

Starvasi Nitrogen dan Pengaruhnya Terhadap Biomassa dan Protein Total *Nannochloropsis sp.*
(Nitrogen Starvation Effect on Biomass and Crude Protein of *Nannochloropsis sp.*)

Moh. Muhaemin, Practica F., Rosi Dona S., dan Tri Agustina

ABSTRAK

Pengurangan nitrogen anorganik sebagai nutrisi pada media kultur merupakan salah satu metode untuk mempersingkat fase eksponensial pada kultur mikroalga. Pengurangan nitrat anorganik pada media kultur *Nannochloropsis sp* hingga 50% dari konsentrasi normal pada media kultur Conwy ternyata mampu menurunkan kepadatan rata-rata (sel/ml) hingga 15,16 % dan menurunkan pula kandungan protein total 13,93 %. Fenomena tersebut mengindikasikan bahwa pengurangan nitrogen anorganik pada media kultur berdampak negatif pada kepadatan (sel/ml) dan kandungan protein total namun mampu mereduksi waktu kultur pada fase eksponensial mikroalga *Nannochloropsis sp.*

Kata kunci: Starvasi, nitrogen, biomassa, total protein, *Nannochloropsis sp*

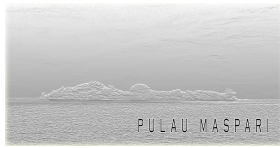
ABSTRACT

An-organic nitrogen starvation method in culture medium can reduce exponential phase in microalgae culture. That method, an-organic nitrogen reduction, could be applied in Nannochloropsis sp culture medium up to 50% of normal Conwy concentration. It could be reduce 15,16% cell density and 13,93% intracellular crude protein of Nannochloropsis sp. Those phenomena showed that an-organic nitrogen starvation in Nannochloropsis sp culture medium has negative effect on decreasing of cell density and intracellular crude protein, and possitive effect on reducing exponential phase of Nannochloropsis sp culture.

Keyword: starvasi, nitrogen, biomassa, protein total, *Nannochloropsis sp*

1. PENDAHULUAN

Mikroalga merupakan organisme air fotoautotropik uniseluler atau multiseluler, dan merupakan organisme mikroskopik yang membutuhkan nutrisi anorganik untuk proses fotosintesis (Biondi and Tredici, 2011). Mikroalga memiliki peranan penting dalam proses budidaya dan bernilai ekonomis tinggi mengingat fungsinya sebagai pakan alami bagi produksi masal zooplankton dan larva ikan. Harun *et.al.* (2010) menjelaskan bahwa mikroalga memiliki kandungan protein alami yang tinggi sehingga berpotensi menghasilkan berbagai macam produk seperti karotenoid, fikobilin, asam lemak, polisakarida, vitamin, sterol, enzim dan senyawa bioaktif lainnya. Selain itu



mikroalga mampu berperan sebagai agen bioremediasi beberapa jenis logam berat di perairan (Muhaemin, 2009). Hudaidah *et al* (2013) menyatakan bahwa *Nannochloropsis* mampu memproduksi lipid dan protein melebihi rata-rata pada kondisi mikrokultur tertentu. *Nannochloropsis* sp. merupakan salah satu jenis mikroalga yang umum dimanfaatkan sebagai pakan alami, terutama pada benih ikan. *Nannochloropsis* bahkan terindikasi mampu mereduksi tekanan lingkungan berupa salinitas dan nitrogen dengan memproduksi protein dan lipid intraseluler secara berlebihan (Muhaemin, 2011).

