

OPTIMASI PRODUKSI ASAM LEMAK *DOCOSAHEXAENOIC ACID* (DHA) DARI MIKROALGA DENGAN VARIASI SUMBER NITROGEN

Mochamad Fathurohman
Farmasi, STIKes Bakti Tunas Husada,
Jl. Cilolohan36, Jawa Barat, Indonesia

ABSTRAK

Asam dokosaheksaenoat (DHA) adalah senyawa golongan asam lemak tak jenuh ganda yang memiliki banyak manfaat di bidang farmasi. Selama ini, DHA diperoleh dari ikan laut namun memiliki berbagai kekurangan sehingga menurunkan tingkat keberterimaan konsumen. Sehingga saat ini banyak dilakukan penelitian tentang organisme lain yang juga menghasilkan DHA, salah satunya adalah mikroalga laut yang menghasilkan DHA dengan berbagai keunggulan dibandingkan DHA dari ikan laut. Pertumbuhan mikroalga dan jumlah DHA yang dihasilkan dipengaruhi oleh berbagai faktor, salah satunya adalah sumber nitrogen yang menjadi salah satu komponen media tumbuh mikroalga. Sumber nitrogen yang dapat digunakan pada media tumbuh mikroalga antara lain *peptone*, *tryptone*, urea, nitrat, amonia, dan asam amino. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk optimasi penentuan sumber nitrogen yang paling baik digunakan pada media tumbuh mikroalga yang akan menghasilkan rendemen mikroalga dengan asumsi bahwa kadar DHA yang dihasilkan akan tinggi. Penelitian ini menggunakan tiga sumber nitrogen yang berbeda pada media tumbuh mikroalga, antara lain *bacteriological peptone*, *mycological peptone*, dan *tryptone*.

Kata kunci: Asam dokosaheksaenoat (DHA), Fermentasi, Mikroalga.

1. Pendahuluan

Salah satu habitat perairan yaitu hutan bakau memiliki keanekaragaman hayati dan genetik karena berada pada kondisi lingkungan fisik dan kimia yang keras. Kondisi tersebut menyebabkan organisme yang hidup di hutan bakau harus beradaptasi terhadap lingkungan yang keras tersebut, salah satunya dengan cara menghasilkan suatu zat berupa metabolit sekunder yang dapat digunakan untuk bertahan hidup. Metabolit sekunder merupakan senyawa bioaktif (*bioactive substances*) yang dapat dikembangkan melalui berbagai penelitian untuk dijadikan obat, suplemen, atau makanan alternatif. Salah satu metabolit sekunder yang dihasilkan oleh mikroalga adalah asam lemak yang berfungsi untuk proteksi atau pertahanan (Ordog *et al.* 2006).

Asam dokosaheksanoat atau yang disebut juga dengan DHA adalah senyawa

golongan asam lemak tak jenuh ganda jenis omega-3 yang memiliki nilai ekonomi yang tinggi serta sangat bermanfaat di bidang industri farmasi, industri suplemen makanan, dan bidang pangan umum (Burja *et al.* 2006, Adarme-Vega *et al.* 2012). Saat ini telah banyak penelitian dan pengembangan tentang produksi DHA yang dihasilkan oleh mikroalga. Hal tersebut bertujuan untuk memperoleh DHA dalam jumlah yang lebih banyak secara efektif dan efisien, karena produksi DHA dari mikroalga dipengaruhi oleh berbagai faktor. Salah satu faktor yang mempengaruhinya adalah sumber nitrogen dalam media tumbuh mikroalga (Fidalgo *et al.* 1998, Chen *et al.* 2010). Nitrogen merupakan salah satu komponen nutrisi yang dibutuhkan oleh mikroalga, sumber nitrogen yang berbeda dapat memberikan pengaruh yang berbeda terhadap jumlah DHA yang dihasilkan.

Oleh karena itu, tujuan penelitian ini adalah menentukan sumber nitrogen yang paling baik digunakan untuk produksi DHA oleh mikroalga pada media fermentasi. Hasil yang diharapkan dari penelitian ini adalah memperoleh sumber nitrogen yang menghasilkan rendemen dengan jumlah yang paling banyak.

2. Metodologi

Mikroalga yang digunakan diisolasi dari serasah daun *mangrove* pada hutan bakau daerah kawasan ekologi Tritih Kulon Cilacap Jawa Tengah. Sebelum dilakukan pengerjaan secara mikrobiologi dilakukan persiapan alat dan bahan terlebih dahulu. Persiapan alat dan bahan mencakup sterilisasi alat dan bahan, pembuatan air laut buatan steril, pembuatan media agar padat, dan pembuatan larutan NaCl 0.9 % steril. Tahap pertama dari penelitian ini pembuatan suspensi mikroalga. Suspensi mikroalga ini akan digunakan untuk penentuan Angka Lempeng Total (ALT) dan fermentasi mikroalga.

