II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biologi *Nannochloropsis* sp.

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

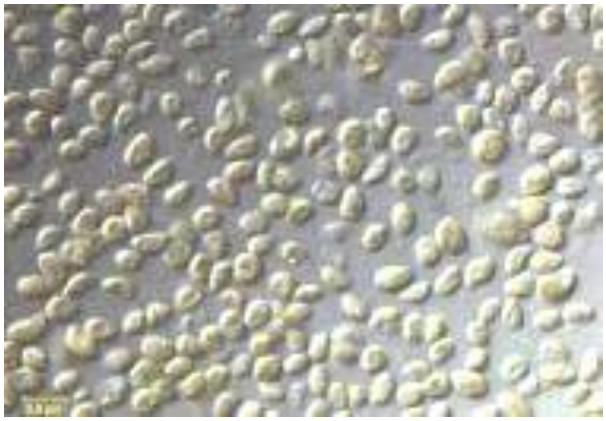
Mikroalga diartikan berbeda dengan tumbuhan yang biasa dikenal walaupun secara struktur tubuh keduanya memiliki klorofil sehingga dapat melakukan fotosintesis (Bold and Wynne, 1985). Fitoplankton *Nannochloropsis* sp., adalah salah satu jenis mikroalga yang dapat melakukan fotosintesis. Klasifikasi *Nannochloropsis* sp. menurut Hibberd (1981) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Chromista
Super Divisi : Eukaryotes
Divisi : Heterokontophyta
Kelas : Eustigmatophyceae
Ordo : Eustigmatales
Famili : Monodopsidaceae
Genus : *Nannochloropsis*
Spesies : *Nannochloropsis* sp.

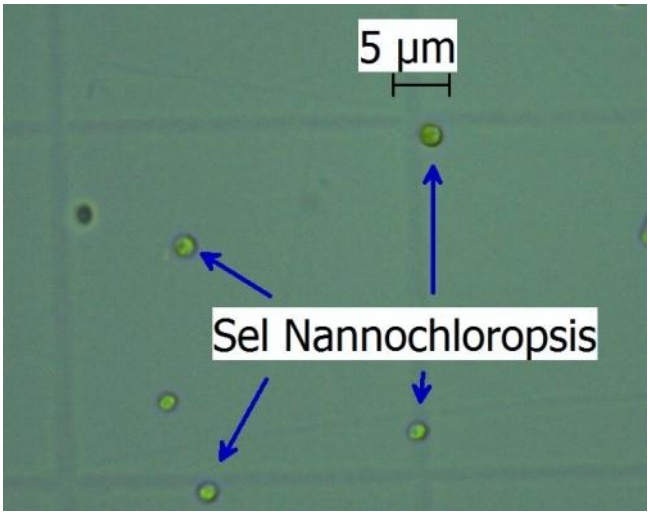
Divisi Eustigmatophyta merupakan kelompok mikroalga dengan 7 genus dan 12 spesies. Mikroalga divisi Eustigmatophyta meliputi mikroalga laut, air tawar dan spesies yang dapat hidup di tanah. Mikroalga divisi Eustigmatophyta

bersifat uniseluler, sel berbentuk coccoid dan dinding sel polisakarida. Eustigmatophyta mengandung satu kloroplas berwarna hijau kekuninan yang mengandung klorofil badan pigmen aksesori violaxanthin dan β-karoten dan merupakan organisme autotrof (Hibberd, 1981). Salah satu spesies mikroalga dari divisi Eustigmatophyta adalah *Nannochloropsis* sp.

