

EFFECT OF LIGHT INTENSITY ON THE CELL DENSITY, DIAMETER AND CELL VOLUME ZOOXANTHELLAE FROM ISOLATE SOFTCORAL *Zoanthus* sp

Suliswati¹ · Esti Harpeni¹ · Moh. Muhaemin¹

Ringkasan Coral reefs are one of the aquatic ecosystem trophic productive for aquatic organisms. Coral reefs can not be separated from the various threat of causing damage. Physiological damage that is visible coral bleaching. Bleaching of coral reefs due to causes it may be the biggest threat to coral ecosystems due to widespread in various regions. Coral bleaching causing the loss of endosymbiont coral or reduction of photosynthetic pigments zooxanthellae of corals. Zooxanthellae need light for photosynthesis. The process will produce energy which serves for the biosynthesis cell, growth and cell division. Therefore light plays an important role in the process of photosynthesis. This research aims were to know the cell density, diameter and volume zooxanthellae cells on different light intensity. The research was conducted on July-August 2016, in the Aquaculture Laboratory, Program Study of Aquaculture Faculty of Agriculture University of Lampung. Observed parameters were the density, diameter and volume zooxanthellae cells. Research used the 4 treatments and 5 replications namely 3800 lux (IC₁), 6250 lux (IC₂), 7980 lux (IC₃), and 11800 lux (IC₄). Measurement of the density and diameter of zooxanthellae cells used a hemocytometer neubauer improved and objective micrometer (0.01 mm). Data were analyzed by analysis of variance (ANOVA) and followed by LSD test.

¹Jurusan Perikanan dan Kelautan Fakultas Pertanian Universitas Lampung. Jalan Prof. Soemantri Brodjonegoro No. 1 Bandar Lampung 35145
E-mail: mmuhaemin@gmail.com

The results showed that the intensity of light significantly affected the density, diameter and volume zooxanthellae cells. Intensity light given by zooxanthellae responded with increased density and a decrease the diameter and volume zooxanthellae cells in the early stages of culture (0-18 hours).

Keywords *Bleaching, algae, light, photosynthesis*

Received : 25 Nopember 2016

Accepted : 12 Desember 2016

PENDAHULUAN

Terumbu karang merupakan salah satu ekosistem perairan tropik yang produktif bagi organisme perairan. Terumbu karang memiliki fungsi ekologis sebagai habitat, berkembang biak biota laut dan fungsi ekonomi terumbu karang sebagai sumber daya perikanan dan pariwisata (Reid et al., 2011), namun dengan banyaknya manfaat tersebut terumbu karang tidak terlepas dari berbagai ancaman yang menyebabkan kerusakan. Data terbaru Pusat Peneliti Oseanografi LIPI tahun 2012 menunjukkan bahwa hanya 5,3% terumbu karang indonesia tergolong sangat baik, 27,18% berkondisi baik, 37,25% berkondisi cukup dan 30,45% berada dalam kondisi buruk. Kerusakan ekosistem terumbu karang dapat disebabkan oleh kegiatan manusia dan akibat alam (Rembet, 2012). Kerusakan yang disebabkan oleh alam salah

satunya yaitu perubahan intensitas dan fotoperiodesitas cahaya matahari akibat pemanasan global. Hal tersebut menyebabkan kerusakan fisiologis karang yaitu pemutihan terumbu karang. Pemutihan terumbu karang dapat pula terjadi pada organisme bukan pembentuk terumbu, contohnya yaitu karang lunak, anemon dan beberapa jenis kima.

Peristiwa pemutihan yang luas dan berlangsung lama dapat menurunkan produktivitas ekosistem terumbu karang. Terumbu karang yang mengalami pemutihan dapat pulih secara alami tetapi membutuhkan waktu yang sangat lama. Waktu yang dibutuhkan terumbu karang untuk kembali pulih dan mengembalikan ekosistem seperti sebelumnya membutuhkan waktu \pm 25 tahun (Berumen and Pratchett, 2006). Hewan karang dapat pulih dari kejadian pemutihan karang dengan merekrut kembali zooxanthellae dari lingkungan perairan ketika kondisi membaik.

