



TUGAS AKHIR - SB184830

POTENSI MIKROALGA GENUS PICOCHLORUM SEBAGAI PENGHASIL ASTAXANTHIN DENGAN INDUKSI CEKAMAN SALINITAS : STUDI LITERATUR

RAFIKA TRISHA PRASTIWI
01311640000069

Dosen Pembimbing :
Dini Ermavitalini, S.Si., M.Si.

DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN ANALITIKA DATA
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA 2020



TUGAS AKHIR - SB184830

POTENSI MIKROALGA GENUS PICOCHLORUM SEBAGAI PENGHASIL ASTAXANTHIN DENGAN INDUKSI CEKAMAN SALINITAS : STUDI LITERATUR

RAFIKA TRISHA PRASTIWI
0131164000069

Dosen Pembimbing:
Dini Ermavitalini, S.Si.,M.Si.

DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN ANALITIKA DATA
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA 2020



FINAL PROJECT - SB184830

POTENCY OF MICROALGAE GENUS PICOCHLORUM AS ASTAXANTHIN PRODUCER BY SALINITY STRESS INDUCTION : A LITERATURE STUDY

RAFIKA TRISHA PRASTIWI
01311640000069

Supervisor:
Dini Ermavitalini, S.Si., M.Si

DEPARTMENT OF BIOLOGY
FACULTY OF SCIENCE AND DATA ANALYTICS
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA 2020

LEMBAR PENGESAHAN

POTENSI MIKROALGA GENUS PICOCHLORUM SEBAGAI PENGHASIL ASTAXANTHIN DENGAN INDUKSI CEKAMAN SALINITAS: STUDI LITERATUR

TUGAS AKHIR

Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat

Memperoleh Gelar Sarjana Sains

Pada

Departemen Biologi

Fakultas Sains dan Analitika Data

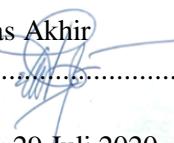
Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Oleh :

RAFIKA TRISHA PRASTIWI

NRP. 01311640000069

Disetujui oleh Pembimbing Tugas Akhir

Dini Ermavitalini S.Si., M.Si.....  (Pembimbing 1)

Surabaya, 29 Juli 2020

Mengetahui,

Kepala Departemen Biologi



Dr. Dewi Hidayati, S.Si, M.Si.

NIP. 196911211998022001

X

POTENSI MIKROALGA GENUS PICOCHLORUM SEBAGAI PENGHASIL ASTAXANTHIN DENGAN INDUKSI CEKAMAN SALINITAS : STUDI LITERATUR

Nama : Rafika Trisha Prastiwi
NRP : 01311640000069
Departemen : Biologi
Dosen Pembimbing : Dini Ermavitalini, S.Si., M.Si.

Abstrak

Mikroalga adalah spesies uniselular atau multiselular sederhana yang tumbuh secara cepat, dapat bertahan hidup pada kondisi dan lingkungan dengan tekanan ekstrem seperti panas, dingin, anaerob, salinitas, foto oksidasi, tekanan osmotik, dan paparan radiasi ultraviolet (UV). Berbagai studi ilmiah telah menunjukkan potensi besar mikroalga sebagai penghasil senyawa bioaktif berupa antioksidan seperti karotenoid. Picochlorum merupakan salah satu genus dari filum Chlorophyta dan kelas Trebuxiophyceae, yang berbentuk coccoid uniseluler kecil (non-motil) dan dapat bertahan di kondisi hipersalin. Ketersediaan nutrien dan berbagai variasi kondisi seperti konsentrasi salinitas dapat memengaruhi pertumbuhan mikroalga serta produk yang dihasilkan dari metabolisme primer dan sekunder seperti senyawa astaxanthin. Tujuan diadakannya penelitian ini yaitu untuk mengetahui potensi mikroalga genus Picochlorum sebagai penghasil astaxanthin dan memahami mekanisme seluler produksi astaxanthin pada saat mendapat perlakuan induksi cekaman kimia berupa cekaman perubahan salinitas. Berdasarkan data penelitian dapat dinyatakan bahwa salah satu faktor yang dapat mempengaruhi biomassa mikroalga khususnya pada Picochlorum adalah komposisi media kultur. Nitrogen dan fosfor adalah dua makronutrien penting untuk pertumbuhan dan metabolisme sel alga. Namun, nitrogen merupakan konstituen penting dari semua protein struktural dan fungsional dalam sel-sel alga, serta fosfor memiliki peran penting dalam penyampaian energi metabolisme dan sebagai komponen struktural penting dari nukleotida dan molekul fosfolipid di semua sel hidup. Sehingga dapat disimpulkan bahwa Picochlorum sp.

berpotensi sebagai penghasil astaxanthin dimana stres salinitas dapat meningkatkan konsentrasi astaxanthin karena kondisi lingkungan yang minim nutrien dan tahan terhadap kondisi pH asam.

Kata kunci : Karotenoid, Metabolisme, Mikroalga, Picochlorum, Salinitas.

**POTENCY OF MICROALGAE GENUS PICOCHLORUM AS
ASTAXANTHIN PRODUCER BY SALINITY STRESS
INDUCTION : A LITERATURE STUDY**

Name : Rafika Trisha Prastiwi
NRP : 01311640000069
Departement : Biology
Supervisor : Dini Ermavitalini, S.Si., M.Si.

Abstract

Microalgae are simple unicellular or multicellular species that grow rapidly, can survive conditions and environments with extreme stress such as heat, cold, anaerobes, salinity, photo oxidation, osmotic pressure, and exposure to ultraviolet (UV) radiation. Various scientific studies have shown the great potential of microalgae as a producer of bioactive compounds in the form of antioxidants such as carotenoids. Picochlorum is a genus of the phylum Chlorophyta and Trebuxiophyceae class, which are small (non-motile) unicellular coccoids and can survive hypersaline conditions. The availability of nutrients and a variety of conditions such as salinity concentrations can affect the growth of microalgae and products produced from primary and secondary metabolism such as astaxanthin compounds. The purpose of this research is to determine the potential of microalgae of the genus Picochlorum as a producer of astaxanthin and to understand the cellular mechanism of astaxanthin production when receiving chemical stress induction treatment in the form of stress changes in salinity. Based on the research data, it can be stated that one of the factors that can affect the biomass of microalgae, especially Picochlorum, is the composition of the culture media. Nitrogen and phosphorus are two essential macronutrients for the growth and metabolism of algal cells. However, nitrogen is an essential constituent of all structural and functional proteins in algal cells, and phosphorus has an important role in the delivery of metabolic energy and as an important structural component of nucleotides and phospholipid molecules in all living cells. So it can be concluded that Picochlorum sp. Potential as a producer of astaxanthin where salinity stress can increase the concentration of astaxanthin due to environmental

conditions that lack nutrients and are resistant to acidic pH conditions

Keywords : Carotenoid, Metabolism, Microalga, *Picochlorum*, Salinity.

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirabbil'alamin, Segala puji bagi Allah SWT atas segala karunia dan ridho-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir yang berjudul **“Potensi Mikroalga Genus Picochlorum Sebagai Penghasil Astaxanthin dengan Induksi Cekaman Salinitas: Studi Literatur”**. Penyusunan Tugas Akhir ini tidak terlepas dari partisipasi dan bimbingan dari semua pihak. Penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Allah SWT atas segala rahmat dan nikmat yang diberikan kepada saya.
2. Ibu Dini Ermavitalini, S.Si., M.Si. selaku dosen pembimbing Tugas Akhir
3. Ibu Dra. Dian Saptarini, M.Sc dan Ibu Dr. Tutik Nurhidayati, S.Si., M.Si selaku Dosen Pengaji
4. Keluarga tercinta yang telah memberikan dorongan semangat dan motivasi, biaya dan khususnya atas doa yang telah mengiringi selama penulisan laporan ini.

Semoga segala kebaikan dan ketulusan mendapat balasan dari Allah SWT. Penulis menyadari masih terdapat kekurangan dalam penyusunan Tugas Akhir ini, namun penulis berharap Tugas Akhir ini dapat bermanfaat dan memberikan wawasan yang luas bagi semua pihak.

Surabaya, 30 Juli 2020

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN SAMPUL	iii
COVER PAGE	v
HALAMAN PENGESAHAN	vii
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	xi
KATA PENGANTAR	xiii
DAFTAR ISI	xv
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR GAMBAR	xix
BAB I	1
PENDAHULUAN	1
BAB II	5
TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Alga	5
2.2 Astaxanthin.....	7
2.3 Teknik Rekayasa Metabolisme	10
BAB III.....	13
METODOLOGI PENELITIAN	13
3.1 Jenis Penelitian.....	13
3.2 Sumber Data.....	13
3.3 Metode Pengumpulan Data.....	15
3.4 Teknik Analisis Data	15
BAB IV.....	137
HASIL DAN PEMBAHASAN	137
4.1 Potensi Genus <i>Picochlorum</i> Dalam Menghasilkan Astaxantin.....	137
4.2 Mekanisme Seluler Sintesis Astaxantin Pada Genus <i>Picochlorum</i> Dengan Induksi Cekaman Salinitas.....	138

BAB V	35
KESIMPULAN DAN SARAN	35
5.1 Kesimpulan	35
5.2 Saran.....	35
DAFTAR PUSTAKA.....	37

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 4.1 Analisis penelitian induksi cekaman salinitas terhadap sintesis astaxanthin pada genus <i>Picochlorum</i>	20
---	----

