

STRATEGI INDUKSI STRES DAN TINJAUAN BIOSINTESIS PADA KULTIVASI *HAEMATOCOCCUS PLUVIALIS* UNTUK OPTIMASI PRODUKSI ASTAXANTHIN

Revia Amanda^{1*}, Heli Siti Halimatul Munawaroh², Asep Kadarohman³

^{1,2,3} Program Studi Kimia, Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pendidikan Indonesia, Jalan Dr. Setiabudhi 229, Bandung, 40154, Indonesia

*E-mail: revia12amanda@upi.edu

Riwayat Article

Received: 26 May 2026; Received in Revision: 10 August 2026; Accepted: 29 September 2026

Abstract

Astaxanthin is a high-value carotenoid compound with potent antioxidant activity that protects cells against oxidative damage. The microalga *Haematococcus pluvialis* is a major natural source of astaxanthin, but its growth and astaxanthin accumulation are strongly influenced by nutrient availability in the cultivation medium. This systematic review compared the effects of nitrogen, phosphorus, and carbon-related stress on astaxanthin accumulation and evaluated the potential exogenous compounds and environmental factors as additional stress inducers. Although stress-induced astaxanthin production in *H. pluvialis* has been widely reviewed, direct comparisons among these nutrient-related stressors and the cultivation conditions required to optimize astaxanthin production remain limited. Relevant studies were identified through Google Scholar using combinations of the keywords "stress triggers", "Haematococcus pluvialis cultivation", "astaxanthin", "nitrogen", "phosphate", and "carbon" found 11 experimental studies met the predefined eligibility criteria and were included in the review. Among the nutrient-related stress conditions examined, nitrogen deficiency was the most effective, producing an astaxanthin concentration of up to 68 mg/L after 14 days of cultivation. This concentration was higher than the maximum values reported under phosphorus and carbon-related stress, which reached 7 mg/L and 48.8 mg/L, respectively. Astaxanthin accumulation was further enhanced when nutrient limitation was combined with high light intensity and exogenous compounds such as γ -aminobutyric acid (GABA). Overall, the findings indicate that integrating nutrient limitation with complementary environmental and chemical stressors represents a promising strategy for improving astaxanthin production. These results provide a basis for optimizing *H. pluvialis* cultivation and developing scalable production systems for industrial applications.

Keywords: Astaxanthin, Carbon, *Haematococcus pluvialis* cultivation, Nitrogen, Phosphate

Abstrak

Astaxanthin merupakan senyawa karotenoid bernilai tinggi dengan aktivitas antioksidan kuat yang melindungi sel dari kerusakan oksidatif. Mikroalga *Haematococcus pluvialis* adalah sumber alami utama astaxanthin, tetapi pertumbuhan dan akumulasi astaxanthin sangat dipengaruhi oleh ketersediaan nutrisi dalam media kultivasi. Tinjauan sistematis ini bertujuan untuk membandingkan faktor pemicu stres nitrogen, fosfat, dan karbon terhadap akumulasi astaxanthin, serta mengevaluasi potensi senyawa eksogen dan faktor lingkungan sebagai pemicu stres tambahan. Meskipun produksi astaxanthin yang diinduksi stres pada *H. pluvialis* telah ditinjau secara luas, perbandingan langsung antar faktor pemicu stres terkait nutrisi dan kondisi kultivasi yang diperlukan untuk mengoptimalkan produksi astaxanthin masih terbatas. Pencarian literatur dilakukan melalui Google Scholar menggunakan kombinasi kata kunci "stress triggers", "Haematococcus pluvialis cultivation", "astaxanthin", "nitrogen", "phosphate", dan "carbon" ditemukan sebanyak 11 studi eksperimental memenuhi kriteria kelayakan yang telah ditentukan dan ditinjau lebih lanjut dalam artikel ini. Di antara kondisi stres nutrisi yang diuji, defisiensi nitrogen merupakan pemicu stres yang paling efektif untuk menghasilkan astaxanthin hingga 68 mg/L setelah 14 hari kultivasi. Konsentrasi ini lebih tinggi daripada nilai maksimum yang dilaporkan pada kondisi stres fosfat dan karbon, yang masing-masing hanya mencapai 7 mg/L dan 48,8 mg/L. Akumulasi astaxanthin semakin meningkat ketika defisiensi nutrisi dikombinasikan dengan intensitas cahaya tinggi dan senyawa eksogen seperti γ -aminobutyric acid (GABA). Secara keseluruhan, temuan ini menunjukkan bahwa kombinasi defisiensi nutrisi dengan stresor lingkungan dan kimia merupakan strategi yang potensial untuk meningkatkan produksi astaxanthin. Temuan ini memberikan dasar untuk mengoptimalkan kultivasi *H. pluvialis* serta mengembangkan sistem produksi skala industri.

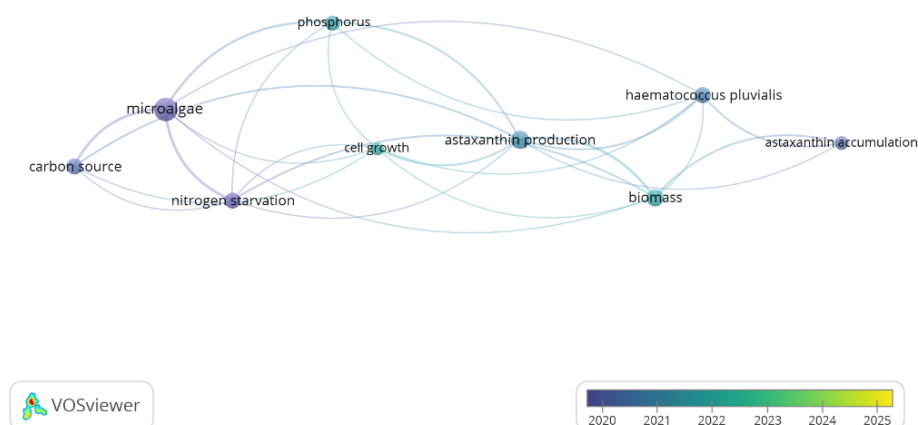
Keywords: Astaxanthin, Fosfat, Karbon, Kultivasi *Haematococcus pluvialis*, Nitrogen

1. Introduction

Astaxanthin merupakan karotenoid golongan xantofil yang memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dan berpotensi dikembangkan sebagai senyawa bioaktif untuk aplikasi farmasi, nutraseutikal, dan pangan fungsional. Berbagai penelitian menunjukkan bahwa astaxanthin memiliki aktivitas antidiabetes, antiinflamasi, dan antioksidan, serta sifat neuro, kardiovaskular, mata, dan kulit (Muthusamy & Thangavel, 2020; Oslan et al., 2021). Aktivitas tersebut menjadikan astaxanthin berpotensi mendukung pencegahan maupun pengelolaan penyakit degeneratif dan penyakit kronis, termasuk penyakit kardiovaskular dan diabetes, yang secara signifikan dapat menurunkan kualitas hidup penderita (Amila et al., 2021). Meskipun tubuh memproduksi antioksidan alami, akumulasi radikal berlebih akan memicu terjadinya stres oksidatif akibat ketidakseimbangan antara pembentukan radikal bebas dan kapasitas sistem pertahanan tubuh sehingga berpotensi untuk merusak sel dan jaringan tubuh. Senyawa antioksidan seperti astaxanthin bekerja dengan cara menetralkan radikal bebas menjadi bentuk non radikal (Kurniawati, 2021; Wiarsana, 2022).

