

LAPORAN AKHIR TAHUN
HIBAH BERSAING PERGURUAN TINGGI
Tahun Anggaran 2005



**Eksplorasi Senyawa Bioaktif Antifoulant Bakteri yang
Berasosiasi dengan Avertebrata Laut Sebagai
Alternatif Penanganan Biofouling di Laut**

**Ketua Peneliti:
Dr.Ir. Agus Sabdono, M.Sc.**

**PUSAT STUDI PESISIR DAN LAUT TROPIS
UNIVERSITAS DIPONEGORO
DESEMBER, 2005**

UPT-PUSTAK-UNDIP	
Nn. Daft:	402/K1/FP1K/C1
Tgl.	29-5-06

LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN

1. Judul:

Ekplorasi Senyawa Bioaktif Antifoulant Bakteri yang Berasosiasi dengan Avertebrata Laut sebagai Alternatif Penanganan Biofouling di Laut

2. Ketua Peneliti

a. Nama : Dr.Ir. Agus Sabdono, M.Sc.
b. Jenis Kelamin : Laki-laki
c. Pangkat/Golongan : Pembina/IVa
d. NIP : 131 471 174
e. Jabatan Sekarang : -
f. Fakultas/Jurusan/Pusat Penelitian : Pusat Studi Pesisir dan Laut Tropis
g. Alamat Kantor/Telp/Fax/E-mail : Kampus Tembalang, Semarang
024-7474698/024-7474698/
agus_sabdono@yahoo.com
h. Alamat Rumah/Telp/Fax/E-mail : Jl. Ngesrep Timur Dalam III/9 Smg
024-7478736/
agus_sabdono@yahoo.com

3. Perguruan Tinggi

: Universitas Diponegoro

4. Jangka Waktu Penelitian

: 2 tahun

a. Biaya 2005/2007 yang diajukan ke Dikti : Rp. 75.000.0.000,-

b. Biaya 2005/2007 dari Instansi Lain : -

Total Biaya : Rp. 75.000.000,-

Semarang, 1 Desember 2005

Mengetahui
Ketua PSPLT-UNDIP

Ketua Peneliti,

Dr. Ocky Radjasa, M.Sc.
NIP. 131 918 665

(Dr. Ir. Agus Sabdono, M.Sc.)
NIP. 131 471 174



RINGKASAN

EKSPLORASI SENYAWA BIOAKTIF ANTIFOULANT BAKTERI YANG BERASOSIASI DENGAN AVERTEBRATA LAUT SEBAGAI ALTERNATIF PENANGANAN BIOFOULING DI LAUT (AGUS SABDONO , OCKY KARNA RADJASA DAN TONNY BACHTIAR, 2005, 26 HALAMAN)

Biofouling sebagai hasil dari proses penempelan organisme fouling pada berbagai struktur di lingkungan laut telah menjadi "*big concern*" bagi pelaku industri maritim. Aplikasi cat pelindung *antifoulant* dengan komponen utama logam berat mempunyai dampak yang buruk bagi lingkungan laut.

Avertebrata laut (soft corals, sponge, tunicate) menghasilkan metabolit sekunder yang mempunyai peranan penting dalam ekologi dan telah menjadi target bagi sumber senyawa bioaktif. Masalah serius dalam pengembangan senyawa bioaktif dari avertebrata laut adalah masalah suplai, karena untuk mendapatkan sejumlah relatif kecil senyawa aktif diperlukan sejumlah besar organisme laut. Sudah barang tentu dari segi pemanfaatan yang berkesinambungan ekosistem terumbu karang, hal ini akan menjadi masalah besar. Dilaporkan bahwa terdapat asosiasi mikroorganisme dengan organisme laut yang diduga juga mensintesa metabolit sekunder seperti organisme inangnya

Tujuan dari penelitian tahun ke-1 adalah mengisolasi, seleksi dan identifikasi bakteri yang berasosiasi dengan avertebrata laut yang memiliki kemampuan menghasilkan senyawa bioaktif antifoulant dan mengestimasi potensi antifouling yang dihasilkan oleh bakteri yang berasosiasi dengan avertebrata laut. Dalam perkembangan selanjutnya adalah mendapatkan senyawa bioaktif dari bakteri yang berasosiasi dengan avertebrata laut yang berperan dalam proses pengontrolan biofouling di laut sebagai alternatif senyawa antifoulant yang ramah lingkungan.

Penelitian pada tahun ke-1 ini meliputi kegiatan sampling, dokumentasi bawah air, isolasi bakteri pembentuk biofilm primer, isolasi bakteri yang berasosiasi dengan karang lunak, uji anti-bakteri dan ekstraksi

crude extract untuk uji makrofouling. Penelusuran dilakukan dengan teknik bioassay, sedangkan efektifitas bioaktif antifoulant diuji di lapangan pada penerapan *crude extract* bakteri terhadap *barnacle settlement*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa sebanyak 371 isolat berhasil diisolasi dari karang lunak *Sarcophyton sp* dan *Sinularia sp* di perairan Ujung Kulon dan Karimunjawa pada kedalaman 3 meter dan 10 meter. Uji anti bakteri menunjukkan sebanyak 10 isolat (2, 39 %) mempunyai potensi sebagai kandidat penghasil senyawa antifoulant. Kesimpulan dalam penelitian ini adalah diperolehnya bakteri yang berasosiasi dengan karang lunak yang memiliki aktifitas antifouling. Hasil ini juga menunjukkan potensi bakteri karang di dalam produksi *antifouling coating* berbasis bahan alam yang mudah terdegradasi dibandingkan dengan senyawa toksik yang saat ini banyak dipergunakan.

PUSAT STUDI PESISIR DAN LAUT TROPIS, LEMBAGA PENELITIAN, UNIVERSITAS DIPONEGORO. Dibiayai oleh Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional, sesuai dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Pekerjaan Penelitian Nomor 031/SPPP/PP/DP3M/IV/2005

SUMMARY

THE EXPLORATION OF ANTIFOULANT BIOACTIVE COMPOUNDS ON BACTERIA ASSOCIATED WITH MARINE INVERTEBRATE AS AN ALTERNATIVE TO CONTROL MARINE FOULING (AGUS SABDONO, OCKY KARNA RADJASA, TONNY BACHTIAR 2005, 26 HALAMAN)

Biofouling as a results of marine fouling attachment on various structure in the sea had become a big concern on marine industries. The effects of metal-based antifouling paints on the ecology of the marine environment have been the subject of intense debate. Problems with tin and copper antifouling compounds have highlighted the need to develop new environmentally friendly antifouling coatings.

Marine organisms (soft corals, sponge, tunicate) in particular marine invertebrates from coral reef ecosystems have become sources of great interest to natural product chemistry, since they produce metabolites with different biological activities. Marine invertebrates are rich in secondary metabolites and are becoming targets of continuing search for bioactive compounds. Serious obstacle to the ultimate development of most marine natural products that are currently undergoing evaluation and trials is the problem of supply. The concentrations of many highly active compounds in marine invertebrates are often minute, sometimes accounting for less than 10⁻⁶% of the wet weight. Of course, this conditions would be big problems on sustainable of coral use. It was reported that a number of metabolites obtained from algae and invertebrates may be produced by associated microorganisms

The purposes of this research are to isolate and characterize of invertebrate-associated bacteria capable of producing antifoulant bioactive compounds, to increase the screening efficiency of the secondary metabolite-producing strains among invertebrate-associated bacteria, to estimate antibacterial potential of the isolates, to isolate and

purify the bioactive compounds and to elucidate the bioactive compounds isolated from coral-associated bacteria.

In the first year research, the activities included in sampling, underwater documentations, primer bacteria-forming biofilm isolation, bacteria associated with soft coral isolation, anti bacterial assays, and crude extract for macrofouling assay. The effectiveness of extraction was proved in the field experiment based on the number of barnacle settlement.

The results showed that 371 strains were isolated from coral tissues of *Sarcophyton sp* and *Sinularia sp* in the Ujung Kulon and Karimunjawa, from 3 meter and 10 meter depth. Anti-bacterial assays showed that 10 isolates (2, 39 %) have ability to produce antifoulant. Macrofouling experiment must be reconducted since the panels were lost in the sea.

In conclusion, the strategy adopted in this study has identified a number of soft corals associated bacteria capable of producing metabolites that retain their antifouling activity. This work demonstrates the potential of marine bacteria in the production of antifouling coatings based on biodegradable natural products rather than the toxic compounds in current use.

CENTRE FOR TROPICAL COASTAL AND MARINE STUDY, RESEARCH INSTITUTE, DIPONEGORO UNIVERSITY. Dibiayai oleh Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional, sesuai dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Pekerjaan Penelitian Nomor 031/SPPP/PP/DP3M/IV/2005

PRAKATA

Alhamdulillahirabbil 'aalamiin. Puji syukur kami panjatkan ke hadirat Allah SWT., hanya karena kasihNya maka penulisan hasil penelitian ini dapat diselesaikan. Penelitian "EKSPLOKASI SENYAWA BIOAKTIF ANTIFAULANT BAKTERI YANG BERASOSIASI DENGAN AVERTEBRATA LAUT SEBAGAI ALTERNATIF PENANGANAN BIOFOULING DI ALUT" telah dilakuan di Laboratorium Ilmu Kelautan Universitas Diponegoro, Teluk Awur Jepara.