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 2.1	Morfologi sel <i>Picochlorum</i> . Kiri: Kepala panah putih: tilakoid, kepala panah hitam: granula pati, panah hitam: badan lipid. Skala: 200 nm. Kanan: nucleus (N), mitokondria (M), globula pati (S), kloroplas (C), dinding sel (CW). Skala: 500 nm. (Gonzalez et al., 2019; de la Vega et al., 2011).....	7
Gambar 2.2	Skema fungsi pigmen karotenoid (Alvensleben, 2015).....	9
Gambar 2.3	Struktur kimia astaxanthin (Adedoyin, 2017).....	10
Gambar 2.4	Struktur kimia violaxanthin (Biehler et al., 2012).....	11
Gambar 2.5	Struktur kimia zeaxanthin, lutein, dan neoxanthin (Eismann et al., 2020; Biehler et al., 2012).....	12
Gambar 2.6	Diagram skematik kombinasi rasional rekayasa genetika (De Bhowmick et al, 2015).....	15
Gambar 3.1	Piramida klasifikasi sumber pustaka (Raco, 2010: 74).....	16
Gambar 4.1	Jalur sintesis astaxanthin pada mikroalga (Lin et al., 2019)	18
Gambar 4.2	Respon cekaman salinitas dalam keadaan salinitas tinggi pada <i>Picochlorum</i> (Foflonker et al. 2016)	33

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Alga adalah salah satu mikroorganisme uniseluler yang dapat digunakan sebagai bahan baku untuk menghasilkan produk seperti lipid, protein, polisakarida, pigmen seperti karotenoid dan klorofil, dan berbagai elemen anorganik termasuk Se, Cu, Fe, Mn, dan Zn. Produk dari alga juga telah digunakan sebagai persediaan makanan bagi manusia dan sebagai sumber nutrisi untuk ikan dan udang (Cai, W. *et al.*, 2015). Berbagai studi ilmiah telah menunjukkan potensi besar mikroalga sebagai bahan baku yang andal dan berkelanjutan untuk produksi beragam sumber daya berharga seperti polisakarida, lipid, protein, enzim, vitamin, dan karotenoid (Tang, *et al.*, 2020).

Karotenoid merupakan senyawa berwarna lipofilik dengan penyebaran paling luas dan beragam yang ditemukan di alam (Lafarga, 2020). Astaxanthin dan canthaxanthin merupakan contoh dari karotenoid sekunder yang memainkan peran utama dalam mekanisme perlindungan sel. Astaxanthin dan β -karoten adalah dua karotenoid yang paling dikenal dan membentuk hampir setengah dari pasar karotenoid global (Gong, 2016).

Dalam fotosintesis dan pembersihan radikal pada tanaman tingkat tinggi dan alga, karoten sebagai karotenoid primer yang terletak di membran tilakoid berfungsi sebagai pigmen aksesoris (Lichtenthaler, 1999). Kemudian terdapat astaxanthin sebagai karotenoid sekunder muncul sebagai pigmen merah yang bertanggung jawab atas warna merah muda hingga merah pada daging dan kulit binatang laut (Alvensleben, 2015). Selain itu, astaxanthin juga berkaitan dengan karotenoid lain seperti zeaxanthin dan lutein. Pigmen ini memiliki banyak fungsi metabolisme dan fisiologis yang dikaitkan dengan karotenoid (López, 2019).

Berkaitan dengan karotenoid, genus *Picochlorum* telah menerima banyak perhatian baru-baru ini, karena strain baru telah diidentifikasi dan dikarakterisasi. Strain *Picochlorum* memiliki pertumbuhan eksponensial yang lebih cepat daripada mikroalga yang

biasa digunakan seperti *Dunaliella* dan *Nannochloropsis* yang secara umum bersifat halotoleran dan dapat bertahan di suhu mulai dari 0 hingga 40° C serta dapat menumpuk 20–58% lipid berdasarkan berat kering (Gonzalez-Esquer *et al.*, 2019).

Picochlorum berpotensi untuk dilakukan rekayasa metabolisme karena mengandung beberapa senyawa bioaktif yang mendukung. Di era modern ini, mikroalga menjadi sorotan utama untuk dijadikan bahan baku pembuatan bahan bakar ramah lingkungan seperti *biofuel* dalam *biorefinery* karena bersifat terbarukan dan mampu menangkap energi surya (De Bhowmick *et al.*, 2015). Oleh karena itu, pendekatan rasional rekayasa metabolisme dalam kombinasi dengan sistem dan strategi biologi sintetis berpotensi dapat menghasilkan terobosan untuk pemanfaatan senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh mikroalga genus Picochlorum melalui prinsip-prinsip dan alat-alat yang telah berhasil diimplementasikan pada beberapa mikroalga fotosintetik (De Bhowmick *et al.*, 2015).

1.2 Rumusan Masalah

Permasalahan pada penelitian ini adalah:

1. Bagaimana potensi genus Picochlorum sebagai mikroalga penghasil astaxanthin?
2. Bagaimana mekanisme seluler produksi astaxanthin pada mikroalga genus Picochlorum yang mendapatkan perlakuan induksi cekaman kimia berupa perubahan salinitas dalam medium?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan diadakannya penelitian ini yaitu untuk mengetahui potensi mikroalga genus Picochlorum sebagai penghasil astaxanthin dan memahami mekanisme seluler produksi astaxanthin pada saat mendapat perlakuan induksi cekaman kimia berupa cekaman perubahan salinitas dalam medium

1.4 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Karotenoid sekunder yang diteliti yaitu astaxanthin
2. Teknik rekayasa metabolisme secara kimia yang dibahas dalam studi literatur ini yaitu perlakuan perubahan salinitas dalam media kultur

1.5 Manfaat

Manfaat dari penelitian kualitatif ini adalah sebagai informasi dasar mengenai astaxanthin yang dihasilkan oleh mikroalga genus Picochlorum melalui induksi cekaman kimia untuk dijadikan acuan dan dikembangkan sebagai sumber produksi alami obat-obatan.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Alga

2.1.1 Definisi Alga

Istilah algae berasal dari bahasa Latin "alga" yang berarti ganggang laut atau yang lebih populer dengan istilah rumput laut. Sedangkan ilmu yang mempelajari hal-hal yang berkaitan dengan algae disebut algologi. Padanan kata untuk algae dalam bahasa Yunani adalah "phycos", sehingga ilmu yang mempelajari hal-hal yang berkaitan dengan algae juga disebut fikologi. Beberapa istilah lain yang biasa digunakan untuk algae, misalnya "pond scums", "frog spittle", "water mosses", dan "seaweeds" (Rasyid, 2004). Alga terbagi menjadi dua berdasarkan ukurannya, yaitu makroalga dan mikroalaga dimana keduanya termasuk tumbuhan tingkat rendah yang tidak memiliki perbedaan susunan kerangka seperti akar, batang dan daun meskipun tampak seperti ada perbedaan tapi sebenarnya hanya merupakan bentuk thallus belaka (Kepel *et al*, 2018).

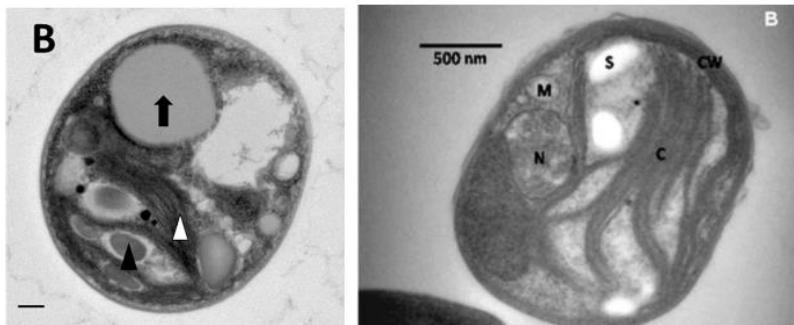
2.1.2 Deskripsi Mikroalga

Mikroalga adalah mikroorganisme aquatik fotosintetik berukuran mikroskopis, yang dapat ditemukan di dalam air tawar dan air laut, dan termasuk ke dalam jenis makhluk hidup fotoautotrof (Winahyu, 2013). Mikroalga adalah spesies uniselular atau multiselular sederhana yang tumbuh secara cepat, dapat bertahan hidup pada kondisi dan lingkungan dengan tekanan ekstrem seperti panas, dingin, anaerob, salinitas, foto oksidasi, tekanan osmotik, dan paparan radiasi ultraviolet (UV) (Oktarina, 2017). Selain itu, Mikroalga terdapat peptide bioaktif yang secara efektif mencegah atau menunda efek merugikan yang disebabkan oleh radikal bebas (Munir *et.al*, 2013). Kebanyakan sel mikroalga mengandung lipid, protein, polisakarida, pigmen seperti karotenoid dan klorofil, dan berbagai elemen anorganik termasuk Se, Cu, Fe, Mn dan Zn (Cai *et al.*, 2016).

2.1.3 Mikroalga Genus Picochlorum

Picochlorum merupakan salah satu genus dari filum Chlorophyta (Martínez-Francés and Carlos Escudero-Oñate, 2018) dan kelas Trebuxiophyceae, dimana sebelumnya termasuk dalam genus Nannochloris (Augusine, 2015). Kebanyakan berbentuk coccoid uniseluler kecil (Gonzalez *et al*, 2019) (non-motil), aseksual, dan dapat bertahan di kondisi hipersalin (Augustine, 2015). Beberapa spesies Picochlorum seperti *Picochlorum oklahomensis* merupakan spesies ganggang hijau yang berbentuk agak oval dengan ukuran sel berdiameter 1,5-2,5 μm , dan sel tersebut mengandung klorofil a dan b sebagai pigmen utama, selain karoten seperti lutein, β -karoten, violaxanthin, neoxanthin dan ester vaucherianthin. Selain itu, *Picochlorum oklahomensis* dilaporkan memiliki tingkat pertumbuhan lebih tinggi $0,5 \mu\text{ / hari}$, $0,7 \text{ divisi per hari}$, dan waktu generasi lebih pendek yaitu $1,4 \text{ hari}$ (Augustine, 2015). Strain Picochlorum memiliki laju pertumbuhan eksponensial yang lebih cepat daripada mikroalga lain yang biasa digunakan (seperti Dunaliella, Nannocloropsis), secara luas bersifat halotoleran, dapat menahan suhu mulai dari 0 hingga 40°C dan dapat mengakumulasi $20\text{-}58\%$ lipid berdasarkan berat kering (Gonzalez *et al*, 2019).

