

Aktivitas Antifouling dan Karakteristik Fitokimia Ekstrak Rumput Laut *Sargassum* sp. dari Perairan Gunung Kidul, Yogyakarta

Muhamad Fikri Hudi Nur Hakim*, Ita Widowati, Agus Sabdono

Departemen Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro
Jl.Prof.H.Soedarto S.H, Tembalang, Semarang, Jawa Tengah 50275 Indonesia

*Corresponding author, e-mail: fikridroid@gmail.com

ABSTRAK : *Marine* biofouling merupakan tumbuhnya organisme yang tidak diinginkan pada suatu permukaan yang terendam air laut. Penempelan ini dapat menyebabkan gangguan teknis dan kerusakan. Penelitian ini bertujuan untuk mencari senyawa aktif antifouling yang ramah lingkungan sebagai pengganti TBT. Materi yang digunakan adalah ekstrak rumput laut *Sargassum echinocarpum* dan *S. cinereum* dengan berbagai macam pelarut (n-heksan, etil asetat, dan metanol). Sampel diambil dari perairan Gunungkidul, Yogyakarta. Bakteri biofilm diisolasi dari substrat plat kayu mahoni yang direndam selama 2 minggu. Metode dalam penelitian ini adalah Uji aktivitas antifouling menggunakan metode *disk-diffusion*, Uji Fitokimia, Uji Biokimia, dan Uji *Brine Shrimp Lethality Test*. Hasil penelitian menunjukkan aktivitas antimikrofouling terbaik ditunjukkan oleh ekstrak kasar *S. cinereum* dengan pelarut etil asetat dan *S. echinocarpum* dengan pelarut metanol. Berdasarkan analisa One-Way ANOVA dengan signifikansi $<0,05$ menunjukkan ekstrak dengan pelarut metanol dan etil asetat tidak berbeda nyata, sedangkan ekstrak dengan pelarut n-heksan tidak membentuk zona hambat. Uji Biokimia menunjukkan jenis bakteri yang dapat dihambat adalah *Bacillus* sp., dan *Nacordiasp*. Hasil fitokimia menunjukkan ekstrak *S. cinereum* dengan pelarut etil asetat mengandung senyawa alkaloid, quinon, steroid, dan flavonoid. Sedangkan ekstrak *S. echinocarpum* dengan pelarut metanol mengandung senyawa quinon, triterpenoid, dan flavonoid. Uji *Brine Shrimp Lethality Test* menunjukkan bahwa ekstrak *S. echinocarpum* dan *S. cinereum* dengan pelarut metanol dan n-heksan memiliki nilai LC_{50} 568,4347 bpj; 663,613 bpj; 639,711 bpj; dan 855,3114 bpj dengan kategori toksik. Dapat disimpulkan dari penelitian ini bahwa ekstrak *S. cinereum* dan *S. echinocarpum* dapat digunakan sebagai sumber antifouling.

Kata kunci : Rumput Laut *Sargassum* sp., Antifouling, Bakteri Fouling.

Antifouling Activity and Phytochemical Characteristics of Sargassum sp. from the waters of Gunung Kidul, Yogyakarta

ABSTRACT : *Marine* biofouling is the growth of unwanted organism on the structure which is submerged in seawater. The attachment of those organism could lead to technical because it attaches and destroys the structures. The aim of this research to find an antifouling active compound that is environmentally friendly as a replacement for TBT. This research used a sample of *S. echinocarpum* and *S. cinereum* which is extracted in various solvents (n-hexane, ethyl acetate, and methanol). The seaweed samples are taken from Gunungkidul, Yogyakarta. The biofilm bacteria is isolated from the mahogany plate substrate that has been submerged in the sea for two weeks. Antifouling activity test used the disk diffusion method, Phytochemicals test used the Harborne test methods, Biochemical test used the Cowan and Steel methods, and Brine Shrimp Lethality Test used the Meyer methods. The results showed that the antimicrofouling activity is most well demonstrated by the extract of *S. cinereum* with ethyl acetate solvent and *S. echinocarpum* with methanol solvent. Based on the analysis of One-Way ANOVA with significance <0.05 is known that the different types of solvent does not affects the results of inhibitory zone where methanol and ethyl acetate are not significantly different, which the extract with n-hexane solvent does not form an inhibition zone. Biochemistry test shows that the type of bacteria that can be inhibited is *Bacillus* sp., and *Nacordia* sp.. The results showed that the phytochemical extracts

of the *S. cinereum* crude extract with ethyl acetate solvent contains alkaloid, quinone, steroid and flavonoid compounds. While the crude extract of *S. echinocarpum* with methanol solvent contains quinone, triterpenoid and flavonoid compounds. Brine Shrimp Lethality Test showed that the crude extract of *S. echinocarpum* and *S. cinereum* with methanol and *n*-hexane occupy the toxic category with LC_{50} values 568.4347 bpj; 663.613 bpj; 639.711 bpj; and 855.3114 bpj. It was concluded that the crude extract of *S. cinereum* and *S. echinocarpum* making it possible to be used as a source of antifouling.

Keywords : Seaweed *Sargassum* sp., Antifouling, Fouling Bacteria.

PENDAHULUAN

Marine biofouling menurut Yebra *et al.* (2004) dapat diartikan sebagai tumbuhnya suatu organisme yang tidak diinginkan pada suatu permukaan buatan manusia yang terendam oleh air laut. Penempelan organisme tersebut dapat menyebabkan gangguan teknis dan gangguan ekonomi karena menempel pada struktur buatan manusia (Cho, 2012^b).

Organisme fouling yang biasa menempel pada struktur tersebut diantaranya adalah mikroba, diatom, teritip, *tunicates*, *bryozoans* dan spora dari ganggang laut (Bhadury dan Wright, 2004). Organisme fouling seperti teritip dan kerang pada umumnya diketahui menjadi organisme yang mendominasi sebagai penyebab biofouling. Biofouling dapat menyebabkan kerugian serius secara global, yaitu dengan menghancurkan substrat secara struktural. Contoh kerusakan yang umum terjadi adalah seperti rusaknya lambung kapal, kandang pada sistem budidaya, dan juga tersumbatnya saluran pendingin dan saluran limbah pada stasiun pembangkit listrik (Majik *et al.*, 2014).

