

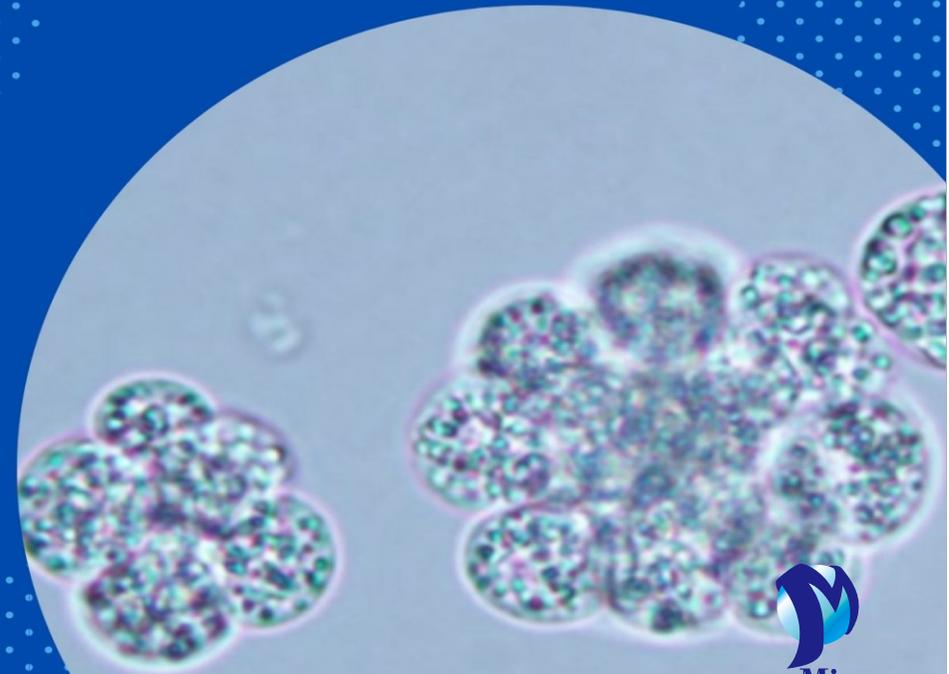
DR.-ING. SUHENDRA

ISBN 978-623-6340-46-2

MENGENAL POTENSI  
**MIKROALGA  
AURANTIOCHYTRIUM**

DARI PAKAN TERNAK, NUTRISI,  
KOSMETIK HINGGA ADJUVANT VAKSIN  
COVID-19

TIM KEDAIREKA PRODI TEKNIK KIMIA UAD



 kedaireka

  
cv.Mine

 085725994411

 cv.mine7

 mine-mine



Penerbit : cv. Mine  
Perum Sidorejo Bumi Indah F 153  
Rt 11 Ngestiharjo Kasihan Bantul  
Mobile : 085725994411  
email : cv.mine.7@gmail.com



**MENGANAL POTENSI  
MIKROALGA AURANTIOCHYTRIUM  
DARI PAKAN TERNAK, NUTRISI, KOSMETIK  
HINGGA ADJUVANT VAKSIN COVID-19**

Oleh :  
DR . - ING . SUHENDRA



**MENGANAL POTENSI  
MIKROALGA AURANTIOCHYTRIUM  
DARI PAKAN TERNAK, NUTRISI, KOSMETIK  
HINGGA ADJUVANT VAKSIN COVID-19**

Oleh :

DR . - ING . SUHENDRA

Hak Cipta © 2022, pada penulis  
Hak publikasi pada Penerbit CV Mine

*Dilarang memperbanyak, memperbanyak sebagian atau seluruh isi dari buku ini dalam bentuk apapun, tanpa izin tertulis dari penerbit.*

**© HAK CIPTA DILINDUNGI OLEH UNDANG-UNDANG**

Cetakan ke-1 Tahun 2022

CV Mine

Perum SBI F153 Rt 11 Ngestiharjo, Kasihan, Bantul, Yogyakarta-55182

Telp: 085725994411

Email: [cv.mine.7@gmail.com](mailto:cv.mine.7@gmail.com)

**ISBN : 978-623-6340-46-2**

## KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim,

Alhamdulillah, segala puji selalu Kami panjatkan kepada Allah SWT atas ridho-Nya sehingga penulis mampu menyelesaikan buku berjudul “*Mikroalga Aurantiochytrium: Dari Pakan Ternak, Nutrisi, Biofuel hingga Vaksin Covid-19*” ini.

Mikroalga Aurantiochytrium telah banyak dikaji para ilmuwan dunia karena potensi produknya yang sangat banyak, seperti tertuang pada judul buku ini. Mulai dari potensi pakan ternak, nutrisi, biofuel hingga saat pandemic seperti ini dibutuhkan untuk adjuvant vaksin covid-19. Sayangnya, meski sumber mikroalga ini sangat berlimpah di Indonesia, kajian tentang mikroalga ini masih sangat sedikit dibahas di kalangan akademis dan peneliti di Indonesia. Karenanya, buku ini ditulis sebagai media berbagi penulis sekaligus memperkenalkan mikroalga Aurantiochytrium kepada publik.

Sebagian isi dari buku ini adalah ide dari kegiatan langsung penulis yang didukung oleh para mahasiswa di kampus Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta. Dukungan penuh tenaga, waktu dan pemikiran dari tim riset teknik kimia UAD yang terlibat dalam program ini dan didukung oleh Ibu Dr. Erna Astuti dan program studi yang mendukung adalah motor utama dari kegiatan ini. Selain itu, keberhasilan tercetaknya buku ini didukung oleh dana Matching Fund KEDAIREKA dari Kementerian Riset dan Teknologi dan mitra kami dari CV. Andalusia Cirebon. Karenanya, penulis mengucapkan banyak terimakasih atas dukungannya.

Beribu ucapan terima kasih juga penulis tujukan pada semua pihak yang turut mendukung penulis yang tidak bisa penulis sebutkan satu per satu.

Karena buku ini ditargetkan untuk bahan pengelan, karenanya sifat dari informasi yang disajikan masih umum. Karenanya, tidak luput dari kekurangan. Semoga di kemudian hari bisa dilanjutkan menjadi tulisan yang lebih mendalam dan karenanya penulis terbuka untuk berbagai masukan dan kritik untuk perbaikan penulisan tentang mikroalga *Aurantiochytrium* berikutnya.

Semoga buku ini bermanfaat untuk bahan akademis dan kajian di universitas, lembaga riset maupun dunia usaha yang tertarik memanfaatkan peluang mengembangkan potensi mikroalga *Aurantochytrium* ini.

Yogyakarta, 5 Desember 2021

*Tim Penulis*

## DAFTAR ISI

PENGANTAR .....	i
DAFTAR ISI.....	iii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
BAB II Taksonomi dan Karakteristik.....	6
BAB III Aplikasi Bidang Perikanan .....	10
BAB IV Aplikasi untuk Nutrisi Nutraceuticals .....	20
BAB V Aplikasi untuk Adjuvant Vaccine Covid-19.....	26

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **Latar Belakang**

Peningkatan kebutuhan manusia identik dengan peningkatan aktivitas industrialisasi. Pada akhirnya, peningkatan proses industri memiliki konsekuensi peningkatan kebutuhan energi yang sangat pesat dari tahun ke tahun. Sayangnya, karena mayoritas sumber energi masih berasal dari energi fosil, dampak negatif dari peningkatan kebutuhan energi adalah eksploitasi alam besar-besaran disertai dengan pencemaran lingkungan. Fakta ini kemudian memunculkan berbagai inisiatif global untuk mencegah penggunaan bahan baku energi dari bahan bakar minyak bumi menuju bahan baku yang ramah lingkungan dan dari sumber terbarukan atau yang dikenal dengan biofuel renewable energy.

Isu lingkungan semakin ketat untuk melindungi alam dari eksploitasi berlebihan karenanya kesadaran sumber alternatif energi semakin meningkat. Para saintis memaparkan bahwa kunci dari keberhasilan penggunaan energi terbarukan antara lain pertama, penggunaan bertahap biofuel atau energi dari sumber bahan baku terbarukan pada campuran bahan bakar hingga akhirnya seratus persen penggunaan sebagai bahan baku cair di masa depan.

Bahkan, berbagai kebijakan dunia internasional memaksa semua negara pada akhirnya harus memilih menggunakan sumber energi terbarukan. Misalnya, kewajiban blending atau campuran bahan bakar kedaraan yang mengandung sebagian bahan bakar dari biofuel.

Salah satu sumber bahan baku biofuel yang banyak mendapat perhatian adalah mikroalga yang berasal dari sumber perairan, baik di danau, sungai maupun perairan laut. Biofuel mikroalga tidak memiliki komplikasi dengan tanaman pangan dan tingkat kerumitan pengolahan lebih rendah dari mengekstrak minyak dari tanaman berbasis

lignoselulosa. Karena keberlimpahan nya, penelitian sebelumnya banyak menuangkan ide pemanfaatan mikroalga untuk biodiesel, biogas, bioetanol, biometan maupun biokerosin. Khusus biokerosin akan menjadi tantangan dunia transportasi udara di masa depan, karena negara-negara eropa telah mengusulkan pembatasan mendarat bagi pesawat-pesawat yang tidak menggunakan biokerosin pada maskapai mereka. Bahkan, dari biokerosin yang diusulakn tersebut hanya diatur beberapa sumber saja yang diperbolehkan, termasuk sumber dari mikroalga, sementara sumber biofuel lain seperti kelapa sawit akan dilarang.

Sayangnya, produksi komersial biofuel dari mikroalga masih kebanyakan masih belum layak secara ekonomis karena konsentrasi biomassa yang rendah dan proses hilir yang mahal. Karenanya, kelangsungan produksi biodiesel mikroalga dapat dicapai antara lain dengan penemuan strain/bibit mikroalga yang memiliki produktivitas lipid tinggi dan cepat sehingga kapasitasnya memenuhi sisi ekonomis dan kebutuhan pasar. Hal lain yang dapat menarik menunjang keekonomian proses produksi biofuel dari mikroalga adalah apabila proses tersebut memiliki produk samping yang memiliki nilai ekonomi cukup tinggi.

Sejauh ini, mikroalga species *Aurantiochythium* saat ini dikenal sebagai oleaginous microalgae (mikroalga dengan kandungan lipid tinggi) karena kemampuan menghasilkan lipid dengan produktivitas tinggi. Misalkan, dari literatur yang kami dapatkan, dibanding mikroalga species *spiruliina* dengan masa panen 2 minggu dengan produktivitas 1 gram/ liter, maka mikroalga *Aurantiochythium* mampu menghasilkan lipid hingga 200 gram / liter hanya dalam waktu 4-5 hari fermentasi. Mikroalga *Aurantiochythium* banyak ditemukan di habitat hutan bakau, di mana Indonesia sebagai negara hutan bakau terluas di dunia. Komponen lipid dari *Aurantiochythium* sekitar 75% biomassa, dimana 30-50% mengandung asam palmitat (C16:0) yang dipakai untuk bioenergi. Selain berpotensi sebagai sumber energi, biomassa yang dihasilkan mikroalga *Aurantiochythium*

sudah banyak dikaji sebagai produk multiguna, mulai dari pakan ternak, nutrisi, kosmetik hingga adjuvant vaksin covid-10. Komponen bernilai tinggi dari lipid biomassa yang dihasilkan antara lain omega-3 dan squalene, sementara potensi dari metabolit sekunder dapat menghasilkan astaxanthin dan enzim yang bermanfaat.

Teknologi kultivasinya sudah banyak dibahas dan model produksi berbasis industri saat ini adalah proyek Veramaris dari Evonik dan DSM. Karenanya, di masa mendatang species mikroalga ini akan menjanjikan diproduksi terpadu menghasilkan sumber biofuel dan nutrisi bernilai tinggi. Dengan demikian, proyek kami akan berfokus pada teknologi kultivasi terpadu mikroalga *Aurantiochytrium* untuk menghasilkan fraksi lipid sebagai sumber bioenergi dan pada saat bersama mengambil fraksi lipid untuk mendapatkan komponen bernilai tinggi tersebut. Selanjutnya, proyek kami juga berfokus pada teknologi konversi lipid mikroalga *Aurantiochytrium* menjadi biofuel serta ekstraksi komponen bernilai tinggi dari biomassa yang dihasilkan. Dengan adanya proyek ini, diharapkan akan ada landasan akademis dan komersial yang memadai untuk dilanjutkan pada skala lebih besar agar memenuhi tuntutan kebutuhan sumber energi terbarukan yang berlimpah di masa depan.