Produk utama yang dapat dihasilkan dari mikroalga untuk keperluan industri saat ini yaitu karotenoid dan beberapa senyawa bioaktif. Produk yang dihasilkan dari penggunaan mikroalga tersebut biasanya digunakan untuk keperluan budidaya perairan, pakan manusia dan hewan (Martínez-Francés and Carlos Escudero-Oñate, 2018).



Gambar 2.1 Morfologi sel Picochlorum. Kiri: Kepala panah putih: tilakoid, kepala panah hitam: granula pati, panah hitam: badan lipid. Skala: 200 nm. Kanan: nukleus (N), mitokondria (M), globula pati (S), kloroplas (C), dinding sel (CW). Skala: 500 nm. (Gonzalez *et al.*, 2019; de la Vega *et al.*, 2011)

2.1.4 Klasifikasi Genus Picochlorum

Secara taksonomi, Picochlorum memiliki klasifikasi sebagai berikut:

Kingdom	:	Plantae
Phylum	:	Chlorophyta
Class	:	Trebouxiophyceae
Order	:	Chlorellales
Family	:	Chlorellales incertae sedis
Genus	:	Picochlorum
Species	:	<i>Picochlorum sp.</i>

(Guiry dan Guiry, 2020)

2.2 Astaxanthin

2.2.1 Deskripsi Astaxanthin

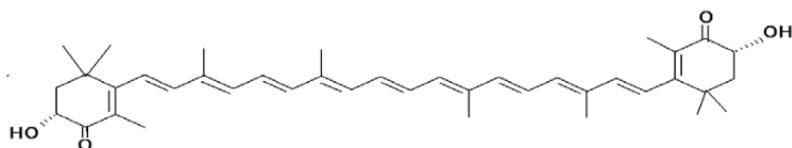
Astaxanthin merupakan senyawa golongan karotenoid bernilai tinggi yang berasal dari laut yang dominan dengan kapasitas antioksidan kuat dan sifat anti-inflamasi. Senyawa ini biasa digunakan dalam industri akuakultur, kosmetik, makanan, dan pakan (Li *et al*, 2019). Menurut Munifah dan Wikanta (2006), astaxanthin

adalah senyawa pigmen dari laut dengan struktur molekul sedemikian rupa sehingga membuatnya menjadi aktif sebagai antioksidan. Karotenoid banyak digunakan sebagai suplemen penambah nutrisi pada makanan manusia, pakan ternak, unggas dan ikan (Martínez-Francés and Carlos Escudero-Oñate, 2018).

2.2.2 Struktur Kimia Astaxanthin

Astaxanthin memiliki struktur kimia $C_{40}H_{52}O_4$, 3,3'-dihidroksi- β,β' -karoten-4,4'-dion dimana merupakan bagian dari pigmen xantofil karotenoid yang berada di air laut maupun air tawar (Panis dan Carreon, 2016). Seperti karotenoid pada umumnya, astaxanthin tersusun atas 40 atom karbon terhubung dengan ikatan tunggal dan rangkap membentuk rantai fitoén. Struktur ini sangat berguna pada saat transfer dan disipasi energi serta memberi karakter warna khusus. Rantai fitoén pada astaxanthin di awali dan di akhiri cincin ionon. Astaxanthin termasuk dalam golongan xantofil karena memiliki oksigen pada cincin ionon. Gugus hidroksi dan keto memungkinkan astaxanthin mengalami esterifikasi dan menjadikannya lebih polar serta memiliki aktivitas antioksidan yang lebih besar dari karotenoid lain. Astaxanthin dalam bentuk bebas sensitif terhadap oksidasi (Pratiwi dan Limantara, 2008).

Keberadaan astaxanthin dalam mikroalga biasanya berupa ester dari berbagai macam asam lemak. Senyawa perantara dalam pembentukan karoten pada biota laut yaitu berupa echinenone dan canthaxanthin yang sering terdeteksi sebagai senyawa karoten minor. Senyawa karoten mayor pada jenis ikan tuna yaitu tunaxanthin (Rodriguez, 2001)



Gambar 2.3 Struktur kimia astaxanthin (Adedoyin, 2017)

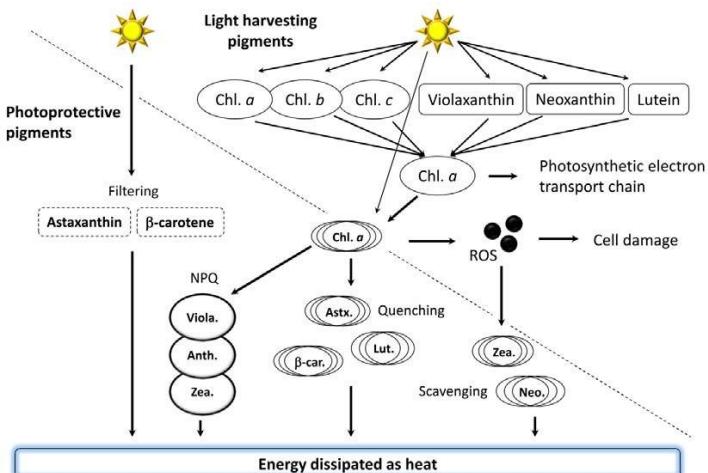
2.2.3 Manfaat Astaxanthin

Astaxanthin diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang memberi perlindungan terhadap fotooksidasi sinar UV, inflamasi, kanker, dan penyakit yang berhubungan dengan umur, sehingga dapat digunakan sebagai suplemen untuk manusia (Huang *et al.*, 2006). Senyawa ini biasa digunakan dalam industri akuakultur, kosmetik, makanan, dan pakan (Li *et al.*, 2019). Sumber antioksidan alami memainkan peranan penting dalam melawan stress oksidatif yang berkaitan dengan penyakit degeneratif di antaranya kanker, penyakit kardiovaskular, diabetes, penyakit alzheimer dan proses penuaan (Gazali *et al.*, 2018).

2.2.4 Astaxanthin Sebagai Antioksidan

Antioksidan merupakan suatu agen yang bisa menghambat terjadinya proses oksidasi (Munifah dan Wikanta, 2006). Astaxanthin dapat melindungi sel dari oksidasi dengan mekanisme meredam singlet oksigen kemudian melepaskan energi dalam bentuk panas, dan menetralkan radikal bebas yang selanjutnya mencegah dan menghentikan reaksi oksidasi (Pratiwi dan Limantara, 2008).

Ketersediaan nutrien dan berbagai variasi kondisi seperti suhu, intensitas cahaya, dan konsentrasi salinitas dapat memengaruhi pertumbuhan mikroalga serta produk yang dihasilkan dari metabolisme primer dan sekunder. Reproduksi, pembelahan sel, produksi lipid dan antioksidan merupakan kegiatan yang dilakukan oleh metabolit primer. Sedangkan metabolit sekunder adalah senyawa-senyawa yang tidak digunakan oleh organisme untuk kebutuhan utama seperti hormone, antibiotik atau anti-racun (Martínez-Francés and Carlos Escudero-Oñate, 2018). Senyawa antioksidan berupa karotenoid sekunder pada genus *Picochlorum* seperti astaxanthin, violaxanthin, zeaxanthin, lutein, dan neoxanthin yang merupakan pewarna alami untuk beberapa ikan dan krustasea (Watanabe and Fujii, 2016).



Gambar 2.2 Skema fungsi pigmen karotenoid (Alvensleben, 2015)

2.3 Teknologi Rekayasa Metabolisme

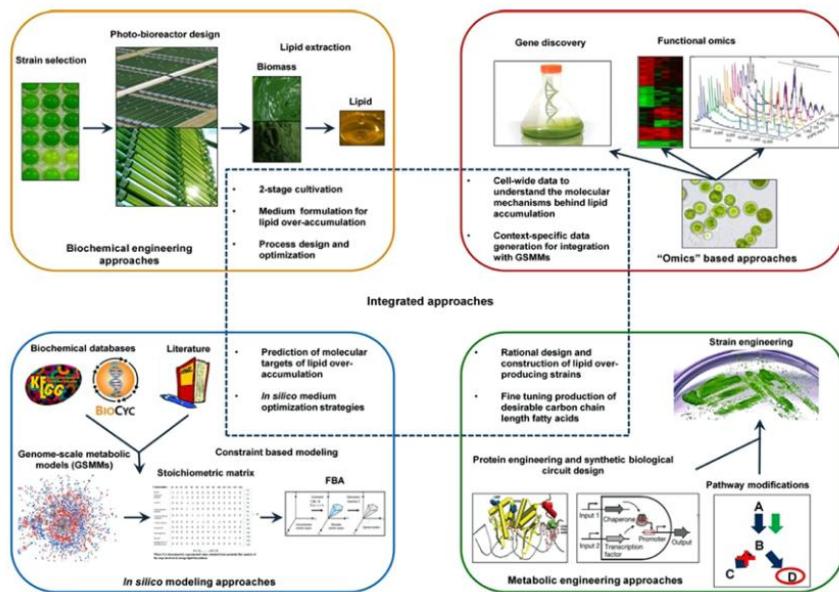
Mikroalga adalah mikroorganisme fotosintetik eukariotik yang dapat mengubah sinar matahari, CO₂, dan air menjadi bahan organik. Oleh karena itu, mikroalga dianggap memiliki potensi besar sebagai bahan baku terbarukan atau *biofuel*. Beberapa spesies mikroalga memiliki kapasitas untuk mengakumulasi minyak dalam bentuk triasilglicerol (TAG) yang memiliki karakteristik kimia yang sama dengan diesel bensin (Fang, 2019). Selain itu, mikroalga dianggap sebagai organisme yang dapat dengan mudah dibudidayakan karena kesederhanaan regulasi jalur metabolisme dan tingkat pertumbuhannya yang cepat sehingga berpotensi untuk dapat mengungkap gen yang mengkode biosintesis karotenoid didalamnya (Gong dan Bassi, 2016). Rekayasa metabolisme telah berhasil digunakan dalam modifikasi jalur lipid di banyak organisme eukariotik yang lebih tinggi (De Bhowmick *et al*, 2015).

