

Teknik_Kimia_60010257_3.docx

by

Submission date: 02-Apr-2023 05:15AM (UTC-0400)

Submission ID: 2053326940

File name: Teknik_Kimia_60010257_3.docx (551.72K)

Word count: 2338

Character count: 14933

Abstrak

Kawasan mangrove banyak dilaporkan sebagai tempat melimpahnya mikroalga penghasil omega-3 asam dokosaheksanoat (DHA) dan bahan bioaktif yang bernilai ekonomi tinggi lainnya dari genus *Aurantiochytrium*. Proses pencarian mikroalga tersebut telah dilakukan di kawasan mangrove pulau Pari, Kepulauan Seribu, Jakarta, pada bulan April 2022 dan diidentifikasi di Laboratorium Pendidikan Biologi FKIP UHAMKA. Tujuan penelitian ini merupakan bagian dari tujuan jangka panjang dalam mengoleksi strain atau isolat baru dari genus *Aurantiochytrium* dan anggota famili Thraustochytriidae lainnya dari hutan di mangrove Indonesia. Penelitian ini dilakukan dengan mengisolasi mikroalga dengan metode *pure streaking* dan mengidentifikasi secara morfologi. Penelitian ini berhasil memperoleh delapan isolat (UHA₁, UHA₃, UHA₅, UHA₆, UHA₁₀, UHA₁₁, UHA₁₂, dan UHA₁₃) yang secara penampakan koloni dan morfologi mikroskopik mengarah kepada spesies *Aurantiochytrium* sp. Salah satu isolat yang diperoleh (UHA₁₂) dikultivasi secara *batch culture* selama lima hari dalam labu Erlenmeyer menggunakan medium glukosa, ekstrak yeast, dan air laut. Hasilnya adalah biomassa kering yang diperoleh hampir setara dengan strain *Aurantiochytrium* sp. ternama lainnya.

Kata Kunci: *Aurantiochytrium* sp., Kawasan Mangrove, Potensi Ekonomi, Pulau Pari

Abstract

Mangrove areas are widely reported as a place of abundance of microalgae producing omega-3 docosahexaenoic acid (DHA) and other bioactive materials of high economic value from the genus *Aurantiochytrium*. The search for microalgae was carried out in the mangrove area of Pari Island, Seribu Islands, Jakarta, in April 2022 and identified at the Biology Education Laboratory, FKIP UHAMKA. The purpose of this study is part of the long-term goal of collecting new strains or isolates from the genus *Aurantiochytrium* and other members of the family Thraustochytriidae from forests in Indonesian mangroves. This research was conducted by isolating microalgae with the pure streaking method and identifying them morphologically. This study succeeded in obtaining eight isolates (UHA₁, UHA₃, UHA₅, UHA₆, UHA₁₀, UHA₁₁, UHA₁₂, and UHA₁₃) which in the appearance of colonies and microscopic morphology lead to the species *Aurantiochytrium* sp. One of the isolates obtained (UHA₁₂) was cultivated by batch culture for five days in an Erlenmeyer flask using glucose, yeasts extract, and seawater as a medium. The result is that the dry biomass obtained is almost equivalent to that of the *Aurantiochytrium* sp. other famous.

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki keadaan cuaca yang sangat baik untuk pertumbuhan mikroalga laut karena adanya faktor suhu, salinitas, pasokan air, salinitas, dan pH, terutama di kawasan hutan mangrove dan perairan di sekitarnya yang membantu reproduksi dan perkembangan mikroalga (Subagio, 2016). Mikroalga menjadi salah satu organisme yang berpotensi menjadi bahan baku ideal untuk produksi biodiesel karena kemampuannya untuk menghasilkan lipid sebagai senyawa pembentuk biodiesel serta laju pertumbuhannya yang sangat cepat (Azzahidah & Ermavitalini, 2015).

