

In Vitro Evaluation of Seagrass Extracts as a Prevention of Microfouling Formation

Keti Fitri¹, Sri Puji Astuti¹, Ahmad Jupri², Faturrahman^{1,3*}

¹ Biology Department, Faculty of Mathematic and Natural Sciences, University of Mataram, Mataram, Indonesia;

² Environmental Department, Faculty of Mathematic and Natural Sciences, University of Mataram, Mataram, Indonesia;

³ Microbial Technology Laboratory, Faculty of Mathematic and Natural Sciences, Mataram University, Mataram, Indonesia

Article History

Received : September 02th, 2022

Revised : October 20th, 2022

Accepted : November 10th, 2022

*Corresponding Author:

Faturrahman,

Program Studi Biologi, FMIPA,
Universitas Mataram, Mataram,
Indonesia;

Email: fatur@unram.ac.id

Abstract: Microfouling is the attachment and colonization of bacteria and microalgae on the surface of objects immersed in the sea. So far, the control of biofouling on the surface of marine hulls has been using paints containing Tributyltin Organotin (TBT) which have adverse effects on non-target organisms and are not friendly to the environment. The development of environmentally friendly antifouling paint is a solution to overcome the growth of biofouling. This study aimed to evaluate in vitro extract of *Thalassia hemprichii* as an anti-microfouling agent. Extraction of bioactive from *Thalassia hemprichii* was carried out by maceration. The filtrate is divided into five kinds of concentration, namely 0%, 25%, 50%, 75%, and 100% were then added to paint A as an anti-microfouling agent. The observed variables were microfouling biomass and the density of bacteria and microalgae attached to the steel plate. The results showed that with increasing concentration applied to the plate caused a decrease in the number of bacteria. The average decrease in each bacterial concentration was 84×10^6 CFU/mL, 65×10^6 CFU/mL, 41.5×10^6 CFU/mL, 28.7×10^6 CFU/mL, and 15.8×10^6 CFU/mL, respectively. Microalgae attached to the steel plate also experienced a reduction with the average values sequentially being 37×10^4 cells/mL, 14×10^4 cells/mL, 8×10^4 cells/mL, 5×10^4 cells/mL, and 2×10^4 cells/mL. Likewise, the microfouling biomass on steel plate also decreased in amount with the average values being 99.27 mg, 93.4 mg, 66.43 mg, 59.13 mg and 30.2 mg, respectively. Thus, *Thalassia hemprichii* extract has the potential to prevent the formation of microfouling.

Keywords: biofouling, sea grass extract, antifouling, maceration, *Thalassia hemprichii*.

Pendahuluan

Biofouling adalah penempelan dan pertumbuhan organisme pada permukaan benda atau material yang terbenam di laut. Organisme ini dapat saja melekat sementara maupun permanen pada permukaan material yang ditempelinya. Biofouling merupakan kumpulan mikroorganisme (mikrofouling) khususnya bakteri yang melekat erat pada permukaan substrat dan diselubungi oleh matriks *extracellular polymeric*. Mikrofouling tersebut

diketahui merupakan prasyarat bagi penempelan dan metamorfosis dari organisme penempel (Sabdon, 2013; Widyanto *et al.*, 2019).

Biofouling umum terjadi pada benda-benda yang sering mengalami kontak dengan air laut seperti bagian bawah kapal dan bangunan-bangunan yang terendam di bawah laut. Beberapa kerugian dari adanya organisme penempel ini adalah dapat menyebabkan kecepatan kapal berkurang hingga 40% sehingga konsumsi bahan bakar meningkat sampai dengan 30%, berkurangnya kecepatan kapal

mengakibatkan tertundanya waktu berlayar, meningkatnya konsumsi bahan bakar yang menyebabkan peningkatan suhu pada permukaan bumi, artinya kegiatan yang dilakukan adalah pemborosan dan tidak ramah bagi lingkungan (Syahputra dan Teuku, 2019).

Pengendalian biofouling selama ini menggunakan cat *anti fouling*. Penggunaan cat yang mengandung *Tributyltin organotin* (TBT) sebagai pelapis dan anti fouling sering dilakukan untuk mengurangi dampak penempelan biota pada permukaan bangunan maupun benda yang selalu terendam air. Hal ini menjadi salah satu penyebab pencemaran kimia di perairan yang lambat laun akan terakumulasi dan membahayakan biota maupun lingkungan (Rinto dan Rahmawati, 2019). *Tributyltin Organotin* terbukti ampuh untuk mencegah fouling namun tidak ramah bagi lingkungan.

Park *et al.* (2012) telah mengevaluasi resiko ekologis yang ditimbulkan oleh *Tributyltin Organotin*, setelah pemberian *Tributyltin Organotin* pertumbuhan salah satu organisme dari kelompok moluska, kelas bivalvia, dari famili Veneridae yaitu *Ghompina veneriformis* secara signifikan tertunda, indeks gonad menurun dan keseimbangan seks berubah (*imposex*) serta persentase interseks gonad juga meningkat secara signifikan pada individu betina. Mengingat ancaman yang ditimbulkan oleh *Tributyltin organotin*, Organisasi Maritim Internasional (IMO) telah mengusulkan penghapusan cat anti fouling dari *Tributyltin organotin* sejak tanggal 1 Januari 2008 (Nur dan Rahmawati, 2019). Larangan penggunaan *Tributyltin organotin* menjadi tantangan untuk mencari alternatif ketersediaan anti fouling ramah lingkungan.