### **Posisi Penting Mikroalga *Aurantiochytrium***

Salah satu asupan penting untuk tubuh kita adalah asam lemak tak jenuh rantai panjang (Polyunsaturated Fatty Acids/ PUFA) utamanya dari omega-3 (Docohexanoic acid/ DHA) yang telah direkomendasikan untuk dikonsumsi tiap hari. Bahan baku konvensional produksi DHA adalah ikan, terutama ikan salmon. Tetapi, trend terkini mengarah pada teknologi produksi lipid DHA dengan penggunaan alternatif pengganti seiring semakin sulitnya kualitas ikan yang dapat ditangkap baik dari produksi aquaculture (penangkaran ikan) maupun di laut luas, semakin rentannya pencemaran logam berat serta peningkatan kesadaran sustainable

production untuk mengurangi potensi kerusakan ekosistem akibat perburuan ikan berlebihan [1], [2].

Salah satu sumber bahan baku PUFA yang menarik perhatian kalangan peneliti dan industri saat ini adalah mikroalga *Aurantiochytrium* [3]. Mikroalga *Aurantiochytrium* dikenal berhabitat di hutan bakau dan telah dijadikan sebagai bahan baku alternatif dalam produksi asam lemak omega-3 (Docohexanoic acid/ DHA) [4]. Pionir untuk produksi docohexanoic acid (DHA) skala industri adalah DSM dan Evonik yang bergabung membuat joint venture produsen lipid bernama Veramaris [5], [6]. Awalnya, produk berbahan baku mikroalga *Aurantiochytrium* diproduksi skala industri untuk pakan ikan dan ternak dan hingga kini semakin berkembang pesat.

Gambar 1 memberikan ilustrasi posisi strategis mikroalga *Aurantiochytrium* sebagai bahan baku industri omega-3 pengganti bahan baku konvensional dari ikan laut. Diperkirakan, dengan alur siklus produksi seperti gambar 1 akan menyelamatkan perburuan 60 ton ikan laut setiap produksi 1 ton omega-3 dari mikroalga *Aurantiochytrium*.



Gambar 1. Ilustrasi posisi mikroalga *Aurantiochytrium* dalam industri produksi omega-3

Pengembangan produk selanjutnya dari produk turunan mikroalga *Aurantiochytrium* adalah untuk produk kosmetik dan suplemen kesehatan telah banyak beredar di supermarket di Eropa [7]. Terkini, peran penting mikroalga *Aurantiochytrium* sangat penting untuk produksi squalene sebagai bahan penting adjuvant vaksin covid-19 yang umumnya diproduksi dari ikan hiu laut dalam [8]. Dengan demikian, ada tiga produk utama yang dapat dihasilkan oleh mikroalga *Aurantiochytrium* adalah docohexanoic acids, squalene dan astaxanthin [9], [10].

Posisi bahan baku mikroalga *Aurantiochytrium* diperkirakan akan semakin strategis di masa depan. Menilik serapan pasar dunia hingga 2019 untuk ketiga produk yang bisa dihasilkan dari *Aurantiochytrium* menunjukkan daya tarik ekonomi, masing-masing dengan nilai USD 4.3 billions (omega-3), USD 177 million (squalene) dan USD 1.8 billion (astaxanthin) [10].

## BAB II

### Taksonomi dan Karakteristik

Mikroalga spesies *Aurantiochytrium* adalah mikroorganisme laut unicellular heterotrophic yang memerlukan bahan organik untuk tumbuh (Morales-sa, 2015). Habitat umum dari *Aurantiochytrium* adalah hutan bakau dan tumbuh dengan memanfaatkan nutrisi dari bahan organik di ekosistem hutan bakau, seperti dedaunan yang jatuh dan bahan organik dari daratan atau sedimen hutan bakau (Fossier.L, 2018) Tabel 1 menunjukkan ilustrasi taksonomi spesies *Aurantiochytrium*. Spesies ini berada pada family Thraustocytrids yang banyak ditemukan di lautan dari permukaan laut hingga kedalaman 2000 m (Jones,2000).

Tabel 1. Taksonomi mikroalga spesies *Aurantiochytrium* (Sumber: (morabito,2019))

Kingdoms	Chromista
Subkingdoms	Harosa
Divisi	Stramenopiles
Kelas	Labyrinthulomycetes
Ordo	Thraustochytriales
Famili	Thraustochytriaceae
Genus	Auranthiochytrium

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa species species *Aurantiochytrium* memiliki keunggulan, antara lain kandungan lipid

yang tinggi, pertumbuhan yang cepat dan ketahanan terhadap perubahan lingkungan (Morabito,2019). Tabel 2 menunjukkan daftar strain yang telah dipublikasi yang digunakan untuk menghasilkan lipid dengan menggunakan bioreaktor/ fermenter sebagai unit kultivasi. Dari tabel tersebut dapat memberikan gambaran bahwa hasil dari Janthanomsuk dkk (Janthanomsuk, 2015) lipid terbanyak, yaitu 1,6 g/L/ jam. Sementara isolat *Aurantiochytrium* terbaru asli Indonesia, LR52, sebelumnya telah dipublikasi oleh Andri Hutari dkk menggunakan tube spin 600 untuk kultivasi (Hutari, 2016). Meskipun menggunakan tube spin, LR52 menghasilkan lipid 0,44 g/L/jam, relatif lebih tinggi dari banyak strain lainnya yang bahkan sudah menggunakan fermenter.

**Tabel** Error! No text of specified style in document..membandingkan waktu kultivasi dan produktivitas tiap spesies acuan yang telah terpublikasi sebelumnya. Fakta kandungan lipid yang tinggi dari *Aurantiochytrium* ini juga menunjukkan bahwa species ini lebih berpotensi digunakan untuk aplikasi produksi biooil bila dibandingkan menggunakan species spirulina yang kandungan lipidnya sekitar 1% berat massa (Suhendra, 2016).

**Tabel Error! No text of specified style in document..** Contoh Strain *Aurantiochytrium* yang Digunakan Sebelumnya

Strain	Waktu pembiakan (jam)	Biomass (g/L)	Referensi
<i>Aurantiochytrium</i> sp. B-072	62	36	(Journal, 2012)
<i>Aurantiochytrium</i> sp. B-072	94	154	(Manikan, 2014)
<i>Aurantiochytrium</i> sp. SD116	110	70.43	(Gao, 2013)
<i>Aurantiochytrium</i> sp. HX-308	160	90	(Manikan, 2014)
<i>Aurantiochytrium</i> sp. YLH70	114	78.5	(Liu, 2015)
<i>Aurantiochytrium</i> sp. <i>limacinum</i> SR21	96	48.1	(Michael, 2014)
<i>Aurantiochytrium</i> sp. KRS101	36	26	[2](Chul, 2012)

Ketujuh contoh di atas dikenal sebagai oleaginous microalgae (mikroalga yang mampu mengakumulasi lipid pada selnya) (Sakthivel, 2011; Liu, 2016; Srinuanpan, 2018). Akan tetapi, kelemahan dari penggunaan mikroalga ini adalah biaya operasional yang tinggi yang bersumber dari nutrient, seperti glukosa dan garam, untuk pembiakan (kultivasi) sehingga mengurangi aspek kelayakan ekonomi dalam pendirian pabrik skala komersil. Untuk tujuan pengurangan biaya

operasional, berbagai upaya dilakukan dengan strategi pemilihan bahan baku nutrient yang bersumber dari limbah biomassa yang dapat dijadikan sumber nutrient. Sebagai contoh, beberapa penelitian terdahulu menggunakan limbah cair dari perkebunan/ pertanian, perumahan dan industri untuk menurunkan biaya operasi sekaligus membantu jalan keluar dari penanganan limbah cair yang ada sehingga dicapai kelayakan ekonomi untuk produksi senyawa yang diinginkan.

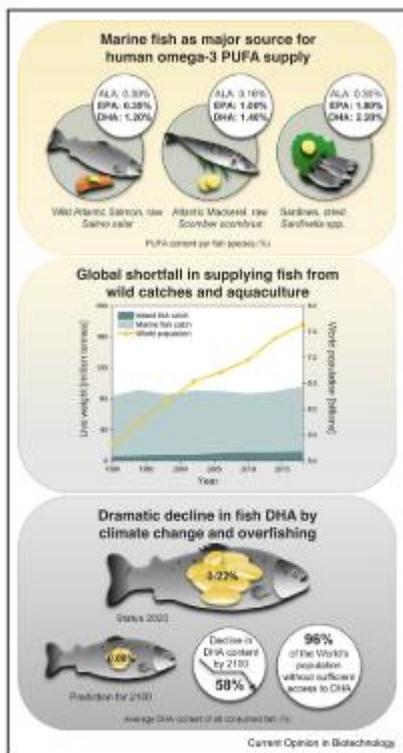
## **BAB III**

### **Aplikasi Bidang Perikanan**

Produksi ikan global mencapai puncaknya sekitar 171 juta ton pada tahun 2016, dengan akuakultur menyumbang total 47 persen (80 juta ton). Meskipun produksi perikanan tangkap tetap statis sejak tahun 1980-an, produksi akuakultur berkembang pesat dan sekarang hampir setara dengan perikanan tangkap. Pertumbuhan sektor perikanan budidaya juga lebih cepat dari sektor produksi pangan utama lainnya yang mencatat tingkat pertumbuhan tahunan sebesar 5,8 persen selama periode 2001–2016. Pada tahun 2016, dari total produksi ikan, 12 persen (sekitar 20 juta ton) digunakan untuk keperluan non-pangan. Sebagian besar (74 persen atau 15 juta ton) direduksi menjadi tepung ikan dan minyak ikan, sedangkan sisanya (5 juta ton) sebagian besar digunakan sebagai bahan untuk pakan langsung dalam budidaya dan pemeliharaan ternak dan bulu hewan, dalam budidaya, sebagai umpan, dalam penggunaan farmasi dan untuk tujuan hias. Sekitar 220 spesies hewan dan tumbuhan air dibudidayakan di seluruh dunia, dalam berbagai sistem produksi. Umumnya sistem produksi akuakultur dapat dibagi menjadi sistem yang bergantung pada pakan atau budidaya dengan pakan (misalnya ikan bersirip dan krustasea) atau sistem budidaya tanpa pakan di mana

budidaya sebagian besar bergantung pada lingkungan alami untuk makanan, misalnya tanaman air dan moluska.

Figure 2



Global view of the supply and demand of the marine PUFAs DHA and EPA. The data comprise the current PUFA contents in oily fish species, that is, salmon, mackerel, and sardines, the most important foods for DHA and EPA intake (top) [126]. The global shortage between marine PUFA supply and demand becomes obvious from the stagnation of wild fish catches [129] against the continuous growth of the human population (middle). Long-term predictions of the expected shortage of DHA supply from drastically declining DHA content in average fish consumed are shown (bottom) [27].

## **Tepung Ikan sebagai Bahan Pakan Ikan Budidaya**

Peternakan ikan komersial bergantung pada aquafeeds di mana tepung ikan adalah bahan utama. Tepung ikan dan minyak ikan banyak digunakan dalam pakan ikan (aquafeed) karena beberapa alasan yang meliputi:

- Adanya kandungan protein yang tinggi, profil asam amino esensial yang baik, mineral dan asam lemak esensial;
- Palatabilitas dan pencernaan yang baik, sehingga meningkatkan pertumbuhan ikan dan mengurangi sisa pakan; dan
- Manfaat kesehatan seperti peningkatan kekebalan, tingkat kelangsungan hidup dan penurunan insiden kelainan bentuk.

Minyak ikan terutama asam lemak tak jenuh ganda (PUFA) dianggap sebagai asam lemak esensial (EFA). Asam docosahexaenoic (DHA) diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangan ikan yang optimal. Dalam larva, angka kematian yang tinggi terutama terkait dengan rendahnya kadar asam lemak tak jenuh poli diet. Asam lemak tak jenuh poli berfungsi sebagai komponen penting dari biomembran, dan kadarnya dalam fraksi fosfolipid jaringan berhubungan dengan pertumbuhan larva. DHA relevan untuk perkembangan jaringan saraf seperti otak dan retina, mengingat kepala larva merupakan bagian penting dari massa tubuh, dan larva ikan pemangsa mengandalkan

penglihatan untuk menangkap makanan mereka. Karena ikan tidak dapat mensintesis ini di bawahde novo, itu harus diperoleh melalui diet. Ikan liar memperoleh asam lemak omega-3 ini dari ganggang laut yang diberi makan sedangkan ikan budidaya membutuhkan DHA dalam jumlah besar dari pakan.