Teknik rekayasa metabolisme atau teknik peningkatan strain berbasis genetik adalah teknik peningkatan langsung pada pembentukan produk atau sifat seluler melalui modifikasi reaksi biokimia spesifik menggunakan Teknik DNA rekombinan

(Augustine, 2015). Sebagian besar strategi rekayasa metabolisme yang telah dirancang hingga saat ini adalah memanipulasi langkah-langkah pembatas laju jalur de novo (jalur bergantung asil CoA) atau mendaur ulang lipid membran (jalur bebas asil CoA) untuk biosintesis TAG (triasilgliserol) dengan harapan meningkatkan fluks metabolismik untuk produksi TAG (Fang, 2019). Rekayasa metabolism secara efektif dapat menghasilkan protein rekombinan baru seperti pada *Pichia*, ragi, bakteri, PHA (bioplastic) pada bakteri, piruvat pada bakteri, dan bioethanol dalam ragi (De Bhowmick *et al*, 2015).

Strategi rekayasa metabolisme secara konvensional umumnya bergantung pada data eksperimental (seperti mutagenesis, analisis biokimia, dan ekspresi protein). Namun, cara ini cenderung memakan waktu dan dianggap tidak dapat diandalkan karena tidak selalu mempertimbangkan sifat kompleks dari jaringan biokimia (De Bhowmick *et al*, 2015). Ada beberapa strategi yang diadopsi untuk modifikasi genetik, termasuk produksi produk baru dengan jalur baru, menghilangkan atau mengurangi aktivitas enzim, dan memperkuat gen untuk meningkatkan produk yang sudah ada (Augustine, 2015).

Secara kimiawi, rekonstruksi metabolismik adalah basis pengetahuan yang berisi informasi deskriptif mengenai stoikiometri substrat dan produk dari reaksi yang dikatalisisnya serta reversibilitas reaksi untuk setiap enzim dalam suatu mikroorganisme (Hefzi *et al*, 2013). Rekayasa metabolisme pada mikroorganisme memungkinkan produksi bahan kimia melalui konstruksi dan optimalisasi jalur metabolisme yang berbeda (Jawed *et al*, 2019).



Gambar 2.6 Diagram skematik kombinasi rasional rekayasa genetika (De Bhowmick *et al*, 2015)

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

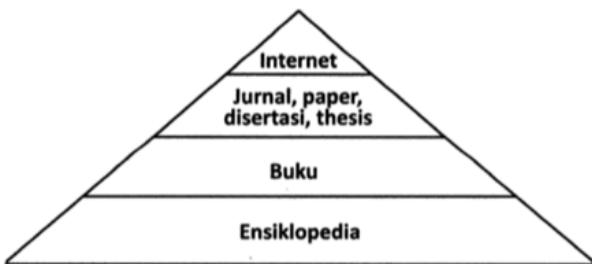
3.1 Jenis Penelitian

Menurut Mulyadi (2013), penelitian merupakan suatu proses kegiatan yang bertujuan untuk mengetahui sesuatu secara teliti dan kritis dalam mencari fakta-fakta menggunakan langkah-langkah tertentu. Sedangkan jenis penelitian yang digunakan dalam studi ini adalah penelitian kualitatif yang berarti pengumpulan data pada suatu latar alamiah dengan maksud menafsirkan fenomena yang terjadi (Anggito dan Setiawan, 2018: 8).

Tahapan penelitian kualitatif menurut Neuman (2000) dalam Raco (2010: 18) meliputi, pemilihan topik yang kemudian akan berkembang dan mengerucut menjadi lebih spesifik, kemudian memeriksa topik tersebut pada sumber buku-buku atau jurnal-jurnal ilmiah (*literature review*), lalu dilanjutkan dengan pengumpulan data, analisis data, penafsiran dan pelaporan. Dalam penulisan laporan penelitian kualitatif berisi kutipan-kutipan data (fakta) yang diungkap di lapangan untuk memberikan dukungan terhadap apa yang disajikan dalam laporannya (Anggito dan Setiawan, 2018: 11).

3.2 Sumber Data

Sumber data yang utama digunakan untuk tinjauan pustaka dalam penelitian kualitatif terdiri dari ensiklopedi, buku, jurnal, *papers*, dan disertasi, serta terakhir internet (Raco, 2010: 74). Teknik pengumpulan data dapat dikelompokkan menjadi dua macam, yaitu sumber data primer dan sumber data sekunder. Data primer yaitu data yang diperoleh langsung dari sumber data, sedangkan data sekunder yaitu data yang diperoleh dari literatur dan buku-buku yang ada hubungannya dengan masalah yang akan diteliti (Wartika, 2013).



Gambar 3.1 Piramida klasifikasi sumber pustaka (Raco, 2010: 74)

1. Sumber primer yang digunakan dalam penelitian ini berupa jurnal internasional sebagai berikut:
 - a. Kazuki Watanabe, Katsuhiko Fujii (2016) dengan judul *“Isolation of high-level-CO₂-preferring Picochlorum sp. strains and their biotechnological potential”*.
 - b. M. de la Vega, E. Díaz, M. Vila, and R. León (2011) dengan judul *“Isolation of a new strain of Picochlorum sp and characterization of its potential biotechnological applications”*
2. Sumber sekunder yang digunakan dalam penelitian ini berupa buku-buku dan literatur sebagai berikut:
 - a. Goldy De Bhowmick, Lokanand Koduru, Ramkrishna Sen (2015) dengan judul *“Metabolic pathway engineering towards enhancing microalgal lipid biosynthesis for biofuel application—A review”*
 - b. Martínez-Francés, E., Escudero-Oñate, C. (2018) dengan judul *“Cyanobacteria and Microalgae in the Production of Valuable Bioactive Compounds”*
 - c. Lafarga, T. and Clemente, I. (2020) dengan judul *“Carotenoids from microalgae, Carotenoids: Properties, Processing and Applications”*

3.3 Metode Pengumpulan Data

Metode penelitian kualitatif dilakukan dengan cara pengumpulan data, analisis, kemudian diinterpretasikan dimana hasil penelitian tersebut bersifat deskriptif (Anggito dan Setiawan, 2018). Studi pustaka dilakukan untuk memperkaya pengetahuan mengenai berbagai konsep dalam Martono (2011: 97). Studi pustaka dalam teknik pengumpulan data ini merupakan jenis data sekunder yang digunakan untuk membantu proses penelitian, yaitu dengan mengumpulkan informasi yang terdapat dalam artikel surat kabar, buku-buku, maupun karya ilmiah pada penelitian sebelumnya. Tujuan dari studi pustaka ini adalah untuk mencari fakta dan mengetahui konsep metode yang digunakan.

3.4 Teknik Analisis Data

Analisis data adalah proses mencari dan menyusun secara sistematis data yang diperoleh dari hasil wawancara, catatan lapangan, dan bahan-bahan lain, sehingga dapat mudah dipahami, dan temuannya dapat diinformasikan kepada orang lain (Bogdan, 1982 dalam Sugiyono, 2009: 244).

Metode yang digunakan untuk mengumpulkan data dalam penelitian ini adalah studi pustaka, yaitu metode pengumpulan data yang diarahkan kepada pencarian data dan informasi melalui dokumen-dokumen, baik dokumen tertulis, foto-foto, gambar, maupun dokumen elektronik yang dapat mendukung dalam proses penulisan. Data yang sudah terkumpul kemudian dianalisis untuk mendapatkan informasi, namun terlebih dahulu data tersebut diseleksi atas dasar reliabilitasnya (Mantra, 2008: 123).

Dalam penelitian ini menggunakan teknik analisis data berupa analisis isi (*content analysis*). Analisis isi merupakan analisis ilmiah tentang isi pesan suatu data (Muhadjir, 1998: 49).

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

BAB IV

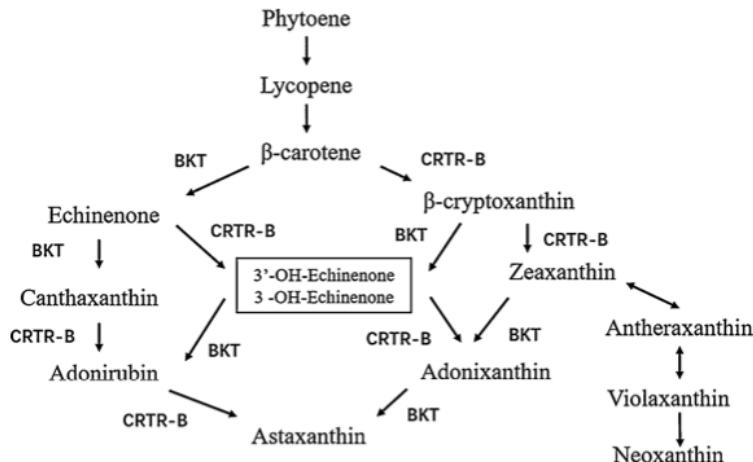
HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Potensi Genus *Picochlorum* Dalam Menghasilkan Astaxanthin

Picochlorum adalah alga hijau yang berbentuk agak lonjong, tidak berflagela dengan perkiraan ukuran rata-rata 2 μm (Wang *et al.*, 2016). Selain itu, Picochlorum merupakan genus dari filum Chlorophyta yang mengandung klorofil-a dan -b, serta serangkaian karoten, termasuk β -karoten berbagai xanthofil (seperti Astaxanthin, canthaxanthin, lutein, zeaxanthin, dll.) (Barkia *et al.*, 2019).

