II. TINJAUAN PUSTAKA

A. *Nannochloropsis* sp.

1. Taksonomi dan Morfologi

Fitoplankton *Nannochloropsis* sp. adalah salah satu jenis Chlorophyta yang dapat melakukan fotosintesa. Klasifikasi *Nannochloropsis* sp. menurut Renny (2003) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Protista

Superdevisi : Eukaryotes

Divisi : Chromophyta

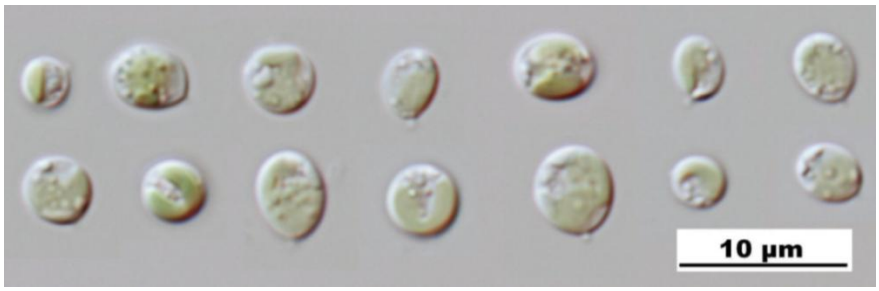
Kelas : Eustigmatophyceae

Genus : Nannochloropsis

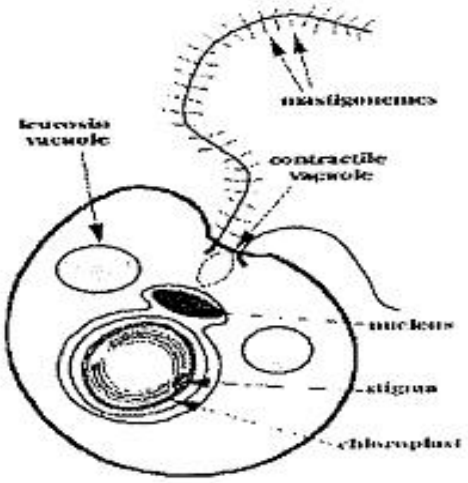
Species : *Nannochloropsis sp.*

Nannochloropsis sp. merupakan sel berwarna kehijauan, selnya berbentuk bola, berukuran kecil dengan diamater 4-6 mm, memiliki 2 flagel salah satu flagelnya berambut tipis. *Nannochloropsis sp*. memiliki kloroplas dan nucleus yang dilapisi membran. Kloroplas memiliki stigma (bintik mata) yang bersifat sensitif terhadap cahaya. *Nannochloropsis* sp. dapat berfotosintesis karena

memiliki klorofil (Dwiguna, 2009). Bentuk dan Morfologi *Nannochloropsis sp.* dapat dilihat pada Gambar 2.



(a)



(b)

Gambar 2. (a) Bentuk dan (b) Morfologis *Nannochloropsis* sp.

2. Pertumbuhan *Nannochloropsis* sp.

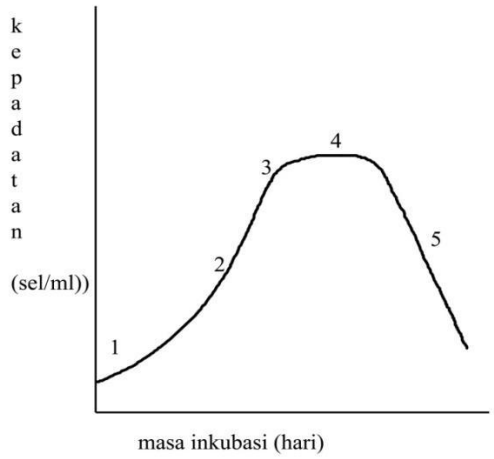
Perkembangbiakan *Nannochloropsis* sp. terjadi secara aseksual yaitu dengan pembelahan sel atau pemisahan autospora dari sel induknya. Reproduksi sel diawali dengan pertumbuhan sel yang membesar, selanjutnya terjadi peningkatan aktifitas sintesis untuk persiapan pembentukan sel anak, yang merupakan tingkat pemasakan awal (Kimball, 1994). Tahap berikutnya terbentuk

sel induk muda yang merupakan tingkat pemasakan akhir, yang akan disusul dengan pelepasan sel anak (Fogg, 1975 *dalam* Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995).