Zooxanthellae yang berperan sebagai endosimbion pada karang membutuhkan cahaya untuk proses fotosintesis (Reid et al., 2011). Proses awal fotosintesis zooxanthellae adalah mengabsorpsi cahaya. Proses fotosintesis akan menghasilkan energi (ATP) yang berfungsi untuk biosintesis sel, pertumbuhan dan pertambahan sel, bergerak atau berpindah dan bereproduksi. Selain itu cahaya yang diterima zooxanthellae akan mempengaruhi fisiologi, komponen biokimia dan ultrastruktur sel serta tingkat perilaku sel (Anthony and Hoegh-Guldberg, 2003).

Proses fotosintesis akan meningkat bersama dengan meningkatnya intensitas cahaya hingga nilai optimum tertentu. Cahaya yang diterima zooxanthellae terlalu tinggi atau di atas nilai optimum dapat menyebabkan fotooksidasi atau kerusakan pigmen fotosintesis. Jika tingkat kerusakan melebihi tingkat perbaikan maka terjadi penurunan efisiensi fotosintesis yang disebut photoinhibisi. Sedangkan cahaya rendah di bawah nilai optimum merupakan cahaya pembatas untuk proses fotosintesis. Pada cahaya rendah zooxanthellae harus membuat pigmen fotosintesis memaksimalkan kerja dalam menyerap cahaya (Anthony and Hoegh-Guldberg, 2003). Kurangnya intensitas cahaya akan menyebabkan proses fotosintesis tidak berlangsung normal sehingga mengganggu pertumbuhan

Tabel 1 Komposisi Media Kultur Zooxanthellae (*sesuai kebutuhan)

Bahan Kimia	Media Cair (1 L)	Stok/950 ml air laut steril	Literatur
Biotin	10 ml	0.1 gr	
Thiamine.HCL	200 mg	-	(Purnomo, 2011)
Pupuk Conwy	1 ml	-	(Muhaemin et al., 2015)
Kanamycin*	50 µg/ml	-	
Amoxicillin *	100 µg/ml	-	(Soffer, 2009)
Streptomycin *	50 µg/ml	-	

an ukuran sel, terutama pada proses biosintesis sel (Matakupan, 2009). Intensitas cahaya memegang peranan penting dalam proses fotosintesis. Oleh karena itu dilakukan penelitian tentang pengaruh intensitas cahaya terhadap kepadatan, diameter dan volume sel zooxanthellae.

MATERI DAN METODE

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juli-Agustus 2016, bertempat di Laboratorium Budidaya Perikanan Jurusan Perikanan dan Kelautan Fakultas Pertanian Universitas Lampung.

Sterilisasi alat dilakukan dengan beberapa cara, diantaranya sterilisasi dengan perebusan, sterilisasi fisik dengan alkohol 70%, alat tersebut diantaranya *hemocytometer neubauer improved*, *objective micrometer* (0,01mm), pipet tetes, *laminar air flow*, area preparasi dan area kultur. Sterilisasi dengan *autoklaf wiseclave* yaitu botol kultur dan air laut. Air laut sebelumnya telah disaring dan disterilisasi menggunakan UV di PT. Central Proteina Prima Tbk, Kalianda Lampung Selatan.

Media kultur zooxanthellae dibuat dengan air laut steril (30 ppt) yang ditambahkan bahan-bahan pengkaya sebagai nutrisi zooxanthellae (Tabel 1).

Tahap kultur zooxanthellae yang dilakukan dengan cara sebagai berikut :

1. Polip karang *Zoanthus* sp dimortar dan ditambahkan sedikit air, disaring menggunakan kertas saring (0,045 µm) dan dilakukan perhitungan kepadatan awal sel zooxanthellae.
2. Media kultur dihomogenkan di atas hot stirrer plate Stuart CB162 selama 10 menit lalu didinginkan.

Tabel 2 Nilai optimum kualitas air kultur zooxanthellae

Parameter	Nilai Optimum	Literatur
Suhu	25 - 38°C	(Hill et al., 2009)
Salinitas	25 - 37 ppt	(Hadikusuma, 2007)
pH	7.0 - 9.0	(Gunawan, 2015)

- Inokulum dimasukkan ke dalam media kultur dengan kepadatan awal $126,67 \times 10^3$ sel/ml.
- Zooxanthellae dipelihara pada 4 intensitas cahaya yang berbeda, yaitu IC₁ 3800 lux, IC₂ 6250 lux, IC₃ 7980 lux dan IC₄ 11800 lux dengan diberi aerasi, masing-masing perlakuan sebanyak 5 ulangan
- Pengamatan kepadatan, diameter dan volume sel zooxanthellae diamati setiap 6 jam sekali.

