



TUGAS AKHIR – SB141510

Potensi Ekstrak *Nicotiana tabacum* sebagai Anti *Microfouling*

AHMADA DIAN NURILMA
NRP. 1512 100 015

Dosen Pembimbing:
Aunurohim, S.Si., DEA
N.D. Kuswytasari, S.Si., M.Si

Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Institut Teknologi Sepuluh Nopember
Surabaya 2016



FINAL PROJECT – SB141510

POTENCY OF *Nicotiana tabacum* AS ANTI-MICROFOULING

AHMADA DIAN NURILMA
NRP. 1512 100 015

Advisor Lecturer:
Aunurohim, S.Si., DEA
N.D. Kuswytasari, S.Si., M.Si

Department of Biology
Faculty of Mathematics and Natural Sciences
Institut Teknologi Sepuluh Nopember
Surabaya 2016

LEMBAR PENGESAHAN

**POTENSI EKSTRAK *Nicotiana tabacum* SEBAGAI
ANTI MICROFOULING**

TUGAS AKHIR

Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat
Memperoleh Gelar Sarjana Sains
pada
Jurusan S-1 Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Oleh :

**AHMADA DIAN NURILMA
NRP. 1512 100 015**

Disetujui oleh Pembimbing Tugas Akhir :

Aunurohim, S.Si., DEA.....(Pembimbing I)

N.D. Kuswytasari, S.Si., M.Si.....(Pembimbing II)

Surabaya, 27 Juli 2016

Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi ITS



**Dr. Dewi Hidayati, M.Si.
NIP. 19691121 199802 2 001**

POTENSI EKSTRAK *Nicotiana tabacum* SEBAGAI ANTI MICROFOULING

Nama Mahasiswa : Ahmada Dian Nurilma
NRP : 1512 100 015
Jurusan : Biologi
Pembimbing : Aunurohim, S.Si., DEA
N.D. Kuswytasari, S.Si., M.Si

Abstrak

Secara umum biofouling adalah penempelan dan pertumbuhan organisme pada permukaan benda atau material yang terbenam di laut. Biofouling yang berukuran mikroskopis disebut dengan microfouling, di mana microfouling ini berperan sebagai perintis bagi organisme penempel berikutnya yang umumnya berukuran lebih besar (macrofouling). Pengendalian biofouling selama ini menggunakan bahan kimia pada cat antifouling. Penggunaan tributyltin-polishing copolymer paints (TBT – SPC cat) cat yang mengandung TBT memiliki efek buruk pada organisme laut non target. Penelitian ini menggunakan debu tembakau, yang merupakan limbah yang dihasilkan selama proses perajangan daun tembakau. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi ekstrak debu tembakau sebagai anti microfouling.

*Hasil penelitian menunjukkan ekstrak debu tembakau (*Nicotiana tabacum*) berpotensi sebagai anti microfouling. Konsentrasi ekstrak debu tembakau paling efektif untuk dapat diterapkan menjadi anti microfouling adalah konsentrasi 40% dan isolat 3 dan 4 merupakan jenis isolat bakteri yang paling efektif untuk dihambat pertumbuhannya menggunakan ekstrak debu tembakau.*

Kata kunci: Anti microfouling, Ekstrak tembakau, Microfouling, TBT.

**POTENCY OF *Nicotiana tabacum* AS ANTI-
MICROFOULING**

Nama Mahasiswa : Ahmada Dian Nurilma
NRP : 1512 100 015
Jurusan : Biologi
Pembimbing : Aunurohim, S.Si., DEA
N.D. Kuswytasari, S.Si., M.Si

Abstract

Generally, biofouling is defined as organisms' attachment and growth in the surface of material that was soaked in the ocean. Microscopic biofouling is called microfouling, where it plays the role as a pioneer before eventually bigger organisms will take its place (macrofouling). To date, biofouling is being controlled by using chemical ingredients in antifouling paint. The usage of tributyltin–polishing copolymer paints (TBT – SPC cat) in the paint is causing damages towards the non-target organisms in the ocean. This research is conducted using tobacco dust, which was the by-product of tobacco chopping. The purpose of this research is to identify the potential of tobacco dust extract as antifouling material.

