

**PENGARUH NUTRIEN, CAHAYA DAN  
TEKANAN PERSEKITARAN TERHADAP  
PERTUMBUHAN DAN FOTOSINTESIS PADA**

*Ulva reticulata*

**SITI HAJAR BINTI AHMAD**

**UNIVERSITI SAINS MALAYSIA**

**2016**

**PENGARUH NUTRIEN, CAHAYA DAN TEKANAN  
PERSEKITARAN TERHADAP PERTUMBUHAN DAN  
FOTOSINTESIS PADA *Ulva reticulata***

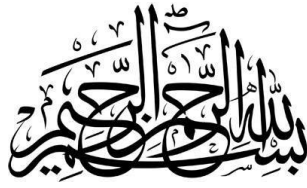
**Oleh**

**SITI HAJAR BINTI AHMAD**

**Tesis yang diserahkan untuk  
memenuhi keperluan bagi  
Ijazah Sarjana Sains**

**OGOS 2016**

## PENGHARGAAN



Alhamdulillah. Setinggi-tinggi kesyukuran ke hadrat Allah S.W.T kerana dengan izinnya dapat saya menyiapkan tesis ini. Semoga tesis ini dapat memberi sumbangan yang berguna kepada bidang penyelidikan.

Ucapan penghargaan dan terima kasih yang tidak terhingga kepada Prof. Madya Dr. Misni Surif yang banyak memberi tunjuk ajar, bimbingan, cadangan dan teguran membina sehingga tesis ini dapat disiapkan. Kesabaran beliau yang tinggi amat berharga buat saya sepanjang tempoh penghasilan tesis ini. Penghargaan juga diberikan kepada Pusat Pengajian Pendidikan Jarak Jauh (PPPJJ), Universiti Sains Malaysia (USM) yang menyalurkan bantuan kewangan bawah Skim Siswazah Pembantu dan Kementerian Pendidikan Malaysia yang menyalurkan bantuan pembiayaan yuran melalui Biasiswa MyBrain 15-MyMaster. Terima kasih juga diucapkan kepada Pusat Kajian Samudera dan Pantai (CEMACS), USM atas kerjasama dan bantuan sepanjang kajian dijalankan.

Akhir sekali, ucapan terima kasih yang tidak terhingga kepada bonda Rabiah binti Saud dan keluarga tersayang khususnya suami tercinta Asrul Afwan Abdullah yang banyak memberi galakan dan sokongan, anakanda Adam Harith dan Arya Husna serta rakan seperjuangan Hafizah, Shuhada, Asma, Mahadia, Sida, Syuhaila, Radiah, Bakar, Norsan, Jasrulkhairi dan Sharareh yang banyak membantu.

## KANDUNGAN

## Muka surat

<b>PENGHARGAAN</b>	ii
<b>KANDUNGAN</b>	iii
<b>SENARAI JADUAL</b>	vii
<b>SENARAI RAJAH.</b>	viii
<b>SENARAI PLAT</b>	xi
<b>SENARAI SINGKATAN KATA</b>	xii
<b>SENARAI SIMBOL</b>	xiii
<b>LAMPIRAN</b>	xiv
<b>ABSTRAK</b>	xv
<b>ABSTRACT</b>	xvii
<b>BAB SATU: PENGENALAN</b>	1
1.1 Pengenalan	1
1.2 Objektif	3
<b>BAB DUA: TINJAUAN BAHAN BACAAN</b>	4
2.1 Pengenalan	4
2.2 Ciri <i>Ulva</i>	6
2.2.1 <i>Ulva reticulata</i>	7
2.2.2 Kajian <i>Ulva reticulata</i> di Malaysia	7
2.2.3 Kegunaan <i>Ulva reticulata</i>	8
2.3 Faktor mempengaruhi pertumbuhan <i>Ulva</i>	9
2.3.1 Nutrien	9
2.3.1 (a) Nitrogen	10
2.3.1 (b) Fosforus	10
2.3.2 Cahaya	11
2.3.3 Tekanan persekitaran	12
2.4 Kepekatan klorofil	14
2.5 Kadar pengambilan nutrien	15
2.6 Kadar fotosintesis	18
<b>BAB TIGA: BAHAN DAN KAEDAH</b>	20
3.1 Kerja lapangan dan perolehan sampel	20
3.2 Aklimitasi sampel	21
3.3 Penyediaan air laut tiruan	21
3.4 Penentuan berat sampel dan kadar pertumbuhan	23
3.4.1 Penentuan berat basah	23
3.4.2 Penentuan berat kering: berat basah <i>Ulva reticulata</i>	23
3.4.3 Penentuan kadar pertumbuhan spesifik (KPS)	24
3.5 Penentuan kepekatan klorofil a & b	24
3.6 Penentuan kepekatan nutrien (nitrit, nitrat, ammonium dan fosfat)	25
3.6.1 Penentuan kepekatan ammonium	25
3.6.2 Penentuan kepekatan nitrit	27
3.6.3 Penentuan kepekatan nitrat	28

3.6.3 (a)	Penyediaan turus kadmium	28
3.6.3 (b)	Analisis nitrat	29
3.6.4	Penentuan kepekatan fosfat	29
3.7	Penentuan kadar pengambilan nutrien (ammonium, nitrat, fosfat)	31
3.8	Penentuan kadar fotosintesis	31
3.9	Analisis statistik	33
<b>BAB EMPAT: KAJIAN TERHADAP FAKTOR NUTRIEN: PENGAMBILAN NUTRIEN (N DAN P) DAN KESANNYA TERHADAP PERTUMBUHAN <i>Ulva reticulata</i></b>		34
4.1	Pendahuluan	34
4.2	Bahan dan Kaedah	36
4.2.1	Penentuan kadar pengambilan nutrien: ammonium, nitrat dan fosfat	36
4.2.1 (a)	Ammonium	36
4.2.1 (b)	Nitrat	36
4.2.1 (c)	Fosfat	37
4.2.2	Penentuan kesan jenis nutrien dan kombinasi nutrien terhadap kadar pengambilan nutrien, kadar pertumbuhan dan kepekatan klorofil a & b <i>Ulva reticulata</i>	39
4.2.3	Penentuan kesan kepekatan nitrat terhadap kadar fotosintesis, kepekatan klorofil a & b dan kadar pertumbuhan	41
4.3	Keputusan	42
4.3.1	Kadar pengambilan ammonium nitrat dan fosfat	42
4.3.2	Kesan jenis nutrien dan kombinasi nutrien terhadap kadar pengambilan nutrien, kepekatan klorofil a & b dan kadar pertumbuhan spesifik (KPS)	46
4.3.3	Kesan kepekatan nitrat terhadap kadar fotosintesis, kepekatan klorofil a & b dan kadar pertumbuhan spesifik (KPS)	54
4.4	Perbincangan	57
4.4.1	Kadar pengambilan ammonium, nitrat dan fosfat	57
4.4.2	Kesan jenis nutrien dan kombinasi nutrien terhadap kadar pengambilan nutrien, kepekatan klorofil a & b dan kadar pertumbuhan spesifik (KPS)	60
4.4.3	Kesan kepekatan nitrat terhadap kadar fotosintesis, kepekatan klorofil a & b dan kadar pertumbuhan spesifik (KPS)	65
4.5	Kesimpulan	67
<b>BAB LIMA: KAJIAN KESAN KEAMATAN CAHAYA DAN TEMPOH PENCAHAYAAN TERHADAP KADAR FOTOSINTESIS, KEPEKATAN KLOROFIL DAN KADAR PERTUMBUHAN SPESIFIK <i>Ulva reticulata</i></b>		68
5.1	Pendahuluan	68
5.2	Bahan dan Kaedah	70

5.2.1	Penentuan kadar fotosintesis <i>Ulva reticulata</i> pada keamatan yang berbeza berdasarkan kepada pembebasan oksigen	70
5.2.2	Kesan keamatan cahaya terhadap kepekatan klorofil a & b dan kadar pertumbuhan spesifik (KPS) <i>Ulva reticulata</i>	71
5.2.3	Kesan jangka masa pendedahan kepada cahaya (fotokala) terhadap kepekatan klorofil a & b dan kadar pertumbuhan spesifik <i>Ulva reticulata</i>	73
5.3	Keputusan	73
5.3.1	Kesan keamatan cahaya terhadap fotosintesis	73
5.3.2	Kesan keamatan cahaya terhadap kepekatan klorofil a & b dan kadar pertumbuhan spesifik (KPS) <i>Ulva reticulata</i>	74
5.3.3	Kesan jangka masa pendedahan kepada cahaya (fotokala) terhadap kepekatan klorofil a & b dan kadar pertumbuhan spesifik (KPS) <i>Ulva reticulata</i>	77
5.4	Perbincangan	79
5.4.1	Kesan keamatan cahaya terhadap fotosintesis	79
5.4.2	Kesan keamatan cahaya terhadap kepekatan klorofil a & b dan kadar pertumbuhan spesifik (KPS) <i>Ulva reticulata</i>	80
5.4.3	Kesan jangka masa pendedahan kepada cahaya (fotokala) terhadap kepekatan klorofil a & b dan kadar pertumbuhan spesifik (KPS) <i>Ulva reticulata</i>	82
5.5	Kesimpulan	84
	<b>BAB ENAM:KAJIAN KESAN PERSEKITARAN: KEMASINAN DAN KEKERINGAN TERHADAP PERTUMBUHAN <i>Ulva reticulata</i></b>	85
6.1	Pendahuluan	85
6.2	Bahan dan Kaedah	86
6.2.1	Kesan kemasinan terhadap kadar pengambilan nitrat, kadar fotosintesis, kepekatan klorofil a & b dan kadar pertumbuhan spesifik (KPS)	86
6.2.2	Kesan kekeringan terhadap kadar pengambilan nitrat, kadar fotosintesis, kepekatan klorofil a & b dan kadar pertumbuhan spesifik (KPS)	89
6.3	Keputusan	94
6.3.1	Kesan kemasinan terhadap kadar pengambilan nitrat, kadar fotosintesis, kepekatan klorofil a & b dan kadar pertumbuhan spesifik (KPS)	94
6.3.2	Kesan kekeringan terhadap kadar pengambilan nitrat, kadar fotosintesis, kepekatan klorofil a & b dan kadar pertumbuhan spesifik (KPS)	97
6.4	Perbincangan	102
6.4.1	Kesan kemasinan terhadap kadar pengambilan nitrat, kadar fotosintesis, kepekatan klorofil a & b dan kadar pertumbuhan spesifik (KPS)	102