Beberapa upaya telah dilakukan untuk mencari ketersediaan anti biofouling alami, salah satunya yaitu penelitian Amin (2017) yang menguji ekstrak daun ketapang (*Terminalia catappa*) sebagai bahan anti fouling, hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak ethanol daun ketapang memberikan pengaruh signifikan terhadap luasan penempelan dan biomassa biofouling. Ekstrak daun ketapang berpotensi sebagai bahan anti fouling dengan mengurangi luasan penempelan biofouling seiring dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak.

Salah satu *Marine Natural Product* seperti lamun diketahui memiliki potensi anti fouling.

Lamun (*seagrass*) merupakan salah satu organisme laut yang diduga potensial sebagai bahan anti fouling, salah satunya adalah lamun *Thalassia hemprichii*.

Antonio *et al.* (2019) melakukan skrining aktivitas antibakteri bakteri berasosiasi lamun *Thalassia hemprichii*, penelitian tersebut mendapatkan hasil bahwa bakteri simbiosis dengan lamun *Thalassia hemprichii* menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio parahaemolyticus*, dan *Salmonella typhimurium* dengan terbentuknya zona bening. Selain itu berdasarkan hasil uji yang dilakukan (Citra, 2013) menunjukkan bahwa ekstrak metanol dari *Thalassia hemprichii* diketahui mengandung senyawa golongan alkaloid, flavonoid, dan fenol yang dapat menghambat pertumbuhan biofouling. Senyawa metabolit sekunder tersebut berpotensi sebagai bahan anti fouling karena memiliki kemampuan atau sifat sebagai antibakteri dan/atau antimikroba (Estika, 2010; Raveendran *et al.*, 2011).

Senyawa golongan alkaloid diduga mampu mengganggu komponen penyusun peptidoglikan, sehingga dinding sel bakteri tidak tersusun dengan utuh, kemudian menyebabkan kematian. Ekstrak yang mengandung senyawa golongan steroid diketahui memiliki potensi sebagai antibakteri dan antifungi, dengan mekanisme merusak membran lipid, sehingga liposom mengalami kebocoran (Madduruli *et al.*, 2013). Flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol yang mempunyai sifat efektif menghambat pertumbuhan virus, bakteri, dan jamur. Flavonoid memiliki banyak khasiat bermanfaat yaitu mengandung aktivitas anti-inflamasi, penghambatan enzim, aktivitas antimikroba, aktivitas *estrogenik*, aktivitas anti-alergi, aktivitas antioksidan, aktivitas vaskular, dan aktivitas sitotoksik antitumor (Saxena *et al.*, 2013). Mekanisme kerja dari Flavonoid antara lain menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri dan mampu menghambat motilitas bakteri (Darsana *et al.*, 2012). Purwantiningsih *et al.* (2014) menyatakan bahwa dalam konsentrasi tinggi, kandungan fenol mampu menembus dan mengganggu dinding sel bakteri dan mempresipitasi protein dalam sel bakteri. Dalam konsentrasi yang lebih rendah, fenol menginaktifkan sistem enzim penting dalam sel bakteri.

Berdasarkan hal tersebut ekstrak lamun dimungkinkan memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan biofouling sehingga dianggap perlu melakukan penelitian ini untuk mengetahui potensi ekstrak tumbuhan lamun khususnya *Thalassia hemprichii* dalam mencegah pembentukan biofouling.

Bahan dan Metode

Pengambilan Sampel *Thalassia hemprichii*

Sampel *Thalassia hemprichii* diambil di perairan pantai Tanjung Kelor, Desa Sekotong Barat, Kecamatan Sekotong, Kabupaten Lombok Barat pada saat air laut surut (pagi hari). Sampel dimasukkan ke dalam wadah plastik, kemudian dibawa ke Laboratorium kemudian dipreparasi.

Ekstraksi *Thalassia hemprichii*

Persiapan Sampel Lamun *Thalassia hemprichii*. Sampel lamun yang digunakan adalah jenis *Thalassia hemprichii*. Sampel lamun disiapkan kemudian dibersihkan dengan air mengalir, setelah itu dipotong-potong, lalu dikeringanginkan (tidak terkena sinar matahari) sampai kering selama kurang lebih 10 hari. Sampel yang telah kering dihaluskan dengan blender hingga menjadi bubuk (simplisia). Setelah itu simplisia diayak menggunakan ayakan dengan ukuran 40 mesh, kemudian ditimbang.

Pembuatan Ekstrak Menggunakan Metode Maserasi. Pembuatan ekstrak dilakukan menggunakan metode maserasi. Pelarut yang digunakan adalah pelarut metanol dengan konsentrasi 96% yang merupakan pelarut polar. Simplisia yang sudah ditimbang direndam ke dalam pelarut selama 3x24 jam pada suhu ruang, dengan perbandingan massa dan volume pada pembuatan ekstrak yaitu 1:10, dimana 1 gram simplisia dilarutkan dengan 10 mL pelarut Metanol dengan konsentrasi 96% (Dewi *et al.*, 2012). Maserat kemudian disaring, filtrat dipisahkan dan ampasnya direndam kembali ke dalam pelarut yang baru, kemudian maserasi diulangi sebanyak 2 kali. Filtrat yang diperoleh ditampung menjadi satu dan diuapkan untuk memisahkan pelarutnya. Penguapan dilakukan menggunakan *rotary evaporator* (40°C) atau pada suhu didih pelarut (Amin, 2017; Barbara *et al.*, 2019). Hasil yang diperoleh berupa cairan

kental kemudian dibuat lima macam konsentrasi dengan pelarut cat yaitu 0 %, 25 %, 50 %, 75 %, dan 100 %.