Ada dua cara yang memungkinkan untuk mendukung produksi astaxanthin pada mikroalga. Salah satunya adalah dengan mendapatkan biomassa maksimum dan yang lainnya adalah untuk meningkatkan kandungan astaxanthin sel atau unit massa (Mansouri & Hajizadeh, 2018). Secara garis besar metabolisme karoten dibagi menjadi dua jalur yang dikatalisis oleh β -karoten hidroksilase (CRTR-B) dan β -karotenoid ketolase (BKT). Dalam satu jalur, karoten pertama kali diangkut ke sitoplasma, setelah itu BKT mengkatalisis konversi β -karoten menjadi echinenone, yang kemudian dikonversi menjadi canthaxanthin. Lalu, canthaxanthin dikonversi menjadi astaxanthin oleh CRTR-B. Di jalur lain, β -karoten pertama kali dikonversi menjadi zeaxanthin oleh CRTR-B dalam stroma kloroplas. Zeaxanthin diangkut ke sitoplasma, dikonversi menjadi astaxanthin oleh BKT dan disimpan sebagai tetesan (*droplets*) lipid dalam sitoplasma. Oleh karena itu, ekspresi gen BKT lebih disukai untuk produksi astaxanthin di sebagian besar sistem transgenik. Selain

itu, CRTR-B juga diperlukan untuk mendapatkan produktivitas astaxanthin yang lebih tinggi (Lin *et al.*, 2019).



Gambar 4.2 Jalur sintesis astaxanthin pada mikroalga (Lin *et al.*, 2019)

4.2 Mekanisme Seluler Sintesis Astaxanthin pada genus *Picochlorum* dengan Induksi Cekaman Salinitas

Cekaman salinitas dapat diartikan sebagai kondisi dimana garam terlarut dalam konsentrasi tinggi sehingga menyebabkan terjadinya perubahan signifikan dari kondisi optimal dan mengakibatkan adanya perubahan pada tingkat fungsional baik bersifat sementara maupun permanen (Ma'ruf, 2016). Salinitas mengacu pada kandungan garam dari air atau tanah. Stres salinitas dapat memengaruhi tanaman dan alga melalui stres osmotik dan ionik dikarenakan defisit air dan kelebihan Na⁺ dan Cl⁻ sehingga terjadi pengurangan penyerapan nutrisi

mineral lainnya yang dapat menyebabkan ketidakseimbangan ionik atau stres (Annan, 2014).

Perubahan biokimia dan fisiologis dalam sel mikroalga dapat dipengaruhi tidak hanya oleh teknologi transformasi genetik, tetapi juga oleh media kultur, kondisi pertumbuhan, dan komposisi nutrisi (Mansouri dan Hajizadeh, 2018). Kondisi lingkungan ketika mengalami tekanan mengakibatkan nutrisi terbatas dan selalu menyebabkan tingkat pembelahan sel yang terus menurun (El-Kassas, 2013). Ketika kondisi danau dan salinitas tanah bervariasi maka konsentrasi dan rasio nutrisi tergantung dengan salinitas dan komposisi anion dan perubahan ini berpotensi memengaruhi kebutuhan nutrisi alga. Diperkirakan bahwa salinitas tinggi akan membuat nutrisi kurang tersedia bagi organisme karena curah hujan di lingkungan alaminya. Oleh karena itu organisme yang ditemukan di lingkungan tersebut dapat beradaptasi dengan tingkat nutrisi yang rendah (Annan, 2014). Penjelasan diatas sesuai dengan pernyataan literatur bahwa penerangan berkelanjutan dan kekurangan nutrisi paling baik untuk akumulasi astaxanthin, dan kandungan karotenoid berkorelasi secara proporsional dengan intensitas cahaya (Adedoyin, 2017).

Tabel 4.1 Analisis penelitian induksi cekaman salinitas terhadap sintesis astaxanthin pada genus *Picochlorum*

No	Nama Artikel	Penulis	Hasil Jurnal	Analisis Telaah
1	<i>The unexpected extremophile: Tolerance to fluctuating salinity in the green alga Picochlorum</i>	Foflonker et al, (2016)	Tingkat pertumbuhan yang lebih tinggi terdapat pada salinitas yang lebih rendah (0,1 dan 0,01 M) mengindikasikan bahwa salinitas yang lebih rendah menghasilkan pertumbuhan optimal selama beberapa hari.	Stress salinitas konsentrasi 1 M hingga 10 mM mewakili apa yang mungkin dialami sel <i>Picochlorum</i> selama musim hujan di lingkungan alamnya.
2	<i>Interaction Effects of Salinity, High Light Intensity and Acetate on Growth and Pigment Production on Scenedesmus obliquus</i>	Mansouri & Hajizadeh (2018)	Kandungan klorofil dan karotenoid menurun pada kondisi cekaman (penambahan NaCl dan intensitas cahaya) dan dengan aplikasi asetat. Alga dalam kultur perlakukan dengan asetat menghasilkan konten astaxanthin paling sedikit.	Biokimia dan perubahan fisiologis dalam sel microalgal dapat dipengaruhi oleh tidak hanya teknologi transformasi genetik, tetapi juga oleh media budaya, kondisi pertumbuhan, dan komposisi hara.

			Salinitas tidak memiliki efek besar pada pertumbuhan, namun memicu perubahan dalam komposisi biokimia (kualitas) biomassa.	
3	<i>Demonstration of the potential of Picochlorum soloecismus as a microalgal platform for the production of renewable fuels</i>	Gonzalez et al. (2019)	Peningkatan salinitas berkorelasi dengan peningkatan kadar abu (ash) yang dapat mempengaruhi kualitas lipid dari alga, serta memengaruhi analisis proksimat.	Secara keseluruhan, hasil ini menunjukkan bahwa <i>P. soloecismus</i> secara luas bersifat halotolerant, termasuk air payau dan air hipersalin (hingga dua kali salinitas air laut rata-rata).
4	<i>Isolation of a new strain of Picochlorum sp. and characterization of its potential biotechnological applications</i>	de la Vega et al. (2011)	<i>Picochlorum</i> sp. dapat tumbuh di seluruh tingkat salinitas yang diuji, termasuk air laut yang ditambah NaCl. Untuk konsentrasi molar lebih rendah dari 0,085 M, pertumbuhan menurun secara dramatis. Untuk media kultur yang	<i>Picochlorum</i> sp. dapat tumbuh pada semua jenis salinitas yang diuji, termasuk air laut yang disuplementasi NaCl.

		disiapkan dalam air laut yang dilengkapi dengan NaCl, laju pertumbuhannya menurun ketika salinitas medium meningkat.
5	<i>Isolation of high-level-CO₂-preferring <i>Picochlorum</i> sp. strains and their biotechnological potential</i> Watanabe dan Fujii (2016)	Penelitian tersebut menunjukkan bahwa pH kultur <i>Picochlorum</i> sp. yang tumbuh dalam konsentrasi 40% CO ₂ yaitu 5,6-5,7 dan media NAS memerah yang menunjukkan pH sekitar 5,4. Dengan demikian, strain <i>Picochlorum</i> sp. diduga mampu bertahan terhadap pH asam. Selain itu karotenoid yang terkandung dalam strain antara lain astaxanthin, violaxanthin, zeaxanthin, lutein, dan neoxanthin. Jumlah astaxanthin yang didapat dalam kultur penelitian yaitu berkisar Medium tumbuh berbasis air laut yang di asamkan dengan penambahan CO ₂ menguntungkan bagi spesies mikroalga karena medium dengan salinitas tinggi dan pH rendah tidak menguntungkan bagi pertumbuhan Mikroalga liar. Singkatnya, strain <i>Picochlorum</i> sp. memungkinkan produk yang menjanjikan untuk aplikasi komersialisasi biomassa ganggang.

			antara 121-132 mg/kg dari berat kering sel.
6	<i>Metabolic engineering of Synechocystis sp. PCC6803 to produce astaxanthin</i>	Liu et al. (2019)	<p>Perlakuan 10% N setelah 14 hari menunjukkan kultur bkt / crtR-B berubah menjadi oranye dimana konten astaxanthin bebas mencapai $1,65 \pm 0,03$ mg g⁻¹ (DW) dan total konten astaxanthin mencapai $4,81 \pm 0,06$ µg g⁻¹ (DW) (yaitu, 34,33% astaxanthin dalam bentuk bebas). Hasil diatas terbukti menjadi konsentrasi nitrogen paling efektif untuk produksi astaxanthin..</p> <p>Dengan 1% N, pertumbuhan BKT/crtR-B sangat terpengaruh, dan tingkat pertumbuhan sel di bawah kondisi kelaparan nitrogen lainnya tidak jauh berbeda.</p>
7	<i>Development of a Chlorella vulgaris mutant by chemical mutagenesis as a producer for</i>	Kim et al. (2020)	<p>Ketika glukosa disediakan, kloroplast yang terdegradasi dan produksi karotenoid berkurang. Hasil</p> <p>CvLD menggunakan asam asetat lebih efisien daripada glukosa dalam penelitian ini, ketika</p>