### **Alternatif Tepung Ikan/ Minyak Ikan**

Saat ini tepung ikan dan minyak digunakan dan permintaannya meningkat di seluruh dunia. Namun, pasokan yang terbatas dan kenaikan harga ikan liar, bahan baku alternatif yang berkelanjutan dan ramah lingkungan semakin banyak digunakan dalam formulasi aquafeed. Kemajuan substansial telah dibuat untuk meminimalkan pemanfaatan tepung ikan dan minyak ikan melalui substitusi bahan baku laut ini dengan protein dan minyak yang berasal dari darat. Beberapa upaya telah dilakukan untuk menggantikan tepung ikan dengan sumber alternatif dan berkelanjutan, terutama nabati, yang tersedia dengan harga yang wajar jika dibandingkan dengan tepung ikan. Bahan nabati juga mungkin memiliki senyawa beracun yang mungkin memiliki efek negatif pada pertumbuhan ikan budidaya. Beberapa mikroorganisme seperti ragi, bakteri dan jamur digunakan untuk mengurangi efek anti-nutrisi pada bahan tanaman dan menambahkan nutrisi penting seperti protein dan asam amino. Protein yang berasal dari tanaman tanaman yang digunakan dalam aquafeed memiliki daya cerna yang rendah dan kekurangan asam amino

esensial tertentu seperti lisin, metionin , treonin dan triptofan. Penggunaan minyak nabati sebagai pengganti minyak ikan telah meningkat secara signifikan. Namun, penggantian minyak ikan dengan minyak nabati memiliki banyak keterbatasan. Karena minyak ini kaya akan asam lemak n-6, inklusi dengan minyak tersebut menurunkan rasio n-3:n-6 pada ikan budidaya. Selain itu asam lemak rantai panjang lebih bermanfaat daripada asam lemak rantai pendek. Oleh karena itu penting untuk mencari alternatif sumber protein dan lipid yang ekonomis dan berkelanjutan.

### **Mikroalga sebagai Bahan Aquafeed**

Mikroalga merupakan salah satu bahan pakan dengan kualitas nutrisi yang unggul dan potensi ketersediaannya. Profil asam amino dari banyak alga yang diamati mengandung semua asam amino esensial bahkan jika totalnya kandungan protein (8-50% berat kering) menunjukkan variasi yang signifikan. Selain itu hampir semua alga juga kaya akan n-3 LC-PUFA. Jadi ganggang atau produk turunan ganggang tampaknya menjadi bahan baku yang sangat menjanjikan untuk digunakan dalam aquafeed. Alga merupakan produsen utama dalam jaring-jaring makanan akuatik. Saat ini lebih banyak penelitian yang berfokus pada pemanfaatan alga sebagai bahan potensial untuk pengembangan aquafeed. Beberapa penelitian di seluruh dunia menyarankan bahwa penggabungan alga (2,5-10% dari diet) dalam pakan ikan menghasilkan efek positif. Tepung alga bertindak sebagai

suplemen pakan yang baik untuk menetralkan peradangan usus dan juga membantu dalam peletisasi aquafeed. Telah didokumentasikan bahwa dosis dan spesies mempengaruhi efek inklusi alga dalam pakan. Meski begitu, tingginya tingkat inklusi alga dalam pakan aqua memiliki efek buruk pada pertumbuhan ikan dan efisiensi pakan. Baik alga autotrofik dan heterotrofik digunakan untuk studi penggantian. Studi tentang alga autotrofik *Ulva* spp. menunjukkan bahwa dimasukkannya pada berbagai tingkat dalam pakan, menunjukkan penurunan pertumbuhan dan pemanfaatan pakan pada ikan rainbow trout yang diberi tepung alga 10%. Hasil tersebut juga diamati pada ikan air tawar hitam dan ikan air tawar kepala gilt (15%), serta ikan mas dan nila (20%). Efek berbahaya ini mungkin karena adanya senyawa anti-nutrisi seperti lektin, tanin, asam fitat, dan inhibitor protease dan amilase yang ada dalam alga. Ketika digunakan pada alga inklusi rendah adalah bahan yang sangat berguna untuk fortifikasi aquafeed. menunjukkan penurunan pertumbuhan dan pemanfaatan pakan pada ikan rainbow trout yang diberi 10% tepung alga. Hasil tersebut juga diamati pada ikan mas dan ikan nila (20%). Efek berbahaya ini mungkin karena adanya senyawa anti-nutrisi seperti lektin, tanin, asam fitat, dan inhibitor protease dan amilase yang ada dalam alga. Ketika digunakan pada alga inklusi rendah adalah bahan yang sangat berguna untuk fortifikasi aquafeed. menunjukkan penurunan pertumbuhan dan pemanfaatan pakan pada ikan rainbow trout yang diberi 10% tepung alga. Hasil tersebut juga diamati pada

ikan mas dan ikan nila (20%). Efek berbahaya ini mungkin karena adanya senyawa anti-nutrisi seperti lektin, tanin, asam fitat, dan inhibitor protease dan amilase yang ada dalam alga. Ketika digunakan pada alga inklusi rendah adalah bahan yang sangat berguna untuk fortifikasi aquafeed.

Di antara berbagai mikroalga, mikroalga autotrofik memiliki beberapa kelemahan dengan produksi komersial, sedangkan mikroalga heterotrofik bertindak sebagai kandidat yang menjanjikan dengan potensi produksi asam lemak -3 rantai panjang yang signifikan dan karenanya penelitian mikroba heterotrofik telah mendapatkan minat yang luas selama beberapa dekade terakhir.

Thraustochytrids-Bahan Pakan yang ampuh Thraustochytrids adalah salah satu organisme potensial di pasar PUFA. Thraustochytrids adalah osmo heterotrofik, oleaginous, eukariotik, jamur monosentris uniseluler seperti Protista. Mereka diklasifikasikan di bawah kingdom Heterokonta dan kelas Labyrinthulomycetes (Leader et al. 2004, Damare, 2009). Thraustochytrids terdiri dari 10 genera (Yokoyama dan Honda, 2007, Raghukumar 2011) terdiri lebih dari 30 spesies.

Rata-rata Thraustochytrids dalam kondisi tidak optimal menghasilkan lemak total sekitar 10-50% dari biomassa dan 30-70% di antaranya adalah DHA. Kemampuan produksi Thraustochytrids untuk biomassa, total lipid, dan kandungan DHA sangat bervariasi. Produksi puncak

lipid sebagian besar terjadi pada akhir eksponensial atau fase stasioner awal dan sangat dipengaruhi oleh komposisi medium, suhu inkubasi, pH, umur kultur, konsentrasi air laut, serta kecepatan dan bentuk impeller dalam fermentor. Terlepas dari parameter fisikokimia ini, pemilihan strain yang sesuai juga penting untuk mendapatkan hasil yang baik. Selama beberapa tahun terakhir kegiatan penelitian difokuskan untuk mengoptimalkan berbagai faktor fisiko-kimia untuk meningkatkan produktivitas DHA. Salinitas dan suhu optimum yang dibutuhkan untuk produksi biomassa dan asam lemak masing-masing adalah 15-22,5‰ dan 20-25°C. Dengan demikian diperlukan standarisasi kondisi budidaya untuk mengembangkan biomassa maksimum dalam rentang waktu yang relatif singkat. Sebagai contoh *Schizochytrium limacinum*, spesies yang awalnya dijelaskan, SR21 menghasilkan, lipid sekitar 50% dari berat sel kering dengan 93% triasilgliserol (TG). Kandungan DHA lipid adalah 34% dari total asam lemak. Studi rinci pada strain ini menghasilkan nilai biomassa maksimal 48,1 g biomassa media L<sup>-1</sup> dalam 4 hari, hingga 77% lipid dalam biomassa dan 43,1% DHA dalam lipid, sebesar 13,3 g media L<sup>-1</sup>. adalah dengan memperkaya larva udang air asin atau rotifera dengan sel thraustochytrid hidup sebelum memberi mereka makan ikan. Strategi kedua menggunakan pemberian makan langsung thraustochytrids (pellet campuran kering semprot atau kering beku) ke ikan atau moluska. Strategi ketiga melibatkan formulasi pakan ikan yang terdiri dari minyak atau makanan turunan thraustochytrid

sebagai bahan dalam resep. Beberapa penelitian tersebut pada ikan mengkonfirmasi bahwa minyak thraustochytrid dapat digunakan sebagai alternatif yang memadai untuk minyak ikan. Penggabungan kering *Skizochytrium* regangan dalam makanan ikan lele saluran (*Ictalurus punctatus*), pada konsentrasi rendah 1,0-1,5%, menyebabkan peningkatan berat badan seiring dengan peningkatan rasio efisiensi pakan dan tingkat PUFA. Eksperimen lain termasuk biomassa kering semprot *Skizochytrium* sp. pada 5% dalam pakan untuk salmon Atlantik berhasil menggantikan minyak ikan tanpa mempengaruhi laju pertumbuhan ikan dan rasio konversi makanan (FCR), protein makanan, pencernaan energi, dan kualitas daging. Percobaan penggantian minyak ikan serupa yang dilakukan pada ikan nila menunjukkan peningkatan berat badan yang signifikan, rasio konversi pakan, dan rasio efisiensi protein dan juga memiliki kandungan DHA yang lebih tinggi dalam lipid fillet, yang mencerminkan DHA yang lebih tinggi yang dipasok melalui makanan. Disimpulkan juga bahwa pada udang vaname Pasifik (*L. vannamei*) larva *Skizochytrium* (4%) pakan yang digabungkan dengan makanan dapat meningkatkan kinerja pertumbuhan. Telah diamati bahwa mikroalga heterotrofik *Skizochytrium* menjanjikan karena kualitas nutrisinya dan kemampuannya untuk dimanfaatkan secara efisien oleh spesies budidaya yang diinginkan. Apalagi teknologi budidaya massal *Skizochytrium* dikembangkan sepenuhnya, dan dapat diproduksi

secara komersial untuk mengurangi penggunaan minyak ikan dalam aquafeed dalam waktu dekat.

### **Aplikasi Komersial Thraustochytrids**

Beberapa produk berdasarkan Thraustochytrids tersedia sekarang. Beberapa negara di seluruh dunia sekarang memproduksi minyak kaya omega-3 dari thraustochytrids sebagai sumber PUFA yang ditingkatkan atau alternatif. DSM dan Alltech adalah perusahaan semacam itu. Sementara DSM adalah pemimpin dalam produksi minyak kaya omega-3 dari thraustochytrids (DHAgold™) untuk konsumsi manusia dan pakan ternak, Alltech menargetkan pakan ternak terutama dengan produk mereka All-GRich.

## **BAB IV**

### **Aplikasi untuk Nutrisi dan Nutraceuticals**

Suplemen nutrisi fungsional yang diproduksi dari mikroalga mengalami kenaikan trend seiring dengan gaya hidup sehat masyarakat yang ditunjang dengan perkembangan hasil penelitian bidang teknologi bioproses yang semakin pesat. Biomassa kering yang dihasilkan dari pembiakan (kultivasi) mikroalga kemudian diekstraksi untuk mendapatkan senyawa yang diinginkan. Perhatian besar juga semakin meningkat pada teknologi produksi alga sel tunggal penghasil lipid dan asam lemak untuk skala komersial (Singh, 2014; Sarker, 2016).

Tabel 1. menampilkan tiga produk utama yang bisa dihasilkan oleh *Aurantiochytrium*, masing-masing omega-3, squalene dan astaxanthin. Pada awalnya, ketiga produk tersebut mayoritas didapat dari ikan dan produk olahan ikan, misalnya dalam bentuk minyak ikan. Akan tetapi, seiring dengan semakin meningkatnya biaya produksi minyak ikan secara komersial dari tangkapan ikan di laut disertai tantangan lingkungan yang tercemar yang mempengaruhi kualitas ikan, maka mikroalga menjadi alternatif utama pengganti bahan baku untuk produksi

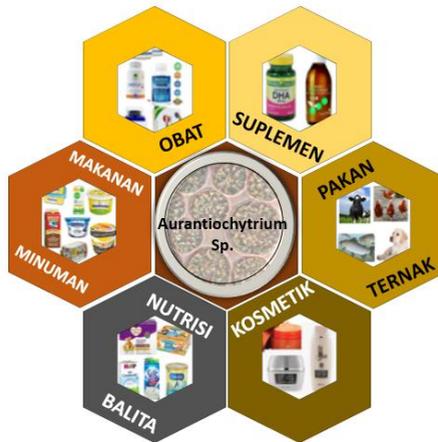


mengurangi resiko penyakit jantung dan penyakit gangguan saraf (Gustafson, 2018). Bagi balita, omega-3 akan menunjang pertumbuhan sel-sel saraf dan kesehatan penglihatan (Suphioglu, 2010). Tabel 2 menampilkan ilustrasi cakupan produk yang dapat dihasilkan dari *Aurantiochytrium* sebagai bahan baku pengganti organisme laut yang biasa digunakan. Bila hal ini berhasil diterapkan, selain diprediksi akan menghasilkan nilai ekonomis, juga membantu pelestarian lingkungan karena berpotensi menurunkan tangkapan organisme laut puluhan juta ton per tahun (Veramis, 2017).

