

## KAJIAN SINGKAT POTENSI RANCANG BANGUN PABRIK OMEGA-3 (DHA) KEMURNIAN TINGGI BERBAHAN BAKU SPESIES *AURANTIOCHYTRIUM* DARI HUTAN BAKAU INDONESIA UNTUK MENUNJANG KETAHANAN PANGAN NASIONAL

Suhendra<sup>1\*</sup>, Hanifah Zahro<sup>1</sup>, Endah Sulistiawati<sup>1</sup>, Peter Neubauer<sup>2</sup>, Andri Hutari<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Teknik Kimia, Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta

<sup>2</sup>Institute of Biotechnology, Technische Universität Berlin

<sup>3</sup>Department of Biology, Muhammadiyah University of Prof. Dr. Hamka

[\\*dring.suhendra@gmail.com](mailto:*dring.suhendra@gmail.com)

**ABSTRAK.** Asam dokosaheksaenoat atau biasa disingkat DHA adalah asam lemak tak jenuh ganda (polyunsaturated fatty acid, PUFA) omega-3 yang sangat diperlukan tubuh manusia. Kajian ini memaparkan usaha-usaha yang dapat dilakukan untuk mengeksplorasi mikroalga yang kaya DHA dari hutan bakau Indonesia. Tahapan tersebut dimulai isolasi mikroalga dari hutan bakau Indonesia dan penyimpanan kultur isolat murni dari mikroalga penghasil DHA. Selanjutnya, diskusi tentang produktivitas DHA mikroalga akan dipresentasikan dan dilanjutkan dengan kajian prospek teknologi dan aspek teknologi untuk ditingkatkan menjadi proyek pembangunan pabrik omega-3 skala komersial. Hasil kajian ini menunjukkan bahwa sumber daya mikroba penghasil DHA dari spesies *Aurantiochytrium* berlimpah di hutan bakau Indonesia. Produktivitas DHA spesies *Aurantiochytrium* Indonesia tergolong tinggi dan memungkinkan untuk ditingkatkan lagi pada operasi fed-batch skala yang lebih besar. Pemaparan yang diajukan pada tulisan ini diharapkan dapat berkontribusi dalam memacu pengembangan teknologi lebih lanjut di bidang ini. Harapannya adalah dibangunnya sentra produksi omega-3 di Indonesia yang meningkatkan nilai tambah ekonomi untuk negara serta berkontribusi dalam pemenuhan nilai gizi rakyat pada program ketahanan pangan yang gencar dicanangkan oleh pemerintah Indonesia.

**Kata kunci:** Asam Dokosahexaenoat (DHA), *aurantiochytrium*, mikroalga, omega-3

**ABSTRACT.** Docosahexaenoic acid or commonly abbreviated as DHA is a polyunsaturated fatty acids (PUFA) that is required by human body. This review describes the efforts that can be performed to explore DHA-rich microalgae from Indonesia's mangrove forests. The effort begins with isolation work and preservation of pure isolates of DHA-producing microalgae from Indonesia's mangrove forests. Furthermore, discussion regarding the DHA productivity of microalgae will be presented and continued with a study regarding current available technology and relevant aspects of operational and plant process towards commercial scale of the omega-3 plant. The findings in this study indicate that DHA-producing microbial sources of *Aurantiochytrium* species are abundant in Indonesia's mangrove forests. DHA productivity of Indonesian *Aurantiochytrium* species is comparably high and can be increased in higher scale of fed-batch operations. The review is expected to contribute in booting technological development in this field. Moreover, it is expected that there will be omega-3 production plant that increases economic added value for the country and contributes to fulfil national target of nutritional value in national food security program for Indonesian people which is intensively addressed by the Indonesian government.

**Keywords:** Docosahexaenoic acid (DHA), *aurantiochytrium*, microalgae, omega-3

### PENDAHULUAN

Omega-3 (*Docosahexaenoic acid*) atau biasa disingkat DHA adalah asam lemak tak jenuh berantai Panjang yang sangat diperlukan tubuh manusia

(Horrocks dkk., 1999). Tubuh manusia tidak bisa memproduksi sendiri zat ini, sehingga membutuhkan asupan dari luar. Para ahli menyebutkan bahwa tubuh manusia memerlukan sekitar 300 mg omega-3 per hari (Swanson dkk,

2012; Kris-Etherton dkk., 2009). Asupan harian omega-3 yang cukup akan mengurangi resiko *alzheimer*, meningkatkan kinerja sel-sel otak dan mata serta mengurangi resiko penyakit jantung dan penyakit neurological disorder (Gustafson dkk., 2008). Bagi balita, omega-3 akan menunjang pertumbuhan sel-sel saraf dan kesehatan penglihatan (Suphioglu dkk., 2010 dan Jørgensen, dkk., 2010).

Permintaan produk berbasis omega-3 terus meningkat seiring kesadaran konsumen akan manfaat omega-3 untuk kesehatan. Tahun 2018, pasar omega 3 diperkirakan USD 2.29 milyar seiring permintaan signifikan untuk nutrisi kesehatan di berbagai negara. Asia Pasifik diperkirakan menjadi market *leader* pada 2022 (sekitar 30% pasar dunia) seiring kesadaran hidup sehat di region ini (Grandviewresearch, 2019).