	<i>natural violaxanthin</i>	ini menunjukkan bahwa pilihan sumber karbon mungkin merupakan faktor penting dalam optimalisasi produksi violaxanthin.	bikarbonat (karbon anorganik) adalah sumber karbon, pertumbuhan sel CvLD yang nyata rendah. Selain itu, dalam udara memicu eksperimen menggunakan media TAP, pasokan udara tambahan tampaknya menghambat pertumbuhan sel.	
8	<i>Microalgal species prospecting and characterisation for salinity tolerance, nutrient remediation and bio-product potential.</i>	Alvensleben (2015)	Mikroalgae spesies khusus dapat menghasilkan Astaxanthin dengan tingkat yang berbeda tergantung pada parameter lingkungan dan fisiologis (misalnya intensitas cahaya, suhu dan ketersediaan gizi) serta dari esterifikasi (misalnya 99% dari Astaxanthin dari nitrat dan	Tergantung pada lingkungan dan parameter fisiologis (misalnya intensitas cahaya, suhu dan ketersediaan nutrisi) serta spesifisitas spesies, Mikroalgae dapat menghasilkan Astaxanthin dengan tingkat yang berbeda dari esterifikasi (misalnya 99%

			Phosphate-Starved Haematococcus Pluvialis yang teresterifikasi.	dari Astaxanthin dari nitrat-dan fosfat- kelaparan Haematococcus Pluvialis adalah esterified
9	<i>Isolation and Characterization of Carotenoid Producing Microalgae from Kwazulu-Natal</i>	Adedoyin (2017)	Canthaxanthin dan Astaxanthin diproduksi dalam bentuk bebas mereka atau sebagai monoesters dan diester dengan degradasi bersamaan kloroplast membran karena kondisi buruk seperti sinar cahaya tinggi, kekurangan nitrogen,	Dengan strain <i>Chlorella zofingiensis</i> dibudidayakan secara fotoautotrof, dan fotoheterotrof (dengan konsentrasi karotenoid tertinggi per biomassa dari 0,72 g × l-1 dan 15mg × l-1 di bawah kondisi fototrof) menjanjikan produksi Astaxanthin alami yang produktif
10	<i>Growth and photosynthesis response of the green alga, <i>Picochlorum oklahomensis</i> to iron limitation</i>	Annan (2014)	Stres salinitas dapat mempengaruhi tanaman dan ganggang melalui stres osmotik dan ionik. Defisit air membawa tentang stres osmotik	stres salinitas memiliki efek negatif pada kandungan klorofil dan karotenoid dalam alga hijau <i>Picochlorum oklahomensis</i>

	<i>and salinity stress</i>	sementara kelebihan Na+ dan Cl- dan pengurangan penyerapan nutrisi mineral lainnya dapat membawa ketidakseimbangan ionik atau stres
11	<i>Microalgae for high-value products towards human health and nutrition</i>	Barkia et al. (2019)
		aktivitas antioksidan mikroalgal karotenoid dilaporkan secara signifikan lebih tinggi daripada tanaman atau analog sintetis. Aktivitas antioksidan in vitro Fucoxanthin, xanthophyll cokelat yang ditemukan di alga keemasan, dilaporkan > 13 kali lebih tinggi dari α -tokoferol, vitamin E. Demikian pula, Astaxanthin, keto merah β -karotenoid, adalah 65 kali lebih tinggi daripada vitamin C β -karoten dan Astaxanthin mewakili lebih dari 90% dari total karotenoid di <i>D. Salina</i> dan <i>H. Pluvialis</i> , masing-masing, ketika tumbuh pada kondisi ekstrim.

		dan 100 kali lebih banyak efektif dari α-tokoferol.	
12	<i>Audible sound treatment of the microalgae Picochlorum oklahomensis for enhancing biomass productivity</i>	Cai et al. (2015)	Hasil penelitian menunjukkan bahwa suara dengan frekuensi utama dari alam yang dikumpulkan dari lingkungan tanaman liar (seperti burung liar 'chirm) memiliki efek yang lebih baik pada pertumbuhan tanaman atau mikroalga dari jenis lain dari suara yang dapat didengar.protein antibiku dan bahkan antibiotik. Studi terbaru mengungkapkan bahwa stimulasi suara yang dapat didengar memiliki potensi besar untuk meningkatkan pertumbuhan tanaman dan kualitas produk yang dilakukan eksperimen pada efek gelombang sonik pada pertumbuhan klorella, dan menemukan bahwa perlakuan sonik gelombang dipromosikan pertumbuhan Chlorella secara signifikan dengan pertumbuhan tingkat kenaikan antara 12% dan 30%.

			Antioksidan lain yang sebagian besar digunakan adalah astaxanthine. Zat ini telah menjadi sangat populer baru-baru ini sebagai suplemen untuk nutrisi manusia dan umumnya ditemukan dalam formulasi makanan salmon untuk mengintensifkan pigmentasi pertumbuhan ikan di fasilitas akuakultur
13	<i>Cyanobacteria and Microalgae in the Production of Valuable Bioactive Compounds</i>	Martínez-Francés et al, (2018)	Saat ini, produk utama yang Diperoleh dari Mikroalga dengan penggunaan industri adalah karotenoid dan ganggang biomassa, yang terutama digunakan untuk pakan manusia dan hewan dan untuk budidaya.
14	<i>Growth and fatty acid profile of the marine microalga Picochlorum Sp. grown under nutrient stress conditions</i>	El-Kassas (2013)	Pertumbuhan Picochlorum SP. dalam media kekurangan gizi yang mengandung baik NaNO ₃ atau NaH ₂ PO ₄ ·E2H ₂ O menyebabkan peningkatan yang cukup besar dalam medium karbohidrat. Nitrogen dan fosfat adalah dua macronutrien penting untuk pertumbuhan dan metabolisme sel ganggang. Nitrogen adalah elemen fundamental untuk pembentukan protein dan asam nukleat.

			<i>Picochlorum kessleri</i> memiliki kemampuan untuk mempertahankan laju pertumbuhan yang relatif konstan bahkan dalam kondisi kekurangan nitrogen yang sangat berguna untuk mendapatkan lebih banyak biomassa.	Pemanfaatan teknik genetika forward dan reverse telah memungkinkan studi fungsional dan pembedahan dari gen secara langsung terlibat dalam lipid dan biosintesis.
15	<i>Metabolic engineering and molecular biotechnology of microalgae for fuel production</i>	Fang (2019)		
16	<i>Heterotrophic cultivation of microalgae for pigment production: A review</i>	Hu et al. (2018)	Penerapan peroxynitrite sebagai inducer meningkat Astaxanthin akumulasi dari 9,9 untuk 11,8 mg/L, sedangkan di hadapan nitril klorida, Astaxanthin konten meningkat untuk 10,99 mg/L.	Stres medium garam, dengan meningkatnya konsentrasi NaCl dikenal untuk meningkatkan akumulasi Astaxanthin.
17	<i>Carotenoids from microalgae: A review of recent developments</i>	Gong and Bassi (2016)	Pengurangan nitrogen, fosfat, dan pengenalan garam seperti NaCl, terutama di bawah kondisi	Beberapa karotenoid, yaitu karotenoid sekunder seperti Astaxanthin, dapat diproduksi

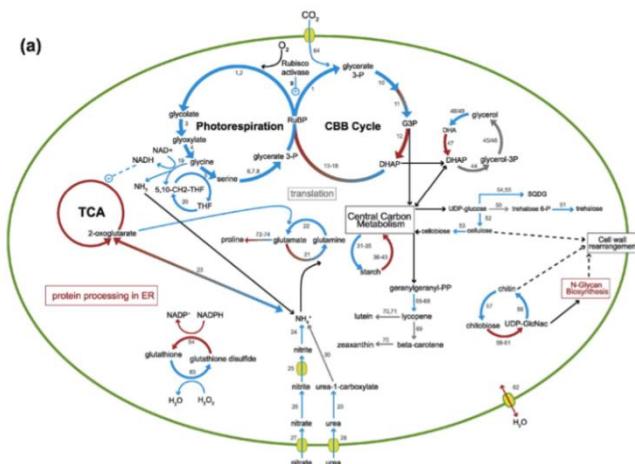
			cahaya yang kuat juga strategi yang efektif untuk akumulasi Astaxanthin. Persyaratan kondisi stres mirip dengan β -karoten.	di bawah kondisi ekstrem dari stres mikroalgal untuk mencapai tingkat konten seluler yang lebih besar. Namun, beberapa karotenoid primer seperti β -karoten, juga dapat bertindak sebagai Metabolit sekunder di bawah kondisi stres.
18	<i>Induction of carotenoid and phytosterol accumulation in microalgae</i>	Ahmed (2015)	Tingginya salinitas (dekat tingkat saturasi) diketahui menyebabkan akumulasi signifikan β -karoten di D. Salina yang telah dimanfaatkan secara komersial oleh beberapa perusahaan	Tingginya salinitas (dekat tingkat saturasi) diketahui menyebabkan akumulasi signifikan β -karoten di D. Salina yang telah dimanfaatkan secara komersial oleh beberapa perusahaan.
19	<i>Growth and photosynthesis response of the green alga, <i>Picochlorum oklahomensis</i> to iron limitation</i>	Annan (2014)	Karotenoid yang relatif tinggi pada 100 PPT salinitas in-Fe medium penting untuk <i>Picochlorum</i> dalam melindungi diri terhadap efek yang merugikan	Salinitas tidak mempengaruhi klorofil a/b ratio di + Fe atau-sel tumbuh Fe, tapi Fe secara besar-besaran penurunan rasio klorofil a/b

	<i>and salinity stress</i>	cahaya tinggi. Pigmen seperti β -karoten membantu dalam quenching spesies reaktif dan violaxanthin, antheraxanthin dan zeaxanthin terlibat dalam siklus xanthophyll dalam menghilangkan kelebihan panas.
20	<p><i>Food Chemistry Accumulation and antioxidant activity of secondary carotenoids in the aerial microalga Coelastrella striolata var. multistriata</i></p> <p>Abe et al. (2007)</p>	<p>Tingkat pertumbuhan spesifik maksimum alga, menunjukkan penyerapan nitrogen anorganik yang menonjol dalam medium segar, adalah 0,30 D1, dihitung dalam fase logaritmik pertumbuhan. Hal ini juga menunjukkan bahwa alga memiliki kemampuan untuk mensintesis jumlah yang sangat tinggi dari campuran kompleks</p> <p>Kekurangan nitrogen akan menjadi inducer potensial, dari pembentukan karotenoid sekunder dalam mikroalga, sel ganggang tumbuh di medium yang mengandung 500 mg/l NaNO₃ (konsentrasi awal), untuk mempromosikan produksi dan akumulasi dari karotenoid sekunder dalam jumlah besar</p>

karotenoid, seperti canthaxanthin, Astaxanthin dan β -karoten.

