

4000006376



HADIAH

KESAN KEPEKATAN NITROGEN TERHADAP PERTUMBUHAN DAN  
KOMPOSISSI BIOKIMIA *Chaetoceros calcitrans*  
DI DALAM MEDIUM CONWAY

HUDA SYAZWANI BINTI MOHAMAD

TESISINI DIKEMUKAKAN UNTUK MEMENUHI SEBAHAGIAN DARIPADA  
SYARAT MEMPEROLEHI SARJANA MUDA SAINS (AKUAKULTUR)  
DENGAN KEPUJIAN

PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

PROGRAM AKUAKULTUR  
SEKOLAH SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

FEBRUARI 2005

PERPUSTAKAAN UMS



1400006376



UMS  
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

## UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

## BORANG PENGESAHAN STATUS TESIS@

JUDUL: KESAN KEPEKATAN NITROGEN TERHADAP PERTUMBUHANDAN KOMPOSISI BIOKIMIA Chaetoceros cultratus DI DALAM MEDIUM CONWAYIjazah: SARJANA MUDA SAINS (AKUAKULTUR) DENGAN KEPUJIANSESI PENGAJIAN: 2002 / 2005Saya HUDA SYAZWANI BT. MOHAMAD  
(HURUF BESAR)

mengaku membenarkan tesis (LPS/Sarjana/Doktor Falsafah)\* ini disimpan di Perpustakaan Universiti Malaysia Sabah dengan syarat-syarat kegunaan seperti berikut:

1. Tesis adalah hak milik Universiti Malaysia Sabah.
2. Perpustakaan Universiti Malaysia Sabah dibenarkan membuat salinan untuk tujuan pengajian sahaja.
3. Perpustakaan dibenarkan membuat salinan tesis ini sebagai bahan pertukaran antara institusi pengajian tinggi.
4. \*\*Sila tandakan (/)

SULIT

(Mengandungi maklumat yang berdarjah keselamatan atau kepentingan Malaysia seperti yang termaktub di dalam AKTA RAHSIA RASMI 1972)

TERHAD

(Mengandungi maklumat TERHAD yang telah ditentukan oleh organisasi/badan di mana penyelidikan dijalankan)

TIDAK TERHAD

Disahkan oleh

(TANDATANGAN PENULIS)

(TANDATANGAN PUSTAKAWAN)

Alamat Tetap: KG. PASIR PUTEH,  
21610 MERCHANT,  
TERENGGANU.EN. KENNEDY AARON AGUOL

Nama Penyelia

Tarikh: 1/4/2005Tarikh: 1/4/2005

CATATAN: \* Potong yang tidak berkenaan.

- \*\* Jika tesis ini SULIT atau TERHAD, sila lampirkan surat daripada pihak berkuasa/organisasi berkenaan dengan menyatakan sekali sebab dan tempoh tesis ini perlu dikelaskan sebagai SULIT dan TERHAD.

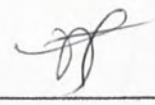
@ Tesis dimaksudkan sebagai tesis bagi Ijazah Doktor Falsafah dan Sarjana secara penyelidikan, atau disertasi bagi pengajian secara kerja kursus dan penyelidikan, atau Laporan Projek Sarjana Muda (LPSM).

UMS  
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

## PENGAKUAN

Saya akui karya ini adalah hasil kerja saya sendiri kecuali nukilan dan ringkasan yang setiap satunya telah dijelaskan sumbernya.

21 Februari 2005



HUDA SYAZWANI BINTI MOHAMAD

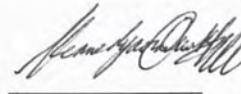
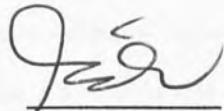
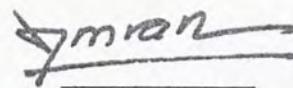
HS2002-4158



**UMS**  
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

**DIPERAKUKAN OLEH**

Tandatangan

**1. PENYELIA****( EN. KENNEDY AARON AGUOL )****2. KO-PENYELIA BERSAMA****( CIK ANNITA YONG )****3. PEMERIKSA****( EN. JULIAN RANSANGAN )****4. DEKAN****( PROF. MADYA DR. AMRAN AHMED )**

**UMS**  
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

## PENGHARGAAN

Dengan nama Allah yang maha pemurah lagi maha penyayang.

Bersyukur saya ke hadrat Ilahi kerana dengan berkat izin dan limpah kurniaNya, saya telah dapat menyiapkan projek ini dengan jayanya. Pertama sekali, ucapan terima kasih yang tidak terhingga saya tujukan kepada ibu Zaharah binti Yusof dan bapa Mohamad b. Hussen di atas berkat doa, dorongan serta sokongan padu sepanjang projek ini dijalankan. Sekalung penghargaan dan jutaan terima kasih saya tujukan kepada En. Kennedy Aaron Aguol selaku penyelia dan Cik Annita Yong selaku ko-penyselia di atas segala tunjuk ajar, panduan serta nasihat yang bermakna selama ini. Jutaan terima kasih juga ditujukan buat semua pensyarah kursus Akuakultur yang telah membekalkan ilmu dan panduan yang amat berguna selama ini. Tidak lupa juga ucapan terima kasih buat kakitangan Institut Penyelidikan Marin Borneo (IPMB) terutamanya pembantu makmal serta pelajar pasca siswazah yang sentiasa sudi menghulurkan bantuan yang diperlukan. Akhir sekali, sekalung budi buat semua teman seperjuangan terutamanya Ain Maisarah, Nur Firdaus, Aida Ilyani, Ilyana Sari, Nik Ili Hasyyati, Maziana Elyunie, Abdul Hakim dan Sofri di atas segala dorongan, bantuan dan idea yang telah disumbangkan. Segala bimbingan dan sokongan anda semua amatlah saya hargai dan sanjungi. Jasa baik kalian amat dihargai dan tidak akan saya lupakan.

Sekian, Terima Kasih.