Perhitungan jumlah sel zooxanthellae menggunakan kamar hitung pada preparat hemocytometer neubauer improved dengan perbesaran 100x (Preisig and Andersen, 2005). Kepadatan sel dalam 1 ml sampel dapat dihitung dengan rumus :

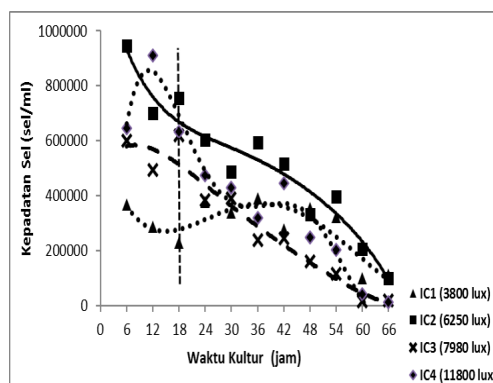
$$\text{Kepadatan sel (sel/ml)} = \frac{\sum \text{sel zooxanthellae}}{\sum \text{kotak pengamatan}} \times 10000 \quad (1)$$

Pengamatan dilakukan dengan menggunakan objective micrometer dengan ketelitian 0,01 mm, selanjutnya diamati dengan perbesaran 400x. Data diameter sel zooxanthellae digunakan untuk menghitung volume sel zooxanthellae dengan rumus :

$$\text{Volume sel } (\mu\text{m}^3) = \frac{4}{3} \pi r^3 \quad (2)$$

dimana: π adalah ketetapan (3.14); r adalah $\frac{1}{2}$ diameter

Parameter kualitas air yang diukur pada penelitian yaitu suhu, salinitas dan pH. Parameter kualitas air dijaga secara optimum selama masa kultur zooxanthellae (Tabel 2). Data hasil penelitian diuji dengan menggunakan uji Anova pada tingkat kepercayaan 95% dan analisis regresi pada koefisien determinasi dan korelasi. Apabila terdapat perbedaan nyata antara perlakuan maka dilanjutkan uji lanjut Beda Nyata Terkecil (BNT/ LSD) (Steel and Torrie, 1993).

**Gambar 1** Kepadatan Sel Zooxanthellae Ket.garis vertikal = garis pembatas (0-18 jam)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Zooxanthellae yang dikultur pada intensitas cahaya berbeda menunjukkan titik sebaran data kepadatan sel yang berfluktuasi namun semakin menurun selama masa kultur 66 jam (Gambar 1). Hal tersebut menunjukkan bahwa zooxanthellae masih dalam fase adaptasi. Zooxanthellae masih beradaptasi pada media baru sehingga belum terjadinya peningkatan kepadatan sel yang signifikan. Fase adaptasi merupakan fase pertumbuhan mikroalga yang ditandai dengan perubahan densitas ataupun biomassa (sel/ml) yang relatif kecil dan tidak signifikan persatuan waktu kultur (Muhaemin et al., 2005).

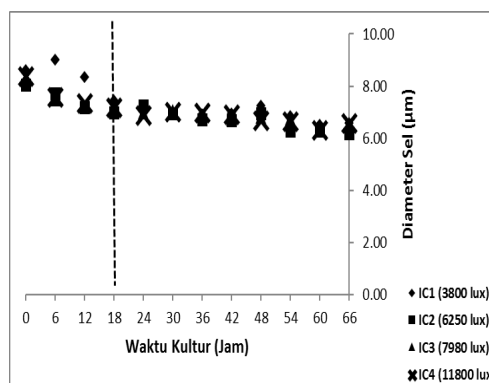
Kepadatan sel zooxanthellae berfluktuasi pada kisaran waktu 0-18 jam pada tiap perlakuan yang diberikan. Intensitas cahaya yang berbeda direspon oleh zooxanthellae dengan kepadatan sel yang berbeda pula. Intensitas cahaya IC₂ (6250 lux) direspon zooxanthellae dengan kepadatan sel yang tinggi. Hal tersebut menandakan bahwa fotopigmen zooxanthellae mampu memanfaatkan cahaya untuk melakukan proses fotosintesis dengan baik sehingga dapat melakukan pembelahan sel. Intensitas IC₃ dan IC₄ direspon dengan kepadatan sel yang berfluktuasi namun kepadatan sel menurun seiring bertambahnya waktu kultur. Intensitas cahaya tinggi dan penyinaran secara terus menerus dapat menyebabkan kerusakan pigmen sehingga efisiensi fotosintesis zooxanthellae akan menurun. Kerusakan pigmen fotosintesis mampu menyebabkan sintesis protein yang terjadi dalam kloroplas mengalami degradasi, proses

tersebut mampu mengakibatkan laju fotosintesis menurun dan menghambat laju pertumbuhan (Lidholm et al., 1987).