Berdasarkan beberapa penelitian (Tabel 4.1), menunjukkan bahwa sumber daya energik dialihkan dari pertumbuhan dan produktivitas selama periode syok salinitas demi mempertahankan homeostasis sel, sehingga *Picochlorum* sangat diadaptasi untuk aklimasi yang cepat (dimulai dalam waktu 5 jam dari syok salinitas). Sumber daya energi yang biasanya masuk ke pertumbuhan dialihkan ke pemeliharaan keseimbangan osmotik, dengan keseimbangan hipo dan hiper osmotik yang mengalihkan sumber daya energi (Foflonker *et al.*, 2016). Pernyataan tersebut sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya bahwa stres salinitas memiliki efek negatif pada kandungan klorofil dan karotenoid dalam alga hijau *Picochlorum oklahomensis* (Annan, 2014). Namun, peningkatan kadar keto-karotenoid (astaxanthin dan canthaxanthin) dalam sel-sel mikroalga seperti *Ankistrodesmus*, *Chlorella*, dan *Scenedesmus* terjadi seiring dengan penurunan klorofil dan karotenoid primer seperti a dan β -karoten, lutein, dll (Mansouri & Hajizadeh, 2018). Hal ini dikarenakan kondisi stres salinitas dengan meningkatnya konsentrasi NaCl dikenal dapat meningkatkan akumulasi astaxanthin (Hu *et al.*, 2018). Selain itu, dari tabel juga menunjukkan bahwa salah satu faktor yang dapat mempengaruhi biomassa mikroalga adalah komposisi media kultur (Sartika *et al.*, 2014). Nitrogen dan fosfor adalah dua makronutrien penting untuk pertumbuhan dan metabolisme sel alga. Nitrogen adalah konstituen penting dari semua protein

struktural dan fungsional dalam sel-sel alga. Fosfor memiliki peran penting dalam penyampaian energi metabolisme dan sebagai komponen struktural penting dari nukleotida dan molekul fosfolipid di semua sel hidup (El-Kassas, 2013). Media pertumbuhan yang mengandung jumlah nitrogen sedikit cenderung mempengaruhi mikroalga membentuk pigmen beta karotin dan astaxanthin (Sujatha dan Nagarajan, 2013). Pernyataan tersebut sesuai dimana perlakuan defisiensi nitrogen dapat meningkatkan produksi astaxanthin (Liu *et al.*, 2019). Hal ini dibuktikan berdasarkan penelitian sebelumnya dimana keterbatasan N dapat meningkatkan kandungan karotenoid (β -karoten, canthaxanthin, dan astaxanthin) serta mengubah warna sel dari hijau menjadi merah pada mikroalga (Lafarga *et al.*, 2020).



Gambar 4.2 Respon cekaman salinitas dalam keadaan salinitias tinggi pada *Picochlorum* (Foflonker *et al.*, 2016)

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa *Picochlorum sp.* berpotensi sebagai penghasil astaxanthin dimana stres salinitas dapat meningkatkan konsentrasi astaxanthin karena kondisi lingkungan yang minim nutrien dan tahan terhadap kondisi pH asam.

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan yaitu penelitian ini perlu dilakukan penelitian lanjutan antara lain:

1. Dilakukan identifikasi secara molekuler menggunakan 18S rRNA pada strain mikroalga *Picochlorum sp.* untuk mengetahui mekanisme seluler saat terjadi stres cekaman
2. Dilakukan kultur strain mikroalga *Picochlorum sp.* yang metabolismenya di rekayasa berdasarkan enzim pensintesis astaxanthin

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

DAFTAR PUSTAKA

- Abe, K., Hattori, H., & Hirano, M. (2007). Accumulation and antioxidant activity of secondary carotenoids in the aerial microalga *Coelastrella striolata* var. *multistriata*. *Food Chemistry*, 100(2), 656–661.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.10.026>
- Adedoyin, A. E. (2017). Isolation and characterization of carotenoid producing microalgae from Kwazulu-Natal (South Africa). *Вестник Росздравнадзора*, 6(July), 5–9.
- Ahmed, F. (2015). *Induction of carotenoid and phytosterol accumulation in microalgae*. 1–201.
- Anggito, A, Setiawan, J, (2018), *Metodologi Penelitian Kualitatif*, Jejak, Sukabumi.
- Annan, J. N. (2014). Growth and photosynthesis response of the green alga, *Picochlorum oklahomensis* to iron limitation and salinity stress. *International Journal of Plant Physiology and Biochemistry*, 6(1), 7–18.
<https://doi.org/10.5897/ijppb2013.0198>
- Alvensleben, N. von (2015) ‘Microalgal species prospecting and characterisation for salinity tolerance, nutrient remediation and bio-product potential.’, p. 246.
- Augustine, Arun. (2015). *Polyunsaturated Fatty acid production in marine microalga Picochlorum maculatum*. 3568.
<https://dyuthi.cusat.ac.in/xmlui/handle/purl/5158>

- Barkia, I., Saari, N., & Manning, S. R. (2019). Microalgae for high-value products towards human health and nutrition. *Marine Drugs*, 17(5), 1–29. <https://doi.org/10.3390/md17050304>
- Baweja, P., S. Kumar, D. Sahoo, and I. Levine. 2016. Seaweed in Health and Disease Prevention. Chapter 3: Biology of Seaweed. Edited by J. Fleurence and I. Levine. Elsevier: 41–106.
- De Bhowmick, G., Koduru, L., & Sen, R. (2015). Metabolic pathway engineering towards enhancing microalgal lipid biosynthesis for biofuel application - A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 50, 1239–1253. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.04.131>
- de la Vega, M., Díaz, E., Vila, M., & León, R. (2011). Isolation of a new strain of *Picochlorum* sp and characterization of its potential biotechnological applications. *Biotechnology Progress*, 27(6), 1535–1543. <https://doi.org/10.1002/btpr.686>
- Cai, W., Dunford, N. T., Wang, N., Zhu, S., & He, H. (2015). Audible sound treatment of the microalgae *Picochlorum oklahomensis* for enhancing biomass productivity Key Laboratory of Equipment and Informatization in Environment Controlled Agriculture ., *BIORESOURCE TECHNOLOGY*. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.12.019>
- Eismann, A. I., Perpetuo Reis, R., Ferreira da Silva, A., & Negrão Cavalcanti, D. (2020). *Ulva* spp. carotenoids: Responses to environmental conditions. *Algal Research*, 48(March). <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.101916>

- El-Kassas, H. Y. (2013). Growth and fatty acid profile of the marine microalga *Picochlorum* Sp. grown under nutrient stress conditions. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 39(4), 233–239. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2013.12.007>
- Fang, S.-C. (2019). Metabolic engineering and molecular biotechnology of microalgae for fuel production. In *Biofuels from Algae* (Second Edition). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/b978-0-444-64192-2.00005-6>
- Foflonker, F., Ananyev, G., Qiu, H., Morrison, A., Palenik, B., Dismukes, G. C., & Bhattacharya, D. (2016). The unexpected extremophile: Tolerance to fluctuating salinity in the green alga *Picochlorum*. *Algal Research*, 16, 465–472. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.04.003>
- Gong, M. and Bassi, A. (2016) ‘Carotenoids from microalgae: A review of recent developments’, *Biotechnology Advances*. Elsevier B.V. doi: 10.1016/j.biotechadv.2016.10.005.
- Gazali, M., Nurjanah, Zamani, N. P. 2018. Eksplorasi Senyawa Bioaktif Alga Cokelat *Sargassum* sp. Agardh Sebagai Antioksidan dari Pesisir Barat Aceh. *JPHPI*. 21(1): 167-178.
- Gonzalez-Esquer, C. R., Wright, K. T., Sudasinghe, N., Carr, C. K., Sanders, C. K., Turmo, A., Kerfeld, C. A., Twary, S., & Dale, T. (2019). Demonstration of the potential of *Picochlorum soloecismus* as a microalgal platform for the production of renewable fuels. *Algal Research*. Elsevier. 43(August), 101658. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101658>
- Guiry, M.D. & Guiry, G.M. (2020). AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland,

Galway (taxonomic information republished from AlgaeBase with permission of M.D. Guiry). *Picochlorum oklahomense* Hironaka, 2004. Accessed through: World Register of Marine Species at: <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=616812> on 2020-05-21

Hefzi, H., Palsson, B. O., & Lewis, N. E. (2013). Reconstruction of Genome-Scale Metabolic Networks. In *Handbook of Systems Biology*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385944-0.00012-5>

Huang, Jun-Chao., Wang, Y., Sandmann, G., Chen, F. (2006). Isolation and characterization of a carotenoid oxygenase gene from Chlorella zofingiensis (Chlorophyta). *Appl Microbi Biotechnol* 71: 472-479

Hu, J., Nagarajan, D., Zhang, Q., Chang, J. S., & Lee, D. J. (2018). Heterotrophic cultivation of microalgae for pigment production: A review. *Biotechnology Advances*, 36(1), 54-67. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2017.09.009>

Jawed, K., Yazdani, S. S., & Koffas, M. A. (2019). Advances in the development and application of microbial consortia for metabolic engineering. *Metabolic Engineering Communications*, 9(November 2018), e00095. <https://doi.org/10.1016/j.mec.2019.e00095>

Kepel, R. C., Mantiri, D. M. H., Nasprianto. (2018). Biodiversitas Makroalga di Perairan Pesisir Tongkaina, Kota Manado. *Jurnal Ilmiah Platax*. 6(1): 160-173

Kim, J., Kim, M., Lee, S., & Jin, E. S. (2020). Development of a Chlorella vulgaris mutant by chemical mutagenesis as a

producer for natural violaxanthin. *Algal Research*, 46(December 2019), 101790.
<https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.101790>

Lafarga, T. and Clemente, I. (2020) *Carotenoids from microalgae, Carotenoids: Properties, Processing and Applications*. Elsevier Inc. doi: 10.1016/B978-0-12-817067-0.00005-1.