The result of the conducted research, it is known that tobacco dust has potency as anti microfouling. Tobacco dust extract with concentration rate of 40% is the most effective concentration as antimicrofouling material and isolate type 3 and 4 are the most effective bacterial isolates to inhibited by tobacco dust extract.

Keyword: Anti-microfouling; Tobacco Extract; Microfouling; TBT.

KATA PENGANTAR

Puji syukur dipanjatkan kehadirat Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayahNya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan Laporan Tugas Akhir dengan judul **Potensi Ekstrak *Nicotiana tabacum* sebagai Anti *Microfouling***. Penyusunan Laporan Tugas Akhir ini merupakan syarat untuk dapat menyelesaikan perkuliahan dan predikat Sarjana di jurusan Biologi FMIPA ITS.

Penyusunan Laporan Tugas Akhir ini dalam pelaksanaannya tidak lepas dari bimbingan dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh sebab itu penulis menyampaikan terima kasih kepada pihak-pihak yang telah membantu yaitu:

1. Kedua Orang tua yang telah memberikan do'a, semangat dan restunya.
2. Ibu Dr. Dewi Hidayati, S.Si M.Si selaku Ketua Jurusan Biologi ITS.
3. Bapak Aunurohim, S.Si., DEA dan Ibu N.D. Kuswytasari, S.Si., M.Si selaku Dosen Pembimbing yang telah banyak memberikan bimbingan dan masukan.
4. Ibu Wirdatul Muslihatin S.Si., M.Si dan Ibu Indah Trisnawati D.T., M.Si., Ph.D selaku Dosen Penguji.
5. Rekan-rekan seperjuangan di ITS; B 15, Rizka, Irma, Hengki, Lericka, Rindi, Mas Ikal, Mas Cholis, Ditha, Sarah, Fahmi, Zein, Yanuar, Wildan, dan kawan-kawan lain yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa penulisan proposal ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun sangat berarti bagi penulis dan semoga dapat bermanfaat untuk penulis maupun pembaca.

Surabaya, 27 Juli 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PENGESAHAN.....	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
BAB I	1
PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Permasalahan	4
1.3 Batasan Masalah.....	4
1.4 Tujuan.....	4
1.5 Manfaat.....	5
BAB II	7
TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Biofouling.....	7
2.2 Permasalahan dan Upaya Penanggulangan Biofouling di Laut.....	11
2.3 Botani Tembakau	14
2.3.1 Bagian-bagian Tanaman Tembakau	14
2.4 Debu Tembakau	15
2.5 Senyawa Metabolit Sekunder	17
2.6 Potensi Antibakteri Ekstrak Daun Tembakau	19
BAB III.....	23
METODOLOGI	23
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	23
3.2 Metode yang Digunakan	23
3.2.1 Preparasi Plat Baja.	25
3.2.2 Proses Pengecatan	25
3.2.3 Proses Pemasangan Plat Baja	25

3.2.4 Isolasi Bakteri Biofilm	26
3.2.5 Morfologi Sel Bakteri	27
3.2.6 Ekstraksi Debu Tembakau	27
3.2.7 Uji Penempelan Mikrofouling	28
3.2.8 Deteksi Visual Biofilm.....	28
3.2.9 Uji Aktivitas Antibakteri Penyebab <i>Microfouling</i>	29
3.3 Rancangan Penelitian.....	29
BAB IV	31
HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	31
4.1 Hasil Isolasi Bakteri	31
4.2 Deteksi dan Visualisasi <i>Biofilm</i>	33
4.3 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Penyebab <i>Microfouling</i> ...	35
4.4 Analisa Data.....	40
4.4.1 Pengujian Asumsi	40
4.4.2 <i>Two Way Analysis of Variance</i> (ANOVA Dua Arah)	42
BAB V	47
KESIMPULAN DAN SARAN.....	47
5.1 Kesimpulan	47
5.2 Saran	47
DAFTAR PUSTAKA	49
LAMPIRAN.....	59

