dan Rubisco diukur pada siklus terakhir di masing-masing konsentrasi CO<sub>2</sub>. Kultivasi secara non ALE juga dilakukan pada penelitian ini yang digunakan sebagai pembanding dan mengetahui apakah perlakuan ALE mampu memberikan pengaruh yang berbeda pada parameter yang diamati. Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah sel *Euglena* sp. pada perlakuan ALE cenderung lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan non ALE. Selain itu, biomassa meningkat secara signifikan ketika dilakukan perlakuan ALE pada kultivasi *Euglena* sp. pada masing-masing konsentrasi CO<sub>2</sub>. Pada perlakuan ALE, biomassa tertinggi dicapai oleh konsentrasi 30% CO<sub>2</sub> sebesar 0.665±0.106 g/L. Perlakuan ALE juga berpengaruh terhadap peningkatan laju pertumbuhan spesifik dan kandungan klorofil a dan b. Pada studi ekspresi gen, perlakuan ALE dan non ALE menunjukkan adanya perbedaan profil level ekspresi gen CA dan Rubisco. Studi penelitian ini mengindikasikan bahwa kultivasi *Euglena* sp. strain lokal dengan metode ALE mampu meningkatkan kemampuan toleransi dan fiksasi terhadap konsentrasi CO<sub>2</sub> yang tinggi.

**Kata kunci:** *Euglena* sp., Adaptasi, CO<sub>2</sub>, CA, Rubisco

## THE EFFECT OF ADAPTIVE LABORATORY EVOLUTION (ALE) ON TOLERANCE AND CO<sub>2</sub> FIXATION LEVELS IN *Euglena* sp. AND THE EXPRESSION PROFILE OF THE GENES INVOLVED IN THE CARBON FIXATION PATHWAY

### ABSTRACT

In recent decades, applications of Carbon Capture and Utilization (CCU) technology have been increasingly developed as an effort to reduce CO<sub>2</sub> emissions generated by large-scale industrial activities. Through the process of photosynthesis, microalgae have been assessed as having advantages as sustainable carbon mitigation agents. However, in their application, microals still have a barrier that tends to inhibit their growth when cultivated in high CO<sub>2</sub> concentrations. In this study used *Euglena* sp. local strain that was isolated from cotton soil in the Dieng region, Indonesia. This local strain of *Euglena* sp. has a good growth capacity at a concentration of 15% CO<sub>2</sub>, so this study aims to improve the tolerance and fixation of local CO<sub>2</sub> strains by using the Adaptive Laboratory Evolution (ALE) method against high CO<sub>2</sub> concentrations, as well as to identify the carbonic anhydrase (CA) and Rubisco gene expression profiles involved in the carbon fixation pathway. Parameters such as specific growth rate, growth curve, biomass dry weight, chlorophyll content a and b, as well as levels of CA and Rubsico gene expression were measured at the last cycle at each CO<sub>2</sub> concentration. Non-ALE cultivation was also carried out in this study which was used as a comparison and to find out whether the treatment of ALE was able to give a different influence on the observed parameters. The results show that the number of *Euglena* sp. cells in the ALE treatment tends to be higher than in the non-ALE treatment. Furthermore, the biomass increases significantly when the ALE treatment is carried out in the cultivation of E. sp. at each CO<sub>2</sub> concentration. In the treatment of ALE, the highest biomass is achieved by the concentration of 30% CO<sub>2</sub> of  $0.665 \pm 0.106$  g/L. The ALE treatments also influence the increase in the specific growth rate and chlorophyll content a and b. In gene expression studies, the treatments ALE and non ALE show differences in the level profile of the expression of the CA and Rubisco genes. The study indicates that cultivating the local *Euglena* sp. strain with the method ALE can improve tolerance and fixation capabilities to high CO<sub>2</sub> levels.

**Keyword:** *Euglena* sp., Adaptation, CO<sub>2</sub>, CA, Rubsico