

# Identifikasi Morfologi Dinoflagelata dari Fenomena Ledakan Populasi Alga di Pantai Lido, Johor Bahru Malaysia

ROZIRWAN

Program Studi Ilmu Kelautan FMIPA, Universitas Sriwijaya, Sumatera Selatan, Indonesia

**INTISARI:** Studi ini dilakukan untuk memastikan identitas dinoflagelata yang menyebabkan ledakan algae di perairan Pantai Lido, Johor Bahru pada Juli tahun 2002. Kultur klon berhasil ditumbuhkan dalam medium ES-DK pada suhu 26°C dengan siklus pencayaan 14:10 jam terang gelap. Pengamatan spesies dilakukan melalui mikroskop cahaya dan mikroskop elektron (SEM). Sel-sel yang dikultur berbentuk bulat bujur dengan ukuran panjang 13-22 m dan lebar 12-19  $\mu\text{m}$ . Keseluruhan permukaan valva diliputi oleh duri-duri yang pendek dan berpangkal lebar. Duri-duri tersebut tersebar secara merata pada permukaan sel. Satu duri apikal yang pendek juga ditemukan pada sel. Kolar periflagelanya bercabang. Gelang interkalari berjalur melintang dan sebagian sel terdapat pedunkel. Ciri-ciri morfologi tersebut menunjukkan bahwa spesies ini adalah *Prorocentrum minimum* atau *Prorocentrum balticum*. Namun hasil pengamatan tersebut lebih cenderung sebagai sel *P. minimum* karena bentuk sel yang tidak simetri.

**KATA KUNCI:** Alga blooms, Dinoflagellate, Plankton, *Prorocentrum minimum*, Red tide

**ABSTRACT:** This study was carried out to determine the identity of the dinoflagellate that formed massive blooms in Lido Beach, Johor Bahru in July 2002. Clonal cultures were established in ES-DK medium at 26°C under a 14:10 hour light dark cycle. Species identification was based on observations by light and scanning electron microscopy. Cultured cells were ovate in shape, with dimensions of 13-22 m in length and 12-19  $\mu\text{m}$  in width. Valves had short, board-based, and evenly distributed spines. A short apical spine was also present. The periflagellar collar was forked. The intercalary bands were transversely striated, and in some sells a peduncle was present. The morphological characters suggested that the species could be either *Prorocentrum minimum* or *Prorocentrum balticum*. However the isolate were designated as *P. minimum* based on the slightly asymmetrical cell shape.

**KEYWORDS:** Alga blooms, Dinoflagellate, Plankton, *Prorocentrum minimum*, Red tide

Mei 2010

## 1 PENDAHULUAN

Fitoplankton adalah organisme perairan yang sangat penting sebagai produsen utama pada rantai makanan. Namun beberapa spesies dapat mendatangkan masalah melalui produksi toksin yang dapat meracuni hewan laut dan juga manusia. Masalah keracunan makanan laut sering berhubungan dengan kejadian “*harmful alga blooms*” (HAB). Toksin yang dihasilkan oleh mikroalga dapat berkumpul dalam kerang-kerangan dan akhirnya sampai kepada manusia.

Di perairan Malaysia, fenomena alga blooms (HAB) sudah terjadi di beberapa tempat. HAB terjadi di pantai barat Sabah setiap tahun, spesies penyebabnya adalah *Pyrodinium bahamense* var. *compressum* Bohm. Spesies ini menghasilkan toksin yang menyebabkan keracunan kerang-kerangan yang dapat menimbulkan kelumpuhan atau lebih dikenal dengan sebutan *paralitich shellfish poisoning* (PSP). Hal ini

juga pernah terjadi pada perairan Asia Tenggara dan Pantai Pasifik Amerika Tengah<sup>[1-3]</sup>.

Pada tahun 1991, keracunan PSP terjadi di perairan Sebatu, Melaka. Pada kasus tersebut spesies yang menyebabkannya adalah *Alexandrium tamyavanichii*. September 2001 enam orang keracunan PSP, salah satu diantaranya meninggal setelah memakan kerang-kerangan *Polymesoda* sp. yang diambil dari perairan Tumpat, Kelantan. Pada kejadian tersebut spesies yang menyebabkannya adalah *Alexandrium minimum*<sup>[4]</sup>.