Pada kesempatan ini Tim Peneliti mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu selama penelitian. Untuk itu kami ucapkan terimakasih kepada Direktorat Pembinaan Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional yang telah membiayai penelitian tersebut dan kepada Lembaga Penelitian Universitas Diponegoro atas segala bantuan dan koordinasinya, serta tidak lupa kepada segenap teknisi laboratorium Ilmu Kelautan Undip di Jepara atas segala bantuannya selama penelitian.

Tim peneliti menyadari laporan ini tentunya masih ada kekurangannya. Namun demikian kegiatan ini diharapkan dapat memberikan tambahan pengetahuan bagi tim dalam pengembangan pengetahuan dalam bidang ekologi dan biologi laut.

Semarang, Desember 2005

Tim Peneliti

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN.....	li
RINGKASAN	iii
SUMMARY.....	v
PRAKATA.....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
I. PENDAHULUAN	1
II. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN TAHUN KE-1.....	3
III. TINJAUAN PUSTAKA	4
IV. METODE PENELITIAN	8
V. HASIL DAN PEMBAHASAN	12
VI. KESIMPULAN DAN SARAN	27
VII. RENCANA/PENELITIAN TAHAP SELANJUTNYA	28
DAFTAR PUSTAKA	31
LAMPIRAN	33

DAFTAR TABEL

Tabel :	halaman
1. Hasil isolasi bakteri yang berasosiasi dengan karang lunak...	13
2. Hasil isolasi bakteri primer pembentuk biofilm.....	13
3. Hasil skrining bakteri penghasil anti foulant.....	14
4. Ringkasan hasil skrining bakteri karang.....	24

DAFTAR GAMBAR

Gambar :	halaman
1. <i>Sarcophyton sp.</i>	12
2. <i>Sinularia sp.</i>	12
3. Fotomikrograf biofilm <i>slideglass</i>	13
4. Skrining bakteri penghasil senyawa antifoulant.....	23
5. Uji makrofouling.....	24

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran :	halaman
1. USULAN PENELITIAN TAHUN KE-2 (Dijilid terpisah).....	33

I. PENDAHULUAN

Biofouling sebagai hasil dari proses penempelan organisme fouling pada berbagai struktur di lingkungan laut telah menjadi "*big concern*" bagi pelaku industri maritim. Penempelan oleh organisme fouling telah menyebabkan kerugian yang besar serta memperpendek masa pakai dari berbagai struktur di laut. Hal ini menjadi makin serius ketika proses penempelan oleh organisme fouling tersebut, juga mengakselerasi proses biokorosi serta kerusakan struktur kayu karena aktifitas "*wood-borers*".

Terumbu karang Indonesia merupakan salah satu sumber daya hayati laut dangkal yang memiliki daya pesona karena kekayaan dan keanekaragaman yang paling lengkap di dunia. Namun meningkatnya eksplorasi yang berlebihan dalam rangka perburuan senyawa aktif metabolit sekunder dari biota penyusun ekosistem terumbu karang khususnya avertebrata laut (karang lunak, karang, moluska, arthropoda, tunicata, sponge) mengakibatkan terganggunya dan menurunnya kualitas lingkungan yang sangat merugikan bagi keseimbangan ekosistem terumbu karang. Apabila perburuan tersebut tetap dibiarkan tanpa mencari solusi alternatif lain, maka dalam satu dekade ekosistem terumbu karang Indonesia akan mengalami kepunahan.

Beberapa penemuan tentang senyawa bioaktif baru untuk antibiotik, antikanker, farmasi, kosmetik, enzim dan lainnya banyak diperoleh dari bahan kimia produk alami biota penyusun ekosistem terumbu karang. Dilaporkan bahwa terdapat asosiasi mikroorganisme dengan organisme laut yang diduga juga mensintesa metabolit sekunder seperti organisme inangnya (Burgessa, *et al.* 2003).

Aplikasi cat pelindung antifoulant komersial yang komponen utamanya adalah logam berat telah berkembang menjadi masalah baru selain proses biofouling itu sendiri. Pemanfaatan antifoulant komersial tersebut makin meluas seiring dengan perkembangan industri maritim, yang secara

langsung maupun tidak langsung akan meningkatkan kandungan bahan pencemar logam berat di lingkungan laut. Pencarian alternatif bagi aplikasi senyawa antifoulant yang berbasis pada logam berat sudah menjadi kebutuhan yang sangat mendesak. Penanganan biofouling di lingkungan laut serta pemanfaatan senyawa antifoulant yang ramah lingkungan telah menjadi pekerjaan rumah yang harus segera ditangani secara multidisiplin dan serius.

Ekosistem terumbu karang merupakan ekosistem yang unik, dengan keanekaragaman tinggi dan mempunyai nilai ekonomi dan sumber daya lingkungan yang tinggi. Keberadaan sejumlah besar dari kelompok metabolit sekunder tidak umum terdapat pada organisme laut, tapi terbatas pada grup taksonomi tertentu. Di antara hewan laut, arthropoda, coelenterata, dan avertebrata laut adalah kelompok penghasil utama dari metabolit sekunder. Hal ini menjadi alasan utama dari perburuan metabolit sekunder dengan berbagai aktivitas biologis dari ekosistem karang.

Diperkirakan kurang dari 2% mikrobial telah berhasil diisolasi dari lingkungan laut sebagai kultur murni. Dilaporkan bahwa terdapat asosiasi mikroorganisme dengan organisme laut yang diduga juga mensintesa metabolit sekunder seperti organisme inangnya (Watermann, 1999). Diharapkan bahwa bakteri yang berasosiasi dengan avertebrata laut dapat memberikan kontribusi sebagai sumber alternatif baru metabolit sekunder dari bahan kimia laut untuk antifoulant.

Hasil dari penelitian ini akan lebih jauh mempengaruhi teknik isolasi dan pilihan alternatif untuk menghasilkan bakteri yang berasosiasi dengan avertebrata laut dari ekosistem terumbu karang sehingga akan semakin sedikit eksploitasi terhadap avertebrata terumbu karang akan dilakukan.

II. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN TAHUN KE-1

Tujuan dari penelitian ini adalah mendapatkan senyawa bioaktif dari bakteri yang berasosiasi dengan avertebrata laut yang berperan dalam proses pengontrolan biofouling di laut sebagai alternatif senyawa antifoulant yang ramah lingkungan. Target khusus yang ingin dicapai pada tahun ke-1 adalah mengisolasi, seleksi dan identifikasi bakteri yang berasosiasi dengan avertebrata laut yang memiliki kemampuan menghasilkan senyawa bioaktif antifoulant dan mengestimasi potensi antifouling yang dihasilkan oleh bakteri yang berasosiasi dengan avertebrata laut.

III. TINJAUAN PUSTAKA

Biofouling merupakan salah satu masalah penting yang dihadapi oleh industri kelautan karena menimbulkan banyak kerugian, sebagai akibat dari penempelan organisme penempel (*fouling*) pada berbagai struktur yang digunakan di laut, seperti kapal, dermaga, pancang maupun struktur penyangga pengeboran lepas pantai.

Di lingkungan laut, mikroorganisme terutama bakteri yang mengkolonisasi berbagai permukaan struktur, memperburuk keadaan dengan membentuk biofilm primer, yang diketahui merupakan prasyarat bagi penempelan dan metamorphosis dari organisme penempel, seperti teritip/barnacle (Young dan Mitchell, 1972)

Permukaan film dari bakteri fouling mempunyai peranan penting dalam proses penempelan (*settlement*) dan metamorfosis dari beberapa larva avertebrata. Terdapat hubungan yang kompleks antara film bakteri dan penempelan larva, dimana bakteri memiliki faktor yang menstimulus penempelan larva (Maki dan Mitchell, 1988).

Berbagai cara telah ditempuh untuk memperkecil kerugian yang terjadi sebagai akibat dari proses biofouling di lingkungan laut. Saat ini upaya yang diterapkan dalam rangka melindungi struktur dari penempelan organisme fouling adalah melalui penggunaan cat pelindung (*coating paint*), dimana unsur utamanya adalah komponen logam berat dan organotin. Hasil menunjukkan bahwa komponen tersebut memberikan proteksi cukup baik terhadap berbagai struktur di lingkungan laut (Zahuranec, 1988).

Seiring dengan meningkatnya kesadaran masyarakat tentang lingkungan laut, maka penerapan logam berat sebagai cat pelindung dipandang dapat menyebabkan suatu pencemaran logam berat di lingkungan laut. Hal ini terjadi karena logam berat sebagai komponen utama senyawa antifoulant akan terlarut ke dalam perairan laut seiring dengan waktu penggunaan dari cat pelindung tersebut.

Lautan merupakan sumber dari kelompok besar kimia bahan hayati laut dengan struktur yang unik, yang terutama terakumulasi pada hewan-hewan avertebrata yang banyak terdapat pada ekosistem terumbu karang, seperti, sponge, tunikata, bryozoa, moluska dan karang lunak. Beberapa metabolit sekunder yang dimiliki avertebrata laut tersebut menunjukkan adanya aktifitas farmakologi dan merupakan kandidat-kandidat baru untuk bahan obat-obatan. Sehingga tidak dapat dihindari lagi bahwa ekosistem terumbu karang merupakan sumber utama di dalam perburuan senyawa bioaktif.