Intensitas cahaya IC₁ (3800 lux) direspon juga dengan kepadatan sel yang rendah. Sebaran titik kepadatan sel yang relatif stabil menandakan bahwa laju fotosintesis zooxanthellae berjalan lambat. Hubungan antara waktu pengamatan dengan kepadatan sel zooxanthellae menunjukkan nilai koefisien determinasi (R^2) lebih dari 0,746. Hal tersebut menunjukkan bahwa model polinomial mampu menjelaskan keragaman data dengan baik. Hasil uji ANOVA menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,000 pada $p \leq 0,05$. Nilai tersebut menunjukkan bahwa perlakuan intensitas cahaya memiliki pengaruh terhadap kepadatan sel zooxanthellae. Berdasarkan uji BNT/LSD terdapat perbedaan kepadatan sel zooxanthellae pada tiap perlakuan kecuali antara perlakuan IC₃ dengan IC₁ tidak terdapat perbedaan yang signifikan.

Zooxanthellae yang ditemukan pada penelitian selama masa kultur 66 jam di media cair yaitu berbentuk *coccolid* (*non-motil*), berwarna coklat pekat dan diameter sel berkisar antara 6-10 μm . Zooxanthellae pada fase *coccolid* yang terdapat dalam hewan inangnya mempunyai sel berbentuk agak bulat mempunyai ukuran terbesar kurang lebih 10-14 μm (Nontji, 1984).

Ke-empat perlakuan menunjukkan titik sebaran kepadatan sel yang semakin menurun selama masa kultur 66 jam (Gambar 2). Perlakuan intensitas cahaya yang diberikan direspon oleh zooxanthellae pada awal kultur yaitu 0-18 jam. Intensitas cahaya tinggi (IC₄) pada 0-18 jam direspon oleh zooxanthellae dengan ukuran diameter sel yang kecil, namun intensitas cahaya rendah (IC₁) direspon oleh zooxanthellae dengan sel yang tetap besar. Selanjutnya diameter sel menurun yang ditandai dengan sebaran titik diameter sel yang saling berhimpitan (18-66 jam). Perbedaan ukuran sel mengindikasikan bahwa sel beradaptasi dengan cara memperkecil ukuran sel agar dalam proses fotosintesis transfer energi dapat berjalan lebih efisien. Ukuran sel mikroalga mempengaruhi efisiensi transfer energi pada ekosistem air laut (Ryther et al., 1969).



Gambar 2 Diameter Sel Zooxanthellae Ket.garis vertikal = garis pembatas (0-18 jam)

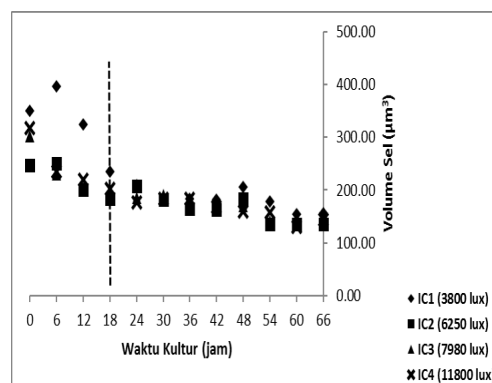
Respon adaptasi sel zooxanthellae tidak hanya dapat dilihat melalui ukuran sel melainkan melalui struktur dan perubahan warna sel zooxanthellae. Sel zooxanthellae pada jam kultur ke-0 menunjukkan struktur sel yang bulat, berwarna coklat pekat, dan diameter berkisar antara 6-12 μm . Pengamatan dilakukan hingga jam kultur ke-66 dengan struktur sel zooxanthellae telah mengalami kerusakan. Struktur sel zooxanthellae menjadi tidak bulat, struktur dalam sel zooxanthellae tidak dapat diamati akibat spesifikasi alat yang kurang optimal, rata-rata diameter sel berkisar antara 6-7 μm , selain itu juga terdapat perubahan warna pada zooxanthellae dengan warna awal coklat pekat menjadi semakin pudar hingga transparan. Warna transparan dari zooxanthellae menunjukkan sel alga kehilangan pigmen fotosintesis (Szmant and Gassman, 1990). Struktur sel zooxanthellae yang sehat memperlihatkan adanya dinding sel yang masih utuh dan bulat, berwarna kuning kecoklatan dan di bagian dalam sel terlihat pyrenoid dan accumulation body (Juniarta et al., 2005).