6.4.2	Kesan kekeringan terhadap kadar pengambilan nitrat, kadar fotosintesis, kepekatan klorofil a & b dan kadar pertumbuhan spesifik (KPS)	104
6.5	Kesimpulan	105
<b>BAB TUJUH: KESIMPULAN KAJIAN</b>		106
<b>RUJUKAN</b>		108
<b>PEMBENTANGAN SEMINAR</b>		128

## SENARAI JADUAL

### Mukasurat

Jadual 4.1	Kadar pengambilan ammonium dan nitrat oleh <i>Ulva reticulata</i> dalam media ammonium dan nitrat tunggal dan kombinasi nitrat + ammonium (serentak) (n=3).	52
------------	---	----

## SENARAI RAJAH

### Muka surat

Rajah 4.1.	Kaedah penentuan kadar pengambilan nutrien menggunakan kaedah inkubasi tetap.	38
Rajah 4.2.	Kaedah penentuan pengambilan nutrien mengikut kaedah persampelan berulang.	40
Rajah 4.3.	Kaedah penentuan kesan kepekatan nitrat terhadap kadar pertumbuhan dan kepekatan klorofil a & b <i>Ulva reticulata</i> .	42
Rajah 4.4.	Kadar pengambilan ammonium ( $\mu\text{mol g}_{\text{bk}}^{-1}\text{j}^{-1}$ ) oleh <i>Ulva reticulata</i> dalam media kultur pada kepekatan ammonium yang berbeza dalam keadaan cahaya dan gelap (n=3).	43
Rajah 4.5.	Kadar pengambilan nitrat ( $\mu\text{mol g}_{\text{bk}}^{-1}\text{j}^{-1}$ ) oleh <i>Ulva reticulata</i> di dalam media kultur yang mempunyai kepekatan nitrat yang berbeza dalam keadaan cahaya dan gelap. (n=3)	44
Rajah 4.6.	Kadar pengambilan fosfat ( $\mu\text{mol g}_{\text{bk}}^{-1}\text{j}^{-1}$ ) oleh <i>Ulva reticulata</i> di dalam media kultur yang mempunyai kepekatan fosfat yang berbeza dalam keadaan cahaya dan gelap (n=3).	45
Rajah 4.7.	Pengurangan kepekatan ammonium dalam media yang mengandungi ammonium sahaja, kombinasi ammonium dengan fosfat, ammonium dengan nitrat dan tanpa nutrien (kawalan) yang dimasukkan <i>Ulva reticulata</i> selama 1 jam, 3 jam, 5 jam dan 7 jam (n=3).	47
Rajah 4.8.	Pengurangan kepekatan nitrat dalam media yang mengandungi nitrat sahaja, kombinasi nitrat dengan ammonium, nitrat dengan fosfat dan tanpa nutrien (kawalan) yang dimasukkan <i>Ulva reticulata</i> selama 1 jam, 3 jam, 5 jam dan 7 jam (n=3).	48
Rajah 4.9.	Pengurangan kepekatan fosfat dalam media yang mengandungi fosfat sahaja, kombinasi fosfat dengan ammonium, fosfat dengan nitrat dan tanpa nutrien (kawalan) yang dimasukkan <i>Ulva reticulata</i> selama 1 jam, 3 jam, 5 jam dan 7 jam (n=3).	49
Rajah 4.10.	Kesan jenis nutrien dan kombinasi nutrien yang berbeza terhadap kadar pengambilan nutrien ( $\mu\text{mol g}_{\text{bk}}^{-1}\text{j}^{-1}$ ) <i>Ulva reticulata</i> selepas pendedahan selama satu jam dalam media kultur (n=3).	51

Rajah 4.11.	Kesan jenis nutrien dan kombinasi nutrien yang berbeza terhadap kepekatan klorofil a & b <i>Ulva reticulata</i> yang dikultur selama 7 hari. Bacaan permulaan adalah nilai kepekatan klorofil a & b pada awal kajian dan kawalan adalah media tanpa nutrien (n=3).	53
Rajah 4.12.	Kadar pertumbuhan spesifik (KPS = %h <sup>-1</sup> ) <i>Ulva reticulata</i> yang dikultur dalam media mengandungi nutrien tunggal, media mengandungi kombinasi nutrien yang berbeza dan media kawalan (tanpa nutrien). KPS ditentukan selepas 7 hari eksperimen dijalankan (n=3).	54
Rajah 4.13.	Kesan kepekatan nitrat yang terbeza terhadap kadar fotosintesis pada <i>Ulva reticulata</i> (n=3).	56
Rajah 4.14.	Kesan kepekatan nitrat yang berbeza terhadap kepekatan klorofil a & b pada <i>Ulva reticulata</i> (n=3).	57
Rajah 4.15.	Kesan kepekatan nitrat yang terbeza terhadap kadar pertumbuhan spesifik (KPS, $\mu$ ) <i>Ulva reticulata</i> (n=3).	57
Rajah 5.1	Kaedah penentuan kadar fotosintesis <i>Ulva reticulata</i> menggunakan meter oksigen. Sumber cahaya yang berbeza diperolehi daripada sumber projektor cahaya boleh laras.	71
Rajah 5.2.	Kadar fotosintesis <i>Ulva reticulata</i> ( $\mu\text{molO}_2\text{g}_{\text{bk}}^{-1}\text{j}^{-1}$ ) (n=3).	74
Rajah 5.3.	Kesan keamatan cahaya yang berbeza terhadap kepekatan klorofil a & b <i>Ulva reticulata</i> yang dikultur selama 7 hari (n=3).	76
Rajah 5.4.	Kesan keamatan cahaya yang berbeza terhadap kadar pertumbuhan spesifik (KPS, %h <sup>-1</sup> ) <i>Ulva reticulata</i> yang dikultur selama 7 hari (n=3).	76
Rajah 5.5.	Kesan pendedahan cahaya terbeza terhadap kepekatan klorofil a & b ( $\text{mg}_{\text{bb}}^{-1}$ ) <i>Ulva reticulata</i> yang dikultur selama 7 hari (n=3).	78
Rajah 5.6.	Kesan pendedahan cahaya terbeza terhadap kadar pertumbuhan spesifik (KPS, %h <sup>-1</sup> ) <i>Ulva reticulata</i> yang dikultur selama 7 hari kajian dijalankan (n=3).	79
Rajah 6.1.	Kaedah penentuan kesan kemasinan ke atas kadar pengambilan nitrat oleh <i>Ulva reticulata</i> .	88
Rajah 6.2.	Kaedah penentuan kesan kemasinan ke atas kadar fotosintesis <i>Ulva reticulata</i> .	88

Rajah 6.3.	Kaedah penentuan kesan kemasinan ke atas kepekatan klorofil a & b dan kadar pertumbuhan spesifik <i>Ulva reticulata</i> .	89
Rajah 6.4.	Kaedah penentuan kesan kekeringan terhadap kadar pengambilan nitrat <i>Ulva reticulata</i> .	91
Rajah 6.5.	Kaedah penentuan kesan kekeringan terhadap kadar fotosintesis <i>Ulva reticulata</i> .	92
Rajah 6.6.	Kaedah penentuan kesan kekeringan terhadap kepekatan klorofil a & b dan kadar pertumbuhan spesifik <i>Ulva reticulata</i> .	93
Rajah 6.7.	Kadar pengambilan nitrat ( $\mu\text{molg}_{\text{bk}}^{-1}\text{j}^{-1}$ ) oleh <i>Ulva reticulata</i> daripada media yang mempunyai kemasinan yang berbeza (n=3).	96
Rajah 6.8.	Kadar fotosintesis ( $\mu\text{molO}_2\text{g}_{\text{bk}}^{-1}\text{j}^{-1}$ ) <i>Ulva reticulata</i> pada kemasinan yang berbeza (n=3).	96
Rajah 6.9.	Kepekatan klorofil a & b <i>Ulva reticulata</i> yang dikultur selama 7 hari dalam media yang mempunyai kemasinan yang berbeza (n=3).	97
Rajah 6.10.	Kadar pertumbuhan spesifik (KPS, $\%h^{-1}$ ) <i>Ulva reticulata</i> yang dikultur selama 7 hari dalam rawatan kemasinan yang berbeza (n=3).	97
Rajah 6.11.	Kadar pengambilan nitrat ( $\mu\text{molg}_{\text{bk}}^{-1}\text{j}^{-1}$ ) <i>Ulva reticulata</i> selepas talus mengalami kehilangan air (kekeringan) pada peratusan yang berbeza (n=3).	99
Rajah 6.12.	Kadar fotosintesis ( $\mu\text{molO}_2\text{g}_{\text{bk}}^{-1}\text{j}^{-1}$ ) <i>Ulva reticulata</i> selepas mengalami kehilangan air (kekeringan) pada peratusan yang berbeza (n=3).	100
Rajah 6.13.	Kepekatan klorofil a & b ( $\text{mgg}_{\text{bb}}^{-1}$ ) <i>Ulva reticulata</i> yang dikultur selama 7 hari selepas mengalami kehilangan air (kekeringan) pada peratusan yang berbeza (n=3).	100
Rajah 6.14.	Kadar pertumbuhan spesifik (KPS, $\%h^{-1}$ ) <i>Ulva reticulata</i> yang dikultur selama 7 hari setelah mengalami kehilangan air (kekeringan) pada peratusan yang berbeza (n=3).	101