Dewi (2003), membagi pola pertumbuhan atau kurva pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. menjadi lima fase pertumbuhan yaitu:

1. Fase lag disebut sebagai fase adaptasi terhadap kondisi lingkungan yang ditandai dengan peningkatan populasi yang tidak nyata.
2. Fase eksponensial ditandai dengan pesatnya laju pertumbuhan hingga kepadatan populasi meningkat beberapa kali lipat
3. Fase pengurangan pertumbuhan ditandai dengan terjadinya penurunan pertumbuhan jika dibandingkan dengan fase eksponensial
4. Fase stasioner ditandai dengan laju pertumbuhan seimbang dengan laju kematian
5. Fase kematian ditandai dengan laju kematian lebih tinggi dari laju pertumbuhan sehingga kepadatan populasi berkurang.

Kurva pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. dapat dilihat dalam Gambar 3.



Keterangan:

1. Fase Lag
2. Fase Eksponensial
3. Fase Pengurangan Pertumbuhan
4. Fase stasioner
5. Fase Kematian

Gambar 3. Kurva Pertumbuhan *Nannochloropsis* sp (Dewi, 2003).

3. Faktor Pembatas

Menurut Chen dan Shety (1991), pertumbuhan dan perkembangbiakan *Nannochloropsis* sp. memerlukan berbagai nutrien yang diabsorbsi dari luar (media). Hal ini berarti ketersediaan unsur hara makro dan mikro dalam media tumbuhnya mutlak diperlukan, adapun makro nutrien yang diperlukan oleh *Nannochloropsis* sp. adalah N, P, Fe, K, Mg, S dan Ca sedangkan unsur mikro yang dibutuhkan H_2BO_3, $MnCl_3$, $ZnCl_2$, $CoCl_2$, $(NH_4)_{6,}M_7O_24H_2O$ dan $CuSO_45H_2O$.

Menurut (Renny, 2003) selain unsur nutrien, faktor eksternal lain yang mempengaruhi pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. meliputi :

a. Cahaya, seperti halnya tumbuhan darat, mikroalga adalah tumbuhan mikro yang memerlukan cahaya untuk proses asimilasi bahan anorganik sehingga menghasilkan energi yang dibutuhkan. Kekuatan cahaya bergantung pada volume kultur dan kepadatan. Untuk kultur skala laboratorium diperlukan kekuatan cahaya 5.000 sampai 10.000 luxmeter.
b. Derajat keasaman (pH) optimum untuk pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. adalah pada pH 8 sampai 9.
c. Temperatur optimal pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. berkisar 26ºC sampai 32ºC.
d. Salinitas optimal untuk pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. 25 ppt sampai 35 ppt.
e. Aerasi, diperlukan untuk mencegah terjadinya pengendapan, meratakan nutrien, dan terjadinya pertukaran udara (penambahan CO_2).

B. Karbohidrat

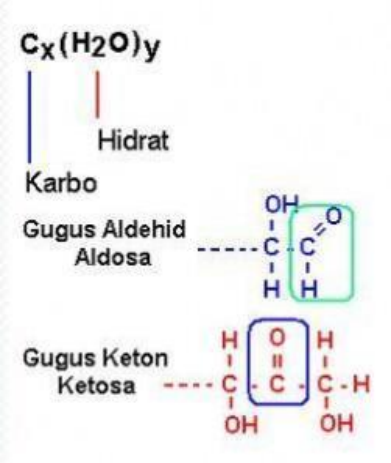
Karbohidrat adalah segolongan besar senyawa organik yang paling melimpah di bumi. Karbohidrat memiliki berbagai fungsi dalam tubuh makhluk hidup, terutama sebagai bahan bakar (misalnya glukosa) dan cadangan makanan. Pembentukan karbohidrat melalui proses fotosintesis dan merupakan sumber energi hayati dari hasil konversi energi matahari ke dalam bentuk energi kimia. Karbohidrat selain sebagai sumber utama energi organisme hidup juga merupakan sumber karbon untuk sintesis biomolekul dan sebagai bentuk energi polimerik (Borowitzka LJ. 1988).