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1. Struktur Waktu Penempelan Biofouling pada Substrat (Abarzua, 1995; Ruslan, 2014)	9
Gambar 2.2. Kronologi dari Kolonisasi Biofouling pada Substrat (Railkin, 2004)	10
Gambar 3.1. Diagram Alir Garis Besar Penelitian yang Akan Dilakukan.....	24
Gambar 3.2. Dimensi Plat Uji dan Ukurannya yang Akan Direndam pada Perairan PT Dok dan Perkapalan Surabaya.....	25
Gambar 3.3. Desain Pemasangan Plat Baja untuk Perendaman	26
Gambar 4.1. Visualisasi <i>biofilm</i> yang terbentuk pada permukaan plat baja kapal pada saat simulasi penempelan microfouling.....	34
Gambar 4.2. Grafik Pengaruh Rerata Konsentrasi Ekstrak Debu Tembakau terhadap Pertumbuhan Bakteri Penyebab Microfouling	36

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1. Komposisi Senyawa pada Daun Tembakau.....	18
Tabel 4.1 Hasil Isolasi Bakteri <i>Microfouling</i> yang Diisolasi dari plat Baja Kapal yang Direndam di Perairan PT Dok dan Perkapalan Surabaya	31
Tabel 4.2 Deteksi Penempelan <i>Biofilm</i> pada substrat Plat Baja Kapal	33
Tabel 4.3 Respon Hambatan Pertumbuhan Pada Uji Antibakteri	38
Tabel 4.5 <i>Tests of Normality</i>	41
Tabel 4.6 <i>Test of Homogeneity of Variance</i>	42
Tabel 4.7 <i>Tests of Between-Subjects Effects</i>	43
Tabel 4.8 Hasil Pengujian Duncan untuk Faktor Isolat	44
Tabel 4.9 Hasil Pengujian Duncan Untuk Faktor Konsentrasi Senyawa.....	45
Tabel 4.10 Kelompok Berdasarkan Faktor Konsentrasi Senyawa.....	45

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negeri yang kaya dengan sumber daya hayati yang menjadi penyusun kehidupan di lingkungan laut. Salah satu penyusun kehidupan di laut ialah biota yang hidupnya menempel pada substrat ataupun pada struktur tegakan yang terpapar air laut. Kehadiran biota penempel adalah peristiwa wajar yang dilakukan oleh kelompok bakteri, tumbuhan, dan hewan. Penempelan biota tersebut dapat juga terjadi pada berbagai infrastruktur, yaitu pada kapal dan bangunan pantai. Permukaan substrat padat saat terendam air laut akan mengalami perubahan yang terbentuk oleh hasil penempelan organisme laut (*fouling organism*), terutama dari mikroba, diatom, teritip, *tunicates*, *bryozoan* dan spora dari ganggang laut (Bhadury and Wright, 2004). Fenomena inilah yang disebut *biofouling*. Istilah ini biasanya mengacu pada organisme stasioner makroskopik seperti makroalga, teritip, kerang, dan sejenisnya. Namun *biofouling* juga terjadi sangat cepat pada skala mikroskopis. Berdasarkan hal tersebut, *biofouling* dapat dibagi menjadi 2, yaitu *microfouling* yaitu pembentukan *biofilm* (kolonisasi bakteri dan mikroalga) dan *macrofouling* yaitu penempelan makroorganisme (kolonisasi avertebrata dan makroalga) yang bersifat merusak (Railkin, 2004), di mana mikroorganisme (*microfouling*) berperan sebagai perintis bagi organisme penempel berikutnya yang umumnya berukuran lebih besar (*macrofouling*) (Railkin, 2005).

Konsekuensi dari adanya fenomena ini dapat mempengaruhi sektor perikanan dan industri perkapalan (Plouguerne *et al.*, 2010). Berdasarkan Chambers *et al.* (2006) keberadaan organisme *fouling* pada lambung kapal yang telah berlayar selama 6-8 bulan dapat mengakibatkan berkurangnya kecepatan kapal hingga 50%. Hal tersebut mengakibatkan tertundanya waktu berlayar selama 10-15% dari total waktu berlayar serta meningkatkan konsumsi bahan bakar hingga 40%.

Pada kapal, *biofouling* akan menambah berat kapal dan menurunkan kemampuan manuver kapal sehingga menyebabkan peningkatan biaya melalui peningkatan penggunaan tenaga kerja, bahan bakar, dan waktu *docking* (Bazes *et al.*, 2009).