Spesies *Aurantiochytrium* (*Schizochytrium*) memiliki beberapa sebutan yang melekat padanya seperti mikroalga, *thraustochytrid*, *marine fungoid*, *marine protist*, *heterotrophic marine microorganism*, *fungoid protist*, *phycomycetes*, *algal fungi*, *straminipilous fungi*, dan *chromist* banyak dilaporkan melimpah di hutan mangrove (Honda et al., 1998; Jaritkhuan & Suanjit, 2018; Kalidasan et al., 2021; Pawar et al., 2021; Wang et al., 2019). Sebutan mikroalga yang digunakan dalam tulisan ini merujuk kepada spesies *Aurantiochytrium* karena adanya kemiripan morfologi dengan beberapa spesies mikroalga lain serta karena alasan praktis menghindari batasan taksonomi dalam lingkup bioteknologi mikroalga (Siqueira et al., 2018).

Di antara spesies yang disebut sebagai mikroalga maupun *Thraustochytrid*, *Aurantiochytrium* sp. merupakan spesies yang tergolong tinggi produksi lipidnya (Armenta & Valentine, 2012). Bahkan di antara mikroorganisme penghasil lipid (*oleaginous microorganisms*), *Aurantiochytrium* (*Schizochytrium*) dilaporkan sebagai mikroorganisme *oleaginous* yang dilaporkan paling cepat pertumbuhannya yang mampu memproduksi

biomassa kering lebih dari 200 g/L dalam waktu tiga hari pada kondisi optimum (Ratledge, 2013). Selain itu, hal lain yang mendorong peneliti dan kalangan industri masih terus mengeksplorasi dan mengeksploitasi mikroalga *Aurantiochytrium* sp. antara lain karena adanya potensi ekonomi yang tinggi dari mikroalga tersebut (Aasen et al., 2016). Spesies *Aurantiochytrium* sp. dilaporkan dapat bersaing menggantikan minyak ikan sebagai sumber omega-3 DHA bagi manusia (Russo et al., 2022), mampu memproduksi squalene (Patel et al., 2019), beta karoten (Aki et al., 2003), pakan ternak kaya omega-3 (Moran et al., 2018), enzim-enzim komersial (Gupta et al., 2016), komponen pembuatan vaksin (Ramos-Vega et al., 2018), serta mampu menghasilkan senyawa anti kanker (Shakeri et al., 2017).

Mikroalga *Aurantiochytrium* sp. asal hutan mangrove Indonesia yang sekuens 18S rRNA parsialnya sudah disimpan ke dalam *NCBI Gene Bank database* antara lain *Aurantiochytrium* sp. LR52 (nomor akses: KY970085) dan *Aurantiochytrium* sp. LA22 (KY970084). Berdasarkan analisis *NCBI BLAST*, sekuens 18S rRNA parsial isolat asal Indonesia tersebut memiliki kemiripan lebih dari 97% dengan sekuens parsial isolat *Aurantiochytrium limacinum* ANVKK-03 (OK350761) yang diisolasi dari habitat mangrove kepulauan Andaman (Kalidasan et al., 2021).