Karbohidrat banyak terdapat dalam bahan nabati, baik dalam gula sederhana, heksosa, pentosa, maupun karbohidrat dengan berat molekul tinggi seprti pati, pektin, selulosa dan lignin. Selulosa dan lignin berperan sebagai penyusun dinding sel tanaman. Pada tanaman, karbohidrat terbentuk dari reaksi CO_2 dan H_2O dengan bantuan sinar matahari melalui proses fotosintesis dalam sel tanaman yang berklorofil (Winarno, 1991).

Mikroalga sudah dimanfaatkan sebagai pakan ikan pada kegiatan penelitian maupun produksi biofuel. Mikroalga sebenarnya juga memiliki peluang yang cukup besar untuk dimanfaatkan sebagai bahan baku bioetanol. Hal ini disebabkan oleh dua hal:

1. Bahan baku bioetanol yang selama ini digunakan, seperti singkong dan pati, merupakan bahan pangan bagi manusia
2. Adanya kandungan karbohidrat pada mikroalga (Chisti, 2008; Harun *et al*, 2009).

Mikroalga mempunyai kandungan karbohidrat yang hampir sama dengan kandungan lemaknya. Dengan demikian, potensi mikroalga sebagai sumber bahan baku bioetanol juga sama dengan potensi mikroalga sebagai sumber bahan baku biodiesel.



Gambar 4. Gugus fungsional dalam karbohidrat (Martoharsono, 2006).

Berbagai penelitian telah dilakukan untuk memanfaatkan mikroalga sebagai bahan baku biofuel. Penelitian yang telah dilakukan cenderung untuk memanfaatkan mikroalga sebagai bahan baku biodiesel (Brown, 2002; Skill, 2007 dan Widjaja, 2009). Mikroalga juga mampu menghasilkan biofuel lain seperti bioetanol. Hal ini disebabkan adanya kandungan karbohidrat pada mikroalga yang dapat dikonversi menjadi glukosa dan difermentasi menjadi alkohol. Kandungan karbohidrat pada mikroalga tidak berbeda jauh dengan kandungan lemaknya, berkisar antara 10,0 - 67,9% dengan tingkat produksi mencapai 38%, oleh karna itu diperlukan keselarasan antara produksi bioetanol dan biodiesel dari mikroalga, seperti penggunaan spesies yang berbeda dan produksi bioetanol dari mikroalga yang sudah diekstrak lemaknya (Patil *et al*, 2008).

C. Cahaya dan Proses Fotosintesis

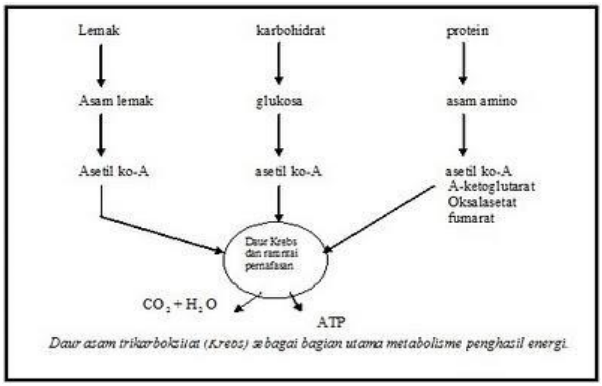
Cahaya adalah salah satu bentuk energi. Pencahayaan terdiri dari pencahayaan alami dan buatan. Pencahayaan buatan menggunakan lampu *flourescent* (standard-TL). Lampu jenis ini adalah lampu yang efesien untuk mengubah energi panas menjadi energi cahaya. Menurut Sutomo (2004), Energi panas yang dihasilkan, pada saat lampu menyala dapat menimbulkan suhu bola lampu sekitar 40^0C dan suhu udara sekelilingnya sekitar 25^0C. Cahaya merupakan sumber energi yang dipakai dalam proses fotosintesis. Hal ini berhubungan dengan intensitas cahaya, kualitas spectrum dan fotoperiod.