Menurut sejarah pada awalnya masalah fouling diatasi dengan mengganti material utama pada struktur yang terendam air untuk meminimalisir terjadinya fouling. Semakin berkembangnya zaman, digunakan cat antifouling pada tahun 1800-an untuk meminimalisir terjadinya fouling tersebut (Rajan *et al.*, 2016). Menurut *International Maritime Organisation* (IMO) cat antifouling merupakan cat yang digunakan sebagai pelapis permukaan kapal untuk mencegah menempelnya moluska dan alga pada lambung kapal. Pada masa sebelumnya, cat antifouling menggunakan bahan utama berupa TBT (Trybutyultin) sebagai agen pencegah dan penempelan organisme fouling (Cho, 2012^a). Tetapi penggunaan TBT sebagai bahan dasar antifouling telah dilarang oleh *International Maritime Organization* (IMO) pada bulan September 2008 karena akan berdampak pada organisme non-target (IMO 2001).

Di Indonesia cat antifouling banyak digunakan sebagai pelapis pada kapal-kapal tradisional maupun modern. Cat yang dijual secara umum merupakan jenis cat *self-polishing* yang menggunakan sistem binder/resin dimana terdapat TBT didalamnya (*European Chemical Agency*, 2014). Setelah pelarangan penggunaan TBT oleh IMO, PT. International Paint Indonesia (IPI) pada tahun 2008 mulai membuat cat kapal bebas racun, tetapi berdasarkan penelitian Kusumastuti *et al.* pada tahun 2013 diketahui terjadi imposex sebesar 50,84% pada Keong Macan (*Babylonia spirata spirata*) di Pelabuhan Tanjung Mas Semarang karena adanya cemaran Tributyltin diperairan, padahal berdasarkan hasil pengukuran parameter lingkungan masih berada dibawah batas SNI yang ditentukan.

Berdasarkan dampak negatif tersebut maka TBT menjadi polutan di laut yang harus digantikan secepatnya mengingat senyawa logam berat yang terkandung dalam TBT tidak dapat didegradasi dan akan terus terakumulasi diperairan seperti pada sedimen maupun organisme yang hidup. Setelah pelarangan penggunaan TBT oleh *International Maritime Organisation* (IMO) pada tahun 2008, mulai banyak dilakukan penelitian mengenai pencarian antifouling yang ramah lingkungan sebagai pengganti biosida yang berbahaya. Salah satunya yaitu dengan menggunakan sampel dari organisme laut, organisme laut dipilih karena cara hidup organisme tersebut yang selalu terendam oleh air laut tetapi hanya sedikit atau bahkan tidak ada sama sekali organisme fouling yang menempel. Berdasarkan teori tersebut maka dilakukan penelitian antifouling dari banyak organisme laut dengan tujuan untuk mencari senyawa yang dapat menghambat tumbuhnya organisme fouling (Trepos *et al.*, 2013).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan terhadap sumber antifouling dari organisme laut diketahui bahwa bakteri simbiosis karang (Sabdono dan Radjasa, 2006), Rumput laut (Bazes *et al.*, 2009), Lamun (Iyapparaj *et al.*, 2014), Puffer Fish (Soliman *et al.*, 2014), Mangrove (Idora *et al.*, 2015) dan mikroba asosiasi mangrove (Sibero *et al.*, 2017) mempunyai hasil yang cukup baik sebagai potensi sumber antibakteri. Rumput laut diketahui mempunyai metabolit bioaktif yang menunjukkan spektrum luas dari segi bioaktivitasnya. Diketahui rumput laut coklat dapat menghambat bakteri dengan baik seperti bakteri *S. aureus*, *E. coli*, dan *P. vulgaris* (Moorthi dan Balasubramanian, 2015). Menurut Iyapparaj *et al.* pada tahun 2012, salah satu genus yang telah diketahui memiliki senyawa bioaktif antifouling adalah dari genus *Sargassum* (Phaeophyceae). Berdasarkan dengan hal tersebut perlu diadakannya penelitian lebih lanjut untuk mengkaji *Sargassum* sp. sebagai potensi sumber antifouling yang ramah lingkungan untuk menggantikan TBT sebagai bahan dasar cat antifouling yang sudah dilarang penggunaannya.

MATERI DAN METODE

Materi yang digunakan adalah ekstrak rumput laut *S. echinocarpum* dan *S. cinereum*. Masing-masing spesies telah diekstraksi menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat, dan metanol. Sampel rumput laut diambil dari perairan Gunungkidul, Yogyakarta. Isolasi bakteri biofouling dilakukan dengan cara merendam plat kayu Mahoni dengan ukuran 12x8x1cm di perairan Pantai Marina Semarang selama 2 minggu lalu dilakukan isolasi untuk mendapatkan kultur bakteri murni. *Brine Shrimp Lethality Test* dilakukan dengan menggunakan hewan uji *Artemia salina* Leach yang telah ditetaskan selama 2x24 jam. Metode dalam penelitian adalah metode eksperimental laboratoris, dimana penelitian ini mengkaji varian-varian dari semua atau hampir semua variabel bebas yang mungkin berpengaruh, sedangkan variabel yang tidak relevan dengan masalah-masalah penelitian dibuat (Setyono, 2005). Metode ini merupakan modifikasi dan pengembangan dari metode yang telah digunakan pada penelitian Santi *et al.* (2014). Salah satu pengembangan yang dilakukan adalah dengan uji lanjutan Uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) sebagai perwakilan terhadap makrofouling.

Preparasi Ekstrak Rumput Laut

Sampel yang digunakan berupa rumput laut dari daerah Pantai Kukup, Gunungkidul, Yogyakarta. Pengambilan sampel dilakukan disekitar pantai pada daerah yang telah ditentukan pada saat surut. Sampel yang diambil adalah berupa seluruh rumput laut yang ditemukan dari genus *Sargassum*. Sampel *S. echinocarpum* dan *S. cinereum* yang telah diambil lalu dicuci menggunakan air laut steril dan air tawar untuk menghilangkan epifit yang menempel dan menurunkan kadar garam (Santi *et al.*, 2014). Sebelumnya sampel yang didapatkan diidentifikasi terlebih dahulu berdasarkan referensi. Sampel yang telah bersih lalu dikeringkan menggunakan metode Kering Angin selama 7 hari di dalam suhu ruangan dan terhindar dari cahaya matahari langsung (Cho *et al.*, 2001). Sampel kering dihancurkan menggunakan blender untuk mendapatkan simplisia rumput laut. Simplisia (100 gram) diekstrak menggunakan teknik maserasi bertingkat menggunakan pelarut non-polar, semi-polar dan polar dengan perbandingan 1:4 (w/v). Maserasi dimulai dari pelarut non-polar (n-heksan), lalu semi-polar (etil-asetat) dan polar (metanol). Setiap maserasi pelarut dilakukan selama 2x24 jam. Hasil maserasi disaring menggunakan kertas Whatman No.41 dengan diameter 125 mm dan dilakukan penguapan pelarut pada maserat untuk mendapatkan ekstrak kasar (Septiana *et al.*, 2012).