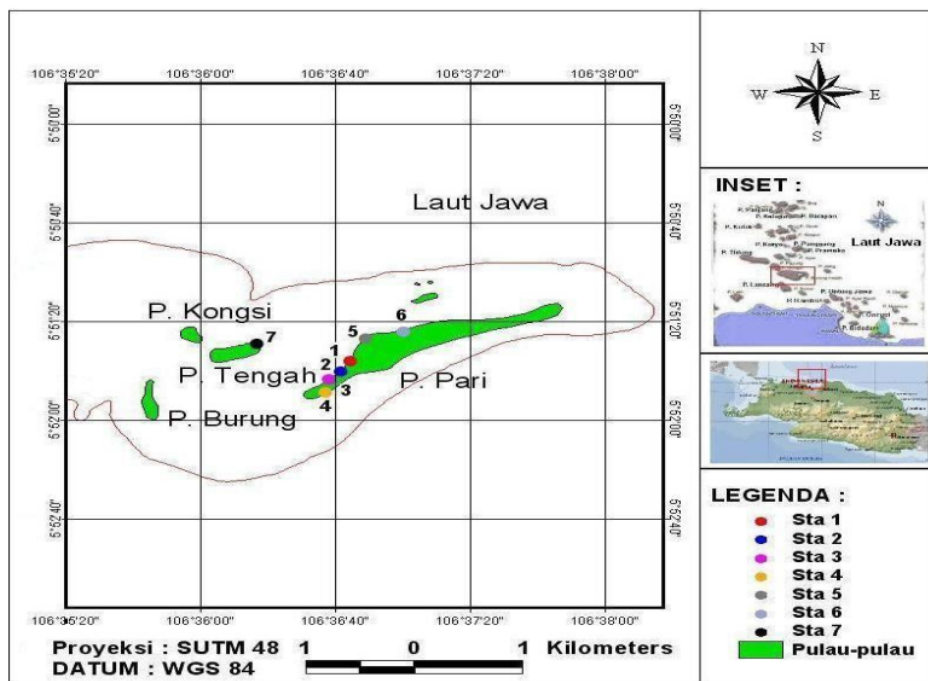
Penelitian ini berfokus mencari isolat mikroalga *Aurantiochytrium* sp. di kawasan mangrove pulau Pari sebagai bagian dari proyek jangka panjang mengoleksi mikroalga *Aurantiochytrium* sp. dan anggota famili Thraustochytriidae lainnya dari hutan-hutan mangrove Indonesia. Isolat yang didapat akan disintesis untuk kegunaan penelitian biologi dasar, terapan, maupun bahan baku industri. Pulau Pari merupakan salah satu pulau di Kepulauan Seribu, Jakarta yang berjarak sekitar 30 km dari salah satu pelabuhan di kota Jakarta. Menurut Saefurahman (2008), luas kawasan mangrove di gugus pulau Pari diperkirakan berkurang sekitar 31,46% dalam rentang waktu 7 tahun (1999–2006). Oleh sebab itu, penelitian ini diharapkan juga dapat berkontribusi dalam menjaga plasma nutfah mikroba di kawasan mangrove pulau Pari dari kekhawatiran adanya kerusakan ekosistem mangrove yang dapat menghilangkan mikroba yang berpotensi ekonomi tinggi dari tahun ke tahun.

2

METODE

Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret sampai Juni 2023 di kawasan hutan mangrove pulau Pari, Jakarta (Gambar 1) dan di laboratorium Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. Hamka (UHAMKA) Jakarta. Dengan metode jelajah, peneliti menelusuri hutan mangrove yang diperkirakan memiliki endapan daun mangrove yang cukup melimpah. Pulau Pari menjadi lokasi pengambilan sampel sedangkan laboratorium untuk pengamatan mikroalga secara morfologi.



Gambar 1. Peta Lokasi Pengambilan Sampel (Saefurahman, 2008)

Alat dan Bahan

Alat-alat yang diperlukan terdiri dari plastik klip ukuran 10x15 cm, *Laminar Air Flow Cabinet*, lampu UV, cawan petri, jarum ose, bunsen, erlenmeyer *flask*, autoklaf, mikroskop cahaya (Boeco BM-2000), kamera USB mikroskop, dan perangkat lunak (S-EYE). Bahan-bahan yang digunakan terdiri dari air laut, *agar bacteriological* (Oxoid), glukosa (Himedia), ekstrak *yeasts* (Himedia), akuades, dan parafilm (M).

Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel daun mangrove yang sudah melunak di lantai mangrove pulau Pari yang berlokasi pada $5^{\circ} 50' 20'' - 5^{\circ} 50' 25''$ LS dan $106^{\circ} 34' 30'' - 106^{\circ} 38' 20''$ BT (Marganingrum & Sudrajat, 2018) dilakukan pada bulan April 2022. Daun mangrove yang berwarna oranye-coklat muda dan coklat tua kehitaman (masing-masing 15 sampel) diambil secara acak dan tiap-tiap daun tersebut dimasukkan ke dalam plastik klip dan diisi dengan air laut.