Pengendalian *biofouling* selama ini menggunakan bahan kimia pada cat *antifouling*. Penggunaan *tributyltin-polishing copolymer paints* (TBT – SPC cat) menjadi cara yang paling sukses dalam memerangi *biofouling*. TBT merupakan salah satu senyawa kimia yang tersusun atas logam timah yang berfungsi sebagai biosida alga, jamur, serangga dan sejak tahun 1970 sudah digunakan sebagai senyawa tambahan pada cat *antifouling* (Berge dan Walday, 1999). Namun, cat yang mengandung TBT memiliki efek buruk pada organisme laut non target. Park *et al.* (2012), telah mengevaluasi resiko ekologis yang ditimbulkan oleh TBT, setelah pemberian TBT pertumbuhan salah satu organisme dari kelompok filum moluska, kelas bivalvia, dari famili Veneridae yaitu *Gomphina 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 TBT, Organisasi Maritim Internasional (IMO) telah mengusulkan penghapusan cat *antifouling* dari TBT sejak tanggal 1 Januari 2008 (Yebra *et al.*, 2004). Melihat permasalahan tersebut, saat ini telah banyak dikembangkan zat *antifouling* yang berasal dari senyawa alam dalam bentuk zat metabolit sekunder. Sidhartan dan Shin (2006) membuktikan bahwa zat metabolit sekunder yang diperoleh dari tumbuhan jeruk, jahe, cengkeh, bunga melati dan daun tembakau mampu menghambat mekanisme *biofouling*.

Tembakau merupakan salah satu tumbuhan budidaya yang dapat ditemui di Indonesia. Tembakau banyak diolah menjadi rokok yang menurut Direktur Jenderal Industri Agro dan Kimia Departemen Perindustrian, pada tahun 2015 produksi rokok diproyeksikan sebanyak 260 miliar batang. Pada proses pengolahan rokok, dihasilkan limbah buangan yang belum banyak dimanfaatkan yang berupa debu tembakau. Debu tembakau

adalah debu yang dihasilkan selama proses perajangan daun tembakau. Melihat kandungan kimiawi yang dimiliki tumbuhan tembakau, maka debu tembakau diduga juga berpotensi untuk menjadi salah satu bahan alami *antifouling*. Pemanfaatan alternatif debu tembakau secara tradisional telah banyak diaplikasikan oleh masyarakat di antaranya adalah penggunaannya sebagai obat tanaman. Dalam penggunaannya, ekstrak tembakau tersebut ditambahkan dengan bahan lain seperti deterjen atau ekstrak cabe untuk membantu efektivitas pemanfaatannya. Campuran itu lalu digunakan untuk membasmi penyakit seperti pada buncis dan gandum, serta jamur kentang yang disebabkan oleh bakteri.

Pada penelitian sebelumnya terkait potensi senyawa aktif pada tembakau, telah diketahui bahwa daun tembakau dapat dimanfaatkan sebagai bakterisida nabati karena sifatnya yang dapat menghambat bakteri. Hal itu dibuktikan oleh Palic *et al.* (2002) yang menunjukkan adanya aktivitas antibakteri minyak atsiri daun tembakau jenis Prilep terhadap *E. coli*, *S aureus*, dan *P. aeruginosa*. Penelitian sebelumnya yang juga terkait dengan pengujian aktivitas antibakteri daun tembakau telah dilakukan oleh Pavia *et al.* (2000) yang menguji pengaruh nikotin daun tembakau terhadap *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Viridans streptococci*, *Cryptococcus neoformans*, *Borrelia burgdorferi*, *S. aureus*, *Mycobacterium phlei*, dan *Candida albicans*. Data hasil penelitian tersebut menunjukkan adanya pengaruh positif nikotin dalam menghambat bakteri Gram positif dan negatif.

Pada penelitian Yudhatama (2012), digunakan ekstrak tembakau yang dicampur dengan cat dekoratif kapal, dengan komposisi konsentrasi ekstrak tembakau 0 ppm, 10 ppm, dan 25 ppm. Hasil dari penelitian tersebut adalah tidak adanya pengaruh antara penambahan konsentrasi ekstrak debu tembakau terhadap luasan *macrofouling* pada substrat baja. Hal ini diperkuat dengan analisis statistik anova satu arah, yang menyimpulkan bahwa tidak ada pengaruh antara tiga konsentrasi ekstrak debu tembakau

terhadap biomassa dan luasan *macrofouling*. Tidak adanya pengaruh pada penelitian Yudhatama diduga karena kurang besarnya konsentrasi ekstrak tembakau yang digunakan dan sebelumnya. Sehingga pada penelitian kali ini dilakukan pengujian aktivitas senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak tembakau terhadap *microfouling*, dikarenakan yang menginisiasi terjadinya proses biofouling pada suatu substrat adalah bakteri dan mikroorganisme lain (Railkin, 2004). Berdasarkan hal tersebut, dalam penelitian ini dilakukan serangkaian uji untuk melihat aktivitas senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak tembakau terhadap organisme mikrofouling.