Cahaya merupakan sumber energi dalam proses fotosintesis mikroalga yang berguna untuk pembentukan senyawa karbon organik. Intensitas cahaya sangat menentukan pertumbuhan fitoplankton yaitu dilihat dari lama penyinaran dan panjang gelombang yang digunakan untuk fotosintesis. Dalam proses fotosintesis pada tumbuhan diperlukan cahaya . Kebutuhan akan cahaya bervariasi tergantung kedalaman kultur dan kepadatannya (Coutteau, 1996).

Peranan cahaya dalam fotosintesis adalah membantu menyediakan energi untuk diubah menjadi energi kimia dengan bantuan klorofil. Proses fotosintesis dapat dipengaruhi oleh faktor-faktor eksternal maupun internal. Faktor eksternal yang mungkin berpengaruh adalah cahaya, karbondioksida, air, suhu dan mineral. Faktor internal yang dapat mempengaruhi proses fotosintesis antara lain struktur sel, kondisi klorofil, dan produk fotosintesis serta enzim-enzim dalam daun /organ fotosintesis (Abidin, 1987 *dalam* Sappewali, 2009).

Fotosintesis dapat terjadi pada sel yang memiliki klorofil. Klorofil terdapat di dalam kloroplas yang berfungsi untuk menangkap cahaya yang dapat digunakan untuk berfotosintesis. Fotosintesis merupakan proses pembentukan karbohidat dan oksigen dari air dan karbondioksida dalam kloroplas dengan bantuan klorofil dan cahaya (Pratamo, 2009).

Dengan adanya proses fotosintesis, lemak dapat terbentuk dari karbohidrat dan protein, karena dalam metabolisme, ketiga zat tersebut bertemu di dalam daur Krebs. Sebagian besar pertemuannya berlangsung melalui pintu gerbang utama siklus (daur) Krebs, yaitu Asetil Ko-enzim A. Akibatnya ketiga macam senyawa tadi dapat saling mengisi sebagai bahan pembentuk semua zat tersebut. Lemak dapat dibentuk dari protein dan karbohidrat, karbohidrat dapat dibentuk dari lemak dan protein dan seterusnya. Fungsi utama siklus Krebs adalah merupakan jalur akhir oksidasi Karbohidrat, Lemak dan Protein. Karbohidrat , lemak dan protein semua akan dimetabolisme menjadi Asetyl-KoA.



Gambar 5. Daur asam trikarbosilat (krebs) sebagai bagian utama metabolisme penghasil energi.

Dari gambar diatas, terbentuknya Asetil Coa sangat strategis mempunyai peran utama pada glukoneogenesis (pembentukan Glikogen), transaminasi,

deaminasi (penguraian protein/gugus amino) dan lipogenesis (pembentukan lemak).

Fitoplankton adalah organisme laut yang melayang dan hanyut dalam air serta mampu berfotosintesis (Nybakken, 1992). Fotosintesis berasal dari kata *foton* yang berarti cahaya, dan *sintesis* yang berarti menyusun. Jadi fotosintesis dapat diartikan sebagai suatu penyusunan senyawa kimia kompleks yang memerlukan energi cahaya dan sumber energi cahaya alami adalah matahari proses ini dapat berlangsung karena adanya suatu pigmen tertentu dengan bahan CO_2 dan H_2O.

Jeffrey (1968), menyatakan bahwa klorofil adalah pigmen hijau dari tumbuhan yang merupakan pigmen aktif yang paling penting dalam proses fotosintesis. Dalam mengadsorpsi cahaya terdapat pigmen-pigmen pelengkap sebagai tambahan bagi klorofil-a. Fungsi pigmen-pigmen pelengkap adalah menangkap dan mengumpulkan energi cahaya dengan kisaran panjang gelombang yang luas kemudian memindahkan energi tersebut ke klorofil-a untuk mengintroduksinya ke dalam “reaksi sinar”.