Direct Plating

Isolasi mikroalga dalam penelitian ini adalah menggunakan metode *direct plating* (Gupta et al., 2012). Semua sampel daun mangrove dibawa ke Laboratorium Biologi, FKIP UHAMKA dalam waktu kurang dari 24 jam. Setiap sampel daun ditanam langsung (*direct plating*) ke atas medium agar AYA yang berisi *agar bacteriological* (Oxoid) 15 g/L, glukosa (Himedia) 20 g/L, ekstrak *yeasts* (Himedia) 5 g/L, akuades 50%, dan air laut dari Pulau Pari 50%, lalu ditutup dengan Parafilm (M) dan diinkubasi dalam suhu ruang selama 2 hari. Setelah itu, metode gores (*pure streaking*) dilakukan untuk mendapatkan isolat murni dari tiap-tiap koloni.

Pengamatan Mikroskopis

Isolat murni diperoleh setelah koloni-koloni tunggal hasil tahapan *pure streaking* setiap sampel daun diamati melalui mikroskop (Boeco BM-2000). Koloni yang diambil untuk dimurnikan isolatnya adalah koloni yang hasil pengamatan morfologi mikroskopisnya terdapat kemiripan dengan gambar *Aurantiochytrium* sp. (*Schizochytrium* sp.) yang dilaporkan oleh Honda et al., (1998). Hasil pengamatan mikroskop tersebut disimpan ke dalam komputer menggunakan kamera USB mikroskop dan perangkat lunak (S-EYE).

Penyimpanan Isolat *Aurantiochytrium* sp.

Koloni tunggal isolat murni *Aurantiochytrium* sp. dari sampel daun yang berhasil diperoleh, disimpan dalam cawan petri steril sekali pakai ukuran 90x15 mm (CITOTEST) yang mengandung sekitar 17 mL medium agar AYA dan ditutup dengan Parafilm (M). Koloni setiap isolat murni tersebut digoreskan (*streaking*) ke atas medium agar AYA yang baru sekitar dua minggu sekali supaya isolat tetap terjaga.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Pengamatan mikroskopis dilakukan pada sampel daun yang berwarna oranye-kecokelatan dan coklat tua-kehitaman dengan masing-masing sampel sebanyak 15 sampel

daun. Sebanyak 8 isolat yang diduga kuat sebagai spesies *Aurantiochytrium* sp. (Thraustochytriidae) diperoleh dari 30 sampel daun mangrove yang ditanam langsung (*direct plating*). Kedelapan isolat tersebut adalah UHA₁, UHA₃, UHA₅, UHA₆, UHA₁₀, UHA₁₁, UHA₁₂, dan isolat UHA₁₃. Isolat tersebut seluruhnya didapatkan dari daun mangrove yang sudah melunak dan berwarna oranye-kecoklatan (Tabel 1), sedangkan dari sampel daun mangrove yang berwarna coklat-kehitaman sulit diharapkan untuk mendapatkan isolat mikroalga *Aurantiochytrium* sp.

Tabel 1. Pengamatan Mikroskopis Mikroba Yang Tumbuh Dalam 2 Hari Setelah *Direct Plating*

Sampel daun yang berwarna oranye-kecoklatan	Hasil Pengamatan	Sampel daun yang berwarna coklat tua-kehitaman	Hasil Pengamatan
UHA ₁	+	UHA ₁₆	-
UHA ₂	-	UHA ₁₇	-
UHA ₃	+	UHA ₁₈	-
UHA ₄	-	UHA ₁₉	-
UHA ₅	+	UHA ₂₀	-
UHA ₆	+	UHA ₂₁	-
UHA ₇	-	UHA ₂₂	-
UHA ₈	-	UHA ₂₃	-
UHA ₉	-	UHA ₂₄	-
UHA ₁₀	+	UHA ₂₅	-
UHA ₁₁	+	UHA ₂₆	-
UHA ₁₂	+	UHA ₂₇	-
UHA ₁₃	+	UHA ₂₈	-
UHA ₁₄	-	UHA ₂₉	-
UHA ₁₅	-	UHA ₃₀	-