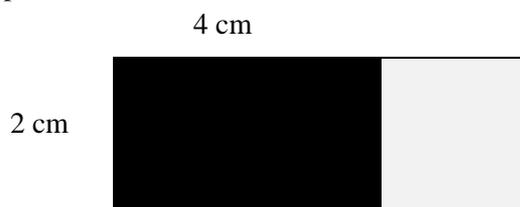
Pembuatan Konsentrasi Ekstrak

Ekstrak lamun yang sudah diuapkan dibuat variasi konsentrasi menjadi 25 %, 50 %, 75 % dan 100 % dengan cara berturut-turut melarutkan 0,25 gram; 0,50 gram; 0,75 gram dan 1 gram ekstrak lamun ke dalam masing-masing 1 mL pelarut cat.

Preparasi, Pengecatan dan Penambahan Ekstrak Lamun pada Plat Uji

Plat uji yang digunakan adalah plat baja dengan panjang 7 cm dan lebar 2cm. Kemudian direndam dalam larutan deterjen panas (40-45 °C) selama 24 jam sampai suhu deterjen panas mencapai suhu ruang, kemudian dibilas dengan air panas (40-45 °C) hingga tidak berbusa dan licin, lalu dikeringanginkan. Salah satu sisi plat baja diberi tanda yaitu sepanjang 4 cm, kemudian disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121 °C selama 2 jam dengan tekanan 1 atm.

Pengecatan dilakukan pada area luasan uji (warna hitam) dengan panjang 4 cm dan lebar 2 cm dengan luas total 16 cm² (2 sisi plat uji). Sebelum dilakukan pengecatan, ekstrak lamun dengan konsentrasi yang berbeda-beda (0 %, 25 %, 50 %, 75 %, dan 100 %) dicampur terlebih dahulu dengan cat besi hingga homogen. Masing-masing konsentrasi yang telah homogen ditampung ke dalam wadah yang berbeda. Kemudian luasan dioleskan dan diratakan dengan cat besi yang telah tercampur dengan ekstrak lamun. Setiap perlakuan diulangi sebanyak 3 kali. Area luasan uji dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Area luasan uji

Pengambilan Air Laut dan Perhitungan Densitas Bakteri

Air laut yang digunakan sebagai media percobaan diambil dari pantai Tanjung Kelor, Desa Sekotong Barat, Kecamatan Sekotong, Kabupaten Lombok Barat. Sebelum

pengambilan air laut, terlebih dahulu diukur sifat fisik dan kimianya, seperti salinitas, pH, suhu, fosfat, nitrat, dan kandungan oksigen yang terlarut. Setelah diukur, air laut dimasukkan kedalam botol sampel yang steril, lalu dibawa ke laboratorium sebagai bahan penelitian. Air laut disaring menggunakan kertas saring standar untuk memisahkan pasir dan kotoran. Jumlah total bakteri heterotrof dihitung di awal dan diakhir perlakuan. Perhitungan bakteri air laut menggunakan metode TPC (*Total Plate Count*).

Proses Pemasangan Plat Uji

Plat baja yang telah dicat dan sudah kering dipersiapkan, kemudian dimasukkan ke dalam toples 750 mL yang berisi 450 mL air laut, sebelumnya plat uji diikat di tusuk sate, setelah itu plat uji diinkubasi pada suhu ruang dengan digoyang 80 putaran per menit selama 7 hari.

Pengukuran Biomassa Biofouling

Setiap plat yang sudah dicat ditimbang untuk mengetahui biomassa awal dan ditimbang lagi setelah perendaman untuk mengetahui biomassa akhir. Biomassa biofouling yang terakumulasi dalam plat baja diperkirakan dengan mengurangi massa akhir dengan massa awal plat uji (Vedhaprakas *et al.*, 2013).

Perhitungan Densitas Bakteri Pada Permukaan Plat Baja

Setelah 7 hari permukaan plat diswab dan diseka secara merata. Setelah itu swab dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 mL larutan garam fisiologis. Kemudian tabung divorteks selama 1 menit, dan dibuat seri pengenceran sampai 10^{-6} . Setelah itu diambil pengenceran 10^{-4} , 10^{-5} , dan 10^{-6} menggunakan mikropipet sebanyak 0,1 mL dan dimasukkan ke dalam cawan petri yang berisi media NA. Suspensi bakteri diratakan dengan menggunakan spreader dan diinkubasi selama 2x24 jam pada suhu ruang, kemudian koloni yang tumbuh dihitung kelimpahannya dan jumlah sel dinyatakan dalam CFU/mL (Faturrahman, 2012).

Perhitungan Jumlah Mikroalga Yang Tumbuh Pada Plat Baja

Untuk menghitung jumlah mikroalga diambil 1 tetes larutan sampel dari pengenceran pertama, kemudian diteteskan pada haemocytometer yang diletakkan di bawah lensa

objektif mikroskop, lalu diamati dengan perbesaran 40 kali. Penentuan jumlah total mikroalga diketahui dengan cara menghitung banyaknya jumlah mikroalga yang terdapat dalam 5 buah kotak ukuran sedang pada haemocytometer, kemudian analisa data pertumbuhan mikroalga menggunakan rumus menurut Isnansetyo dan Kurniastuti (1995) yaitu:

$$\text{Kepadatan Sel } \left(\frac{\text{sel}}{\text{mL}}\right) = N \times 10^4$$

Dimana:

N = Jumlah rata-rata sel yang terdapat pada kotak bujur sangkar (sel/ mL)
 $\times 10^4$ = Jumlah kepadatan sel sebenarnya pada 1 mL media atau air
sel/mL = satuan kepadatan fitoplankton / mikroalga

Hasil dan Pembahasan

Kondisi Umum Perairan

Sampel air laut diambil dari Pantai Tanjung Kelor, Desa Sekotong Barat, Kecamatan Sekotong, Kabupaten Lombok Barat. Pengukuran parameter lingkungan diukur setiap 3 hari sekali. Parameter yang diukur yaitu suhu, salinitas, pH, *Dissolved Oxygen* (DO), Nitrat, dan fosfat. Hasil dari pengukuran parameter lingkungan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Pengukuran Parameter Lingkungan pada sampel air laut di Pantai Tanjung Kelor

Parameter	Pengulangan			Rata-rata	Baku Mutu
	I	II	III		
Suhu (°C)	29,6	29,3	29	29,3	28-30
Salinitas (% ₀)	30	30	30	30	33-34
pH	7	7	7	7	>5
DO (mg/L)	8,6	9,6	9,5	9,2	>5
Nitrat (mg/L)	0,005	0,005	0,005	0,005	0,008
Fosfat (mg/L)	0,015	0,015	0,015	0,015	0,015

Keterangan: Baku Mutu menurut Kepmen Lingkungan Hidup No. 51. Tahun 2004 Lampiran III Tentang Baku Mutu Air Laut untuk Biota Laut.

Secara umum, kondisi fisik-kimia perairan selama penelitian menunjukkan kondisi perairan

yang baik dan memenuhi baku mutu untuk pertumbuhan biofouling. Hasil pengukuran salinitas pada penelitian ini adalah 30 permil. Berdasarkan nilai tersebut maka dapat dikatakan bahwa salinitas pada lokasi penelitian rendah. Faktor yang mempengaruhi rendahnya salinitas yaitu pada saat pengambilan sampel cuaca mendung dan gerimis. Menurut Nontji (2002) bahwa tinggi rendahnya nilai salinitas di laut dipengaruhi oleh berbagai faktor, seperti pola sirkulasi air, penguapan, curah hujan, dan aliran sungai. Meskipun nilai salinitas yang diperoleh selama pengamatan rendah, namun nilai tersebut baik untuk pertumbuhan biofouling. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Panjaitan (2011) biofouling dapat tumbuh pada kondisi salinitas 10-30 permil.

Kondisi suhu air laut yang diperoleh dalam 3 kali pengulangan menunjukkan suhu yang relatif sama yaitu berkisar antara 29-30°C. Kisaran suhu hasil pengukuran tersebut masih dalam kisaran nilai suhu untuk pertumbuhan mikroorganisme biofouling yang berkisar antara 15-30 °C atau dari perairan estuaria sampai laut terbuka, iklim tropik sampai dengan iklim sedang. Nilai pH (derajat keasaman) perairan sangat mempengaruhi biota di suatu perairan. Tingginya nilai pH sangat menentukan dominansi fitoplankton yang mempengaruhi tingkat produktivitas primer suatu perairan. Nilai pH yang ideal bagi perairan adalah 7-8,5. Kondisi yang sangat basa maupun sangat asam akan membahayakan kelangsungan hidup organisme karena akan mengganggu proses metabolisme dan respirasi. Hasil pengukuran pH selama penelitian menunjukkan pH dalam kisaran normal yaitu 7.

Oksigen terlarut (*Dissolved Oxygen/DO*) adalah total jumlah oksigen yang ada (terlarut) di air. Hasil pengukuran DO cukup bervariasi berkisar antara 8,0 mg/L – 10,0 mg/L. Nilai DO yang diperoleh menandakan perairan dalam kondisi sangat baik dan masih memenuhi standar baku mutu air laut. Faktor selanjutnya yaitu nitrat dan fosfat. Nitrat adalah bentuk nitrogen utama di perairan alami. Konsentrasi nitrat yang tinggi di perairan dapat menstimulasi pertumbuhan dan perkembangan organisme perairan apabila didukung oleh ketersediaan nutrisi. Sedangkan fosfat merupakan zat hara yang dibutuhkan untuk proses pertumbuhan dan metabolisme fitoplankton dan organisme laut

lainnya. Hasil pengukuran selama pengamatan menunjukkan bahwa konsentrasi nitrat dan fosfat yang diperoleh yaitu 0,005 mg/L dan 0,015 mg/L, nilai tersebut dikatakan normal dan memenuhi standar baku mutu kandungan nitrat dan fosfat di perairan.

Densitas Pada Air Laut Sebelum dan Sesudah Perlakuan

Perhitungan total bakteri heterotrof dilakukan dengan metode TPC dan pengenceran. Sampel yang disebar pada media adalah 3 sampel dengan pengenceran tertinggi. Kemudian isolat diinkubasi selama 2x24 jam pada suhu ruang. Kemudian sampel yang tumbuh pada media dihitung menggunakan colony counter. Hasil Perhitungan bakteri sebelum dan sesudah perlakuan dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rataan densitas bakteri pada air laut dalam wadah uji sebelum dan sesudah perlakuan

Densitas bakteri (CFU/mL)	
Sebelum	Sesudah
29,9x10 ⁶	20,6x10 ⁶

Bakteri di laut mempunyai peranan yang sangat penting di dalam menjaga kesinambungan hidup laut karena bakteri mempunyai kemampuan untuk mendegradasi senyawa organik menjadi senyawa anorganik (Wondal *et al.*, 2019). Bakteri laut umumnya tumbuh dalam populasi yang terdiri dari berbagai spesies dan sangat padat. Oleh karena itu, untuk mempermudah, sumber bakteri harus diperlakukan dengan pengenceran. Pada hasil perhitungan yang didapatkan selama penelitian pada sampel air laut menunjukkan adanya pertumbuhan koloni bakteri pada cawan. Berdasarkan hasil penelitian didapatkan bahwa semakin tinggi seri pengenceran maka hasil perhitungan kepadatan bakteri semakin sedikit. Jumlah bakteri tertinggi terdapat pada pengenceran 10⁻⁴ dan jumlah terendah didapatkan pada pengenceran 10⁻⁶. Hal ini disebabkan karena kandungan sel bakteri yang terlarut semakin encer dan semakin berkurang.