1.2 Permasalahan

Permasalahan dalam penelitian ini adalah apakah ekstrak debu tembakau (*Nicotiana tabacum*) berpotensi sebagai anti *microfouling*?

1.3 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini adalah :

1. Teknik dan jenis cat menyesuaikan dengan standar pengecatan kapal.
2. Proses ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%.
3. Penggunaan konsentrasi ekstrak debu tembakau yang digunakan adalah 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, dan 100 ppm.
4. Tidak dilakukan identifikasi mikroorganisme *biofouling*.
5. Mikroorganisme yang digunakan dalam penelitian adalah bakteri.

1.4 Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi ekstrak debu tembakau sebagai anti *microfouling* pada substrat uji baja yang ditenggelamkan di perairan dermaga PT Dok dan Perkapalan Surabaya.

1.5 Manfaat

Manfaat yang diperoleh dari penelitian ini adalah:

1. Dapat memberikan informasi mengenai potensi ekstrak tembakau sebagai anti *microfouling*.
2. Dapat digunakan sebagai referensi untuk upaya pencegahan dan pengendalian *microfouling* yang ramah lingkungan.
3. Dapat digunakan sebagai informasi awal untuk penelitian lanjutan mengenai potensi *Nicotiana tabaccum* sebagai anti *biofouling*.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Biofouling*

Secara umum *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 ditemelinya. *Biofouling* merupakan kumpulan mikroorganisme khususnya bakteri yang melekat erat pada permukaan substrat dan diselubungi oleh matriks *extracellular polymeric*. *Biofouling* tersebut diketahui merupakan prasyarat bagi penempelan dan metamorphosis dari organisme penempel (Sabdono, 2007; Marhaeni, 2011).

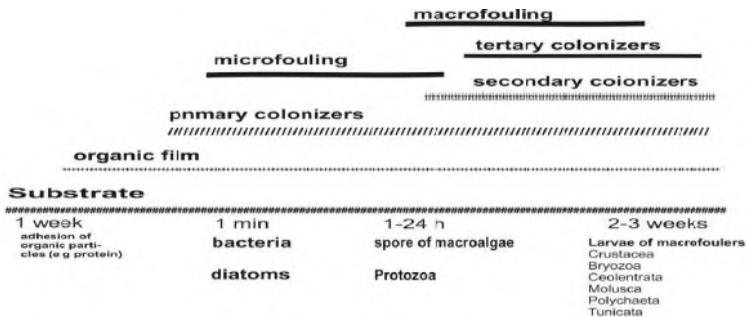
Biofouling adalah penempelan dan akumulasi organisme hidup yang melekat pada permukaan substrat (material yang ditemeli *biofouling*). Istilah ini biasanya mengacu pada organisme stasioner makroskopik seperti makroalga, teritip, kerang, dan sejenisnya. Namun *biofouling* juga terjadi sangat cepat pada skala mikroskopis. Sehingga *biofouling* dapat dibagi menjadi 2, yaitu *microfouling* yaitu pembentukan *biofilm* (kolonisasi bakteri dan mikroalga) dan *macrofouling* yaitu penempelan makroorganisme (kolonisasi avertebrata dan makroalga) yang bersifat merusak (Railkin, 2004).

