

## KEUTAMAAN PENGGUNAAN METODE PENCUCIAN FRUSTULE SEBAGAI PENUNJANG IDENTIFIKASI DIATOM

NIKEN T.M. PRATIWI <sup>1)</sup>  
MAJARIANA KRISANTI <sup>2)</sup>  
INNA PUSPA AYU <sup>3)</sup>

### ABSTRAK

Diatom merupakan salah satu kelompok mikroalgae yang memiliki peranan penting dalam ekosistem perairan. Selain dapat dimanfaatkan sebagai pakan alami, diatom juga dapat digunakan sebagai salah satu bioindikator petunjuk kualitas perairan.

Salah satu kendala yang sering dihadapi adalah kesulitan dalam melakukan identifikasi diatom, terutama untuk menentukan penamaan pada tingkat spesies atau yang lebih rendah. Penamaan ini dirasa semakin penting, terlebih bila dikaitkan dengan manfaat dan peran tiap jenis yang dimaksud.

Ornamentasi yang khas dari frustule diatom menjadi kunci dalam melakukan identifikasi. Penerapan metode pencucian yang tepat akan mempermudah proses identifikasi tersebut. Metode pencucian yang diterapkan dalam kajian ini mengacu pada metode yang diperkenalkan oleh Osada & Nagumo (2001). Modifikasi kadang diperlukan terhadap contoh diatom dari perairan tertentu. Dalam tulisan ini akan diperkenalkan tiga teknik pencucian yang mengacu pada metode tersebut.

Hasil pencucian frustule diatom yang baik dapat langsung diamati dengan SEM (*Scanning Electron Microscope*) untuk memperoleh deskripsi ornamentasi yang tepat untuk identifikasi spesimen. Manfaat lain dari hasil pencucian frustule diatom adalah untuk mendapatkan hasil pemotretan yang baik melalui kamera mikroskop cahaya atau untuk disimpan sebagai koleksi dalam suasana basah maupun kering. Metode penyiapan koleksi spesimen (preparat permanen) juga diperkenalkan dalam tulisan ini.

Kata kunci : diatom, metode pencucian, frustule.

### PENGANTAR

Diatom telah menjadi obyek penelitian favorit bagi para peneliti pendahulu. Hingga saat ini diatom tetap menjadi kajian yang menarik dan makin berkembang. Pengamatan contoh diatom dapat dilakukan secara langsung terhadap contoh yang masih hidup atau pun yang telah diawetkan, dalam keadaan segar atau pun kering. Banyak metode pencucian diatom untuk mendapatkan contoh diatom yang bersih untuk keperluan pengamatan tersebut.

<sup>1</sup> Staf Bagian Produktivitas dan Lingkungan Perairan, Departemen Manajemen Sumberdaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan-IPB; [niken\\_tmpratiwi@yahoo.com](mailto:niken_tmpratiwi@yahoo.com)

<sup>2</sup> Staf Bagian Produktivitas dan Lingkungan Perairan, Departemen Manajemen Sumberdaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan-IPB; [my\\_chrysant@yahoo.com](mailto:my_chrysant@yahoo.com)

<sup>3</sup> Staf Bagian Produktivitas dan Lingkungan Perairan, Departemen Manajemen Sumberdaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan-IPB; [gampang98@yahoo.com](mailto:gampang98@yahoo.com)

Untuk mengamati struktur sel secara keseluruhan diperlukan contoh yang masih segar. Dalam hal ini yang dibutuhkan adalah penyingkiran kotoran dari sekeliling sel diatom. Namun seringkali pencucian diatom menyebabkan rusaknya isi sel atau lepasnya sel dari koloni. Metode pencucian diatom berbeda dari metode pencucian untuk pembuatan *slide wholemount* mikroalgae lainnya (Sass, 1958).

Untuk kebutuhan identifikasi perlu dilakukan pencucian sel diatom dengan tujuan menghilangkan kotoran di sekitar sel serta untuk membersihkan seluruh kandungan sel diatom sehingga yang tertinggal hanya frustule. Beberapa metode terdahulu yang umum digunakan untuk melakukan pencucian diatom dapat menghasilkan frustule yang bersih namun menimbulkan bau dan gas yang berbahaya (Barber & Heworth, 1981). Salah satu metode yang aman adalah yang diperkenalkan oleh Nagumo pada tahun 1995 (Osada & Nagumo, 2001).