Avertebrata laut diketahui menghasilkan metabolit sekunder dimana jenis, konsentrasi serta fungsinya amat beragam antar spesies. Menurut Sammarco dan Coll (1990), metabolit sekunder pada organisme laut berperan penting dalam ekologi karang lunak tersebut, terutama untuk perlindungan terhadap predator, kompetisi ruang hidup, reproduksi dan antifouling.

Salah satu aspek yang menarik tentang avertebrata laut adalah bahwa permukaan tissue biasanya tidak ditempeli oleh organisme penempel. Avertebrata laut mensintesis senyawa metabolit sekunder yang diduga dapat digunakan untuk mencegah penempelan oleh organisme fouling (Hadfield dan Ciereszko, 1978; Scheur, 1985).

Dengan mengidentifikasi kandungan senyawa bioaktif yang berperan dalam proses pengontrolan biofouling, metabolit sekunder pada avertebrata laut dapat menjadi suatu senyawa baru, non-lethal sebagai alternatif bagi senyawa antifoulant yang sementara ini mengandung senyawa logam berat yang toksik. Pada studi pendahuluan, Radjasa dkk. (1999) melaporkan bahwa ekstrak kasar dari karang lunak *Sinularia* sp mampu menghambat pertumbuhan bakteri primer pembentuk biofilm.

Namun setelah dievaluasi dan diteliti secara mendalam, kendala besar harus dihadapi didalam pengembangan kimia bahan hayati laut adalah suplai bahan dasarnya. Konsentrasi bahan aktif yang diperoleh dari avertebrata laut sangat sedikit, bahkan untuk mendapatkan 1 gram bahan aktif diperlukan bahan dasar sebesar 10 ton berat basah (Procksch, 2002),

anti-kanker 1gr/ton *E. turbinata* (Mendola, 2000), dan anti-inflammatory 1 gr/ton *P. elizabethae* (Mayer *et al.*, 1998). Lagi pula, seringkali sangat sulit bahkan tidak mungkin untuk memenuhi jumlah permintaan bahan dasar avertebrata sebesar itu karena jumlah organisme tersebut yang eksistensinya terbatas, kendala geografi, musim, ataupun keragaman musim dan seksual didalam menghasilkan metabolit sekunder di alam. Sehingga dengan mempertimbangkan akan pentingnya terumbu karang untuk komunitas masyarakat pantai di Indonesia, maka perlu dicari solusi alternative didalam memecahkan masalah suplai senyawa aktif yang dihasilkan hewan avertebrata laut tersebut.

Salah satu isue terakhir yang penting sehubungan dengan ekosistem terumbu karang Indonesia adalah perburuan senyawa bioaktif. Namun secara global, sejak tahun 1995 telah terlihat tanda-tanda menurunnya minat di dalam perburuan metabolit baru dari sumber-sumber tradisional, seperti makroalga, moluska, tunikata dan oktocoral, sedangkan sejumlah laporan tahunan terhadap sponge laut relative stabil. Sebaliknya, pencarian senyawa metabolit baru dari mikroorganisme tumbuh sangat cepat. Hal ini disebabkan setidaknya oleh pendugaan bahwa beberapa metabolit sekunder yang diperoleh dari alga dan avertebrata kemungkinan juga diproduksi oleh mikroorganisme yang berasosiasi dengannya (Fenical, 1993; Pietra, 1997; Bernan *et al.*, 1997; Faulkner *et al.*, 2000; Jensen and Fenical, 2000).

Tidak perlu diperdebatkan lagi bahwa sel mikroba menempel kuat pada hampir seluruh permukaan benda yang terendam di lingkungan laut. Sel-sel tersebut tumbuh, bereproduksi, dan menghasilkan polimer ekstraselluler yang memberikan kontribusi pada struktur yang disebut sebagai biofilm. Paul *et al.* (1986), Coffroth (1990) dan Kim (1994) menyatakan bahwa permukaan karang dilapisi oleh lendir yang banyak mengandung mikroorganisme dan bersifat tidak merusak inangnya. Bakteri yang diisolasi dari permukaan organisme hidup di lingkungan laut merupakan sumber yang menjanjikan untuk perburuan senyawa bioaktif alami anti fouling. Burgessa *et al.* (2003) melaporkan bahwa ekstrak kasar dari bakteri

yang berasosiasi dengan rumput laut *Pseudomonas* sp. Strain NUDMB50-11 mampu menurunkan jumlah organisme penempel barnakel pada panel kayu. Metabolit sekunder yang disintesis oleh bakteri yang berasosiasi dengan avertebrata laut merupakan produk hayati laut (*marine natural products*) yang dapat merupakan alternatif bagi sumber senyawa bioaktif baru.

IV. METODE PENELITIAN

4.1. Metoda sampling

Metoda sampling yang digunakan adalah metoda sampling purposif, di mana sampel avertebrata laut (soft coral) diambil dari lokasi perairan Pulau Peucang, Ujung Kulon dan di Pulau Menjangan Kecil, Karimunjawa.

4.2. Sampling avertebrata laut

Sampel avertebrata laut (soft coral) diambil dari perairan pantai pada kedalaman 3 dan 10 meter dengan menggunakan peralatan Scuba Diving. Segera setelah pengambilan, sampel dimasukkan ke dalam kontainer plastik yang sebelumnya telah diisi dengan air laut steril dan selanjutnya sampel dibawa ke laboratorium untuk preparasi isolasi bakteri sampel.

4.3. Dokumentasi dan identifikasi

Dokumentasi terhadap sampel avertebrata laut (soft coral) dilakukan dengan pengambilan gambar secara *in situ* dengan *underwater camera* Canon S50 dan pengambilan gambar pada permukaan segera setelah sampel diambil dari laut. Identifikasi akan dilakukan terhadap spesies karang lunak yang dipakai dalam penelitian ini berdasarkan metoda identifikasi Verseveldt (1980).

4.4. Preparasi biofilm primer

Biofilm primer disiapkan dalam rangka memperoleh isolat bakteri pembentuk biofilm primer. Beberapa gelas slide dan panel kayu disiapkan, kemudian dikaitkan pada beberapa base penyangga pralon dengan menggunakan tali plastik, selanjutnya dipasang di dermaga Teluk Awur pada kedalaman 50 cm di bawah permukaan laut pada surut paling rendah selama 1 minggu.

4.5. Isolasi bakteri yang berasosiasi dengan avertebrata laut

Isolasi bakteri dilakukan dengan metoda *Pour plate* (lempeng tuang) menurut Brock dan Madigan (1991). Sampel avertebrata laut (soft coral) tersebut selanjutnya dimasukkan ke dalam cawan petri steril yang sebagian berisi air laut steril. Kemudian dilakukan *scrapping* terhadap permukaan jraingan dan dengan alat pengerok steril secara aseptik.

Selanjutnya dilakukan seri pengenceran terhadap sampel tersebut. Dari masing-masing cawan petri tersebut diambil 10 ml sampel dengan pipet steril, dan dimasukkan ke dalam labu erlemeyer yang berisi 90 ml air laut steril dan diperoleh pengenceran sampel sebesar 10^{-1} . Dari pengenceran 10^{-1} tersebut diambil 1 ml sampel dengan pipet steril dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml air laut steril dan diperoleh pengenceran 10^{-2} . Demikian selanjutnya sehingga diperoleh pengenceran sampel 10^{-3} ; 10^{-4} ; dan 10^{-5} .

Dari masing-masing seri pengenceran tersebut selanjutnya diambil 1 ml sampel dan dimasukkan ke dalam cawan petri steril yang dituangi dengan media agar Zobell 2216E. Cawan petri tersebut selanjutnya diinkubasikan pada suhu 30°C selama 2 hari. Koloni bakteri yang tumbuh pada permukaan agar tersebut, kemudian dipisahkan dengan teknik goresan (*streak method*) sehingga diperoleh isolat bakteri pembentuk biofilm primer yang berupa kultur murni.

4.6. Isolasi bakteri pembentuk biofilm primer

Slide dan panel kayu yang telah dipasang di perairan laut, selanjutnya diambil pada waktu perendaman 1 minggu. Slide dan panel kayu tersebut setelah diambil, selanjutnya dimasukkan ke dalam kotak pendingin dan dibawa ke laboratorium untuk proses isolasi. Isolasi bakteri dilakukan dengan metoda *Pour plate* (lempeng tuang) menurut Brock dan Madigan (1991). Slide tersebut selanjutnya dimasukkan ke dalam cawan petri steril yang sebagian berisi air laut steril. Kemudian dilakukan pengerokan (*scrapping*) terhadap permukaan slide dan dengan alat pengerok steril secara aseptik.

Selanjutnya dilakukan seri pengenceran terhadap sampel tersebut dan proses isolasi dilakukan dengan prosedur yang sama dengan isolasi bakteri yang berasosiasi dengan avertebrata laut diatas.