## ABSTRAK

Kajian telah dijalankan bagi mengenalpasti kesan kepekatan nitrogen yang berlainan ke atas pertumbuhan dan komposisi biokimia *Chaetoceros calcitrans*. Media Conway dengan kepekatan nitrogen  $0.10\text{gmL}^{-1}$  adalah media kultur kawalan manakala empat media kultur rawatan disediakan dengan pertambahan kepekatan nitrogen sebanyak 50% bagi setiap rawatan iaitu  $0.15\text{gmL}^{-1}$ ,  $0.20\text{gmL}^{-1}$ ,  $0.25\text{gmL}^{-1}$  dan  $0.30\text{gmL}^{-1}$ . Pengiraan sel dengan menggunakan hemasiatometer dilakukan pada setiap hari untuk menentukan kadar pertumbuhan dan populasi sel di dalam setiap media kultur. Analisis klorofil- $\alpha$  dilakukan untuk menentukan tahap produktiviti sel. Analisis biokimia dijalankan untuk menentukan kandungan protein, lipid, abu dan bahan organik di dalam sel. Apabila dikultur di dalam media yang mengandungi kepekatan nitrogen yang lebih tinggi, sel *C. calcitrans* menunjukkan ketumpatan populasi dan kadar produktiviti yang lebih tinggi. Kesan nitrogen ke atas kandungan protein, lipid, abu dan bahan organik tidak dapat dipastikan dengan jelas. Kandungan biokimia sel bagi setiap rawatan juga tidak menunjukkan perbezaan yang bererti di antara satu sama lain. Kesimpulan daripada kajian ini menunjukkan peningkatan kepekatan nitrogen meningkatkan kadar pertumbuhan sel tetapi tidak membawa kesan yang ketara ke atas komposisi biokimia sel *C. calcitrans*. Media dengan kepekatan nitrogen sebanyak  $0.30\text{gmL}^{-1}$  adalah optimal untuk pertumbuhan sel tetapi bagi komposisi biokimia di dalam sel, media dengan kepekatan nitrogen  $0.10\text{gmL}^{-1}$  adalah memadai memandangkan peningkatan kepekatan nitrogen tidak mendorong perbezaan bererti terhadap kandungan biokimia di dalam sel.

## ABSTRACT

Study was conducted to determine the effects of different concentration of nitrogen on the growth and biochemical composition of *Chaetoceros calcitrans*. Conway medium with  $0.10\text{gmL}^{-1}$  of nitrogen was used as control medium while four treatment culture mediums were prepared with 50% increase of nitrogen for each treatment, which were  $0.15\text{gmL}^{-1}$ ,  $0.20\text{gmL}^{-1}$ ,  $0.25\text{gmL}^{-1}$  and  $0.30\text{gmL}^{-1}$ . Cell counting was done everyday using haemacytometer to estimate the population density and growth rate of cells in each culture medium. Chlorophyll-*a* analysis was done to determine the productivity rate of cells. Biochemical analysis was done to determine the cellular content of protein, lipid, ash and organic matter. When cultured in medium of higher nitrogen concentration, the cells of *C. calcitrans* gained higher population density and showed higher productivity rate. For the biochemical analysis, effect of nitrogen on protein, lipid, ash and organic matter cannot be defined clearly. Cellular biochemical content for each treatment did not vary significantly from one another. It can be concluded that increase of concentration of nitrogen increased the growth rate of *C. calcitrans*, however the cellular biochemical content was not significantly affected. Medium with  $0.30\text{gmL}^{-1}$  of nitrogen is optimal for cell growth, but for the cellular biochemical composition, medium with  $0.10\text{gmL}^{-1}$  of nitrogen is sufficient as increase of nitrogen concentration did not bring significant effect on the cellular biochemical content.

## KANDUNGAN

Muka Surat

HALAMAN JUDUL	i
PENGAKUAN	ii
PENGESAHAN	iii
PENGHARGAAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
SENARAI KANDUNGAN	vii
SENARAI JADUAL	x
SENARAI RAJAH	xi
SENARAI FOTO	xii
SENARAI SIMBOL	xiii
 <b>BAB 1 PENDAHULUAN</b>	 1
1.1 PENGENALAN	1
1.1.1 Pengenalan Kepada Akuakultur	1
1.1.2 Pengenalan Kepada Mikroalga	2
1.1.3 Nilai Pemakanan Mikroalga	3
1.1.4 Pengenalan Kepada Diatom ( <i>Bacillariophycae</i> )	5
1.1.5 Pengenalan Kepada <i>Chaetoceros calcitrans</i>	7
1.1.6 Kepentingan Nitrogen Kepada <i>Chaetoceros calcitrans</i>	8
1.2 OBJEKTIF KAJIAN	9
 <b>BAB 2 ULASAN PERPUSTAKAAN</b>	 10
2.1 PENGELASAN DAN TABURAN ALGA	10
2.2 KOMPOSISI KIMIA DALAM SEL ALGA	11



2.3	KESAN FAKTOR-FAKTOR PERSEKITARAN TERHADAP PERTUMBUHAN <i>Chaetoceros calcitrans</i>	12
2.3.1	Suhu	12
2.3.2	Nilai pH dan Saliniti	12
2.3.3	Keamatan Cahaya	13
2.4	DINAMIK PERTUMBUHAN FITOPLANKTON	13
<b>BAB 3 METODOLOGI</b>		16
3.1	SAMPEL SPESIES KAJIAN	16
3.2	PENYEDIAAN MEDIA KULTUR	16
3.3	REKA BENTUK KAJIAN	18
3.3.1	Proses Pengkulturan <i>Chaetoceros calcitrans</i>	18
a.	Penyediaan Kultur Stok	18
b.	Pengkulturan Untuk Eksperimen	19
3.3.2	Pengiraan Sel Alga	22
3.3.3	Analisis Kandungan Nutrien Dalam Sel Alga	23
a.	Analisis Kandungan Kelembapan	23
b.	Analisis Protein	24
c.	Analisis Lipid	25
d.	Analisis Kandungan Abu	26
e.	Analisis Kandungan Bahan Organik	28
f.	Analisis Kandungan Klorofil- <i>a</i>	28
3.3.4	Analisis Statistikal	31
<b>BAB 4 KEPUTUSAN DAN ANALISIS DATA</b>		32
4.1	KADAR PERTUMBUHAN SEL	32
4.2	KANDUNGAN KLOROFIL- <i>a</i>	35
4.3	KOMPOSISI BIOKIMIA	36
4.3.1	Kandungan Kelembapan	36
4.3.2	Kandungan Protein Menyeluruh	37