Haematococcus pluvialis merupakan salah satu sumber senyawa astaxanthin alami tertinggi yang dianggap sebagai "super antioxidant" (Shah et al., 2016). Akumulasi senyawa astaxanthin dari *H. pluvialis* sangat berkaitan dengan proses kultivasi. Salah satu faktor yang perlu diperhatikan sebelum melakukan kultivasi *H. pluvialis* adalah ketersediaan nutrisi pada kultur sel. Metode kultivasi *Haematococcus* sp. yang umum digunakan adalah proses dua tahap (*two-stage process*) dengan membagi kultivasi ke dua tahap, yakni tahap hijau (vegetasi) dan tahap merah (induksi). Tahapan yang memiliki pengaruh signifikan terhadap akumulasi astaxanthin adalah tahap induksi. Untuk memaksimalkan proses produksi astaxanthin pada tahap induksi, kultur sel harus dipastikan mengalami stres yang optimal. Menurut Jayappriyan (2023), kondisi stres yang paling efektif untuk kultur sel adalah defisiensi nitrat dan fosfat. Selain kedua nutrisi tersebut, penelitian lain yang dilakukan oleh Byeon et al. (2024) menunjukkan bahwa berbagai sumber karbon memiliki potensi sebagai pemicu stres pada kultur sel *H. pluvialis*.

Untuk memahami tren penelitian saat ini terkait pengaruh faktor pemicu stres terhadap kultivasi *H. pluvialis*, dilakukan analisis bibliometrik menggunakan *software* VosViewer dengan hasil tertera pada **Gambar 1**, kata kunci sentral dengan ukuran paling besar adalah '*microalgae*', diikuti oleh '*astaxanthin production*' dan '*Haematococcus pluvialis*'. Produksi senyawa astaxanthin pada *Haematococcus pluvialis* berkaitan langsung dengan '*nitrogen starvation*', '*phosphorus*', dan '*carbon source*', hal ini memperkuat bahwa produksi senyawa astaxanthin pada kultivasi *H. pluvialis* sangat dipengaruhi oleh faktor nutrisi yang dapat memicu stres pada sel kultur. Berdasarkan warna dari setiap titik variabel tersebut, dapat disimpulkan bahwa penelitian terkait pengaruh variabel nitrogen, fosfat, dan karbon terhadap produksi senyawa astaxanthin yang bersumber dari *Haematococcus pluvialis* sedang menjadi tren pada tahun 2020 hingga tahun 2022. Namun, tren terbaru yang ditunjukkan oleh warna hijau kekuningan (tahun 2023–2025), lebih condong menghubungkan variabel '*biomass*', '*cell growth*', dan '*astaxanthin accumulation*'. Hal ini secara kritis menyiratkan adanya pergeseran fokus yang bergerak ke arah strategi kultivasi terintegrasi, khususnya melalui penerapan sistem dua tahap (*two-stage cultivation system*). Strategi ini mengombinasikan fase optimasi nutrisi untuk memicu pertumbuhan sel dan biomassa yang maksimal di tahap awal, diikuti dengan fase induksi stres nutrisi di tahap akhir untuk mengoptimalkan akumulasi astaxanthin secara keseluruhan.



Gambar 1. Analisis bibliometrik faktor pemicu stres pada kultivasi *H. pluvialis*

Mengingat peran penting nutrisi sebagai pemicu sintesis astaxanthin, berbagai penelitian telah mengeksplorasi variasi pemicu stres pada kultivasi *H. pluvialis*. Ringkasan fokus penelitian dan hasil produksi astaxanthin dari beberapa penelitian terdahulu disajikan pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Perbandingan parameter pemicu stres dari riset terdahulu

Penelitian	Sumber Pemicu Stress	Variabel Parameter	Akumulasi Astaxanthin (mg/L)
(Azizi <i>et al.</i> , 2024)	CO ₂	Variasi laju alir aerasi	11,4
(F. Li <i>et al.</i> , 2022)	NaNO ₃	Intensitas cahaya rendah hanya 30 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$	3,12
(de Moraes <i>et al.</i> , 2024)	NaNO ₃	Metode without pulse feeding dengan intensitas	11,52
	NH ₄ NO ₃	cahaya tinggi sebesar 40 -	21,93
	urea	100 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$	17,27