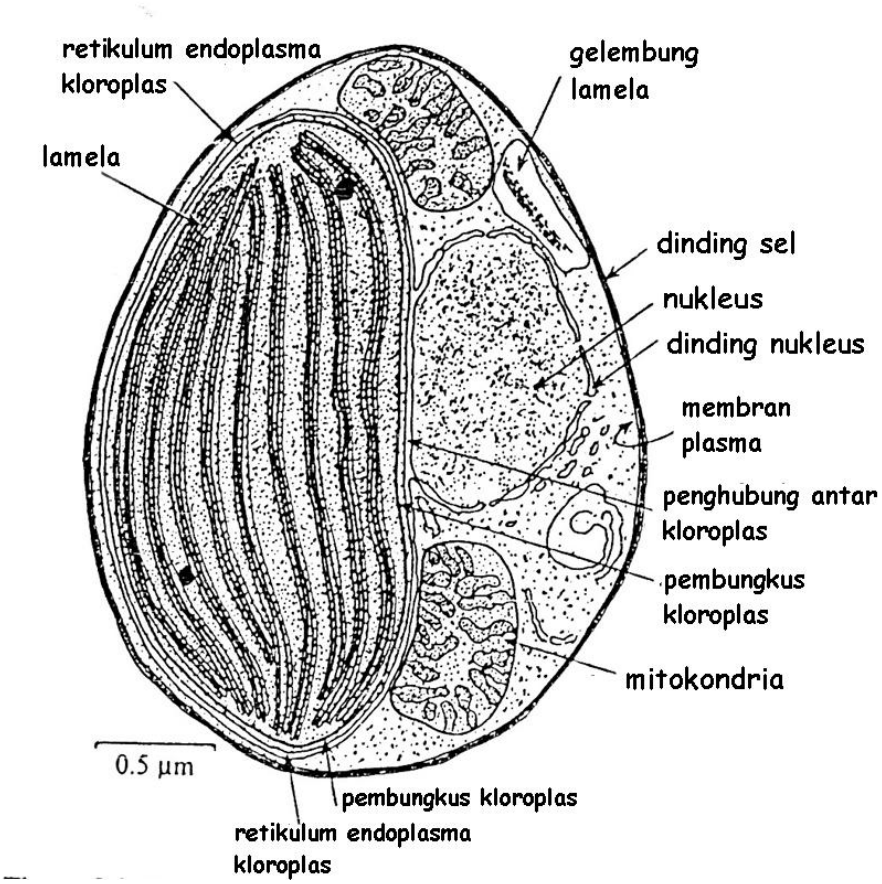
Sel *Nannochloropsis* sp. bersifat non-motil, berbentuk bulat telur, berdiameter 2-4 μm, memiliki pyrenoid dalam kloroplas tunggal dan mengandung klorofil-a (Biondi, 2011). Sedangkan Hoek *et.al.* (1998) menjelaskan bahwa *Nannochloropsis* sp. merupakan fitoplankton berwarna hijau yang berukuran 2-4 μm dan tidak memiliki flagel (Gambar 2). *Nannochloropsis* sp. dapat melakukan fotosintesis karena memiliki klorofil-a yang terdapat di kloroplas. Tiap satu sel *Nannochloropsis* sp. (Gambar 3) hanya memiliki satu kloroplas yang mengandung pyrenoid.



Gambar 2. Koloni *Nannochloropsis* sp. (Biondi, 2011)



Gambar 3. Sel *Nannochloropsis* sp. (perbesaran 100x)



Gambar 4. Morfologi Sel *Nannochloropsis* sp. (Hoek *et.al.*, 1998)

Nannochloropsis sp. dapat hidup di banyak tempat (kecuali tempat yang kritis bagi kehidupannya) sehingga bersifat kosmopolit dan dapat hidup pada salinitas optimum sekitar 20 – 25 ‰. *Nannochloropsis* sp. Selain itu fitoplankton ini hidup pada pH 8-9,5; intensitas cahaya 1.000 – 10.000 lux dan suhu 25°-30° C. Selain itu *Nannochloropsis* sp. masih dapat bertahan hidup pada suhu 40° C namun pertumbuhannya tidak normal (Balai Budidaya Laut, 2002).

Genus *Nannochloropsis* meliputi laut dan spesies air tawar, meskipun bioteknologi dari alga ini pada saat ini terbatas pada spesies laut (Biondi, 2011). *Nannochloropsis* sp. merupakan salah satu jenis mikroalga yang banyak dimanfaatkan sebagai pakan alami, terutama untuk pakan larva ikan. *Nannochloropsis* sp. memerlukan beberapa unsur hara makro dan mikro untuk dapat hidup. Unsur makro yang diperlukan *Nannochloropsis* sp. seperti N, P, K sedangkan unsur mikro yang dibutuhkan *Nannochloropsis* sp. diantaranya Mg, Mn, S, Zn dan Cu. Unsur hara makro dapat digunakan dalam media kultur dengan bentuk yang berbeda misalnya dalam bentuk NO_3^-, NO_2^- dan NH_4 (Bold and Wynne, 1985). Nitrogen (N) merupakan unsur makro yang paling dibutuhkan oleh *Nannochloropsis* sp. dalam jumlah banyak dibandingkan unsur yang lain karena nitrogen merupakan senyawa yang mudah larut di dalam air sehingga mudah dimanfaatkan oleh *Nannochloropsis* sp. sebagai sumber nutrien (Purwitasari *et.al*, 2012).