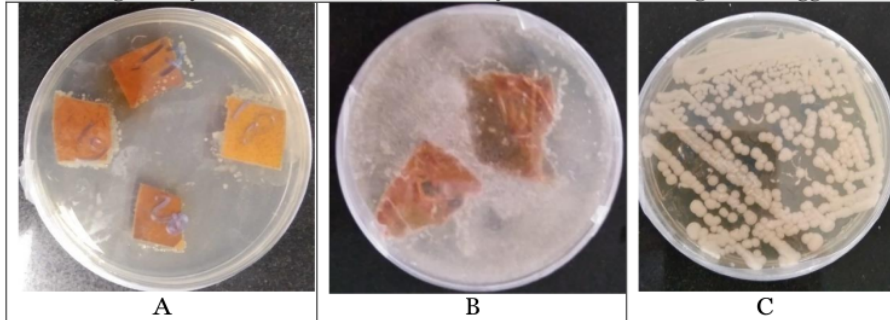
Keterangan: (+): dijumpai morfologi mikroba yang mirip dengan [Honda et al., \(1998\)](#);
(-): tidak dijumpai

Menurut formula [Jaritkhuan & Suanjit, \(2018\)](#), frekuensi kelimpahan spesies yang diduga *Aurantiochytrium* sp. (Thraustochytriidae) pada Tabel 1 adalah 26,7%. Beberapa medium agar yang digunakan mengalami kontaminasi dengan kapang dan beberapa terhindar dari kapang. Konfirmasi isolat sebagai spesies anggota famili Thraustochytriidae adalah melalui pengamatan mikroskopis dari koloni yang tumbuh setelah tahapan *pure streaking method* (Gambar 2C) serta diperbandingkan dengan spesies *Schizochytrium* sp. atau *Aurantiochytrium* sp. hasil laporan [Honda et al., \(1998\)](#).

Mikroba yang morfologinya tidak mirip dengan laporan [Honda et al., \(1998\)](#) dan Gambar 3 akan dieliminasi dan tidak disimpan dalam penelitian ini. Berdasarkan Gambar 3, semua isolat yang diperoleh memiliki morfologi yang memiliki banyak kesamaan. Peneliti berkeyakinan bahwa spesies yang diperoleh tersebut adalah spesies *Aurantiochytrium* sp. karena terdapat kemiripan dengan morfologi spesies hasil laporan [Honda et al., \(1998\)](#) dan [Suhendra et al., \(2019\)](#). Namun demikian, perlu diadakan penelitian lanjutan yang menganalisis hasil sekuens dan filogeni mikroalga tersebut sebagai bagian dari tahapan identifikasi molekular.

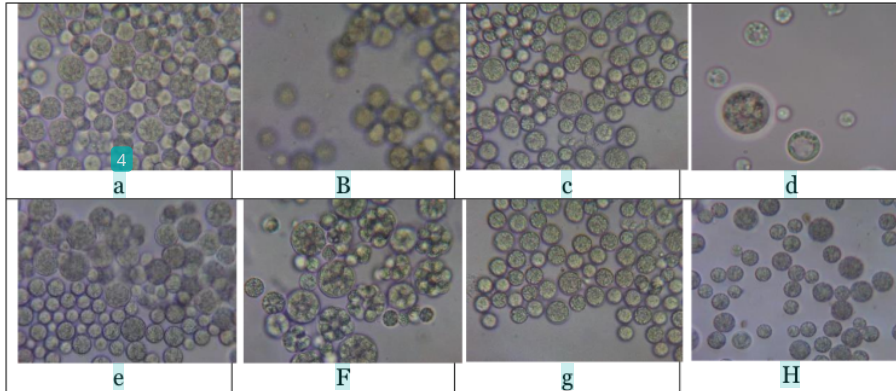
Koloni yang diamati karena diduga terdapat mikroalga *Aurantiochytrium* sp. dalam penelitian ini yaitu koloni yang berbentuk bulat pipih, sedikit cembung, berwarna putih dan atau krem, dengan diameter sekitar 2-4 mm. Sesuai dengan penelitian [Sirirak et al., \(2020\)](#), bahwa morfologi *Aurantiochytrium* sp adalah koloninya berwarna putih