Menurut Wasteson dan Hornes (2009) tujuan dari pengenceran bertingkat yaitu memperkecil atau mengurangi jumlah mikroba yang terdapat dalam cairan, maka semakin banyak tingkat pengenceran akan menghasilkan mikroba yang semakin sedikit. Pernyataan ini

sesuai dengan penelitian Wondal *et al.* (2019) pada pengenceran 10^{-1} koloni bakteri laut yang tumbuh sangat padat, kemudian pada pengenceran 10^{-2} kepadatan koloni berkurang dan pada pengenceran 10^{-3} diperoleh koloni bebas bakteri.

Setelah perlakuan, bakteri air laut kembali diamati untuk melihat bagaimana pengaruh ekstrak terhadap air laut yang digunakan. Berdasarkan hasil penelitian terdapat perbedaan pada banyaknya bakteri heterotrof yang terdapat pada air laut sebelum dan sesudah digunakan untuk perlakuan. Perbedaan dapat dilihat pada Tabel 2 dimana sesudah perlakuan kepadatan bakteri air laut lebih sedikit dibandingkan dengan sebelum perlakuan dengan nilai rata-rata sebelum perlakuan sebesar $29,9 \times 10^6$ CFU/mL dan sesudah perlakuan sebesar $20,6 \times 10^6$ CFU/mL. Hal ini karena bakteri yang terdapat di air laut melekat pada permukaan plat baja dan terdapat bakteri yang mati karena kandungan flavonoid dan alkaloid yang terdapat pada ekstrak lamun.

Pengukuran Biomassa Mikrofouling

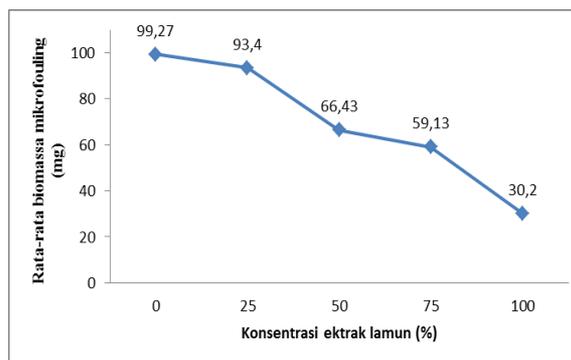
Pengukuran biomassa mikrofouling dilakukan dengan cara menimbang massa plat percobaan sebelum dan sesudah dilakukan perendaman. Massa sebelum perlakuan dijadikan sebagai massa awal dan massa setelah perlakuan dijadikan sebagai massa akhir. Massa yang diperoleh pada penimbangan setelah perlakuan kemudian dikurangi dengan massa awal. Hasil selisih dari massa tersebut kemudian dijadikan sebagai biomassa mikrofouling. Hasil pengukuran biomassa mikrofouling dapat dilihat pada Tabel 3

Tabel 3. Hasil Pengukuran Biomassa Mikrofouling pada Plat Baja

Konsentrasi (%)	Biomassa (miligram)			Rata-rata (miligram)
	Pengulangan ke-			
	I	II	III	
0	87,4	85,8	124,6	99,27
25	83,9	73,5	122,8	93,4
50	62,8	51,4	85,1	66,43
75	59,2	34,9	83,3	59,13
100	20,3	11,5	58,8	30,2

Berdasarkan Tabel 3, dapat dilihat bahwa seiring dengan banyaknya konsentrasi lamun

yang diaplikasikan, biomassa mikrofouling semakin berkurang. Biomassa tertinggi didapatkan pada konsentrasi 0% yaitu 99,27 miligram dan yang terendah pada konsentrasi 100% yaitu 30,2 miligram. Hubungan konsentrasi ekstrak lamun terhadap biomassa mikrofouling disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Grafik hubungan konsentrasi ekstrak lamun terhadap biomassa mikrofouling.

Berdasarkan Tabel 3 dan Gambar 1 dapat dilihat bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak lamun *Thalassia hemprichii* maka biomassa mikrofouling semakin menurun. Hal tersebut terjadi karena semakin besar suatu konsentrasi ekstrak, maka semakin besar pula komponen senyawa aktif yang terkandung di dalamnya sehingga semakin besar daya antibakteri pada ekstrak lamun. Pernyataan ini sesuai dengan penelitian Barbara (2019) pada uji sensitivitas ekstrak *Thalassia hemprichii* bahwa terbentuk zona hambat di sekitar kertas cakram yang membuktikan bahwa ekstrak lamun memiliki kemampuan untuk menghambat aktivitas pertumbuhan bakteri uji. Selain itu hasil uji sensitivitas menunjukkan diameter zona hambat bakteri berbanding lurus dengan tingkat konsentrasi ekstrak, semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin besar zona hambat yang terbentuk dan sebaliknya jika konsentrasi yang dipakai rendah maka zona hambat yang terbentuk semakin kecil.