Kelompok *biofouling* berukuran makro yang umum ditemukan antara lain: Moluska teritip, bryozoa, tunicata, decapoda, krustasea, hidroid dan anthozoa. Tiga kelompok pertama merupakan organisme yang paling banyak dan paling besar jumlahnya, sedangkan selebihnya tidak terlalu signifikan (Ruslan, 2014). Kelompok *microfouling* didominasi oleh bakteri dan diatom. Pada kelompok bakteri, banyak yang berasal dari genus *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Micrococcus*, *Achromobacter*, dan *Flavobacterium*, sedangkan yang jarang berasal dari genus *Bacterium*, *Bacillus*, dan *Sarcina*. Kelompok diatom yang umum

sebagai *microfouling* antara lain *Nitschia*, *Navicula*, *Cocconeis*, *Licmophora*, *Synedra*, *Amphora*, *Achnanthes*, *Bacillaria*, *Biddulphia*, dan yang berbenuk sentris seperti genus *Melosira*, *Fragilaria*, *Grammatophora*, *Rhabdonema*, *Berkeleya*, dan lain-lain. Kelompok flagelata heterotrofik didominasi oleh *Bodo*, *Spumella*, *Pteridominas*, *Metromonas*, *Monosiga*, *Codonosiga*, dan lain-lain (Railkin, 2005).

Di Laut Putih, komunitas *microfouling* yang berkembang pada substrat polimer jumlah total selnya mencapai 10^7 sel per 1 cm^2 di permukaannya. Sedangkan perbandingan bakteri:diatom:flagelata heterotrofik adalah 640:4:1. Pada saat yang sama, persentase dari organisme uniselular (*yeast*, flagelata autotrof, *sarcodina*, *ciliata*) hanya sekitar 0,15% dari total jumlah sel (Railkin, 2005).

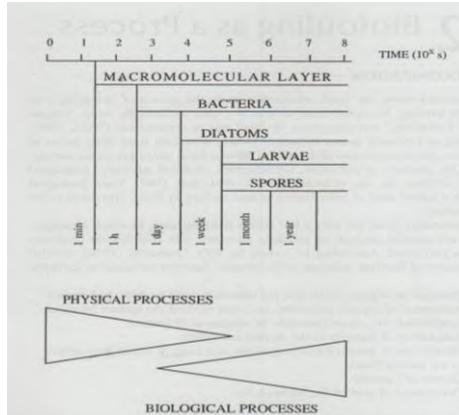
Proses *fouling* pada permukaan substrat keras diawali dengan penempelan mikroorganisme terutama oleh bakteri dan diatom yang tumbuh berlipat kali secara cepat. Bersama dengan debris dan bahan organik partikulat lainnya, mikroorganisme ini membentuk lapisan tipis pada permukaan benda. Tahap ini merupakan tahap primer dimana mikroorganisme berperan sebagai perintis bagi organisme penempel berikutnya yang umumnya berukuran lebih besar. Hewan dan tumbuhan yang selanjutnya menempel pada substrat tersebut umumnya berasal dari hewan dan tumbuhan yang secara alami hidup menempel (*sessil*) di sekitar lokasi bangunan pada substrat seperti karang dan lain-lain (Railkin, 2004).



Gambar 2.1. Struktur waktu penempelan biofouling pada substrat (Abarzua,1995; Ruslan, 2014).

Pembentukan *biofilm* pada suatu substrat di perairan membutuhkan waktu-waktu tertentu dalam setiap tahapannya. Bakteri planktonik yang berada di perairan mengalami pengendapan yang berubah-ubah dalam hitungan detik. Selanjutnya bakteri melekat pada substrat dalam hitungan menit (pelekatan awal). Bakteri yang melekat membentuk koloni dan melekat secara permanen pada substrat karena terjadi produksi eksopolimer dalam hitungan menit hingga jam. Selanjutnya terjadi proses pematangan *biofilm* tahap awal (maturasi 1) dalam hitungan 1 jam sampai 24 jam. Pematangan *biofilm* tahap akhir (maturasi 2) terjadi pada hitungan 24 jam hingga 1 minggu. Pada hitungan 2 minggu hingga 1 bulan terjadi proses dispersi, yaitu sebagian bakteri siap untuk menyebar dan berkolonisasi di tempat lain (Ruslan, 2014).

Mikroorganisme (bakteri, fungi uniselular, alga, protista) merupakan kelompok pertama yang membentuk koloni. Suksesinya pada tahap ini disebut dengan *microfouling*. Tahap selanjutnya, propagul makroorganisme, spora makroalga dan larva invertebrate serta ascidians, melekat pada permukaan yang keras.