Ornamentasi yang khas dari frustule diatom menjadi kunci dalam melakukan identifikasi. Penerapan metode pencucian yang tepat akan mempermudah proses identifikasi tersebut. Modifikasi kadang diperlukan terhadap contoh diatom dari perairan tertentu. Dalam tulisan ini akan diperkenalkan tiga teknik pencucian yang mengacu pada metode Nagumo (1995) tersebut.

## URAIAN UTAMA

### ● Diatom

Sel diatom dapat dijumpai di berbagai tipe perairan. Keunikan dari sel diatom adalah dinding selnya yang tersusun dari silika yang disebut frustule. *Feature* atau ciri frustule diatom cukup kompleks dan beragam. Namun secara umum, komponen frustule adalah epitheca dan hypotheca; epitheca adalah keping yang menutupi keping lainnya (hypotheca). Epitheca tersusun atas: epivalve dan epicingulum (terdiri dari beberapa copulae/ band/sabuk); hypotheca tersusun atas hypovalve dan hypocyngulum. Kedua cyngula menyatu membentuk cincture atau girdle. Atau kedua keping 'direkatkan' di bagian girdle oleh pita pectinaceous atau oleh adanya gigi kecil yang berjajar di bagian tepi dalam salah satu girdle (Round, Crawford, & Mann, 1990). Kotak silika sebagai dinding sel membungkus rangkaian sitoplasma, vakuola, dan nukleus (Boney, 1989).

Diatom memiliki banyak bentuk geometris yang sangat kompleks. Secara detail terdapat beberapa pola alur pori (*streae*); tipe, posisi, dan bentuk ujung raphe, serta hal lain yang berkaitan; dan pola pemusatan pada frustule diatom. Terdapat pula ciri pada **area axial, nodul sentral, dan area hyaline**. Ciri morfologi yang lain adalah adanya pola-pola tertentu pada **septa, pseudosepta, partecta, craticular plates, duri, seta, rostra, kemiringan keping/valve, costae, marginal ledges, ocelli, sundry feature** pada diatom pennate, **valvar undulation, dan torsi**. Pada diatom centris terdapat pola-pola **areola** (Barber & Haworth, 1981). Penciri tersebut menjadi kunci identifikasi.

Frustule diatom memiliki ciri khas untuk tiap jenisnya. Umumnya ciri ini tidak tampak bila hanya diamati dengan mikroskop cahaya, tetapi harus dengan mikroskop elektron. Namun dengan pencucian, penyiapan slide, dan pemotretan yang baik, pengamatan dengan mikroskop cahaya pada magnifikasi besar (400-1000 kali), untuk sel yang besar, dapat membantu. Berkaitan dengan kebutuhan riset diatom, terutama untuk identifikasi, beberapa kegiatan yang perlu dipersiapkan adalah koleksi diatom, pencucian frustule, dan pembuatan slide. Ketiga hal tersebut diuraikan sebagai berikut.

#### ● A. Koleksi Diatom

Diatom dapat dijumpai di berbagai habitat perairan, seperti laut, estuaria, sungai, dan danau. Dalam melakukan pengambilan contoh diatom diperlukan alat yang disesuaikan dengan tempat dan cara hidup diatom karena diatom dapat dijumpai sebagai plankton, perifiton, atau bentos. Teknik dan peralatan yang dibutuhkan sesuai dengan keberadaan diatom diuraikan sebagai berikut.

- **Plankton:** kumpulkan dan konsentrasikan/mampatkan diatom yang terkumpul menggunakan plankton net, atau ambil 5-6 liter air menggunakan botol plastik. Untuk yang kedua, proses pemampatannya adalah: tambahkan formalin teknis pada air contoh hingga konsentrasinya menjadi 1%. Diamkan beberapa waktu (jam). Bila sudah cukup mengendap, buang air bagian atas (supernatan).
- **Perifiton/penempel:** kerik diatom dari substrat menggunakan sikat atau alat lain
- **Bentos:** ambil lumpur dari dasar perairan menggunakan *dredge* atau *core* dengan hati-hati; hisap lumpur bagian permukaan menggunakan mikropipet.