Densitas Bakteri dan Mikroalga Yang Tumbuh Pada Plat Baja

Setelah perendaman selama 7 hari, plat baja diswab secara merata menggunakan lidi kapas steril, kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi garam fisiologis sebanyak 9 mL. Selanjutnya sampel diencerkan.

Tiga pengenceran tertinggi disebar ke media NA, kemudian diinkubasi selama 2x24 jam pada suhu ruang. Perhitungan total bakteri heterotrof dilakukan dengan mengamati dan menghitung semua koloni yang tumbuh pada media NA. Sedangkan Mikroalga yang tumbuh pada plat baja diamati dengan mengambil satu tetes sampel pada pengenceran pertama kemudian ditetaskan pada hemocytometer yang diletakkan di bawah lensa objektif mikroskop. Hasil Perhitungan densitas bakteri dan mikroalga dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Perhitungan Densitas Bakteri dan Mikroalga pada Plat Baja

Konsentrasi (%)	Rataan densitas bakteri ($\times 10^6$ CFU/mL)	Rataan densitas mikroalga ($\times 10^4$ sel/mL)
0	84	37
25	65	14
50	41,5	8
75	28,7	5
100	15,8	2

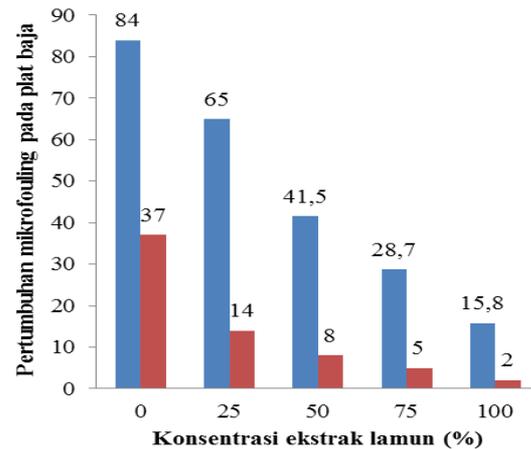
Rata-rata densitas bakteri yang tumbuh pada plat baja paling tinggi terdapat pada plat baja yang diberi perlakuan ekstrak lamun *Thalassia hemprichii* dengan konsentrasi 0 % yaitu sebesar 84×10^6 dan rata-rata kelimpahan bakteri terendah didapatkan pada perlakuan konsentrasi ekstrak 100 % yaitu sebesar $15,8 \times 10^6$.

Kelimpahan mikroalga yang tumbuh pada plat baja paling tinggi terdapat pada plat baja yang diberi perlakuan ekstrak lamun *Thalassia hemprichii* dengan konsentrasi 0% yaitu sebesar 37×10^4 sel/mL dan rata-rata kelimpahan bakteri terendah didapatkan pada perlakuan konsentrasi ekstrak 100 % yaitu sebesar 2×10^4 sel/mL.

Bakteri dan mikroalga yang melekat pada plat baja disebut dengan mikrofouling. Mikrofouling merupakan penempelan kolonisasi bakteri dan diatom pada permukaan benda. Hubungan konsentrasi ekstrak lamun terhadap pertumbuhan mikrofouling yang tumbuh pada plat baja dapat dilihat pada Gambar 2.

Berdasarkan Gambar 2 dapat dikatakan bahwa semakin tinggi ekstrak lamun yang diaplikasikan pada plat baja, mikrofouling yang tumbuh semakin sedikit. penambahan ekstrak lamun *Thalassia hemprichii* yang paling efektif dalam mengurangi kelimpahan mikrofouling

yaitu mikroalga dan bakteri terdapat pada plat baja yang diberi perlakuan konsentrasi ekstrak lamun 100 % dengan densitas bakteri sebesar $15,8 \times 10^6$ CFU/mL dan kelimpahan mikroalga sebesar 2×10^4 sel/mL.



Gambar 2. Grafik hubungan konsentrasi ekstrak lamun terhadap pertumbuhan mikrofouling pada plat baja.

■ Densitas bakteri ($\times 10^6$ cfu/mL)
 ■ Densitas mikroalga ($\times 10^4$ sel/mL)

Setelah perendaman plat uji selama 7 hari, pada setiap plat terdapat bakteri yang menempel pada permukaan plat. Kolonisasi bakteri yang terjadi pada suatu permukaan benda/media membentuk suatu biofilm dimana setelah bakteri menempel selanjutnya perlekatan sel bakteri membentuk suatu lapisan *Ekstraseluler Polimer Substansi* (EPS). Substansi ini yang mengatur kehidupannya, mengembangkan interaksi yang kompleks dan resisten terhadap biosida (Callow dan James, 2002; Fleming, 2009). Bakteri yang melekat membentuk koloni dan menempel secara permanen pada substrat karena terjadi produksi eksopolimer dalam hitungan menit hingga jam.

Nutrien juga merupakan faktor yang penting karena biofilm tidak memiliki kandungan material hidup, mereka menggantinya dari bakteri yang mati atau hasil sekresi (Stanczak, 2004). Menurut Railkin (2004) bahwa penyebab proses biofouling diperankan oleh adanya akumulasi nutrient pada permukaan. Hal tersebut memicu tersedianya sumber makanan dan menarik mikroorganisme untuk menempel. Selanjutnya akumulasi dan reproduksi mikroorganisme pada permukaan tersebut merupakan sumber nutrisi bagi

perkembangan level trofik yang lebih tinggi dan dapat menarik organisme multiseluler pada tempat tersebut.