opaque (buram), bentuk menyebar tidak beraturan, tepi bergelombang, ukuran koloni 2-4 mm, sel vegetatifnya berbentuk bulat, dan kebanyakan tersebar sebagai sel tunggal.



Gambar 2. Makroskopis Pertumbuhan Koloni

Keterangan gambar: (A). Medium Agar Belum Terkontaminasi Kapang Pada Hari Ke-2 Setelah *Direct Plating*; (B). Medium Agar Sudah Terkontaminasi Kapang Pada Hari Ke-2 Setelah *Direct Plating*; (C). Koloni *Aurantiochytrium* sp. Tumbuh Di Atas Medium Agar Setelah *Pure Streaking*



Gambar 3. Pengamatan Mikroskopis Isolat-Isolat Yang Diduga *Aurantiochytrium* (perbesaran 40 x 10, tanpa skala)

Keterangan gambar: a. UHA₁, b. UHA₃, c. UHA₅, d. UHA₆, e. UHA₁₀, f. UHA₁₁, g. UHA₁₂, dan h. UHA₁₃

Pembahasan

Sulitnya mendapatkan isolat mikroalga *Aurantiochytrium* sp. dari sampel daun mangrove yang berwarna coklat-kehitaman karena medium agar dalam *petri dish* sudah banyak ditumbuhi oleh mikroba dari golongan bakteri dan jamur (gambar mikroskopi tidak dipublikasikan dalam penelitian ini). Ekstrak ragi/*yeast* pada medium agar menyediakan protein, asam amino, gula, asam lemak, dan vitamin namun pengaruhnya terhadap pertumbuhan mikroalga bervariasi bagi tiap spesies (Anwar et al., 2018). Selain unsur hara tersebut, pertumbuhan mikroalga tentu dipengaruhi pula dari kondisi fisika kimia medium tumbuhnya seperti salinitas, intensitas cahaya, pH, dan suhu (Christiani et al., 2017). *Aurantiochytrium* sp. umumnya hidup di kawasan mangrove di mana suhu harian dan musiman serta perubahan salinitas terjadi di sini (Jaritkhuan & Suanjit, 2018). Selain

itu, perairan di sekitar kawasan mangrove umumnya mengandung nutrisi yang subur sehingga keberadaan biota laut seperti mikroalga melimpah (Astuti et al., 2012).