4.3.3 Kandungan Lipid Menyeluruh	39
4.3.4 Kandungan Abu	41
4.3.5 Kandungan Bahan Organik	42
4.3.6 Analisis Proksimat Keseluruhan	44
<b>BAB 5 PERBINCANGAN</b>	<b>46</b>
5.1 KADAR PERTUMBUHAN SEL	46
5.2 KANDUNGAN KLOROFIL- <i>a</i>	48
5.3 KOMPOSISI BIOKIMIA	48
5.3.1 Kandungan Kelembapan	48
5.3.2 Kandungan Protein Menyeluruh	49
5.3.3 Kandungan Lipid Menyeluruh	49
5.3.4 Kandungan Abu	50
5.3.5 Kandungan Bahan Organik	51
5.3.6 Analisis Proksimat Keseluruhan	51
<b>BAB 6 KESIMPULAN DAN CADANGAN</b>	<b>53</b>
6.1 KESIMPULAN	53
6.2 CADANGAN	55
<b>RUJUKAN</b>	<b>56</b>
<b>LAMPIRAN</b>	<b>64</b>



## SENARAI JADUAL

No. Jadual		Muka Surat
Jadual 3.1	Jenis rawatan perlakuan yang digunakan di dalam eksperimen beserta kod	21
Jadual 3.2	Penyediaan larutan untuk penentuan daya serapan spektrofotometer bagi penentuan kandungan protein	25
Jadual 4.1	Ketumpatan sel <i>Chaetoceros calcitrans</i> di dalam media kultur dengan kepekatan nitrogen yang berbeza	33
Jadual 4.2	Purata ketumpatan sel bagi setiap hari	34
Jadual 4.3	Purata kandungan klorofil-a ( $\pm$ sisihan piawai) di dalam sel <i>Chaetoceros calcitrans</i> yang dikultur di dalam media dengan kepekatan nitrogen yang berbeza	35
Jadual 4.4	Purata peratus kandungan kelembapan ( $\pm$ sisihan piawai) di dalam sel <i>Chaetoceros calcitrans</i> yang dikultur di dalam media dengan kepekatan nitrogen yang berbeza	37
Jadual 4.5	Purata peratus kandungan protein menyeluruh ( $\pm$ sisihan piawai) di dalam sel <i>Chaetoceros calcitrans</i> yang dikultur di dalam media dengan kepekatan nitrogen yang berbeza	38
Jadual 4.6	Purata peratus kandungan lipid menyeluruh ( $\pm$ sisihan piawai) di dalam sel <i>Chaetoceros calcitrans</i> yang dikultur di dalam media dengan kepekatan nitrogen yang berbeza	40
Jadual 4.7	Purata peratus kandungan abu ( $\pm$ sisihan piawai) di dalam sel <i>Chaetoceros calcitrans</i> yang dikultur di dalam media dengan kepekatan nitrogen yang berbeza	41
Jadual 4.8	Purata peratus kandungan bahan organik ( $\pm$ sisihan piawai) di dalam sel <i>Chaetoceros calcitrans</i> yang dikultur di dalam media dengan kepekatan nitrogen yang berbeza	43
Jadual 4.9	Analisis proksimat bagi <i>Chaetoceros calcitrans</i> berdasarkan berat basah ( $\pm$ sisihan piawai) yang dikultur di dalam media dengan kepekatan nitrogen yang berbeza	45



## SENARAI RAJAH

No. Rajah		Muka Surat
Rajah 2.1	Lima fasa pertumbuhan fitoplankton	15
Rajah 3.1	Grid-grid untuk pengiraan sel pada hemasiatometer yang dilihat di bawah mikroskop	23
Rajah 4.1	Lengkung pertumbuhan <i>Chaetoceros calcitrans</i> di dalam media kultur dengan kepekatan nitrogen yang berbeza	33
Rajah 4.2	Purata kandungan klorofil- <i>a</i> ( $\pm$ sisisian piawai) di dalam sel <i>Chaetoceros calcitrans</i> yang dikultur di dalam media dengan kepekatan nitrogen yang berbeza	36
Rajah 4.3	Purata kandungan kelembapan ( $\pm$ sisisian piawai) di dalam sel <i>Chaetoceros calcitrans</i> yang dikultur di dalam media dengan kepekatan nitrogen yang berbeza	37
Rajah 4.4	Purata peratus kandungan protein menyeluruh ( $\pm$ sisisian piawai) di dalam sel <i>Chaetoceros calcitrans</i> yang dikultur di dalam media dengan kepekatan nitrogen yang berbeza	39
Rajah 4.5	Purata peratus kandungan lipid menyeluruh ( $\pm$ sisisian piawai) di dalam sel <i>Chaetoceros calcitrans</i> yang dikultur di dalam media dengan kepekatan nitrogen yang berbeza	40
Rajah 4.6	Purata peratus kandungan abu ( $\pm$ sisisian piawai) di dalam sel <i>Chaetoceros calcitrans</i> yang dikultur di dalam media dengan kepekatan nitrogen yang berbeza	42
Rajah 4.7	Purata peratus kandungan bahan organik ( $\pm$ sisisian piawai) di dalam sel <i>Chaetoceros calcitrans</i> yang dikultur di dalam media dengan kepekatan nitrogen yang berbeza	43
Rajah 4.8	Analisis proksimat berdasarkan berat basah ( $\pm$ sisisian piawai) bagi <i>Chaetoceros calcitrans</i> yang dikultur di dalam media dengan kepekatan nitrogen yang berbeza	45