Selain bakteri, mikroalga juga tumbuh dan melekat pada plat baja. Mikroalga merupakan mikroorganisme atau jasad renik dengan tingkat organisasi sel yang termasuk dalam kategori tumbuhan tingkat rendah. Mikroalga termasuk organisme tumbuhan paling primitif berukuran seluler yang umumnya dikenal dengan sebutan nama fitoplankton. Habitatnya di tempat yang lembab, air tawar, dan air laut. Mikroalga mempunyai karakteristik yaitu tidak mempunyai akar, batang dan daun (Winahyu *et al.*, 2013).

Mikroalga dapat ditemukan pada perairan yang memiliki intensitas cahaya matahari cukup tinggi dan kecerahan air yang baik, sehingga cahaya matahari dapat masuk dari permukaan sampai kedalaman perairan. Kedalaman air yang rendah dan kualitas air yang jernih merupakan salah satu ciri terdapatnya intensitas cahaya matahari yang cukup tinggi. Kecerahan air yang rendah dan kurangnya intensitas cahaya matahari memungkinkan organisme perairan tidak dapat hidup karena tidak dapat melakukan fotosintesis (Erdina *et al.*, 2010).

Mikroalga merupakan kelompok tumbuhan berukuran renik yang termasuk dalam kelas alga, diameternya antara 3-30 μm , sedangkan bakteri adalah kelompok organisme yang tidak memiliki membran inti sel dengan ukuran tubuh berdiameter 0,1-1 μm dengan panjang 1-20 μm . Bakteri dan mikroalga yang melekat pada plat baja disebut dengan mikrofouling. Mikrofouling merupakan penempelan kolonisasi bakteri dan diatom pada permukaan benda. Mikrofouling yang tumbuh dideteksi dengan terbentuknya debu-debu halus pada permukaan plat. Hasil perhitungan mikrofouling yang tumbuh pada plat baja dapat dilihat pada Tabel 4. Berdasarkan data tersebut, diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak lamun yang diterapkan, maka kepadatan bakteri dan mikroalga yang melekat pada plat semakin menurun. Hal ini disebabkan karena pada konsentrasi ekstrak lamun yang semakin tinggi, kandungan metabolit sekunder yang ada pada ekstrak semakin banyak seperti kandungan flavonoid, fenol, dan alkaloid.

Senyawa alkaloid dan fenol dapat mengurangi jumlah penempelan mikrofouling karena kedua senyawa tersebut bersifat racun

yang dapat membunuh mikrofouling. Alkaloid merupakan senyawa organik yang umumnya terdapat pada tumbuhan, senyawa ini bersifat basa dan memiliki gugus atom hidrogen yang cukup banyak. Gugus atom hidrogen pada alkaloid dapat menyebabkan efek anestesi bahkan kematian pada hewan tergantung dari jumlah dosis yang diberikan (Syahputra dan Almuqaramah, 2019). Senyawa flavonoid di dalam tumbuhan lamun mengandung senyawa fenol. Pada dosis tinggi fenol berkoagulasi dengan protein seluler. Aktivitas ini sangat efektif ketika bakteri dalam tahap pembelahan, yaitu saat lapisan fosfolipid di sekeliling sel sangat tipis, sehingga fenol dengan mudah berpenetrasi merusak dinding sel dan menyebabkan kematian sel (Heryudi *et al.*, 2015).

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa ekstrak lamun *Thalassia hemprichii* berpotensi sebagai bahan penghambat pembentukan mikrofouling. Konsentrasi ekstrak lamun *Thalassia hemprichii* paling efektif dalam mengurangi pembentukan mikrofouling adalah konsentrasi 100%.

Ucapan terima kasih

Terima kasih kami sampaikan kepada Kepala Laboratorium Biologi Lanjut FMIPA Unram yang telah memfasilitasi penelitian ini.

Referensi

- Amin, M. K., (2017). Uji Ekstrak Daun Ketapang (*Terminalia catappa*) Sebagai Bahan Anti fouling Alami Pada Plat Baja di Perairan PT DOK dan Perkapalan Surabaya, Skripsi, Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya.
- Antonio, R., Nora, I. & Mega S. J. S., (2019). Skrining Aktivitas Antibakteri Bakteri Berasosiasi Lamun *Thalassia hemprichii* Dari Perairan Pulau Kabung, Jurnal Laut Khatulistiwa 2(3): 79-84.