Lichtenthaler, H. K. (1999) 'THE 1-DEOXY-D-XYLULOSE- 5-PHOSPHATE PATHWAY OF ISOPRENOID BIOSYNTHESIS IN PLANTS', 50(1), pp. 47–65. doi: 10.1146/annurev.arplant.50.1.47.

Li, F., Cai, M., Lin, M., Huang, X., Wang, J., Ke, H., An, Y. (2019). Differences between motile and nonmotile cells of *Haematococcus pluvialis* in the production of astaxanthin at different light intensities. *Marine Drugs*, 17(1), 1–14.

Li, F., Cai, M., Lin, M., Huang, X., Wang, J., Zheng, X., An, Y. (2019). Accumulation of Astaxanthin Was Improved by the Nonmotile Cells of *Haematococcus pluvialis*. *BioMed Research International*, 2019.

Lin, B., Cui, Y., Yan, M., Wang, Y., Gao, Z., Meng, C., & Qin, S. (2019). Construction of astaxanthin metabolic pathway in the green microalga *Dunaliella viridis*. *Algal Research*, 44(October), 101697.
<https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101697>

Liu, Y., Cui, Y., Chen, J., Qin, S., & Chen, G. (2019). Metabolic engineering of *Synechocystis* sp. PCC6803 to produce astaxanthin. *Algal Research*, 44(February), 101679.
<https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101679>

- López-cervantes, J. and Sánchez-machado, D. I. (2019) *Chapter 2.2 - Astaxanthin, Lutein, and Zeaxanthin, Nonvitamin and Nonmineral Nutritional Supplements.* Elsevier Inc. doi: 10.1016/B978-0-12-812491-8.00003-5.
- Ma'ruf, A. 2016. Respon beberapa Kultivar Tanaman Pangan Terhadap Salinitas. *Jurnal Penelitian Pertanian BERNAS.* 12(3): 11-19
- Mansouri, H., & Hajizadeh, F. (2018). Interaction Effects of Salinity, High Light Intensity and Acetate on Growth and Pigment Production on *Scenedesmus obliquus*. *Iranian Journal of Science and Technology, Transaction A: Science*, 42(4), 1821–1826. <https://doi.org/10.1007/s40995-017-0441-4>
- Mantra, I. B. (2008), *Filsafat Penelitian & Metode Penelitian Sosial*, Cet. 2, Pustaka Belajar, Yogyakarta.
- Martono, N, (2014), *Metode Penelitian Kuantitatif Analisis Isi dan Anlisis Data Sekunder*, Edisi Revisi 2, Rajagrafindo, Depok.
- Martínez-Francés, E., Escudero-Oñate, C. (2018). Cyanobacteria and Microalgae in the Production of Valuable Bioactive Compounds. *Microalgal Biotechnology*. IntechOpen. Chapter 6. 105-128. <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.74043>
- Mc Gee, D. et al. (2020) ‘The effect of nutrient and phytohormone supplementation on the growth, pigment yields and biochemical composition of newly isolated microalgae’, *Process Biochemistry*. Elsevier, 92(November 2019), pp. 61–68. doi: 10.1016/j.procbio.2020.03.001.

- Meriam, W. P. M., Kepel, R. C., & Lumingas, L. J. L. 2016. Inventarisasi Makroalga Di Perairan Pesisir Pulau Mantehage Kecamatan Wori, Kabupaten Minahasa Utara, Provinsi Sulawesi Utara. *Jurnal Ilmiah Platax*. 4(2), 84–108.
- Muhadjir, N. (1998). *Metodologi Penelitian Kualitatif*, Raken Salasin, Gowa.
- Mulyadi, M. (2013). Penelitian Kuantitatif Dan Kualitatif Serta Pemikiran Dasar Menggabungkannya. *Jurnal Studi Komunikasi Dan Media*, 15(1), 128. <https://doi.org/10.31445/jskm.2011.150106>
- Munifah, I., Wikanta, T. (2006). Astaxanthin: Senyawa Antioksidan Karoten Bersumber dari Biota Laut. *Squalen*. 1(1)
- Munir, N., Sharif, N., Na, S., dan Manzoor, F. 2013. Algae: A Potent Antioxidant Source. *Sky Journal of Microbiology Research*. 1(3):22-31.
- Panis, G., & Carreon, J. R. (2016). Commercial astaxanthin production derived by green alga *Haematococcus pluvialis*: A microalgae process model and a techno-economic assessment all through production line. *Algal Research*. 18: 175–190. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.06.000>
- Pratiwi, R., Limantara, L. (2008). Potensi Astaxanthin sebagai Senyawa Antikanker. *Indonesian Journal of Cancer*. 4: 149–154.
- Raco, J, R, (2010), *Metode Penelitian Kualitatif: Jenis,*

Karakteristik dan Keunggulannya, Grasindo,

Rasyid, A. (2004). Berbagai Manfaat Algae. *Oseana*. XXIX(3): 9-15

Rodriguez, D.B. (2001). *A Guide to Carotenoid Analysis in Food*. ILSI Press. International Life Sciences Institute. Washington

Sartika., Mukarlina., Tri, R.S. 2014. Kandungan Klorofil dan Lipid *Nannochlorosis oculate* yang Dikultur dalam Media Limbah Cair Karet. *Jurnal Probiont*, Vol. 3 (3): 25-30.

Sugiyono, (2013), *Metode Penelitian Pendidikan Pendekatan Kuantitatif, Kualitatif, dan R&D*, ALFABETA, Bandung.
<https://doi.org/10.1007/s13398-014-0173-7.2>

Sujatha Kandasamy and P. Nagarajan. (2013). Optimization of growth conditions for carotenoid production from *Spirulina platensis* (Geitler). *International Journal of Current Microbiology and Applied Science*, 2(10), 325–328.
<http://ijcmas.com/vol-2-10/K.Sujatha and P.Nagarajan.pdf>

Tang, D. Y. Y., Khoo, K. S., Chew, K. W., Tao, Y., Ho, S. H., & Show, P. L. (2020). Potential utilization of bioproducts from microalgae for the quality enhancement of natural products. *Bioresource Technology*, 304, 122997.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122997>

Wang, S., Shi, X., & Palenik, B. (2016). Characterization of *Picochlorum* sp . use of wastewater generated from hydrothermal liquefaction as a nitrogen source. *ALGAL*, 13, 311–317. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.11.015>

- Wartika, Elis (2013) *Analisis Peran Modal Kerja Dalam Meningkatkan Profitabilitas Pada Koperasi Simpan Pinjam Sumber Bahagia Bandung*. Diploma thesis, Universitas Komputer Indonesia.
- Watanabe, K., & Fujii, K. (2016). Isolation of high-level-CO₂-preferring *Picochlorum* sp. strains and their biotechnological potential. *Algal Research*, 18, 135–143. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.06.013>
- Winahyu, D.A, A.Yulistia, L.R.Ely, M. Jani & S.Andi. 2013. Studi Pendahuluan Mengenai Keanekaragaman Mikroalga di Pusat Konservasi Gajah, Taman Nasional Way Kambas. *Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung*.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

BIODATA PENULIS



Penulis dilahirkan di Gresik, 01 Maret 1998, anak terakhir dari dua bersaudara dari pasangan Djoni Prastowo dan Moyong Ramiati. Riwayat pendidikan penulis sebagai berikut: SMPN 2 Kebomas Gresik (2010-2013) dan SMAN 1 Kebomas Gresik (2013-2016). Setelah lulus pendidikan SMA, penulis melanjutkan pendidikan S1 Biologi di Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS) Surabaya. Pengalaman organisasi dan kepanitiaan yang pernah diikuti oleh penulis selama menempuh pendidikan di Biologi ITS antara lain: staff Pelayanan Sosial UKM KSR PMI ITS (2016-2018), staff ahli Departemen Kewirausahaan Himpunan Mahasiswa Biologi ITS (2018-2019), serta beberapa organisasi non-kampus lainnya seperti Co-Koordinator Earth Hour Surabaya (2019-2020) dan Sekretaris Sub-Divisi Youth Care, Better Youth Foundation (2018-2020). Penulis gemar melakukan kegiatan sosial dengan mengikuti beberapa organisasi volunteer di luar kampus seperti Lindungi Hutan Surabaya dan pameran beasiswa nasional yaitu Indonesia Scholarship Festival. Penulis memiliki ketertarikan pada ilmu biologi khususnya di bidang botani. Selama perkuliahan, penulis pernah menjadi asisten praktikum mata kuliah Fisiologi Tumbuhan (2019). Penulis memiliki Riwayat kerja praktek pada tahun 2019 di Departemen Riset, PT Petrokimia Gresik. Penulis dapat dihubungi untuk kegiatan penelitian pada alamat email rafikashatiwi@gmail.com.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”