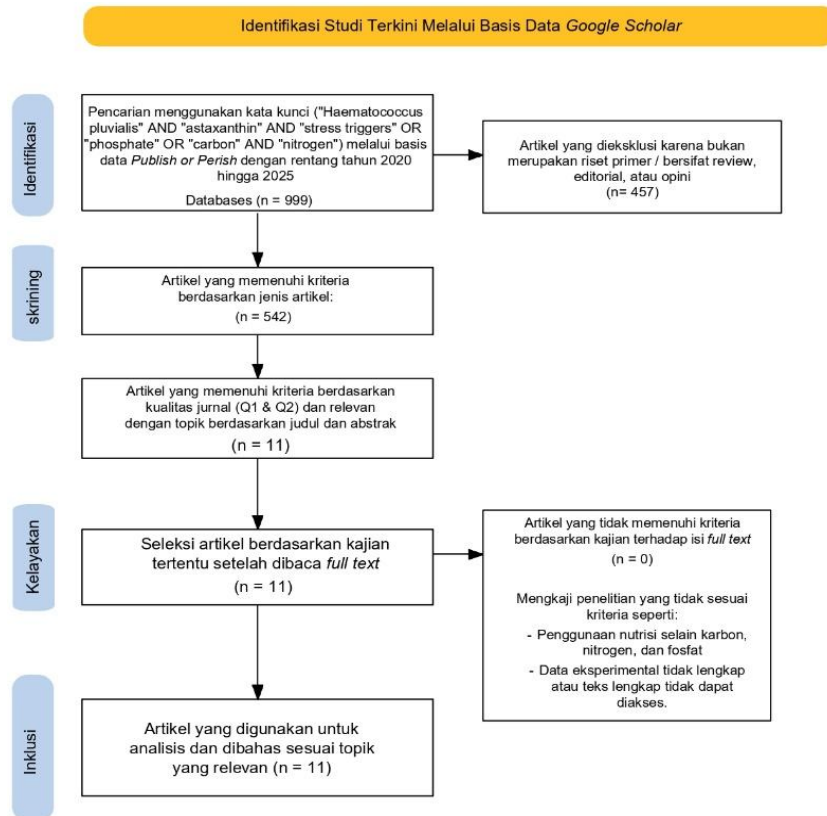
Variasi sumber nutrisi dan optimasi parameter lingkungan memberikan dampak yang signifikan terhadap akumulasi astaxanthin. Pada penggunaan karbon, Azizi *et al.* (2024) menunjukkan bahwa variasi laju alir aerasi gas CO₂ mampu menginduksi sintesis astaxanthin hingga mencapai konsentrasi 11,4 mg/L. Namun, efek pemicu stres ini jauh lebih signifikan ketika dilakukan manipulasi penggunaan nitrogen yang dikombinasikan dengan faktor pencahayaan. Pengaruh sinergis tersebut terlihat jelas saat membandingkan studi F. Li *et al.* (2022) dan de Moraes *et al.* (2024). Meskipun sama-sama menggunakan sumber nitrogen berupa NaNO₃, pembatasan cahaya pada intensitas rendah (30 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$) oleh F. Li *et al.* (2022) hanya menghasilkan astaxanthin sebesar 3,12 mg/L. Sebaliknya, de Moraes *et al.* (2024) yang menerapkan peningkatan intensitas cahaya tinggi (40–100 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$) dengan metode *without pulse feeding* berhasil melipatgandakan akumulasi astaxanthin menggunakan NaNO₃ menjadi 11,52 mg/L. Lebih lanjut, studi yang dilakukan oleh de Moraes *et al.* (2024) membuktikan bahwa penggunaan NH₄NO₃ menghasilkan akumulasi tertinggi mencapai 21,93 mg/L dibandingkan urea dan NaNO₃.

Pada penulisan artikel ini penulis akan melakukan tinjau secara *systematic review* terhadap pengaruh faktor pemicu stres terhadap produksi astaxanthin pada kultivasi *Haematococcus pluvialis*. Melalui proses menelaah berbagai pendekatan dalam penggunaan jenis sumber pemicu stres selama proses kultivasi, diharapkan dapat diperoleh gambaran komprehensif mengenai faktor pemicu stres yang paling optimal untuk meningkatkan produksi astaxanthin secara efektif.

2. Methodology

2.1. Strategi Pencarian Artikel

Pada proses penyusunan *article review* ini dilakukan tinjauan secara *systematic review* untuk menganalisis faktor pemicu stres yang paling efektif untuk meningkatkan akumulasi senyawa astaxanthin pada kultivasi *Haematococcus pluvialis*. Metode yang digunakan pada pemilihan jurnal, yakni dengan analisis literatur menggunakan basis data Google Scholar. Strategi pencarian menggunakan kombinasi kata kunci spesifik dengan boolean operators, yakni "*Haematococcus pluvialis*" AND "astaxanthin" AND "stress triggers" OR "phosphate" OR "carbon" AND "nitrogen". Rentang tahun yang dipilih adalah tahun 2020 hingga 2025 agar *review* yang dilakukan dapat sesuai dengan penelitian terbaru. Proses penelusuran artikel dari Google Scholar dikelola menggunakan perangkat lunak Publish or Perish dan menghasilkan total 999 artikel awal. Selanjutnya, dilakukan skrining bertahap berdasarkan judul dan abstrak, diikuti oleh penilaian teks lengkap menggunakan kriteria inklusi dan eksklusi, yang diilustrasikan melalui diagram alir *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA) pada **Gambar 2**.



Gambar 2. Tahapan pemilihan jurnal

2.2. Kriteria Seleksi dan Analisis Data

Kriteria Inklusi yang ditetapkan, diantaranya artikel merupakan riset primer yang menyajikan data eksperimental kuantitatif, artikel membahas kultivasi *Haematococcus pluvialis* dengan perlakuan stres menggunakan nitrogen/fosfat/karbon, dan artikel terindeks scopus Q1/Q2. Kriteria Eksklusi mencakup, artikel yang bersifat *review*, *systematic review*, editorial, komentar, atau opini; artikel yang hanya membahas faktor stres lingkungan non-nutrisi (misalnya suhu, pH) tanpa adanya perbandingan nutrisi utama (N/P/C); dan artikel yang datanya tidak lengkap atau tidak dapat diakses. Analisis data dilakukan secara komparatif-deskriptif dengan membandingkan parameter rendemen astaxanthin (mg/L) di bawah kondisi stres nutrisi yang berbeda, termasuk menganalisis pengaruh dosis, faktor lingkungan, dan efek sinergis dengan senyawa eksogen. Analisis data dilakukan secara komparatif-deskriptif dengan membandingkan parameter konsentrasi astaxanthin (mg/L) serta durasi kultivasi yang setara. Selanjutnya, pendekatan analisis multivariat secara kualitatif digunakan untuk mengevaluasi bagaimana faktor lingkungan tambahan (seperti intensitas cahaya dan aerasi) bertindak sebagai variabel pendamping yang memengaruhi efektivitas dari masing-masing pemicu stres tersebut.

3. Results and Discussion

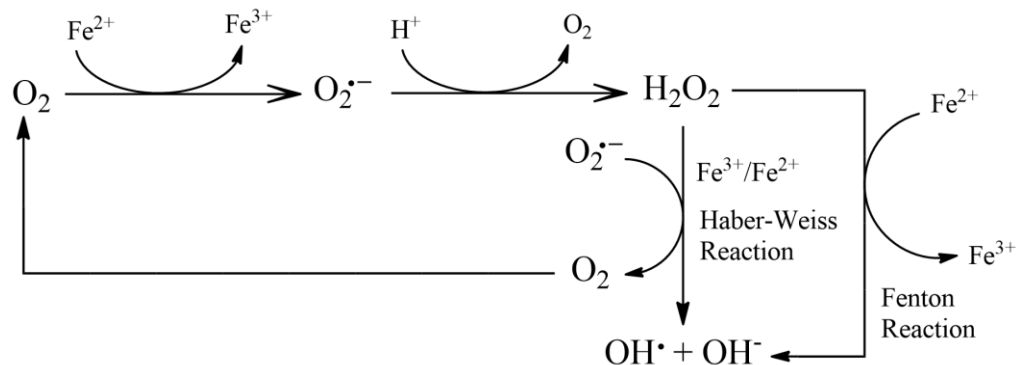
3.1. Pengaruh Nitrogen Pada Kultivasi *Haematococcus pluvialis*