Beberapa konsorsium proyek riset lintas negara tentang omega-3 di Eropa juga menunjukkan hasil cerah potensi produk omega-3 di masa mendatang. Keberhasilan tersebut kemudian mendorong pembangunan *Joint Venture Veramaris*, sebuah konsorsium DSM dan Evonik membangun pabrik DHA dengan proyek senilai 200 juta dollar membuktikan bahwa produksi omega-3 sangat menarik dari sudut pandang bisnis (Evonik, 2019). Indonesia diperkirakan akan menjadi salah satu pangsa pasar omega-3 terbaik dunia, dikarenakan Indonesia memiliki penduduk terbesar nomor 3 di Asia-Pasifik setelah Cina dan India.

Pada awalnya, omega-3 didapat dari ikan dan produk olahan ikan dalam bentuk minyak ikan. Produksi minyak ikan secara komersial semakin mahal disertai tantangan lingkungan yang tercemar yang mempengaruhi kualitas ikan. Berdasarkan hal tersebut, *microalgae* menjadi penghasil omega-3 yang berkualitas, aman dan ramah lingkungan. Sumber *microalgae* terjangkau dan banyak tersedia, yaitu ekosistem hutan bakau (Singh dkk., 2014). Menurut fakta, Indonesia memiliki 60% hutan bakau dunia, maka dengan kajian dan riset yang terarah

akan berpotensi memperoleh mikroalga terbaik penghasil omega-3 dari Indonesia.

Oleh karena itu, tulisan ini bertujuan memberikan gambaran umum potensi pengembangan teknologi produksi omega-3 yang berasal dari mikroalga dari hutan bakau di Indonesia. Kajian ini diawali dari tahapan isolasi dan uji laboratorium terkini untuk mikroalga dari hutan bakau Indonesia. Selanjutnya, diskusi tentang kualitas akan dipresentasikan dilanjutkan dengan kajian prospek teknologi dan aspek teknologi untuk ditingkatkan menjadi proyek pembangunan pabrik omega-3 skala komersial.

## METODOLOGI

### a. Isolasi Mikroalga

#### a.1. Mikroalga penghasil DHA

Pada awalnya mikroalga yang dikenal sebagai penghasil DHA yang menjanjikan adalah: *Cryptocodinium cohnii* (Sijtsma and de Swaaf, 2004). Dalam perkembangan berikutnya banyak ditemukan kelemahan dalam produksi DHA menggunakan *C. Cohnii*. Riset selanjutnya menemukan sumber daya mikrobiologi (*microbial resources*) yang unggul dari kelompok *Thraustochytrids*. Tiga dari species ini dikenal penghasil DHA yang tinggi yaitu *Aurantiochytrium*, *Schizochytrium*, *Ulkenia*, *Thraustochytrium*. Hasil kajian Aasen *et al.* (2016) menunjukkan bahwa mikroalga yang memiliki produktivitas paling tinggi adalah *Aurantiochytrium*.

Spesies *Aurantiochytrium* atau *Schizochytrium* ditemukan melimpah dalam sedimen hutan bakau dan lebih adaptif dengan tingkat oksigen yang rendah dan kondisi fisik yang berfluktuasi (misalnya suhu dan salinitas) dibandingkan spesies *Thraustochytrids* dan *Ulkenia* (Fan dkk., 2002; Kamlangdee, 2003). Fakta ini mengutungkan untuk produksi skala industri karena ada transisi waktu untuk aklimatisasi (penyesuaian) dengan kondisi lingkungan kultivasi (budidaya) akan menjadi lebih ekonomis, misalnya

jika proses berlangsung dalam kondisi transfer oksigen yang rendah. Mikroorganisme yang ditemukan di area lumpur hutan bakau telah beradaptasi dengan tekanan ekologis seperti dinamika suhu, keterbatasan oksigen serta salinitas yang berfluktuasi.

*Thraustochytrids* sebenarnya tidak disebut mikroalga, tetapi dalam penggunaan orang awam masih disebut sebagai mikroalga. *Thraustochytrids* bertindak sebagai pengurai untuk meluruhkan daun bakau dan mengubah daun bakau yang membusuk menjadi nutrisi yang berguna bagi mikroorganisme lain dalam ekosistem bakau, yang akan menguntungkan ikan dan invertebrata dalam ekosistem. Selain itu, *Thraustochytrid* yang berasal dari daerah beriklim sedang menghasilkan lebih banyak DHA dibandingkan dengan biomassa, sementara dari galur subtropis lain menghasilkan biomassa lebih banyak tetapi kadar DHA lebih rendah (Bowles dkk., 1999).

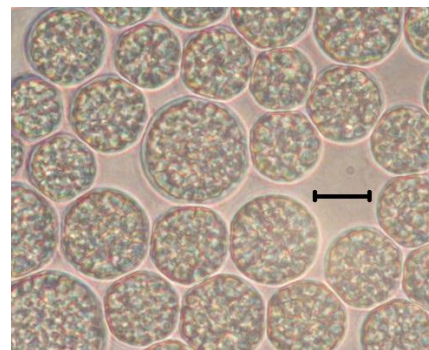
## a.2. Isolasi dan karakterisasi mikroalga

Tahapan awal produksi DHA dari mikrolaga adalah memilih *strain* terbaik untuk dibudidayakan. Isolasi mikroalga dari habitatnya merupakan cara terbaik untuk memperoleh *strain* mikroalga penghasil DHA. Setelah didapatkan *strain* yang diinginkan, dilakukan tahap *screening* (pemilahan) untuk mendapatkan *strain* mikroalga terbaik yang dapat menghasilkan DHA sesuai target proses, keamanan produk dan biaya operasi yang ekonomis.

