

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI MIKROALGA *Aurantiochytrium* DARI DAUN MANGROVE PULAU PARI, KEPULAUAN SERIBU, JAKARTA

Suhendra¹, Oktira Roka Aji², Hotimatul Husna², Rizma Nurul Akhlas²

¹Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri, Universitas Ahmad Dahlan (UAD).
Kampus 4 UAD, Jalan Ringroad Selatan, Bantul, Yogyakarta

²Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Terapan, Universitas Ahmad Dahlan (UAD).
Kampus 4 UAD, Jalan Ringroad Selatan, Bantul, Yogyakarta

Abstrak

Mikroalga merupakan mikroorganisme fotosintetik yang hidup di lingkungan berair, baik di air tawar maupun air laut. Mikroalga *Aurantiochytrium* merupakan mikroalga penghasil omega-3 asam dokosaheksanoat (DHA) dan bahan bioktif yang bernilai ekonomi tinggi. Sampel mikroalga *Aurantiochytrium* penelitian ini di peroleh dari kawasan Mangrove Pulau Pari, Kepulauan Seribu, Jakarta. Tujuan dari penelitian ini merupakan bagian dari tujuan jangka panjang dalam mengoleksi strain dari hutan mangrove Indonesia. metode yang digunakan yaitu teknik isolasi metode gores. Kemudian dilakukan identifikasi morfologi dan indentifikasi molekuler menggunakan gen 18S rRNA.

Kata kunci : isolasi, identifikasi, Aurantiochytrium

PENDAHULUAN

Mikroalga merupakan makhluk hidup bersel satu yang memiliki ukuran antara 1 mikrometer hingga ratusan mikrometer, memiliki klorofil dan membutuhkan karbondioksida serta beberapa nutrien untuk melakukan fotosintesis. Mikroalga dapat hidup di lingkungan air tawar maupun air laut (Hadiyanto dan Azim, 2012). Mikroalga terbagi menjadi beberapa divisi dan terdiri dari berbagai jenis, salah satunya adalah mikroalga *Aurantiochytrium*.

Mikroalga *Aurantiochytrium* merupakan genus mikroalga yang tergolong kedalam keluarga *Thraustochytriidae*. Mikroalga *Aurantiochytrium* bersifat heterotrof dan memiliki habitat di laut sehingga tidak jarang untuk pengisolasian mikroalga jenis ini dapat diambil dari berbagai sampel air laut dan guguran daun bakau (Lewis *et al.*, 1999). Kandungan yang terdapat dalam *Aurantiochytrium* yang banyak dikaji dan dimanfaatkan adalah lipid, carotenoid, dan terpenoid, yang biasanya digunakan sebagai bahan baku pangan, kosmetik, dan obat-obatan.

Aurantiochytrium sp. merupakan mikroalga dengan potensi ekonomi yang tinggi sehingga hal ini mendorong para peneliti di kalangan industri untuk terus mengeksplorasi *Aurantiochytrium* sp (Aesen *et al.*, 2016). Spesies *Aurantiochytrium* sp. dilaporkan dapat bersaing menggantikan minyak ikan sebagai sumber omega-3 DHA bagi manusia (Russo *et al.*, 2022), mikroalga ini juga dapat memproduksi *squalene* (Patel *et al.*, 2019), beta karoten (Aki *et al.*, 2003), pakan ternak kaya omega-3 (Moran *et al.*, 2018), maupun 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). Tiga produk utama yang dapat dihasilkan oleh mikroalga *Aurantiochytrium* adalah *docosahexanoic acid* (DHA), *squalene* dan *astaxanthin* (Aasen *et al.*, 2016).

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).

Eksplorasi mikroalnya *Aurantiochytrium* sp dapat dilakukan dengan mengisolasi dari habitat hutan bakau (Suhendra et al., 2019). Indonesia merupakan negara dengan hutan bakau terluas, namun kajian terkait mikroalga *Aurantiochytrium* sp masih sebatas kajian potensi di bidang pangan dan farmasi (Suhendra et al., 2022). Penelitian ini dilakukan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi mikroalga *Aurantiochytrium* yang diambil dari sampel daun bakau Pulau Pari, Kepulauan Seribu, Jakarta. Pulau Pari merupakan salah satu pulau di Kepulauan Seribu, Jakarta yang berjarak sekitar 30 km dari salah satu pelabuhan di kota Jakarta. 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.

METODE PENELITIAN

1. Pembuatan Media

Tahapan awal penelitian ini adalah dengan membuat terlebih dahulu media untuk isolasi kultur murni mikroalga *Aurantiochytrium* yang dihasilkan dari plating daun bakau pulau pari. Pembuatan media menggunakan komposisi Yeast extract sebanyak 5 gram, glukosa 15 gram, reef salt 7 gram, dan bacteriological agar 15 gram, yang dilarutkan kedalam aquadest sebanyak 1 L.

2. Teknik isolasi

Penelitian ini menggunakan teknik isolasi gores atau streak. Teknik ini dilakukan dengan mengambil sedikit sampel mikroalga *Aurantiochytrium* , yang kemudian akan digoreskan secara zig zag pada media baru dengan metode aseptis.