4.7. Skrining bakteri penghasil senyawa anti foulant

Skrining dilakukan dengan metode overlay. Dimana masing-masing isolat bakteri yang berasosiasi dengan karang lunak dinokulasi secara dot method pada permukaan media ZoBell 2216E yang selanjutnya akan diinkubasikan selama 2 x 24 Jam pada suhu kamar. Setelah koloni tumbuh baik, maka strain uji bakteri primer pembentuk biofilm digunakan sebagai strain uji dengan cara menuang soft agar (1/3 strength) yang berisi isolat biofilm pada media tersebut (Brock and Madigan, 1991). Hasil positif diperoleh dengan menyeleksi koloni bakteri yang menghasilkan zona hambatan terhadap strain uji. Seleksi isolate bakteri yang memiliki potensi sebagai kandidat untuk studi selanjutnya dilakukan berdasarkan isolate yang memiliki kemampuan terbanyak menghambat pertumbuhan bakteri primer pembentuk biofilm.

4.8. Ekstraksi bakteri

Ekstraksi dilakukan dengan metoda menurut Montano dan Glorioso (1994). Bakteri seleksi ditumbuhkan pada 3000 ml media cair ZoBell 2216E, yang selanjutnya diekstraksi dengan cara homogenisasi dengan pelarut etanol dengan menggunakan blender. Campuran organik yang diperoleh kemudian difiltrasi dengan menggunakan vacuum filter. Filtrat kemudian dipisahkan dari pelarut dengan menggunakan rotary evaporator dan kemudian disiapkan lebih lanjut untuk pemisahan dengan kolom kromatografi.

4.9. Uji lapangan (*macrofouling*)

Uji lapangan dilakukan dengan mencampur cat dan senyawa aktif dari ekstrak kasar bakteri asosiasi untuk mengetahui kemampuan senyawa aktif dalam melindungi struktur dari penempelan organisme fouling.

Disiapkan beberapa blok kayu Jati berukuran 5 x 10 cm dan dipasang skrup berlubang kecil pada kedua ujungnya untuk memasukkan tali pengikat. Dibuat beberapa larutan cat kayu kapal sejumlah 100 ml, yang kemudian dicampur dengan crude extract yang telah disiapkan.

Satu blok tanpa penambahan ekstrak aktif digunakan sebagai kontrol. Selanjutnya larutan cat tersebut digunakan untuk mengecat blok kayu yang tersedia. Setelah dikeringkan selama 3 hari, maka kayu tersebut dikaitkan dengan tali plastik dan dipasang pada base pralon yang telah dipasang di laut. Blok kayu tersebut ditempatkan 50 cm di bawah permukaan laut pada surut terendah selama 6 minggu. Pengamatan dilakukan tiap minggu untuk ditentukan dan dihitung jumlah organisme penempelnya.

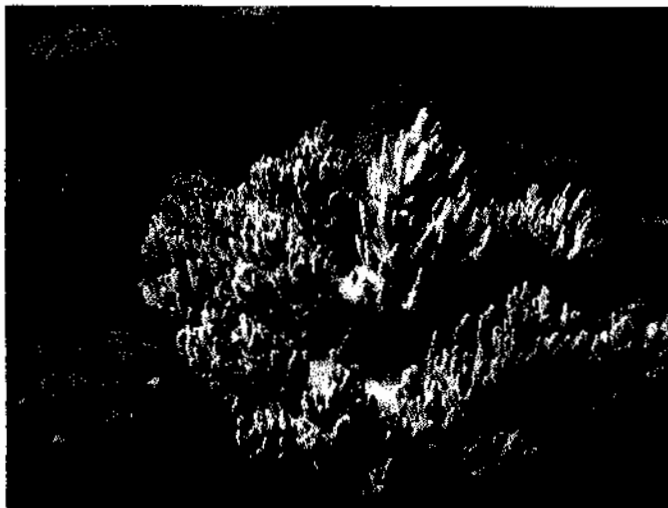
V. HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1. Hasil

5.1.1. Dokumentasi Bawah Air



Gambar 1. *Sarcophyton sp.*



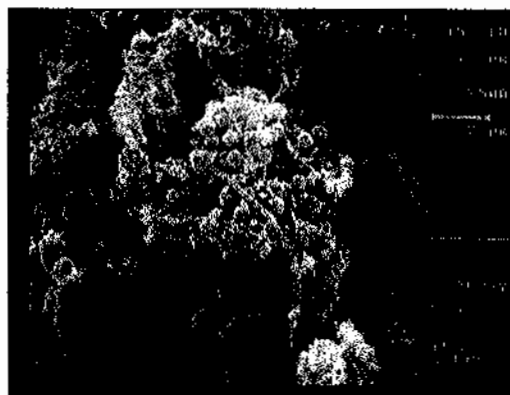
Gambar 2. *Sinularia sp.*

5.1.2. Isolasi bakteri yang berasosiasi dengan karang lunak

Tabel 1. Hasil isolasi bakteri yang berasosiasi dengan karang lunak

No.	Lokasi	<i>Sarcophyton</i>		<i>Sinularia</i>		Total
		3m	10m	3m	10m	
1.	Ujung Kulon	41	57	39	41	178
2.	Karimunjava	65	44	32	52	193
	Total	106	101	71	93	371

5.1.3. Isolasi bakteri primer pembentuk biofilm

Gambar 3. Fotomikrograf biofilm *slideglass*

Tabel 2. Hasil isolasi bakteri primer pembentuk biofilm

No.	Jenis material	Jumlah
1.	Kaca slide	3
2.	Panel kayu	8
	Total	11

5.1.4. Skrining bakteri penghasil anti-foulant

Tabel 3. Hasil skrining bakteri penghasil anti foulant

No.	Isolat	Bakteri primer pembentuk biofilm					
		B1	B2	B3	B4	B5	B6
1.	L1S1K1.1	-	-	-	-	-	-
2.	L1S1K1.2	-	-	-	-	-	-
3.	L1S1K1.3	-	-	-	-	-	-
4.	L1S1K1.4	-	-	-	-	-	-
5.	L1S1K1.5	-	-	-	-	-	-
6.	L1S1K1.6	-	-	-	-	-	-
7.	L1S1K1.7	-	-	-	-	-	-
8.	L1S1K1.8	-	-	-	-	-	-
9.	L1S1K1.9	-	-	-	-	-	-
10.	L1S1K1.10	-	-	-	-	-	-
11.	L1S1K1.11	-	+	+	+	+	-
12.	L1S1K1.12	-	-	-	-	-	-
13.	L1S1K1.13	-	-	-	-	-	-
14.	L1S1K1.14	-	-	-	-	-	-
15.	L1S1K1.15	-	-	-	-	-	-
16.	L1S1K1.16	-	-	-	-	-	-
17.	L1S1K1.17	-	-	-	-	-	-
18.	L1S1K1.18	-	-	-	-	-	-
19.	L1S1K1.19	-	-	-	-	-	-
20.	L1S1K1.20	-	-	-	-	-	-
21.	L1S1K1.21	-	-	-	-	-	-
22.	L1S1K1.22	-	-	-	-	-	-
23.	L1S1K1.23	-	-	-	-	-	-
24.	L1S1K1.24	-	-	-	-	-	-
25.	L1S1K1.25	-	-	-	-	-	-
26.	L1S1K1.26	-	-	-	-	-	-
27.	L1S1K1.27	-	+	-	-	-	-
28.	L1S1K1.28	-	-	-	-	-	-
29.	L1S1K1.29	-	-	-	-	-	-
30.	L1S1K1.30	-	-	-	-	-	-
31.	L1S1K1.31	-	-	-	-	-	-
32.	L1S1K1.32	-	-	-	-	-	-
33.	L1S1K1.33	-	-	-	-	-	-
34.	L1S1K1.34	-	-	-	-	-	-
35.	L1S1K1.35	-	-	-	-	-	-
36.	L1S1K1.36	-	-	-	-	-	-
37.	L1S1K1.37	-	-	-	-	-	-
38.	L1S1K1.38	-	-	-	-	-	-
39.	L1S1K1.39	-	-	-	-	-	-
40.	L1S1K1.40	-	-	-	-	-	-

Tabel 3. Lanjutan

No.	Isolat	Bakteri primer pembentuk biofilm					
		B1	B2	B3	B4	B5	B6
41.	L1S1K1.41	-	-	-	-	-	-
42.	L1S1K2.1	-	-	-	-	-	-
43.	L1S1K2.2	-	-	-	-	-	-
44.	L1S1K2.3	-	-	-	-	-	-
45.	L1S1K2.4	-	-	-	-	-	-
46.	L1S1K2.5	-	-	-	-	-	-
47.	L1S1K2.6	-	-	-	-	-	-
48.	L1S1K2.7	-	-	-	-	-	-
49.	L1S1K2.8	-	-	-	-	-	-
50.	L1S1K2.9	-	-	-	-	-	-
51.	L1S1K2.10	-	-	-	-	-	-
52.	L1S1K2.11	-	-	-	-	-	-
53.	L1S1K2.12	-	-	-	-	-	-
54.	L1S1K2.13	-	-	-	-	-	-
55.	L1S1K2.14	-	-	-	-	-	-
56.	L1S1K2.15	-	-	-	-	-	-
57.	L1S1K2.16	-	-	-	-	-	-
58.	L1S1K2.17	-	-	-	-	-	-
59.	L1S1K2.18	-	-	-	-	-	-
60.	L1S1K2.19	-	-	-	-	-	-
61.	L1S1K2.20	-	-	-	-	-	-
62.	L1S1K2.21	-	-	-	-	-	-
63.	L1S1K2.22	-	-	-	-	-	-
64.	L1S1K2.23	-	-	-	-	-	-
65.	L1S1K2.24	-	-	-	-	-	-
66.	L1S1K2.25	-	-	-	-	-	-
67.	L1S1K2.26	-	-	-	-	-	-
68.	L1S1K2.27	-	-	-	-	-	-
69.	L1S1K2.28	-	-	-	-	-	-
70.	L1S1K2.29	-	-	-	-	-	-
71.	L1S1K2.30	-	-	-	-	-	-
72.	L1S1K2.31	-	-	-	-	-	-
73.	L1S1K2.32	-	-	-	-	-	-
74.	L1S1K2.33	-	-	-	-	-	-
75.	L1S1K2.34	-	-	-	-	-	-
76.	L1S1K2.35	-	-	-	-	-	-
77.	L1S1K2.36	-	-	-	-	-	-
78.	L1S1K2.37	-	-	-	-	-	-
79.	L1S1K2.38	-	-	-	-	-	-
80.	L1S1K2.39	-	-	-	-	-	-