Isolasi *Thraustochytrid* dilakukan dengan metode pelapisan langsung (Honda dkk., 1999); Puspananda (2012)). Menurut metode ini, isolasi mikroalga dilakukan dengan mengambil daun bakau yang jatuh di perairan bakau yang berwarna kuning dan coklat kehitaman (*Rhizopora sp.* Dan *Avicennia sp.*), lalu dikumpulkan. Langkah selanjutnya adalah pengembangbiakan dalam kultur standar.

Upaya isolasi mikroalga dari hutan bakau Indonesia dilakukan oleh Hutari dan Neubauer (2015). Pengambilan sampel dilakukan di dua hutan bakau, yaitu Lampung (pulau Sumatera) dan Banten (pulau Jawa). Isolat murni kemudian ditumbuhkan dalam kaldu cair M1, dicampur dengan gliserol (konsentrasi akhir 15%) dan disimpan dalam nitrogen cair untuk pengawetan jangka panjang atau digoreskan pada agar M1 pada suhu kamar untuk pengawetan jangka pendek (sekitar 1 bulan) hasil isolat dapat dilihat pada Gambar 1. Isolat murni juga dapat disimpan pada suhu -80 °C selama lebih dari enam puluh hari dengan menambahkan gliserol (40 %) ke dalam kaldu kultur lama 48 jam dalam botol *cryopreservation*.

Gambar 1 menunjukkan *mikrograph* dari *strain Aurantiochytrium* pada fasa pertumbuhan. Seperti tampak dalam gambar, mikroorganisme *unicellular* tersebut mengandung *lipid* di dalam selnya. Isolasi *Thraustochytrids* dari habitat bakau Indonesia telah diidentifikasi sesuai dengan urutan gen 18S rRNA sesuai metoda yang dilakukan Honda *et.al.* (1999) dan Nikahara *et al.* (1996). Setelah itu dilakukan ekstraksi dengan kit pemurnian DNA Genomik Wizard® (Promega, AS) untuk mendapatkan genom DNA kemudian dilakukan analisis filogenetik molekuler dan *Gen Database* disimpan dalam *GenBank Nucleotide* NCBI.



Gambar 1. Mikrograph *Aurantiochytrium* dari hutan bakau Indonesia yang berhasil diisolasi (diadopsi dari Hutari dan Neubauer, 2018). Garis hitam pada mikrograph mewakili skala 10 mikrometer.

Semua isolat dalam kajian Hutari dan Neubauer pada tahun 2015 dan 2018 menunjukkan profil asam lemak yang serupa dan diidentifikasi sebagai spesies *Aurantiochytrium*. Urutan gen parsial 18S rRNA dari empat isolat (LA21, LA22, LR52, LR60) disimpan di *GenBank* masing-masing dengan nomor KY970083, KY970084, KY970085, KY970085 dan KY977402.

*Aurantiochytrium* LR52 hasil isolasi mikroalga dari hutan bakau Indonesia memberikan bukti lebih lanjut bahwa area hutan bakau yang dipilih adalah reservoir alami yang menarik untuk kajian *Thraustochytrids* lebih lanjut. *Aurantiochytrium* yang dihasilkan dianalisa komposisinya dan menunjukkan hasil sebagai mikroalga dengan kemampuan untuk menghasilkan DHA tinggi.

Selain mikroalga yang disolasi memiliki kandungan DHA tinggi, hal penting lain dari mikroalga yang diisolasi Hutari dan Neubauer adalah kandungan *Docosapentaenoic Acid* (22:5 $\omega$ 6, DPA) sangat rendah dibandingkan *Aurantiochytrium* dari kajian sebelumnya. Tabel 1 menunjukkan list kandungan DPA *Strain Aurantiochytrium* dengan tingkat pertumbuhan tinggi, kadar asam lemak tinggi, profil asam lemak sederhana dan kadar DPA rendah (n-6) lebih disukai sebagai kandidat mikroba laut untuk produksi DHA komersial.

Tabel 1. Perbandingan persentase kandungan DPA (n-6) (%) terhadap total fatty acid (TFA) dari beberapa strain *Aurantiochytrium* or *Schizochytrium*

Strain	Kandungan (n-6) DPA (%TFA)	Referensi
<i>Aurantiochytrium limacinum</i> SR21	6 – 10	Honda dkk., 1999
<i>Aurantiochytrium</i> sp. T66	7 – 16	Jakobsen dkk., 2008
<i>Aurantiochytrium</i> sp. BR-MP4-A1	6.6	Li dkk. 2009
<i>Aurantiochytrium mangrovei</i> BL10	6 – 8.5	Gao dkk., 2013

<i>Aurantiochytrium</i> sp. SD116	9.12	Chaung dkk., 2012
<i>Aurantiochytrium</i> sp. mh0186	4.3 – 14.8	Taoka dkk., 2009
<i>Aurantiochytrium</i> sp. LR52	2.4 – 4.6	Hutari dan Neubauer (2015) dan kajian ini

\*: (% DPA of DHA); TFA:

**b. Parameter Produksi**

**b.1. Target produksi**

Berdasarkan batasan pertumbuhan mikroalga, karakter produk dan keamanan produk, maka produksi DHA berbasis mikroalga memiliki target sebagai berikut:

- a) DHA tinggi
- b) DCW tinggi
- c) DPA rendah
- d) Keamanan produk
- e) Biaya operasi (nutrien dan energi) rendah

Batasan kelima hal tersebut harus diterapkan pada produksi DHA skala industri. Dengan target tersebut, diharapkan produksi DHA mencapai skala ekonomis pabrik.