Tabel 1 Rangkuman nutrisi fungsional yang dapat diproduksi spesies *Aurantiochytrium*

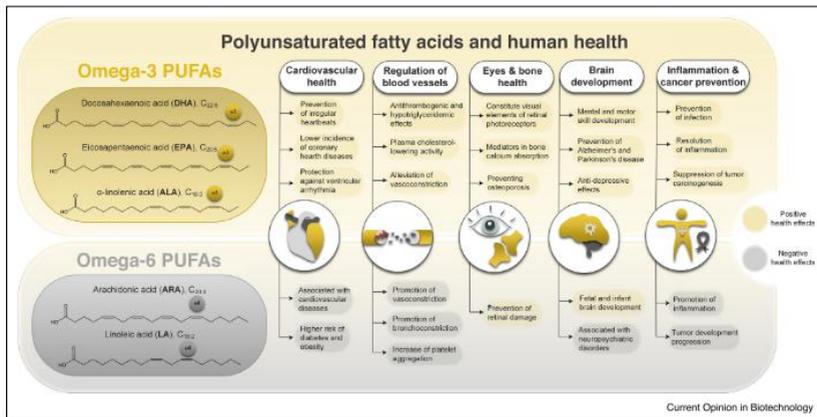
<b>Nama produk</b>	<b>Keterangan aplikasi dan manfaat</b>	<b>Referensi</b>
Omega-3	Omega-3 (dalam bentuk docohexanoic acid) adalah asam lemak tak jenuh berantai panjang (polyunsaturated fatty acid) adalah senyawa yang diperlukan tubuh manusia, sementara tubuh manusia tidak mampu mensintesis senyawa ini. Nutrisi ini berguna untuk antihyperlipid/ obesitas, pelancar tekanan darah, anti inflamasi,	(Christophe, 2014) (Wang, 2018), (Bellou 2016), [3]Madeira, 2017), (Ma, 2017),

<b>Nama produk</b>	<b>Keterangan aplikasi dan manfaat</b>	<b>Referensi</b>
	<p>pengecegah alzheimer, menjaga kesehatan penglihatan, menurunkan risiko penyakit jantung dan diabetes. Selain untuk manusia, asam lemak tak jenuh yang dikandung diperlukan untuk pakan ternak dan aquaculture/perikanan.</p>	<p>(Chandra sekaran, 2018), (Allemen, 2018), (Takahashi, 2019)</p>
Squalene	<p>Squalene adalah senyawa khas yang dihasilkan di bagian hati ikan hiu laut dalam. Senyawa ini sangat diperlukan di industri farmasi sebagai antioksidan, antikanker dan adjuvant vaksin.</p>	<p>(Ben, 2004), (Spanova, 2011), (Hiller, 2013), (Biotechnol, 2014), (Popa, 2015)</p>
Astaxanthin	<p>Astaxanthin adalah karotenoid/tetraterpenoid yang umumnya berperan sebagai pewarna alami yang biasa ditemukan di tubuh udang, kepiting dan ikan salmon serta beberapa tanaman.</p>	<p>(Gong, 2016), (Byreddy, 2016) (Zhang 2019)</p>



Gambar **Error! No text of specified style in document.** Ilustrasi cakupan nutrisi fungsional yang dapat diproduksi dari mikroalga species *Aurantiochytrium*. Mikrograph mikroalga pada gambar ini dimodifikasi dari [4].

# PUFA



## **BAB V**

### **Aplikasi untuk Adjuvant Vaccine Covid-19**

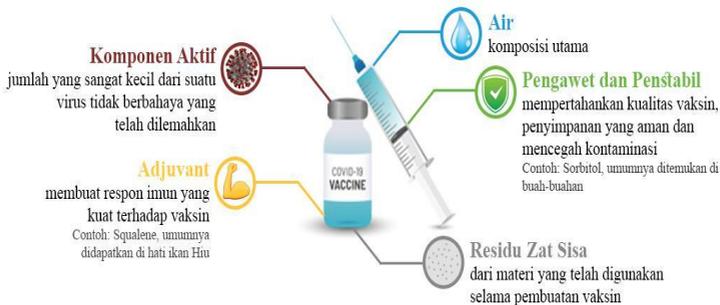
Pandemi Coronavirus disease 2019 (COVID-19) masih menjadi masalah yang terjadi di lebih dari 200 negara di dunia (World Health Organization, 2021). COVID-19 telah diidentifikasi sebagai wabah penyakit pernapasan menular di Wuhan, Republik Rakyat Tiongkok (Adhikari SP, 2020). Per 11 Februari 2021, Telah tercatat ada 106.797.721 kasus COVID-19 yang telah dikonfirmasi, dan termasuk dengan jumlah kematian terkait COVID-19 mencapai 2.341.145 di seluruh dunia (World Health Organization, 2021). Pandemi ini telah menghasilkan lonjakan cepat dalam bidang penelitian sebagai tanggapan terhadap kondisi tersebut.

The emergency committee telah menyatakan bahwa penyebaran COVID-19 dapat dihentikan jika dilakukan proteksi, deteksi dini, isolasi dan perawatan yang cepat agar tercipta implementasi sistem yang kuat untuk menghentikan penyebaran COVID-19 (Sun dkk, 2020). Menimbang hal tersebut, berbagai negara di seluruh dunia telah berkomitmen bersama dengan melibatkan pemerintah, perusahaan bioteknologi, ilmuwan, dan

akademisi untuk menciptakan vaksin COVID-19. Sejauh ini telah banyak kandidat vaksin yang diorbitkan untuk melawan virus SARS-CoV-2, penyebab COVID-19 (Prompetchara, 2020). Hingga 2 Oktober 2020, World Health Organization (WHO) menyatakan terdapat 193 kandidat vaksin COVID-19, beberapa diantaranya ialah Sinovac, Pfizer, Sinopharm, AstraZeneca, Novavax, GlaxoSmithKline (GSK) dan NIAID.

Vaksinasi COVID-19 sangat penting untuk tiap manusia di setiap negara di dunia saat ini. Pemberian vaksin ini sangatlah mendesak, bukan hanya untuk melindungi tubuh dari COVID-19, tetapi juga memulihkan kondisi sosial dan ekonomi negara yang terkena dampak pandemi COVID-19. Vaksinasi bertujuan untuk membuat sistem kekebalan tubuh seseorang mampu mengenali dan melawan virus penyebab infeksi (Hopkins Medicine, 2021). Tujuan pengadaan vaksin COVID-19 adalah untuk menekan penyebaran angka kasus kesakitan dan angka kematian akibat virus ini. Dengan munculnya COVID-19, peran penting yang dimainkan oleh vaksin dalam melindungi kesehatan kita menjadi fokus utama. Selama pandemi ini, harapan datang dalam bentuk vaksin dan ahli imunologi di

seluruh dunia sedang bekerja keras untuk mengembangkan vaksin yang melindungi manusia dari infeksi COVID-19.



Gambar 1. Komponen suatu Vaksin

Di dalam suatu vaksin terdapat berbagai komponen penting yang harus ada di dalamnya, antara lain adalah komponen aktif yaitu jumlah yang sangat kecil suatu virus tidak berbahaya yang telah dilemahkan, air sebagai komposisi utama, pengawet dan penstabil untuk mempertahankan kualitas vaksin dan mencegah kontaminasi, serta adjuvant untuk menciptakan respons imun yang lebih kuat terhadap vaksin (Immunology, 2020). Komponen-komponen tersebut harus ada di dalam suatu vaksin

agar menghasilkan vaksin yang memiliki tingkat efikasi yang tinggi.

Salah satu komponen penting yang ada di suatu vaksin adalah adjuvant. Adjuvant vaksin adalah komponen yang merangsang respons imun terhadap antigen dan memodulasinya menuju respons imun yang diinginkan (European Medicines Agency, 2005). Beberapa macam bahan baku yang dapat digunakan sebagai adjuvant vaksin adalah aluminium-based material, squalene dan virosomes (Ling Xue, 2020).

Salah satu nutrisi fungsional yang dikenal saat ini adalah squalene, yang telah lama dikenal sebagai bahan bantu (adjuvant) untuk vaksin dan pembawa obat (Gohil, 2019). Squalene sudah diujikan secara klinis sebagai vaksin influenza dan menunjukkan hasil efikasi yang baik (Süli, 2020). Karena hal tersebut, squalene digunakan sebagai vaksin influenza dan telah dinyatakan sebagai adjuvant yang aman oleh World Health Organization. Umumnya emulsi squalene ditambahkan sekitar 10 mg per dosis vaksin (WHO, 2020).

Saat ini, squalene menjadi pilihan untuk digunakan sebagai adjuvant vaksin COVID-19 (Gupta, 2020). Sifat fisika dan

kimia dari squalene sebagai adjuvant vaksin COVID-19 menunjukkan konsistensi yang baik (Kalvodova, 2009 dan Stelzner, 2020).

Squalene adalah senyawa alami yang ditemukan di sebagian besar tumbuhan dan hewan, tetapi sering diperoleh untuk tujuan komersial dari minyak hati ikan hiu (Cotteril, 2020). Dengan kebutuhan vaksin yang semakin banyak tiap waktunya untuk kondisi pandemi, hal ini menimbulkan kekhawatiran dan wacana kritis dari berbagai pihak terkait perburuan massal ikan hiu sebagai bahan baku squalene sehingga ikan hiu terancam mengalami kepunahan . Seiring ledakan populasi global, kebutuhan akan vaksin akan meningkat di tahun-tahun mendatang. Hal tersebut tentu saja berbanding lurus dengan kebutuhan squalene dari ikan hiu yang harus siap memenuhi permintaan untuk produksi vaksin. Diperlukan hati hiu sekitar 2.500 sampai 3000 ekor hiu untuk mengekstraksi sekitar satu ton squalene (Meneguzzi, 2020), sedangkan diperlukan sekitar 500.000 ekor hiu untuk menghasilkan squalene untuk miliaran dosis vaksin yang dibutuhkan untuk menyuntik semua orang di planet ini dua kali (Herald, 2020).

## **BAB VI**

### **Isolasi Mikroalga *Aurantiochyrium***

Dengan lebih dari 3 juta hektar hutan bakau, Indonesia diakui sebagai negara bakau terkaya di dunia. Keberadaan hutan bakau ini telah dikenal sebagai pelindung bagi seluruh area untuk menstabilkan garis pantai, mengurangi erosi dari badai, arus, gelombang, dan pasang surut. Ekosistem di hutan bakau memberikan peluang habitat yang unik bagi banyak spesies misalnya ikan, udang, dan mikroalga.

Studi sebelumnya tentang mikroalga dari ekosistem hutan bakau telah dipelajari secara intensif karena memiliki banyak manfaat yang menjanjikan dari produk yang berasal dari mikroalga untuk manusia termasuk industri nutrisi dan farmasi. Mikroalga memiliki kandungan DHA Omega-3 yang tinggi. Omega-3 DHA adalah asam lemak tak jenuh ganda yang sangat diperlukan untuk meningkatkan fungsi fisiologis tubuh manusia. Asupan yang memadai akan mengurangi risiko Alzheimer, meningkatkan kinerja sel-sel otak dan mata, serta mengurangi risiko penyakit jantung dan penyakit neurologis.

Jumlah spesies mikroalga yang ada tidak diketahui, diperkirakan antara 200.000 hingga jutaan, sementara tanaman yang berukuran lebih tinggi diperkirakan sekitar 250.000 spesies. Namun,

strain mikroalga dari habitat hutan bakau Indonesia sejauh ini belum dianalisis secara komprehensif dan diterbitkan secara internasional. Oleh karena itu, adanya penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi mikroalga dari kawasan hutan bakau Indonesia.

Meskipun wilayah pantai di Indonesia sudah terkenal, namun, studi tentang keanekaragaman hayati tentang mikroalga di beberapa hutan bakau Indonesia belum diteliti secara menyeluruh. Hal ini sangat disayangkan mengingat bahwa mungkin ada beberapa potensi keanekaragaman hayati di hutan bakau Indonesia, terutama sebagai ekosistem untuk mikroalga. Terdapat 3 lokasi hutan bakau yang akan dijadikan sebagai sampel pada penelitian ini yaitu hutan bakau di daerah Raja Ampat, Sorong, serta Kulon Progo Yogyakarta.