## SENARAI PLAT

### Muka surat

Plat 3.1	<i>Ulva reticulata</i> yang dikultur di dalam tangki gentian kaca	20
Plat 3.2	Garam laut (Instant Ocean) tanpa nitrat dan fosfat yang digunakan dalam kajian	22
Plat 3.3	Refraktometer yang digunakan untuk menentukan kemasinan air.	22
Plat 3.4	Kaedah pengeringan sampel <i>Ulva reticulata</i> menggunakan tisu kering.	23
Plat 3.5	Pengekstrakan klorofil a & b <i>Ulva reticulata</i> .	25
Plat 3.6	Turus kadmium yang digunakan dalam penentuan kepekatan nitrat.	29
Plat 3.7	Alatan yang digunakan untuk penentuan pembebasan oksigen (fotosintesis) dan penggunaan oksigen (respirasi) <i>Ulva reticulata</i> .	33
Plat 4.1	Perbandingan warna talus <i>Ulva reticulata</i> selepas dikultur selama 7 hari dalam media yang mengandungi kepekatan nitrat yang berbeza.	56
Plat 5.1	Keadaan rak akuarium yang dilapisi kain hitam untuk menghalang kemasukan cahaya dari luar.	72
Plat 5.2	Perbezaan warna talus <i>Ulva reticulata</i> selepas dikultur selama 7 hari pada keamatan cahaya yang berbeza. A; 50 $\mu\text{mol foton m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , B; 100 $\mu\text{mol foton m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , C; 200 $\mu\text{mol foton m}^{-2}\text{s}^{-1}$ dan D; 300 $\mu\text{mol foton m}^{-2}\text{s}^{-1}$ .	75
Plat 5.3	Perbezaan warna talus <i>Ulva reticulata</i> setelah dikultur selama 7 hari pada tempoh pencahayaan yang berbeza iaitu 6 jam cahaya (6 jam cahaya: 18 jam gelap), 12 jam cahaya (12 jam cahaya: 12 jam gelap), 18 jam cahaya (18 jam cahaya: 6 jam gelap) dan 24 jam cahaya (24 jam cahaya: 0 jam gelap).	78
Plat 6.1	Keadaan <i>Ulva reticulata</i> yang telah didedahkan pada suhu bilik (30°C) pada keamatan cahaya 50 $\mu\text{mol foton m}^{-2}\text{s}^{-1}$ sehingga berat berkurangan sebanyak 20%, 40%, 60% dan 70%.	94
Plat 6.2	Perubahan warna talus <i>Ulva reticulata</i> setelah dikultur selama seminggu selepas kehilangan air (kekeringan) pada peratusan yang berbeza.	101

## SENARAI NAMA SINGKATAN

FAO	'Food and Agriculture Organization' (Pertubuhan Makanan dan Pertanian Dunia )
BOD	'Biological Oxygen Demand' (Keperluan oksigen biologi)
DO	'Dissolved Oxygen' (Oksigen terlarut)
DIN	'Dissolved Inorganic Nitrogen' (Nutrien tak organik terlarut)
DON	'Dissolved Organic Nitrogen' (Nutrien organik terlarut)
KPS	Kadar pertumbuhan spesifik
N	Nitrogen
P	Fosforus
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Ammonium
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Nitrat
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	Fosfat
EDTA	Asid etilena diamina tetra asetik
RuBisCo	Ribulosa 1,5-bifosfat karboksilase
CEMACS	'Centre for Marine and Coastal Studies' (Pusat Kajian Samudera dan Pantai)

## SENARAI SIMBOL

M	Meter
L	Liter
g	Gram
bb	Berat basah
bk	Berat kering
ml	Mililiter
°C	Darjah celsius
μM	mikro molar
mgg <sub>bb</sub> <sup>-1</sup>	Miligram per gram berat basah
μmol g <sub>bk</sub> <sup>-1</sup> j <sup>-1</sup>	Mikromol per gram berat kering per jam
μmol foton m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>	Mikromol foton per meter persegi per saat
μmolO <sub>2</sub> g <sub>bk</sub> <sup>-1</sup>	Mikromol oksigen per gram berat kering per jam
ANOVA	Analisis varians
PSU	Practical Salinity Unit

## LAMPIRAN

### Muka surat

Rajah 1	Graf lengkung piawai kepekatan nitrit ( $\text{mgL}^{-1}$ ) melawan penyerapan pada panjang gelombang 543 nm untuk kajian penentuan kepekatan nitrat.	126
Rajah 2	Graf lengkung piawai kepekatan ammonium ( $\text{mgL}^{-1}$ ) melawan penyerapan pada panjang gelombang 640 nm untuk kajian penentuan kepekatan ammonium.	126
Rajah 3	Graf lengkung piawai kepekatan fosfat ( $\text{mgL}^{-1}$ ) melawan penyerapan pada panjang gelombang 880 nm untuk kajian penentuan kepekatan fosfat.	127

**PENGARUH NUTRIEN, CAHAYA DAN TEKANAN PERSEKITARAN  
TERHADAP PERTUMBUHAN DAN FOTOSINTESIS PADA *Ulva reticulata***

**ABSTRAK**

Kajian yang dijalankan adalah bertujuan untuk mengkaji kesan nutrien, cahaya dan kemasinan terhadap pengambilan nutrien, kadar pertumbuhan, kepekatan klorofil a & b dan kadar fotosintesis pada *U. reticulata*. Keputusan kajian mendapati kadar pengambilan ammonium, nitrat dan fosfat meningkat apabila kepekatan nutrien dalam media bertambah. Kadar pengambilan ammonium dan nitrat didapati dipengaruhi oleh kehadiran cahaya manakala pengambilan fosfat tidak dipengaruhi oleh kehadiran cahaya. Ammonium adalah nutrien yang paling mudah diambil oleh *U. reticulata* berbanding nitrat dan fosfat. Apabila dua jenis nutrien hadir serentak dalam media, kehadiran ammonium akan merencat kadar pengambilan nitrat manakala kehadiran fosfat membantu pengambilan ammonium dan nitrat. Kepekatan nitrat yang tinggi didapati akan meningkatkan kadar fotosintesis, kepekatan klorofil a & b dan kadar pertumbuhan spesifik. Kadar fotosintesis maksimum adalah  $1631.94 \pm 131.074 \mu\text{mol O}_2\text{g}_{\text{bk}}^{-1}\text{j}^{-1}$  pada keamatan cahaya  $450 \mu\text{mol foton m}^{-2}\text{s}^{-1}$ . Keamatan cahaya yang rendah ( $50 \mu\text{mol foton m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) dan waktu pencahayaan yang singkat (6 jam cahaya: 18 jam gelap) menghasilkan kepekatan klorofil yang tinggi manakala keamatan cahaya yang tinggi ( $300 \mu\text{mol foton m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) dan tempoh pencahayaan yang lama (24 jam cahaya: 0 jam gelap) menghasilkan kepekatan klorofil yang rendah. Kadar pertumbuhan spesifik tertinggi adalah pada keamatan cahaya  $200 \mu\text{mol foton m}^{-2}\text{s}^{-1}$ . *Ulva reticulata* didapati mempunyai ketahanan yang tinggi terhadap tekanan kemasinan kerana mampu mengekalkan pertumbuhan dalam semua kemasinan yang dikaji (5 PSU, 15 PSU, 25 PSU, 30 PSU, 35 PSU, 45 PSU

dan 55 PSU). Kemasinan 25 PSU merupakan kemasinan yang optimum yang mana kadar pengambilan nutrien, kadar fotosintesis, kepekatan klorofil dan kadar pertumbuhan spesifik adalah tertinggi. *Ulva reticulata* didapati mampu mengekalkan pertumbuhan walaupun setelah mengalami kehilangan air sebanyak 40% daripada berat asal. Kehilangan air sebanyak 60% menyebabkan kadar pengambilan nutrien, kadar fotosintesis dan kepekatan klorofil a & b menjadi rendah serta pertumbuhan merosot disebabkan sebahagian talus mati. Kehilangan air sebanyak 70% menyebabkan kematian *U. reticulata*.