## SENARAI FOTO

No. Foto		Muka Surat
Foto 3.1	Pengkulturan <i>Chaetoceros calcitrans</i> di dalam makmal	20
Foto 3.2	Pengkulturan <i>Chaetoceros calcitrans</i> di luar makmal	20
Foto 3.3	Alat pam vakum yang digunakan untuk pengekstrakan sampel kultur	21
Foto 3.4	Alat ekstraksi Soxhlet yang digunakan dalam analisis kandungan lipid	26
Foto 3.5	Alat relau yang digunakan dalam analisis kandungan abu	27
Foto 3.6	Alat pengemparan yang digunakan untuk pengemparan sampel	29
Foto 3.7	Alat spektrofotometer yang digunakan untuk mengukur daya serapan pada pelbagai gelombang	30



## SENARAI SIMBOL

ppt	bahagian per ribu (part per thousand)
%	peratus
$\mu\text{m}$	mikrometer
$\alpha$	alfa
$\beta$	beta
$\text{mg g}^{-1}$	miligram per gram
$^{\circ}\text{C}$	darjah celcius
mL	mililiter
psi	paun per inci persegi (pound per square inch)
lux	unit cahaya
L	liter
rpm	revolusi per minit (revolutions per minute)
nm	nanometer
$\text{mg m}^{-3}$	miligram per meter padu
$\text{gmL}^{-1}$	gram per mililiter
g	gram
$\text{mgL}^{-1}$	miligram per liter
=	bersamaan dengan
>	lebih besar daripada
<	lebih kecil daripada



## **BAB 1**

### **PENDAHULUAN**

#### **1.1 PENGENALAN**

##### **1.1.1 Pengenalan Kepada Akuakultur**

Akuakultur secara ringkasnya didefinisikan sebagai penternakan haiwan dan tumbuhan akuatik yang berguna kepada manusia, dan aktiviti ini melibatkan aspek seni, sains dan perniagaan. Akuakultur boleh diklasifikasikan kepada pelbagai kategori. Berdasarkan persekitaran akuatiknya akuakultur dikategorikan sebagai akuakultur air tawar (saliniti 0), akuakultur air payau (saliniti 1-10 ppt) dan marikultur (saliniti 28-35 ppt). Bekalan benih yang berkualiti tinggi serta sistem pemakanan yang kos-efektif tergolong di antara faktor-faktor yang menentukan kejayaan di dalam kegiatan akuakultur. Dalam konteks ini, sistem pemakanan menggunakan makanan hidup merupakan sistem yang lebih kos-efektif berbanding penggunaan diet tiruan kerana tidak memerlukan perbelanjaan yang terlalu tinggi di samping mampu membekalkan zat yang diperlukan untuk tumbesaran benih. ‘Sistem Kultur Aliran Alga Berterusan’ adalah satu fasiliti yang telah dibuktikan



berjaya dalam penternakan organisma akuakultur kerana sistem ini memastikan sel alga mengandungi komposisi lengkap asid lemak tak tepu (HUFA) yang penting untuk penghasilan moluska, krustasia dan ikan yang sihat (Saleem dan Ridzwan, 2000).

### **1.1.2 Pengenalan Kepada Mikroalga**

Lebih kurang 80% daripada organisma marin, sama ada vertebrata dan invertebrata, mempunyai kitar hidup dua fasa dan menghasilkan larva planktonik yang mengambil tempoh masa untuk berkembang di dalam kolumn air sebelum bermorfosis ke bentuk dewasa. Berbeza dengan majoriti spesies organisma dewasa, larva planktonik ini terapung secara bebas di permukaan air dan memerlukan pemakanan yang berbeza. Majoriti daripada larva marin tersebut bersifat mikroskopik dan memerlukan bahan makanan yang sesuai iaitu bersaiz kecil dan senang dimakan di samping berupaya membekalkan nutrien dan zat yang diperlukan untuk tumbesaran (Thorson, 1964).

Di dalam akuakultur, mikroalga digunakan sebagai makanan hidup untuk larva atau peringkat juvenil awal bagi abalon, krustasia dan sesetengah spesies ikan. Selain itu, mikroalga turut menjadi makanan kepada semua peringkat tumbesaran moluska bivalvia dan juga untuk zooplankton yang digunakan dalam rantai makanan di dalam akuakultur. Sejak berdekad-dekad yang lalu, beberapa ratus spesies mikroalga telah dikaji sebagai makanan, tetapi lebih kurang 20 spesies sahaja yang digunakan secara meluas di dalam akuakultur (Brown, 2002).

Mikroalga terdiri daripada satu kumpulan organisma yang bersifat fotosintetik dan heterotrofik yang mempunyai potensi besar untuk pengkulturan sebagai sumber tenaga. Sesetengah mikroalga adalah efektif dalam penghasilan hidrogen dan oksigen melalui proses biofololisis serta penghasilan hidrokarbon secara anabolik. Kajian terhadap mikroalga boleh dilakukan dengan mudah di dalam makmal di mana ia secara efektifnya dapat menggabungkan isotop-isotop yang stabil ke dalam biojisimnya dan ini menyebabkan kajian genetik dan metabolismik dapat dilakukan dengan berkesan dalam masa yang singkat. Mikroalga mewakili suatu julat yang sangat besar dalam diversiti genetik dan boleh wujud sebagai unisel, koloni dan filamen panjang. Ia boleh dikultur di dalam persekitaran akuatik dari persekitaran air tawar sehingga ke persekitaran yang mempunyai saliniti yang sangat tinggi (Harold dan Wyne, 1978).

### **1.1.3 Nilai Pemakanan Mikroalga**

Mikroalga mestilah mempunyai sifat atau atribut yang berguna kepada spesies akuakultur, iaitu saiz yang bersesuaian, contohnya 1 hingga  $15\mu\text{m}$  untuk “filter feeders”; 10 hingga  $100\mu$  untuk “grazers” (Webb dan Chu, 1983; Jeffrey *et al.*, 1992; Kawamura *et al.*, 1998) serta mudah untuk dihadam. Mikroalga tersebut harus mempunyai kadar tumbesaran yang cepat, boleh dikultur secara besar-besaran, dan juga mempunyai kestabilan dalam kultur yang mengalami perubahan dalam suhu, cahaya dan nutrien seperti yang biasa berlaku dalam sistem hatceri. Satu lagi aspek penting ialah komposisi nutrien yang baik, termasuklah ketiadaan toksin yang mungkin dipindahkan melalui rantai makanan (Brown, 2002).