**b.2. Standar proses**

Kajian pendahuluan menunjukkan bahwa produksi DHA optimum sangat tergantung pada parameter proses seperti jenis *strain*, jenis dan jumlah nutrien, jumlah oksigen terlarut, konsentrasi garam (misal: garam sintesis) dan suhu (Park dkk., 2016; Yaguchi dkk. 1997; Yokochi dkk., 1998; de Swaaf, 2003).

Jenis *strain* menentukan hasil DHA optimum karena tiap *strain* memiliki produktivitas berbeda dalam menghasilkan jumlah DHA. Setiap *strain* juga memiliki ketahanan berbeda terhadap gangguan operasi mendadak (*operating shock*) sehingga sangat krusial dalam keberlanjutan proses (Barclay dkk, 2005; Singh and Ward, 1996; Yang dkk. 2010; Singh dkk., 1996). Setiap *strain* memiliki ketergantungan suhu proses yang berbeda.

Produktivitas DHA oleh *strain* mikroalga tergantung pada suhu operasi, maka

jenis *strain* sangat penting dalam penghematan biaya produksi. Proses yang dikehendaki membutuhkan *strain* yang tangguh terhadap gangguan lingkungan seperti perbedaan tekanan dan suhu mendadak serta memiliki produktivitas tinggi dengan suhu proses yang sedekat mungkin dengan suhu lingkungan (Hillig dkk., 2014; Hillig, 2014).

*Nutrient* berperan sebagai sumber makanan untuk mikroorganisme *heterothropi* untuk dikonversi menjadi produk yang diinginkan. *Nutrient* utama mikroorganisme penghasil DHA bersumber dari karbon dan nitrogen. Jenis bahan sebagai sumber nutrisi untuk produksi DHA hingga saat ini adalah glukosa (sumber karbon),  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  (AS, ammonium sulfat), *Monosodium Glutamate*; YE: *yeast extract* (YE), *corn steep solids* (CSS), dan *ammonium acetat* (AS), *triptone* dan *peptone* sebagai sumber nitrogen (Barclay, 2005).

Osmoregulasi adalah kemampuan sel sebuah organisme untuk mempertahankan ketegaran (*turbidity*) selnya. Osmoregulasi yang baik relevan dengan mekanisme glukosa *uptake* dan kemampuan mengkonversi menjadi *biomass* dan *lipid* sebuah sel. Menurut Yang, dkk. (2010), *strain* dari spesies *Aurantiochytrium* sejauh ini dapat tumbuh dengan baik dalam konsentrasi glukosa hingga 140 g/L.

*Artificial Salt Water* (ASW) (atau istilah lain *Salt Ocean Water* (SWO)) juga dipakai untuk mengatur osmoregulasi. ASW atau SWO adalah garam sintetis, karena umumnya produksi DHA skala laboratorium ataupun industri tidak menggunakan garam laut. Bahan yang umum dipakai adalah NaCl dan/ atau KCl. Mikroalga penghasil DHA selama ini tumbuh di habitatnya sekitar 35 g/L.

*Aurantiochytrium sp.* LR52 memiliki prospek cerah sebagai *strain* terbaik untuk produksi DHA. Alasan itu didasari beberapa alasan, antara lain mampu tumbuh dalam konsentrasi glukosa tinggi (100 - 150 g/L), dimana pada konsentrasi ini dapat menghambat

mikroorganisme penghasil DHA lainnya, semisal *C. cohnii* yang terbatas pertumbuhannya pada konsentrasi glukosa maksimum 25 g/L (Hillig dkk., 2013). Selain itu, riset Hutari dan Neubauer menunjukkan bahwa *strain* LR52 juga tumbuh baik dalam kultur batch dengan konsentrasi SOW rendah (1,8 g/L). *Strain* yang tumbuh dalam konsentrasi glukosa tinggi dan konsentrasi rendah air garam bisa menjadi model organisme yang bagus untuk penelitian dalam osmoregulasi (Hillig, 2014).

Nutrisi diperlukan untuk perkembangan mikroalga. Sumber karbon digunakan untuk menghasilkan lipid dan biomassa, sementara nitrogen dan pospor berperan dalam pembelahan sel. Umumnya sumber nitrogen organik adalah yeast ekstrak (YE), sementara sumber nitrogen inorganik adalah *Corn Steep Solid* (CSS) atau *Corn Steep Liquor* (CSL) (de Swaaf, 2003).

### b.3. Alat operasi

Salah satu alat operasi yang menentukan keberhasilan produksi biomassa dan lipid dari mikroalga adalah jenis bioreaktor yang digunakan untuk pembiakan (*cultivation*) alga. Jenis bioreaktor yang digunakan menentukan karakteristik transfer oksigen ke medium pembiakan. Umumnya, aktivitas mentransfer oksigen pertumbuhan sel bagi mikroba yang sensitive terhadap keterbatasan oksigen (Singh dkk., 1996).

Oleh karenanya, diperlukan alat operasi yang menjamin transfer oksigen dengan baik. Satuan yang dijadikan rujukan umum untuk transfer oksigen adalah  $k_LA$ , semakin tinggi nilainya berarti transfer oksigen semakin baik pada alat tersebut dan berarti kemampuan alat tersebut untuk mentransfer oksigen ke dalam medium semakin cepat. Pada reaktor berpengaduk (*buffle reactor*) memiliki  $k_LA$  lebih tinggi sementara pada reaktor tidak berpengaduk oksigen tertransfer  $k_LA$  lebih rendah (Singh dkk., 1996).