Nitrogen adalah salah satu nutrisi esensial yang bertindak sebagai faktor penting dalam kultur *Haematococcus pluvialis*. Nitrogen tidak hanya diperlukan untuk mendukung dan mempercepat perkembangan sel, tetapi berperan juga dalam memaksimalkan akumulasi astaxanthin (Jayappriyan & Applications, 2023). Sejalan dengan peran nitrogen dalam mengoptimalkan akumulasi astaxanthin, sejumlah studi telah meneliti efektivitas sumber nitrogen yang beragam untuk digunakan dalam medium kultur, dapat dilihat pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Riset terdahulu penggunaan nitrogen sebagai faktor pemicu stres

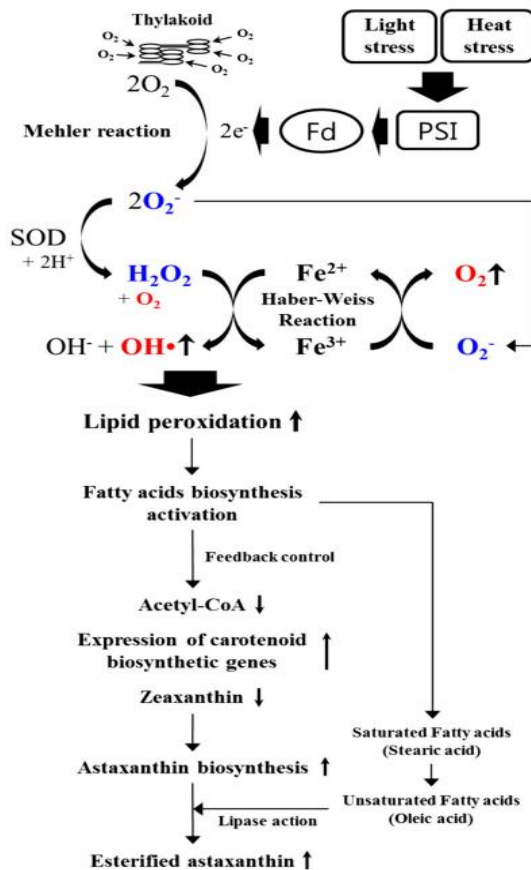
Sumber Nitrogen	Media Kultivasi	Cahaya ($\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$)	Aerasi	Konsentrasi Nitrogen (mg/L)	Yield Astaxanthin (mg/L)	Ref
Ammonium ferric citrate (AFC)	Bold's Basic Medium (BBM)	100 menjadi 2000	15%	0	$\pm 45,1$ (15 hari)	(Zhu et al., 2021)
				0,106	± 60 (15 hari)	
				1,064	$\pm 59,4$ (15 hari)	
NaNO_3	Bold's Basic Medium (BBM)	30	1,50%	0	$3,50 \pm 0,10$ (10 hari)	(F. Li et al., 2022)
				125	$3,12 \pm 0,19$ (10 hari)	
				250	$2,93 \pm 0,05$ (10 hari)	
				750	$2,76 \pm 0,09$ (10 hari)	
NaNO_3	Bold's Basic Medium (BBM)	40 menjadi 100	konstan	255	11,52 (14 hari)	(de Moraes et al., 2024)
NH_4NO_3					21,93 (14 hari)	
$(\text{NH}_2)_2\text{CO}$					17,27 (14 hari)	
NaNO_3	Bold's Basic Medium (BBM)	60 menjadi 480	2,50%	250 (1N)	± 68 (14 hari)	(Ma et al., 2025)
				125 (1/2N)	± 60 (14 hari)	
				83 (1/3N)	± 59 (14 hari)	

Pada penelitian yang dilakukan oleh Zhu et al. (2021), sumber nitrogen yang digunakan cukup kompleks, yakni Ammonium Ferric Citrate (AFC) dengan kondisi dibawah intensitas cahaya yang ekstrem. AFC dianggap sebagai sumber nitrogen yang ekstrem karena memiliki dua molekul, yakni ammonium (NH_4^+) dan Fe^{3+} . Senyawa AFC pada penelitian ini memiliki peranan yang berbeda di tahap vegetasi dan induksi. AFC berperan sebagai pembawa elektron penting pada fase vegetasi dan mengkatalisis pembentukan radikal untuk memicu produksi astaxanthin pada fase induksi (Hong et al., 2015). Ketika Fe^{3+} dari AFC terpapar sinar cahaya yang sangat tinggi pada tahap induksi, maka Fe^{3+} akan direduksi menjadi Fe^{2+} yang kemudian mengkatalisis reaksi Haber-Weiss dan menghasilkan spesi *Reactive Oxygen Species* (ROS) (Ma et al., 2025). Persamaan reaksi Haber-Weiss dapat dilihat pada persamaan berikut:



Gambar 3. Reaksi Haber-Weiss

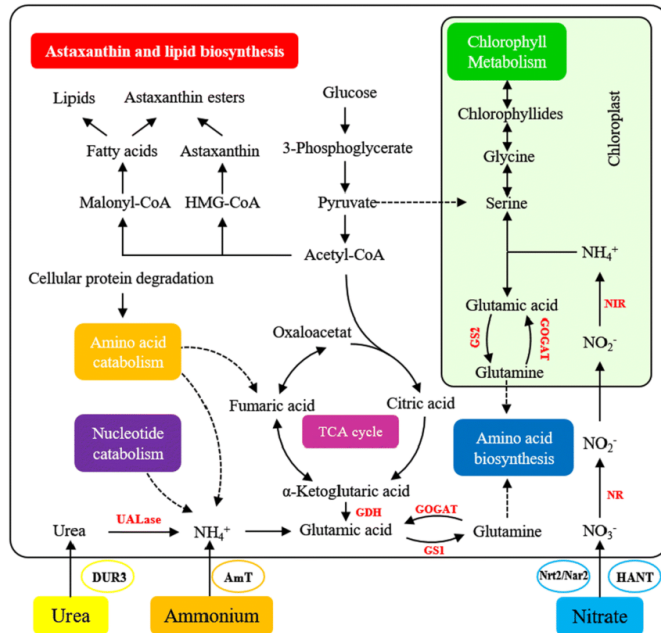
Mekanisme reaksi yang terjadi pada kultivasi *H. pluvialis* menggunakan penambahan AFC dapat dilihat pada **Gambar 4**. Pada tilakoid, 2 elektron dari ferredoksin (Fd) bereaksi dengan oksigen (O_2) dan menghasilkan dua molekul superoksida ($\bullet\text{O}_2^-$), yang merupakan salah satu bentuk molekul oksigen reaktif (ROS). Enzim superoksida dismutase (SOD) mengubah superoksida ($\bullet\text{O}_2^-$) menjadi bentuk ROS, yakni hidrogen peroksida (H_2O_2). Superoksida dan hidrogen peroksida kemudian bereaksi dengan ion besi (Fe^{2+} dan Fe^{3+}) dalam reaksi Haber-Weiss dan fenton, sehingga menghasilkan molekul yang sangat reaktif dan merusak, yaitu radikal hidroksil ($\text{OH}^\bullet$) (Hong et al., 2015).