Kasus ledakan alga kembali terjadi yang terakhir di perairan Pantai Lido Johor Bahru pada bulan Juli 2002 dan bertahan beberapa bulan. Fenomena ini berdekatan dengan kawasan budidaya ikan dan kupang. Pada peristiwa tersebut tidak ada kasus keracunan manusia, tetapi ditemukan banyak ikan yang mati sehingga mengancam sektor perikanan. Untuk itu perlu ditindaklanjuti dengan melakukan penelitian tentang identifikasi spesies yang menyebabkan feno-

mena tersebut.

## 2 BAHAN DAN METODE

Sampel plankton diambil dari perairan Pantai Lido, pada bulan Agustus 2002 dengan menggunakan jaring plankton berukuran 10  $\mu\text{m}$ . Sampel diawetkan dengan lugol dan dibawa ke laboratorium, disimpan pada suhu 4°C. Pengamatan spesies dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya dan mikroskop elektron (SEM).

### 2.1 Pengamatan Mikroskop Cahaya

Morfologi dan bentuk struktur kepingan teka sel diamati dengan menggunakan metode pewarnaan kalkoflor dan mikroskop cahaya. Pengamatan sel dilakukan pada sampel lapangan dengan menggunakan mikroskop Olympus BX51 dan pengambilan gambar dengan kamera CCD Colorview12 (Soft Imaging System, Germany).

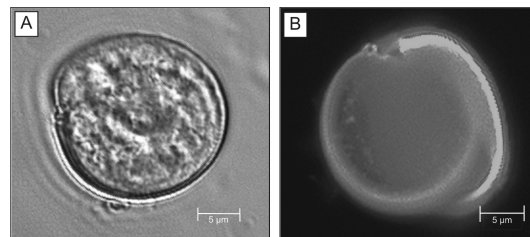
### 2.2 Mikroskop Elektron (SEM)

Sampel dilakukan metode pengemparan (*centrifuge*) selama lima menit dengan kecepatan 5000 rpm. Kemudian sel sebanyak  $\pm 500 \mu\text{L}$  dimasukkan ke dalam *ependorf tube* dan ditambahkan dengan osmium tetroksida ( $\text{OsO}_4$ ) 1% (BDH, England) dengan perbandingan 1:1 (volume). Kemudian dibiarkan pada suhu kamar selama satu jam dan selanjutnya disaring dengan membran saringan berukuran 0.22  $\mu\text{m}$ . Tahap berikutnya adalah proses dehidrasi dilakukan secara bertingkat dengan kadar kepekatan etil alkohol (EtOH) meliputi; 30%, 50%, 70% dan 95% dan dibiarkan selama 10 menit pada setiap kepekatan. Kemudian sel disaring dengan membran polikarbonat hitam (Poretics). Setelah itu, sampel dibiarkan kering semalaman pada suhu kamar. Selanjutnya membran dilekatkan di atas stub dan diselaputi dengan serbuk emas menggunakan Sputter Coater model SC500 (Bio-Rad). Sampel diamati dengan alat SEM Philips XL30.

## 3 HASIL DAN DISKUSI

### 3.1 Hasil

Hasil pengamatan dengan menggunakan mikroskop cahaya menunjukkan bahwa spesies yang membuat fenomena *algae blooms* di perairan Pantai Lido pada bulan Juli 2002 adalah dinoflagelata *Prorocentrum minimum* (Pavillard) Schiller. Sel spesies ini memiliki ciri-ciri meliputi bentuk hampir bulat. Nukleus terletak di tengah-tengah bagian sel. Apeks sel kelihatan seperti 'V' pada bagian anterior di bawah cahaya ultra violet. Ukuran panjang sel pada kisaran 13-22  $\mu\text{m}$  dan lebar 12-19  $\mu\text{m}$  (Gambar 1).



