



Transformasi Plasmid Rekombinan Pembawa Gen *DGA1* *Rhodotorula toruloides* InaCC Y908

Dwi Ayu Kurniasih

22/496918/BI/11003

Dosen Pembimbing: Ganies Riza Aristya, S.Si., M.Sc., Ph.D.

INTISARI

Peningkatan konsumsi energi dan emisi karbon di Indonesia yang masih didominasi oleh bahan bakar fosil mendorong diperlukannya pengembangan sumber energi terbarukan yang berkelanjutan dan ramah lingkungan. Penelitian ini bertujuan untuk menghasilkan lipid melalui rekayasa genetik pada *Rhodotorula toruloides*. Lipid yang dihasilkan oleh *yeast oleaginous* seperti *R. toruloides* tergolong belum maksimal sehingga diperlukan suatu metode optimalisasi rekayasa genetika. Metode rekayasa genetika yang dilakukan berupa pengintegrasian gen penghasil *triacylglycerol* (TAG) yaitu *diacylglycerol acyltransferase* (*DGA1*) menggunakan plasmid pKLAC2 dengan metode transformasi elektroporasi. Konfirmasi transformasi dilakukan melalui koloni PCR yang menunjukkan pita DNA pada ukuran yang sesuai terhadap gen *DGA1* (554 bp). Fermentasi dilakukan pada *R. toruloides* dan *wild type* menggunakan sumber karbon berupa glukosa dengan variasi konsentrasi 30 g/L, 60 g/L dan 90 g/L yang menunjukkan hasil bahwa rekombinasi genetik pada *R. toruloides* menghasilkan produktivitas lipid lebih tinggi dibandingkan dengan *wild type*, dan variasi konsentrasi glukosa berpengaruh secara signifikan ($p < 0,05$) terhadap lipid yang dihasilkan oleh *yeast* rekombinan dengan konsentrasi glukosa optimal yaitu pada konsentrasi 30 g/L yang menghasilkan lipid titer dan lipid *content* berturut-turut sebesar 1,02 g/L dan 58.58%. Penelitian ini membuktikan adanya potensi *R. toruloides* rekombinan sebagai *host* produksi lipid dalam bentuk TAG yang efisien melalui pemanfaatan sumber karbon berupa glukosa dengan metode rekayasa genetika, serta mendukung pengembangan biofuel yang berkelanjutan dan ramah lingkungan.

Kata kunci: Biofuel, fermentasi *Rhodotorula toruloides*, *triacylglycerol*, transformasi



Transformation of Recombinant Plasmid Carrying Gene in *Rhodotorula toruloides* InaCC Y908

Dwi Ayu Kurniasih

22/496918/BI/11003

Supervisor: Ganies Riza Aristya, S.Si., M.Sc., Ph.D.

ABSTRACT

The increasing energy consumption and carbon emissions in Indonesia, which are still predominantly derived from fossil fuels, highlight the urgent need for the development of sustainable and environmentally friendly renewable energy sources. This study aimed to enhance lipid production through genetic engineering of the oleaginous yeast *Rhodotorula toruloides*. The natural lipid yield of *R. toruloides* remains suboptimal, necessitating optimization through genetic modification. Genetic engineering was performed by integrating the gene encoding diacylglycerol acyltransferase (*DGA1*), a key enzyme involved in triacylglycerol (TAG)-synthesizing gene using the pKLAC2 plasmid via electroporation-based transformation. Successful integration was confirmed by colony PCR, which revealed a DNA fragment corresponding to the expected size of the *DGA1* gene (554 bp). Fermentation experiments were conducted using recombinant *R. toruloides* and wild-type strains for control with glucose as the carbon source at concentrations of 30 g/L, 60 g/L, and 90 g/L. The results demonstrated that genetic recombination significantly increased lipid productivity in *R. toruloides* compared to the wild-type strain. Furthermore, variations in glucose concentration significantly affected lipid production in the recombinant yeast ($p < 0.05$), with an optimal glucose concentration of 30 g/L resulting the highest a lipid titer of 1,02 g/L and a lipid content of 58.58%. These findings indicate that recombinant *R. toruloides* has strong potential as an efficient host for TAG production using glucose as a carbon source through genetic engineering, thereby supporting the development of sustainable and environmentally friendly biofuels.

Key words: Biofuel, fermentation, *Rhodotorula toruloides*, triacylglycerol, transformation.