Gambar 4. Mekanisme fotosintesis pada kultivasi *H. pluvialis* (Hong *et al.*, 2015)

Jika sebelumnya menggunakan sumber nitrogen yang cukup ekstrem, penelitian lain yang dilakukan oleh F. Li *et al.* (2022), de Moraes *et al.* (2024), dan Ma *et al.* (2025) menggunakan sumber nitrogen anorganik yang umum digunakan pada kultivasi *H. pluvialis*. Hasil penelitian F. Li *et al.* (2022) berhasil membuktikan bahwa, semakin sedikit nitrogen yang ada pada tahap induksi, maka semakin tinggi akumulasi senyawa astaxanthin. Hal tersebut disebabkan karena ketika tidak adanya nutrisi yang dapat diserap oleh sel, sehingga sel mulai memproduksi astaxanthin lebih cepat untuk mencegah kematian sel.

Untuk bisa menganalisis lebih dalam terkait pengaruh nitrogen terhadap akumulasi astaxanthin, de Moraes *et al.* (2024) melakukan pengujian menggunakan berbagai sumber nitrogen anorganik, yakni NH_4NO_3 , NaNO_3 , dan $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$. Senyawa NH_4NO_3 terbukti memiliki pengaruh yang signifikan terhadap akumulasi senyawa astaxanthin dibandingkan dengan NaNO_3 dan $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$, karena NH_4 lebih mudah diserap oleh mikroalga untuk selanjutnya dimanfaatkan dalam pembentukan prekursor astaxanthin. Dapat dilihat pada **Gambar 5**, bahwa ammonium menjadi nutrisi yang paling mudah untuk diproses lebih lanjut oleh mikroalga menjadi *glutamic acid*, yang merupakan prekursor penting pada siklus TCA. Proses penyerapan ammonia ini tidak membutuhkan energi yang banyak, sehingga lebih disukai oleh mikroalga. Sebaliknya, pada nitrat harus direduksi terlebih dahulu menjadi Nitrit (NO_2^-), dan kemudian direduksi lagi menjadi amonium (NH_4^+). Hal yang serupa terjadi pada penggunaan urea yang tidak dapat langsung digunakan oleh sel untuk membentuk protein, melainkan perlu dilakukan proses hidrolisis terlebih dahulu (Chen, 2020).



Gambar 5. Pengaruh sumber nitrogen terhadap jalur biosintesis astaxanthin (Chen, 2020)

Berbeda dengan penelitian sebelumnya yang berfokus pada sumber nitrogen, penelitian Ma et al. (2025) justru berfokus pada konsentrasi nitrogen yang digunakan, dalam hal ini adalah NaNO_3 . Data yang diperoleh pada **Tabel 2** menunjukkan, bahwa semakin tinggi konsentrasi senyawa NaNO_3 , maka akumulasi astaxanthin juga semakin meningkat. Namun, terdapat hal menarik pada konsentrasi NaNO_3 sejumlah 750 mg/L yang justru menurunkan akumulasi astaxanthin. Hal tersebut menandakan bahwa manajemen konsentrasi nutrisi yang digunakan sangat penting.

Selain dikombinasikan dengan cahaya, defisiensi nitrogen seringkali dikombinasikan dengan penambahan senyawa eksogen yang dapat menutrisi alga pada fase vegetasi atau membantu melindungi sel mikroalga agar tidak mengalami kerusakan pada fase induksi, seperti pada penelitian yang dilakukan oleh L. Li et al. (2020) yang menggunakan γ -aminobutyric acid (GABA). GABA berperan untuk melindungi alga agar dapat tumbuh lebih sehat saat kondisi defisiensi nitrogen berlangsung, sekaligus memperkuat sel mikroalga pada tahap transisi dari vegetasi ke induksi. Media kultivasi yang digunakan pada penelitian tersebut adalah *Bold's Basic Medium (BBM)* yang secara umum memiliki kandungan nitrogen, yakni NaNO_3 . GABA ditambahkan saat fase vegetasi untuk membantu alga tumbuh lebih banyak dan sehat, pada penelitian ini dilakukan variasi jumlah GABA yang digunakan.

Tabel 3. Pengaruh GABA terhadap astaxanthin *yield* (L. Li et al., 2020)

Media	Cahaya	Waktu Kultivasi	Konsentrasi GABA (mM)	Astaxanthin Yield (mg/L)
Bold's Basic Medium (BBM)	Siklus cahaya 16 jam terang dan 8 jam gelap	50 hari	0	± 72
			1	± 24
			5	214,48
			10	354,09

Hasil penelitian L. Li et al. (2020) pada **Tabel 3** yang menunjukkan bahwa terdapat tren unik antara peningkatan konsentrasi GABA dengan akumulasi astaxanthin (mg/L). Ketika konsentrasi GABA ditingkatkan menjadi 1 mM, astaxanthin *yield* justru mengalami penurunan, sedangkan ketika konsentrasi GABA ditingkatkan menjadi 5 mM dan 10 mM, astaxanthin *yield* justru mengalami peningkatan berturut-turut sebesar 214,48 mg/L dan 354,09 mg/L. Hal tersebut dapat terjadi karena pada dosis yang rendah, GABA belum cukup untuk memicu jalur pertahanan stres dan metabolisme yang diperlukan pada peningkatan signifikan produksi astaxanthin. Sebaliknya, GABA pada konsentrasi tinggi dapat memaksimalkan respon perlindungan terhadap stres, meningkatkan ekspresi gen terkait sintesis karotenoid, termasuk astaxanthin.

3.2. Penggunaan Fosfat Sebagai Faktor Pemicu Stres

Setelah mengeksplorasi secara mendalam pengaruh nitrogen terhadap pertumbuhan dan akumulasi astaxanthin pada *Haematococcus pluvialis*, bagian ini beralih untuk mengulas peran fosfor atau fosfat sebagai nutrisi esensial kedua dalam proses kultivasi mikroalga. Secara spesifik, fosfat sangat diperlukan untuk pembentukan molekul isopenten *pyrophosphate* (IPP) dan *dimethylallyl pyrophosphate* (DMAPP) karena kedua molekul ini membawa gugus pirofosfat pada strukturnya. Dengan demikian, ketersediaan fosfat dalam medium kultivasi secara langsung mengatur suplai IPP dan DMAPP (Jayappriyan & Applications, 2023). Oleh karena itu, pengaturan konsentrasi fosfat tidak hanya memengaruhi pertumbuhan kultur, tetapi juga menentukan potensi dan efisiensi alga dalam memproduksi astaxanthin di bawah kondisi stres. Penelitian Liyanaarachchi et al. (2020) telah melakukan analisis pengaruh keterbatasan fosfat dan stres cahaya terhadap peningkatan produksi astaxanthin dalam *H. pluvialis* dengan masa induksi kultur selama 14 hari, yang hasilnya dapat dilihat pada **Tabel 4**.