Tahap kedua adalah penentuan Angka Lempeng Total (ALT). Angka Lempeng Total adalah suatu indeks dari mikroorganisme yaitu sejumlah tertentu mikroorganisme yang menempati suatu media tumbuh. Angka Lempeng Total ditentukan untuk dapat mengetahui jumlah mikroalga yang akan digunakan pada saat fermentasi. Angka Lempeng Total dilakukan dengan cara membuat pengenceran suspensi mikroalga terlebih dahulu hingga beberapa tingkat

pengenceran. Selanjutnya, suspensi mikroalga yang sudah diencerkan tersebut dicampurkan dengan media tumbuh yang telah dibuat menggunakan metode tuang. Selanjutnya dilakukan inkubasi selama 1-2 hari dan dihitung jumlah mikroalga menggunakan rumus Angka Lempeng Total.

Tahap ketiga adalah fermentasi mikroalga yang bertujuan menghasilkan biomassa DHA dari mikroalga dan pembuatan kurva pertumbuhan untuk mengetahui fase pertumbuhan mikroalga. Fermentasi mikroalga dilakukan menggunakan media cair dan diberikan perlakuan berupa pengocokan menggunakan alat *shaker*. Pada fermentasi mikroalga digunakan tiga jenis sumber nitrogen yang berbeda yaitu *bacteriological peptone*, *mycological peptone*, dan *tryptone*. Fermentasi mikroalga dilakukan dengan cara memasukkan suspensi mikroalga segar ke dalam media fermentasi. Sampel fermentasi mikroalga kemudian dimasukkan ke dalam alat *shaker* dan dikocok dengan kecepatan 150 rpm dan pada suhu ruang. Proses pengambilan sampel fermentasi dilakukan dalam rentang 24 jam setiap hari selama 10 hari mulai dari hari ke-1 hingga hari ke-10. Dari proses fermentasi akan dibuat biomassa dengan cara disentrifuga dan diambil endapan, lalu dikeringkan. Biomassa kering kemudian dibuat kurva pertumbuhan mikroalga dengan membuat grafik bobot biomassa kering terhadap hari fermentasi.

3. Hasil dan Pembahasan

Metode fermentasi mikroalga yang dilakukan pada penelitian ini adalah metode fermentasi *batch*. Fermentasi *batch* adalah metode fermentasi yang dilakukan dengan cara memasukkan media tumbuh dan inokulum mikroba secara bersamaan ke dalam reaktor fermentasi dan pemanenan produk hasil fermentasi dilakukan di akhir fermentasi, pada saat proses fermentasi berlangsung akan terjadi perubahan kondisi fermentasi (Islam 2014). Prinsip dari fermentasi *batch* adalah sistem fermentasi yang tertutup dan tidak ada penambahan atau pergantian media tumbuh baru, serta terdapat proses aerasi untuk menambahkan oksigen. Keunggulan dari metode fermentasi *batch* adalah kemudahan dalam proses sterilisasi dan pemantauan proses fermentasi serta akan menghasilkan produk fermentasi dengan kadar yang tinggi.

Pada kurva pertumbuhan mikroalga terdapat empat fase pertumbuhan mikroalga yaitu fase lag, log, stasioner, dan kematian. Fase lag adalah fase awal yaitu laju pertumbuhan spesifik berada pada tahap sub-maksimum dan terjadi penyesuaian terhadap lingkungan. Fase log adalah fase ketika sel telah menyesuaikan diri dengan lingkungan dan mulai untuk tumbuh dan berkembang mengikuti deret eksponensial atau logaritmik. Fase stasioner adalah fase ketika pembelahan sel mulai berkurang karena keterbatasan nutrisi dan kondisi lingkungan yang tidak optimal. Fase

kematian adalah fase ketika jumlah sel menurun drastis karena nutrisi telah habis dan lingkungan yang sudah tidak mendukung untuk pertumbuhan sel (Hadi 2012).

Pada biomassa kering yang dihasilkan dari proses fermentasi mikroalga diperoleh biomassa kering dengan bobot yang paling besar pada sumber nitrogen *mycological peptone*. *Mycological peptone* merupakan *peptone* untuk jamur, sedangkan mikroalga memiliki pertumbuhan yang serupa dengan jamur sehingga *mycological peptone* dapat menunjang pertumbuhan mikroalga (Nigam 2011). Bobot biomassa yang menurun setelah hari ke-7 menunjukkan bahwa sel mikroalga mengalami lisis, biomassa yang terbentuk merupakan akumulasi dari sel mikroalga yang masih hidup. Sel mikroalga akan mengalami lisis dan akan masuk ke dalam fase kematian karena kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan, sehingga sel mikroalga yang masih hidup akan berkurang dan membuat bobot biomassa yang dihasilkan juga akan berkurang (Chatdumrong 2007). DHA merupakan metabolit intraseluler karena terakumulasi di dalam sel mikroalga, khususnya pada organel mitokondria, mikrosom, dan sitosol (sitoplasma) yang merupakan tempat berlangsungnya sintesis DHA dari asetil-KoA.