Pada penelitian ini, jenis mikroalga yang akan diisolasi adalah mikroalga Thraustochytrids. Dimana jenis mikroalga ini dapat ditemukan pada daun bakau yang sudah jatuh dan mengapung di air. Mikroalga Thraustochytrids merupakan spesies mikroalga yang dapat menghasilkan DHA, dikarenakan mikroalga tersebut dapat tumbuh dalam kondisi heterotrof sehingga dapat diproduksi dengan biaya yang lebih rendah. Selain itu, keuntungan lain yang dimiliki oleh mikroalga Thraustochytrids yaitu memiliki kecepatan tumbuh dan kemampuan mengakumulasi asam lemak yang lebih tinggi dibandingkan dengan mikroalga lainnya [5].

Terdapat 3 metode yang dapat digunakan untuk mengisolasi mikroalga Thraustochytrids yaitu *direct plating method*, *pain pollen*

*baiting* serta dapat diisolasi menggunakan lembaran herbarium dari alga kering. Pada penelitian ini metode yang kami gunakan adalah metode *direct plating*. Dimana pada metode ini daun bakau yang sudah diambil dipotong kecil dengan ukuran 1 cm<sup>2</sup> kemudian ditanam diatas permukaan agar pada *petridish disposable*.

Faktor nutrisi adalah salah satu faktor penting yang perlu diperhatikan dalam pertumbuhan mikroalga. Terdapat 2 nutrisi yang dibutuhkan dalam pertumbuhan mikroalga, yaitu mikronutrien (Fe, Cu, Mn, Zn, Co, Mo, Bo, Vn, dan Si) dan makronutrien (C, H, P, K, S, Mg, dan Ca) [6]. Penambahan nutrisi pertumbuhan ke dalam media kultur mikroalga dinilai merupakan aspek yang paling berpengaruh terhadap kuantitas biomassa hasil kultivasi mikroalga. Dalam penelitian ini menggunakan beberapa nutrisi untuk pertumbuhan mikroalga jenis Thraustochytrids. Sehingga dapat diketahui nutrisi apa saja yang berpengaruh terhadap pertumbuhan mikroalga Thraustochytrids.

Mikroalga pada umumnya merupakan spesies autotrofik uniseluler dan dapat ditemukan di air tawar dan air laut. Mikroalga menghasilkan bahan-bahan kompleks, seperti lipid, karbohidrat dan protein, dengan memanfaatkan zat karbon yang ada di lingkungan. Biasanya, mereka memanfaatkan karbon dioksida dari udara untuk pertumbuhan dan produksi energi mereka. Ada beberapa mikroalga yang memanfaatkan sumber karbon organik untuk menghasilkan

biomassa. Menurut catatan taksonomi, ada lebih dari 300.000 spesies mikroalga di mana sekitar 30.000 spesies mikroalga dilestarikan. Mereka menyukai lingkungan alam yang beragam dan akan mudah beradaptasi dengan keadaan yang tidak dapat ditoleransi seperti perubahan salinitas, suhu, nutrisi, kekuatan cahaya, dll [7].

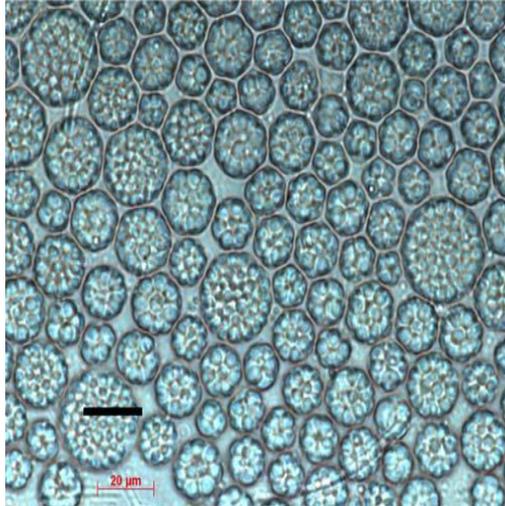
Mikroalga merupakan kelompok organisme yang sangat beragam dan dikenal sebagai penghasil senyawa yang unik dan tidak biasa. Sama seperti organisme yang lainnya, lipid dan asam lemak adalah konstituen seluler dasar yang berfungsi sebagai komponen struktural sel dan sebagai produk penyimpanan bagi sel. Mikroalga dengan kandungan lemak dan asam lemak seperti mikroorganisme lainnya belum dapat dicirikan secara umum, namun berdasarkan informasi yang tersedia menunjukkan bahwa mereka dapat menghasilkan lipid dan asam lemak yang tidak biasa dan menarik [8]. Mikroalga mengandung berbagai macam nutrisi seperti sumber protein, lipid, dan zat gizi mikro yang penting dalam pakan, selain itu nutrisi dalam mikroalga juga bermanfaat di bidang pertanian. Mikroalga juga memberikan perlindungan alami terhadap mikroba patogen, sehingga pencegahan penyakit dapat dilakukan melalui produksi senyawa anti-mikroba alami dan imunostimulan [9].

Mikroalga dapat digunakan sebagai sumber energi bahan bakar alternatif karena mengandung lemak, yang dapat diekstraksi, diproses, dan dikonversi menjadi bahan bakar transportasi menggunakan teknologi yang tersedia. Perkembangan dalam

teknologi bioresource menunjukkan bahwa mikroalga merupakan organisme fotosintetik sel tunggal yang mengandung sejumlah besar asam lemak, hal ini menjadikan mikroalga sebagai sumber yang menjanjikan untuk biodiesel [10]. Di antara berbagai bahan baku untuk produksi biodiesel, mikroalga telah menerima perhatian besar dalam beberapa tahun terakhir karena potensi produktivitas dan kandungan triasilgliserol yang tinggi, serta fleksibilitasnya untuk dibudidayakan di lahan yang tidak subur [11].

### **Mikroalga Thraustochytrids**

Thraustochytrids termasuk dalam kelompok laut yang disebut labyrinthulomycetes yaitu spesies beruntai tunggal yang tersebar luas di lingkungan perairan. Protista monosentris seperti itu menarik perhatian karena strukturnya yang beragam dan karakterisasi biokimia mereka. Atas dasar analisis filogenetik, thraustochytrides termasuk dalam kelompok mikroorganisme heterokontophyta dan juga beberapa filum mikroba laut lainnya seperti Chromophytes dan Prymnesiophytes, meskipun mereka dianggap sebagai kelompok tersendiri. Sel thraustochytrid berbentuk bulat, dengan diameter antara 30 dan 100  $\mu\text{m}$ . Dibandingkan dengan bakteri, thraustochytrids menghasilkan minyak asam lemak tak jenuh ganda (PUFA) dengan persentase tinggi dan kemungkinan hasil DHA dan EPA yang lebih tinggi melalui proses fermentasi [12].



**Gambar II. 1 Schizochytrium Salah Satu Anggota Thraustochytrids (Sumber: Raghukumar, 2008)**

Thraustochytrids merupakan kelompok dari protista eukariotik laut dimana merupakan kontaminan utama dari kultur sel primer invertebrata, termasuk kultur sel dari spons, cnidaria, krustasea, moluska, echinodermata dan tunikata [13]. Sebelumnya, Thraustochytrids dikenal sebagai 'jamur bawah' yaitu Stramenopiles laut, dimana termasuk ke dalam ordo Thraustochytrida dan famili Thraustochytriaceae. Ketidakmampuan mereka dalam berfotosintesis diakibatkan karena hilangnya evolusi kloroplas mereka. Thraustochytrids telah menjajah berbagai macam habitat, termasuk laut dalam, namun dapat ditemukan sangat melimpah di dalam

perairan yang keruh. Thraustochytrids merupakan koloni utama serasah daun pada habitat hutan bakau subtropis [14].

Selama bertahun-tahun, taksonomi thraustochytrid telah meningkat dengan adanya pengembangan teknik molekuler modern dan biokimia yang menghasilkan isolasi dan jenis strain baru. Selain itu, thraustochytrid ini juga ditinjau mengenai hubungan taksonomi dan ekologi thraustochytrids dan aplikasi bioteknologi mereka sebagai produsen asam docosaheptaenoic (DHA), karotenoid, dan senyawa menarik lainnya [15].

### **Hutan Bakau**

Hutan bakau dikenal sebagai *green belt* di wilayah pesisir pantai, dimana telah tersebar di 123 negara yang memiliki iklim tropis maupun subtropis. Ekosistem bakau sebagai *green belt* memiliki prinsip kerja untuk melindungi pantai. Bakau memberikan perlindungan dengan redaman tinggi gelombang dan energi, bertindak sebagai penghalang alami untuk gelombang yang datang, menghilangkan energi gelombang dan juga mengurangi erosi [16]. Bakau adalah ekosistem yang kaya akan karbon dan sangat produktif karena mereka menerima nutrisi baik dari laut maupun darat. Sayangnya, populasi hutan bakau di dunia telah mengalami penurunan selama setengah abad terakhir dikarenakan pembangunan daerah pesisir, perluasan area akuakultur, serta pemanenan yang berlebihan. Hutan bakau memperlihatkan zonasi yang nyata yang mana dikaitkan

dengan respon spesies terhadap faktor faktor seperti hidrologi (akumulasi debit/aliran sungai), bioklimatik (suhu dan curah hujan), ketinggian permukaan, serta geokimia tanah (salinitas) dari ekosistem ini [17].

Di Indonesia hutan bakau tersebar hampir diseluruh wilayah nusantara. Hutan bakau terdiri dari tanaman bakau dari berbagai famili yang berbeda. Walaupun berasal dari famili yang berbeda namun pada dasarnya tanaman ini memiliki persamaan daya adaptasi morfologi dan fisiologi yang sama terhadap habitat yang dipengaruhi oleh pasang surut air laut. Penting untuk diketahui bahwasanya tanaman ini mampu hidup dan berkembang dengan lingkungan pesisir yang memiliki kadar garam sangat ekstrim, kondisi air yang jenuh, kondisi tanah yang kurang stabil dan anaerob. Keberadaan bakau di kawasan pesisir pantai diiringi dengan ekosistem lainnya seperti alga (makroalga dan mikroalga), padang lamun serta terumbu karang [18].

Luas hutan bakau di Indonesia mencapai 23% dari seluruh hutan bakau yang ada di dunia. Hutan bakau baik di daratan maupun perairannya merupakan daerah yang subur. Kondisi ini terjadi karena daerah ini merupakan tujuan terakhir dari endapan lumpur ataupun partikel partikel organik yang terbawa oleh air dari daerah hulu karena erosi. Terlebih lagi pasang surut di daerah hutan bakau akan menyebabkan terjadinya transportasi nutrien. Vegetasi bakau memiliki struktur anatomi dan morfologi tertentu sebagai respon fisiogenetik terhadap habitatnya yaitu perairan. Misalnya bakau yang memiliki

vegetasi halopitik akan menyukai daerah atau tanah tanah yang bergaram [19].

Keberadaan hutan bakau dapat menjaga populasi ikan, kerang dan berbagai organisme yang berada di sekitarnya. Tak hanya itu hutan ini juga menjadi penyedia tempat untuk mengembang biakan serta membesarkan berbagai spesies hewan. Nutrien yang diproduksi oleh hutan bakau dapat menjadikan perairan laut subur, membantu perputaran karbon, nitrogen, dan sulfur. Nutrien organik maupun anorganik merupakan nutrien yang terdapat di perairan kawasan hutan bakau [20].

### **Metode Isolasi Thraustochytrids**

Thraustochytrids umumnya diisolasi dengan menggunakan teknik *direct plating*. Namun Thraustochytrids juga dapat diisolasi dengan menggunakan teknik *pollen baiting* sampel air laut dengan menggunakan polen pohon pinus, atau juga dapat diisolasi dengan menggunakan lembaran herbarium dari alga kering. Untuk teknik *direct plating*, potongan kecil seluas 1 cm<sup>2</sup> dipotong dari tanaman atau material yang ditumbuhi alga dan diletakkan diatas permukaan agar pada *petridish disposable*. Pada *pollen baiting*, tanaman atau material beralga diletakkan di dalam tabung atau *petridish disposable* yang di dalamnya telah berisi air laut steril. Selanjutnya, permukaan atasnya ditaburi polen steril. Sedimen sampel selanjutnya digoreskan pada permukaan agar pada plat isolasi [21].