2.1.2 Pertumbuhan *Nannochloropsis*.sp

Adanya pertumbuhan dalam kultur fitoplankton ditandai dengan bertambahnya ukuran sel fitoplankton dan bertambah besarnya ukuran sel. Lavens

and Sorgeloos (1996) menjelaskan bahwa pertumbuhan fitoplankton dibagi dalam beberapa fase (Gambar 4) yaitu fase lag, fase logaritmik/eksponensial, fase berkurangnya pertumbuhan relatif, fase stasioner, dan fase kematian.

1. Fase Lag

   Pada fase lag belum mengalami perubahan. Pada fase ini pertumbuhan fitoplankton dikaitkan dengan adaptasi fisiologis metabolisme sel pertumbuhan fitoplankton, seperti peningkatan kadar enzim dan metabolit yang terlibat dalam pembelahan sel dan fiksasi karbon.

2. Fase Logaritmik atau Eksponensial

   Pada fase eksponensial sel fitoplankton telah mengalami pembelahan sel dengan laju pertumbuhannya tetap. Pertumbuhan fitoplankton dapat maksimal tergantung pada spesies alga, nutrien, intensitas cahaya, dan temperatur.

3. Fase berkurangnya pertumbuhan relatif

   Pertumbuhan sel mulai melambat ketika nutrien, cahaya, pH, CO_2 atau faktor kimia dan fisika lain mulai membatasi pertumbuhan.

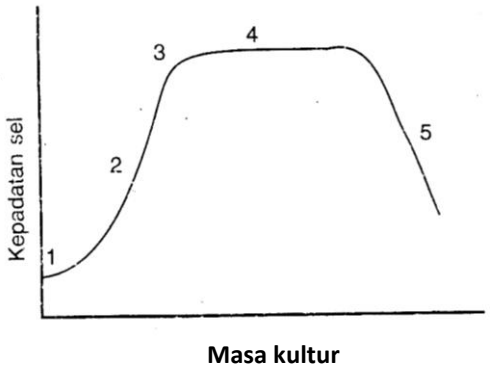
4. Fase Stasioner

   Pada fase keempat faktor pembatas dan tingkat pertumbuhan seimbang. Laju kematian fitoplankton relatif sama dengan laju pertumbuhannya sehingga kepadatan fitoplankton pada fase ini relatif konstan.

5. Fase Kematian

   Pada fase kematian, kualitas air memburuk dan nutrient habis hingga ke level tidak sanggup menyokong kehidupan fitoplankton. Kepadatan sel

menurun dengan cepat karena laju kematian fitoplankton lebih tinggi daripada laju pertumbuhannya hingga kultur berakhir.



Keterangan:

1. Fase lag
2. Fase logaritmik/eksponensial
3. Fase berkurangnya pertumbuhan relatif
4. Fase stasioner
5. Fase kematian

Gambar 5. Pola pertumbuhan fitoplankton (Lavens and Sorgeloos, 1996).

Fase eksponensial ditandai dengan cepatnya pertumbuhan sel *Nannochloropsis* sp. pada fase tersebut dengan diiringi banyaknya produksi pigmen *Nannochloropsis* sp (Chalid, 2010). Yanuaris (2012) menjelaskan bahwa pada kultur fitoplankton, fase eksponensial mulai terjadi pada hari pertama hingga hari kedua karena ketersediaan nutrien untuk *Nannochloropsis* sp. habis terserap pada hari itu.