#### ● B. Pencucian Frustule

Metode pencucian yang diperkenalkan oleh Nagumo (1995) sangatlah sederhana, mudah, dan aman. Selain itu metode tersebut memiliki keunggulan, antara

lain tidak menimbulkan aroma yang mengganggu atau pun gas beracun, dan terpisahnya partikel kotoran dari frustule dengan sempurna. Setidaknya terdapat tiga teknik pencucian frustule diatom yang dilandaskan pada metode Nagumo, yaitu:

**a. Teknik standar**

Bahan dan alat yang diperlukan adalah air contoh berisi diatom koleksi, pipet, rak tabung reaksi, alat sentrifugasi manual, tabung sentrifugasi (10 ml), akades dalam botol yang tercuci bersih, botol pembuangan bermulut lebar, serta cairan pembersih (*drainpipe cleaner*) ('PIPE UNISH' produksi Unicharm Inc. Japan).

Prosedur:

1. Dengan menggunakan pipet, pindahkan  $\pm 2$  ml air contoh ke dalam tabung reaksi
2. Tambahkan  $\pm 6$  ml akuades, kemudian dikocok/dicampur; sentrifugasi lebih dari 50 kali menggunakan alat manual; buang air bagian atas, sisakan endapan  $\pm 1$  ml; tambahkan 1 ml cairan pembersih
3. Biarkan 20-30 menit dan kocok setiap lima menit (jangan lebih dari 30 menit)
4. Ikuti prosedur no. 2-3 kembali; ulangi sebanyak lima kali
5. Untuk benar-benar menghilangkan cairan pembersih dari diatom, diatom yang telah melalui tahapan tersebut dalam akuades didiamkan dalam akuades selama enam jam sampai semalam
6. Buang bagian supernatan, kemudian encerkan dengan akuades secukupnya untuk memisahkan dan memudahkan pemilihan frustule diatom tercuci yang akan diamati di bawah mikroskop

**b. Teknik modifikasi standar**

Terdapat dua teknik modifikasi standar, yaitu yang menggunakan cairan pembersih pekat (100%) dan yang encer (5-15%). Bahan dan alat yang diperlukan adalah air contoh berisi diatom koleksi, pipet, rak tabung reaksi, alat sentrifugasi elektrik, tabung sentrifugasi (10 ml), akuades, botol pembuangan, serta cairan pembersih. Prosedur:

1. Dengan menggunakan pipet, pindahkan  $\pm 2$  ml air contoh ke dalam tabung reaksi
2. Tambahkan  $\pm 6$  ml akuades, kemudian dikocok; sentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 15 menit; buang supernatan, sisakan endapan  $\pm 1$  ml; ulang sekali lagi prosedur no. 2-4; tambahkan 1 ml cairan pembersih
3. Biarkan 20-30 menit (jangan lebih dari 30 menit);

4. Lakukan kembali prosedur 2-3 sebanyak lima kali, dengan lama sentrifugasi adalah 10 menit; buang bagian supernatan, kemudian encerkan dan amati.

Teknik modifikasi kedua dilakukan terhadap diatom yang memiliki frustule tipis atau rapuh. Prosedur yang harus diikuti adalah:

1. Dengan menggunakan pipet, pindahkan  $\pm 2$  ml air contoh ke dalam tabung reaksi
2. Tambahkan  $\pm 6$  ml akuades, kemudian dikocok/dicampur; sentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 15 menit; buang air bagian atas, sisakan endapan  $\pm 1$  ml; ulang sekali lagi prosedur no. 2-4
3. Tambahkan  $\pm 6$  ml cairan pembersih encer; lakukan sentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 10 menit; lakukan kembali prosedur 2-4 sebanyak tiga kali, dengan lama sentrifugasi adalah 10 menit.
4. Buang bagian supernatan, kemudian encerkan dan amati

#### **C. Teknik pencucian dengan isolasi**

Teknik ini digunakan untuk mencuci frustule tunggal dari suatu jenis diatom. Bahan dan alat yang diperlukan adalah air contoh berisi diatom koleksi, pipet Pasteur, gelas obyek bersih yang selalu terendam dalam cairan alkohol, akades dalam botol yang tercuci bersih, cairan pembersih (*drainpipe cleaner*) ('PIPE UNISH' produksi Unicharm Inc. Japan). Cairan pembersih yang digunakan disesuaikan dengan kondisi diatom. Prosedur yang harus diikuti adalah:

1. Persiapkan setidaknya tiga gelas obyek untuk mengisolasi frustule diatom dari contoh koleksi; letakkan satu tetes contoh pada gelas obyek pertama dan lakukan isolasi frustule diatom dengan teknik kapiler menggunakan pipet Pasteur
2. Persiapkan lima gelas obyek untuk melakukan pencucian frustule; pada empat di antaranya, masing-masing diberi dua tetes akuades
3. Setelah diperoleh frustule yang dimaksud, pindahkan ke akuades di gelas obyek pertama dan kedua; pindahkan ke gelas obyek ketiga, kemudian tambahkan tiga tetes cairan pembersih, tunggu  $\pm$  lima menit
4. Ambil frustule terisolasi, pindahkan berturut-turut ke dua gelas obyek yang telah diberi akuades untuk membilas; frustule diatom tercuci siap diamati

#### **● C. Prosedur Pembuatan Slide Frustule Diatom**

Frustule diatom yang telah dicuci dapat diamati secara langsung di bawah mikroskop cahaya, atau disimpan dalam bentuk slide permanen untuk jangka panjang. Selain itu juga dapat dipersiapkan sebagai slide yang akan diamati menggunakan SEM.

**a. Pembuatan slide permanen untuk mikroskop cahaya**

Bahan dan alat yang diperlukan adalah frustule diatom tercuci, pipet, hot plate, gelas obyek untuk slide (gelas slide), *skewer* (penetes), gelas penutup tipis: ketebalan 0,12-0,17 mm, akuades, pinset, mounting media (Pleurax), serta label. Prosedur:

1. Dengan menggunakan pipet, teteskan frustule diatom tercuci pada gelas penutup tipis yang telah dipersiapkan di atas hot plate, kemudian panaskan pada suhu 200°C selama 10 menit
2. Sementara itu letakkan satu tetes mounting media pada gelas slide menggunakan penetes; angkat gelas penutup panas menggunakan pinset, balikkan, dan letakkan pada gelas slide yang telah diberi mounting media
3. Letakkan di hot plate, panaskan pada suhu 150°C hingga letupan gelembung hilang; pindahkan gelas slide ke meja dan tekan gelas penutup menggunakan pinset; biarkan Pleurax mengering pada suhu ruang
4. Berikan label pada slide permanen dan amati frustule diatom di bawah mikroskop cahaya; pemotretan frustule bisa langsung dilakukan pada saat pengamatan bila mikroskop dilengkapi dengan alat pemotret

**b. Pembuatan slide untuk SEM**

Pengamatan menggunakan SEM sangat diperlukan untuk dapat menentukan spesifikasi dari frustule yang dipersiapkan. Bahan dan alat yang diperlukan adalah frustule diatom yang telah dicuci, gelas penutup tipis berbentuk lingkaran, hot plate, double tape, plat perekat slide, perangkat untuk methane coating, serta perangkat SEM. Prosedur pembuatan slide untuk SEM adalah sebagai berikut.

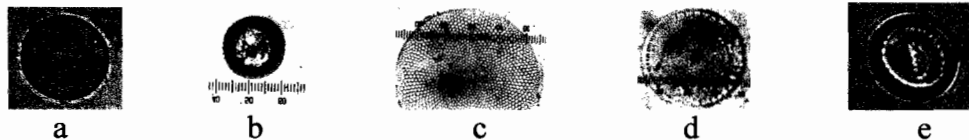
1. Frustule diatom yang telah dicuci diletakkan pada gelas penutup tipis kemudian dikeringkan menggunakan hot plate pada suhu yang tidak terlalu tinggi
2. Letakkan slide pada plat dan rekatkan menggunakan double tape
3. Lakukan proses methane coating selama 90 detik
4. Slide siap diamati dan dipotret menggunakan perangkat SEM

**KEUTAMAAN METODE PENCUCIAN FRUSTULE DIATOM**

Metode pencucian yang diperkenalkan Nagumo (1995) dengan teknik modifikasi merupakan metode paling sederhana yang dapat diterapkan. Sekalipun demikian hasil yang diperoleh tetap sesuai dengan yang diharapkan. Selama proses pencucian tidak muncul aroma yang mengganggu atau pun terdeteksi adanya gas beracun.

