

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Biologi *Nannochloropsis* sp.

#### 2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi *Nannochloropsis* sp.

Mikroalga merupakan tanaman yang mendominasi lingkungan perairan. Morfologi mikroalga berbentuk uniseluler atau multiseluler tetapi belum ada pembagian tugas yang jelas pada sel – sel komponennya. Hal tersebut yang membedakan mikroalga dengan tumbuhan tingkat tinggi. *Nannochloropsis* sp. merupakan fitoplankton berukuran 2 - 4  $\mu\text{m}$ , berwarna kehijauan, tidak motil, dan tidak berflagel. Selnya berbentuk bola dan berukuran kecil. Klasifikasi *Nannochloropsis* sp. menurut Hoek *et al.*, 1998 sebagai berikut :

Kingdom : Eukaryotes

Divisi : Heterokontophyta

Kelas : Eustigmatophyceae

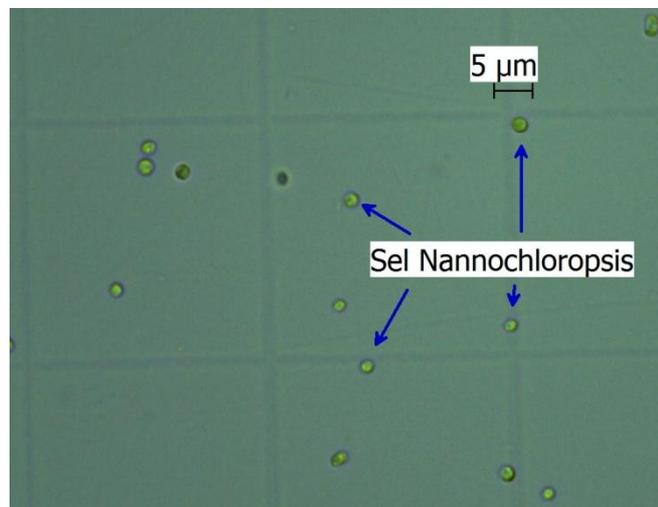
Genus : *Nannochloropsis*

Spesies : *Nannochloropsis* sp.

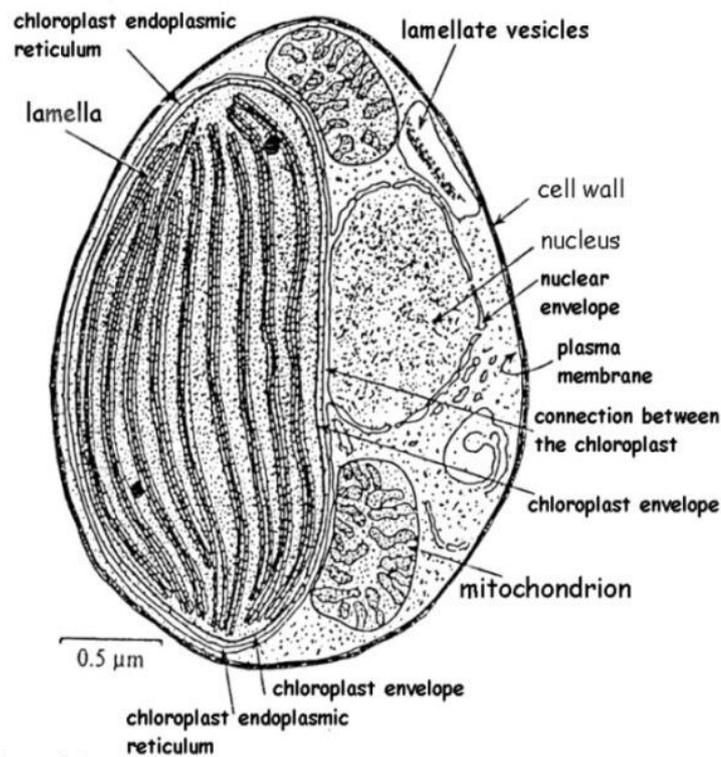
Sel *Nannochloropsis* sp. memiliki kloroplas dan nukleus yang dilapisi membran. Kloroplas memiliki stigma (bintik mata) yang bersifat sensitif terhadap cahaya. *Nannochloropsis* sp. dapat berfotosintesis karena memiliki klorofil. Ciri khas dari *Nannochloropsis* sp. adalah memiliki dinding sel yang terbuat dari komponen selulosa (Hoek *et al.*, 1998).