Gambar 2.2 Kronologi dari kolonisasi *biofouling* pada substrat (Railkin, 2004).

Menurut Panjaitan (2011) faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan *biofouling* diantaranya:

a. Intensitas cahaya

Cahaya matahari yang jatuh di permukaan laut akan diserap dan diseleksi oleh air laut, sehingga cahaya dengan panjang gelombang yang panjang seperti cahaya merah, ungu dan kuning akan hilang lebih dahulu. Banyaknya sinar matahari yang masuk ke dalam laut berubah-ubah tergantung pada intensitas cahaya, banyaknya pemantulan di permukaan, sudut datang dan transparansi air laut.

b. Temperatur

Organisme laut umumnya bersifat polikilothermik sehingga penyebarannya mengikuti perbedaan suhu lautan secara geografis. Organisme *biofouling* dapat hidup dari perairan dengan perubahan suhu berkisar antara 15-30 °C atau dari perairan eustarina sampai laut terbuka, iklim tropis sampai dengan iklim sedang. Air mempunyai daya muat panas yang lebih tinggi daripada daratan. Akibatnya untuk menaikkan suhu sebesar 1° C, air akan membutuhkan energi yang lebih

- besar daripada yang dibutuhkan oleh daratan dalam jumlah massa yang sama.
- c. Sedimentasi
Merupakan salah satu faktor penting pertumbuhan organisme *biofouling*.
 - d. Kedalaman laut
Di perairan Eropa ditemukan *biofouling* jenis bivalvia, Pada kedalaman lebih dari 15 m, koloni *biofouling* yang ditemukan antar lain *byrozoa*, *serpulids*, *hydroid*, dan *oysters*.
 - e. Arus dan gelombang perairan
Arus dan gelombang mengakibatkan kegagalan penempelan organisme *biofouling* pada substrat.
 - f. Salinitas
Salinitas (kadar garam) adalah berat semua garam yang terlarut dalam 1000 gram air laut. Organisme *biofouling* dapat hidup pada perairan estuaria antara 5-30‰ sedangkan salinitas pada laut terbuka dapat mencapai 41‰.
 - g. Pasang surut
Salah satu fenomena fisik dan dinamis yang selalu dijumpai di lautan adalah naik turunnya permukaan air yang bersifat periodik selama satu interval waktu tertentu yang disebut pasang surut.

2.2 Permasalahan dan Upaya Penanggulangan Biofouling di Laut

Organisme *fouling* (*biofouling*) yang menempel pada kapal dan berbagai struktur buatan manusia di laut memberikan kerugian (ekonomis maupun operasional). Berdasarkan Chambers *et al.* (2006) keberadaan organisme *fouling* pada lambung kapal yang telah berlayar selama 6-8 bulan dapat mengakibatkan berkurangnya kecepatan kapal hingga 50%. Hal tersebut mengakibatkan tertundanya waktu berlayar selama 10-15% dari total waktu berlayar serta meningkatkan konsumsi bahan bakar hingga 40%. Menurut Panjaitan (2011), Timbulnya *fouling* pada

suatu peralatan tentu membawa dampak kerugian pada peralatan tersebut, seperti:

a. *Heat Exchanger*

Mengurangi efisiensi termal, suhu meningkat di sisi panas, menurunkan suhu di sisi dingin, deposit korosi, dan meningkatkan penggunaan air pendingin.

b. Jaringan Pipa

Mengurangi drop aliran, meningkatkan tekanan, meningkatkan tekanan hulu, meningkatkan pengeluaran energi, dapat menyebabkan osilasi aliran, kavitasi, dapat menyebabkan getaran, dan dapat menyebabkan penyumbatan aliran.

c. Kapal

Menambah tahanan kapal, meningkatkan penggunaan bahan bakar, mengurangi kecepatan maksimum kapal.

d. Turbin

Mengurangi efisiensi, meningkatkan peluang kegagalan.