Akan tetapi, semakin tinggi  $k_LA$  berpotensi membuat stress fisiologis karena ada guncangan akibat pengadukan dan transfer gas. Kondisi stress fisiologis ini tidak baik untuk pertumbuhan mikroalga. Salah satu inovasi untuk mengatasi kendala tersebut adalah dengan solusi *tube spin*, dimana oksigen transfer lebih cepat tetapi *shear forces stress* (stress karena guncangan) lebih rendah.

Secara umum, pada proses pengkulturan (*cultivation*) dalam fasa pertumbuhan nilai  $k_LA$  tidak boleh tinggi, sehingga pengadukan pada medium tidak cocok (Barclay dkk., 2005). Produksi DHA dengan *C. cohnii* sangat sensitif pada aktivitas transfer oksigen pada fasa pertumbuhan. Kelebihan LR50 dari *C. Cohnii* adalah LR50 relatif lebih tahan terhadap stress daripada *C. cohnii*.

Sejauh ini, *Aurantiochytrium sp.* LR52 tumbuh baik di labu Ultra Yield™ dengan konsentrasi glukosa awal 100 g/L, volume kerja 200 mL dan kecepatan agitasi 200 rpm (Hutari dan Neubauer, 2018). Kultur menunjukkan nilai pH stabil (sekitar 6,5) sampai akhir budidaya. Setelah 92 jam, semua glukosa dikonsumsi dan DCW aplikasi 31 g/L tercapai. Penambahan glukosa dan amonium sulfat menunjukkan bahwa DCW masih dapat ditingkatkan, tetapi konsumsi glukosa lebih rendah selama fase produksi dibandingkan dengan fase pertumbuhan. Kecenderungan penurunan jumlah sel pada fase produksi sementara DCW meningkat, mungkin disebabkan oleh penurunan pembelahan sel sementara sel cenderung memperbesar secara homogen dan volume kultur meningkat karena penambahan glukosa dan amonium sulfat.

Tabel 2 menunjukkan perbandingan kemampuan berbagai *strain Aurantiochytrium* pada berbagai kondisi proses dan operasi yang berbeda. Dari tabel 2 ini menunjukkan bahwa

produksi DHA dengan *Aurantiochytrium* LR52 memiliki keunggulan dibandingkan dengan *strain* lainnya, antara lain potensi kandungan DHA lebih tinggi, biomassa lebih banyak, nutrisi lebih sedikit, tahan terhadap perubahan lingkungan (mampu hidup pada SOW relatif lebih rendah dan glukosa relatif lebih tinggi).

Sebagai contoh, LR52 menghasilkan , berat cell kering dengan strain LR52 dibandingkan ketujuh riset sebelumnya. Selain itu, hasil fermentasi mikroalga menggunakan LR52 mampu menghasilkan kandungan omega-3 yang lebih tinggi dibanding ketujuh riset lainnya.

Berdasarkan fakta di atas, untuk menurunkan biaya operasi produksi DHA maka fokus riset ke depan adalah mencari solusi sumber nutrisi yang lebih murah dan desain alat yang tepat.

#### b.4. Produksi skala industri

Secara umum, tahapan produksi DHA skala industri terdiri dari (i) pembuatan inokulum (pembibitan) kultur mikroalga (ii) produksi biomassa kaya DHA (iii) pemanenan kultur (iv) separasi biomassa (v) ekstraksi lipid ber-DHA tinggi pemurnian produk (vi) *recycle* sisa biomassa (Posten, 2018).

Pengembangan sistem produksi DHA berbahan baku alga yang ekonomis diperoleh dengan optimisasi tiap tahap ini. Biomassa dan produktifitas DHA dari tiap sel alga perlu ditingkatkan untuk memperoleh skala ekonomis dan kelayakan produksi.

Oleh karenanya, 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.

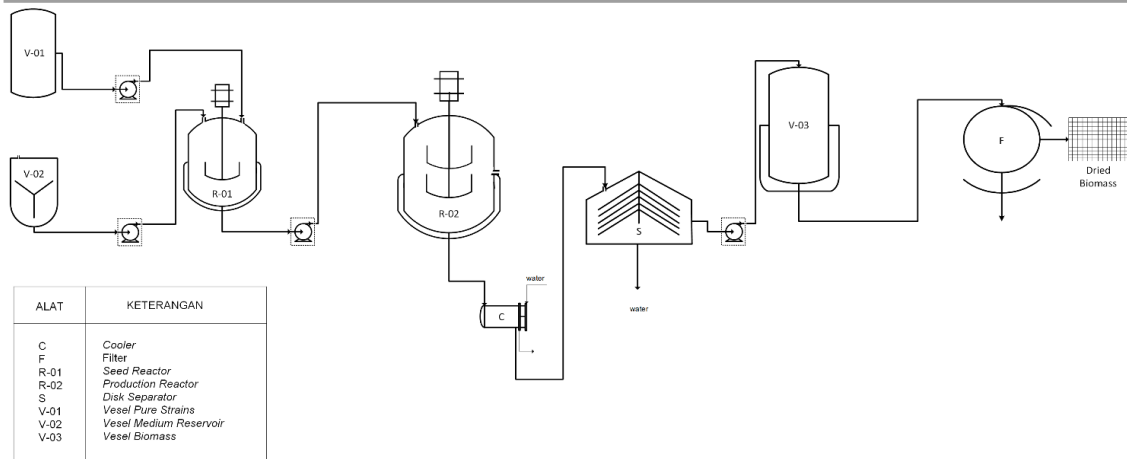
Tabel 2. Perbandingan *strain species Aurantiochytrium*, jenis tempat pembiakan, waktu kultivasi, jenis nutrisi serta berat sel kering (*dry cell weight/ DCW*) dan *yield* DHA pada skala laboratorium.