Isolasi Bakteri Biofilm

Isolasi dilakukan dengan meletakkan kayu Mahoni berukuran 12x8x1 cm yang dikaitkan pada substrat dengan tali pada kedalaman 100 cm dibawah permukaan laut pada surut terendah selama 2 minggu (Santi *et al.*, 2014). Lempeng kayu yang telah terendam lalu diambil dan disemprot menggunakan air laut steril dan dilakukan pengerokan menggunakan bantuan *cutter* steril secara aseptik. Dilakukan pengenceran 10^{-1} dengan mengambil 1 ml sampel dan dilarutkan dengan air laut steril hingga volume 10 ml. Hasil pengenceran 10^{-1} diambil 1 ml sampel dilarutkan dengan air laut steril sampai volume 10 ml menghasilkan pengenceran 10^{-2} . Pengenceran dengan cara yang sama dilakukan pada 10^{-3} , 10^{-4} dan, 10^{-5} (Sabdono *et al.*, 2005).

Sampel diambil 50 µl dari masing-masing pengenceran kemudian diletakkan pada cawan petri berisi media zobell 2216E dan diratakan diatas permukaan media menggunakan *spreader* lalu diinkubasi selama 48 jam dalam suhu 37°C. Koloni yang ditemukan tumbuh pada media diidentifikasi secara morfologi berdasarkan warna, bentuk, tekstur dan tepian. Koloni yang diperoleh dipisahkan menggunakan teknik *streaky* yaitu dengan cara menggoreskan koloni yang dipilih kedalam cawan petri terpisah sehingga diperoleh isolat bakteri biofilm primer berupa kultur murni (Sabdono *et al.*, 2005).

Uji Aktivitas Antimikrofoiling

Ekstrak yang didapat diuji menggunakan bakteri fouling dengan metode disk diffusion (Radjasa *et al.*, 2007). Bakteri yang telah dimurnikan lalu dibiakkan pada media Zobell 2216E cair (10 ml) selama 2x24 jam diatas *shaker* lalu dihitung kekeruhannya sesuai dengan standar McFarland menggunakan spektrofotometer. Koloni bakteri yang telah sesuai standar McFarland lalu dibiakkan kedalam petri yang telah berisi media Zobell 2216E padat (15 ml) sebanyak 50 µl pada setiap petri disk dan diinkubasi selama 30 menit sebelum dilakukan peletakan paper disk. Sebelumnya kertas saring Whatman No.41 dipotong dengan pembolong kertas dengan ukuran diameter 6 mm untuk dijadikan sebagai paper disk, paper disk yang telah dipotong lalu disterilisasi untuk dipakai pada uji disk diffusion (Rajan *et al.*, 2016).

Sebanyak 0,05 gram ekstrak dilarutkan kedalam 10 ml pelarut (sesuai pelarut pada saat ekstraksi) untuk dijadikan sebagai larutan ekstrak. Larutan ekstrak diteteskan sebanyak 10 µl pada setiap paper disk, sehingga terdapat 50 µg ekstrak pada setiap paper disk (Santi *et al.*, 2014). Paper disk diletakkan pada petri-disk yang telah berisi bakteri uji, lalu ditutup dan diinkubasi terbalik selama 2x24 jam dalam suhu 37°C. Pengukuran zona hambat dilakukan pada jam ke-24 dan ke-48 untuk setiap paper disk. Setiap sampel uji *disk diffusion* dilakukan dua kali pengulangan.

Hasil uji antimikrofoiling dianalisis menggunakan Uji Statistika One-Way ANOVA ($\alpha = 0,05$). Berdasarkan hasil One-Way ANOVA, 2 jenis sampel ekstrak dengan zona hambat terbaik dilanjutkan pada Uji Fitokimia. Sedangkan untuk isolat bakteri, 2 buah isolat terbaik yang memiliki hasil zona hambat paling besar dilanjutkan pada Uji Biokimia.

Uji Fitokimia dan Uji Biokimia

Uji laboratorium yang digunakan berupa Uji Fitokimia (Uji alkaloid, Uji saponin, Uji flavonoid, Uji Steroid, Uji Fenol, Uji Quinon, Uji Tanin) pada 2 jenis hasil ekstrak terbaik yang dilakukan untuk mengetahui senyawa yang terkandung pada ekstrak rumput laut. Selanjutnya dilakukan Uji Biokimia pada 2 isolat bakteri uji terbaik untuk mengetahui jenis bakteri biofouling yang diperoleh berdasarkan morfologi (Santi *et al.*, 2014).

Uji Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

Uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dilakukan menggunakan metode Meyer *et al.* (1982) yaitu larva *Artemia salina* Leach yang diperoleh dari inkubasi kista *Artemia salina* sebanyak 0,1 gram dalam media air laut steril sebanyak 1 liter dengan diberi penerangan lampu pijar 40-60 watt serta diberi aerasi selama 48 jam. *Artemia salina* yang telah menjadi larva lalu dipisahkan untuk diujikan menggunakan ekstrak yang telah diencerkan dengan konsentrasasi 1000 ppm, 500 ppm, 100 ppm, 50 ppm, 25 ppm, dan 12,5 ppm (Muaja *et al.*, 2013). Kontrol negatif (0 ppm) dilakukan tanpa penambahan ekstrak. Masing-masing konsentrasasi diberi 10 ekor larva *Artemia salina* dengan tiga kali pengulangan untuk setiap konsentrasasi. Pengamatan dilakukan pada jam ke-24 dari waktu pemberian ekstrak. Pada saat pengamatan dilakukan penghitungan dan pencatatan jumlah larva *Artemia* yang hidup (Muaja *et al.*, 2013). Data hasil uji BSLT lalu dihitung dengan metodostatistika regresi linier menggunakan Microsoft Excel untuk menentukan nilai dan kategori toksisitas (LC_{50}).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel yang diperoleh terdiri dari 2 spesies, yaitu *S. echinocarpum* dan *S. cinereum*. Karakteristik sampel pertama sesuai dengan spesies *S. echinocarpum* menurut Agardh J.G. (1848)