**INFLUENCE OF NUTRIENT, LIGHT AND ENVIRONMENTAL STRESS  
ON GROWTH AND PHOTOSYNTHESIS OF *Ulva reticulata***

**ABSTRACT**

A study was conducted to investigate the effects of nutrient, light and environmental stress on nutrient uptake, growth rate, chlorophyll concentration a & b and photosynthesis rate of *Ulva reticulata*. The result shows that the rates of ammonium, nitrate and phosphate uptakes increase with increasing nutrient concentrations in the media. Ammonium and nitrate uptake rates were affected by light but phosphate uptake rate was not. Ammonium is the easiest to be taken by *U. reticulata* compared to nitrate and phosphate. Availability of two nutrients simultaneously in the media shows inhibitory effect of ammonium to nitrate uptakes whereas phosphate availability facilitates ammonium and nitrate uptakes. Higher nitrate concentration resulted to higher photosynthesis rate, chlorophyll concentration and specific growth rate. Maximum photosynthesis is  $1631.94 \pm 131.074 \mu\text{mol O}_2\text{g}_{\text{bk}}^{-1}\text{j}^{-1}$  achieved at  $450 \mu\text{mol photon m}^{-2}\text{s}^{-1}$  light intensity. Low light intensity ( $50 \mu\text{mol photon m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) and shorter light irradiance (6 hours irradiance: 18 hours dark) increased chlorophyll concentration whereas high light intensity ( $300 \mu\text{mol photon m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) and longer irradiance (24 hours irradiance: 0 hours dark) decreased chlorophyll concentrations. The specific growth rate was highest at  $200 \mu\text{mol photon m}^{-2}\text{s}^{-1}$ . *Ulva reticulata* is highly tolerant to salinity stress because of the ability to sustain growth in all salinity tested (5 PSU, 15 PSU, 25 PSU, 30 PSU, 35 PSU, 45 PSU and 55 PSU). Salinity at 25 PSU has highest nutrient uptake, photosynthesis rate, chlorophyll concentration and specific growth rate.

*Ulva reticulata* can sustain growth rate after desiccate up to 40% of its original weight. Desiccation over 60% lowers the nutrient uptake, photosynthesis rate and chlorophyll concentration a & b and growth deteriorated because parts of thallus died. At 70% desiccation mortality occurs for the *U. reticulata*.

## BAB SATU

### PENGENALAN

#### 1.1 Pengenalan

Industri rumput laut kini berkembang pesat dan semakin banyak produk berasaskan rumput laut dihasilkan dan dipatenkan. Permintaan rumput laut yang tinggi telah meningkatkan urusan niaga rumput laut di pasaran dunia. Kesan daripada permintaan yang tinggi ini lebih banyak ladang rumput laut dibuka di seluruh dunia. Pada tahun 2010 direkodkan sebanyak 95.5% tuaian rumput laut adalah datang daripada penanaman rumput laut secara akuakultur dan selebihnya diperolehi melalui tuaian rumput laut daripada persekitaran semulajadi (FAO, 2010).

Pada masa kini, dianggarkan terdapat 200 spesies rumput laut yang digunakan di seluruh dunia (Zemke-White & Ohno, 1999) dan daripada jumlah ini terdapat 10 spesies atau genus yang ditanam secara intensif iaitu rumput laut perang: *Laminaria japonica* dan *Undaria pinnatifida*, rumput laut merah: *Porphyra*, *Euchema*, *Kappaphycus* dan *Gracilaria* dan rumput laut hijau: *Monostroma* dan *Ulva* (Wikfors & Ohno, 2001). *Laminaria japonica* (kelpa) merupakan rumput laut yang paling banyak ditanam iaitu sebanyak 5.1 juta tan (FAO, 2010). Berbanding rumput laut perang dan merah, rumput laut hijau paling kurang ditanam kerana mempunyai nilai komersil yang lebih rendah (FAO, 2010).

Rumput laut hijau daripada genus *Ulva* umumnya dikenali sebagai salad laut dan dikultur sebagai bahan makanan “aonori” dan kaya dengan vitamin A, B2, B12 dan C serta tinggi antioksidan (Aguilera-Morales *et al.*, 2005; Ortiz *et al.*, 2006;

El-Baky *et al.*, 2008). Kajian kini membuktikan *Ulva* mempunyai nilai komersil tinggi kerana potensinya sebagai penuras biologi, bahan makanan haiwan, sumber bahan bioaktif, sumber bahan farmaseutikal dan kosmetik (Tsagakamilis *et al.*, 2010; Rabiei *et al.*, 2014). Usaha pengkulturan *Ulva* pada skala besar kini mula dilakukan secara projek perintis di seluruh dunia (Neori *et al.*, 1998; Zemke-White *et al.*, 1999; Neori & Shpigel, 1999; Neori *et al.*, 2000; Neori *et al.*, 2003; Schuenhoff *et al.* 2003; Bolton *et al.*, 2008; Pena-Rodriguez *et al.*, 2011).

*Ulva* merupakan spesies rumpai laut yang mempunyai taburan yang luas yang dapat ditemui hampir di seluruh dunia dan banyak ditemui di kawasan muara (Perez-Llorens *et al.*, 1996; Figueroa *et al.*, 2003; Luo *et al.*, 2012). Di Malaysia, spesies *Ulva* yang berpotensi untuk dikultur pada skala besar adalah *U. reticulata*. *Ulva reticulata* mudah diperolehi dan sering dilihat terdampar di persisiran pantai pada waktu air laut surut.

Pertumbuhan *Ulva* umumnya adalah tinggi berbanding rumpai laut lain dan ini adalah disebabkan oleh kebolehnya yang tinggi menyerap nutrien dan ketahanannya terhadap perubahan fizikal dan kimia persekitaran (Rivers & Peckol, 1995; Hernandez *et al.*, 1997; Pedersen *et al.*, 2004; Mayakun & Prathep, 2005; Menesguen & Cugier, 2006). Namun, setiap spesies *Ulva* mempunyai keperluan nutrien, strategi pertumbuhan dan tindakbalas terhadap persekitaran yang berbeza mengikut spesies (Rosenberg & Ramus 1982; Vermaat & Sand-Jensen, 1987; Beach *et al.*, 1995; Perez-Llorens *et al.*, 1996; Figueroa *et al.*, 2003; Luo *et al.*, 2012).

Pengetahuan tentang faktor fizikal dan kimia persekitaran yang memberikan pertumbuhan *Ulva* pada tahap yang optimum adalah penting sebelum penanaman

pada skala komersial boleh dijalankan. Perkara ini penting kerana teknik pengkulturan, strategi pengurusan dan hasil akhir harus disesuaikan dengan fisiologi dan biologi spesies dan bukan sebaliknya (Bird & Benson, 1987; Hanisak, 1990).

Kajian terhadap fisiologi pertumbuhan *Ulva* telah banyak dilakukan namun kebanyakannya dilakukan ke atas spesies *Ulva* dari iklim temperat dan subtropika. Kajian terhadap pengkulturan *Ulva reticulata* yang terdapat di Malaysia yang beriklim tropika masih belum dijalankan. Oleh itu, kajian ini adalah bertujuan untuk mengkaji faktor kimia dan fizikal yang mempengaruhi pertumbuhan *Ulva reticulata* dan kemampuannya untuk bertahan pada tekanan perubahan persekitaran.

## 1.2 Objektif

- a) Mengkaji kadar pengambilan nutrien, kesan kombinasi nutrien dan kepekatan nitrat terhadap fotosintesis, kepekatan klorofil a & b dan kadar pertumbuhan *Ulva reticulata*;
- b) Mengkaji kesan keamatan cahaya dan tempoh pencahayaan terhadap kadar fotosintesis, kepekatan klorofil a & b dan kadar pertumbuhan spesifik *Ulva reticulata*;
- c) Mengkaji kesan tekanan persekitaran (kemasinan dan kekeringan) terhadap kadar pengambilan nutrien, kadar fotosintesis, kepekatan klorofil a & b dan kadar pertumbuhan *Ulva reticulata*.

## BAB DUA

### TINJAUAN BAHAN BACAAN

#### 2.1 Pengenalan

Malaysia merupakan sebuah negara beriklim tropika terletak antara 1.30 °N - 6.60 °N dan 99.50 °E - 103.30 °E dengan luas persisiran pantai sepanjang 3432 km<sup>2</sup>. Secara purata, Malaysia mengalami sinaran matahari selama 13 jam dengan suhu purata 26°C -32°C, keamatan cahaya adalah 3.73 kWh/(m<sup>2</sup>d) hingga 5.11 kWh/(m<sup>2</sup>d) dan kelembapan purata 80-90% (Othman *et al.*, 1993; Engel-Cox *et al.*, 2012). Saliniti perairan Malaysia adalah antara 28 hingga 34 PSU dan suhu permukaan antara 27°C hingga 29°C (Akhir & Chuen, 2011; Marghany, 2012).