4. Simpulan

Sumber nitrogen dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroalga

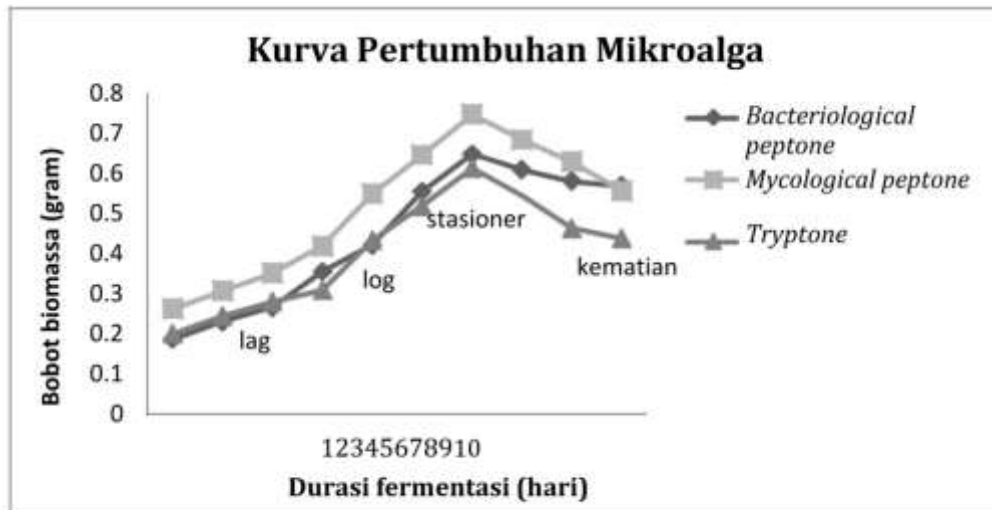
dan jumlah asam lemak DHA yang dihasilkan dari fermentasi mikroalga. Pada penelitian ini digunakan sumber nitrogen yaitu *bacteriological peptone*, *mycological peptone*, dan *tryptone*. Durasi fermentasi optimal untuk *Thraustochytrium* sp. yaitu selama 7 hari. Diperoleh biomassa kering dengan bobot yang paling besar untuk masing-masing sumber nitrogen berturut-turut sebesar 0.57, 0.56, dan 0.44 gram dalam 100 mL media fermentasi.

5. Pustaka

- Adarme-Vega TC, Lim DKY, Timmins M, Vemen F, Li Yan, Schenk PM, Microalgal biofactories: a promising approach towards sustainable omega-3 fatty acid production, *Microbial Cell Factories*, 11(1): 96-106.
- Chatdumrong W, Yongmanitchai W, Limtong S, Worawattanamateekul W, 2007, Optimization of Docosahexaenoic Acid (DHA) Production and Improvement of Astaxanthin Content in Mutant *Schizochytrium limacinum* Isolated from Mangrove Forest in Thailand, *Kasetsart J. (National Science)*, 41: 324-334.
- Chen G, Fan KW, Lu FP, Li Q, Aki T, Chen F, Jiang Y, 2010, Optimization of nitrogen source for enhanced production of squalene thraustochytrid *Aurantiochytrium* sp., *New Biotechnology Research Paper*, 27 (4): 382-389.
- Fidalgo JP, Cid A, Torres E, Sukenik A, Herrero C, 1998, Effects of nitrogen source and growth phase on proximate biochemical composition, lipid classes and fatty acid profile of the marine microalga *Isochrysis galbana*, *Aquaculture Journal*, 166: 105-116.
- Hadi KB, 2012, Kandungan DHA, EPA, dan AAA dalam Mikroalga Laut dari Spesies *Spirulina platensis*, *Botryococcus braunii*, *Chlorella aureus*, dan *Porphyridium cruentum* yang Dikultivasi Secara Heterotrof, Skripsi Program Sarjana, Universitas Indonesia.
- Islam MA, Brown R, Heimann K, Alvensleben N, Dowell A, Eickhoff W, 2014, Evaluation of a Pilot-Scale Oil Extraction from Microalgae for Biodiesel Production, *International Scientific Journal of Environmental Science*.
- Nigam S, Rai MP, Sharma R, 2011, Effect of Nitrogen on Growth and Lipid Content of *Chlorella pyrenoidosa*, *Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 7(3): 124-129.

Tabel 1. Bobot biomassa kering dari hasil fermentasi dalam 100 mL media.

Durasi fermentasi (hari)	Bobot biomassa kering (gram)		
	<i>Bacteriological peptone</i>	<i>Mycological peptone</i>	<i>Tryptone</i>
1	0.1885	0.2641	0.2020
2	0.2318	0.3093	0.2465
3	0.26775	0.35305	0.2825
4	0.35705	0.42155	0.3113
5	0.4244	0.55265	0.43585
6	0.5582	0.65005	0.5220
7	0.6512	0.7510	0.61675
8	0.6127	0.68795	0.54675
9	0.58365	0.6331	0.4659
10	0.5715	0.55995	0.4399



Gambar 1 Kurva pertumbuhan mikroalga berdasarkan sumber nitrogen.