

## REKAYASA GENETIK *Rhodotorula toruloides* InaCC Y908 MELALUI INTEGRASI GEN *PhaA*, *PhaB*, DAN *PhaC* UNTUK PRODUKSI BIOPLASTIK

Azizah Tyas Nugrahanty  
23/531111/PBI/02010

Dosen Pembimbing:  
Ganies Riza Aristya, S.Si., M.Sc., Ph.D.  
Prof. Dr. Budi Setiadi Daryono, M.Agr.Sc.

### INTISARI

Plastik *biodegradable* merupakan salah satu alternatif plastik ramah lingkungan yang berguna dalam mengurangi ketergantungan terhadap penggunaan plastik konvensional. Penelitian ini bertujuan untuk menghasilkan *polyhydroxybutyrate* (PHB) melalui rekayasa genetik pada *Rhodotorula toruloides* dengan mengintegrasikan gen pengkode *PhaA*, *PhaB*, dan *PhaC* menggunakan plasmid pKLAC2. Konfirmasi transformasi dilakukan melalui koloni PCR dan sekuensing Sanger, yang menunjukkan pita DNA pada ukuran yang sesuai, terhadap gen *PhaA* (500 bp), *PhaB* (760 bp), dan *PhaC* (1770 bp). Analisis ekspresi gen melalui RT-qPCR memperlihatkan bahwa *strain* rekombinan *R. toruloides* memiliki tingkat ekspresi lebih tinggi dibandingkan *strain wild type*. Fermentasi dilakukan dengan variasi sumber karbon berupa glukosa, xilosa, dan fruktosa pada beberapa konsentrasi. Hasil menunjukkan bahwa konsentrasi sumber karbon tertinggi pada masing-masing perlakuan menghasilkan akumulasi PHB terbesar. Glukosa memberikan hasil PHB tertinggi dibandingkan xilosa dan fruktosa, dengan nilai % PHB biomass mencapai 61%. Analisis FTIR terhadap ekstrak PHB memperlihatkan puncak serapan karakteristik pada  $1728\text{ cm}^{-1}$  (regangan C=O) dan  $1050\text{-}1300\text{ cm}^{-1}$  (regangan C-O), yang mengonfirmasi keberadaan PHB. Penelitian ini membuktikan potensi *R. toruloides* rekombinan sebagai *host* produksi PHB yang efisien dengan memanfaatkan substrat karbon yang bervariasi, serta mendukung pengembangan bioplastik ramah lingkungan melalui pendekatan bioteknologi.

Kata kunci: *Polyhydroxybutyrate*, rekayasa genetik, *R. toruloides*, transformasi

## **GENETIC ENGINEERING OF *Rhodotorula toruloides* InaCC Y908 THROUGH INTEGRATION OF *PhaA*, *PhaB*, AND *PhaC* GENES FOR BIOPLASTIC PRODUCTION**

Azizah Tyas Nugrahanty  
23/531111/PBI/02010

Supervisor:

Ganies Riza Aristya, S.Si., M.Sc., Ph.D.  
Prof. Dr. Budi Setiadi Daryono, M.Agr.Sc.

### **ABSTRACT**

Biodegradable plastics are an eco-friendly alternative to reduce reliance on conventional plastic. This study aims to produce polyhydroxybutyrate (PHB) through genetic engineering in *Rhodotorula toruloides* by integrating the *PhaA*, *PhaB*, and *PhaC* coding genes using the pKLAC2 plasmid. Transformation confirmation was performed via colony PCR and Sanger sequencing, which revealed DNA bands of the expected sizes for *PhaA* (500 bp), *PhaB* (760 bp), and *PhaC* (1770 bp). Gene expression analysis via qPCR showed that the recombinant *R. toruloides* had higher expression levels compared to the wild-type strain. Fermentation was performed with varying carbon sources, including glucose, xylose, and fructose at several concentrations. The results showed that the highest carbon source concentration in each treatment produced the greatest PHB accumulation. Glucose produce the highest PHB yield compared to xylose and fructose, with a % PHB biomass value reaching 61%. FTIR analysis of PHB extracts showed characteristic absorption peaks at 1728 cm<sup>-1</sup> (C=O stretching) and 1050-1300 cm<sup>-1</sup> (C–O stretching), confirming the presence of PHB. This study demonstrates the potential of recombinant *R. toruloides* as an efficient PHB-producing strain capable of utilizing diverse carbon substrates, thereby supporting the development of environmentally friendly bioplastics through a biotechnological approach.

**Keywords:** Genetic engineering, polyhydroxybutyrate, *R. toruloides*, transformation