yaitu berwarna coklat keemasan; holdfast berbentuk diskoid dan conical; diameter thallus 0,5-3,5 cm dan tinggi 0,5-2 cm; berduri banyak; dan tumbuh pada perairan berbatu didekat ujung rata-rataan terumbu yang terkena ombak. Karakteristik sampel kedua serupa dengan spesies *S. cinereum* menurut identifikasi Atmadja *et al.*, (1996) yaitu batang thallus silindris dan licin; bentuk thallus yang menyerupai daun lonjong dan bergerigi berukuran kecil; cryptostomata jelas menyebar pada lembaran thallus yang menyerupai daun dan gelembung udara berbentuk bulat dengan ujung melengkung.

Pencucian dengan air laut dan air tawar berguna untuk menghilangkan epifit yang menempel pada sampel dan untuk mengurangi kadar garam pada sampel. Kadar garam pada sampel dikurangi untuk mendapatkan ekstrak yang lebih baik pada saat penguapan pelarut. Pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air yang terkandung pada sampel sehingga akan mudah pada proses ekstraksi dan pada proses penguapan pelarut. Pengeringan dilakukan dengan kering angin pada suhu ruangan, hal ini dilakukan untuk mencegah rusaknya senyawa yang terkandung dalam sampel (Cho *et al.*, 2001). Hasil pengeringan diekstraksi menggunakan metode maserasi bertingkat. Pelarut yang digunakan untuk maserasi adalah n-heksan (non-polar), etil asetat (semi-polar), dan metanol (polar). Maserasi dilakukan dari pelarut non-polar ke pelarut polar, hal ini dilakukan karena untuk mengambil ekstrak sesuai kepolaran dan karena sampel yang digunakan adalah sampel kering sehingga dimulai dari pelarut non-polar.

Proses ekstraksi menghasilkan ekstrak *S. echinocarpum* dan *S. cinereum* dengan berbagai macam karakteristik dan perbedaan berat. Berdasarkan hasil (Tabel 1) diketahui bahwa pelarut yang paling banyak dihasilkan ekstrak adalah pelarut metanol dari sampel *S. echinocarpum* dan *S. cinereum* walau memiliki berat yang berbeda (5,03 gram dan 2,51 gram) dibandingkan pelarut etil asetat atau n-heksan. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa yang banyak terdapat pada sampel *S. echinocarpum* dan *S. cinereum* adalah senyawa polar karena banyak terserap oleh pelarut metanol.

Isolasi Bakteri Biofilm dan Uji Aktivitas Antimikrofoiling

Bakteri biofilm yang berhasil di isolasi dari plat kayu yang direndam pada Perairan Pantai Marina Semarang diperoleh sebanyak 5 isolat bakteri. Bakteri yang berhasil diisolasi selanjutnya digunakan pada uji aktivitas antimikrofoiling. Uji dilakukan dengan menghitung zona hambat yang terbentuk dari ekstrak *S. echinocarpum* (N-heksana, etil asetat, dan metanol) dan *S. cinereum* (N-heksana, etil asetat, dan metanol) melawan 5 bakteri biofilm yang telah diisolasi. Aktivitas antimikrofoiling dinyatakan positif apalagi terbentuk zona hambat di sekeliling *paper-disk*.

Berdasarkan hasil pengukuran diketahui zona hambat terbaik dimiliki oleh ekstrak *S. echinocarpum* metanol (SEM) dan ekstrak *S. cinereum* etil asetat (SFE) terhadap seluruh bakteri uji setelah dibandingkan dan dikategorikan sesuai sifat zona hambatnya pada pengamatan jam ke-24 dan ke-48 (Tabel 2). Sedangkan ekstrak *S. echinocarpum* dan ekstrak *S. cinereum* dengan pelarut n-heksan tidak menghasilkan zona hambat pada seluruh isolat (Gambar 1).

Ekstrak yang dapat menghambat banyak bakteri selanjutnya akan melalui uji lanjutan yaitu uji fitokimia untuk mengetahui kandungan senyawa bioaktif di dalamnya. Bakteri biofilm yang sensitif terhadap ekstrak *S. echinocarpum* dan *S. cinereum* selanjutnya akan diidentifikasi menurut morfologinya dengan menggunakan uji biokimia. Hasil pengukuran uji aktivitas *antimikrofoiling* di analisa menggunakan uji statistika One-way ANOVA (Tabel 3). Hasil pengambilan keputusan One-way ANOVA menunjukkan hasil Terima H_0 atau Tolak H_1 yang berarti setiap jenis ekstrak dengan perbedaan jenis pelarut tidak mempengaruhi secara nyata aktivitas zona hambat yang terbentuk.

