



TRANSFORMASI PLASMID REKOMBINAN PEMBAWA GEN *DGA1* PADA *Kluyveromyces marxianus* IFO 1735

Adrianus Dinata
22/493227/BI/10945

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

INTISARI

Biofuel berbasis lipid mikroba merupakan sumber energi terbarukan yang menjanjikan untuk mengurangi ketergantungan pada bahan bakar fosil dan menekan emisi gas rumah kaca. Penelitian ini bertujuan untuk meningkatkan produksi lipid melalui rekayasa genetika pada *Kluyveromyces marxianus* dengan mentransformasikan plasmid pKLAC2 yang membawa gen *DGA1*, serta memverifikasi keberhasilan transformasi dan mengevaluasi performa fermentasi. Metode yang digunakan meliputi desain plasmid rekombinan dan primer menggunakan perangkat lunak Benchling, persiapan sel kompeten *K. marxianus* dengan perlakuan LiAc dan DTT, konstruksi plasmid rekombinan dengan *digest & ligasi* menggunakan enzim restriksi *NotI* dan *EcoRI*, transformasi plasmid rekombinan ke *K. marxianus* melalui elektroporasi, skrining transforman melalui PCR koloni menggunakan primer *DGA1* dan S1274, visualisasi amplifikasi PCR menggunakan elektroforesis, serta fermentasi dengan variasi konsentrasi glukosa untuk menghasilkan data *lipid content*, *lipid titer*, DCW, dan OD₆₀₀. Hasil konfirmasi PCR menunjukkan keberhasilan transformasi gen *DGA1* ke dalam *K. marxianus* melalui PCR koloni dengan primer *DGA1* (amplikon 554 bp). Hasil fermentasi mengindikasikan bahwa konsentrasi glukosa 30 g/L memberikan performa terbaik untuk *strain* rekombinan, dengan kandungan lipid sebesar 22,87% dan titer lipid sebesar 0,87 g/L yang menunjukkan peningkatan 3,11 kali lipat dibandingkan *strain wild type*.

Kata kunci: Biofuel, *K. marxianus*, lipid, rekayasa genetik, transformasi



**RECOMBINANT PLASMID TRANSFORMATION CARRYING THE
DGA1 GENE IN *Kluyveromyces marxianus* IFO 1735**

Adrianus Dinata
22/493227/BI/10945

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

ABSTRACT

Microbial lipid based biofuels are a promising renewable energy source for reducing dependence on fossil fuels and mitigating greenhouse gas emissions. This study aimed to increase lipid production by genetically engineering *Kluyveromyces marxianus* through transformation with the pKLAC2 plasmid carrying the *DGA1* gene, and to verify transformation success and evaluate fermentation performance. Methods included designing the recombinant plasmid and primers using Benchling, preparing competent *K. marxianus* cells with LiAc and DTT treatment, constructing the recombinant plasmid by restriction digestion and ligation using *NotI* and *EcoRI*, transforming the recombinant plasmid into *K. marxianus* via electroporation, screening transformants by colony PCR with *DGA1* and S1274 primers and visualizing PCR amplifications by gel electrophoresis, and conducting fermentations with varying glucose concentrations to obtain lipid content, lipid titer, dry cell weight (DCW), and OD₆₀₀ data. Confirmation results showed successful introduction of *DGA1* into *K. marxianus* by colony PCR using the *DGA1* primer (554 bp amplicon). Fermentation results indicated that 30 g/L glucose delivered the best performance for the recombinant strain, with a lipid content of 22.87% and a lipid titer of 0.87 g/L, representing a 3.11 fold increase compared to the wild type strain.

Keywords: Biofuel, genetic engineering, *K. marxianus*, lipid, transformation