Tabel 3. Lanjutan

No.	Isolat	Bakteri primer pembentuk biofilm					
		B1	B2	B3	B4	B5	B6
81.	L1S1K2.40	-	-	-	-	-	-
82.	L1S1K2.41	-	-	-	-	-	-
83.	L1S1K2.42	-	-	-	-	-	-
84.	L1S1K2.43	-	-	-	-	-	-
85.	L1S1K2.44	-	-	-	-	-	-
86.	L1S1K2.45	-	-	-	-	-	-
87.	L1S1K2.46	-	-	-	-	-	-
88.	L1S1K2.47	-	-	-	-	-	-
89.	L1S1K2.48	-	-	-	-	-	-
90.	L1S1K2.49	-	-	-	-	-	-
91.	L1S1K2.50	-	-	-	-	-	-
92.	L1S1K2.51	-	-	-	-	-	-
93.	L1S1K2.52	-	-	-	-	-	-
94.	L1S1K2.53	-	-	-	-	-	-
95.	L1S1K2.54	-	-	-	-	-	-
96.	L1S1K2.55	-	-	-	-	-	-
97.	L1S1K2.56	-	-	-	-	-	-
98.	L1S1K2.57	-	-	-	-	-	-
99.	L1S2K1.1	-	-	-	-	-	-
100.	L1S2K1.2	-	-	-	-	-	-
101.	L1S2K1.3	-	-	-	-	-	-
102.	L1S2K1.4	-	-	-	-	-	-
103.	L1S2K1.5	-	-	-	-	-	-
104.	L1S2K1.6	-	-	-	-	-	-
105.	L1S2K1.7	-	-	-	-	-	-
106.	L1S2K1.8	-	-	-	-	-	-
107.	L1S2K1.9	-	-	-	-	-	-
108.	L1S2K1.10	-	-	-	-	-	-
109.	L1S2K1.11	-	-	-	-	-	-
110.	L1S2K1.12	-	-	-	-	-	-
111.	L1S2K1.13	-	-	-	-	-	-
112.	L1S2K1.14	-	-	-	-	-	-
113.	L1S2K1.15	-	-	-	-	-	-
114.	L1S2K1.16	-	-	-	-	-	-
115.	L1S2K1.17	-	-	-	-	-	-
116.	L1S2K1.18	-	-	-	-	-	-
117.	L1S2K1.19	-	-	-	-	-	-
118.	L1S2K1.20	-	-	-	-	-	-
119.	L1S2K1.21	-	-	-	-	-	-
120.	L1S2K1.22	-	-	-	-	-	-

Tabel 3. Lanjutan

No.	Isolat	Bakteri primer pembentuk biofilm					
		B1	B2	B3	B4	B5	B6
121.	L1S2K1.23	-	-	-	-	-	-
122.	L1S2K1.24	-	-	-	-	-	-
123.	L1S2K1.25	-	-	-	-	-	-
124.	L1S2K1.26	-	-	-	-	-	-
125.	L1S2K1.27	-	-	-	-	-	-
126.	L1S2K1.28	-	-	-	-	-	-
127.	L1S2K1.29	-	-	-	-	-	-
128.	L1S2K1.30	-	-	-	-	-	-
129.	L1S2K1.31	-	-	-	-	-	-
130.	L1S2K1.32	-	-	-	-	-	-
131.	L1S2K1.33	-	-	-	-	-	-
132.	L1S2K1.34	-	-	-	-	-	-
133.	L1S2K1.35	-	-	-	-	-	-
134.	L1S2K1.36	-	-	-	-	-	-
135.	L1S2K1.37	-	-	-	-	-	-
136.	L1S2K1.38	-	-	-	-	-	-
137.	L1S2K1.39	-	-	-	-	-	-
138.	L1S2K2.1	-	-	-	-	-	-
139.	L1S2K2.2	-	-	-	-	-	-
140.	L1S2K2.3	-	+	+	+	+	-
141.	L1S2K2.4	-	-	-	-	-	-
142.	L1S2K2.5	-	-	-	-	-	-
143.	L1S2K2.6	-	-	-	-	-	-
144.	L1S2K2.7	-	-	-	-	-	-
145.	L1S2K2.8	-	-	-	-	-	-
146.	L1S2K2.9	-	-	-	-	-	-
147.	L1S2K2.10	-	-	-	-	-	-
148.	L1S2K2.11	-	-	-	-	-	-
149.	L1S2K2.12	-	-	-	-	-	-
150.	L1S2K2.13	-	-	-	-	-	-
151.	L1S2K2.14	-	-	-	-	-	-
152.	L1S2K2.15	-	-	-	-	-	-
153.	L1S2K2.16	-	-	-	-	-	-
154.	L1S2K2.17	-	-	-	-	-	-
155.	L1S2K2.18	-	-	-	-	-	-
156.	L1S2K2.19	-	-	-	-	-	-
157.	L1S2K2.20	-	-	-	-	-	-
158.	L1S2K2.21	-	-	-	-	-	-
159.	L1S2K2.22	-	-	-	-	-	-
160.	L1S2K2.23	-	-	-	-	-	-

Tabel 3. Lanjutan

No.	Isolat	Bakteri primer pembentuk biofilm					
		B1	B2	B3	B4	B5	B6
161.	L1S2K2.24	-	-	-	-	-	-
162.	L1S2K2.25	-	-	-	-	-	-
163.	L1S2K2.26	-	-	-	-	-	-
164.	L1S2K2.27	-	-	-	-	-	-
165.	L1S2K2.28	-	-	-	-	-	-
166.	L1S2K2.29	-	-	-	-	-	-
167.	L1S2K2.30	-	-	-	-	-	-
168.	L1S2K2.31	-	-	-	-	-	-
169.	L1S2K2.32	-	-	-	-	-	-
170.	L1S2K2.33	-	-	-	-	-	-
171.	L1S2K2.34	-	-	-	-	-	-
172.	L1S2K2.35	-	-	-	-	-	-
173.	L1S2K2.36	-	-	-	-	-	-
174.	L1S2K2.37	-	-	-	-	-	-
175.	L1S2K2.38	-	-	-	-	-	-
176.	L1S2K2.39	-	-	-	-	-	-
177.	L1S2K2.40	-	-	-	-	-	-
178.	L1S2K2.41	-	-	-	-	-	-
179.	L2S1K1.1	-	-	-	-	-	-
180.	L2S1K1.2	-	-	-	-	-	-
181.	L2S1K1.3	-	-	-	-	-	-
182.	L2S1K1.4	-	-	-	-	-	-
183.	L2S1K1.5	-	-	-	-	-	-
184.	L2S1K1.6	-	-	-	-	-	-
185.	L2S1K1.7	-	-	-	-	-	-
186.	L2S1K1.8	-	-	-	-	-	-
187.	L2S1K1.9	-	-	-	-	-	-
188.	L2S1K1.10	-	-	-	-	-	-
189.	L2S1K1.11	-	-	-	-	-	-
190.	L2S1K1.12	-	-	-	-	-	-
191.	L2S1K1.13	-	-	-	-	-	-
192.	L2S1K1.14	-	-	-	-	-	-
193.	L2S1K1.15	-	-	-	-	-	-
194.	L2S1K1.16	-	-	-	-	-	-
195.	L2S1K1.17	-	-	-	-	-	-
196.	L2S1K1.18	-	-	-	-	-	-
197.	L2S1K1.19	-	-	-	-	-	-
198.	L2S1K1.20	-	-	-	-	-	-
199.	L2S1K1.21	-	-	-	-	-	-
200.	L2S1K1.22	-	-	-	-	-	-