- Barbara, S., Nursyirwani, & Zulkifli (2019). Sensitivity Of *Thalassia hemprichii* Extract On The Growth Of Patogenic Bacteria (*Vibrio alginolyticus* and *Aeromonas hydrophila*), *Jurnal, Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Pekanbaru, Riau*.
- Callow, M. E. & James E. C., (2002). Marine Biofouling: A sticky Problem, *Biologist* 49: 1-4.
- Citra, S. U. D., (2013). Potential Bioactive of *Enhalus acoroides* and *Thalassia hemprichii* For Bio anti fouling in Pramuka Island, DKI Jakarta, Tesis, Bogor Agricultural University, Bogor.
- Darsana, I.G.O, Besung, I.N.K, & Mahatmi H., (2012). Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* Secara In Vitro, *Indonesia Medicus Veterinus* 1(3): 337-351
- Dewi, C. S. U., Deddy S., & Mujizat K. (2012). Komponen Fitokimia dan Toksisitas Senyawa Bioaktif Dari Lamun *Enhalus acoroides* dan *Thalassia hemprichii* dari Pulau Pramuka, DKI Jakarta. *Jurnal Teknologi Perikanan dan Kelautan* 3 (1): 23-28.
- Erdina, L., Ajizah A. & Hardiansyah (2010). Keanekaragaman dan Kelimpahan Alga Mikroskopik Pada Daerah Persawahan di Desa Sungai Lumbah Kecamatan Alalak Kabupaten Barito Kuala, *Jurnal Wahana-Bio* 3: 72-91.
- Estika, A., (2010). Organisme Laut Penghasil Antifoulant Pengganti TBT Penanggulangan Biofouling di Dasar Kapal, Skripsi, Program Studi Bioteknologi, Universitas Al Azhar Indonesia, Jakarta.
- Fleming H. C., (2009). Why Microorganisms Live In Biofilm and The Problem Of Biofouling. *Marine and Industrial Biofouling*. Springer Berlin Heidelberg.
- Faturrahman, (2012). Potensi Bakteri Agarolitik Sebagai Penyedia Enzim Agarase Eksogen Untuk Memperbaiki Pertumbuhan Juvenil Abalon (*Haliotis asinina* Linn.1758), Disertasi, Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Heryudi, J. J., J. Billy, & V. Krisna (2015). Uji Minimum Inhibitory Concentration (MIC) Ekstrak Rumput Laut (*Eucheuma cottoini*) Sebagai AntiBakteri Terhadap *Streptococcus mutans*, *Jurnal e-Gigi*, (2): 374-379.
- Isnansetyo, A. & Kurniastuty (1995). Teknik Kultur Phytoplankton dan Zooplankton, Pakan Alami Untuk Pembenihan Organisme Laut, Kanisius: Yogyakarta.
- Nontji, A., (2002). Laut Nusantara. Penerbit Djambatan. Jakarta: 59-67.
- Nur, R. M. & Rahmawati (2019). Kombinasi Uji Aktivitas Antifouling (*Rhizophora apiculata*) di Kabupaten Pulau Morotai, *Jurnal Ilmu–Ilmu Perikanan dan Budidaya Perairan* 14(1).
- Panjaitan, M. F., (2011). Analisa Penggunaan Arus Searah (DC) Pada Impressed Current Antifouling (ICAF) Sebagai Pencegahan Terjadinya Fouling Pada Cooling Sistem, Skripsi, Program Studi S1 Teknik Sistem Perkapalan, Institut Teknologi Sepuluh November, Surabaya.
- Park, K., R. KIM, J. J. Park, H.C. Shin, J.S. Lee, H. S. Cho, Y. G. Lee, J. Kim, & I. S. Kwak (2012). Ecotoxicological Evaluation Of Tributyltin Toxicity to the Equilateral Venus Clam, *Gomphina veneriformis* (Bivalvia : Veneridae), *Shellfish Immunol* 32(3) : 426-433.
- Purwantiningsih, T. I., Yustina, Y. S., & Widodo, (2014). Aktivitas Senyawa Fenol Dalam Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*) Sebagai Antibakteri Alami Untuk Penghambatan Bakteri Penyebab Mastitis, *Buletin Peternakan* 38(1).
- Railkin A. I., (2004). *Marine Biofouling: Colonization Processes and Defence*. CRC Press, Florida.
- Raveendran, T.V., Mol V.P.L & Parameswaran P.S., (2011). Natural Product Antifoulants from the Octocorals of Indian waters. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 65 (1); 265-268
- Rinto, M. N. & Rahmawati (2019). Kombinasi Uji Aktivitas Antifouling (*Rhizophora apiculata*) di Kabupaten Pulau Morotai, *Jurnal Ilmu-ilmu Perikanan dan Budidaya Perairan* 14(1).
- Sabdono, A., (2013). Pengaruh Ekstrak Antifouling Bakteri Karang *Pelagiobacter Variabilis* Strain USP3.37 Terhadap Penempelan Bernakel di Perairan Pantai

- Teluk Awur, Jepara, *J Coast. Dev* 12(1) : 18-23.
- Saxena, M., Saxena, J., Singh, D. & Gupta, A., (2013). Phytochemistry of Medicinal Plants, *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 1(6).
- Stanczak M., (2004). *Biofouling: It's Not Just Barnacles Anymore*. All Rights Reserved, CSA.
- Syahputra, F. & T. K. H. Almuqaramah (2019). Penambahan Ekstrak Larutan Kulit Mangrove Pada Cat Minyak Sebagai Antifouling, *Acta Aquatica : Aquatic Sciences Journal* 6(1) : 37-40.
- Wasteson, Y. & Hornes, E., (2009). Pathogenic *Escherichia coli* Found In Food, *International Journal of Food Microbiology* 12: 103-114.
- Widyanto, S.W., Ma'muri, & Nanda R.P., (2019). Desain Prototipe Antifouling Pada Pengembangan Teknologi Pemantauan Untuk Budidaya Laut di Wakatobi, Artikel Pemakalah Paralel.
- Winahyu, D., Anggraini Y., Rustiati E. L., Master J. & Setiawan A., (2013). Studi Pendahuluan Mengenai Keanekaragaman Mikroalga di Pusat Konservasi Gajah, Taman Nasional Way Kambas. *Proceedings Semirata*, 93-98, FMIPA UNILA, Lampung.
- Wondal, B., Elvy, L. K., Veibe, W., Stenly, W., Sandra, O. T. & Ferdinand, F. T., (2019). Isolasi Bakteri Laut Dari Perairan Malalayang Sulawesi Utara, *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis* 7(3).