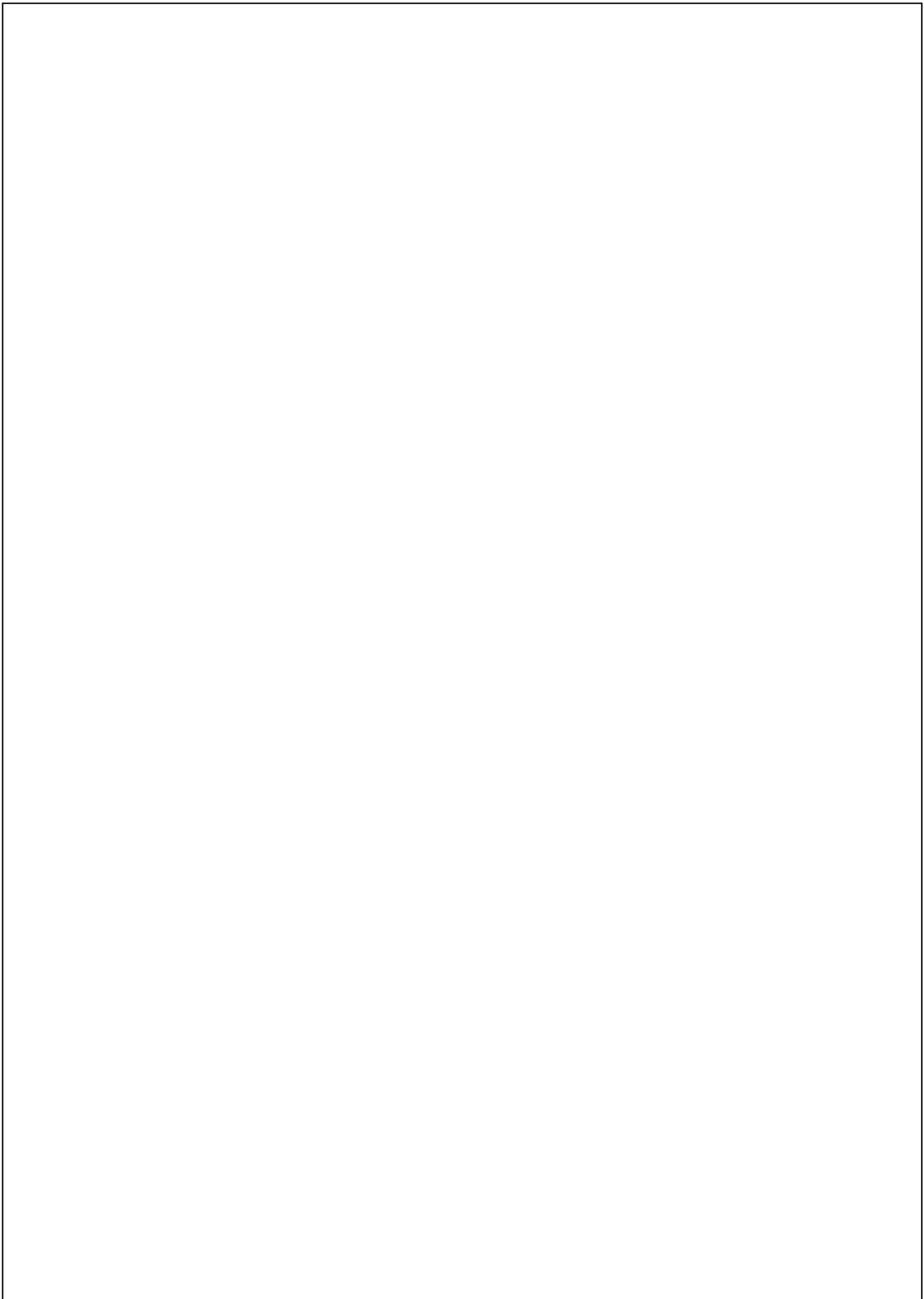
Frekuensi kelimpahan spesies yang diduga *Aurantiochytrium* sp. (Thraustochytriidae) ini adalah 26,7% berdasarkan formula Jaritkhuan & Suanjit (2018). Persentase ini dianggap rendah bisa jadi disebabkan karena sampel daun di medium agar mengalami pertumbuhan kontaminan (kapang) yang lebih cepat sebelum mikroalga berhasil diamati dan diisolasi (Gambar 2B). Hasil di atas sedikit berbeda dengan Puspaananda (2012), di mana isolat mikroalga *Aurantiochytrium* sp. yang diperoleh adalah 31,25% melalui metode *direct plating* dari daun mangrove yang berwarna kuning-kecoklatan. Perbedaan tersebut salah satunya dapat disebabkan karena medium agar dalam penelitian Puspaananda (2012) menggunakan antibiotik dan antifungal, sedangkan dalam penelitian ini tidak. Salah satu kiat untuk meningkatkan probabilitas dalam memperoleh spesies *Aurantiochytrium* sp. melalui metode *direct plating* tanpa menggunakan antibiotik dan antifungal adalah dengan tetap memperhatikan dan mempertahankan kerja aseptis saat *plating* sampel daun di dalam *clean bench* serta sesegera mungkin lakukan *pure streaking method* terhadap mikroba yang tumbuh di permukaan samping sampel daun hasil *direct plating* (tidak lebih dari 2 hari) sebelum koloni kapang tumbuh dominan (Gambar 2A). Tentu dengan tetap memperhatikan kondisi lingkungan lainnya seperti nutrisi, intensitas cahaya, dan pH (Hadiyanto & Azim, 2012).