Tabel 3. Lanjutan

No.	Isolat	Bakteri primer pembentuk biofilm					
		B1	B2	B3	B4	B5	B6
201.	L2S1K1.23	-	-	-	-	-	-
202.	L2S1K1.24	-	-	-	-	-	-
203.	L2S1K1.25	-	-	-	-	-	-
204.	L2S1K1.26	-	-	-	-	-	-
205.	L2S1K1.27	-	-	-	-	-	-
206.	L2S1K1.28	-	-	-	-	-	-
207.	L2S1K1.29	-	-	-	-	-	-
208.	L2S1K1.30	-	-	-	-	-	-
209.	L2S1K1.31	-	-	-	-	-	-
210.	L2S1K1.32	-	-	-	-	-	-
211.	L2S1K1.33	-	-	-	-	-	-
212.	L2S1K1.34	-	-	-	-	-	-
213.	L2S1K1.35	-	-	-	-	-	-
214.	L2S1K1.36	-	-	-	-	-	-
215.	L2S1K1.37	-	-	-	-	-	-
216.	L2S1K1.38	-	-	-	-	-	-
217.	L2S1K1.39	-	-	-	-	-	-
218.	L2S1K1.40	-	-	-	-	-	-
219.	L2S1K1.41	-	-	-	-	-	-
220.	L2S1K1.42	-	-	-	-	-	-
221.	L2S1K1.43	-	-	-	-	-	-
222.	L2S1K1.44	-	-	-	-	-	-
223.	L2S1K1.45	-	-	-	-	-	-
224.	L2S1K1.46	-	-	-	-	-	-
225.	L2S1K1.47	-	-	-	-	-	-
226.	L2S1K1.48	-	-	-	-	-	-
227.	L2S1K1.49	-	-	-	-	-	-
228.	L2S1K1.50	-	-	-	-	-	-
229.	L2S1K1.51	-	-	-	-	-	-
230.	L2S1K1.52	-	-	-	-	-	-
231.	L2S1K1.53	-	-	-	-	-	-
232.	L2S1K1.54	-	-	-	-	-	-
233.	L2S1K1.55	-	-	-	-	-	-
234.	L2S1K1.56	-	-	-	-	-	-
235.	L2S1K1.57	-	+	+	+	+	-
236.	L2S1K1.58	-	-	-	-	-	-
237.	L2S1K1.59	-	-	-	-	-	-
238.	L2S1K1.60	-	-	-	-	-	-
239.	L2S1K1.61	-	-	-	-	-	-
240.	L2S1K1.62	+	+	-	-	+	-

Tabel 3. Lanjutan

No.	Isolat	Bakteri primer pembentuk biofilm					
		B1	B2	B3	B4	B5	B6
241.	L2S1K1.63	-	-	-	-	-	-
242.	L2S1K1.64	-	-	-	-	-	-
243.	L2S1K1.65	-	-	-	-	-	-
244.	L2S1K2.1	-	-	-	-	-	-
245.	L2S1K2.2	-	-	-	-	-	-
246.	L2S1K2.3	-	-	-	-	-	-
247.	L2S1K2.4	-	-	-	-	-	-
248.	L2S1K2.5	-	-	-	-	-	-
249.	L2S1K2.6	-	-	-	-	-	-
250.	L2S1K2.7	-	-	-	-	-	-
251.	L2S1K2.8	-	-	-	-	-	-
252.	L2S1K2.9	-	-	-	-	-	-
253.	L2S1K2.10	-	-	-	-	-	-
254.	L2S1K2.11	-	-	-	-	-	-
255.	L2S1K2.12	-	-	-	-	-	-
256.	L2S1K2.13	-	-	-	-	-	-
257.	L2S1K2.14	-	-	-	-	-	-
258.	L2S1K2.15	-	-	-	-	-	-
259.	L2S1K2.16	-	-	-	-	-	-
260.	L2S1K2.17	-	-	-	-	-	-
261.	L2S1K2.18	-	-	-	-	-	-
262.	L2S1K2.19	-	-	-	-	-	-
263.	L2S1K2.20	-	-	-	-	-	-
264.	L2S1K2.21	-	-	-	-	-	-
265.	L2S1K2.22	-	-	-	-	-	-
266.	L2S1K2.23	-	-	-	-	-	-
267.	L2S1K2.24	-	-	-	-	-	-
268.	L2S1K2.25	-	-	-	-	-	-
269.	L2S1K2.26	-	-	-	-	-	-
270.	L2S1K2.27	-	-	-	-	-	-
271.	L2S1K2.28	-	-	-	-	-	-
272.	L2S1K2.29	-	-	-	-	-	-
273.	L2S1K2.30	-	-	-	-	-	-
274.	L2S1K2.31	-	-	-	-	-	-
275.	L2S1K2.32	-	-	-	-	-	-
276.	L2S1K2.33	-	-	-	-	-	-
277.	L2S1K2.34	-	-	-	-	-	-
278.	L2S1K2.35	-	-	-	-	-	-
279.	L2S1K2.36	-	+	-	-	-	-
280.	L2S1K2.37	-	-	-	-	-	-

Tabel 3. Lanjutan

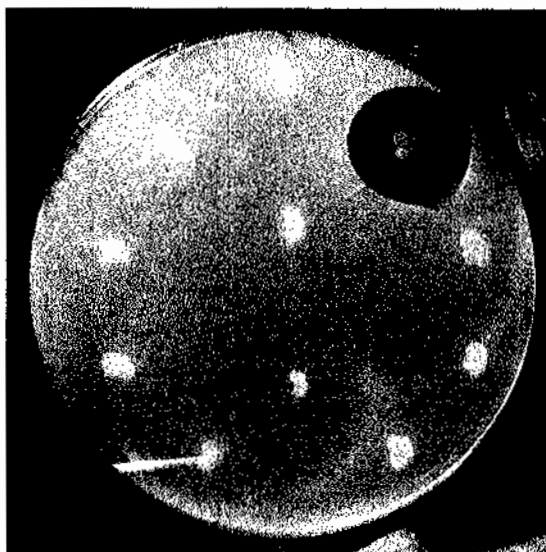
No.	Isolat	Bakteri primer pembentuk biofilm					
		B1	B2	B3	B4	B5	B6
281.	L2S1K2.38	-	-	-	-	-	-
282.	L2S1K2.39	-	-	-	-	-	-
283.	L2S1K2.40	-	-	-	-	-	-
284.	L2S1K2.41	-	-	-	-	-	-
285.	L2S1K2.42	-	-	-	-	-	-
286.	L2S1K2.43	-	-	-	-	-	-
287.	L2S1K2.44	-	-	-	-	-	-
288.	L2S2K1.1	-	-	-	-	-	-
289.	L2S2K1.2	-	-	-	-	-	-
290.	L2S2K1.3	-	-	-	-	-	-
291.	L2S2K1.4	-	-	-	-	-	-
292.	L2S2K1.5	-	-	-	-	-	-
293.	L2S2K1.6	-	-	-	-	-	-
294.	L2S2K1.7	-	-	-	-	-	-
295.	L2S2K1.8	-	-	-	-	-	-
296.	L2S2K1.9	-	-	-	-	-	-
297.	L2S2K1.10	-	-	-	-	-	-
298.	L2S2K1.11	-	-	-	-	-	-
299.	L2S2K1.12	-	-	-	-	-	-
300.	L2S2K1.13	-	-	-	-	-	-
301.	L2S2K1.14	-	-	-	-	-	-
302.	L2S2K1.15	-	-	-	-	-	-
303.	L2S2K1.16	-	-	-	-	-	-
304.	L2S2K1.17	-	-	-	-	-	-
305.	L2S2K1.18	-	-	-	-	-	-
306.	L2S2K1.19	-	-	-	-	-	-
307.	L2S2K1.20	-	-	-	-	-	-
308.	L2S2K1.21	-	-	-	-	-	-
309.	L2S2K1.22	-	-	-	-	-	-
310.	L2S2K1.23	-	-	-	-	-	-
311.	L2S2K1.24	-	-	-	-	-	-
312.	L2S2K1.25	-	-	-	-	-	-
313.	L2S2K1.26	-	-	-	-	-	-
314.	L2S2K1.27	-	-	-	-	-	-
315.	L2S2K1.28	-	-	-	-	-	-
316.	L2S2K1.29	-	-	-	-	-	-
317.	L2S2K1.30	-	-	-	-	-	-
318.	L2S2K1.31	-	-	-	-	-	-
319.	L2S2K1.32	-	-	-	-	-	-
320.	L2S2K2.1	-	-	-	-	-	-

Tabel 3. Lanjutan

No.	Isolat	Bakteri primer pembentuk biofilm					
		B1	B2	B3	B4	B5	B6
321.	L2S2K2.2	-	-	-	-	-	-
322.	L2S2K2.3	-	-	-	-	-	-
323.	L2S2K2.4	-	-	-	-	-	-
324.	L2S2K2.5	-	-	-	-	-	-
325.	L2S2K2.6	-	-	-	-	-	-
326.	L2S2K2.7	-	+	+	+	+	+
327.	L2S2K2.8	-	-	-	-	-	-
328.	L2S2K2.9	-	-	-	-	-	-
329.	L2S2K2.10	-	-	-	-	-	-
330.	L2S2K2.11	-	-	-	-	-	-
331.	L2S2K2.12	-	-	-	-	-	-
332.	L2S2K2.13	-	-	-	-	-	-
333.	L2S2K2.14	-	-	-	-	-	-
334.	L2S2K2.15	-	-	-	-	-	-
335.	L2S2K2.16	-	-	-	-	-	-
336.	L2S2K2.17	-	-	-	-	-	-
337.	L2S2K2.18	-	-	+	+	+	+
338.	L2S2K2.19	-	-	+	+	+	+
339.	L2S2K2.20	-	-	-	-	-	-
340.	L2S2K2.21	-	-	-	-	-	-
341.	L2S2K2.22	-	-	-	-	-	-
342.	L2S2K2.23	-	-	-	-	-	-
343.	L2S2K2.24	-	-	-	-	-	-
344.	L2S2K2.25	-	-	-	-	-	-
345.	L2S2K2.26	-	-	-	-	-	-
346.	L2S2K2.27	-	-	-	-	-	-
347.	L2S2K2.28	-	-	-	-	-	-
348.	L2S2K2.29	-	-	-	-	-	-
349.	L2S2K2.30	-	-	-	-	-	-
350.	L2S2K2.31	-	-	-	-	-	-
351.	L2S2K2.32	-	-	-	-	-	-
352.	L2S2K2.33	-	-	-	-	-	-
353.	L2S2K2.34	-	-	-	-	-	-
354.	L2S2K2.35	-	-	-	-	-	-
355.	L2S2K2.36	-	-	-	-	-	-
356.	L2S2K2.37	-	-	-	-	-	-
357.	L2S2K2.38	-	-	-	-	-	-
358.	L2S2K2.39	-	-	-	-	-	-
359.	L2S2K2.40	-	-	-	-	-	-
360.	L2S2K2.41	-	-	-	-	-	-