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



Gambar 3. Sel *Nannochloropsis* sp.



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

*Nannochloropsis* sp. dapat hidup pada suhu 25° - 30° C tetapi masih dapat bertahan hidup pada suhu 40° C namun pertumbuhannya tidak normal sedangkan pada rentang salinitas 35 ‰. Selain itu fitoplankton ini dengan pH 8 - 9,5 dan intensitas cahaya 1.000 – 10.000 *lux* (Balai Budidaya Laut, 2002).

*Nannochloropsis* sp. berbentuk bulat memanjang dengan diameter sel berkisar 2-4 μm dan dapat melakukan fotosintesis karena memiliki klorofil a yang terdapat di kloroplas. Tiap satu sel *Nannochloropsis* sp. hanya memiliki satu kloroplas yang mengandung pirenoid (Hoek *et al.*, 1998).

## 2. 1. 2 Pertumbuhan dan Perkembangan Sel *Nannochloropsis* sp.

*Nannochloropsis* sp. lebih dikenal dengan *Chlorella* laut karena memiliki nilai nutrisinya sangat tinggi, mudah dikultur secara massal, tidak menimbulkan racun, pertumbuhannya relatif cepat, memiliki kandungan antibiotik dan ukurannya sangat kecil 2 - 5  $\mu\text{m}$  (Ari, 2000).

*Nannochloropsis* sp. berkembang biak secara aseksual dengan cara membelah diri dan membentuk autospora. Setiap sel yang sudah masak akan membelah diri dan menghasilkan dua dan empat autospora. Autospora adalah spora non flagela yang bentuknya menyerupai sel induknya, tetapi mempunyai ukuran tubuh lebih kecil. Autospora yang telah dihasilkan dibebaskan dari sel induk melalui penghancuran dinding sel dewasa dan berkembang hingga mencapai ukuran sel induknya (Barsanti and Gualtieri, 2006).

Penggandaan sel *Nannochloropsis* sp. terjadi sangat cepat. Hal tersebut dikarenakan sumber nutrien yang mencukupi (Barsanti and Gualtieri, 2006). Adanya pertumbuhan dalam kultur fitoplankton ditandai dengan bertambahnya ukuran sel fitoplankton dan bertambah besarnya ukuran sel. Menurut Lavens dan Sorgeloos (1996) pertumbuhan fitoplankton dibagi dalam beberapa fase yaitu:

### 1. Fase Lag

Fase lag mengalami sedikit peningkatan densitas sel. Pada fase pertumbuhan lag disebabkan fisiologis adaptasi metabolisme sel pertumbuhan, seperti meningkatnya tingkat enzim dan metabolit yang terlibat dalam pembelahan sel dan fiksasi karbon. Pada saat beradaptasi, sel mengalami defisiensi enzim atau koenzim, sehingga harus disintesis terlebih dahulu untuk keberlangsungan aktivitas biokimia sel selanjutnya (Madigan *et al.*, 2010).

2. Fase Logaritmik atau Eksponensial

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

3. Fase berkurangnya pertumbuhan relatif

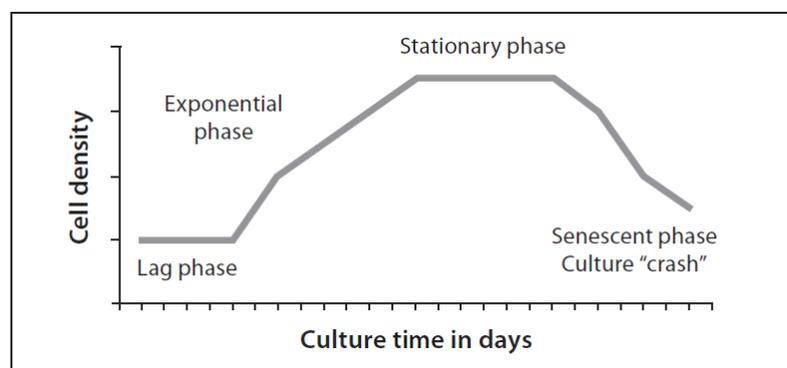
Pertumbuhan sel mulai melambat ketika nutrien, cahaya, pH, CO<sub>2</sub> atau faktor kimia dan fisika lain mulai membatasi pertumbuhan.