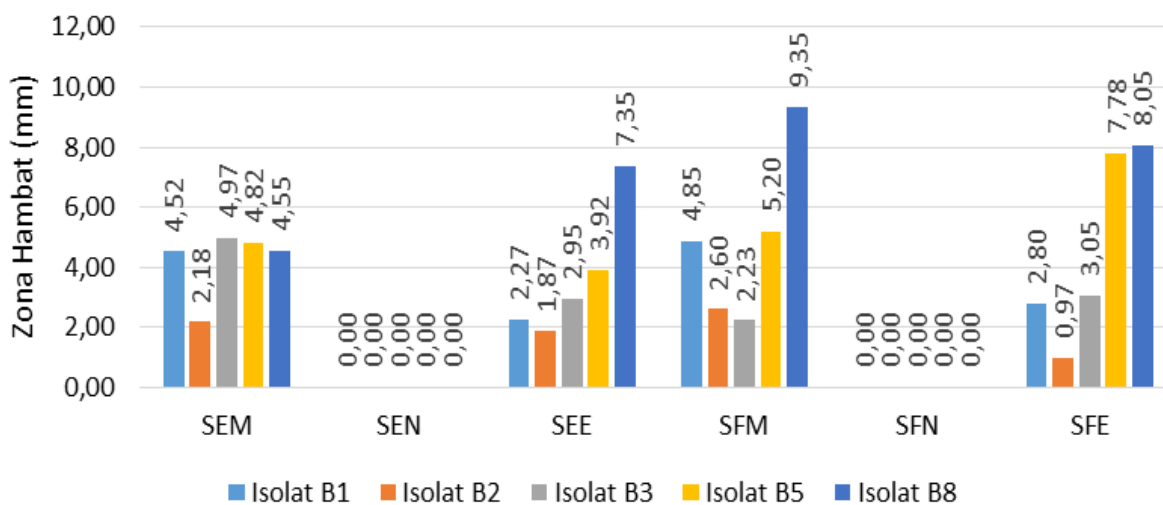
Dari hasil dapat dilihat bahwa ekstrak *S. echinocarpum* dan *S. cinereum* dengan pelarut metanol dan n-heksan mempunyai spektrum yang luas sebagai antimikrofoiling karena dapat menghambat pertumbuhan berbagai bakteri biofilm meskipun mempunyai daya sensitifitas yang berbeda (Santi *et al.*, 2014). Dari hasil ini diketahui bahwa ekstrak *S. echinocarpum* dan *S. cinereum* dengan pelarut metanol dan n-heksan mempunyai potensi untuk digunakan sebagai antifouling yang ramah lingkungan karena berasal dari metabolit sekunder rumput laut. Metabolit sekunder ini yang diduga mengganggu pertumbuhan bakteri biofilm (Santi *et al.*, 2014).

Tabel 1. Berat dan Karakteristik Hasil Ekstraksi *S. echinocarpum* dan *S. Cinereum*

Spesies	Pelarut	Maserasi (W/V)	Ekstrak (%)	Residu (%)	Bentuk	Warna
<i>S. Echinocarpum</i>	n-heksan	100 gr/400 ml	0,62	99,38	Pasta cair	Hijau gelap
	Etil asetat	100 gr/400 ml	0,21	99,79	Pasta cair	Hijau gelap
	Metanol	100 gr/400 ml	5,03	94,97	Pasta	Hijau
<i>S. Cinereum</i>	n-heksan	100 gr/400 ml	1,41	98,59	Pasta cair	Hijau gelap
	Etil asetat	100 gr/400 ml	1,73	98,27	Pasta cair	Hijau gelap
	Metanol	100 gr/400 ml	2,51	97,49	Pasta	Hijau

Tabel 2. Hasil Pengukuran Uji Aktivitas Antimicrofouling Berdasarkan Sifat Zona Hambat

Jenis Sampel	Kode Isolat					total		Keterangan
	B1	B2	B3	B5	B8	sidal	statik	
SEM	sidal	statik	sidal	sidal	statik	3	2	terbaik
SEN	-	-	-	-	-	0	0	
SEE	statik	statik	sidal	statik	statik	1	4	
SFM	sidal	statik	statik	sidal	statik	2	3	
SFN	-	-	-	-	-	0	0	
SFE	sidal	statik	sidal	sidal	sidal	4	1	terbaik



Gambar 1. Grafik Hasil Uji Aktivitas Antimikrofouling

Tabel 3. Hasil Uji Statistika One-way ANOVA

Sumber Variansi	Derajat Kebebasan	Nilai F	Nilai P	F crit	Pengambilan Keputusan
Jenis Ekstrak dan Pelarut	3	0,205518	0,891069	3,238872	Terima H ₀ , Tolak H ₁

Uji Biokimia dan Uji Fitokimia

Hasil uji laboratorium biokimia menunjukkan bahwa secara morfologi isolat dengan kode B1 adalah bakteri yang berasal dari genus *Bacillus*, sedangkan isolat dengan kode B5 adalah bakteri yang berasal dari genus *Nocardia*. Menurut Bhadury dan Wright (2004) dan Vlamakis *et al.* (2013) diketahui bahwa bakteri dari genus *Bacillus* merupakan bakteri yang umum dijumpai pada awal terbentuknya lapisan biofilm. Selain itu diketahui bahwa bakteri dari genus *Bacillus* biasa digunakan sebagai bakteri untuk uji antifouling (Pandithuria *et al.*, 2015). Bakteri dari genus *Nocardia* diketahui sebagai bakteri fouling yang menempati membran bioreaktor pada penelitian Lim *et al.* (2004) dengan jenis bakteri lain. Pada umumnya, genus *Nocardia* diketahui sebagai bakteri patogen pada manusia maupun hewan. Pada manusia bakteri dari genus *Nocardia* diketahui dapat mengurangi sistem kekebalan tubuh (Agterof *et al.*, 2007), selain pada manusia bakteri dari genus *Nocardia* diketahui menjadi penyebab penyakit pada ikan mulai dari tingkat juvenile menurut penelitian *Merck Animal Health*.

Analisa fitokimia menunjukkan ekstrak *S. echinocarpum* dan *S. cinereum* dengan pelarut metanol dan n-heksan mengandung beberapa macam senyawa bioaktif (Tabel 4). Hasil menunjukkan adanya perbedaan kandungan senyawa walaupun berasal dari sampel yang sama. Perbedaan ini terjadi karena penggunaan pelarut yang berbeda tingkat kepolaran sehingga senyawa yang ditarik akan sesuai tingkat kepolaran pelarut tersebut, yaitu pelarut polar akan menarik senyawa polar dan pelarut semi polar akan menarik senyawa semi polar. Hal ini sesuai dengan pendapat Nur dan Adijuna (1989) yang menyebutkan bahwa suatu senyawa menunjukkan kelarutan yang berbeda satu sama lain dalam berbagai macam pelarut dan senyawa kimia akan mudah larut pada pelarut yang relatif sama tingkat kepolarannya.

Alkaloid positif ditemukan pada ekstrak *S. cinereum* etil asetat, sedangkan negatif pada ekstrak *S. echinocarpum* metanol. Hal serupa dengan hasil penelitian Widowati *et al.* (2014) yang mendapat hasil bahwa kandungan senyawa alkaloid ditemukan pada ekstrak *S. duplicatum* dan *S. echinocarpum* dengan pelarut etil asetat. Hampir semua alkaloida ditemukan di alam dengan keaktifan biologis tertentu, ada yang bersifat toksik misalnya kuinin, morfin dan stiknin (Lenny, 2006).