Tabel 3. Lanjutan

No.	Isolat	Bakteri primer pembentuk biofilm					
		B1	B2	B3	B4	B5	B6
361.	L2S2K2.42	-	-	-	-	-	-
362.	L2S2K2.43	-	-	-	-	-	-
363.	L2S2K2.44	-	-	-	-	-	-
364.	L2S2K2.45	-	-	-	-	-	-
365.	L2S2K2.46	-	-	-	-	-	-
366.	L2S2K2.47	-	-	-	-	-	-
367.	L2S2K2.48	-	-	-	-	-	-
368.	L2S2K2.49	+	+	-	-	-	-
369.	L2S2K2.50	-	-	-	-	-	-
370.	L2S2K2.51	-	-	-	-	-	-
371.	L2S2K2.52	-	-	-	-	-	-



Gambar 4. Skrining bakteri penghasil senyawa antifoulant

Tabel 4. Ringkasan hasil skrining bakteri karang

No.	Isolat	Bakteri primer pembentuk biofilm					
		B1	B2	B3	B4	B5	B6
1.	L1S1K1.11	-	+	+	+	+	-
2.	L1S1K1.27	-	+	-	-	-	-
3.	L1S2K2.3	-	+	+	+	+	-
4.	L2S1K1.57	-	+	+	+	+	-
5.	L2S1K1.62	+	+	-	-	+	-
6.	L2S1K2.36	-	+	-	-	-	-
7.	L2S2K2.7	-	+	+	+	+	+
8.	L2S2K2.18	-	-	+	+	+	+
9.	L2S2K2.19	-	-	+	+	+	+
10.	L2S2K2.49	+	+	-	-	-	-

5.1.5. Uji Macro-fouling



Gambar 5. Uji makrofouling

5.2. Pembahasan

Hasil isolasi bakteri yang berasosiasi dengan karang lunak dari lokasi Ujung Kulon dan Karimunjawa pada kedalaman 3 meter dan 10 meter disajikan pada Tabel 1. Sedangkan hasil isolasi bakteri primer pembentuk biofilm disajikan pada Tabel 2. Tabel-tabel tersebut menunjukkan bahwa bakteri yang berasosiasi dengan karang lunak di kedua lokasi tersebut berhasil diisolasi sebanyak 371 isolat dan dipergunakan sebagai materi dasar untuk penelitian selanjutnya. Wahbeh dan Mahasneh (1988) juga berhasil mengisolasi bakteri dari karang *Acropora sp* dan *Porites sp.* di Laut Merah.

Hasil uji skrining bakteri penghasil senyawa antifoulant dapat dilihat pada Tabel 3 dan 4. Tabel 3, 4 dan Gambar 4 menunjukkan sebanyak 10 isolat yang memiliki potensi penghasil senyawa antifoulant atau sekitar 2,69 % dari total isolat. Bakteri karang yang memiliki aktifitas senyawa anti foulant ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambatan disekitar koloni tersebut.

Fase pertama perkembangan biofilm adalah dengan mengadsorpsi makromolekul organik untuk membentuk film (Wahl, 1989). Dalam waktu yang relatif singkat, kondisi ini akan diikuti dengan penempelan bakteri dan organisme uniseluler lainnya. Disarankan bahwa penghambatan yang efektif dari pembentukan biofilm pada fase awal akan mempengaruhi permukaan selanjutnya pada berkurangnya karakteristik yang diperlukan oleh larva makromolekul untuk menempel (Wieczorek and Todd, 1997). Sehingga, pengembangan cat dengan aktivitas antibakteri mungkin bisa menghilangkan fase awal dari pembentukan biofilm, dan memberikan kontribusi yang efektif di dalam perlindungan antifouling untuk proteksi struktur di laut.

Delapan dari 10 isolat yang diperoleh menunjukkan aktifitas antifoulant lebih dari 2 bakteri biofilm. Hal ini menunjukkan bahwa hampir sebagian besar kandidat bakteri yang diperoleh menunjukkan potensi besar sebagai sumber antifoulant. Diharapkan pada identifikasi

molekular pada tahun selanjutnya menunjukkan diversitas dari isolat-isolat tersebut. Burgess et al. (2003) melaporkan bahwa hampir semua isolat antifoulant yang diperoleh termasuk dalam genus *Bacillus* dan *Pseudomonas*. Clare (1996) melaporkan bahwa produk alam antifouling yang berasal dari laut menunjukkan sejumlah senyawa dengan aktifitas antifouling. Namun sebagian besar dari hasil-hasil tersebut hanya berdasarkan assai tunggal. Holmstrom dan Kjelleberg (1999) melaporkan bahwa *Pseudoalteromonas tunicata* yang diisolasi dari permukaan organisme laut tunicata *Ciona intestinalis* menghasilkan 5 jenis senyawa ekstraseluler yang mampu menghambat penempelan dan perkembangan spesies yang mengkolonisasi permukaan, seperti, spora alga, pertumbuhan bakteri dan fungi serta diatom.

VI. KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan awal yang diperoleh dalam riset tahun pertama ini adalah diperolehnya bakteri yang berasosiasi dengan karang lunak yang memiliki aktifitas antifouling. Hasil ini juga menunjukkan potensi bakteri karang di dalam produksi *antifouling coating* berbasis bahan alam yang mudah terdegradasi daripada senyawa toksik yang saat ini sering dipergunakan.

VII. RENCANA/PENELITIAN TAHAP SELANJUTNYA

7.1. Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dengan metoda menurut Montano dan Glorioso (1994). Bakteri seleksi akan ditumbuhkan pada 3000 ml media cair ZoBell 2216E, yang selanjutnya akan diekstraksi dengan cara homogenisasi dengan pelarut etanol dengan menggunakan blender. Campuran organik yang diperoleh kemudian difiltrasi dengan menggunakan vacuum filter. Filtrat kemudian dipisahkan dari pelarut dengan menggunakan rotary evaporator dan kemudian disiapkan lebih lanjut untuk pemisahan dengan kolom kromatografi.

7.2. Uji lapangan (*macrofouling*)

Uji lapangan akan dilakukan dengan mencampur cat dan senyawa aktif dari ekstrak kasar bakteri asosiasi untuk mengetahui kemampuan senyawa aktif dalam melindungi struktur dari penempelan organisme fouling. Disiapkan beberapa blok kayu Jati berukuran 5 x 10 cm dan dipasang skrup berlubang kecil pada kedua ujungnya untuk memasukkan tali pengikat. Dibuat beberapa larutan cat kayu kapal sejumlah 100 ml, yang kemudian dicampur dengan crude extract yang telah disiapkan.

Satu blok tanpa penambahan ekstrak aktif akan digunakan sebagai kontrol. Selanjutnya larutan cat tersebut digunakan untuk mengecat blok kayu yang tersedia. Setelah dikeringkan selama 3 hari, maka kayu tersebut akan dikaitkan dengan tali plastik dan dipasang pada base pralon yang telah dipasang di laut. Blok kayu tersebut ditempatkan 50 cm di bawah permukaan laut pada surut terendah selama 6 minggu. Pengamatan akan dilakukan tiap minggu untuk ditentukan dan dihitung jumlah organisme penempelnya.

7.3. Elusidasi struktur senyawa aktif

Deteksi senyawa aktif (elusidasi struktur aktif) dilakukan untuk mengetahui karakteristik dari senyawa bioaktif yang diisolasi dari bakteri yang berasosiasi dengan karang lunak. dengan menggunakan berbagai teknik spektroskopi, yang meliputi Infra merah, UV, MS dan Nuclear Magnetic Resonance (^1H dan ^{13}C NMR) (De Guzman, 1994).