Nilai nutrisi bagi spesies mikroalga adalah berbeza-beza dan boleh juga berubah-ubah di bawah persekitaran kultur yang berlainan (Enright *et al.*, 1986; Brown *et al.*, 1997). Mikroalga yang telah dikenalpasti mempunyai kandungan nutrisi yang baik, sama ada sebagai monospesies atau dalam diet campuran termasuklah *Chaetoceros calcitrans*, *Chaetoceros muelleri*, *Pavlova lutheri*, *Isochrysis* sp., *Tetraselmis suecica*, *Skeletonema costatum* dan *Thalassiosira pseudonana* (Enright *et al.*, 1986; Thompson *et al.*, 1993; Brown *et al.*, 1997). Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi nilai nutrisi suatu mikroalga termasuklah saiz dan bentuk, kebolehhadaman (berkaitan dengan struktur dan komposisi dinding sel) dan komposisi biokimia seperti nutrien, enzim dan toksin. Mikroalga pada peringkat tumbesaran logaritmik akhir biasanya mengandungi 30 hingga 40% protein, 10 hingga 20% lipid dan 5 hingga 15% karbohidrat (Brown *et al.*, 1997; Renaud *et al.*, 1999).

Diketahui bahawa asid lemak tak tepu (PUFA) yang didapati daripada mikroalga, contohnya asid dokosaheksanoik (22:6 (n-3), DHA), asid eikosapentanoik (20:5 (n-3), EPA) dan asid arakidonik (20:4 (n-6), AA) adalah penting bagi pertumbuhan pelbagai spesies larva (Langdon dan Waldock, 1981; Sergeant *et al.*, 1997). Namun demikian, sesetengah penulis berpendapat bahawa diet dengan peratus lemak tepu yang tinggi adalah lebih baik bagi larva yang sedang pesat membesar berbanding lemak tak tepu kerana tenaga dilepaskan dengan lebih efisien daripada lemak tepu berbanding lemak tak tepu. Pada fasa logaritmik akhir, mikroalga dalam kelas Prymnesiophyceae mengandungi lemak tepu yang tertinggi (33%), diikuti oleh diatom dan Eustigmatophyceae (27%),

Prasinophyceae dan Chlorophyceae (23%) dan Cryptophyceae (18%) (Brown *et al.*, 1997). Kandungan lemak tepu di dalam mikroalga boleh dipertingkatkan dengan melakukan pengkulturan di bawah pencahayaan yang tinggi (Thompson *et al.*, 1993).

Kandungan vitamin juga berbeza-beza di antara spesies mikroalga di mana asid askobik menunjukkan variasi yang terbesar iaitu 1 hingga  $16\text{mg g}^{-1}$  berat kering (Brown dan Miller, 1992). Antara vitamin lain yang agak tinggi kandungannya di dalam sel mikroalga ialah  $\beta$ -karotin ( $0.5$ - $1.1\text{mg g}^{-1}$ ), niasin ( $0.11$ - $0.47\text{mg g}^{-1}$ ) dan  $\alpha$ -tokoferol ( $0.07$ - $0.29\text{mg g}^{-1}$ ) (Seguinéau *et al.*, 1996). Komposisi asid amino di antara spesies mikroalga adalah lebih kurang sama (Brown, 1991) dan secara relatifnya tidak dipengaruhi oleh fasa tumbesaran dan pencahayaan (Brown *et al.*, 1993). Sterol (Knauer *et al.*, 1999), mineral (Fabregas dan Herrero, 1986) dan pigmen (Ronnestad *et al.*, 1998) juga menyumbang kepada perbezaan nutrisi dalam mikroalga. Komposisi biokimia dalam mikroalga boleh diubah dengan mengubahsuai persekitaran kultur seperti komposisi dan kepekatan nutrien, keamatan cahaya, tempoh pencahayaan atau suhu (Brown *et al.*, 1989).

#### **1.1.4 Pengenalan Kepada Diatom (Bacillariophyceae)**

Diatom merupakan spesies mikroalga yang dianggap berjaya dalam penggunaannya sebagai makanan hidup dalam akuakultur. Diatom merupakan alga mikroskopik yang bersifat unisel dan adakalanya berkoloni atau berpseudofilamen (Werner, 1977; Ross, 1982). Pigmen-pigmen utama di dalam diatom adalah fukosantin,  $\beta$ -karotin, diadinoksantin dan diatoksantin, manakala makanan simpanan utama adalah lipid dan

krisolaminarin. Sel mempunyai satu nukleus dan mengandungi satu atau lebih kloroplas (South dan Whittick, 1987). Taksonomi diatom adalah berdasarkan bentuk dan struktur injap-injap bersilika yang terdapat padanya. Menurut Shamsudin (1990), diatom merupakan alga unisel yang mempunyai dinding sel yang terbina daripada silikon dioksida. Diatom terbahagi kepada dua kumpulan iaitu diatom sentrik yang bersifat simetri secara radial dan diatom pennat yang bersifat simetri secara bilateral.

Diatom sentrik melakukan pembiakan seksual secara oogami manakala diatom pennat menghasilkan gamet-gamet ameboid sama dari segi morfologi tetapi mungkin berbeza dari segi fisiologi (Amspoker dan Czarnecki, 1982). Dalam pembiakan aseksual, pembahagian sel berlaku dan setiap injap induk akan membentuk separuh bahagian sel anak. Sel anak yang menerima injap induk bahagian atas adalah serupa dengan induk dari segi saiz, manakala sel anak yang lain bersaiz lebih kecil. Penyusutan saiz yang berterusan dihentikan apabila sel-sel kecil membentuk auksospora untuk mengembangkan saiz asalnya (Werner, 1977).

Diatom memainkan peranan penting untuk kegiatan akuakultur dan kualiti air. Apabila diatom mati, ia tenggelam dan membentuk mendapan bumi berdiatom, yang digunakan untuk penyediaan produk komersial seperti detergen, baja dan juga petroleum (South dan Whittick, 1987). Allen dan Nelson (1910) adalah mereka yang pertama membiakkan spesies diatom dalam kultur berterusan dan menggunakan untuk mengkultur larva-larva ekinoderma, moluska dan kopepod. *Chaetocerus calcitrans* (Imai dan Hatanaka, 1950), *Thalassiosira pseudonana* (Guillard dan Ryther, 1962) dan

*Skeletonema costatum* telah digunakan secara intensif dan spesies diatom ini telah pun terbukti sebagai kultur-kultur unialga yang baik (Walne, 1970).