Senyawa quinon positif ditemukan pada ekstrak *S. echinocarpum* metanol dan *S. cinereum* etil asetat. Quinon merupakan senyawa yang bersifat fenol yang biasa ditemukan pada tumbuhan dan bermanfaat karena dapat bersifat antikanker (Purwianingsih dan Hamdiyati, 2011). Volk dan Wheeler (1984), Pelczar dan Reid (1988) menyatakan bahwa senyawa fenol mampu melakukan migrasi dari fase cair ke fase lemak yang terdapat pada membran sel bakteri menyebabkan turunnya tegangan permukaan membran sel (Rahayu, 2000). Selanjutnya mendenaturasi protein dan mengganggu fungsi membran sel sebagai lapisan yang selektif, sehingga sel menjadi lisis (Jawetz *et al.*, 2008).

Senyawa triterpenoid ditemukan pada ekstrak *S. echinocarpum* metanol dan tidak ditemukan pada ekstrak *S. cinereum* etil asetat, sedangkan senyawa steroid ditemukan pada ekstrak *S. cinereum* etil asetat dan tidak pada ekstrak *S. echinocarpum* metanol. Hal ini sedikit berbeda dengan pendapat Harborne (1987) yang menyebutkan bahwa senyawa triterpenoid diketahui merupakan golongan senyawa steroid yang digunakan sebagai bahan dasar pembuatan obat.

Hasil analisis pada senyawa flavonoid menghasilkan hasil positif dari kedua ekstrak *S. echinocarpum* metanol dan *S. cinereum* etil asetat. Flavonoid memiliki gugus hidroksi yang tidak tersubstitusi sehingga bersifat polar (Putri *et al.*, 2013) karena kepolaran inilah maka senyawa flavonoid masih bisa tertarik oleh senyawa semi-polar. Senyawa flavonoid merupakan kelompok senyawa fenol yang terbesar yang dapat ditemukan di alam. Senyawa flavonoid dihasilkan oleh

tanaman sebagai salah satu bentuk metabolisme sekunder untuk menghambat pertumbuhan tumbuhan lain yang ada di sekitarnya sebagai salah satu adaptasi lingkungan untuk bertahan hidup (Lenny, 2006). Selain itu senyawa flavonoid diketahui berperan sebagai senyawa antioksidan untuk melawan radikal bebas (Septiana dan Asnani, 2012). Flavonoid bersifat polar sehingga lebih mudah menembus lapisan peptidoglikan yang juga bersifat polar pada bakteri Gram-positif daripada lapisan lipid yang non-polar. Di samping itu pada dinding sel Gram-positif mengandung polisakarida (asam terikat) merupakan polimer yang larut dalam air, yang berfungsi sebagai transpor ion positif untuk keluar masuk. Sifat larut inilah yang menunjukkan bahwa dinding sel Gram-positif bersifat lebih polar. Aktivitas penghambatan ekstrak pada bakteri Gram-positif menyebabkan terganggunya fungsi dinding sel sebagai pemberi bentuk sel dan melindungi sel dari lisis osmotik. Dengan terganggunya dinding sel akan menyebabkan lisis pada sel (Dewi, 2010).

Senyawa bioaktif yang berasal dari metabolit sekunder yang terdeteksi pada fitokimia diketahui bertanggung jawab atas aktivitas antibakteri dan antifouling yang dihasilkan (Iyapparaj *et al.*, 2012, 2014; Santi *et al.*, 2014; Widowati *et al.*, 2014). Perbedaan hasil zona hambat aktivitas antimikrofouling dapat terjadi diduga karena spesifikasi senyawa bioaktif yang dihasilkan berbeda pada setiap ekstrak (Trepas *et al.*, 2013). Untuk menghasilkan senyawa antimikrofouling dengan spektrum yang lebih besar, harus dilakukan mixing senyawa bioaktif agar mendapatkan hasil yang lebih baik dibandingkan menggunakan senyawa dari salah satu ekstrak saja sehingga dapat menghambat lebih banyak pertumbuhan bakteri biofilm (Cho *et al.*, 2001; Trepas *et al.*, 2013).

Uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Menurut hasil uji *Brine Shrimp Lethality Test* diketahui bahwa nilai toksisitas ekstrak *S. echinocarpum* dan *S. cinereum* termasuk kedalam kategori toksisitas rendah (Tabel 5). Hal ini dapat dilihat melalui kategori hasil pembagian kategori menurut Meyer *et al.* (1982).

Tabel 4. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak *S. echinocarpum* dan *S. Cinereum*

Parameter	Ekstrak Kasar	
	<i>S. echinocarpum</i> metanol	<i>S. Cinereum</i> etil asetat
Alkaloid	-	+
Quinon	+	+
Fenolik	-	-
Triterpenoid	+	-
Saponin	-	-
Steroid	-	+
Flavonoid	+	+

Tabel 5. Hasil uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) menggunakan metode Meyer *et al.* (1984)

Pelarut	Linier	a	b	R ²	R	LC ₅₀ (bpj)	Kriteria
<i>S. echinocarpum</i>							
Metanol	$y = 0,065x +$	12,541	0,065	0,8866	0,942	576,292	Toksik
Etil asetat	$y = 0,0245x$	14,268	0,0245	0,8772	0,937	1458,45	Tidak Toksik
n-heksan	$y = 0,061x +$	9,5196	0,061	0,9225	0,96	663,613	Toksik
<i>S. cinereum</i>							
Metanol	$y = 0,0589x$	12,321	0,0589	0,9283	0,963	639,711	Toksik
Etil asetat	$y = 0,0341x$	6,5894	0,0341	0,8745	0,935	1273,04	Tidak Toksik
n-heksan	$y = 0,0279x$	25,334	0,0279	0,7267	0,852	884,086	Toksik

Dari hasil diketahui bahwa nilai toksisitas ekstrak *S. echinocarpum* dan *S. cinereum* dengan pelarut metanol dan n-heksan cukup baik, hal ini dikarenakan ekstrak dapat membunuh 50% hewan uji dengan hasil kategori toksik. Sedangkan ekstrak *S. echinocarpum* dan *S. cinereum* etil asetat termasuk kedalam kategori non-toksik sehingga tidak efektif untuk dijadikan sebagai sumber bioaktif karena tidak dapat membunuh 50% hewan uji dengan konsentrasi uji yang diberikan. Artinya untuk ekstrak *S. echinocarpum* dan *S. cinereum* dengan pelarut etil asetat dibutuhkan lebih banyak konsentrasi ekstrak untuk membunuh 50% dari hewan uji. Menurut Meyer *et al.* (1982) mengatakan bahwa semakin kecil nilai LC_{50} , maka semakin besar potensi sumber senyawa tersebut dijadikan sebagai obat antikanker. Dengan kata lain sedikit ekstrak yang dipakai pada uji *Brine Shrimp Lethality Test* dan menghasilkan nilai LC_{50} yang kecil, maka akan mempunyai potensi yang lebih besar untuk digunakan sebagai sumber senyawa antifouling.