<b>Strain</b>	<b>Tipe flask, working volume (mL)</b>	<b>waktu (jam)</b>	<b>Sumber Karbon</b>	<b>Sumber Nitrogen</b>	<b>DCW (g/L)</b>	<b>DHA yield (g/ L)</b>	<b>Referensi</b>
<i>Aurantiochytrium limacinum</i> SR21	NF, 50	144	<i>glycerol</i>	CSS, <i>ammonium acetate</i>	37.9	6.56	Chi, dkk (2009)
<i>Aurantiochytrium</i> sp. B-072	NF, 100	62	<i>glucose</i>	MSG	36	6.0	Chaisawang dkk (2012)
<i>Aurantiochytrium</i> sp. 4W-1b	NF, 200	96	<i>glucose</i>	<i>tryptone</i>	20	1.58	Nakazawa et.al (201)
<i>Aurantiochytrium</i> sp. SW1	NF, 100	96	<i>glucose</i>	YE, MSG	13.2	3.6	Manikan dkk (2015)
<i>Aurantiochytrium</i> sp. mh0186	NF, 40	96	<i>glucose</i>	YE	6.7	0.8	Taoka dkk (2005)
<i>Aurantiochytrium mangrovei</i> Sk-02	BF, 100	23	<i>glucose</i>	YE	14.7	1.8	Chodchoey dkk (2012)
<i>Aurantiochytrium</i> sp. KRS101	BF, 200	168	<i>glucose</i>	YE	22.1	3.12	Jiang dkk (2004)
<i>Aurantiochytrium</i> sp. LR52	UYF, 200	144	<i>glucose</i>	YE, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	38	9.2	Hutari & Neubauer (2015)

Singkatan: NF: Normal flask; BF: Baffled flask; UYF: Ultra Yield flask; SB: serum bottle; MSG: monosodium glutamate; YE: yeast extract; CSS: corn steep solids

Gambar 2 menggambarkan diagram alir produksi omega-3 skala industri. Tahap pertama adalah pembiakan dari inokulum mikroalga di reaktor pembibitan (*seed reactor*, R01). Bibit (*strain/galur*) mikroalga terpilih diambil dari penyimpanan kriogenik (*cryo preservation*) dimasukkan ke dalam reaktor dengan diberikan medium (dari V02) untuk pertumbuhan. Reaktor V01 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, R02,

sebagai tempat utama mikroalga berkembang dan memproduksi omega-3. Setelah produksi selesai, produk difiltrasi dengan pemisah (S, umumnya jenis disk separator) untuk memisahkan sel dan supernatan. Sel kering ditampung ke dalam wadah biomassa kering, V-03. Selanjutnya sel yang telah dipisahkan dikeringkan dengan *freeze drier*, F, untuk mendapatkan *dried cell* (sel kering), sementara *yeast* pada medium dipisahkan dari air (misal dengan *vacuum drier*) untuk mendapatkan *yeast* yang kemudian dikompres. Untuk memperoleh DHA *dried cell* kemudian diekstraksi dan dilakukan pemurnian lanjutan.



Gambar 2. Diagram alir produksi omega-3 dari mikroalga pada skala industri

## KESIMPULAN

Dibandingkan dengan produk yang ada di dunia, kandidat *strain* LR52 memiliki kemampuan menghasilkan cell kering dengan kandungan omega-3 tertinggi, produktivitas mikroalga tertinggi dan potensi diproduksi dengan biaya rendah, tahan stres fisiologis serta kandungan DPA rendah.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa spesies *Aurantiochytrium* berlimpah di habitat bakau. *Aurantiochytrium* sp. LR52 sebagai spesies *Aurantiochytrium* unggul dapat dipilih sebagai kandidat terbaik untuk produks omega-3 skala industri. LR52 menunjukkan profil asam lemak sederhana dengan DHA sebagai PUFA utama dengan konten DPA rendah (n-6).

Budidaya dalam labu Ultra Yield™ menunjukkan LR52 menghasilkan produktivitas DHA lebih tinggi dibandingkan dengan *C. cohnii* menggunakan *platform* budidaya yang sama. Produktivitas DHA selanjutnya dapat ditingkatkan dengan menggunakan operasi *fed-batch* maupun budidaya berkelanjutan. Dalam konteks ini pertumbuhan yang cepat, ketanguhan *strain* ini terhadap stress lingkungan seperti konsentrasi glukosa tinggi dan pembatasan oksigen terutama reproduksi DHA selama pertumbuhan di seed reaktor adalah keuntungan yang signifikan yang dimiliki strain LR52.

Pemaparan yang diajukan pada tulisan ini diharapkan dapat berkontribusi dalam memacu pengembangan teknologi lebih lanjut di bidang ini. Harapannya adalah dibangunnya sentra produksi omega-3 di Indonesia yang meningkatkan nilai tambah ekonomi untuk negara serta berkontribusi dalam pemenuhan nilai gizi rakyat pada program ketahanan pangan yang gencar dicanangkan oleh pemerintah Indonesia.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aasen I.M., Brautaset T., Ertesvåg H., Vadstein O., Bjerka, T.M., Ellingsen T., 2016. Thraustochytrids as production organisms for docosahexaenoic acid (DHA), squalene, and carotenoids. *Appl Microbiol Biotechnol* (2016) 100:4309–4321.
- Armenta, R. E. and M.C. Valentine. 2013. Single-Cell Oils as a Source of Omega-3 Fatty Acids: An Overview of Recent Advances. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 90: 167–182.
- Barclay, W., Weaver, C. and J. Metz. 2005. Development of a docosahexaenoic acid production technology using *Schizochytrium*: a historical perspective. In: Cohen Z, Ratledge C (eds) *Single cell oils*. AOCS Press, Champaign, Illinois, pp 36–47.