Pada fase eksponensial fitoplankton memiliki waktu penggandaan yang lebih singkat dibanding fase lag apabila lingkungan adaptasinya baik. Cepatnya pembelahan sel fitoplankton dapat disebabkan oleh kebutuhan nutrien yang tercukupi (Resmawati *et.al*, 2012). Muhaemin (2005) menjelaskan bahwa fase eksponensial pada kultur mikroalga berada pada kisaran jam ke 5-120 di mana fase tersebut ditandai dengan meningkatnya densitas fitoplankton yang signifikan dan tidak selalu diikuti dengan laju yang konstan.

2.1.3 Faktor Pembatas

Kepadatan dan nutrisi pada fitoplankton dipengaruhi oleh beberapa faktor lingkungan, diantaranya suhu, cahaya, pH air dan jumlah nutrien yang ada (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995).

1. Suhu

Pertumbuhan sel dalam kultur fitoplankton ditandai dengan bertambah besar dan bertambah banyaknya ukuran sel. Suhu dalam kultur mempengaruhi keberhasilan fitoplankton. Suhu air yang optimal bagi pertumbuhan fitoplankton adalah sekitar 23-25°C pada skala laboratorium dan 30°C pada skala masal dan semi masal (Sari dan Manan, 2012). Sementara itu menurut Barsanti dan Paulo (2006) suhu yang sesuai pertumbuhan fitoplankton pada iklim tropis adalah >20°C, namun biasanya kebanyakan jenis fitoplankton dapat menoleransi suhu antar 16-27 ^{o}C.

2. Cahaya

Pada kultur fitoplankton, cahaya merupakan faktor terpenting karena fitoplankton membutuhkan cahaya untuk proses fotosintesis (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995). Cahaya dalam kultur fitoplankton diperoleh dari penyinaran lampu neon. Penyinaran cahaya haru sesuai untuk kultur, apabila cahaya terlalu terang akan menghambat proses fotosintesis, durasi pencahayaan buatan minimum harus 18 jam (Lavens and Sorgeloos, 1996). Sari dan Manan (2012) menjelaskan bahwa untuk kultur skala laboratorium cahaya didapat dari cahaya lampu TL dengan kapasitas sebesar 1450 *lux*.

3. pH Air

Kondisi pH yang baik diperlukan untuk kultur fitoplankton terutama pada saat panen. Pada saat itu proses koagulasi fitoplankton harus berada pada kondisi maksimum agar waktu koagulasi fitoplankton lebih singkat dan presentase tenggelam tinggi. Kondisi tersebut dapat dicapai dengan penambahan NaOH 100 ppm pada pH 8 (Muhaemin dkk, 2006). Sari dan Manan (2012) menjelaskan bahwa nilai pH diukur dengan menggunakan pH meter. Nilai pH pada kultur fitoplankton skala laboratorium dan semi masal berkisar antara 7,7 - 7,8. Sementara itu menurut Barsanti dan Gualtieri (2006) pH yang sesuai untuk kultur fitoplankton adalah antara 7-8 dengan rentang optimum 8,2-8,7. Rentang pH untuk kultur kebanyakan spesies alga adalah antara 7-9 dan rentang optimumnya antara 8,2-8,7 (Lavens and Sorgeloos, 1996).

4. Nutrien

Pada kultur fitoplankton nutrien seperti unsur makro dan mikro sangat diperlukan untuk makanan fitoplankton. Unsur makro seperti N, P, K, S, Na, Si, dan Ca serta unsur mikro seperti Fe, Zn, Mn, Cu, Mg, Mo, Co, B, dan lain-lain masing-masing memiliki fungsi pada pertumbuhan fitoplankton. Dalam pembentukan protein unsur N, P dan S sangat diperlukan. Selain itu unsur K berfungsi dalam metabolisme karbohidrat, Fe dan Na berguna dalam pembentukan protein, sedangkan Si dan Ca berfungsi dalam pembentukan dinding sel fitoplankton (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995).

2.2 Protein

Komponen penting dan utama pada sel hewan atau manusia adalah protein, karena protein berperan sebagai zat utama dalam pembentukan tubuh (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995). Protein memiliki fungsi biologis yang sangat luas dan merupakan polipeptida yang terbentuk secara alami. Berat molekul protein dapat lebih besar dari 5000 (Kuchel and Ralston, 2006).