Kepekatan nutrien di perairan Malaysia juga relatifnya tinggi iaitu antara 0.56 µM hingga 13.76 µM ammonium, 0.31 µM hingga 3.5 µM nitrat dan 0.04 µM hingga 0.38 µM nitrit (Bong & Lee, 2005; Bong & Lee, 2008). Kawasan pantai pula terdiri daripada pantai berbatu dan kawasan berpasir yang berselang-seli dengan kawasan paya bakau yang berlumpur serta kawasan terumbu karang yang mengelilingi pulau-pulau. Kepelbagaian ini menyediakan nic untuk pertumbuhan pelbagai rumpai laut (Phang, 2006).

Rumpai laut adalah alga marin makrobentik dan merupakan pengeluar primer terbesar di kawasan lautan yang cetek. Rumpai laut mempunyai kebolehan untuk mensintesis sebatian organik daripada air dan karbon dioksida dengan kehadiran cahaya sebagai punca tenaga dalam proses fotosintesis. Dalam proses ini, rumpai laut

menghasilkan oksigen dan mengambil karbon dioksida daripada persekitaran seterusnya menyumbang kepada pengurangan kesan pemanasan global dunia (Phang, 2006).

Rumpai laut dikelaskan mengikut kepekatan pigmen fotosintesisnya kepada tiga divisi iaitu Chlorophyta (rumpai laut hijau), Phaeophyta (rumpai laut perang) dan Rhodophyta (rumpai laut) (Trono & Ganzon-fortes, 1988). Pigmen fotosintesis rumpai laut ini terdiri daripada pelbagai jenis iaitu klorofil (hijau), karotenoid (oren dan perang) dan fikobilin (merah dan biru). Selain daripada pigmen fotosintesis, setiap divisi ini turut mempunyai perbezaan daripada segi biokimia, bahan makanan simpanan dan dinding sel, struktur sel, struktur pembiakan dan kitar hidup (Ismail, 1995; Hurd *et al.*, 2014). Sehingga 2006, terdapat 102 spesies Chlorophyta, 182 spesies Rhodophyta dan 72 spesies Phaeophyta yang berjaya direkodkan di Malaysia (Phang, 2006).

Taburan rumpai laut bermula dari bahagian bawah kawasan pasang surut hingga ke paras air cetek di zon pasang surut. Perbezaan taburan rumpai laut adalah bergantung kepada kemampuannya beradaptasi pada keadaan persekitaran habitat tersebut. Kehadiran sesuatu spesies pada habitat yang tertentu adalah hasil daripada kesan yang sinergi pelbagai faktor fisio-kimia. Sesetengah faktor tersebut juga mempengaruhi kesan faktor yang lain. Nutrien, cahaya, suhu, kemasinan, substrat, pergerakan air, ke dalaman dan faktor biotik memberi kesan terhadap taburan rumpai laut pada persekitarannya (Trono & Ganzon-Fortes, 1988; Rivers & Peckol, 1995; Hernandez *et al.*, 1997; Pedersen *et al.*, 2004; Mayakun & Prathep, 2005; Menesguen & Cugier, 2006).

## 2.2 Ciri *Ulva*

*Ulva* sp. (Chlorophyta) dikenali sebagai salad laut adalah daripada famili *Ulvaceae*. Ia adalah merupakan spesies alga hijau jenis oportunistik yang mudah mengkoloni sesuatu kawasan apabila persekitarannya sesuai untuk pertumbuhan. Ini adalah disebabkan bentuk morfologinya yang mempunyai nisbah luas permukaan per isipadu yang tinggi (luas permukaan: isipadu) yang memudahkan kadar pengambilan nutrien, ketahanan terhadap perubahan persekitaran dan pertumbuhan yang berterusan pada kadar yang tinggi walaupun pada keamatan cahaya rendah (Rivers & Peckol 1995; Lobban & Harrison, 1997; Neori *et al.*, 2003). Ciri ini membolehkan *Ulva* mempunyai taburan yang luas dari persekitaran marin hingga lah ke air tawar seluruh dunia (Hoek *et al.*, 1995; Messyasz *et al.*, 2008; Messysz & Rybak, 2009; Messyasz *et al.*, 2013). Kebanyakan *Ulva* ditemui di kawasan pesisiran pantai dan muara, pada zon atas dan sederhana pasang surut (eulittoral dan supralittoral) dan sesetengah berada di bahagian bawah paras air pasang surut.

Bentuk talus *Ulva* adalah pelbagai, daripada bentuk bulat kepada bentuk bujur, panjang dan runcing dan ketebalan talus pula daripada 38 hingga 209  $\mu\text{m}$  (Guidone *et al.*, 2013). Saiz sel adalah besar dan talus yang nipis yang setebal dua lapisan sel memberi kelebihan kepada *Ulva* kerana mengurangkan kesan teduhan dan kadar fotosintesis menjadi tinggi berbanding talus yang tebal (Littler & Littler, 1980). Namun talus yang nipis ini meningkatkan kesan kekeringan, kerosakan talus akibat ombak dan terdedah kepada pemangsa.

### 2.2.1 *Ulva reticulata*

*Ulva reticulata* merupakan *Ulva* yang banyak terdapat di perairan Malaysia dan dikenali sebagai “Malaysian sea lettuce”. *Ulva reticulata* tumbuh subur terutamanya di kawasan persisiran pantai yang tercemar oleh sisa kumbahan di Semenanjung Malaysia. Keadaan ini jelas dilihat di pantai barat Pulau Pinang, Malaysia.

Pengelasan *Ulva reticulata*;

Kingdom	: Protista
Filum	: Chlorophyta
Order	: Chlorophyceae
Famili	: <i>Ulvaceae</i>
Kelas	: <i>Ulvales</i>
Genus	: <i>Ulva</i>
Spesies	: <i>Ulva reticulata</i>

Talus *U. reticulata* berbentuk tidak menentu dan mempunyai lubang pada pelbagai saiz, berbentuk jalur serta berwarna hijau terang. Permukaan talusnya sedikit berkedut atau licin, tepi talus adalah berbentuk serat, ketebalan talus antara 60 hingga 90  $\mu\text{m}$  yang terdiri daripada dua lapisan sel, kloroplas berbentuk cawan dan jumlahnya tinggi pada permukaan (Ruangchuay *et al.*, 2007).

### 2.2.2 Kajian *Ulva reticulata* di Malaysia

Kajian yang telah dijalankan terhadap *U. reticulata* yang terdekat di Malaysia adalah mengenai kebolehan *U. reticulata* menyerap unsur surih dari kawasan yang

tercemar, potensi sebagai bahan makanan alternatif, perapi tanah dan sebagai sumber bahan api (Sivalingam, 1978; Sivalingam & Zakarian 1979; Sivalingam, 1981; Sivalingam, 1982). Selain itu, kajian tentang kepekatan bakteria dan taburannya pada talus *U. reticulata* ketika kekeringan juga telah dijalankan oleh Vairappan & Suzuki (2000). Kajian ini telah menunjukkan bahawa *Ulva reticulata* mempunyai keupayaan antibakteria terhadap bakteria yang terdapat pada permukaan talus. Kajian juga mendapati *U. reticulata* mempunyai potensi tinggi sebagai penapis biologi dalam sistem ternakan bersepadu dengan udang (Rabiei, 2014).

### **2.2.3 Kegunaan *Ulva reticulata***

*Ulva reticulata* kaya dengan nutrisi penting sesuai dijadikan makanan kesihatan manusia dan haiwan kerana kaya dengan vitamin, nutrien, protein, mineral, lemak tak tepu, omega-3, omega-6, asid oleik dan rendah kepekatan lipid (Shanmugam & Palpandi, 2010; Kumari *et al.*, 2010; Nisha *et al.*, 2014). Kajian menunjukkan *U. reticulata* juga mempunyai nilai perubatan yang tinggi kerana mempunyai kesan antiradang, kesan analgesik dan antibakteria (Vairappan & Suzuki, 2000; Kolanjinathan, 2011; Hong *et al.*, 2011). Selain itu *U. reticulata* berpotensi dijadikan sumber biodiesel, bioetanol dan biogas (Bruhn *et al.*, 2011; Yoza & Masutani, 2013). Kegunaan lain *U. reticulata* adalah sebagai penuras biologi dalam industry akuakultur laut (Msuya *et al.*, 2002; Rabiei *et al.*, 2014) selain dapat dijadikan baja (Selvam & Sivakumar, 2013).

## **2.3 Faktor mempengaruhi pertumbuhan *Ulva***

### **2.3.1 Nutrien**

Nutrien atau unsur ditakrifkan penting jika kekurangannya menyebabkan rumpai laut tidak dapat hidup, membiak atau melakukan pertumbuhan yang lengkap (Hurd *et al.*, 2014). Keperluan nutrien rumpai laut terbahagi kepada makronutrien (N, P, C) dan unsur surih (Fe, Zn, Cu, Mn, Mo) (Hurd *et al.*, 2014). Menurut DeBoer (1981) unsur C, H, O, N, P, Mg, Cu, Mn, Zn dan Mo adalah unsur paling penting yang diperlukan dan tidak boleh diganti dengan unsur lain. Nutrien utama yang diperlukan untuk pertumbuhan alga adalah karbon (C) yang diperlukan pada kepekatan yang tinggi. Unsur C diperolehi oleh tumbuhan marin daripada karbon dioksida daripada sebatian bikarbonat yang merupakan nutrien yang banyak didapati di dalam air laut (Sand-Jensen & Gordon, 1984). Oleh itu, biarpun keperluan terhadap karbon adalah tinggi, karbon bukanlah nutrien yang menghadkan pertumbuhan alga.