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 nutrien 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.



Gambar 5. Fase - fase pertumbuhan fitoplankton (Creswell, 2010)

## 2. 2 Protein

Komponen penting dan terutama pada sel hewan atau manusia adalah protein, karena protein berperan sebagai zat utama dalam pembentukan tubuh. Protein juga penting sebagai enzim yang bertanggung jawab untuk mengkatalisis ribuan reaksi biokimia (Stickney, 2005). Protein merupakan suatu polipeptida yang memiliki bobot yang bervariasi dan memiliki sifat yang berbeda - beda. Protein ada yang memiliki sifat mudah larut di dalam air dan ada yang sulit larut di dalam air. Protein memiliki empat sifat struktur dasar yaitu struktur primer, sekunder, tersier dan kuaterner (Poedjiadi, 1994).

Struktur primer menunjukkan jumlah, jenis, dan urutan asam amino dalam molekul protein. Ikatan antar asam amino merupakan ikatan peptida, maka struktur primer protein juga menunjukkan ikatan peptida yang urutannya diketahui. Pada rantai polipeptida terdapat banyak gugus  $> C = O$  dan gugus  $> N - H$ . Kedua gugus ini berikatan satu dengan yang lain karena terbentuknya ikatan hidrogen antara atom oksigen dari gugus  $> C = O$  dengan atom hidrogen dari gugus  $> N - H$ . Gugus - gugus yang terdapat dalam satu rantai polipeptida akan terbentuk struktur heliks. Ikatan hidrogen terjadi antara dua rantai polipeptida atau lebih dan akan membentuk konfigurasi alpha yaitu bukan bentuk heliks tetapi rantai sejajar yang berkelok - kelok dan disebut struktur lembaran berlipat. Struktur alfa heliks dan lembaran berlipat merupakan struktur sekunder protein.

Struktur tersier menunjukkan kecenderungan polipeptida membentuk lipatan atau gulungan, dan dengan demikian membentuk struktur yang lebih kompleks. Struktur ini terdiri dari beberapa ikatan antara gugus R pada molekul asam amino

yang membentuk protein. Struktur kuarterner menunjukkan derajat kumpulan protein. Sebagian besar protein globular terdiri atas beberapa rantai polipeptida yang terpisah. Rantai polipeptida saling berinteraksi membentuk kumpulan protein (Poedjiadi, 1994).

Protein merupakan suatu polipeptida yang mempunyai bobot molekul yang bervariasi sehingga akan menghasilkan asam amino (Poedjiadi, 1994). Protein dalam tumbuhan dihasilkan dari CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O, dan senyawa nitrogen. Nitrogen merupakan nutrisi yang dibutuhkan paling banyak untuk pertumbuhan fitoplankton yaitu sebagai unsur penting dalam pembentukan protein (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995).

### **2.3 Faktor Pembatas**

Pertumbuhan mikroalga sangat erat kaitannya dengan ketersediaan unsur hara dan dipengaruhi oleh kondisi lingkungan sebagai faktor pembatas seperti pH, suhu, nutrisi dan cahaya (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995).