## **Asam Dokosaheksanoat (DHA)**

Asam docosahexaenoic (DHA, C<sub>22</sub>: 6n-3) merupakan rantai panjang asam lemak tak jenuh ganda (LC-PUFA). Asam lemak ini adalah struktur komponen penting dalam jaringan membran pada tubuh manusia yang terpusat pada bagian otak dan retina. DHA tersedia dalam sumber makanan, simpanan dalam tubuh dan sintesis endogen dari asam lemak n-3 prekursor [22]. Pengayaan DHA pada sistem saraf manusia dimulai dari janin. Pola makan dan kebiasaan ibu hamil merupakan hal terpenting dalam pengayaan ini. Karena kekurangan DHA dapat menyebabkan perkembangan saraf yang tertunda bahkan tidak lengkap karena faktanya plasenta dapat secara aktif dan selektif mengangkut DHA dari ibu ke janin dengan melawan gradien konsentrasi [23]. Dalam fraksi fosfatidylethanolamine (PE) dari membran, kandungan DHA sebesar 25% (% berat) dari total asam lemak dalam korteks serebral manusia, 30% secara keseluruhan dari retina, serta 60% pada cakram sel fotoreseptor batang. DHA dapat disintesis dari esensial diet prekursor, asam  $\alpha$ -linolenat ( $\alpha$ -LNA). Atau dapat disintesis dari lemak ikan, produk laut serta EPA [24].

Dalam beberapa studi menunjukkan bahwa suplemen DHA dapat memodifikasi struktur dan fungsi membran. Terutama, DHA yang mengandung fosfolipid dapat membantu menjaga fluiditas membran membran yang berada pada sel-sel saraf, ini penting untuk transduksi sinyal dan permeabilitas membran. Walaupun DHA merupakan asam lemak jenuh ganda namun telah diteliti bahwa

DHA dapat bertindak sebagai antioksidan dalam otak dan organ organ yang oksidatif [25]. Seperti yang sudah diketahui bahwa konsentrasi DHA tertinggi terdapat pada otak dan retina, sehingga pada masa bayi DHA akan terakumulasi dengan cepat pada jaringan saraf. Penyediaan DHA yang cukup dianggap penting untuk mengoptimalkan perkembangan visual dan neurologis selama awal kehidupan manusia [26].

DHA terbukti mempunyai dampak menguntungkan dalam pencegahan penyakit kardiovaskuler, kanker, alzheimer serta schizoprenia. Pada penyakit kardiovaskuler, studi terbaru menunjukkan bahwa DHA dapat bergabung dengan membran sel jantung, sehingga berdampak kardioprotektif. Sedangkan, untuk memelihara kesehatan jantung disarankan untuk mengonsumsi asam lemak omega-3 sebanyak 1 g/hari [27]. Kemudian, asam lemak omega-3 diteliti dapat membantu dalam mencegah timbulnya kanker kolorektal. Hal ini ditunjukkan dari penurunan radang kolon dan tumorigenesis terhadap tikus yang diberi perlakuan dosis tinggi asam lemak omega-3 [28]. Suplemen asam lemak omega-3 juga diteliti berdampak positif terhadap pengendalian penyakit schizoprenia [29]. Dampak menguntungkan ini terjadi karena adanya perubahan dalam komposisi membran otak yang kemudian menyebabkan perubahan beberapa sinyal intraneural sistem transduksi. Selain itu, DHA juga memainkan peran penting dalam perkembangan otak bayi.

## **Pengembangan Teknologi Bioproses Produksi DHA**

Secara umum, mengacu [12] untuk produksi DHA skala industri memerlukan tahapan sebagai berikut:

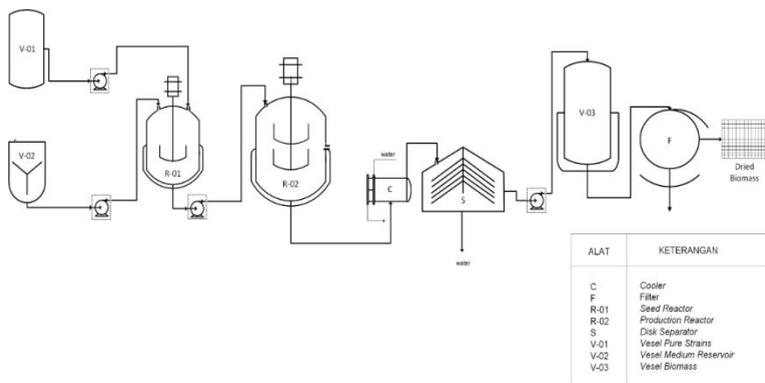
1. Pembuatan inokulum (pembibitan) kultur mikroalga
2. Produksi biomassa ber-DHA tinggi
3. Pemanenan kultur
4. Separasi biomassa
5. Ekstraksi lipid ber-DHA tinggi
6. Pemurnian produk
7. *Recycle* residu biomassa

Pengembangan teknologi bioproses untuk produksi DHA berbahan baku mikroalga menuju skala ekonomis diperoleh dengan mengoptimalkan ketujuh tahap tersebut. Karenanya, biomassa dan produktivitas DHA dari tiap sel mikroalga perlu ditingkatkan untuk memperoleh skala ekonomis dan kelayakan produksi. Selain itu, setelah dipastikan kualitas dan keamanan produknya, kajian analisa kelayakan teknis dan ekonomis diperlukan untuk produksi DHA skala komersial yang mempertimbangkan kelayakan teknis, total investasi, total biaya operasi dan total keuntungan bersih [30].

[30] mengusulkan rancangan diagram alir produksi omega-3 skala industri yang ditampilkan pada gambar II.2. Tahap pertama dari produksi DHA adalah pembiakan bibit (inokulum) mikroalga di reaktor pembibitan (*seed reactor*). Bibit mikroalga diambil dari penyimpanan kriogenik (*cryo-preservation*) dimasukkan ke dalam

reaktor dengan diberikan medium untuk pertumbuhan. Reaktor ini bertujuan untuk penyesuaian mikroalga terhadap kondisi lingkungan (aklimatisasi) bertahap, mulai dari kondisi dengan glukosa rendah kemudian bertahap ditingkatkan konsentrasinya. Setelah waktu tertentu bibit yang dikembangkan kemudian dialirkan ke reaktor produksi sebagai tempat utama mikroalga berkembang dan memproduksi omega-3.

Selanjutnya, setelah produksi selesai, produk difiltrasi untuk memisahkan sel dan supernatan. Setelah itu, sel yang telah dipisahkan dikeringkan dengan *freeze dryer* untuk mendapatkan *dried cell* (sel kering), sementara pada medium dipisahkan dari air (misal dengan *vacuum dryer*) untuk mendapatkan sel mikroalga yang kemudian dikompres. Untuk memperoleh minyak DHA, sel kering kemudian diekstraksi dan dilakukan pemurnian lanjutan.



## **Gambar II. 2 Skema Diagram Alir Rancang Bangun Pabrik DHA Skala Industri (Sumber: Suhendra, 2019)**

Tahap awal penelitian ini adalah mengumpulkan sampel daun bakau yang sudah berjatuhan. Daun bakau yang dijadikan sample merupakan daun bakau yang sudah berjatuhan yang diperoleh dari 3 lokasi yaitu hutan bakau Raja Ampat, Sorong serta Kulon Progo Yogyakarta. Proses pengambilan daun bakau pada salah satu lokasi pengambilan sampel dapat dilihat pada Gambar IV.1.



**Gambar IV. 1 Lokasi Pengambilan Sampel**

Sampel daun bakau yang diambil sebanyak 5 daun untuk tiap lokasi pengambilan sampel, yang terdiri dari 2 daun berwarna orange kecoklatan, 4 daun berwarna coklat kehitaman, 3 daun berwarna coklat, 3 daun berwarna kuning kecoklatan, 2 daun berwarna kuning, 1 daun berwarna orange. Daun bakau yang sudah terkumpul diletakkan didalam plastik zip yang kemudian diisi dengan sedikit air laut dan ditutup rapat. Sampel daun bakau selanjutnya disimpan di dalam kotak pendingin yang telah diisi es. Penyimpanan pada suhu rendah tersebut dimaksudkan untuk menekan pertumbuhan mikroorganisme yang ada pada sampel daun bakau selama perjalanan sebelum dilakukan proses penanaman. Proses

penanaman dilakukan sesegera mungkin di Laboratorium Biomedik Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta. Selanjutnya, sampel tersebut dilakukan proses isolasi. Untuk memudahkan dalam pengumpulan data maka dilakukan pengkodean pada setiap sampel. Kode sampel PM merupakan sampel yang berasal dari Kulon Progo Yogyakarta, sampel RA berasal dari Raja Ampat, serta SR berasal dari Sorong. Pada Tabel IV.1 telah disajikan warna sampel yang telah diambil.

**Tabel IV. 1 Sampel Daun Bakau yang Telah Diambil**

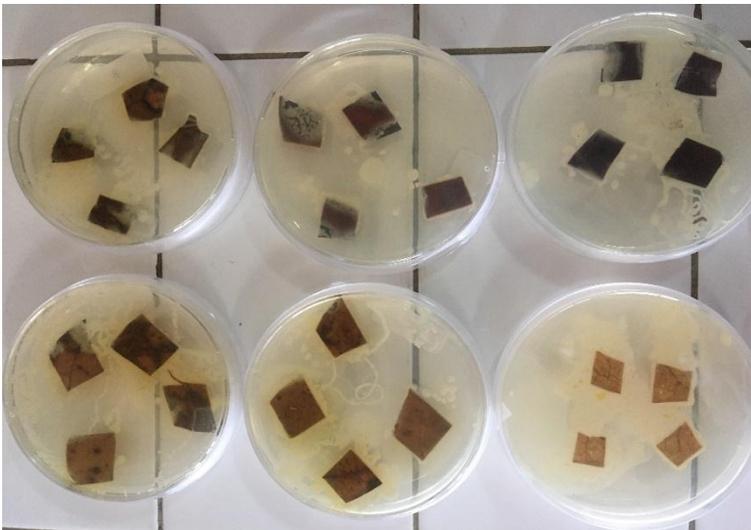
Sampel	Warna Daun	Sampel	Warna Daun	Sampel	Warna Daun
PMM1-01 dan	Orange	RAM1-01 dan	Coklat	SRM1-01 dan SRM2-	Kuning kecoklata

PMM2-01		RAM2-01		01	n
PMM1-02 dan PMM2-02	Orange kecoklatan	RAM1-02 dan RAM2-02	Kuning kecoklatan	SRM1-02 dan SRM2-02	Kuning kecoklatan
PMM1-03 dan PMM2-03	Kuning	RAM1-03 dan RAM2-03	Kuning kecoklatan	SRM1-03 dan SRM2-03	Coklat kehitaman
PMM1-04 dan PMM2-04	Kuning	RAM1-04 dan RAM2-04	Coklat kehitaman	SRM1-04 dan SRM2-04	Coklat kehitaman
PMM1-05 dan PMM2-05	Coklat kehitaman	RAM1-05 dan RAM2-05	Orange kecoklatan	SRM1-05 dan SRM2-05	Kuning

### Isolasi Mikroalga Thraustochytrids

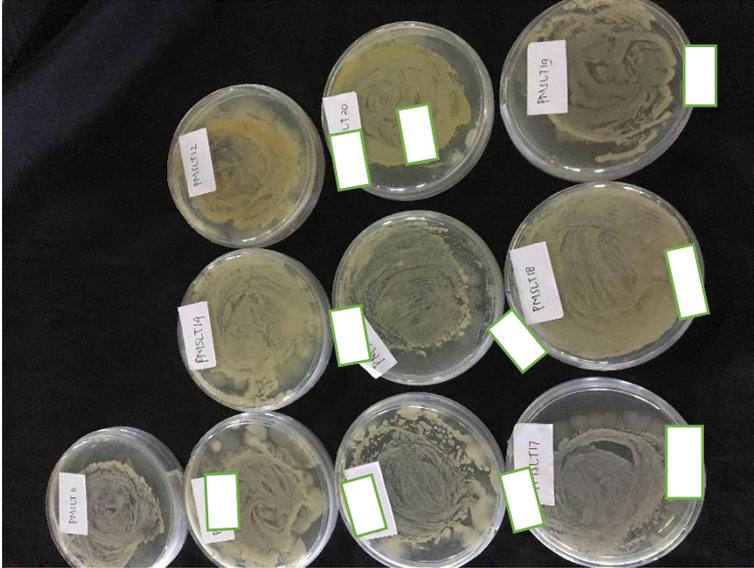
Pada penelitian ini proses isolasi mikroalga Thraustochytrids dilakukan dengan menggunakan teknik *direct plating*. Teknik ini dilakukan dengan memotong daun bakau seluas 1 cm<sup>2</sup>, kemudian potongan daun tersebut diletakkan diatas permukaan medium agar pada *petridish disposable*. Proses isolasi mikroalga dilakukan dengan menggunakan 2 variasi medium agar. Untuk variasi pertama berisikan 14 gr nutrien agar, 1 gr glukosa, 250 ml aquades, serta 250 ml air laut. Untuk variasi yang kedua berisikan 7 gr agar; 2,5 gr glukosa; 2,5 gr *yeast extract*, dan pepton 1 gr. Potongan daun bakau kemudian

ditanam pada medium agar dan diinkubasi pada suhu ruangan selama 1-2 hari ditempat yang gelap. Setelah didapatkan isolat dari daun bakau yang ditanam pada medium agar, isolat tersebut dicek dengan menggunakan mikroskop untuk mengindikasi isolat tersebut mengandung mikroalga jenis Thraustochytrids atau tidak. Contoh gambar pertumbuhan isolat pada daun bakau yang telah ditanam pada medium agar dapat dilihat pada Gambar IV.2.