KESIMPULAN

Hasil isolasi bakteri biofilm menunjukkan bahwa bakteri dari genus *Bacillus* dan *Nocardia* dapat dihambat pertumbuhannya oleh ekstrak *S. echinocarpum* dan *S. cinereum*. Aktivitas antifouling pada ekstrak *S. echinocarpum* dan *S. cinereum* dengan pelarut metanol dan etil asetat memberikan hasil positif yaitu dengan munculnya zona yang dapat menghambat tumbuhnya bakteri biofilm primer (0,9-9,3mm) dan memberikan nilai uji toksisitas *Brine Shrimp Lethality Test* kategori toksik (576,292 bpj). Kandungan ekstrak *S. echinocarpum* dan *S. cinereum* adalah senyawa dari golongan alkaloid, quinon, steroid, triterpenoid, dan flavonoid.

DAFTAR PUSTAKA

- Agardh, J.G. 1848. Anadema, ett nytt slägte bland Algerne. Öfversigt af Kongl. Vetenskaps-Akademiens Förhandlingar, Stockholm 1846: 1-16, pl. XVII.
- Agterof, M.J., T. van der Bruggen, M. Tersmette, E.J. ter Borg, J.M.M. van den Bosch dan D.H. Biesma. Nocardiosis: a case series and a mini review of clinical and microbiological features. Netherland The Journal of Medicine. June vol. 65, no. 6: 199-202.
- Atmadja, W.S. dan Soelistijo. 1988. Beberapa Aspek Vegetasi dan Habitat Tumbuhan Laut Bentik di Pulau-Pulau Seribu. Jakarta : Pusat Penelitian dan Pengembangan Oseanologi-LIPI. 68-73.
- Bazes, A., A. Silkina, P. Douzenel, F. Faÿ, N. Kervarec, D. Morin, J.P. Berge, dan N. Bourgougnon. 2009. Investigation of the antifouling constituents from the brown alga *Sargassum muticum* (Yendo) Fensholt. *J Appl Phycol* 21:395–403.
- Bhadury, P. dan P.C. Wright. 2004. Exploitation of marine algae: biogenic compounds for potential antifouling applications. *Planta*, 219: 561–578.
- Cho, J.Y., E.H. Kwon, J.S. Choi, S.Y. Hong, H.W. Shin, dan Y.K. Hong. 2001. Antifouling Activity of Seaweed Extracts on the Green Alga *Enteromorpha prolifera* and the Mussel *Mytilus edulis*. *Journal of Applied Phycology* 13: 117-125.
- Cho, J.Y.. 2012a. Antifouling chromanols isolated from brown alga *Sargassum horneri*. *J Appl Phycol* 25:299–309.
- Cho, J.Y.. 2012b. Antifouling steroids isolated from red alga epiphyte filamentous bacterium *Leucothrix mucor*. *Fish Sci* 78:683–689.
- Dewi, F.K. 2010. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda Citrifolia*, Linnaeus) Terhadap Bakteri Daging Segar. Skripsi. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- European Chemicals Agency. 2014. Transitional Guidance on Efficacy Assessment for Product Type 21 Antifouling Products. European Chemicals Agency Helsinki. Finland.
- Harborne, J.B. 1987. Metode Fitokimia. Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Terjemahan K. Padmawinata dan I. Soediro. ITB. Bandung: 354 hlm.
- Idora, M.S. Noor, M. Ferry, W.B.W. Wik, dan S. Jasnizat. 2015. Evaluation of tannin from *Rhizophora apiculata* as natural antifouling agents in epoxy paint for marine application. *Jasnizat School of Ocean Engineering; Universiti Malaysia. Progress in Organic Coatings* 81 125–131.