### 1.1.5 Pengenalan Kepada *Chaetoceros calcitrans*

*Chaetoceros* sp. secara umumnya adalah sejenis fitoplankton unisel dan diatom berbentuk segiempat dengan empat akantha (flagella) panjang pada setiap penjurunya. *Chaetoceros* sp. bersifat tidak motil iaitu tidak bergerak. Tumbesaran sel dan pembiakan *Chaetoceros* sp. berlaku melalui pembahagian kepada dua sel iaitu meiosis. *Chaetoceros* sp. mengandungi asid lemak tak tepu (HUFA) dan vitamin yang seimbang. Dua struktur penting bagi *Chaetoceros* sp. ialah frustul dan seta, di mana frustul terdiri daripada bahan-bahan binaan silika yang lemah (Shamsudin, 1990). Secara kimianya, silika ialah kuarzit ( $\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ) dan terdiri daripada elemen-elemen surih seperti aluminium, magnesium, ferum dan titanium (Lewin, 1962). ‘Kulit’ yang mengelilingi frustul terdiri daripada asid amino dan gula (Hecky *et al.*, 1973). Semua spesies *Chaetoceros* sp. disifatkan mempunyai kadar toleran dengan suhu air yang tinggi.

*Chaetoceros calcitrans* merupakan suatu diatom sentrik yang tidak membentuk rantaian atau koloni. Spesies ini bewarna perang keemasan dan berbentuk segiempat dengan dimensi 3 hingga  $7\mu\text{m}$ . Spesies ini penting dalam penghasilan asid-asid lemak penting seperti EPA, AA dan juga DHA (Napolitano *et al.*, 1990). Spesies ini tergolong di antara spesies mikroalga yang mempunyai nilai nutrisi yang tinggi dan hayat simpanan yang terbaik (McCausland, 1999). *C. calcitrans* biasanya menjadi pilihan sebagai

makanan hidup berbanding spesies lain seperti ini seperti *Isochrysis galbana* disebabkan kelebihan dari segi nutrisi iaitu kandungan asid lemak tak tepu (HUFA) yang tinggi dan kadar pertumbuhan yang cepat dan pesat (Phatarpekar, 1999). Menurut Brown (1991), berdasarkan berat kering, *C. calcitrans* mengandungi 3.01% klorofil-a, 34% protein, 6% karbohidrat dan 16% lipid.

### 1.1.6 Kepentingan Nitrogen Kepada *Chaetoceros calcitrans*

Nitrogen wujud dalam tiga bentuk asas iaitu gas nitrogen bebas dan komposisi organik dan inorganik. Nitrogen yang telah diasimilasikan boleh disimpan sebagai nitrat, ammonium atau komponen organik berjisim molekular rendah yang digunakan untuk tumbesaran pada masa hadapan. Kekurangan nitrogen akan merendahkan kadar tumbesaran yang diekspresikan sebagai tempoh generasi dan kadar fotosintetik (South dan Whittick, 1987). Corzo *et al.* (2002) mendapati bahawa pengkulturan *C. calcitrans* dengan limitasi nitrogen,  $\text{NO}_3^-$  akan menyebabkan kepekatan karbohidrat menurun secara mendadak ketika fasa pegun walaupun kepekatananya adalah tinggi dalam fasa eksponen. Melalui kajian yang dijalankan oleh Utting (1985), apabila dikultur di dalam media yang kekurangan nutrien, kandungan protein akan merosot manakala kandungan lipid dan karbohidrat akan meningkat. Dalam kajian ini, mikroalga *C. calcitrans* akan dikultur dengan menggunakan media Conway di mana kepekatan nitrogen yang berbeza-beza digunakan.

## 1.2 OBJEKTIF KAJIAN

Terdapat tiga objektif bagi kajian ini iaitu:

1. Menentukan kuantiti nitrogen yang optimal untuk tumbesaran *C. calcitrans*.
2. Mengkaji kesan kepekatan nitrogen ke atas tumbesaran *C. calcitrans*.
3. Membuat analisis ke atas kandungan klorofil-*a* dan komposisi biokimia *C. calcitrans* yang dikultur dengan kepekatan nitrogen yang berbeza.

## BAB 2

### ULASAN PERPUSTAKAAN

#### 2.1 PENGELASAN DAN TABURAN ALGA

Diatom adalah tumbuhan unisel yang mempunyai saiz mikroskopik iaitu di antara  $5\mu\text{m}$  hingga  $500\mu\text{m}$ . Ia juga tergolong dalam kumpulan tumbuhan terbesar yang disebut alga. Alga yang telah dikenalpasti berbeza-beza di antara satu sama lain dari segi bentuk, warna, tabiat dan habitatnya. Alga terbahagi kepada sembilan filum iaitu Cyanophyta (alga prokariot, biru-hijau), Chlorophyta (alga eukariot, hijau), Crysophyta (alga kuning-hijau), Euglenophyta, Cryptophyta, Pyrophyta, Rhodophyta (alga merah), Phaeophyta (alga perang) dan Chloromonadophyta. Filum Chrysophyta dibahagikan kepada empat kelas iaitu Xanthophyceae, Chrysophyceae, Haptophyceae dan Bacillariophyceae. Diatom tergolong dalam kelas Bacillariophyceae. Antara ciri-ciri kelas ini ialah berbentuk unisel, mengandungi pigmen-pigmen karotenoid, mempunyai membran sel yang terdiri daripada bahan-bahan silika, dan dapat menghasilkan bahan-bahan simpanan seperti krisos, krisolaminaria, leukosin dan minyak (Shamsudin, 1990). Pengelasan taksonomi *Chaetoceros calcitrans* adalah seperti berikut:

## RUJUKAN

- Allen, E.J. dan Nelson, E.W., 1910. On the artificial culture of marine plankton Organisms. *Journal of Marine Biology*. United Kingdom. 44-74.
- Amspoker, M.G. dan Czarnecki, D.B., 1982. *Bacillariophycae:Introduction and Bibliography*. Allen Press, Kansas.712-718.
- Association of Official Chemists (AOAC), 1995. *Official Method of Analysis*. USA.
- Brown, M. R., 1991. The amino acid and sugar composition of 16 species of microalgae used in mariculture. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. **145**, 79-99.
- Brown, M. R. dan Miller, K. A., 1992. The ascorbic acid content of eleven species of microalgae used in mariculture. *Journal of Applied Phycology*. **4**, 205-215.
- Brown, M. R., Dunstan, G. A., Jeffrey, S. W., Volkman, J. K., Barrett, S. M. dan LeRoi, J. M., 1993. The influence of irradiance on the biochemical composition of the prymnesiophyte *Isochrysis* sp. (clone T-ISO). *Journal of Phycology*. **29**, 601-612.
- Brown, M. R., Jeffrey, S. W., Volkman, J. K. dan Dunstan, G. A., 1997. Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquaculture*. **151**, 315-331.
- Brown, M. R., 2002. Nutritional value of microalgae for aquaculture. Dalam : Cruz-Suárez L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Gaxiola-Cortés, M. G., Simoes, N. (Eds.). Avances en Nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 3 al 6 de Septiembre del 2002. Cancún, Quintana Roo, México.

- Corzo, A., Morillo, J.A. dan Rodriguez, S., 2002. Production of transparent exopolymer particles (TEP) in cultures of *Chaetoceros calcitrans* under nitrogen limitation. *Aquatic Microbial Ecology*. 63-72.
- Enright, C. T., Newkirk, G. F., Craigie, J. S. dan Castell, J. D., 1986a. Growth of juvenile *Ostrea edulis* L. fed *Chaetoceros calcitrans* Schütt of varied chemical composition *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 96, 15–26.
- Enright, C. T., Newkirk, G. F. Craigie, J. S. dan Castell, J. D., 1986b. Evaluation of phytoplankton as diets for juvenile *Ostrea edulis* L. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 96, 1-13.
- Fabregas, J. dan Herrero, C., 1986. Marine microalgae as a potential source of minerals in fish diets. *Aquaculture*. 51, 237-243.
- Fogg, G.E., 1965. *Algal Cultures and Phytoplankton Ecology*, University of Wisconsin Press, Madison.
- Geldenhuys, D.J., Walmsley, R.D., Toerien dan D.F., 1988. Quality of algae material Production on a fertilizer-tap water medium in outdoor plastic-enclosed systems. *Aquaculture*. 68,157-164.
- Goldman, J.C., 1980. *Physiological aspects in algae mass cultures*. Dalam: Algae Biomass. (Shelef, G. dan Soeder, C.J., ed.). North-Holland Biomedical Press. 343-359.
- Guillard, R.R.L. dan Ryther, J.H., 1962. Studies on marine planktonic diatoms. 1. *Cyclotella nana* Hustedt, and *Detonula converfacea* (Cleve) Gran. *Can. J. Microbiol.* 8, 229-39.

- Guillard, R.R.L., 1983. Culture of Phytoplankton for feeding marine invertebrates. Dalam:*Culture of Marine Invertebrates Selected Reading*, Berg, C.J., Ed., Dowden, Hutchinson dan Ross. Stroudsburg, PA.108.
- Hansmann, E., 1979. Pigment Analysis. Dalam:Stein, J.R. (Ed.) *Handbook of Phycological Methods, Culture Methods and Growth Measurement*, Cambridge University Press, London. 359-368.
- Harold, B.C. dan Wyne, M.J., 1978. *Introduction to the Algae: Structure and Reproduction*. Prentice-Hall, New Jersey.
- Hecky, R.F., Mopper K., Kilham, P. dan Degens, E.T., 1973. The amino acid and sugar composition of diatom cell walls. *Marine Biology*. 323-331.
- Hostetter, H. dan Hoshaw, R.W., 1972. Asexual development patterns of the diatom *Stauroneis anceps*. *Jurnal of Pyhcology*. 8, 289.
- Imai, T. dan Hatanaka, M., 1950. Studies on marine non colored flagellates, *Monas sp.*, Favourite food of larvae of various marine animals. Preliminary research on cultural requirements. *Scientific Research Tohoku University*. 8, 304-54.
- James, C.S., 1995. *Analytical Chemistry of Foods*. Blackie Academic and Professional. London.
- Jeffrey, S. W., LeRoi, J-M. dan Brown, M. R., 1992. Characteristics of microalgal species for Australian mariculture. Dalam: G. L. Allan and W. Dall (Editors), *Proceedings of the National Aquaculture Workshops*. NSW Australia, April 1991. 164-173.

- Kawamura, T., Roberts, R. D., Nicholson dan C. M., 1988. Factors affecting the food value of diatom strains for post-larval abalone *Haliotis iris*. *Aquaculture*. **65**, 81-88.
- Knauer, J., Barrett, S. M., Volkman, J. K. dan Southgate, P. C., 1999. Assimilation of dietary phytosterols by Pacific oyster *Crassostrea gigas* spat. *Aquaculture Nutrition*. **22**, 257-266.
- Langdon, C.J. dan Walcock, M. J., 1981. The effect of algal and artificial diets on the growth and fatty acid composition of *Crassostrea gigas* spat. *Journal of the Marine Biological Association*. United Kingdom. **3**, 431-448.
- Lewin, R.A., 1962. Silification. *Physiology and Biochemistry of the Algae*. Academic Press, London. 445-455.
- Lewin, R.A., 1974. Biochemical Taxonomy. Dalam: Stewart, D.W.P. (Ed). *Algae Physiology And Biochemistry*. Blackwell, Oxford.1-39.
- Liao, I., Su, H.M. dan Lin, J.H., 1993. Larval foods for penaeid prawns. *CRC Handbook of Mariculture:Crustacean Aquaculture*. CRC Press, London. 29-60.
- Lowry, O.H., Rosebrough, A.L.F dan Randall, R.J., 1951. Protein measurement with Folin Reagent. *Journal of Biology and Chemistry*. 265-275.
- McCausland, M. A., Brown, M. R., Barrett, S. M., Diemar, J. A. dan Heasman, M.P., 1999. Evaluation of live and pasted microalgae as supplementary food for juvenile Pacific oysters (*Crassostrea gigas*). *Aquaculture*. 323-342.
- Mozafar, M., 1994. *Plant Vitamins-Agronomic, Physiological and Nutritional Aspects*. CRC Press, Boca Raton, FL, USA. 412.