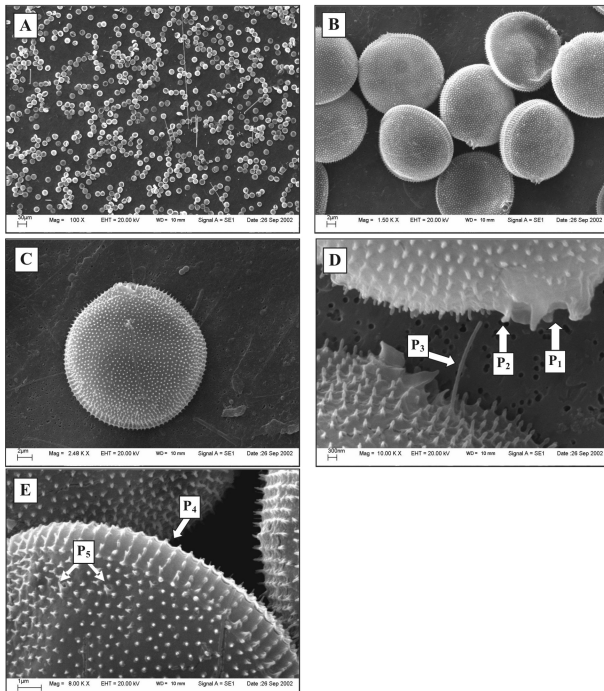
GAMBAR 1: Pengamatan sel *P. minimum* di bawah mikroskop cahaya dan ultra violet. (A) Nukleus terletak di tengah-tengah sel. (B) Pandangan bentuk sel dengan mikroskop cahaya yang menunjukkan apeks sel berbentuk 'V'

Sel *P. minimum* merupakan sel tunggal yang tidak simetris dan memiliki ukuran hampir seragam. Keseluruhan permukaan sel terdapat duri-duri pendek dan berpangkal lebar (Gambar 2; A dan B). Daerah periflagela berbentuk 'V' yang dikelilingi oleh duri-duri berukuran lebih besar berbanding dengan duri-duri yang terdapat di teka sel. Duri-duri tersebut berbentuk seperti kelopak bunga (Gambar 2; C dan D). Sel juga memiliki gelang interkalari berjalur melintang dan sebagian sel terdapat pedunkel. Di permukaan sel bukan hanya terdapat duri-duri tetapi juga lubang-lubang halus yang terletak di pangkal duri-duri tersebut (Gambar 2; E).

### 3.2 Pembahasan

Pengamatan morfologi *P. minimum* dengan mikroskop elektron menunjukkan bentuk sel oval dan tidak simetris. Permukaan sel secara keseluruhan ditumbuhi oleh duri-duri dan lubang-lubang trikosis yang halus. Daerah periflagela berbentuk 'V' dan memiliki duri yang mirip seperti kelopak bunga. Kolar periflagela bercabang, memiliki duri apikal pendek, dan juga terdapat pedunkel. Gelang interkalari berjalur melintang yang tersusun oleh duri-duri. Ciri-ciri ini memiliki banyak kesamaan dengan kajian Dodge<sup>[5]</sup>, Steidinger dan Tangen<sup>[6]</sup>, dan Tomas<sup>[7]</sup> yang menggambarkan spesies *P. minimum* mempunyai duri apikal yang pendek. Valva diliputi duri-duri berpangkal lebar yang mencapai 600-700 tiap-tiap valva. Sel mempunyai dua valva yang pendek dan dua jenis lubang yaitu lubang halus dan besar. Lubang halus tersebar di seluruh permukaan valva yang nampak seperti mempunyai penutup dan lubang yang besar terdapat pada daerah periflagela. Daerah periflagelanya berbentuk 'V' yang pendek. Daerah tersebut mempunyai delapan bagian apikal dengan lubang berukuran besar, flagela dan lubang berukuran kecil serta aksiliari. Namun, mulut sel kurang begitu nampak sehingga tidak dapat digambarkan dengan jelas.

Morfologi spesies pada kajian ini memiliki banyak kesamaan dengan spesies yang menyebabkan ledakan algae di perairan Filipina Utara pada Januari 2002<sup>[8]</sup>.