Protein digolongkan dalam dua golongan, yaitu protein sederhana yang terdiri atas molekul-molekul asam amino dan protein gabungan yang terdiri atas protein dan gugus bukan protein. Protein sederhana dapat dibagi menjadi protein fiber dan protein globular, sedangkan protein gabungan diantaranya mukoprotein, glikoprotein, lipoprotein, dan nukleoprotein. Di dalam air protein akan membentuk ion positif dan ion negatif.

Berdasarkan fungsi struktur dan mekanisme kerja protein dibagi dalam empat kelas utama, yaitu (1) Protein pengubah (*Transforming proteins*) adalah protein yang mengubah satu jenis energi ke energi yang lain, seperti energi kimia menjadi energi mekanik (protein otot). Enzim merupakan salah satu contoh protein dalam protein pengubah karena dapat mengubah energi kimia menjadi jenis lain dari energi kimia berdasarkan mengubah satu zat kimia menjadi lain. (2) Protein informasi (*Informational proteins*), berfungsi dalam transmisi atau pemrosesan informasi. (3) Protein struktural (*Structural proteins*) berperan sebagai pembentuk blok dalam sel, atau sebagai bagian dari kerangka kerja di luar sel. (4) Protein pertahanan (*Defence proteins*) adalah kelompok yang lebih heterogen berkaitan dengan pertahanan terhadap resiko serangan molekul dan

organisme berbahaya dan termasuk antibodi, protein pembekuan darah dan racun (Robson and Garnier, 1988)

Protein akan membentuk ion positif apabila dalam suatu perairan dalam keadaan asam sedangkan apabila kondisi perairan dalam keadaan basa protein akan membentuk ion negatif. Aktifitas biokimiawi protein dapat berkurang apabila terdapat perubahan di lingkungan seperti perubahan suhu, pH atau karena reaksi dengan senyawa lain sehingga konformasi molekulnya berubah. Aktifitas dan kemampuan protein untuk menunjang aktivitas organ tubuh tertentu akan berkurang apabila suatu protein mengalami konformasi pada molekulnya (Poedjiadi, 1994). Kandungan protein per sel fitoplankton yang dianggap sebagai salah satu faktor yang paling penting untuk menentukan nilai gizi fitoplankton sebagai pakan dalam budidaya ikan. Kandungan protein untuk *Nannochloropsis oculata* dalam berat kering adalah sebesar 2,1 pg/cell dengan presentase 35% (Lavens and Sorgeloos, 1996).

2.3 Nitrogen

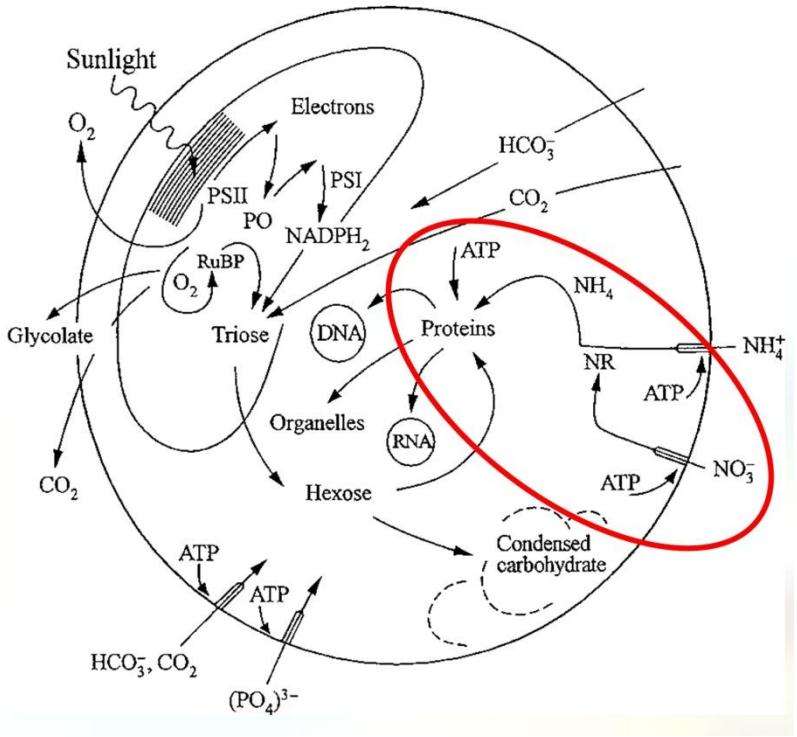
Pada media pertumbuhan fitoplankton, unsur yang paling penting di fase pertumbuhan eksponensial adalah konsentrasi N yang tinggi pada $NaNO_3$. Hal itu disebabkan karena tetap berlangsungnya aktivitas metabolisme sel dalam jangka waktu optimum sehingga pembelahan sel terus berlangsung di fase eksponensial. Kandungan nitrogen yang tinggi dalam $NaNO_3$ pada media tumbuh fitoplankton dapat menghasilkan fitoplankton yang memiliki kandungan protein yang tinggi (Suminto, 2009). Reynolds (2006) menjelaskan bahwa nitrogen merupakan elemen kedua yang relatif dibutuhkan dalam jumlah terbatas pada ekologi