#### **a. Suhu**

Suhu merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi pertumbuhan fitoplankton. Suhu optimal pada mikroalga antara 23 - 25<sup>0</sup> C, tergantung pada komposisi medium kultur, spesies dan tempat budidaya (Sari dan Manan, 2012). Suhu lebih rendah dari 16<sup>0</sup> C akan memperlambat pertumbuhan, sedangkan yang lebih tinggi dari 35<sup>0</sup> C yang mematikan bagi sejumlah spesies (Balai Budidaya Laut, 2002). Menurut Dwidjoseputro (1986), pada saat temperatur 40<sup>0</sup> C sudah dapat mematikan enzim. Kisaran suhu optimum bagi pertumbuhan mikroalga

adalah 25 - 32<sup>0</sup> C. Suhu optimum bagi perkembangan *Nannochloropsis* sp. adalah 23 - 26<sup>0</sup> C (Taw, 1990 *dalam* Fitriani, 2012).

b. Cahaya

Mikroalga merupakan organisme autotrof yang mampu membentuk senyawa organik dan senyawa – senyawa anorganik melalui fotosintesis. Mikroalga dapat melakukan proses asimilasi bahan organik. Intensitas cahaya terlalu tinggi dapat menyebabkan penghambatan fotosintesis. Durasi pencahayaan buatan harus minimum 18 jam cahaya per hari (Lavens dan Sorgeloos, 1996). Pada kultur skala laboratorium cahaya didapat dari cahaya lampu TL dengan kapasitas sebesar 1450 *lux* (Sari dan Manan, 2012).

c. *Power of Hidrogen* (pH)

Faktor lingkungan yang perlu mendapat perhatian adalah pH (derajat keasaman) agar metabolisme sel mikroalga tidak terganggu. pH sebagai log negatif dari konsentrasi ion hidrogen. Skala pH berjalan 0 sampai 14 dengan nilai yang netral. Nilai di bawah 7 bersifat asam. Kisaran pH dalam sistem air tawar antara 6 dan 9, sedangkan pH air asin di atas 7. Artinya, untuk setiap kenaikan satu unit pH, misalnya meningkat dari pH 6 sampai pH 7, air menjadi 10 kali lebih sedikit asam. Dalam sirkulasi sistem air akumulasi asam organik dari zat - zat dalam pakan akan bersama - sama akumulasi karbon dioksida akibat respirasi dan menyebabkan penurunan pH. Sistem air tawar, pH antara 6,5 dan 8,5. Sedangkan, pada sistem air laut seperti moluska akan berusaha menekati pH netral. Hal tersebut dikarenakan kalsium karbonat cangkang moluska akan mulai larut pada kondisi asam. Jika pH mendekati di bawah 7, senyawa penyangga harus ditambahkan. Hal tersebut dapat dilakukan dengan menyediakan sumber ion

karbonat atau bikarbonat. Keduanya terdiri dari kalsium karbonat, yang perlahan-lahan akan larut menjadi masing-masing ion. Maka anion akan bergabung dengan ion hidrogen untuk menghasilkan bikarbonat (Stickney, 2005).

Derajat optimal keasaman atau pH digambarkan sebagai keberadaan ion hidrogen. Derajat keasaman (pH) berpengaruh terhadap kelarutan dan ketersediaan ion mineral sehingga mempengaruhi penyerapan nutrisi oleh sel (Gunawan, 2012). Rentang pH untuk kultur kebanyakan spesies alga adalah antara 7 - 9 dan rentang optimumnya antara 8,2 - 8,7 (Lavens dan Sorgeloos, 1996). Perubahan nilai pH yang signifikan dapat menghambat proses fotosintesis dan pertumbuhan mikroalga (Gunawan, 2012).

#### d. Nutrien

Mikroalga mendapatkan nutrisi dari air laut yang sudah mengandung nutrisi yang cukup lengkap. Nutrisi tersebut dibagi menjadi makronutrien dan mikronutrien, makronutrien meliputi nitrat dan posfat (Taw, 1990). 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. (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995).