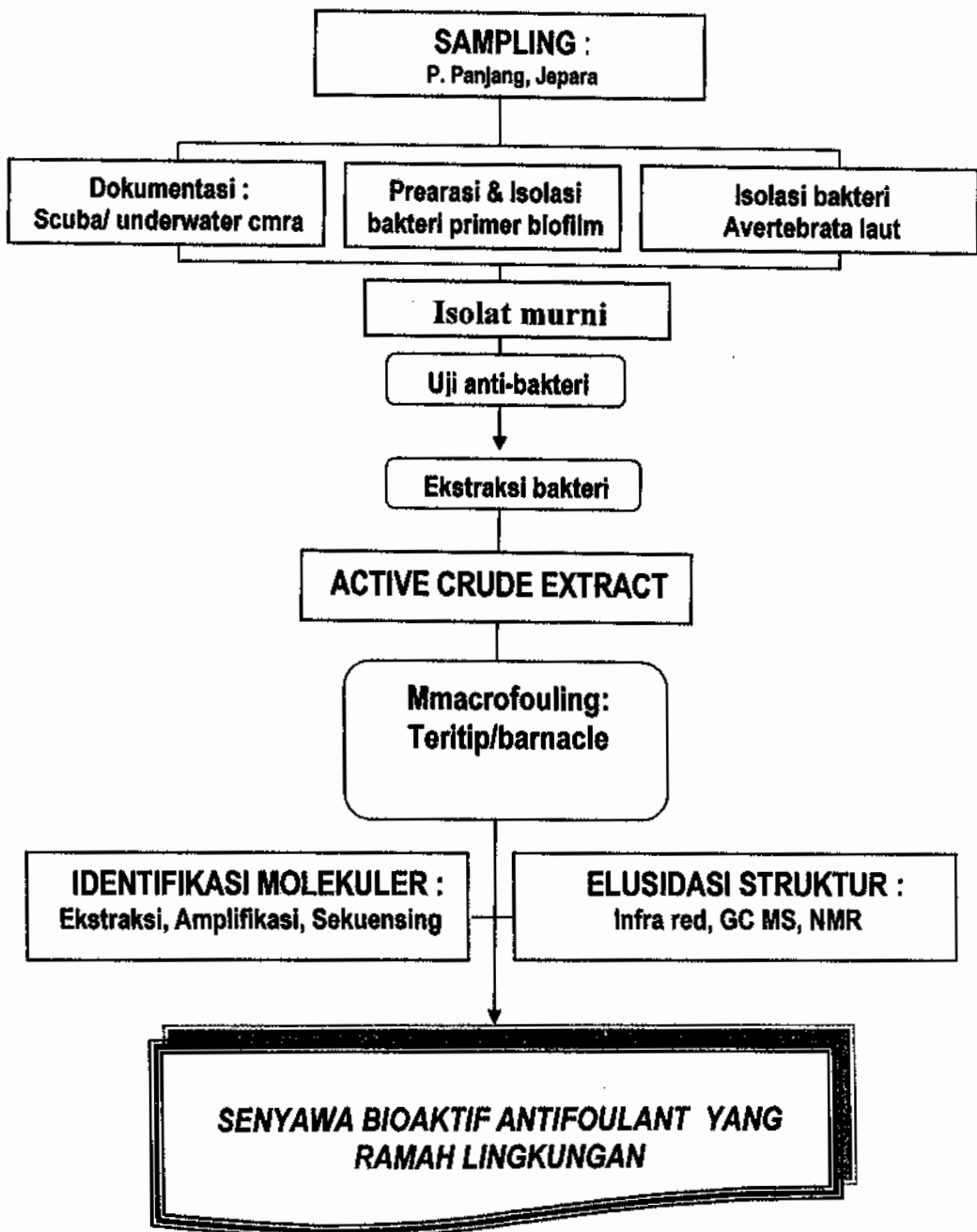
7.4. Identifikasi isolat bakteri

Isolat bakteri asosiasi yang memiliki potensi antifoulant, selanjutnya akan diidentifikasi untuk mengetahui spesies dari bakteri tersebut. Identifikasi akan dilakukan menurut standar prosedur dalam *The Manual of Methods for General Bacteriology* (Smibert dan Kreig, 1981) dan Simidu scheme (Simidu, 1985; Do *et al.*, 1990) dan secara molekuler dengan sequencing homology databse.

6.12. Rancangan Riset

Penelusuran senyawa bioaktif bakteri yang berasosiasi dengan karang lunak di laboratorium akan digunakan rancangan riset Deskriptif. Dengan menggunakan desain tersebut akan diperoleh secara mudah perbedaan fraksi yang memiliki senyawa aktif antibakteri. Uji senyawa aktif terhadap berbagai jenis mikroba akan digunakan desain riset Eksperimental Murni, dengan menggunakan Rancangan RAK.

6.14. Diagram alur penelitian :



DAFTAR PUSTAKA

- Bernan, V.S., M. Greenstein, and W.M. Maise. 1997. Marine microorganisms as a source of new natural products. *Adv. Appl. Microbiol.* 43: 57-90.
- Brock, T.D. and M.T. Madigan 1991. *Biology of microorganisms*. Prentice Hall, Englewood Cliffs, New Jersey.
- Burgessa, J.G., K.G. Boyda, E. Armstronga, Z. Jianga, L. Yana, M. Berggrenb, U. Mayb, T. Pisacanec, A. K. Granmob and D. R. Adamsd. 2003. The Development of a Marine Natural Product-based Antifouling Paint. *Biofouling*, 2003 Vol 19: 197-205
- Coffroth, M.A. 1990. The function and fate of mucous sheets produced by reef coelenterates. *Proc. The 6th Int. Coral Reef Symp. Australia* 2: 15-20.
- Faulkner, D.J., M.K. Harper., M.G. Haygood., C.E. Salomon, and E.W. Schmidt. 2000. Symbiotic bacteria in sponges: sources of bioactive substances. In: Fusetani, N (Ed). *Drugs from the sea*, Basel: Karger. 107-119.
- Fenical, W. 1993. Chemical studies of marine bacteria: developing a new source. *Chem. Rev.* 93: 1673-1683.
- Hadfield, M.G. and L.S. Ciereszko 1978. Action in cembranolides derived from octocorals on larvae of the nudibranch *Phestilla sibogae* pp 145-150. In P.N. Kaul and C.J. Sinderman (eds). *Drugs and food from the sea: Myth or reality ?*. University of Oklahoma, Norman.
- Jensen, P.R., and W. Fenical. 2000. Marine microorganisms and drug discovery: current status and future potential. In: Fusetani, N (Ed). *Drugs from the sea*, Basel: Karger. 6-29.
- Kim, K. 1994. Antimicrobial activity in gorgonian corals (Coelenterata, Octocorallia). *Coral Reefs* 13: 75-80.
- Maki, J.S. and R. Mitchell 1988. Microbial surface film and their influence on larval settlement and metamorphosis in the marine environment. In: *Marine biodeterioration: Advanced techniques applicable to the Indian Ocean*. A.A. Balkema, Rotterdam.
- Mayer, A.M.S., P.B. Jacobson, W.Fenical, R.S. Jacobs, and K.B.Glaser. 1998. Pharmacological characterization of the pseudopterosins: Novel anti-inflam-matory natural products isolated fromthe Caribbean soft coral, *Pseudopterogorgia elisabethae*. *LifeSci.* 62(26): PL 401-407
- Montano, N.E. and B.A. Glorioso. Extraction and Isolation of Marine natural products. In: *Workbook second natural workshop: Strategies in the quest for Novel Bioactive Compounds from the Sea*. Marine Science Institute and Institute of Chemistry. University of the Philippines, Diliman, Quezon City, Philippines.
- Paul, J.H., M.E. DeFlaun, and W.H. Jeffrey. 1986. Elevated levels of microbial activity in the coral surface microlayer. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 33: 29-40
- Pietra, F. 1997. Secondary metabolites from marine microorganisms-bacteria, protozoa, algae and fungi-achievements and prospectives. *J. Nat. Prod.* 14: 453-464.

- Proksch, P., R.A. Edrada, and R Ebel. 2002. Drugs from the seas-current status and microbiological implications. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 59: 125-134.
- Radjasa, O.K., Sabdono, A., and Suharsono. 1999. The growth inhibition of marine biofilm-forming bacteria by the crude extract of soft coral *Sinularia* sp. *J. Coastal. Development.* 2: 329-334.
- Sammarco, P.W. and J. C. Coll 1990. Lack of predictability in terpenoid function: Multiple roles and integration with related adaption in soft corals. *J. Chem. Ecol.* (16) 1: 273-289
- Scheur, P.J. 1985. The organic chemistry of marine products. Symposia in Print No. 18. *Tetrahedron.* 41: 979-1018
- Simidu, U. 1985. Identification of marine bacteria. Pp 228-233. In H. Kadota and T. Naga (ed). *Methods in marine microbiology.* Gakkai Shuppan, Tokyo.
- Smibert, R.M. and N.R. Krieg 1981. Systematic-general characterization. In: Gerhardt, P. Murray RGE, Cotslow RN, Nester EW, Wod WA, Krieg NR, Philips GB (eds). *Manual of Methods for General Microbiology.* American Society of Microbiology. Washington, DC. Pp: 408-443.
- Veseveldt, J. 1980. A revision of the genus *Sinularia* May (Octocorallia, Alcyonacea). *Zool Verhand* 179: 1-27
- Watermann, B. 1999. Alternative antifoulant techniques present and future. *LimnoMar:* 1-6
- Young, L.Y. and R. Mitchell. 1972. The role of chemotactic responses in primary microbial formation. In: *Proc. 3rd Int. Congress on marine corrosion and fouling.* (Archer R.F., Brown, B.F, De palma, J.R. and Iverson, W.P. eds) North Western University Press. Evaston ii: 617-620.
- Zahuranec, B.J. 1988. *Marine biodeterioration.: Advanced techniques applicable to Indian Ocean.* A.A. Balkema, Rotterdam.

LAMPIRAN:

1. USULAN PENELITIAN TAHUN KE-2 (Dijilid terpisah)