GAMBAR 2: Mikrograf SEM *P. minimum* (Pavillard) Schiller. (A) Sel-sel ini merupakan sel tunggal. (B) Secara keseluruhan sel-sel berbentuk bulat yang berukuran hampir seragam. (C) Pada bagian ini bentuk sel tidak simetris dan secara keseluruhan permukaan sel ditumbuhi oleh duri-duri halus. (D) Daerah periflagela memiliki duri yang mirip seperti kelopak bunga. Kolar periflagela bercabang (P1), memiliki duri apikal pendek (P2) dan juga terdapat pendunkel (P3). (E) Bagian ini menunjukkan bahwa sel ini memiliki gelang interkalari. Gelang interkalari berjalur melintang yang tersusun oleh duri-duri (P4), dan memiliki lubang-lubang halus pada pangkal duri yang terlihat jelas (P5)

Ciri-ciri yang mirip tersebut adalah bentuk sel yang oval dengan ukuran panjang 14-18  $\mu\text{m}$ . Permukaan valva ditaburi duri-duri. Jalur interkalari yang melintang pada tepi valva. Duri anterior agak pendek. Nukleus terletak pada posterior, spesies ini dinamakan *P. minimum*.

Namun bentuk morfologi spesies ini juga memiliki kemiripan yang sulit untuk dibedakan dengan spesies *P. balticum*. Banyak kajian telah dilakukan untuk membedakan kedua spesies ini, tetapi tetap saja sulit untuk mengambil keputusan. Berdasarkan kajian Toriumi<sup>[9]</sup> yang digambarkan bahwa sel *P. balticum* berukuran kecil, permukaan valva diliputi oleh duri-duri dan lubang-lubang halus. Daerah periflagela berukuran kecil yang mempunyai dua lubang. Namun *P. balticum* dilaporkan mempunyai ukuran lebih kecil dan berbentuk lebih bulat *P. minimum*.

Ukuran sel kajian memiliki panjang 13-22  $\mu\text{m}$  dan lebar 12-19  $\mu\text{m}$ . Ukuran sel ini relatif sama dengan kajian Dodge<sup>[10]</sup>, Faust dan Gullede<sup>[11]</sup>, dan Tomas<sup>[7]</sup>

menunjukkan ukuran sel *P. minimum* memiliki panjang 14-22  $\mu\text{m}$  dan lebar 10-15  $\mu\text{m}$ . Pada kajian-kajian lain dinyatakan juga bahwa ukuran sel *P. minimum* lebih besar berbanding dengan *P. balticum*<sup>[7,11,12]</sup>. Mereka menyatakan juga ukuran sel *P. balticum* memiliki panjang 9-18  $\mu\text{m}$  dan lebar 7-15  $\mu\text{m}$ . Sementara perbedaan yang lain pada daerah periflagela, *P. minimum* mempunyai hanya satu duri apikal dan memiliki kolar yang bercabang<sup>[7,11,12]</sup>.

Morfologi sel kajian ini lebih banyak memiliki kesamaan dengan *P. minimum* dibandingkan dengan *P. balticum*. Perbedaan ini dilihat pada bentuk sel baik yang berbentuk oval maupun bulat, ukuran sel dan jumlah duri apikal serta kolar yang bercabang. Merujuk kajian<sup>[5]</sup> menggambarkan *P. balticum* pada dasarnya berbeda dengan *P. minimum*.

Berdasarkan data morfologi yang didapat tersebut sejauh ini memberi dukungan kuat bahwa *P. minimum* dan *P. balticum* adalah spesies yang sama. Hal ini merupakan salah satu permasalahan dalam taksonomi dinoflagelata yaitu para peneliti telah menamakan banyak spesies baru berdasarkan perbedaan morfologi yang kecil. Contohnya adalah dalam genus Alexandrium, dimana *A. tamarense*, *A. fundyense* dan *A. catenella* diberikan tingkatan spesies walaupun sebenarnya ketiga-tiga spesies tersebut diduga sama. Kesamaan ini terbukti melalui jujukan nukleotida gen ribosom RNA<sup>[13,14]</sup>.

#### 4 KESIMPULAN

Kajian ini menunjukkan *P. minimum* adalah satu lagi spesies yang membentuk HAB di perairan Malaysia. Secara morfologi ciri-ciri spesies ini sulit dibedakan dengan *P. balticum*, seperti ukuran sel, bentuk, jalur interkalari, daerah periflagela dan sebagainya. Kemiripan dua spesies ini cukup banyak. Untuk mengetahui identitas sel lebih jelas perlu dilakukan identifikasi secara molekular. Disamping itu juga perlu dilakukan pengamatan ketoksikan spesies ini.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih banyak saya ucapkan kepada Prof. Dr. Gires Usup selaku head of laboratorium marine microbiotechnology, Marine Science Program, Faculty of Science and Technology, Universiti Kebangsaan Malaysia yang telah membimbing dan mendanai penelitian ini.