fitoplankton setelah asam amino. Konsentrasi nitrogen dalam $NaNO_3$ yang rendah akan mengakibatkan rendahnya jumlah protein dalam fitoplankton, karena dalam proses sintesis asam amino nitrogen diperlukan sebagai penyusun protein dalam sel (Colla *et al.*, 2005 *dalam* Suminto, 2009). Nitrogen yang terdapat pada media tumbuh fitoplankton memiliki peran penting dalam pembentukan protein (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995).

Nitrogen merupakan senyawa yang berfungsi sebagai penyusun protein dan klorofil pada tumbuhan dan hewan. Di perairan, nitrogen didapat bukan dalam bentuk gas namun berupa nitrogen organik dan nitrogen anorganik. Nitrogen organik berupa protein, asam amino dan urea, sedangkan nitrogen anorganik terdiri atas ammonia (NH_3), ammonium (NH_4), Nitrit (NO_2), Nitrat (NO_3) dan molekul nitrogen dalam bentuk gas (N). Nitrat yang menjadi sumber nitrogen untuk penuyusun protein pada tumbuhan diperoleh dari proses konversi. Proses tersebut dapat dilihat pada persamaan reaksi (Effendi, 2003).

$$NO_3^- + CO_2 + \text{tumbuhan} + \text{cahaya matahari} \longrightarrow \text{protein}$$

Mikrolaga membentuk protein dalam tubuh dengan mengambil nutrien yang dibutuhkan untuk pembentukan protein dari luar tubuhnya seperti NO_3^- (Reynolds, 2006). Perubahan nitrat menjadi protein dalam tubuh fitoplankton diilustrasikan dalam Gambar 6.



Gambar 6. Proses perombakan nitrat dari luar tubuh menjadi protein dalam tubuh (lingkaran merah) (Reynolds, 2006)

Salah satu senyawa nitrogen yang penting bagi mikroalga adalah dalam bentuk senyawa nitrat. Bentuk penting dari kombinasi nitrogen yang dapat dimanfaatkan oleh fotoautotrof seperti fitoplankton adalah ion nitrat (NO_3^-), nitrit (NO_2^-) dan ammonium (NH_4^+) meskipun tidak semua jenis fitoplankton dapat memanfaatkannya (Reynolds, 2006). Sementara itu menurut Edhy dkk (2003) nitrogen yang dapat dimanfaatkan langsung oleh fitoplankton secara langsung adalah ammonia bebas (NH_3) dan nitrat (NO_3^-). Nitrat merupakan bentuk dari nitrogen di perairan yang bersifat mudah larut dalam air dan bersifat stabil. Nitrat diperoleh dari proses oksidasi sempurna dari senyawa oksigen di perairan (Effendi, 2003). Nitrat merupakan sumber nitrogen yang sering digunakan dalam media kultur fitoplankton (Barsanti dan Gualtieri, 2006). Svehla (1985) menyatakan bahwa berdasarkan kelarutannya, semua nitrat dikategorikan sebagai

senyawa yang larut dalam air. Apabila diolah dengan air nitrat dapat menghasilkan garam basa yang dapat larut dalam nitrat encer. Karena sifatnya yang mudah larut dalam air, nitrat mudah dimanfaatkan oleh *Nannochloropsis* sp. untuk pertumbuhan sehingga pertumbuhan fitoplankton lebih cepat (Purwitasari *et.al*, 2012).