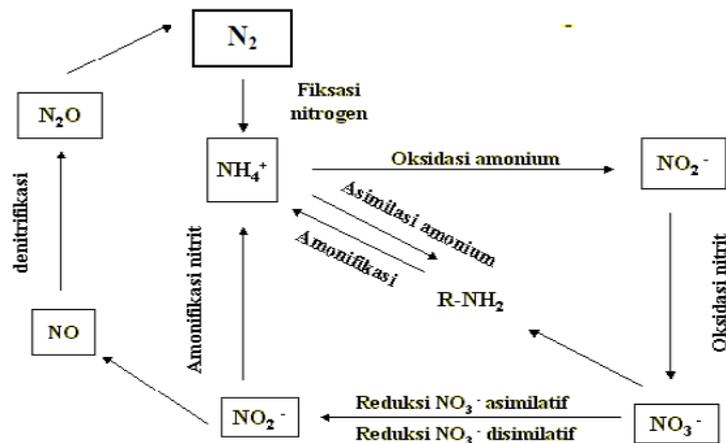
Nutrien berperan penting dalam pengaturan produksi, biomassa, dan keragaman spesies. Mikroalga membutuhkan makronutrien (nitrat dan posfat) dan mikronutrien (Fe, Zn, Mn, Cu, Mg, Mo, Co, B, dan vitamin) (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995; Taw, 1990). Keterbatasan nutrisi dapat menghambat dinamika pertumbuhan dan penurunan biomassa mikroalga (Reynolds, 2006)

## 2.4 Nitrogen

Nitrogen yang ditemui di perairan bukan dalam bentuk gas melainkan berupa nitrogen organik dan nitrogen anorganik. Nitrogen organik berupa protein, asam amino dan urea, sedangkan nitrogen anorganik terdiri atas ammonia ( $\text{NH}_3$ ), ammonium ( $\text{NH}_4$ ), nitrit ( $\text{NO}_2$ ), nitrat ( $\text{NO}_3$ ) dan molekul nitrogen dalam bentuk gas ( $\text{N}$ ). Nitrogen merupakan unsur yang tidak reaktif (sulit bereaksi dengan unsur lain) sehingga dalam penggunaan nitrogen pada makhluk hidup diperlukan berbagai proses, yaitu fiksasi nitrogen, mineralisasi, nitrifikasi, denitrifikasi (Campbell *et al.*, 2003).

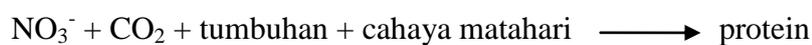
Siklus nitrogen adalah suatu proses konversi senyawa yang mengandung unsur nitrogen menjadi berbagai macam bentuk kimiawi yang lain. Siklus nitrogen sangat dibutuhkan dalam ekologi karena ketersediaan nitrogen dapat mempengaruhi tingkat proses ekosistem kunci, termasuk produksi primer dan dekomposisi. Nitrogen yang terdapat di lingkungan berbagai bentuk kimia termasuk nitrogen organik, amonium, nitrit, nitrat, dan gas nitrogen. Nitrogen organik dapat berupa organisme hidup, atau humus, dan dalam produk antara dekomposisi bahan organik atau humus yang dibentuk. Proses siklus nitrogen mengubah nitrogen dari satu bentuk kimia lain yang dibantu oleh mikroba baik untuk menghasilkan energi atau menumpuk nitrogen dalam bentuk yang dibutuhkan untuk pertumbuhan. Produk fotosintesis ini akan dikonsumsi oleh binatang dan mikroba yang hidup bebas. Bakteri yang membusuk mendapat energi dari memecah senyawa ini. Pemecahan tersebut membebaskan senyawa anorganik seperti nitrat yang merupakan nutrisi dasar. Siklus nitrogen menjadi kompleks karena banyak jenis bakteri yang berbeda memecah nitrogen. Beberapa

bakteri mengonsumsi zat organik terlarut atau perubahan senyawa organik ke zat anorganik, penggabungan nitrogen sehingga bakteri lain bisa mengikat molekul nitrogen ke dalam nutrisi nitrat yang lebih berguna. Sebaliknya, bakteri denitrifikasi mengubah nitrat ke dalam molekul nitrogen. Ketersediaan nitrogen membatasi aktivitas fotosintesis dalam air yang dingin (suhu air). Sebagian besar karena konversi nitrogen organik kembali ke nutrisi nitrat ketika pengonversian selesai, nitrat akan tenggelam dekat zona euphotik. Sekitar 48% gas terlarut di air laut adalah nitrogen, berbalik dengan kandungannya di atmosfer, sekitar 78% dari volume seluruhnya. Ketika nitrogen monoksida bercampur dengan hujan, akan membentuk cairan asam nitrit yang akan membunuh ikan (Campbell *et al.*, 2003). Siklus nitrogen ditampilkan pada Gambar 6.