#### DAFTAR PUSTAKA

- [1] Rosales-Loessener, F., E. D. Porras & M. W. Dix, 1989, Toxic shellfish poisoning in Guatemala. In T. Okaichi, D. M. Anderson, & T. Nemoto, (pnyt.), *Red Tides, Environmental Science and Toxicology*, hlm. 113-116, Elsevier, New York
- [2] Orellana-Cepeda, E., E. Martinez-Romero, L. Munoz-Cabrera, P. Lopez-Ramirez, E. Cabrera-Mancilla, & C. Ramirez-Camarena, 1998, Toxicity associated with blooms of *Pyrodinium bahamense* var., *compressum* in

- southwestern Mexico, Dlm. G. Usup, L.C. Pin, A. Ahmad, & L.P. Teen, (pnyt.), *Alexandrium (Dinophyceae) species in Malaysian waters*, hlm. 265, Elsevier, New York
- [3] Usup, G. & R.V. Azanza, 1998, Physiology and blooms dynamics of the tropical dinoflagellate *Pyrodinium bahamense*, Dlm. G. Usup, C.P. Pin, A. Ahmad, L.P. Teen, (pnyt.), *Alexandrium (Dinophyceae) species in Malaysia waters*, hlm. 265, Elsevier, New York
- [4] Usup, G., C.P. Pin, A. Ahmad, & L.P. Teen, 2002a, *Alexandrium (Dinophyceae) species in Malaysia waters*, *Harmful Algae* 1: 265-275
- [5] Dodge, J.D., 1982. *Marine dinoflagellates on the British Isles*, University of London, London
- [6] Steidinger, K.A. & K. Tangen, 1996, Some taxonomic and biologic aspects of toxic dinoflagellates, Dlm. S.L. Morton, M.A. Faust, E.A. Faurey, & P.D.R. Moeller, (pnyt.), *Morphology and toxicology of Prorocentrum arabianum sp. Nov., (dinophyceae) a toxic planktonic dinoflagellate from the Gulf of Oman, Arabian Sea*, hlm 393, Elsevier, New York
- [7] Tomas, C.R., 1997, *Identifying marine phytoplankton*, Academic Press, San Diego
- [8] Azanza, R.V., Y. Fukuyo, L.G. Yap, & H. Takayama, 2005, *Prorocentrum minimum* bloom and its possible link to a massive fish kill in Bolinao, Pangasinan, Northern Philippines, *Harmful Algae* 4: 519-524
- [9] Toriumi, S., 1980, *Prorocentrum* species (Dinophyceae) causing red tide in Japanese coastal waters. *Bull. Plank. Soc. Jap.*, 27: 105-112
- [10] Dodge, J.D., 1975, The proroceales (dinophyceae). II. Revision of the taxonomy within the genus *Prorocentrum*. *Bot. J. Linn. Soc.*, 71: 10125
- [11] Faust, M.A. & R.A. Guedge, 2002, *Identifying harmful marine dinoflagellate*, United States National Herbarium, Washington
- [12] Faust, M.A., J. Larsen, & O. Moestrup, 1999, Potentially toxic phytoplankton, Dlm. M.A. Faust & R.A. Guedge, (pnyt.), *Identifying harmful marine dinoflagellate*, hlm. 55-66, United States National Herbarium, Washington
- [13] Scholin, C.A., 1998, Development of nucleic acid probe-based diagnostics for identifying and enumerating harmful algal bloom species, Dlm. D.M. Anderson, A.D. Cembella, & G.M. Hallegraeff, (pnyt.), *Physiological ecology of harmful algal blooms*, hlm. 337, Springer, Berlin
- [14] Usup, G., C.P. Pin, A. Ahmad, & L.P. Teen, 2002b, Phylogenetic relationship of *Alexandrium tamiyavanichii* (Dinophyceae) to other *Alexandrium* species based on ribosomal RNA gene sequence, *Harmful Algae*, 1: 59-69