- Bowles, R.D., Hunt, A.E., Bremer, G.B., Duchars, M.G. and R.A. Eaton. 1999. Long-chain n-3 polyunsaturated fatty acid production by members of the marine protistan group the thraustochytrids: screening of isolates and optimization of docosahexaenoic acid production. *J. Biotechnol.* 70: 193–202.
- Chaisawang, M., Verduyn, C., Chauvatcharin, S. and M. Suphantharika. 2012. Metabolic networks and bioenergetics of *Aurantiochytrium* sp. B-072 during storage lipid formation. *Brazilian Journal of Microbiology* 43: 1192–1205.
- Chang, K-C., Chu, C-Y., Su, Y-M., and Y-M. Chen. 2012. Effect of culture conditions on growth, lipid content, and fatty acid composition of *Aurantiochytrium mangrovei* strain BL10. *AMB Express* 2(42): 1–11.
- Chi, Z.Y., Liu, Y., Frear, C. and S.L. Chen, S.L. 2009. Study of a two-stage growth of DHA producing marine algae *Aurantiochytrium limacinum* SR21 with shifting dissolved oxygen level. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 81: 1141–1148.
- Chodchoey, K. and C. Verduyn. 2012. Growth, fatty acid profile in major lipid classes and lipid fluidity of *Aurantiochytrium mangrovei* Sk02 as a function of growth temperature. *Braz. J. Microbiol.* 43(1): 187–200.
- de Swaaf, M.E. 2003. Docosahexaenoic acid production by the marine alga *Cryptocodinium cohnii*. PhD Dissertation. Technische Universiteit Delft.
- Evonik, 2019, <https://corporate.evonik.de/de/pages/article.aspx?articleId=1089>; online akses: 27 April 2019.
- Fan, K.W., Vrijmoed, L.L.P. and E.B.G. Jones. 2002. Physiological studies of subtropical mangrove thraustochytrids. *Botanica marina* 45: 50–57.
- Gao, M., Song, X., Feng, Y., Li, W., and Q. Cui. 2013. Isolation and characterization of *Aurantiochytrium* species: high docosahexaenoic acid (DHA) production by the newly isolated microalga, *Aurantiochytrium* sp. SD116. *Journal of Oleo Science* 62(3): 143–151.
- Grandviewresearch, 2019, <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/omega-3-market>; online akses 27 April 2019.
- Gustafson, K.M., Colombo, J. and S.E. Carlson. 2008. Docosahexaenoic acid and cognitive function: Is the link mediated by the autonomic nervous system? *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids.* 79: 135–140.
- Hillig, F., Porscha, N., Junne, S. and P. Neubauer. 2014. Growth and docosahexaenoic acid production performance of the heterotrophic marine microalgae *Cryptocodinium cohnii* in the wave-mixed single-use reactor CELL-tainer. *Eng. Life Sci.* 14: 254–263.
- Hillig, F. 2014. Impact of cultivation conditions and bioreactor design on docosahexaenoic acid production by a heterotrophic marine microalgae. A scale up study. PhD Dissertation, Technische Universität Berlin.
- Hillig, F., Annemüller, S., Chmielewska, M., Pilarek, M., Junne, S., and P. Neubauer. 2013. Bioprocess Development in Single-Use Systems for Heterotrophic Marine Microalgae. *Chemie Ingenieur Technik* 85(1–2): 1–10.
- Horrocks, L. and Y. Yeo. 1999. Health benefits of Docosahexaenoic acid (DHA). *Pharmacological Research* 40(3): 211–225.
- Honda, D., Yokochi, T., Nakahara, T., Raghukumar, S., Nakagiri, A., Schaumann, K. and T. Higashihara. 1999. Molecular phylogeny of labyrinthulids and thraustochytrids based on the sequencing of 18S ribosomal