Hubungan antara waktu pengamatan dengan diameter sel zooxanthellae tiap perlakuan diperoleh nilai koefisien determinasi (R^2) lebih dari 0,800. Hal tersebut menunjukkan bahwa model polinomial mampu menjelaskan keragaman data dengan sangat baik. Hasil uji ANOVA menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,022 pada $p \leq 0,05$. Nilai tersebut menunjukkan bahwa perlakuan intensitas cahaya memiliki pengaruh terhadap diameter sel zooxanthellae. Selain itu hasil uji lanjut BNT/LSD terdapat perbedaan diameter sel zooxanthellae pada per-

lakukan IC₁ (3800 lux) dengan ketiga perlakuan (IC₂, IC₃, dan IC₄), sedangkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara perlakuan IC₂, IC₃ dan IC₄.

Hubungan volume sel dengan intensitas cahaya yang berbeda terhadap waktu kultur menunjukkan sebaran titik yang sama dengan diameter sel yaitu volume sel menurun selama masa kultur 66 jam (Gambar 3). Volume rata-rata sel zooxanthellae terbesar selama kultur 66 jam terdapat pada IC₁. Hal tersebut dapat disebabkan karena pada IC₁ merupakan pencahayaan rendah yaitu 3800 lux. Penurunan volume sel yang bertahap persatuan waktu kultur dapat dipengaruhi oleh pigmen fotosintesis maupun komposisi biokimia sel yang tidak terdegradasi secara signifikan pada cahaya rendah. Proses fotosintesis dan cahaya akan mempengaruhi komposisi biokimia dan volume sel (Morris, 1980). Perlakuan IC₂, IC₃ dan IC₄ diperoleh volume sel yang kecil. Hal tersebut dapat disebabkan oleh semakin tingginya intensitas cahaya yang diterima sel akan mempengaruhi pigmen fotosintesis sel zooxanthellae. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Brown and Richardson (1968) yang mempelajari efek intensitas cahaya pada pertumbuhan dan fisiologis pada alga menunjukkan bahwa volume sel dan kloroplas menurun seiring dengan meningkatnya intensitas cahaya (Brown and Richardson, 1968). Mikroalga uniseluler menanggapi perubahan cahaya lingkungan dengan terjadinya perubahan pada karakteristik selular yang meliputi kandungan pigmen intraseluler, respon fotosintesis, komposisi kimia, dan volume sel (Falkowski and Owens, 1980).

Hubungan antara waktu pengamatan dengan volume sel zooxanthellae menunjukkan nilai koefisien determinasi (R^2) lebih dari 0,843. Hal tersebut menunjukkan bahwa model polinomial mampu menjelaskan keragaman data dengan sangat baik. Hasil uji ANOVA menunjukkan nilai signifikan sebesar 0,000 pada $p \leq 0,05$. Nilai tersebut menunjukkan bahwa perlakuan intensitas cahaya memiliki pengaruh terhadap volume sel zooxanthellae. Berdasarkan uji LSD terdapat perbedaan volume sel zooxanthellae pada perlakuan IC₁ terhadap ketiga perlakuan IC₂, IC₃, dan IC₄. Sedangkan tidak terdapat



Gambar 3 Volume Sel Zooxanthellae Ket.garis vertikal = garis pembatas (0-18 jam)

perbedaan yang signifikan antara perlakuan IC₂, IC₃ dan IC₄.

SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diperoleh kesimpulan yaitu pemberian intensitas cahaya yang berbeda memberikan pengaruh terhadap kepadatan, diameter dan volume sel zooxanthellae. Intensitas cahaya yang diberikan akan direspon oleh zooxanthellae pada fase awal kultur (0-18 jam). Intensitas cahaya 6250 lux pada 0-18 jam direspon zooxanthellae dengan kepadatan sel yang tinggi, dengan ukuran diameter dan volume sel yang relatif kecil. Sedangkan intensitas cahaya rendah 3800 lux pada 0-18 jam direspon zooxanthellae dengan kepadatan sel yang rendah dengan ukuran diameter dan volume sel yang relatif besar.