Fase awal pertumbuhan mikroalgae dapat digunakan untuk deteksi dini tingkat keberhasilan suatu metode monokultur mikroalgae. Deteksi dini dapat ditandai dengan singkatnya fase lag ataupun makin tingginya nilai rasio peningkatan jumlah populasi mikroalgae per satuan waktu pada fase eksponensial (Hudaidah *et al*, 2013). Kolinearitas pengaruh fluktuasi biomassa mikroalgae dan komponen biokimiawi intraseluler berupa protein bahkan belum diamati secara lebih baik. Muhaemin (2011) hanya mengindikasikan bahwa fluktuasi yang terjadi pada komponen biokimiawi tubuh dalam bentuk *crude lipid* diduga berkaitan erat dengan fluktuasi biomassa mikroalgae sebagai responnya terhadap perubahan kandungan nutrisi pada media kultur. Hudaidah *et al* (2013) menambahkan bahwa tekanan lingkungan spesifik berupa kekurangan unsur nitrogen (*nitrogen starvation*) pada media pemeliharaan dapat pula menyebabkan fluktuasi pada biomassa mikroalgae. Berbagai penelitian tersebut mengindikasikan bahwa modifikasi faktor lingkungan sangat mungkin dilakukan untuk mendapatkan kondisi kultur mikroalga yang optimal.

Modifikasi faktor lingkungan pada fase awal pertumbuhan biomassa mikroalgae sangat mungkin dilakukan untuk meminimalisir tingkat kegagalan kultur mikroalgae. Salah satu variabel lingkungan tersebut adalah senyawa nitrogen anorganik. Senyawa nitrogen anorganik merupakan salah satu senyawa makro nutrisi penting bagi mikroalgae (Muhaemin, 2010). Indikasi awal pengaruh keberadaan nitrogen anorganik spesifik terhadap konsentrasi senyawa biokimia biomassa total mikroalgae telah dideteksi (Brown *et al*, 1997; Del Campo *et al*, 2000; Hu dan Gao, 2006; Muhaemin, 2011;). Walaupun pengaruh beberapa variabel lingkungan lain terhadap pertumbuhan total biomassa mikroalgae telah dilakukan (Miron *et al*, 2002; Muhaemin, 2011; Hudaidah *et al*, 2013), namun detail respon spesifik biomassa pada fase-fase awal pertumbuhan belum diamati lebih jauh terutama yang berkaitan dengan keberadaan nitrogen anorganik secara spesifik pada fase awal pertumbuhan biomassa mikroalgae *Nannochloropsis*.

2. METODOLOGI

Penelitian dilaksanakan pada tanggal Januari-Maret 2014 bertempat di Laboratorium Budidaya Perikanan, Jurusan Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Biota kultur yang digunakan dalam penelitian adalah *Nannochloropsis* sp. yang berasal dari monokultur Balai Besar Pengembangan Budidaya Laut (BBPBL), Lampung.

Sterilisasi alat dilakukan dengan perendaman menggunakan larutan kaporit selama 1 hari dengan konsentrasi 100 ppm, lalu dibilas menggunakan air tawar. Alat-alat kultur yang akan digunakan telah dibilas disemprot dengan alkohol 70%, direbus selama 15 menit, dan dikeringkan. Air laut disterilisasi dengan penyinaran ultraviolet dan ozonisasi. Setelah ozonisasi, air dididihkan 2 kali (masing-masing 30 menit) untuk memastikan tidak ada organisme kontaminan.

Media pupuk yang digunakan sebagai pakan dalam kultur *Nannochloropsis sp.* adalah senyawa Conwy (Muhaemin, 2011) dengan rasio Conwy dan air laut adalah 1:1000. Komposisi nitrat anorganik yang diformulasikan pada pakan secara terpisah adalah 100 % dan 50% dari standar formulasi senyawa pada pupuk Conwy. Kondisi kultur mikroalgae *Nannochloropsis* secara spesifik seperti yang dilakukan oleh Muhaemin (2011). Pengujian sampel nitrat terlarut dan protein intraseluler total seperti yang dilakukan Hudaidah *et al* (2013).