**Gambar IV. 2** Pertumbuhan Isolat pada Daun Bakau

Setelah terindikasi mikroalga jenis Thraustochytrids *streaking* isolat tersebut pada medium agar untuk mendapatkan *single colony*. Gambar IV.3 menunjukkan beberapa sampel yang telah di *streaking* pada medium agar.



**Gambar IV. 3 Isolat yang Telah di Streaking pada Medium Agar**

Setelah didapatkan *single colony* dilakukan proses purifikasi isolat mikroalga dengan teknik *streak plate* berulang ulang hingga menendapatkan pure isolat, serta pengamatan mikroskop dilakukan kembali. Hal ini bertujuan untuk memastikan bahwa isolat mikroalga yang didapatkan benar - benar murni (hanya terdapat mikroalga Thraustochytrids). Sebelum dilakukan penyimpanan isolat yang murni, isolat tersebut di *shaking* dengan menggunakan medium broth. Terdapat 2 macam penyimpanan mikroalga Thraustochytrids, yang pertama *cryopreservation* dan penyimpanan pada medium agar. Untuk *cryopreservation* isolat tersebut harus disimpan pada suhu  $-80^{\circ}\text{C}$  dan

dapat bertahan  $\pm$  1 tahun, namun untuk penyimpanan pada medium agar hanya dapat bertahan sekitar 6 bulan.

### **Pengaruh Nutrien pada Pertumbuhan Mikroalga**

Pada proses isolasi mikroalga Thraustochytrids, penggunaan nutrien pada medium agar dapat mempengaruhi tumbuh kembang mikroalga Thraustochytrids yang dihasilkan. Dari 30 sampel yang telah di isolasi terdapat 20 sampel yang terindikasi mikroalga jenis Thraustochytrids dan untuk 10 sampel lainnya tidak terjadi pertumbuhan mikroalga hanya jamur dan mikroba lain yang tumbuh pada sampel tersebut. Hasil pengamatan mikroskopik morfologi isolat yang terindikasi sebagai mikroalga Thraustochytrids dapat dilihat pada Tabel IV.2.

**Tabel IV. 2 Hasil Pengamatan Mikroskopik Morfologi Isolat yang Terindikasi Mikroalga Thraustochytrids**

Sampel	Hasil Pengamatan	Sampel	Hasil Pengamatan	Sampel	Hasil Pengamatan
PMM1-01	Tidak Terindikasi Thraustochytrids	RAM1-01	Tidak Terindikasi Thraustochytrids	SRM1-01	Terindikasi Thraustochytrids
PMM1-02	Terindikasi Thraustochytrids	RAM1-02	Terindikasi Thraustochytrids	SRM1-02	Terindikasi Thraustochytrids
PMM1-03	Tidak Terindikasi Thraustochytrids	RAM1-03	Tidak Terindikasi Thraustochytrids	SRM1-03	Tidak Terindikasi Thraustochytrids

PMM1-04	Tidak Terindikasi Thraustochytrids	RAM1-04	Tidak Terindikasi Thraustochytrids	SRM1-04	Terindikasi Thraustochytrids
PMM1-05	Terindikasi Thraustochytrids	RAM1-05	Terindikasi Thraustochytrids	SRM1-05	Tidak Terindikasi Thraustochytrids
PMM2-01	Terindikasi Thraustochytrids	RAM2-01	Terindikasi Thraustochytrids	SRM2-01	Tidak Terindikasi Thraustochytrids
PMM2-02	Terindikasi Thraustochytrids	RAM2-02	Terindikasi Thraustochytrids	SRM2-02	Terindikasi Thraustochytrids
PMM2-03	Terindikasi Thraustochytrids	RAM2-03	Terindikasi Thraustochytrids	SRM2-03	Terindikasi Thraustochytrids
PMM2-04	Tidak Terindikasi Thraustochytrids	RAM2-04	Terindikasi Thraustochytrids	SRM2-04	Terindikasi Thraustochytrids
PMM2-05	Terindikasi Thraustochytrids	RAM2-05	Terindikasi Thraustochytrids	SRM2-05	Terindikasi Thraustochytrids

Setelah dilakukan *streaking*, 20 *petridish disposable* tersebut diamati morfologinya secara mikroskopik untuk memastikan bahwa terdapat mikroalga yang diinginkan didalamnya. Morfologi mikroalga yang tumbuh pada isolat dicocokkan dengan morfologi mikroalga Thraustochytrids yang sesungguhnya. Hal ini bertujuan untuk menapis isolat yang berisi mikroalga Thraustochytrids. Hasilnya, dari 20 isolat mikroalga yang diamati, 7 diantaranya telah terkontaminasi oleh mikroba lain dengan jumlah yang lebih dominan dibandingkan dengan jumlah mikroalga yang ada. Isolat tersebut kemudian dianggap tidak murni dan disingkirkan. Pengamatan mikroskopik morfologi sampel

isolat mikroalga yang terkontaminasi oleh mikroba dapat dilihat pada Gambar IV.4 dan untuk isolat mikroalga yang murni mikroalga Thraustochytrids dapat dilihat pada Gambar IV.5. Untuk hasil pengamatan mikroskopi morfologi isolat mikroalga dapat dilihat pada Tabel IV.3. Adanya mikroba yang tumbuh diduga oleh karena pada saat dilakukan proses *streaking* tidak dilakukan secara aseptis.



**Gambar IV. 4 Isolat yang Terkontaminasi Mikroba**



**Gambar IV. 5 Isolat Murni Mikroalga Thraustochytrids**

**Tabel IV. 3 Hasil Pengamatan Mikroskopik Morfologi Isolat  
Mikroalga Thraustochytrids**

Sampel	Hasil Pengamatan	Sampel	Hasil Pengamatan
PMM1-02	Terkontaminasi Mikroba	RAM2-03	Murni Thraustochytrids
PMM1-05	Murni Thraustochytrids	RAM2-04	Murni Thraustochytrids
PMM2-01	Terkontaminasi Mikroba	RAM2-05	Murni Thraustochytrids
PMM2-02	Murni Thraustochytrids	SRM1-01	Murni Thraustochytrids
PMM2-03	Murni Thraustochytrids	SRM1-02	Terkontaminasi Mikroba
PMM2-05	Murni Thraustochytrids	SRM1-04	Terkontaminasi Mikroba
RAM1-02	Murni Thraustochytrids	SRM2-02	Murni Thraustochytrids
RAM1-05	Terkontaminasi Mikroba	SRM2-03	Murni Thraustochytrids
RAM2-01	Murni Thraustochytrids	SRM2-04	Terkontaminasi Mikroba
RAM2-02	Terkontaminasi Mikroba	SRM2-05	Murni Thraustochytrids

Setelah melakukan proses purifikasi isolat mikroalga dengan teknik *streaking* guna mendapatkan *pure isolate*. Hasilnya, dari 13 sampel terdapat 5 sampel isolat yang dianggap tidak murni dan disingkirkan karena ditumbuhi oleh bakteri dengan jumlah yang jauh lebih dominan dibandingkan dengan jumlah mikroalga yang tumbuh.

Sedangkan 8 isolat sisanya dianggap murni. Hasil pengamatan mikroskopik morfologi isolat mikroalga yang sudah *pure isolate* dapat dilihat pada Tabel IV.4.

**Tabel IV. 4 Hasil Pengamatan Mikroskopik Morfologi Isolat Mikroalga Thraustochytrids Murni**

Sampel	Hasil Pengamatan	Sampel	Hasil Pengamatan
PMM1-05	<i>Pure Isolate</i>	RAM2-04	<i>Pure Isolate</i>
PMM2-02	Terkontaminasi Mikroba	RAM2-05	<i>Pure Isolate</i>
PMM2-03	<i>Pure Isolate</i>	SRM1-01	Terkontaminasi Mikroba
PMM2-05	Terkontaminasi Mikroba	SRM2-02	<i>Pure Isolate</i>
RAM1-02	Terkontaminasi Mikroba	SRM2-03	Terkontaminasi Mikroba
RAM2-01	<i>Pure Isolate</i>	SRM2-05	<i>Pure Isolate</i>
RAM2-03	<i>Pure Isolate</i>		

Berdasarkan hasil penelitian pada Tabel IV.4 dapat diketahui bahwa sampel dengan *pure isolate* mikroalga Thraustochytrids adalah sampel PMM1-05, PMM2-03, RAM2-01, RAM2-03, RAM2-04, RAM2-05, SRM2-02, SRM2-05. Sebagian besar sampel dengan *pure isolate* mikroalga Thraustochytrids adalah sampel yang tumbuh pada medium agar 2. Hal ini dapat disimpulkan bahwa sampel yang tumbuh

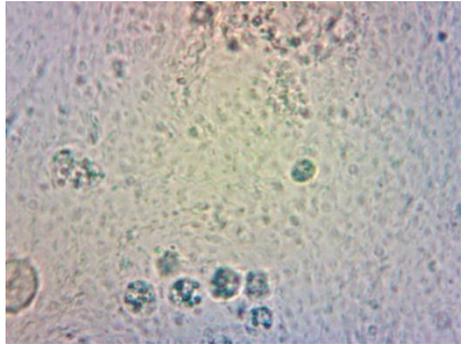
pada medium agar 2 dapat bertahan hidup lebih baik daripada sampel yang tumbuh pada medium agar 1. Salah satu faktor yang menyebabkan terjadinya hal tersebut adalah kandungan yang terdapat dalam medium agar tersebut. Pada medium agar 1 memiliki kandungan *yeast extract* sebesar 2.0% (w/v), pepton sebesar 5.0% (w/v), agar sebesar 15.0% (w/v). Sedangkan pada medium agar 2 memiliki kandungan *yeast extract* sebesar 12.5% (w/v), pepton sebesar 5.0% (w/v), agar sebesar 70.0% (w/v).

*Yeast extract* berguna untuk **memberikan suplai vitamin, bahan organik seperti asam lemak dan lipid serta beberapa mineral untuk pertumbuhan bakteri. Pepton berfungsi sebagai sumber nitrogen dan protein** serta berguna untuk memisahkan mikroalga dari jamur, dimana terjadi pertumbuhan mikroalga yang lebih cepat dibandingkan dengan jamur. Agar berfungsi sebagai pematat medium. Berdasarkan data diatas dapat disimpulkan bahwa medium agar 2 memiliki formulasi yang lebih baik dibanding dengan medium agar 1 untuk berkembangnya mikroalga Thraustochytrids. Kandungan *yeast extract* pada medium agar 2 lebih banyak daripada medium agar 1 sehingga nutrisi mikroalga Thraustochytrids lebih tercukupi.

Kemudian, isolat yang dianggap murni dikultur pada medium agar padat agar dapat disimpan dalam jangka waktu tertentu. Hasil isolat mikroalga Thraustochytrids yang dianggap murni atau *pure isolate* dapat dilihat pada Gambar IV.6.