Tabel 4. Data pengaruh fosfat pada kultivasi *H. pluvialis* (Liyanaarachchi et al., 2020)

Konsentrasi fosfat pada media BBM	Akumulasi astaxanthin (mg/L)	
	Cahaya kontinu	Cahaya bertahap
0,25x	± 6	± 2,5
0,5x	± 7	± 3,5
1x	± 4,8	± 6,5
2x	± 5	± 3
4x	± 3,5	± 2,5

Fosfat yang digunakan bukan bersumber dari eksternal, melainkan dari komposisi media tanam yang digunakan, yakni *Bold's Basal Media* (BBM). Kombinasi ketersediaan nutrisi fosfat dan intensitas cahaya menunjukkan adanya interaksi kompleks dalam memicu biosintesis astaxanthin. Pada kondisi cahaya kontinu, variasi konsentrasi fosfat memberikan hasil akumulasi astaxanthin yang berfluktuasi. Konsentrasi fosfat terendah, yaitu 0,25x BBM menghasilkan akumulasi astaxanthin sekitar ±6,5 mg/L yang sedikit lebih rendah daripada konsentrasi 0,5x BBM yang mencapai puncaknya pada ±7 mg/L. Peningkatan konsentrasi fosfat selanjutnya, dari 1x hingga 4x BBM, secara bertahap menurunkan akumulasi astaxanthin, pada 4x BBM hanya dihasilkan 3,5 mg/L. Pola ini mengindikasikan bahwa pada kondisi cahaya yang konstan dengan ketersediaan fosfat yang terbatas dibawah 1x BBM justru lebih efektif dalam mendorong akumulasi astaxanthin. Konsentrasi fosfat sejumlah 0,5x BBM menjadi titik optimal pada penelitian ini.

Sebaliknya, pada kondisi cahaya bertahap tren akumulasi astaxanthin justru bergeser ke konsentrasi fosfat yang lebih tinggi. Pada konsentrasi terendah, yakni 0,25x BBM hanya menghasilkan sekitar 2,5 mg/L dan angkanya meningkat signifikan pada 0,5x BBM menjadi 3,5 mg/L. Peningkatan paling drastis terlihat pada konsentrasi 1x BBM yang menghasilkan akumulasi tertinggi di antara semua perlakuan yang mencapai 6,5 mg/L. Cahaya bertahap yang digunakan pada penelitian ini memiliki pengaruh yang lebih besar terhadap akumulasi astaxanthin, hal tersebut disebabkan karena dengan adanya cahaya bertahap, maka sel mikroalga dapat tumbuh dengan baik. Ketika cahaya mencapai intensitas paling tinggi, akumulasi astaxanthin menjadi lebih maksimal karena jumlah sel yang melimpah. Interaksi ini menegaskan bahwa akumulasi astaxanthin bukanlah fungsi linear dari salah satu variabel saja, melainkan hasil dari sinergi atau konflik antara stres nutrisi dan stres lingkungan.

Selain kombinasi dengan cahaya, terdapat penelitian lain yang melakukan kombinasi antara defisiensi fosfat dengan salinitas, dalam hal ini adalah NaCl terhadap pembentukan sel nonmotil pada *Haematococcus pluvialis* di bawah kondisi kekurangan fosfor (F. Li et al., 2021). Pada penelitian ini pengujian hanya dilakukan sampai pengukuran jumlah sel nonmotile saja, tidak spesifik terhadap senyawa astaxanthin. Meskipun begitu, data penelitian ini dianggap dapat mewakili akumulasi astaxanthin karena pembentukan sel nonmotil (aplanospora) menandakan adanya akumulasi astaxanthin.

Tabel 5. Hasil penelitian pengaruh salinitas dan defisiensi fosfor (F. Li *et al.*, 2021)

Lama kultivasi (jam)	Jumlah Sel NonMotil ($\times 10^4$ cells /mL) pada konsentrasi (%) NaCl tertentu		
	0,1%	0,2%	0,4%
0	± 15	± 15	± 15
12	± 16	$\pm 15,5$	$\pm 17,5$
23	± 20	± 20	$\pm 20,5$
36	± 25	$\pm 24,5$	± 28
47	± 35	± 31	± 37
61	± 50	± 37	no information
72	± 61	± 55	no information

Berdasarkan data pada **Tabel 5**, penambahan salinitas terbukti secara konsisten mendorong transisi sel motil menjadi sel nonmotil, yakni bentuk sel penghasil astaxanthin, seiring dengan bertambahnya waktu kultivasi. Meskipun semua perlakuan menunjukkan peningkatan jumlah sel nonmotil, konsentrasi salinitas tertinggi (0,4%) menunjukkan laju induksi nonmotil yang paling cepat di awal kultivasi, mencapai 37×10^4 cells/mL pada masa kultivasi 47 jam. Hasil ini menegaskan bahwa, serupa dengan defisiensi nitrogen dan karbon, kekurangan fosfor bertindak sebagai pemicu stres nutrisi fundamental yang memaksa sel *H.pluvialis* beralih dari mode pertumbuhan ke mode pertahanan diri. Defisiensi fosfor yang dikombinasikan dengan salinitas mampu mempercepat proses induksi sel nonmotil untuk mengoptimalkan akumulasi pigmen astaxanthin. Penelitian yang dilakukan oleh F. Li *et al.* (2021) menguatkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Liyanaarachchi *et al.* (2020), dimana keduanya berhasil membuktikan bahwa defisiensi fosfat berhasil meningkatkan akumulasi astaxanthin.

3.3. Penggunaan Fosfat Sebagai Faktor Pemicu Stres

Setelah meninjau peran krusial nitrogen dan fosfat dalam menentukan fase pertumbuhan dan menginisiasi transisi stres pada *Haematococcus pluvialis*, fokus pembahasan bergeser pada elemen makro esensial ketiga, yakni Karbon (C) dengan data penelitian terdahulu yang dapat dilihat pada **Tabel 6**. Sumber karbon yang umum digunakan untuk menginduksi stres pada mikroalga *Haematococcus pluvialis* adalah karbon dioksida (CO₂) yang disuntikkan ke dalam fotobioreaktor, seperti pada penelitian yang dilakukan oleh Azizi *et al.* (2024) terkait pengaruh laju alir CO₂ terhadap akumulasi senyawa astaxanthin dibawah stress. Laju alir yang memberikan efek signifikan terhadap akumulasi astaxanthin adalah laju alir CO₂ 225 mL/min dengan astaxanthin *yield* sejumlah 11,4 mg/g. Hasil tersebut diperoleh karena keberadaan CO₂ membantu pertumbuhan sel mikroalga, sehingga sel yang banyak mampu menghasilkan astaxanthin yang lebih banyak. Hal tersebut diperkuat dengan hasil penelitian Refolio-Samperi *et al.* (2025) yang menunjukkan bahwa dari pengujian pengaruh CO₂ dan vitamin, CO₂ memiliki pengaruh yang paling signifikan dibandingkan penggunaan vitamin saja.