Variabel penelitian meliputi pengukuran kepadatan sel dan kandungan protein intraseluler total biomassa mikroalgae *Nannochloropsis sp.* Pengambilan sampel dilakukan pada pada jam kultur ke- 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 18, 30, 42, dan 48. Masing-masing pengambilan sampel dilakukan sebanyak tiga kali yang berasal dari unit sampel yang berbeda pada tiap perlakuan. Data yang diperoleh selanjutnya dianalisis dengan menggunakan uji beda nilai tengah (uji-t; $\alpha=0,05$) dan model regresi linier yang bersesuaian (Steel dan Torrie, 1993).

$$S^2 = \frac{\left\{ \sum x_1^2 - \frac{(\sum x_1)^2}{n} + \sum x_2^2 - \frac{(\sum x_2)^2}{n} \right\}}{2(n-1)}$$

$$S_{x_1-x_2} = \sqrt{\frac{2S^2}{n}} \quad \text{dan} \quad t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{S_{(x_1-x_2)}} \quad ; \text{ dengan db}=2(n-1)$$

Analisis data juga mencakup penghitungan nilai koefisien regresi (r)

$$r = \frac{(n \sum xy) - (\sum x \sum y)}{\sqrt{[(n \sum x^2) - (\sum x)^2][n \sum y^2 - (\sum y)^2]}}$$

dan koefisien deterministik (R^2)

$$R^2 = (r)^2$$

keterangan :

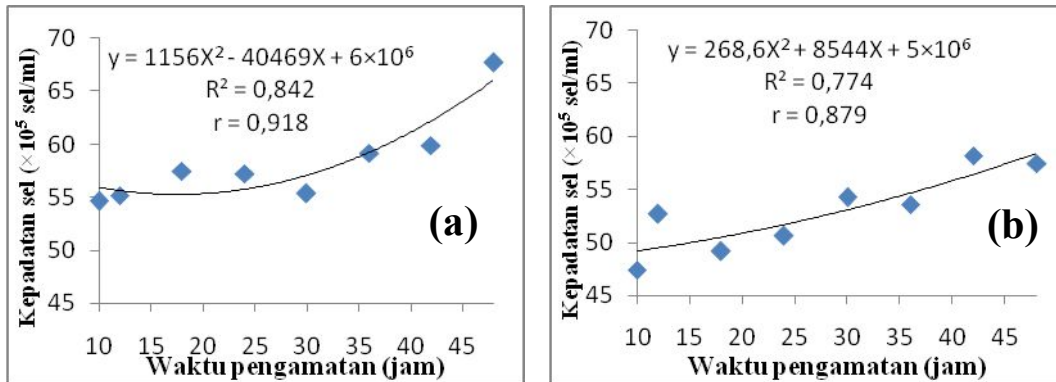
- X = variabel independen
- Y = variabel dependen
- a = koefisien regresi
- b = *intercept*
- n = jumlah sampel
- t = Koefisien t
- \bar{x} = rata-rata sampel
- S^2 = simpangan baku
- db = derajat bebas

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pertumbuhan *Nannochloropsis sp.*

Pertumbuhan sel *Nannochloropsis sp.* mengikuti pola eksponensial (Gambar 1). Nilai-nilai koefisien deterministik (R^2) yang $>0,77$ mengindikasikan bahwa pola model pertumbuhan eksponensial representatif untuk menggambarkan pertumbuhan pada *Nannochloropsis sp* tersebut. Nilai-nilai koefisien regresi (r) yang $>0,87$ mengindikasikan bahwa terdapat pola hubungan yang erat positif antara waktu dan

pertumbuhan atau kepadatan akan semakin meningkat dengan semakin bertambahnya waktu kultur.