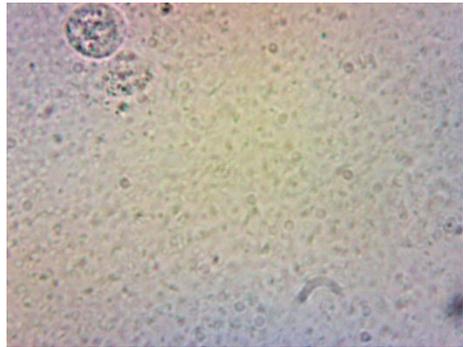
(a)



(b)



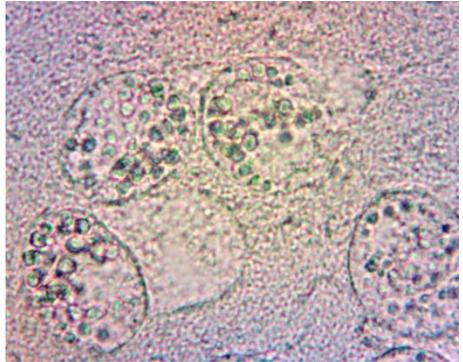
(c)



(d)



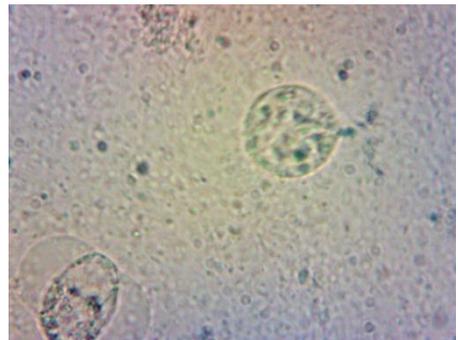
(e)



(f)



(g)



(h)

**Gambar IV. 6 Pure Isolate Mikroalga Thraustochytrids**

Keterangan : (a) RAM2-01; (b) RAM2-03; (c) RAM2-04; (d) RAM2-05; (e) PMM1-05; (f) PMM2-03; (g) SRM2-02; (h) SRM2-05

## **Potensi Mikroalga Thraustochytrids di Bidang Bioproses**

Laporan pertama tentang penggunaan thraustochytrids untuk produksi DHA muncul di awal 1990-an dan diprakarsai oleh peningkatan pesat memahami manfaat rantai panjang tak jenuh ganda (PUFA) untuk kesehatan manusia. Produksi minyak yang kaya akan DHA dari Thraustochytrid dikomersialkan pertama kali oleh perusahaan AS OmegaTech, yang kemudian diakuisisi oleh Martek, dan sekarang menjadi bagian dari DSM [31]. Saat ini minyak kaya akan DHA dari Thraustochytrids ada dipasaran sebagai suplemen makanan. Sumber utama asam lemak omega 3 EPA dan DHA adalah minyak ikan. Pasar omega 3-PUFA telah diproyeksikan dengan pertumbuhan tahunan sebesar 12,8% antara 2014 hingga 2019 dan diperkirakan bernilai 4300 juta USD pada tahun 2019 dan diperkirakan akan terus meningkat [32]. Mengingat bahwa kandungan DHA yang terkandung dalam minyak ikan relatif rendah, yakni 7-14% [21]. Dengan kandungan DHA yang rendah dari minyak ikan tersebut, maka untuk menghasilkan kandungan DHA yang tinggi diperlukan ikan dalam jumlah yang sangat banyak. Dengan peningkatan permintaan terhadap minyak ikan akan menyebabkan penangkapan ikan yang berlebihan (*over fishing*) yang memicu pada ketidakseimbangan dari ekosistem laut. Oleh karena itu dengan adanya Thraustochytrids sebagai sumber baru dalam produksi asam lemak ini dapat menjadi solusi terbaik.

Hal ini dapat menjadi peluang besar di bidang Industri Bioproses terutama di Indonesia. Terlebih lagi Indonesia memiliki hutan bakau terbesar di dunia, dan sangat berpotensi untuk menghasilkan mikroalga Thraustochytrids sebagai penghasil DHA. Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa mikroalga Thraustochytrids dapat menghasilkan DHA dengan kemurnian yang lebih tinggi dibandingkan DHA yang dihasilkan dari minyak ikan. Pada Tabel IV.5 dapat dilihat kandungan DHA yang dihasilkan dari beberapa strain mikroalga Thraustochytrids yang telah diteliti oleh para peneliti.

**Tabel IV. 5 Perbandingan Kandungan DHA dari Beberapa Strain Thraustochytrids**

Strain	Kandungan DHA (% dari TFA)	Referensi
Thraustochytriidae sp. C41	18,4-27,1	[33]
Thraustochytrium sp. ONC T18	31,5	[34]
Thraustochytriidae sp. M12-X1	31,5-61,7	[12]
Thraustochytriidae sp. Z105	32	[35]

Dari tabel IV.5 diatas dapat diketahui bahwa mikroalga Thraustochytrids memiliki kemurnian DHA yang cukup tinggi jika dibandingkan dengan kandungan DHA dari minyak ikan yang hanya sebesar 7-14%. Oleh karena itu strain mikroalga Thraustochytrids yang telah ada sangat bermanfaat untuk dikaji lagi dan dapat diaplikasikan dalam pengembangan bidang bioproses untuk produksi bahan pangan fungsional yang mengandung asam lemak tak jenuh ganda (*Polysaturated Fatty Acid*, PUFA).

## DAFTAR PUSTAKA

- [1] M. Gao, X. Song, Y. Feng, W. Li, and Q. Cui, "Isolation and characterization of Aurantiochytrium species: high docosahexaenoic acid (DHA) production by the newly isolated microalga, Aurantiochytrium sp. SD116," *J. Oleo Sci.*, vol. 62, no. 3, pp. 143–151, 2013.
- [2] W. H. Chul and H. Kim, "Growth of the oleaginous microalga Aurantiochytrium sp. KRS101 on cellulosic biomass and the production of lipids containing high levels of docosahexaenoic acid," pp. 129–133, 2012.
- [3] M. S. Madeira *et al.*, "Microalgae as feed ingredients for livestock production and meat quality: A review," *Livest. Sci.*, vol. 205, pp. 111–121, 2017.
- [4] H. Sevgili *et al.*, "Apparent nutrient and fatty acid digestibilities of microbial raw materials for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with comparison to conventional ingredients," *Algal Res.*, vol. 42, no. June, p. 101592, 2019.
- [5] Z. Perveen *et al.*, "Isolation and characterization of a novel thraustochytrid-like microorganism that efficiently produces docosahexaenoic acid," pp. 197–202, 2006.
- [6] M. Kawaroe, T. Prariono, A. Sanuddin, and D. W. A. Dina, *Mikroalga Potensi dan Pemanfaatannya Untuk Produksi Bio Bahan Bakar*. Bogor, Indonesia: IPB PRESS, 2010.
- [7] M. Bhattacharya and S. Goswami, "Microalgae – A Green Multi-Product Biorefinery for Future Industrial Prospects," *Biocatal. Agric. Biotechnol.*, p. 101580, 2020.
- [8] P. W. Behrens and D. J. Kyle, "Microalgae as a Source of Omega 3 Fatty Acids," *J. Food Lipids*, vol. 3, pp. 259–272, 1996.
- [9] P. Charoonnart and S. Purton, "Applications of Microalgal Biotechnology for Disease Control in Aquaculture," pp. 1–14, 2018.
- [10] Z. Nurachman, "Tropical Marine Microalgae for Biodiesel Production," *Policy Br. Ser.*, vol. 3, pp. 4–6, 2011.
- [11] Z. Liu *et al.*, "Isolation and characterization of a marine microalga for biofuel production with astaxanthin as a co-product," *Energies*, vol. 6, no. 6, pp. 2759–2772, 2013.
- [12] A. Gupta, C. J. Barrow, and M. Puri, "Omega-3 biotechnology: Thraustochytrids as a novel source of omega-3 oils," *Biotechnol. Adv.*, vol. 30, no. 6, pp. 1733–1745, 2012.
- [13] C. Rabinowitz, J. Douek, R. Weisz, A. Shabtay, and B. Rinkevich, "Isolation and characterization of four novel thraustochytrid strains from a colonial tunicate," vol. 35, no. December, pp. 341–350, 2006.
- [14] Y. Dellerio *et al.*, "Proposal of a new thraustochytrid genus *Hondaea* gen. nov.

- and comparison of its lipid dynamics with the closely related pseudo-cryptic genus *Aurantiochytrium*,” *Algal Res.*, vol. 35, no. March, pp. 125–141, 2018.
- [15] L. Fossier Marchan, K. J. Lee Chang, P. D. Nichols, W. J. Mitchell, J. L. Polglase, and T. Gutierrez, “Taxonomy, ecology and biotechnological applications of thraustochytrids: A review,” *Biotechnol. Adv.*, vol. 36, no. 1, pp. 26–46, 2018.
- [16] W. K. Lee, S. H. X. Tay, S. K. Ooi, and D. A. Friess, “Potential short wave attenuation function of disturbed mangroves,” *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, no. April, p. 106747, 2020.
- [17] A. B. Charrua, S. O. Bandeira, S. Catarino, P. Cabral, and M. M. Romeiras, “Assessment of the vulnerability of coastal mangrove ecosystems in Mozambique,” *Ocean Coast. Manag.*, vol. 189, no. February, 2020.
- [18] Pramudji, “Ekosistem Hutan Mangrove dan Peranannya sebagai Habitat Berbagai Fauna Akuatik,” *Oseana*, vol. XXVI, no. 4, pp. 13–23, 2001.
- [19] A. Sofian, N. Harahab, and Marsoedi, “Kondisi dan Manfaat Langsung Ekosistem Hutan Mangrove Desa Penunggul Kecamatan Nguling Kabupaten Pasuruan,” *Kondisi Dan Manfaat Langsung Ekosist.*, vol. 2, no. 2, pp. 56–63, 2012.
- [20] N. Karuniasuti, “Peranan Hutan Mangrove bagi Lingkungan Hidup,” *Forum Manaj.*, vol. 06, no. 1, pp. 1–10, 2014.
- [21] H. Puspaaananda, “Isolasi Mikroalga Thraustochytrids Penghasil Asam Dokosaheksanoat (DHA),” Universitas Indonesia, 2012.
- [22] N. Fidler, T. Sauerwald, A. Pohl, H. Demmelmair, and B. Koletzko, “Docosahexaenoic acid transfer into human milk after dietary supplementation: A randomized clinical trial,” *J. Lipid Res.*, vol. 41, no. 9, pp. 1376–1383, 2000.
- [23] H. Gleissman *et al.*, “Docosahexaenoic acid metabolome in neural tumors : identification of cytotoxic intermediates.”
- [24] P. Guesnet and J. M. Alessandri, “Docosahexaenoic acid (DHA) and the developing central nervous system (CNS) - Implications for dietary recommendations,” *Biochimie*, vol. 93, no. 1, pp. 7–12, 2011.
- [25] M. Hashimoto, S. Hossain, A. Al Mamun, K. Matsuzaki, and H. Arai, “Docosahexaenoic acid: one molecule diverse functions,” *Crit. Rev. Biotechnol.*, vol. 37, no. 5, pp. 579–597, 2017.
- [26] C. L. Jensen and A. Lapillonne, “Docosahexaenoic acid and lactation,” *Prostaglandins Leukot. Essent. Fat. Acids*, vol. 81, no. 2–3, pp. 175–178, 2009.
- [27] S. Masson, R. Latini, M. Tacconi, and R. Bernasconi, “Incorporation and Washout of N-3 Polyunsaturated Fatty Acids after Diet Supplementation in Clinical Studies,” *Cardiovasc. Med.*, vol. 8, pp. 4–10, 2007.
- [28] J. Nowak, K. H. Weylandt, J. Wang, A. Dignass, N. Glickman, and J. X. Kang, “Colitis-Associated Colon Tumorigenesis is Suppressed in Transgenic Mice Rich in Endogenous N-3 Fatty Acids,” *Carcinogenesis*, vol. 28, no. 9,

- pp. 1991–1995, 2007.
- [29] M. Peet and C. Stokes, “Omega-3 Fatty Acids in the Treatment of Psychiatric Disorders,” *Drugs*, vol. 65, no. 8, pp. 1051–1059, 2005.
- [30] Suhendra, H. Zahro, E. Sulistiawati, P. Neubauer, and A. Hutari, “Kajian singkat potensi rancang bangun pabrik omega-3 (DHA) kemurnian tinggi berbahan baku spesies *Aurantiochytrium* dari hutan bakau Indonesia untuk menunjang ketahanan pangan nasional,” *Konversi*, vol. 8, no. 1, pp. 33–44, 2019.
- [31] W. Barclay, C. Weaver, J. Metz, and H. John, “Development of A Docosahexanoic Acid Production technology Using *Schizochytrium*: Historical Perspective and Update,” in *Single Cells Oil*, 2nd ed., Z. Cohen and C. Ratledge, Eds. Colorado, USA: Elsevier Inc., 2010, pp. 75–96.
- [32] I. M. Aasen *et al.*, “*Thraustochytrids* as production organisms for docosahexaenoic acid (DHA), squalene, and carotenoids,” *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, no. 1, pp. 4309–4321, 2016.
- [33] B. Quilodrán, I. Hinzpeter, A. Quiroz, and C. Shene, “Evaluation of Liquid Residues from Beer and Potato Processing for The Production of Docosahexaenoic Acid (C22:6n-3, DHA) by Native *Thraustochytrid* Strains,” *World J Microbiol Biotechnol*, vol. 25, no. 8, p. 2121, 2009.
- [34] A. M. Burja, H. Radianingtyas, A. Windust, and C. J. Barrow, “Isolation and characterization of polyunsaturated fatty acid producing *Thraustochytrium* species: Screening of strains and optimization of omega-3 production,” *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 72, no. 6, pp. 1161–1169, 2006.
- [35] P. Zhou, M. Lu, W. Li, and L. Yu, “Microbial production of docosahexaenoic acid by a low temperature-adaptive strain *Thraustochytriidae* sp . Z105: screening and optimization,” pp. 380–387, 2010.