Tabel 6. Riset terdahulu penggunaan karbon sebagai faktor pemicu stres

Sumber Karbon	Konsentrasi Karbon / variasi	Faktor Pemicu Stres	Waktu Induksi	Astaxanthin Content (mg/g)	Ref
NaHCO ₃	0 mM	Peningkatan rasion C/N	2 hari	± 18	(Ha <i>et al.</i> , 2024)
	80 mM			± 29	
	100 mM			$\pm 48,8$	
	160 mM			Turun drastis (tidak ada informasi spesifik)	
NaCOOH	0,325 g/L	nitrogen deprivation dan pencahayaan yang tinggi	6 hari	$\pm 1,25$	(Byeon <i>et al.</i> , 2024)
	0,65 g/L			$\pm 0,85$	
	1,3 g/L			$\pm 2,436$	
	2,6 g/L			$\pm 1,3$	
Gliserol	0,325 g/L			$\pm 1,9$	
	0,65 g/L			$\pm 1,45$	
	1,3 g/L			$\pm 2,269$	
	2,6 g/L			$\pm 1,7$	
	0,325 g/L			$\pm 1,1$	

Sodium glukonat	0,65 g/L			± 1,25	
	1,3 g/L			± 1,629	
	2,6 g/L			± 1,05	
D-Ribosa	0,325 g/L			± 1,1	
	0,65 g/L			± 1	
	1,3 g/L			± 1,4	
	2,6 g/L			± 1,6	
CO ₂	(+) aerasi	peningkatan suhu dan kondisi stres cahaya.	2 hari	± 7,5	(Refolio-Samperi et al., 2025)
	(-) vitamin				
	(+) aerasi			± 12	
	(+) vitamin				
	(-) aerasi			± 3	
	(-) vitamin				
CO ₂	(-) aerasi	stres cahaya dan kondisi penggunaan CO ₂ .	2 hari	± 3,2	(Azizi et al., 2024)
	(+) vitamin				
	0.6 mL/L/min				
				± 8,2	

Selain CO₂, terdapat sumber karbon lain yang dapat digunakan, seperti pada penelitian yang dilakukan oleh (Byeon et al., 2024). Pada penelitian tersebut, digunakan empat sumber karbon yang berbeda, yakni natrium asetat, gliserol, natrium glukonat, dan ribosa D. Penggunaan natrium asetat dengan konsentrasi 2,6 g/L berhasil meningkatkan akumulasi astaxanthin secara signifikan. Hal tersebut disebabkan karena kemudahan penyerapan sumber karbon, yang mana natrium asetat dapat dioksidasi atau direduksi menjadi senyawa C1 (seperti gugus metil), sehingga selanjutnya dapat dimasukkan ke dalam jalur siklus asam sitrat (TCA cycle), menghasilkan asetil-KoA. Berbeda dengan natrium asetat, sumber karbon lain memerlukan rangkaian kompleks tambahan sebelum dapat diubah menjadi asetil-KoA.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Ha et al. (2024) digunakan sumber karbon lain, natrium bikarbonat (NaHCO₃) dengan berbagai konsentrasi untuk mengetahui konsentrasi optimum. Penggunaan faktor pemicu stres ini diharapkan dapat peningkatan rasio C/N (carbon/nitrogen) akibat adanya penambahan karbon pada proses kultivasi. Karbon memengaruhi keseimbangan C/N untuk mendorong pembentukan kista dan akumulasi astaxanthin, sehingga menghasilkan biomassa dan astaxanthin yang sangat produktif. Salah satu metode untuk mencapai kekurangan nitrogen adalah dengan mengubah rasio karbon/nitrogen (C/N), sehingga fase transisi dari vegetasi ke induksi lebih cepat dicapai (Jayappriyan & Applications, 2023). Perubahan konsentrasi NaHCO₃ secara langsung memengaruhi rasio C/N dalam medium, hal ini merupakan strategi umum untuk memicu stres dan akumulasi astaxanthin karena sel alga dipaksa untuk mengalihkan energi dari pertumbuhan ke sintesis pigmen pelindung (astaxanthin).

Hasil penelitian Ha et al. (2024) menunjukkan hubungan yang jelas antara konsentrasi NaHCO₃ dengan astaxanthin yang dihasilkan. Konsentrasi 100 mM NaHCO₃ memberikan hasil optimal dengan astaxanthin *yield* tertinggi, mencapai 48,8 mg/L. Peningkatan rasio C/N hingga titik ini dianggap ideal untuk memicu mekanisme pertahanan sel alga, yang diwujudkan melalui akumulasi pigmen antioksidan astaxanthin. Namun, ketika konsentrasi NaHCO₃ dinaikkan menjadi 160 mM, terjadi penurunan drastis pada astaxanthin *yield*. Tren ini mengindikasikan bahwa terdapat titik ambang batas optimum untuk rasio C/N. Konsentrasi karbon yang terlalu tinggi dapat menyebabkan toksisitas atau ketidakseimbangan nutrisi di bawah kondisi defisiensi nitrogen yang pada akhirnya menghambat metabolisme sel dan merusak kemampuan alga untuk mengakumulasi astaxanthin secara efisien. Untuk itu konsentrasi sumber karbon yang ditambahkan pada proses kultivasi perlu menjadi perhatian penting.

4. Conclusion

Penelitian mengenai kultivasi *Haematococcus pluvialis* saat ini terfokus kuat pada peningkatan produksi astaxanthin, mengingat potensi antioksidan tingginya yang dibutuhkan berbagai industri. Tinjauan ini menunjukkan kecenderungan bahwa manajemen nutrisi, khususnya nitrogen, merupakan salah satu pemicu stres yang sangat potensial dalam menginduksi produksi astaxanthin. Meskipun fosfat dan karbon juga memberikan pengaruh penting, defisiensi nitrogen

terbukti memberikan indikasi akumulasi senyawa astaxanthin yang lebih tinggi pada beberapa literatur, terutama saat dikombinasikan dengan intensitas cahaya tinggi dan pemicu eksogen seperti GABA. Namun, perlu diakui bahwa keterbatasan tinjauan ini meliputi jumlah artikel yang relatif sedikit, heterogenitas metode yang tinggi antarstudi, dan rentang waktu studi yang terbatas, sehingga dapat memengaruhi generalisasi temuan. Secara implikasi industri, terlepas dari variasi metodologi yang ada, review ini mendorong fokus pada pengembangan sistem kultivasi yang memungkinkan kontrol ketat terhadap pasokan nitrogen dan pengaplikasian pemicu eksogen pada skala besar, misalnya melalui optimalisasi teknologi fotobioreaktor guna mencapai konsentrasi yang stabil. Untuk penelitian lanjutan, penulis merekomendasikan adanya studi yang berfokus pada analisis *omics* (*genomics* dan *metabolomics*) untuk mengidentifikasi gen serta jalur metabolisme spesifik yang bertanggung jawab atas sintesis astaxanthin di bawah kondisi defisiensi nitrogen dan stimulasi GABA.