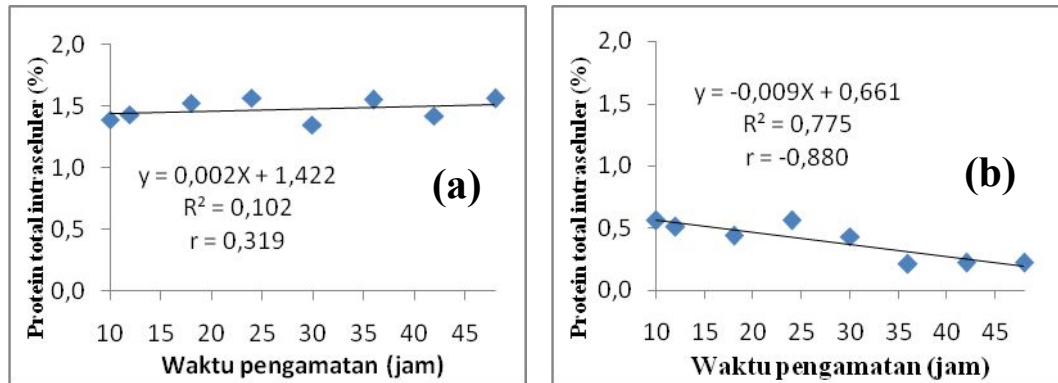
Gambar 1. Pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. (a) NaNO₃ 100%; (b) NaNO₃ 50%

Walaupun demikian, perbedaan pertumbuhan sel *Nannochloropsis* sp tampak nyata sebagai akibat pengurangan konsentrasi nitrat anorganik (NaNO₃) pada media kultur (Gambar 1a dan 1b). Pengurangan konsentrasi nitrat anorganik (NaNO₃) pada media kultur cenderung memberikan tekanan pada pertumbuhan *Nannochloropsis* sp yang ditunjukkan oleh makin melandainya kurva pertumbuhan. Pelandaian kurva akan berakibat pada penurunan kepadatan maksimum yang mampu dicapai oleh *Nannochloropsis* sp. Muhaemin (2011) mengungkapkan bahwa perubahan yang terjadi pada faktor lingkungan dapat menyebabkan fluktuasi kepadatan sel dan komposisi biokimiawi mikroalgae.

Hasil uji t terhadap nilai kepadatan (sel/ml) *Nannochloropsis* sp. pada kedua konsentrasi NaNO₃ menunjukkan hasil berbeda nyata dengan t hitung sebesar 2,92034 ($t_{\alpha=0,05}$ sebesar 2,145). Perbedaan tersebut menggambarkan bahwa pengurangan NaNO₃ memberikan pengaruh negatif terhadap kepadatan (sel/ml) *Nannochloropsis* sp. Hu dan Gao (2006) menyatakan bahwa fluktuasi kepadatan sel merupakan hasil respon spesifik mikroalgae terhadap perubahan faktor lingkungan di sekitarnya. Bahkan perubahan faktor lingkungan diluar rentang optimal bisa direspon negatif oleh mikroalgae, secara spesifik dengan menurunkan kepadatan sel. Brown *et al* (1997) menyatakan bahwa perubahan faktor lingkungan bahkan mampu mengubah proporsi karbohidrat, lemak, dan protein pada mikroalga kelompok diatom.

Kandungan Protein Total Intraseluler pada *Nannochloropsis* sp.

Perbedaan kandungan protein total intraseluler pada kedua perlakuan menunjukkan pola kecenderungan yang berbeda (Gambar 2). Penurunan kandungan NaNO₃ pada pupuk Conwy akan cenderung membatasi produksi protein total intraseluler pada *Nannochloropsis* sp. Pada kandungan NaNO₃ 100% (Gambar 2a), kandungan protein total intraseluler cenderung makin meningkat dengan semakin bertambahnya waktu kultur. Sedangkan pada kandungan NaNO₃ 50% (Gambar 2b), penambahan waktu kultur justru berdampak pada penurunan kandungan protein total intraseluler.



Gambar 2. Kandungan protein total intraseluler *Nannochloropsis sp.*
(a) NaNO₃ 100%; (b) NaNO₃ 50%