Unsur yang lazimnya menghadkan pertumbuhan rumpai laut adalah nitrogen (N) dan fosforus (P) yang hadir pada kepekatan yang rendah dalam air laut. Unsur N dan P adalah berkait rapat antara satu sama lain. Kekurangan sumber nitrogen akan memberi kesan terhadap penyerapan sumber fosfat. Ini kerana kekurangan nitrogen akan menyebabkan kurangnya pembentukan enzim dan protein yang terlibat dalam penyerapan fosfat (Harpole *et al.*, 2011). Kekurangan unsur P pula akan mempengaruhi pembentukan asid nukleik dan sintesis protein seterusnya mempengaruhi pembahagian sel.

### **2.3.1(a) Nitrogen**

Nitrogen adalah unsur utama yang mempengaruhi pertumbuhan rumpai laut diikuti oleh P (Lobban & Harrison, 1997; Hurd *et al.*, 2014). Ini kerana N adalah unsur penting dalam pembentukan asid amino, protein, enzim dan proses metabolik yang melibatkan tenaga (Hurd *et al.*, 2014). Terdapat dua sumber N iaitu nitrogen organik (urea) dan nitrogen tak organik (nitrat, nitrit dan ammonium). Nitrogen tak organik terlarut (DIN) adalah bentuk nitrogen (N) yang menjadi faktor penghad pertumbuhan berbanding nitrogen organik terlarut (DON) (Hanisak, 1983; Hurd *et al.*, 2014).

Ammonium adalah bentuk N yang paling mudah untuk diasimilasikan kepada bahan organik dalam sel berbanding nitrat (Rees *et al.* 2007). Kepekatan ammonium dalam air laut lazimnya adalah lebih rendah berbanding nitrat (Hanisak, 1983). Kepekatan nitrat dalam air laut pula adalah paling tinggi berbanding ammonium dan nitrit. Namun nitrat tidak mudah diasimilasikan seperti ammonium (D'Elia & DeBoer, 1978). Nitrat diambil oleh rumpai laut dalam keadaan teroksida dan perlu melalui proses penurunan sebelum boleh digunakan dalam proses metabolisme (Valiela, 1984). Kehadiran nitrit ( $\text{NO}^{2-}$ ) pula adalah pada kuantiti yang kecil dalam air laut berbanding nitrat dan ammonium dan kurang diasimilasi oleh rumpai laut.

### **2.3.1(b) Fosforus**

Fosforus (ortofosfat) adalah komponen penting bagi pembentukan asid nukleik, fosfolipid dan sebatian bertenaga tinggi (adenosin trifosfat, ATP dan adenosin difosfat, ADP) serta enzim penting dalam kitar Calvin (Schachtman *et al.*, 1998; Müller *et al.*, 2005, Ghannoum & Conroy, 2007;

Sanchez, 2007). Peranan utama fosforus (P) ialah dalam pemindahan tenaga melalui ATP dalam proses fotosintesis dan respirasi kerana fosforus memindahkan tenaga solar kepada tenaga kimia.

Umumnya kebanyakan rumpai laut cenderung untuk mempunyai kadar pertumbuhan yang rendah apabila kekurangan N berbanding P. Namun, terdapat sesetengah spesies *Ulva* yang lebih cenderung dihadkan pertumbuhannya oleh P. Menurut Bjornsater & Wheeler (1990) kadar pertumbuhan *Ulva fenestrata* menurun apabila kekurangan P berbanding kekurangan N. Pertumbuhan rumpai laut pada persekitaran semulajadi didapati dihadkan oleh P sewaktu musim bunga (Howart, 1988; Flores-Moya *et al.*, 1997) disebabkan kepekatan P yang rendah dalam air laut (Chopin *et al.*, 1990; Lobban & Harrison, 1997).

### **2.3.2 Cahaya**

Cahaya diperlukan dalam proses fotosintesis. Fotosintesis penting untuk membekalkan tenaga dalam pengangkutan aktif, membekalkan rangka karbon yang penting untuk pembentukan molekul besar (asid amino dan protein) dan meningkatkan kadar pertumbuhan (Hurd *et al.*, 2014). Keperluan cahaya oleh rumpai laut adalah bergantung kepada kedudukan taburan geografinya. Rumpai laut di daerah kutub mempunyai keperluan cahaya yang rendah manakala rumpai laut di persekitaran yang lebih panas mempunyai keperluan cahaya yang lebih tinggi (Roleda *et al.*, 2006). Ini kerana rumpai laut yang hidup di persekitaran kutub telah beradaptasi kepada keadaan teduh (shade adapter) (Wiencke *et al.*, 2006). Penyesuaian oleh rumpai laut yang hidup di persekitaran teduh ini adalah mempunyai kepekatan klorofil yang tinggi, kepekatan pigmen aksesori yang tinggi, nisbah klorofil a yang tinggi dan paras ketepuan fotosintesis yang rendah

(Reiskind *et al.*, 1989; Hanisak, 1979).

Tempoh pencahayaan juga mempengaruhi kadar pertumbuhan rumput laut. Kadar pertumbuhan rumput laut umumnya adalah tinggi pada musim panas yang mempunyai sinaran cahaya matahari yang lebih panjang, manakala kadar pertumbuhan menjadi rendah pada musim sejuk yang mempunyai tempoh sinaran matahari yang lebih pendek (Rosenberg & Ramus, 1984; Israel *et al.*, 1993; Fillit, 1995). Bolton *et al.* (2008) mendapati terdapat pertukaran spesies *Ulva* yang dominan di ladang ternakan abalone mengikut perubahan musim. Sewaktu musim sejuk, *Ulva rigida* adalah spesies dominan manakala pada musim panas, spesies dominan adalah *Ulva lactuca*. Ini menunjukkan spesies *Ulva* yang berbeza mempunyai tindakbalas yang berbeza terhadap persekitaran.

### **2.3.3 Tekanan persekitaran**

Tekanan persekitaran wujud apabila sesuatu faktor persekitaran seperti kemasinan, kekeringan, suhu dan cahaya wujud pada tahap lebih atau kurang daripada had toleransi rumput laut. Taburan rumput laut yang hidup pada persekitaran di bawah zon pasang surut adalah dikawal oleh faktor biotik seperti pemangsa dan persaingan intra dan interspesies manakala taburan rumput laut pada kawasan air pasang surut adalah dikawal oleh faktor abiotik seperti radiasi UV, cahaya, kemasinan, suhu, kehadiran nutrien dan pendedahan pada udara (Davison & Pearson, 1996; Ji & Tanaka, 2002; Flores-Molina *et al.*, 2014).

Perubahan kemasinan merupakan faktor utama yang mempengaruhi taburan rumput laut di kawasan pasang surut dan muara (Choi *et al.*, 2010; Wiencke & Bischof, 2012; Yamochi, 2013). Rumput laut di persekitaran pasang surut akan mengalami perubahan kemasinan yang mendadak pada tempoh yang

singkat menyebabkan pertumbuhan terganggu seterusnya mempengaruhi taburannya (Josselyn & West, 1985; Lobban & Harrison, 1997; Flores-Molina *et al.*, 2014). Ini kerana ketika kemasinan terlalu rendah (hiposaline) dan kemasinan terlalu tinggi (hipersaline), fotosintesis dan respirasi direncat menyebabkan pertumbuhan terjejas (Wiencke & Bischof, 2012; Hurd *et al.*, 2014; Flores-Molina *et al.*, 2014). Kemasinan juga mempengaruhi ketumpatan air dan paling utama tekanan osmosis (Hurd *et al.*, 2014). Antara tindak balas fisiologi dan biokimia rumpai laut terhadap tekanan kemasinan, termasuk melalui pengawalaturan osmosis, pengambilan nutrien, fotosintesis, respirasi, dan pertumbuhan (Kirst, 1990; Fong *et al.*, 1996; Parida & Das, 2005; Fan-Lu *et al.*, 2006; Choi *et al.*, 2010; Wiencke & Bischof, 2012; Yamochi, 2013; Flores-Molina *et al.*, 2014).

*Ulva* adalah rumpai laut yang mampu hidup subur pada persekitaran pasang surut dan muara yang sering terdedah kepada tekanan kemasinan sewaktu air surut. Ini kerana *Ulva* mempunyai keupayaan mengawalatur kepekatan garam terlarut dalam tisu untuk mengekalkan tekanan osmosis dalam sel supaya sel kekal segar (Lobban & Harrison, 1997; Wiencke & Bischof, 2012). Kajian mendapati *Ulva* mampu menyesuaikan diri dengan perubahan kemasinan daripada 3 PSU hingga 115 PSU (Lobban & Harrison, 1997). Menurut Wiencke & Bischof (2012) tindakbalas rumpai laut terhadap kemasinan dan kekeringan adalah berbeza mengikut spesies. Terdapat juga spesies *Ulva* yang didapati mampu tumbuh pada persekitaran air tawar (<1 PSU) (Messyasz & Rybak, 2008; Messyasz & Rybak, 2009; Messyasz *et al.*, 2013).