Overnell (1976) menyatakan bahwa *Nannochloropsis* sp. sebagai tumbuhan yang mengandung pigmen klorofil-a, mampu melakukan reaksi fotosintesis, dimana air dan karbondioksida dengan adanya sinar matahari dapat menghasilkan senyawa organik seperti karbohidrat. Oleh karena itu fitoplankton disebut sebagai produsen primer karena memiliki kemampuan untuk membentuk zat organik dan non organik. Energi yang digunakan dalam proses fotosintesis adalah cahaya matahari yang diabsorpsi oleh pigmen hijau. Cahaya merupakan salah satu faktor yang menentukan kandungan klorofil-a. Klorofil untuk menyerap cahaya yang

dibutuhkan oleh fotosintesis. Sebagai akibat dari penyerapan cahaya oleh klorofil, maka air dan karbondioksida menjadi gula dan oksigen dengan persamaan reaksi:

$$6CO_2 + 6H_2O \xrightarrow[\text{Klorofil}]{\text{Cahaya}} C_6H_{12}O_6 + 6O_2$$

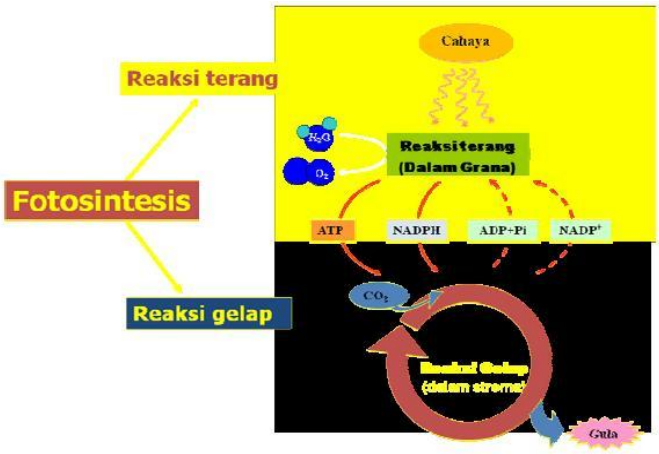
Di dalam daun, cahaya akan diserap oleh molekul klorofil untuk dikumpulkan pada pusat-pusat reaksi. Tumbuhan memiliki dua jenis pigmen yang berfungsi aktif sebagai pusat reaksi atau fotosistem yaitu fotosistem I dan fotosistem II. Fotosintesis dimulai ketika cahaya mengionisasi molekul klorofil pada fotosistem II, membuatnya melepaskan elektron yang akan ditransfer sepanjang rantai transpor elektron. Energi dari elektron ini digunakan untuk fotofosforilasi yang menghasilkan ATP, satuan pertukaran energi dalam sel. Pada tumbuhan dan alga, kekurangan elektron ini dipenuhi oleh elektron dari hasil ionisasi air yang terjadi bersamaan dengan ionisasi klorofil. Hasil ionisasi air ini adalah elektron dan oksigen.

Dari semua radiasi matahari yang dipancarkan, hanya panjang gelombang tertentu yang dimanfaatkan tumbuhan untuk proses fotosintesis, yaitu panjang gelombang yang berada pada kisaran cahaya tampak (380-700nm). Pigmen klorofil menyerap lebih banyak cahaya terlihat pada warna biru (400-450 nm) dan merah (650-700 nm) dibandingkan hijau (500-600nm). Masing-masing jenis cahaya berbeda pengaruhnya terhadap fotosintesis. Hal ini terkait pada sifat pigmen penangkap cahaya yang bekerja dalam fotosintesis. Pigmen yang terdapat pada membran grana menyerap cahaya yang memiliki panjang gelombang

tertentu. Kloroplas mengandung beberapa pigmen sebagai contoh, klorofil terutama menyerap cahaya biru-violet dan merah. Klorofil b menyerap cahaya biru dan orange dan memantulkan cahaya kuning-hijau (Juwilda, 2010).