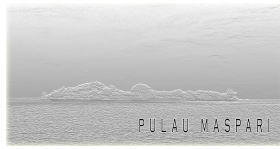
Uji t terhadap nilai tengah kandungan protein total intraseluler *Nannochloropsis sp.* pada kedua konsentrasi NaNO₃ menunjukkan hasil berbeda nyata dengan t hitung sebesar 17,3311 ($t_{\alpha=0,05}$ sebesar 2,145). Perbedaan tersebut mengindikasikan bahwa perubahan konsentrasi NaNO₃ pada pupuk Conwy yang diberikan akan berpengaruh nyata terhadap kandungan protein total intraseluler pada *Nannochloropsis sp.* Fenomena tersebut pun diungkapkan Muhaemin (2010) bahwa fluktuasi komponen biokimiawi intraseluler pada mikroalga laut *Dunaliella salina* cenderung dipengaruhi secara dominan oleh keberadaan dan keberlimpahan bahan baku penyusun komponen tersebut. Ramachandra *et al* (2011) menyatakan bahwa keberadaan nitrat dalam media kultur berkorelasi positif terhadap kepadatan (sel/ml) dan kandungan protein intraseluler pada mikroalga.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pengurangan NaNO₃ memberikan pengaruh negatif terhadap kepadatan (sel/ml), dan kandungan protein total intraseluler pada *Nannochloropsis sp.*

DAFTAR PUSTAKA

- Biondi, N. and M. Tredici. 2011. *Algae and Aquatic Biomass for a Sustainable Production of 2nd Generation Biofuels*. UNIFI. Page 148-150
- Brown, M.R., S.W. Jeffrey, J.K. Volkman, dan G.A Dunstan. 1997. Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquaculture*. 151: 315-331.
- Del Campo, J.A., Jose' M, Herminia R, M. A. Vargas , Joaqui'n R, M. G. Guerrero. 2000. Carotenoid content of chlorophycean microalgae: factors determining lutein accumulation in *Muriellopsis sp.* (Chlorophyta). *Journal of Biotechnology*. 76: 51-59.
- Fachrul, M.F., S.H. Ediyono, dan M. Wulandari. 2008. Komposisi dan Model Kemelimpahan Fitoplankton di Perairan Sungai Ciliwung, Jakarta. *Biodiversitas* Vol 9 No.4: 296-300.



- Harun, R., M. Singh, G.M. Forde, and M.K. Danquah. 2010. Bioprocess Engineering of Microalgae to Produce a Variety of Consumer Products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. Vol. 14: 1037–1047.
- Hu, H. dan K. Gao. 2006. Response of growth and fatty acid compositions of *Nannochloropsis* sp. to environmental factors under elevated CO₂ concentration. *Biotechnol Lett*. 28:987–992.
- Hudaidah, S., M. Muhaemin, T. Agustina. 2013. Strategy of *Nannochloropsis* Against Environment Starvation: Population Density and Crude Lipid Contents. *Maspari Journal: Marine Science Research*. Vol 5 No. 2: 64-68.
- Mirón A.S., M.C. Garc’ia, F.G. Camacho, E.M. Grima, dan Y. Chisti. 2002. Growth and biochemical characterization of microalgal biomass produced in bubble column and airlift photobioreactors: studies in fed-batch culture. *Enzyme and Microbial Technology*. 31: 1015–1023.
- Muhaemin, M. 2009. Cadmium Peptides Complexes in *Dunaliella salina* cells. *Journal of Coastal Development*. Vol. 13(1): 56-60.
- Muhaemin, M. 2010. Biomass Nutrient Profiles of Marine Microalgae *Dunaliella salina*. *Jurnal Penelitian Sains* Vol 13(3): 64-67.
- Muhaemin, M. 2011. Lipid Production of *Nanochloropsys* under Environment Stress. *Jurnal Penelitian Sains* Vol 14(3): 61-62.
- Muhaemin, M. 2011. Dynamic Response of Ultra Violet Absorbing in *Dunaliella* sp. *Maspari Journal: Marine Science Research* Vol 3(2): 20-23.
- Ramachandra, T.V., K. Sajina, dan G. Supriya. 2011. Lipid composition in microalgal community under laboratory and outdoor conditions. *Indian Journal of Science and Technology*. Vol. 4 No. 11: 1488-1496.
- Steel, R.G.D. dan J.H. Torrie. 1993. *Prinsip dan Prosedur Statistika: Suatu Pendekatan Biometrik*. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.