Pustaka

- Anthony, K. and Hoegh-Guldberg, O. (2003). Variation in coral photosynthesis, respiration and growth characteristics in contrasting light microhabitats: an analogue to plants in forest gaps and understoreys? *Functional Ecology*, 17(2):246–259.
- Berumen, M. L. and Pratchett, M. S. (2006). Recovery without resilience: persistent disturbance and long-term shifts in the structure of fish and coral communities at tiahura reef, moorea. *Coral reefs*, 25(4):647–653.

- Brown, T. E. and Richardson, F. L. (1968). The effect of growth environment on the physiology of algae: light intensity. *Journal of phycology*, 4(1):38–54.
- Falkowski, P. G. and Owens, T. G. (1980). Light shade adaptation two strategies in marine phytoplankton. *Plant Physiology*, 66(4):592–595.
- Gunawan, G. (2015). Pengaruh perbedaan pH pada pertumbuhan mikroalga kelas chlorophyta. *Jurnal Bioscientiae*, 9(2):62–65.
- Hadikusuma (2007). Variabilitas musiman temperature dan salinitas di teluk jakartavariabilitas musiman temperature dan salinitas di teluk jakarta. *LIPi*.
- Hill, R., Ulstrup, K. E., and Ralph, P. J. (2009). Temperature induced changes in thylakoid membrane thermostability of cultured, freshly isolated, and expelled zooxanthellae from scleractinian corals. *Bulletin of Marine Science*, 85(3):223–244.
- Juniarta, R., Aisyah, E. N., and Munasik, M. (2005). Studi perubahan densitas zooxanthellae pada translokasi dan transplantasi karang acropora aspera dan stylophora pistillata di jepara. *ILMU KELAUTAN: Indonesian Journal of Marine Sciences*, 10(4):221–228.
- Lidholm, J., Gustafsson, P., and Oquist, G. (1987). Photoinhibition of photosynthesis and its recovery in the green alga chlamydomonas reinhardii. *Plant and cell physiology*, 28(6):1133–1140.
- Matakupan, J. (2009). Studi kepadatan tetraselmischui yang dikultur pada intensitas cahaya yang berbeda. *Jurnal triton*, 5(2).
- Morris, I. (1980). Paths of carbon assimilation in marine phytoplankton. In *Primary productivity in the sea*, pages 139–159. Springer.
- Muhaemin, M., Agustina, T., et al. (2015). Starvasi nitrogen dan pengaruhnya terhadap biomassa dan protein total nannochloropsis sp.(nitrogen starvation effect on biomass and crude protein of nannochloropsis sp). *Maspari Journal*, 6(2):98–102.
- Muhaemin, M., Kaswadji, R. F., and Prartono, R. (2005). Kemampuan pengikatan metaloprotein asam amino methionin terhadap pb pada dunaliella salina. *Jurnal Pertanian Terapan*, VI(2):160–165.
- Nontji, A. (1984). Peranan zooxanthellae dalam ekosistem terumbu karang. *Oseana*, 9(3):14.
- Preisig, H. R. and Andersen, R. A. (2005). Historical review of algal culturing techniques. *Algal culturing techniques*, 65:79–82.
- Purnomo, P. W. (2011). Genetic diversity of zooxanthellae from several host in the coral reef waters at bokor island jepara. *JURNAL SAINTEK PERIKANAN*, 7(1):39–45.
- Reid, C., Marshall, J., Logan, D., and Kleine, D. (2011). Terumbu karang dan perubahan iklim. *Translated from: Coral Reefs and Climate Change: The Guide for Education and Awareness*. Queensland: Coral Watch, The University of Queensland.
- Rembet, U. N. (2012). Simbiosis zooxanthellae dan karang sebagai indikator kualitas ekosistem terumbu karang. *Jurnal Ilmiah Platax*, 1(1):37–44.
- Ryther, J. H. et al. (1969). Photosynthesis and fish production in the sea. the production of organic matter and its conversion to higher forms of life vary throughout the world ocean. *Science (Washington)*, 166:72–76.
- Soffer, N. (2009). *Practical Applications for Symbiodinium Grown on Solid Media: Culturing, Fluorometry and Transformations*. PhD thesis, University of Miami.
- Steel, R. and Torrie, J. (1993). Prinsip dan prosedur statistika. terjemahan oleh b. *Sumantri. Cet. ke-2. PT. Gramedia, Jakarta*.
- Szmant, A. and Gassman, N. (1990). The effects of prolonged bleaching on the tissue biomass and reproduction of the reef coral montastrea annularis. *Coral reefs*, 8(4):217–224.