Pada mikroalga, semua sel yang memiliki kloroplas berpotensi untuk melangsungkan reaksi fotosintesis. Pada dasarnya, rangkaian reaksi fotosintesis dapat dibagi menjadi dua bagian utama yaitu reaksi terang (karena memerlukan cahaya) dan reaksi gelap (tidak memerlukan cahaya tetapi memerlukan karbon dioksida) (Taiz dan Zeider, 2002).

Pada proses reaksi terang sangat bergantung kepada ketersediaan sinar matahari. Reaksi terang merupakan penggerak bagi reaksi pengikatan CO_2 dari udara. Reaksi ini melibatkan beberapa kompleks protein dari membran tilakoid yang terdiri dari sistem cahaya (fotosistem I dan II), sistem pembawa elektron dan komplek protein pembentuk ATP (enzim ATP sintase). Reaksi terang mengubah energi cahaya menjadi energi kimia juga menghasilkan oksigen dan mengubah ADP dan $NADP^+$ menjadi energi pembawa ATP dan NADPH, Reaksi gelap merupakan lanjutan dari reaksi terang dalam fotosintesis. Reaksi ini tidak membutuhkan cahaya. Bahan reaksi gelap adalah ATP dan NADPH, yang dihasilkan dari reaksi terang dan CO_2, yang berasal dari udara bebas. Dari reaksi gelap ini, dihasilkan glukosa ($C_6H_{12}O_6$), yang sangat diperlukan bagi reaksi metabolisme (Oxborough, 1997) .



Gambar 6: Fotosintesis Reaksi terang & Reaksi gelap (Overnell, 1976).

Proses yang tidak membutuhkan cahaya (Reaksi gelap) terjadi ketika produk dari reaksi terang digunakan untuk membentuk ikatan kovalen C-C dari karbohidrat. Pada proses ini, CO_2 atmosfer ditangkap dan di modifikasi oleh penambahan hidrogen menjadi bentuk karbohidrat (Farabee,M.J. 2000).

Pada waktu terang, sel-sel diatom akan membelah secara aseksual, sehingga sel anak lebih kecil ukurannya dibanding induknya. Sedangkan pada waktu gelap terjadi perkembangan sel untuk mencapai ukuran normal. Dengan adanya pengaturan penyinaran pada kultur diatom, maka laju pertumbuhan dibatasi yaitu dengan adanya waktu terang dan waktu gelap (Raymont, 1963).

Pada fase fiksasi, 6 molekul ribulosa difosfat mengikat 6 molekul CO_2 dari udara dan membentuk 6 molekul beratom C6 yang tidak stabil yang kemudian pecah menjadi 12 molekul beratom C3 yang dikenal dengan 3-asam fosfogliserat (APG/PGA). Selanjutnya, 3-asam fosfogliserat ini mendapat tambahan 12 gugus fosfat, dan membentuk 1,3-bifosfogliserat**.** Kemudian, 1,3 bifosfogliserat masuk ke dalam fase reduksi, dimana senyawa ini direduksi oleh H^+ dari NADPH, yang

kemudian berubah menjadi $NADP^+$, dan terbentuklah 12 molekul fosfogliseraldehid (PGAL) yang beratom 3C. Selanjutnya, 2 molekul fosfogliseraldehid melepaskan diri dan menyatukan diri menjadi 1 molekul glukosa yang beratom 6C ($C_6H_{12}O_6$). 10 molekul fosfogliseraldehid yang tersisa kemudian masuk ke dalam fase regenerasi, yaitu pembentukan kembali ribulosa difosfat. Pada fase ini, 10 molekul fosfogliseraldehid berubah menjadi 6 molekul ribulosa fosfat. Jika mendapat tambahan gugus fosfat, maka ribulosa fosfat berubah menjadi ribulosa difosfat (RDP), yang kemudian kembali mengikat CO_2 dan menjalani siklus reaksi gelap (Taiz *et al.,* 2002; Putuyudiarta, 2010).