Pasang surut air laut juga menyebabkan berlakunya kekeringan pada talus rumpai laut akibat terdedah kepada udara. Keupayaan rumpai laut bertahan pada kekeringan bergantung kepada keupayaannya untuk pulih selepas terhidrat dan

bukannya bergantung kepada kebolehnya mengelak daripada mengalami kekeringan (Davison & Pearson, 1996; Ji & Tanaka, 2002). Rumpai laut yang terdedah sewaktu air surut akan melalui proses kekeringan dan kemudiannya rehidrasi semula yang akhirnya boleh menyebabkan kerosakan sel berlaku (Burrit *et al.*, 2002). Kekeringan yang berpanjangan menyebabkan kadar fotosintesis menurun kerana terdapat gangguan dalam fotosistem I dan fotosistem II (Heber *et al.*, 2010; Gao *et al.*, 2011). Selain itu, dehidrasi sel akibat kekeringan menyebabkan kerosakan struktur membran termasuklah membran tilakoid dalam kloroplas (Kim & Garbary, 2007).

#### **2.4. Kepekatan klorofil**

Pembentukan pigmen klorofil adalah bergantung kepada kehadiran nitrogen dalam sel (Nashom *et al.*, 2009). Ini kerana pigmen berfungsi sebagai penyimpanan sekunder N (Hurd *et al.*, 2014). Terdapat tiga jenis pigmen yang berfungsi dalam fotosintesis rumpai laut iaitu klorofil, fikobiliprotein dan karotenoid (Lobban & Harrison, 1997). Klorofil a adalah pigmen penting yang terdapat pada pusat tindakbalas fotosintesis dan terdapat pada semua tumbuhan dan semua jenis rumpai laut (rumpai laut perang, rumpai laut merah dan rumpai laut hijau). Klorofil b terdapat pada alga hijau dan tumbuhan peringkat tinggi manakala klorofil c1 dan c2 hanya terdapat pada rumpai laut perang (Hurd *et al.*, 2014).

Kepekatan klorofil adalah dipengaruhi oleh kepekatan nutrien dan cahaya. Pada kepekatan nitrogen yang tinggi, kepekatan klorofil yang terhasil adalah tinggi (Pinchetti *et al.*, 1998; Buapet *et al.*, 2008; Denault *et al.*, 2000; Menendez, 2005; Figueroa *et al.*, 2009). Kajian juga menunjukkan nisbah klorofil a : b turut

dipengaruhi oleh kepekatan nitrogen. Nisbah klorofil a kepada klorofil b adalah rendah apabila dikultur pada kepekatan nitrogen yang tinggi (Turpin, 1991; Pinchetti *et al.*, 1998). Rumpai laut mengawal kepekatan klorofil dalam sel bergantung kepada cahaya yang diterima. Pada cahaya yang rendah, rumpai laut meningkatkan kepekatan klorofil untuk meningkatkan penyerapan cahaya (Perez-Lloren *et al.*, 1996; Figueroa *et al.*, 2003; Bernardeau-Esteller *et al.*, 2005). Pada keamatan cahaya tinggi, kepekatan klorofil dikurangkan untuk mengelakkan penyerapan cahaya yang berlebihan yang boleh menyebabkan berlakunya perencatan cahaya (Sand-Jensen, 1988). Perubahan kepekatan pigmen dapat dicerap dengan pemerhatian terhadap talus rumpai laut. Talus rumpai laut berwarna gelap menunjukkan kepekatan klorofil yang tinggi dalam sel manakala talus yang berwarna pudar menunjukkan kepekatan klorofil adalah rendah (Pinchetti *et al.*, 1998; Figueroa *et al.*, 2009; Torres *et al.*, 2015).

## **2.5 Kadar pengambilan nutrien**

Pengambilan nutrien adalah merujuk kepada pengangkutan ion tak organik melalui membran plasmalema manakala asimilasi merujuk kepada urutan tindakbalas ion tak organik ditukarkan kepada molekul organik seperti asid amino (Hurd *et al.*, 2014). Penentuan kadar pengambilan nutrien adalah dengan menentukan pengurangan kepekatan nutrien dalam media kultur (Dy & Yap, 2001). Terdapat dua kaedah yang digunakan untuk menentukan kadar pengambilan nutrien. Kaedah pertama melibatkan persampelan air berulang kali pada beberapa tempoh yang ditentukan daripada satu bekas yang sama. Kaedah ini digunakan untuk mengukur pengurangan nutrien dalam media mengikut masa. Namun kaedah ini adalah tidak sesuai untuk menganggar kadar maksimum pengambilan nutrien memandangkan

nutrisi talus berubah dengan masa. Kaedah kedua adalah kaedah inkubasi pendek yang menentukan kadar pengambilan nutrien menggunakan beberapa bekas yang mengandungi satu siri kepekatan pada tempoh yang ditentukan. Tempoh masa yang ditetapkan adalah antara 10 hingga 60 minit dan persampelan air dilakukan pada tempoh masa yang sama (Harrison *et al.*, 1989). Kaedah kedua adalah lebih sesuai dilakukan apabila kadar pengambilan nutrien oleh rumpai laut adalah berbeza mengikut masa (Harrison *et al.*, 1989).

Menurut Hanisak (1983) proses pengambilan nitrogen melibatkan tiga fasa iaitu nitrogen meresap melalui lapisan pegun (boundary layer) yang bersebelah permukaan talus rumpai laut seterusnya merentasi membran sel dan akhirnya diasimilasi kepada makromolekul. Spesies rumpai laut tertentu mempunyai keutamaan pengambilan nutrien yang tertentu. Pengambilan nutrien dalam bentuk yang berbeza adalah dipengaruhi oleh cahaya dan suhu (Valiela, 1984; Lapointe *et al.*, 1984; Korb & Gerard, 2000; Hwang *et al.*, 2011; Sun *et al.*, 2015). Banyak kajian menunjukkan kadar pengambilan ammonium lazimnya adalah lebih tinggi berbanding kadar pengambilan nitrat dan fosfat (DeBoer, 1981; Wallentinus, 1984; Thomas & Harrison, 1987; Pedersen & Borum, 1997; Rees, 2003; Cohen & Fong, 2004; Gil *et al.*, 2005; Rees *et al.*, 2007; Bracken & Stachowicz, 2006; Ale *et al.*, 2011; Kang *et al.*, 2011; Luo *et al.*, 2012). Terdapat juga rumpai laut yang mempunyai kadar pengambilan nitrat yang setara dengan ammonium (Probyn & Chapman, 1983; Thomas & Harrison, 1987) atau lebih tinggi berbanding ammonium (Thomas *et al.*, 1987; Ahn *et al.*, 1998; Bracken & Stachowicz, 2006).

Terdapat juga kajian menunjukkan kehadirannya ammonium dalam media merencat kadar pengambilan nitrat (D'Elia & DeBoer, 1978; Haines & Wheeler,

1978; Thomas & Harrison, 1985; Thomas & Harrison, 1987; Dy & Yap, 2001; Phillips & Hurd 2003; Lartigue & Sherman, 2006; Rees *et al.*, 2007; Buapet *et al.* 2008). Menurut Hurd *et al.* (2014) perencatan pengambilan nitrat oleh ammonium berlaku kerana kehadiran ammonium akan menyahaktifkan enzim nitrat reduktase yang digunakan dalam proses penurunan nitrat kepada nitrit. Peratus perencatan ammonium terhadap kadar pengambilan nitrat adalah bergantung kepada kepekatan ammonium dalam media (Hurd *et al.* 2014). Terdapat juga rumpai laut yang tidak mengalami kesan perencatan ammonium terhadap pengambilan nitrat (Haines & Wheeler 1978; Brenchley *et al.*, 1997; Ahn *et al.*, 1998; Rees *et al.* 2007).

Kadar pengambilan nutrien sesetengah spesies *Ulva* adalah dipengaruhi oleh cahaya. Kajian menunjukkan *Ulva prolifera* mempunyai kadar pengambilan ammonium yang tinggi dalam keadaan cahaya berbanding dalam keadaan gelap (Sun *et al.* 2015). Manakala kajian oleh Raikar & Wafar (2006) pula mendapati tiada perbezaan antara kadar pengambilan ammonium dalam keadaan cahaya dan dalam keadaan gelap oleh *Ulva lactuca*.

Lonjakan pengambilan nutrien (surge uptake) didapati berlaku kepada sesetengah rumpai laut. Lonjakan pengambilan ini memberi kelebihan kepada rumpai laut yang hidup pada persekitaran nutrien rendah untuk mendapatkan nutrien sebanyak yang boleh apabila kepekatan nutrien yang tinggi hadir pada persekitaran (Ho, 1993). Dy & Yap, (2001) menunjukkan lonjakan pengambilan adalah tinggi apabila kepekatan nutrien dalam media adalah tinggi dan kadar pengambilan ini adalah tidak dipengaruhi oleh kehadiran cahaya. Menurut mereka, terdapat tiga fasa lonjakan pengambilan nutrien. Fasa pertama adalah lonjakan pengambilan nutrien apabila nutrien yang diambil adalah melebihi keperluan untuk pertumbuhan. Fasa kedua adalah kadar pengambilan yang malar yang dikawal oleh faktor dalaman dan

fasa ketiga adalah fasa penurunan iaitu kadar pengambilan menurun akibat kekurangan ammonium dalam media dan dikawal oleh faktor luaran.