- RNA gene. *J. Eukaryot. Microbiol.* 46(6): 637–647.
- Hutari, A. and Neubauer, P. 2015. Isolation of Thraustochytrids from Indonesian Mangroves Habitat Containing High Amount of Docosahexaenoic Acid (DHA). *Tag der Bioteknologie*, Berlin.
- Hutari, A. and Neubauer, P. 2018. Improvement of docosahexaenoic acid (DHA) production in TubeSpin® Bioreactor 600 by newly isolated *Aurantiochytrium* sp. LR52. *Tag der Bioteknologie*, Berlin.
- Jakobsen, A.N., Aasen, I.M., Josefsen, K.D. and A.R. Størm. 2008. Accumulation of docosahexaenoic acid-rich lipid in thraustochytrid *Aurantiochytrium* sp. strain T66: effects of N and P starvation and O<sub>2</sub> limitation. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 80(2): 97–306.
- Jiang, Y., Fan, K-W., Wong, R.T-Y. and F. Chen. 2004. Fatty Acid Composition and Squalene Content of the Marine Microalga *Schizochytrium mangrovei*. *J. Agric. Food Chem.* 52: 1196–1200.
- Jørgensen, M.H., Hernell, O., Hughes, E.L. and K.F. Michaelsen. 2001. Is There a Relation between Docosahexaenoic Acid Concentration in Mothers' Milk and Visual Development in Term Infants? *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 32: 293–296.
- Hillig, F., Porscha, N., Junne, S. and P. Neubauer. 2014. Growth and docosahexaenoic acid production performance of the heterotrophic marine microalgae *Cryptocodinium cohnii* in the wave-mixed single-use reactor CELL-tainer. *Eng. Life Sci.* 14: 254–263.
- Hillig, F. 2014. Impact of cultivation conditions and bioreactor design on docosahexaenoic acid production by a heterotrophic marine microalgae. A scale up study. PhD Dissertation, Technische Universität Berlin.
- Hillig, F., Annemüller, S., Chmielewska, M., Pilarek, M., Junne, S., and P. Neubauer. 2013. Bioprocess Development in Single-Use Systems for Heterotrophic Marine Microalgae. *Chemie Ingenieur Technik* 85(1–2): 1–10.
- Kamlangdee, N. and K.W. Fan. 2003. Polyunsaturated fatty acids production by *Schizochytrium* sp. isolated from mangrove. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 25(5): 643–650.
- Kris-Etherton, P. M., Grieger, J. A, & Etherton, T. D. (2009). Dietary reference intakes for DHA and EPA. Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids, 81(2-3), 99-104.
- Li, Q., Chen, G-Q., Fan, K-W., Lu, F-P., Aki, T. and Y. Jiang. 2009. Screening and Characterization of Squalene-Producing Thraustochytrids from Hong Kong Mangroves. *J. Agric. Food Chem.* 57: 4267–4272.
- Manikan, V., Nazir, M.Y.M., Kalil, M.S., Isa, M.H.M., Kader, A.J.A., Yusoff, W.M.W., and A.A. Hamid. 2015. A new strain of docosahexaenoic acid producing microalga from Malaysian coastal waters. *Algal Research* 9: 40–47.
- Nakahara, T., Yokochi, T., Higashihara, T., Tanaka, S., Yaguchi, T. and D. Honda. 1996. Production of docosahexaenoic and docosapentaenoic acids by *Schizochytrium* sp. isolated from Yap Islands. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* 73: 1421–1426.
- Park, J.M., Kim, C.K., La, Y.W. and Y.B. Seo. 2016. Microalgae *Aurantiochytrium* sp. LA3 (KCTC12685BP) and method for preparing bio-oil using the same. US Patent 2016/0102328 A1, 14 Aug 2016.
- Nakazawa, A., Matsuura, H., Kose, R., Ito, K., Ueda, M., Honda, D., Inouye, I., Kaya, K. and M.M. Watanabe. 2012. Optimization of biomass and fatty acid production by *Aurantiochytrium* sp. strain 4W-1b. *Procedia Environmental Sciences* 15: 27–33.

- Posten C., 2018. Integrated Bioprocess Engineering. De Gruyter, Germany.
- Puspaananda, H. 2012. Isolasi mikroalga Thrautochytrids penghasil asam dokosaheksanoat (DHA) (Skripsi Sarjana S1, Universitas Indonesia). Diunduh dari <http://lib.ui.ac.id/file?file=digital/20310086-S43007-Isolasi%20mikroalga.pdf>
- Sijtsma, L. and M.E. de Swaaf. 2004. Biotechnological production and application of the  $\omega$ -3 polyunsaturated fatty acid docosahexaenoic acid. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 64: 146-153.
- Singh, A. and O.P. Ward. 1996. Production of high yields of docosahexaenoic acid by *Thraustochytrium roseum* ATCC 28210. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 16(6): 370–373.
- Singh, A., Wilson, S. and O.P. Ward. 1996. Docosahexaenoic acid (DHA) production by *Thraustochytrium* sp. ATCC 20892. *J. Microbiol. Biotechnol.* 12: 76–81.
- Singh, P., Liu, Y., Li, L. and G. Wang. 2014. Ecological dynamics and biotechnological implications of thraustochytrids from marine habitats. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 98: 5789–5805.
- Suphioglu, C., De Mel, D., Kumar, L., Sadli, N., Freestone, D. and A. Michalczyk. 2010. The omega-3 fatty acid, DHA, decreases neuronal cell death in association with altered zinc transport. *FEBS Letters* 584: 612–618.
- Swanson, D., Block, R. and S.A. Mousa. 2012. Omega-3 Fatty Acids EPA and DHA: Health Benefits Throughout Life. *Adv. Nutr.* 3: 1–7.
- Taoka, Y., Nagano, N., Okita, Y., Izumida, H., Sugimoto, S. and M. Hayashi. 2009. Influence of culture temperature on the growth, lipid content and fatty acid composition of *Aurantiochytrium* sp. strain mh0186. *Mar. Biotechnol.* 11: 368–374.
- Yaguchi, T., Tanaka, S., Yokochi, T., Nakahara, T. and T. Higashihara. 1997. Production of high yields of docosahexaenoic acid by *Schizochytrium* sp. strain SR 21. *J. Assoc. Oil Chem. Soc.* 74: 1431–1434.
- Yang, H.-L., Lu, C.-K., Chen, S.-F., Chen, Y.-M. and Yi-Min Chen. 2010. Isolation and Characterization of Taiwanese Heterotrophic Microalgae: Screening of Strains for Docosahexaenoic Acid (DHA) Production. *Mar. Biothechnol.* 12: 173–185.
- Yokochi, T., Honda, D., Higashihara, T. and Nakahara, T. 1998. Optimization of docosahexaenoic acid production by *Schizochytrium limacinum* SR21. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 49: 72–76.