Dalam penelitian ini koloni yang diamati yang diduga mikroalga *Aurantiochytrium* sp. memiliki bentuk bulat pipih, sedikit cembung, berwarna putih dan atau krem, dengan diameter sekitar 2-4 mm. Hasil ini banyak bersesuaian dengan penampakan koloni *Aurantiochytrium* atau *Thraustochytrid* lainnya yang dilaporkan oleh Gupta et al., (2016). Menurut Gupta et al., (2016), koloni dewasa mikroalga *Aurantiochytrium* sp. umumnya berbentuk bulat atau tidak beraturan, dan sebagian besar koloni berukuran sedang hingga besar.

Saat ini setidaknya ada tiga nama spesies *Aurantiochytrium* sp. yang banyak dilaporkan dalam publikasi ilmiah. Nama spesies tersebut antara lain, *Aurantiochytrium limacinum* (Leong et al., 2019), *Aurantiochytrium mangrovei* (Ishitsuka et al., 2017), dan *Aurantiochytrium acetophilum* (Ganuza et al., 2019). Secara taksonomi, spesies *Aurantiochytrium* sp. termasuk dalam kingdom Chromista, sub-kingdom Harosa, superfilum Heterokonta, filum Bygira, sub-flum Sagenista, ordo Thraustochytrida (Thraustochytridiales), famili Thraustochytriidae, dan genus *Aurantiochytrium* (Marchan et al., 2018). Sebagai spesies yang memiliki kemampuan memproduksi bahan biokimia yang bernilai ekonomi tinggi (omega-3 DHA, *squalene*, karotenoid, enzim komersial, dan lain-lain), saat ini eksplorasi *Aurantiochytrium* sp. masih terus dilanjutkan oleh banyak peneliti dan kalangan industri hingga diharapkan mampu mencapai tahapan yang lebih matang, efisien, dan siap dikomersialkan.

KESIMPULAN

Mikroalga *Aurantiochytrium* sp. banyak diperoleh dari hasil *direct plating* daun mangrove layu yang berwarna oranye-kecoklatan di lantai perairan mangrove. Isolat-isolat yang sudah dipurifikasi, perlu dilakukan tahapan lanjutan seperti identifikasi molekular, karakterisasi spesies, optimasi pertumbuhan, dan purifikasi produk agar isolat *Aurantiochytrium* sp. yang didapatkan bisa bermanfaat dalam spektrum yang lebih luas.



ORIGINALITY REPORT

15%

SIMILARITY INDEX

15%

INTERNET SOURCES

2%

PUBLICATIONS

1%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	www.researchgate.net Internet Source	11%
2	text-id.123dok.com Internet Source	2%
3	lemlit.uhamka.ac.id Internet Source	1%
4	docplayer.info Internet Source	<1%
5	Keyla Santos Guedes de Sá. "Ativação do inflamassoma: a importância na leishmaniose, na influenza e na COVID-19", Universidade de Sao Paulo, Agencia USP de Gestao da Informacao Academica (AGUIA), 2022 Publication	<1%
6	Pradeepa Vasudeva Samaga, Vittal Ravishankar Rai, Kuriya Madav Lokanatha Rai. "Bionectria ochroleuca NOTL33—an endophytic fungus from Nothapodytes foetida producing antimicrobial and free	<1%

radical scavenging metabolites", Annals of Microbiology, 2013

Publication

7

id.scribd.com

Internet Source

<1 %

8

vibdoc.com

Internet Source

<1 %

Exclude quotes Off

Exclude matches Off

Exclude bibliography Off