## **2.6 Kadar fotosintesis**

Rumpai laut adalah organisma autotrof yang menggunakan karbon dioksida dan tenaga daripada cahaya matahari untuk mensintesis molekul organik (seperti glukosa) dalam proses fotosintesis. Fotosintesis merupakan metabolisma utama rumpai laut dan dapat digunakan untuk mengukur kesan keadaan persekitaran terhadap rumpai laut (Lobban & Harrison, 1997). Proses fotosintesis menghasilkan tenaga menggunakan panjang gelombang cahaya tertentu yang melibatkan dua fotosistem iaitu Fotosistem I (PSI) dan Fotosistem II (PSII) yang kebanyakannya aktif pada panjang gelombang 680 nm dan 700 nm.

Kadar fotosintesis rumpai laut adalah dipengaruhi oleh keamatan cahaya, suhu, nutrien dan pergerakan air (Rosenberg & Ramus, 1982; Cabello-Pasini & Figueroa, 2005; Mata *et al.*, 2006; Msuya & Neori, 2008). Kajian fotosintesis rumpai laut telah banyak dilakukan (Jimenez *et al.*, 1996; Henley *et al.*, 1992; Beach *et al.*, 1995; Perez-Llorens *et al.*, 1996; Vergara *et al.*, 1997; Han *et al.* 2003). Semua kajian ini mengukur kadar fotosintesis dan respirasi pada keadaan terkawal untuk dibandingkan antara spesies atau keadaan persekitaran yang berbeza (suhu, cahaya, kemasinan, nutrien, karbon tak organik, dan lain-lain). Menurut Platt & Jassby, (1976) rumpai laut mempunyai keperluan cahaya yang berbeza bergantung kepada spesies dan persekitaran habitatnya.

Kajian menunjukkan kadar fotosintesis *Ulva* adalah berbeza mengikut spesies (Rosenberg & Ramus, 1982). Kadar fotosintesis *Ulva curvata* menjadi tepu pada

keamatan cahaya  $465 \mu\text{mol foton m}^{-2}\text{s}^{-1}$  (Rosenberg & Ramus, 1982; Beach *et al.*, 1995; Vergara *et al.*, 1997; Han *et al.* 2003) manakala fotosintesis *Ulva pertusa* tepu pada keamatan cahaya  $130\text{-}160 \mu\text{mol foton m}^{-2}\text{s}^{-1}$  (Beach *et al.*, 1995). Ketepuan fotosintesis adalah berkorelasi dengan masa, kepekatan klorofil dan kepekatan nitrogen dalam tisu (Vergara *et al.*, 1997). *Ulva lactuca* yang dikultur pada keamatan cahaya rendah berbanding cahaya tinggi akan beradaptasi dan mempunyai kepekatan klorofil yang tinggi (Sand-Jensen, 1988; Henley & Ramus, 1989; Israel *et al.*, 1993; Perez-Llorens *et al.*, 1996; Figueroa *et al.*, 2003; Bernardeau-Esteller *et al.*, 2005).

Kepekatan klorofil yang tinggi seterusnya menyebabkan kadar fotosintesis *U. lactuca* tinggi walaupun pada keamatan cahaya yang rendah. Namun, kadar fotosintesis maksimum yang terhasil setelah beradaptasi pada keamatan cahaya rendah adalah lebih rendah berbanding jika dikultur pada keamatan cahaya tinggi (Israel *et al.* 1993).

## BAB TIGA

### BAHAN DAN KAEDAH UMUM

#### 3.1 Kerja lapangan dan pemerolehan sampel

Sampel *Ulva reticulata* diperolehi dari pesisiran pantai Pulau Pinang yang terletak pada kedudukan ( $05^{\circ} 21' N$ ;  $100^{\circ} 20' E$ ) sewaktu air surut. Sampel dimasukkan ke dalam kotak polistirin berisi surat khabar yang dibasahkan dengan air laut untuk mengekalkan kelembapan dan sampel dibawa ke Pusat Kajian Samudera dan Pantai (CEMACS), Universiti Sains Malaysia. Sampel dibersihkan daripada kotoran dan epifit dan dikultur di dalam tangki gentian kaca berukuran 3.0 m (panjang) x 1.5 m (lebar) x 1.0 (m) tinggi yang mengandungi 500 L air laut berkemasinan  $30 \pm 1$  PSU. Tangki kultur diletakkan di kawasan lapang yang terdedah kepada cahaya dan pertukaran air dilakukan secara berterusan dengan mengalirkan air laut pada kadar  $50 \text{ L h}^{-1}$  (Plat 3.1).



Plat 3.1. *Ulva reticulata* yang dikultur di dalam tangki gentian kaca.

### **3.2 Aklimitasi sampel**

Sampel yang digunakan dalam setiap kajian dibersihkan daripada segala kekotoran dan dibawa balik ke Makmal Akuatik, Pusat Pengajian Sains Biologi, USM. Di dalam makmal sampel dibilas dengan air laut tiruan pada kemasinan 30 PSU dan dikultur di dalam akuarium bersaiz 0.6 m (panjang) x 0.3 m (lebar) x 0.3 m (tinggi) yang mengandungi 40 L air laut tiruan pada kemasinan 30 PSU selama tiga hari di dalam untuk tujuan aklimitasi. Kultur diberikan pengudaraan dan didedahkan kepada cahaya pada keamatan cahaya  $100 \mu\text{mol foton m}^{-2}\text{s}^{-1}$  selama 12 jam cahaya (7 pagi - 7 malam ) dengan menggunakan lampu akuarium (Dymax OB) dan 12 jam gelap (7 malam – 7 pagi).

### **3.3 Penyediaan air laut tiruan**

Air laut tiruan disediakan dengan melarutkan sejumlah garam laut (Instant Ocean, keluaran Aquarium System-USA) (Plat 3.2). Sejumlah 1.0 g garam diperlukan bagi menghasilkan 1.0 L air yang mempunyai kemasinan 1.0 PSU. Kemasinan diukur dengan menggunakan refraktometer (ATAGO, Jepun) (Plat 3.3).



Plat 3.2. Garam laut (Instant Ocean) tanpa nitrat dan fosfat yang digunakan dalam kajian.



Plat 3.3. Refraktometer yang digunakan untuk menentukan kemasinan air.

### 3.4 Penentuan berat sampel dan kadar pertumbuhan

#### 3.4.1 Penentuan berat basah

Berat *U. reticulata* ditimbang menggunakan penimbang (Shimadzu UW420H). Pertambahan berat sampel diperoleh dengan menimbang berat basah sampel sebelum dan selepas rawatan dengan menyerap air (mengeringkan air) daripada sampel menggunakan kertas tisu kering (Plat 3.4).



Plat 3.4. Kaedah pengeringan sampel *Ulva reticulata* menggunakan tisu kering.

#### 3.4.2 Penentuan berat kering *Ulva reticulata*

Sebanyak 5 replikat *U. reticulata* yang telah dikeringkan ditimbang seberat 5.0 g setiap satunya dan dibungkus menggunakan keranjang aluminium dan dikeringkan di dalam ketuhar (Memmert UM400) pada suhu 60°C selama 72 jam. Sampel yang telah kering ditimbang dan peratus berat kering ditentukan.

$$\% \text{ berat kering} = \frac{\text{berat akhir selepas pengeringan (g)}}{\text{berat akhir sebelum pengeringan (g)}} \times 100$$

### 3.4.3 Penentuan kadar pertumbuhan spesifik (KPS)

Kadar pertumbuhan sampel dikira menggunakan rumus kadar pertumbuhan spesifik (KPS) berdasarkan Campbell (2001).

$$\text{Kadar pertumbuhan spesifik (KPS) } \mu \text{ (\% h}^{-1}\text{)} = \frac{100 \times [\ln \text{ berat basah akhir (g)} - \ln \text{ berat basah awal (g)}]}{\text{masa (hari)}}$$

### 3.5 Penentuan kepekatan klorofil a & b

Tiga replikat *U. reticulata* yang telah diaklimatisasi (Bahagian 3.1) ditimbang seberat 0.6 g setiap satunya. Sampel kemudiannya dihancurkan sehingga menjadi lumat dengan menggunakan alu dan lesung. Semasa menghancurkan, sedikit pasir yang telah dibasuh dengan asid hidroklorik digunakan supaya mudah lumat dan 5.0 – 8.0 ml larutan aseton 90% dimasukkan bagi menghasilkan homogenat (Plat 3.5).

Homogenat yang terhasil dipindahkan ke dalam tiub pengempar dan diemparkan pada kelajuan 3000 rpm (putaran per minit) selama 10 minit menggunakan pengempar (KUBOTA 5010). Supernatan yang terhasil dipindahkan ke dalam silinder penyukat dan larutan aseton 90% ditambah sehingga isipadu menjadi 10.0 ml. Larutan yang terhasil dimasukkan ke dalam kuvet kaca. Klorofil a & b dikira dengan menentukan penyerapan cahaya pada jarak gelombang 664 nm dan 647 nm. Penyerapan cahaya jarak gelombang ini ditentukan dengan menggunakan spektrofotometer (Hatch Dr 2800). Berdasarkan kepada penyerapan cahaya, kepekatan pigmen dikira dengan menggunakan rumus penentuan kepekatan pigmen oleh Jeffrey & Humprey (1975).