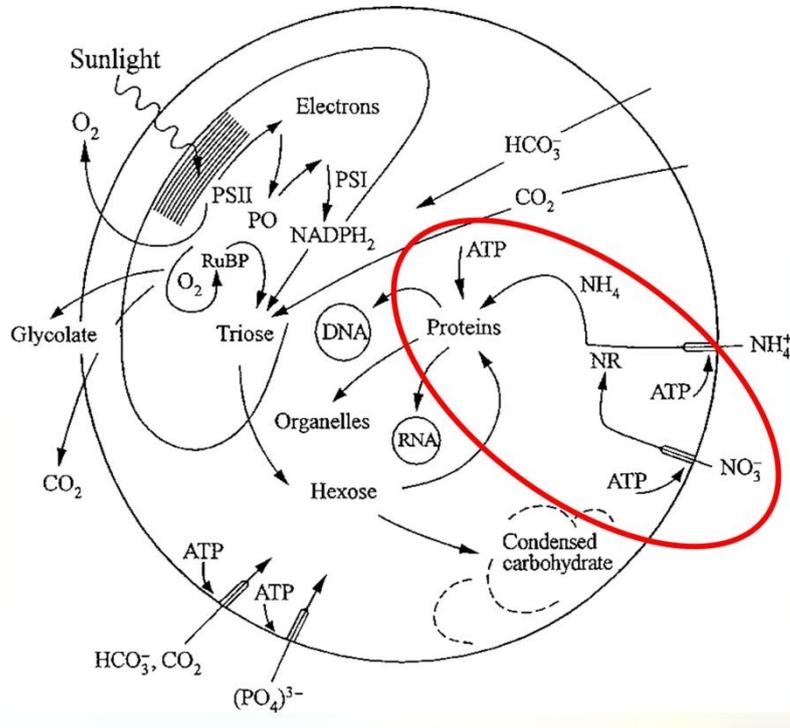


Gambar 6. Siklus Nitrogen (Sitaresmi, 2002 dalam Angraini, 2009)

Nitrat sebagai sumber nitrogen untuk penyusun protein pada tumbuhan diperoleh dari proses konversi. Proses tersebut dapat dilihat pada persamaan reaksi (Effendi, 2003).



Perubahan nitrat menjadi protein dalam tubuh fitoplankton diilustrasikan dalam Gambar 7.



Gambar 7. Proses perubahan nitrat menjadi protein (Reynolds, 2006)

Salah satu senyawa nitrogen yang penting bagi mikroalga adalah senyawa nitrat. Nitrat merupakan sumber nitrogen yang penting bagi fitoplankton baik di air laut maupun di air tawar (Taw, 1990). 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. Kadar nitrat – nitrogen pada perairan hampir tidak pernah lebih dari 0,1 mg/liter sehingga menggambarkan terjadinya eutrofikasi di perairan (Effendi, 2003).

Nitrogen merupakan salah satu unsur yang terpenting pada pertumbuhan fitoplankton sebagai penghasil asam amino dan penyusun protein (Campbell *et al.*, 2003; Suminto, 2009). Kandungan nitrogen yang tinggi dalam NaNO<sub>3</sub> pada media tumbuh fitoplankton dapat menghasilkan fitoplankton yang memiliki

kandungan protein yang tinggi (Suminto, 2009). Reynolds (2006) menjelaskan bahwa nitrogen merupakan unsur gas dibutuhkan dalam jumlah terbatas pada ekologi dan pertumbuhan fitoplankton setelah asam amino. Apabila fitoplankton mengalami kekurangan nitrogen dalam  $\text{NaNO}_3$  akan mengakibatkan rendahnya jumlah protein. Pada proses sintesis asam amino nitrogen diperlukan sebagai penyusun protein dalam sel (Colla *et al.*, 2005 *dalam* Suminto, 2009).