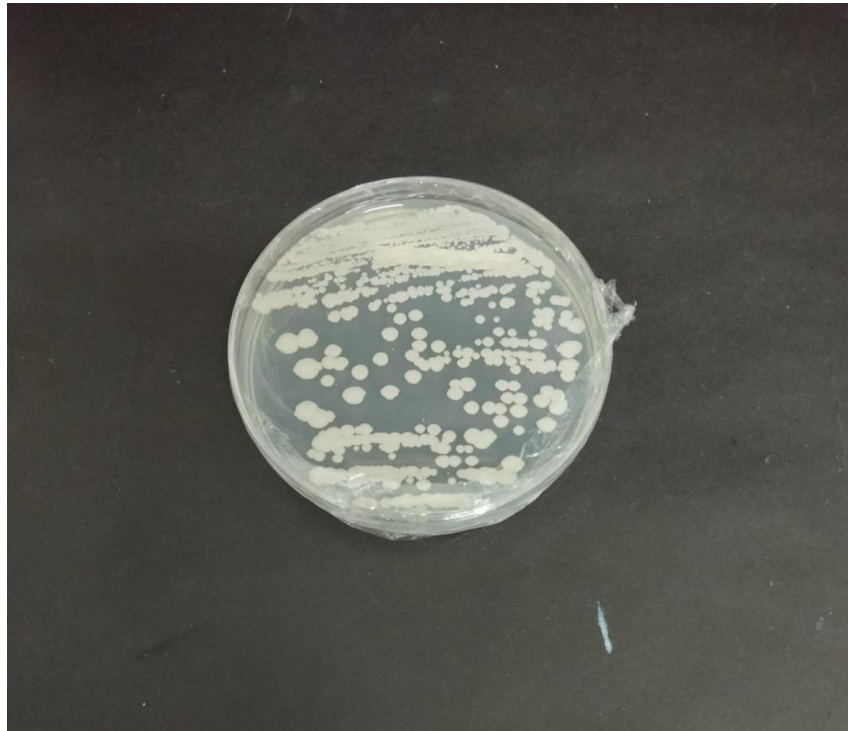
3. Identifikasi Mikroalga

Identifikasi mikroalga *Aurantiochytrium* dilakukan dengan dua cara, yang pertama yaitu dengan identifikasi secara morfologi menggunakan mikroskop. Identifikasi melalui mikroskop dilakukan dengan mengambil sedikit mikroalga *Aurantiochytrium* dengan ose yang kemudian digoreskan pada kaca preparat dan ditambahkan dengan immersion oil, yang selanjutnya ditutup dengan cover slip. Cara identifikasi kedua adalah dengan identifikasi menggunakan gen 18S rRNA. Identifikasi menggunakan gen 18S rRNA dimulai dengan mengisolasi terlebih dahulu DNA dari sampel, kemudian melakukan Amplifikasi yang diteruskan dengan Elektroforesis untuk melihat pita DNA sampel tersebut. Kemudian dilakukan sequencing untuk mengetahui urutan DNA yang dihasilkan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Isolat yang Dihasilkan

Isolat mikroalga yang dihasilkan dari sampel daun bakau pulau Pari, setelah di streaking di media agar didapatkan isolat berwarna putih pucat, yang dimana sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Hutari (2022). dimana menurut Gupta et al., (2016) koloni dewasa mikroalga *Aurantiochytrium* sp. umumnya berbentuk bulat atau tidak beraturan, dan sebagian besar koloni berukuran sedang hingga besar. hal ini menunjukkan bahwa isolat yang dihasilkan kemungkinan merupakan isolat mikroalga *Aurantiochytrium*. Contoh mikrograf isolat nampak pada gambar 1.



Gambar 1. Isolat mikroalga yang diperoleh

2. Identifikasi Isolat Mikroalga *Aurantiochytrium*

Identifikasi mikroalga menggunakan gen 18S rRNA menyatakan bahwa mikroalga yang diisolasi dari daun bakau pulau pari merupakan mikroalga *Aurantiochytrium*, dikarenakan setelah proses squencing yang kemudian di BLAST menggunakan NCBI didapatkan gen mikroalga pulau pari tersebut mirip dengan gen isolat sampel *Aurantiochytrium* sp isolate ANKK1, dengan E Value 0.0 dan persen ident 97.12%. Gambar 2 menunjukkan hasil BLAST pada NCBI.