References

- Amila, Sembiring, E., & Aryani, N. (2021). Deteksi Dini Dan Pencegahan Penyakit Deg. *Jurnal Kreativitas Pengabdian Kepada Masyarakat (Pkm)*, 4(1), 102–112.
- Azizi, M., Motesafi, H., & Hashemi, M. (2024). Novel paradigm of light and CO₂ feeding to improve the co-production of astaxanthin and polyunsaturated fatty acids in *Haematococcus pluvialis*. *Journal of CO₂ Utilization*, 84(July), 102855. <https://doi.org/10.1016/j.jcou.2024.102855>
- Byeon, H., An, Y., Kim, T., Rayamajhi, V., Lee, J., Shin, H. W., & Jung, S. M. (2024). Effects of Four Organic Carbon Sources on the Growth and Astaxanthin Accumulation of *Haematococcus lacustris*. *Life*, 14(1). <https://doi.org/10.3390/life14010029>
- Chen, J. (2020). Effects of urea on cell growth and physiological response in pigmentbiosynthesis in mixotrophic *Chromochloris zofingiensis*. *Journal of Applied Phycology*.
- de Moraes, L. B. S., Mota, G. C. P., dos Santos, E. P., Campos, C. V. F. da S., da Silva, B. A. B., Olivera Gálvez, A., & de Souza Bezerra, R. (2024). *Haematococcus pluvialis* cultivation and astaxanthin production using different nitrogen sources with pulse feeding strategy. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 14(14), 16231–16243. <https://doi.org/10.1007/s13399-023-03824-7>
- Ha, N. C., Tam, L. T., Hien, H. T. M., Thu, N. T. H., Hong, D. D., & Thom, L. T. (2024). Optimization of Culture Conditions for High Cell Productivity and Astaxanthin Accumulation in Vietnam's Green Microalgae *Haematococcus pluvialis* HB and a Neuroprotective Activity of Its Astaxanthin. *Bioengineering*, 11(12). <https://doi.org/10.3390/bioengineering11121176>
- Hong, M., Hwang, S. K., & Chang, W. S. (2015). Enhanced autotrophic astaxanthin production from *Haematococcus pluvialis* under high temperature via heat stress-driven Haber – Weiss reaction. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-6440-5>
- Jayappriyan, K. R., & Applications, B. (2023). *Haematococcus*.
- Kurniawati, E. et al. (2021). AKTIVITAS PENANGKAPAN RADIKAL BEBAS PADA KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN MANGGA (*Mangifera indica* L.) DAN DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.) 1*,2,3. 5(1), 92–97.
- Li, F., Cai, M., Wu, Y., Lian, Q., Qian, Z., Luo, J., Zhang, Y., Zhang, N., Li, C., & Huang, X. (2022). Effects of Nitrogen and Light Intensity on the Astaxanthin Accumulation in Motile Cells of *Haematococcus pluvialis*. *Frontiers in Marine Science*, 9(May), 1–7. <https://doi.org/10.3389/fmars.2022.909237>
- Li, F., Zhang, N., Zhang, Y., Lian, Q., Qin, C., Qian, Z., Wu, Y., Yang, Z., Li, C., Huang, X., & Cai, M. (2021). NaCl promotes the efficient formation of *haematococcus pluvialis* nonmotile cells under phosphorus deficiency. *Marine Drugs*, 19(6), 4–11. <https://doi.org/10.3390/md19060337>
- Li, L., Chen, Z., & Huang, Q. (2020). Exogenous γ -aminobutyric acid promotes biomass and astaxanthin production in *Haematococcus pluvialis*. In *Algal Research* (Vol. 52). <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.102089>
- Liyanaarachchi, V. C., Nishshanka, G. K. S. H., Premaratne, R. G. M. M., Ariyadasa, T. U., Nimarshana, P. H. V., & Malik, A. (2020). Astaxanthin accumulation in the green microalga *Haematococcus pluvialis*: Effect of initial phosphate concentration and stepwise/continuous

- light stress. *Biotechnology Reports*, 28, e00538.
<https://doi.org/10.1016/j.btre.2020.e00538>
- Ma, R., Tao, X., Wang, B., Ho, S. H., Chen, J., & Xie, Y. (2025). Hyper-production of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* by a highly efficient nitrogen feeding strategy accompanied with high light induction. *Algal Research*, 85(December 2024), 103865.
<https://doi.org/10.1016/j.algal.2024.103865>
- Muthusamy, T., & Thangavel, S. (2020). *Biochemistry of Haematococcus*. 81–95.
- Oslan, S. N. H., Tan, J. S., Oslan, S. N., Matanjun, P., Mokhtar, R. A. M., Shapawi, R., & Huda, N. (2021). *Haematococcus pluvialis* as a potential source of astaxanthin with diverse applications in industrial sectors: Current research and future directions. In *Molecules* (Vol. 26, Issue 21). <https://doi.org/10.3390/molecules26216470>
- Refolio-Samperi, P. N., Adaschewski, E., Hanelt, D., & Abomohra, A. (2025). Optimized two-stage process of *Haematococcus* sp. for enhanced astaxanthin and essential fatty acids accumulation. *Applied Food Research*, 5(2), 101144.
<https://doi.org/10.1016/j.afres.2025.101144>
- Shah, M. M. R., Liang, Y., Cheng, J. J., & Daroch, M. (2016). Astaxanthin-producing green microalga *Haematococcus pluvialis*: From single cell to high value commercial products. In *Frontiers in Plant Science* (Vol. 7, Issue APR2016). <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00531>
- Wiarsana, I. G. S. (2022). *Humantech jurnal ilmiah multi disiplin indonesia*. 1(6), 674–687.
- Zhu, Y., Zhang, Z., Xu, X., Cheng, J., Chen, S., Tian, J., Yang, W., & Crocker, M. (2021). Simultaneous promotion of photosynthesis and astaxanthin accumulation during two stages of *Haematococcus pluvialis* with ammonium ferric citrate. *Science of the Total Environment*, 750, 141689. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141689>