- IMO (*The International Maritime Organization*). 2001. International convention on the control of harmful anti-fouling systems on ships. www.imo.org. Diakses tanggal 16 April 2016.
- Iyapparaj, P., P. Revathi, R. Ramasubburayan, S. Prakash, A. Palavesam, G. Immanuel, P. Anantharaman, A. Sautreau, dan C. Hellio. 2014. Antifouling and toxic properties of the bioactive metabolites from the seagrasses *Syringodium isoetifolium* and *Cymodocea serrulata*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 103, 54–60.
- Iyapparaj, P., R. Ramasubburayan, T. Raman, N. Das, P. Kumar, A. Palavesam, dan G. Immanuel. 2012. Evidence for the antifouling potentials of marine macroalgae *Sargassum wightii*. *Advances in Natural and Applied Sciences*, 6(2): 153-162.
- Jawetz, E., J.L. Melnick, dan E.A. Adelberg. 2008. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC
- Kusumastuti, R., Widianingsih dan Nuraini, R.A.T. 2013. Analisis Imposeks pada Keong Macan (*Babylonia spirata spirata*) Sebagai Bioindikator Cemaran Tributyltin di Pelabuhan Tanjung Mas Semarang. *Journal Of Marine Research: Universitas Diponegoro Semarang*. Vol. 2, No. 3, Hal. 114-122.
- Lenny, S. 2006. *Senyawa Flavonoida, Fenilpropanoida dan Alkaloida*. Karya Ilmiah. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sumatera Utara.
- Lim, B.R., K.H. Ahn, P. Songprasert, J.W. Cho dan S.H. Lee. 2004. Microbial community structure of membrane fouling film in an intermittently and continuously aerated submerged membrane bioreactor treating domestic wastewater. *Water Sci Technol* 49 (2): 255-61.
- Majik, M.S., C. Rodrigues, S. Mascarenhas, dan L. D'Souza. 2014. Design and synthesis of marine natural product-based 1H-indole-2,3-dione scaffold as a new antifouling/antibacterial agent against fouling bacteria. *Bioorganic Chemistry* 54C: 89-95.
- Meyer, B.N., N. R. Ferrigni, J.E. Putnam, L.B. Jacobsen, D.E. Nichols, dan J.L. McLaughlin. 1982. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Journal of Medicinal Plant Research*. Vol. 45: 31-34.
- Moorthi, P. V., dan Balasubramanian C. 2015. Antimicrobial properties of marine seaweed, *Sargassum muticum* against human pathogens. *Journal of Coastal Life Medicine* 3 (2): 122-125.
- Muaja, A.D., H.S.J. Koleangan, Runtuwene dan R.J. Max. 2013. Uji Toksisitas dengan Metode BSLT dan Analisis kandungan Fitokimia Ekstrak Daun Soyogik (*Saurauia bracteosa* DC) dengan Metode Soxhletasi. *Jurnal MIPA UNSRAT Online* (2) 115-118.
- Nur, M.A. dan H. Adijuwana. 1989. *Teknik Spektroskopi dalam Analisis Biologi*. Bogor: Institut Pertanian Bogor: 143 hlm.
- Pandithurai, M., S. Murugesan, dan V. Sivamurugan. 2015. Antibacterial Activity of Various Solvent Extracts of Marine Brown Alga *Sargassum asperum*. *International Journal of Pharmacological Research*. ISSN: 2277-3312. India: 133-137.
- Pelczar, M.J. dan R.D. Reid. 1988. *Microbiology*. McGraw Hill Book Co., New York.
- Purwianingsih, W. dan Y. Hamdiyati. 2011. Elicitation Method using *Sacharomyces cerevisiae* H. to Improve Quinone Bioactive content of *Morinda citrifolia* L. (Mengkudu) Callus. *Universitas Pendidikan Indonesia: Bandung*: 1-14.
- Putri, W. S., N.K. Warditiani, dan L.P.F. Larasanty. 2013. Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Jurusan Farmasi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana*. Bali: 56-60.
- Radjasa, O.K., S.I.O. Salasia, A. Sabdono, dan J. Weise. 2007. Antibacterial Activity of Marine Bacterium *Pseudomonas* sp. Associated with Soft Coral *Sinularia polydactyla* against *Streptococcus equi* Subsp. *Zooepidemicus*. *Int. J. Pharmacol.* 3 (2): 170-174.
- Rahayu, P.W. 2000. *Aktivitas Antimikroba Bumbu Masakan Tradisional Hasil Olahan Industri Terhadap Bakteri Patogen dan Perusak*. *Buletin Teknologi dan Industri Pangan*: Vol 11(2)
- Rajan, R., M. Selvarajb, S. Palrajb, dan G. Subramanianc. 2016. Studies on the anticorrosive & antifouling properties of the *Gracilaria edulis* extract incorporated epoxy paint in the Gulf of Mannar Coast, Mandapam, India. *Progress in Organic Coatings* 90: 448–454.
- Sabdono, A. dan O.K. Radjasa. 2006. Antifouling Activity of Bacteria Associated with Soft Coral *Sarcophyton* sp. Against Marine Biofilm- Forming Bacteria. *Jurnal of Coastal Development* Vol. 10: 55-62.

-
- Sabdono, A., O.K. Radjasa, dan T. Bachtiar. 2005. Eksprolasi Bioaktif Antifoulant Bakteri yang berasosiasi dengan Avertebrata Laut sebagai Alternatife Penanganan Biofouling Laut. Laporan Akhir Tahun Hibah Bersaing Perguruan Tinggi. Pusat Studi Pesisir dan Laut Tropis, Universitas Diponegoro, Semarang. 26 hlm.
- Santi, I.W., O.K. Radjasa, dan I. Widowati. 2014. Potensi Rumput Laut *Sargassum duplicatum* Sebagai Sumber Senyawa Antifouling. *Journal of Marine Research* Vol. 3, No. 3: 274-284.
- Septiana, A.T. dan A. Asnani. 2012. Kajian Sifat Fitokimia Ekstrak Rumput Laut Cokelat *Sargassum duplicatum* Menggunakan berbagai Pelarut dan Metode Ekstraksi. *Agrointek* Vol.6, No.1: 22-28.
- Setyono, B. 2005. Penilaian Otentik dalam Kurikulum Berbasis Kompetensi. Lembaga Pendidikan (LP3). *Jurnal pengembangan pendidikan*. Universitas Jember.
- Sibero, M. T., Sahara, R., Syafiqoh, N., Tarman, K. 2017. Antibacterial activity of red pigment isolated from coastal endophytic fungi against multidrug resistant bacteria. *Biotropia* 24(2): 161-172.
- Soliman, Y.A., A. S. Mohamed, dan M.N. Gomaa. 2014. Antifouling activity of crude extracts isolated from two Red Sea puffer fishes. *Egyptian Journal of Aquatic Research* 40: 1–7.
- Trepos, R., E. Pinori, P.R. Jonsson, M. Berglin, J. Svenson, R. Coutinho, J. Lausmaa dan C. Hellio. 2013. Innovative Approaches For The Development of New Copper-free Marine Antifouling Paints. European Union Seventh Frameworks Programme. LEAF. *The Journal of Ocean Technology*. Vol 9. No 4: 7-18.
- Vlamakis, H., Y. Chai, P. Beauregard, R. Losick, dan R. Kolter. 2013. Sticking together: building a biofilm the *Bacillus subtilis* way. *Nat Rev Microbiol*. 11 (3):157-68.
- Volk dan Wheeler. 1984. *Mikrobiologi Dasar*. Penerjemah: Markhman. Edisi Kelima. Penerbit: Erlangga. Jakarta.
- Widowati, I., A.B. Susanto, M. Puspita; V.S. Pouvreau, dan N. Bourgougnon. 2014. Potentiality of Using Spreading *Sargassum* Species from Indonesia as an Interesting Source of Antibacterial and Radical Scavenging. *IJMARCC. International Journal of Marine and Aquatic Resource Conservation and Co-existence* 1 (1): 63-67.
- Yebra D.M., S. Kiil, dan K.D. Johansen. 2004. Antifouling technology past, present and future steps towards efficient and environmen tally friendly antifouling coatings. *Prog Org Coat* 50:75–104.