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
Aurantiocythium sp. isolate ANXX1 small subunit rDNA gene partial sequence	Aurantiocythium	781	781	42%	0.0	97.12%	451	MK729940.1
Schizocythium sp. isolate ANXX2 small subunit rDNA gene partial sequence	Schizocythium sp.	935	935	55%	0.0	94.99%	602	OK350767.1
Thraustocythium sp. isolate ANXX3 small subunit rDNA gene partial sequence	Thraustocythium	528	528	57%	0.0	94.27%	614	OK350759.1
Thraustocythium sp. isolate ANXX12 small subunit rDNA gene partial sequence	Thraustocythium	905	905	55%	0.0	94.00%	605	OK350768.1

Gambar 2. Hasil BLAST pada NCBI

KESIMPULAN

mikroalga *Aurantiocythium* berhasil diisolasi dari daun bakau pulau pari dengan metode gores, yang kemudian dilanjutkan dengan identifikasi menggunakan mikroskop dan menggunakan gen 18S rRNA yang keduanya mendapatkan hasil bahwa sampel mikroalga pulau pari merupakan sampel mikroalga *Aurantiocythium*

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kami haturkan kepada Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset dan teknologi yang telah memberikan dana hibah pada program Kedaulatan Indonesia dalam Reka Cipta. Terima kasih kepada Universitas Ahmad Dahlan, terima kasih kepada dosen pembimbing kami Bapak suhendra dan Ibu Oktira Roka Aji. serta terima kasih kepada teman teman kedaireka program studi biologi dan teknik kimia yang telah berpartisipasi dalam penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Aasen, I. M., Ertesvåg, H., Heggeset, T. M. B., Liu, B., Brautaset, T., Vadstein, O., & Ellingsen, T. E. (2016). Thraustochytrids As Production Organisms For Docosaehaenoic Acid (DHA), Squalene, and Carotenoids. *Applied Microbiology and Biotechnology* 2016 100:10, 100(10), 4309–4321. <https://doi.org/10.1007/S00253-016-7498-4>
- Aki, T., Hachida, K., Yoshinaga, M., Katai, Y., Yamasaki, T., Kawamoto, S., Kakizono, T., Maoka, T., Shigeta, S., Suzuki, O., & Ono, K. (2003). Thraustochytrid As A Potential Source Of Carotenoids. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 2003 80:8, 80(8), 789–794. <https://doi.org/10.1007/S11746-003-0773-2>
- Gupta, A., Barrow, C. J., & Puri, M. (2012). Omega-3 Biotechnology: Thraustochytrids As A Novel Source Of Omega-3 Oils. *Biotechnology Advances*, 30(6), 1733–1745. <https://doi.org/10.1016/J.BIOTECHADV.2012.02.014>
- Hadiyanto, & Azim, M. (2012). *Mikroalga Sumber Pangan & Energi Masa Depan* (Edisi Pert). Semarang: UPT UNDIP Press. Halaman: 15 - 16.
- Kalidasan, K., Vinithkumar, N. V., Peter, D. M., Dharani, G., & Dufossé, L. (2021). Thraustochytrids of Mangrove Habitats from Andaman Islands: Species Diversity, PUFA Profiles and

Biotechnological Potential. *Marine Drugs* 2021, Vol. 19, Page 571, 19(10), 571. <https://doi.org/10.3390/MD19100571>

- Moran, C. A., Morlacchini, M., Keegan, J. D., & Fusconi, G. (2018). The Effect of Dietary Supplementation With *Aurantiochytrium limacinum* On Lactating Dairy Cows In Terms Of Animal Health, Productivity And Milk Composition. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 102(2), 576–590. <https://doi.org/10.1111/JPN.12827>
- Patel, A., Rova, U., Christakopoulos, P., & Matsakas, L. (2019). Simultaneous Production of DHA and Squalene From *Aurantiochytrium* sp. Grown On Forest Biomass Hydrolysates. *Biotechnology for Biofuels*, 12(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/S13068-019-1593-6/FIGURES/7>
- Ramos-Vega, A., Rosales-Mendoza, S., Bañuelos-Hernández, B., & Angulo, C. (2018). Prospects On The Use Of Schizochytrium sp. To Develop Oral Vaccines. *Frontiers in Microbiology*, 9(OCT), 2506. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2018.02506/BIBTEX>
- Ratlidge, C. (2013). Microbial Oils: An Introductory Overview Of Current Status And Future Prospects. *OCL*, 20(6), D602. <https://doi.org/10.1051/OCL/2013029>
- Russo, G. L., Langellotti, A. L., Sacchi, R., & Masi, P. (2022). Techno-economic Assessment of DHA-rich *Aurantiochytrium* sp. Production Using Food Industry By-products And Waste Streams As Alternative Growth Media. *Bioresource*
- Shakeri, S., Amoozyan, N., Fekrat, F., & Maleki, M. (2017). Antigastric Cancer Bioactive *Aurantiochytrium* Oil Rich in Docosahexaenoic Acid: From Media Optimization to Cancer Cells Cytotoxicity Assessment. *Journal of Food Science*, 82(11), 2706–2718. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13925>
- Suhendra, E S, H Z, A H. 2019. Kajian Singkat Rancang Bangun Pabrik Docohexanoic Acid dari Mikroalga Species *Aurantiochytrium* dari Hutan Bakau Indonesia. *Konversi*. 8(1):33–44.
- Suhendra S. 2022. Bioprocess of of astaxanthin production as functional food from *Aurantiochytrium* microalgae: A review. *CHEMICA: Jurnal Teknik Kimia*. 8(2):123. doi:10.26555/chemica.v8i2.21954.