Perlakuan pencucian/penyiapan slide yang berbeda akan memunculkan hasil yang berbeda sehingga dapat dilakuakn pemilihan terhadap teknik pencucian sesuai dengan kebutuhan. Berikut ini ditampilkan beberapa contoh ilustrasi frustule diatom dengan berbagai perlakuan tersebut.

Tampak bahwa contoh frustule yang hanya mendapat perlakuan pencucian akuades masih ditemeli berbagai partikel kotoran (Gambar 1a). Pencucian menggunakan cairan pembersih dengan konsentrasi rendah menghasilkan frustule yang bersih di bagian luar, namun kandungan sel masih ada. Hasil semacam ini bagus untuk didokumentasikan dengan kamera di bawah mikroskop cahaya (Gambar 1b). Berikutnya frustule yang bersih setelah dicuci dengan teknik modifikasi dari metode Nagumo standar dengan konsentrasi cairan pembersih yang tepat, serta memberikan hasil yang cukup baik pada pemotretan di bawah mikroskop cahaya (Gambar 1c, d, dan e). Gambar 1a dan c adalah foto frustule *Coscinodiscus* sp., sedangkan Gambar 1b, d, dan e adalah foto frustule *Cyclotella* sp.



Gambar 1. Foto berbagai frustule diatom yang dipersiapkan dengan berbagai perlakuan di bawah mikroskop cahaya (Foto oleh Krisanti, 2004)

Pencucian yang tidak sempurna akan menyisakan berbagai partikel kotoran yang sangat jelas bila diamati menggunakan SEM (Gambar 2a). Pencucian menggunakan cairan pembersih dengan konsentrasi rendah menghasilkan frustule yang bersih di bagian luar, tetapi pori-pori tidak tampak (Gambar 2b). Frustule akan bersih setelah dicuci dengan teknik modifikasi dari metode Nagumo standar dengan konsentrasi cairan pembersih yang tepat (Gambar 2c), dan pada kondisi tertentu frustule dapat langsung terbuka sehingga detailnya mudah diamati (Gambar 2e, f, g, dan h). Gambar 2d adalah pita gridle yang terlepas pada saat frustule terbuka. Gambar 2a, b, e, f, g, dan h adalah frustule atau bagian dari frustule *Navicula*, sedangkan Gambar 2c dan d adalah frustule dan bagian dari frustule *Amphora*.



Gambar 2. Foto berbagai frustule diatom yang dipersiapkan dengan berbagai perlakuan di bawah SEM (Foto oleh Pratiwi, 2003)

Proses determinasi untuk melakukan identifikasi frustule diatom dapat dilakukan dengan baik apabila frustule dalam keadaan bersih karena detail mudah diamati, sehingga proses determinasi untuk identifikasi akan mudah dilakukan. Salah satu contoh identifikasi hingga taraf spesiasi dapat disimak dalam uraian berikut.

Hasil makrograf SEM pada Gambar 2d menunjukkan adanya raphe tunggal dan tipe streae paralel tampak secara eksternal, 2e. terminal nodule, 2f, tipe streae paralel tampak internal, raphe sternum, dan raphe slit. Berdasarkan Desikachary (1989) deskripsi demikian sesuai dengan *Navicula zostereti* Grun.

## KESIMPULAN

Proses pencucian frustule diatom dengan teknik modifikasi metode Nagumo (1995) cukup sederhana dan aman untuk diterapkan. Hasil pencucian frustule sangat memudahkan dalam melakukan identifikasi hingga taraf spesies diatom.

## DAFTAR PUSTAKA

- Osada, K. & T. Nagumo. 2001. An introduction to diatom research. Journal of The Nippon Dental University. No.30. March-2001.
- Barber, H.G. & E.Y. Heworth, 1981. A guide to the morphology of diatom frustule. Freshwater Biological Association.
- Tomas, C.R. 1997. Identifying marine phytoplankton. Academic Press. Harcourt Brace & Company. San Diego.
- Round, F.E., R.M. Crawford, & D.G. Mann, 1990. The diatom: biology & morphology of the genera. Cambridge university Press. Cambridge.
- Boney, A.D. 1989. Phytoplankton. 2<sup>nd</sup> ed. Edward Arnold. A division of Hodder & Stoughton. London.
- Sass, J.E. 1958. Botanical microtechnique. 3<sup>rd</sup> ed. The Iowe State University Press, Ames, Iowe.