Parson, T.R. dan Strickland, J.D.H., 1963. *A practical handbook of sea water analysis.* Bull. Fishery Research Bd., Canada.167-310.

Phang, S.M., Fatimah, M.Y., Matias, H.B. dan Zarina, A.K., 2000. Culture of microalgae using interstitial water extracted from shrimp pond bottom sediments. *Aquaculture.* Elsevier Science Limited. **201**, 263-270.

Phatarpekar, P.V., Sreepada, R.A., Pednekar,C dan Achuthanankutty, A.D., 1999. *A comparative study on growth performance and biochemical composition of mixed culture of Isochrysis galbana and chaetoceros calcitrans with monocultures.* National Institute of Oceonography, India.

Pohl, P. dan Zurheide, F., 1979. Fatty acid and lipid biosynthesis in marine algae, the control of their biosynthesis by environment factors. Dalam : Hope, H.A., Levring, T dan Tamaka, Y. (Eds). *Marine Algae in Pharmaceutical Science.* Water de Guzter, Berlin. 433-523.

Pomeranz, Y. dan Meloan, C.E., 1994. *Food Analysis: Theory and Practice.* Ed.3. Chapman and Hall. New York.

Prescott, G.W., 1968. *The Algae:Review.* Houghton Mifflin Company, Boston. 24-36.

Renaud, S. M., Thinh, L.V. dan Parry, D. L., 1999. The gross composition and fatty acid composition of 18 species of tropical Australian microalgae for possible use in mariculture. *Aquaculture.* 147-159.

Richardson, B., Schwertner, H.A. dan Wickline, H.E., 1969. Effect of nitrogen limitation on the growth and composition of unicellular algae. *Plant physiology.* 24:44.

- Ronnestad, I., Helland, S. dan Lie, O., 1998. Feeding *Artemia* to larvae of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) results in lower larval vitamin A content compared with feeding copepods. *Aquaculture*. 159-164.
- Ross, R., 1982. Bacillariophyceae. *Synopsis and Classification of Living Organisms*. McGraw-hill, New York. 95-101.
- Saleem, M. dan Ridzwan, A.R., 2000. *Sustainable Marine Aquaculture : Recent Developments With Special Reference To Southeast Asia*. Universiti Malaysia Sabah. 1-4, 41.
- Seguineau, C., Laschi-Loquerie, A., Moal, J. dan Samain, J. F., 1996. Vitamin requirements in great scallop larvae. *Aquaculture International*. 315–324.
- Semenenko, V.E. dan Zvereva, M.G., 1972. Comparative study on the modification of Photobiosynthesis direction in two *Chlorella* strains during decoupling of cellular Functions by extreme temperature. *Fiziol. Rast.* **19**, 229-238.
- Sergeant, J. R., McEvoy, L. A. dan Bell., J. G., 1997. Requirements, presentation and sources of polyunsaturated fatty acids in marine fish larval feeds. *Aquaculture*. **155**, 117-127.
- Shamsudin, L., 1990. *Diatom marin di perairan Malaysia*. Dewan Bahasa dan Pustaka. 34-171.
- Smith, L.L., Fox, J.M. dan Treece, G.D., 1993. Intensive Algae Culture Techniques. *CRC Handbook of Mariculture*, McVey, J.P. (Ed.). CRC Press, London. 3-13.
- South, G. R. dan Whittick, A., 1987. *Introduction to Phycology*. Blackwell Scientific Publications, Oxford.

- Spectorova, L.V., Goronkova, O.L., Nosova, L.P. dan Albits, P.N., 1982. High density culture of marine microalgae –promising items for mariculture. *Aquaculture*. **26**, 289-302.
- Spoehr, H.A. dan Milner, H.W., 1949. The chemical composition of *Chlorella* of environment condition. *Plant physiology*. **24**, 120-149.
- Tamiya, H., 1976. *Kinetic of growth of Chlorella with special reference to its dependence on quantity of available light and on temperature*. The Tokugawa Institute for Biological Research, Tokyo. 202-204.
- Thompson, P. A., Guo, M.X. dan Harrison, P. J., 1993. The influence of irradiance on the biochemical composition of three phytoplankton species and their nutritional value for larvae of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). *Marine Biology*. **117**, 259-268.
- Thorson, G., 1964. Light as an ecological factor in the dispersal and settlement of larvae of marine bottom invertebrates. *Ophelia*. **1**, 167-208
- Uutting, S.D., 1985. Influence of nitrogen availability on the biochemical composition of three unicellular marine algae of commercial importance. *Aquaculture Engineering*. Ministry of agriculture, United Kingdom.
- Vollenweider, R.A., 1974. *A manual on methods for measuring primary production in aquatic environments*. Blackwell Scientifics Publication, London. 67-92.
- Walne, P.R., 1970. Studies on food value of nineteen genera of algae to juvenile bivalves of the Genera *Ostrea*, *Crassostrea*, *Mircenaria* and *Mytilus*. *Fish. Invest. Ser.* **26**, 1-62.

Walne, P.R., 1974. Culture of bivalve molluscs. 50 years' experience at Conwy. *Fishing Nets*, Farnham. 173.

Webb, K. L. dan Chu, F. E., 1983. Phytoplankton as a food source for bivalve larvae.

Dalam: G. D. Pruder, C. J. Langdon and D. E. Conklin (Editor), *Proceedings of the Second International Conference on Aquaculture Nutrition: Biochemical and Physiological Approaches to Shellfish Nutrition*. Louisiana State University, Baton Rouge, LA. 272–291.

Werner, D., 1977. *The Biology of Diatoms*. Blackwell Scientific Publications, Oxford.