Dalam Karlsoon dkk. (2010), Yebra dkk. (2004) menyatakan bahwa selama sejarah panjang pencegahan *fouling*, berbagai variasi metode telah digunakan sebagai anti *biofouling* seperti *pitch*, *tar*, dan selubung Cu. Menurut Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 21 Tahun 2010 tentang Perlindungan Lingkungan Maritim, Pengendalian Anti Teritip (*Anti-Fouling Systems*) adalah sejenis lapisan pelindung, cat, lapisan perawatan permukaan, atau peralatan yang digunakan di atas kapal untuk mengendalikan atau mencegah menempelnya organisme yang tidak diinginkan. Sejak akhir tahun 1950-an di Eropa telah digunakan cat kapal yang diberi senyawa *antifouling* khusus, yang dikenal dengan nama *tributyltin* untuk mencegah terjadinya kebocoran pada kapal akibat penempelan biota atau *biofouling*. senyawa ini efektif mencegah dan memperlambat penempelan biota pengotor pada struktur kapal maupun struktur bangunan laut. Pada tahun 1985, diperkirakan sebanyak 20 hingga 30% dari armada kapal maupun perahu yang menggunakan cat

antifouling yang mengandung senyawa *tributyltin* tersebut (Clark dkk., 1988). Studi tentang monitoring pencemaran laut dan toksisitas oleh senyawa organotin, khususnya *tributyltin* telah menjadi perhatian luas khususnya di banyak negara maju dimana *tributyltin* bertanggung jawab pada gangguan sistem endokrin di sejumlah siput laut betina yang mengakibatkan pada perkembangan karakteristik organ kelamin jantan dan *tributyltin* juga menyebabkan gangguan sistem imun pada organisme dan kerang laut yang membentuk perubahan formasi (anomali) cangkang setelah pelepasan *tributyltin* pada level yang begitu rendah (Sudaryanto, 2001). Karena toksisitas senyawa *tributyltin* ini, maka penggunaan senyawa *tributyltin* pada cat *antifouling* banyak ditinggalkan dan beralih dengan penggunaan cat *antifouling* dengan bahan dasar Cu.

Tembaga (Cu) telah menjadi biosida utama yang ditambahkan dalam cat *antifouling* sebagai konsekuensi dari larangan cat berbahan dasar *tributyltin* (TBT) (Jones dan Bolam, 2007; Srinivasan dan Swain, 2007). Hal ini memberikan efek pada peningkatan konsentrasi Cu di perairan laut di seluruh dunia (Matthiessen dkk., 1999). Cu merupakan logam transisi yang esensial bagi sebagian besar organisme laut namun ketika berada dalam level konsentrasi tinggi dapat memiliki efek toksik (Pérez dkk, 2010). Konsentrasi Cu yang diamati di beberapa perairan laut seluruh dunia telah terbukti di atas batas toleransi fisiologis untuk *cyanobacteria* (Croot et.al., 2003), makroalga dan krustasea (Verma, 2013), sehingga lalu lintas kapal dianggap sebagai sumber antropogenik utama Cu di lingkungan pesisir air (Warnken dkk., 2004; Karlsoon dkk., 2010).

Penelitian yang dilakukan Sudaryanto *et al.* (2001) dan Harder (2004) membuktikan terjadinya akumulasi bahan TBT pada sedimen perairan di Indonesia dan menyebabkan terjadinya *imposex* pada gastropoda laut betina karena dapat menyebabkan penyumbatan pada saluran pengeluaran telur. Kelainan seksual pada spesies gastropoda yang terekspos TBT tergambar secara luas pada awal tahun 1990 (Soedharma dan Fauzan, 1996). Oleh

karena resiko dan bahaya yang ditimbulkan akibat penggunaan TBT cukup besar, maka dikembangkan Produk Alami Antifoulants (*Natural Product Antifoulants* atau NPA) yang ramah lingkungan sebagai alternatif TBT.

2.3 Botani Tembakau

Tembakau adalah tanaman musiman yang tergolong tanaman perkebunan. Tanaman tersebut dapat diklasifikasikan sebagai berikut.

Famili : Solanaceae
 Subfamili : Nicotianae
 Genus : Nicotianae
 Spesie : *Nicotiana tabacum* (Goodsread, 1954)

2.3.1 Bagian-bagian Tanaman Tembakau

a. Akar

Tanaman tembakau berakar tunggang menembus ke dalam tanah sampai kedalaman 50-75 cm, sedangkan akar kecilnya menyebar ke samping. Tanaman tembakau juga memiliki bulu akar. Perakarannya dapat tumbuh dan berkembang baik dalam tanah yang gembur, mudah menyerap air, dan subur (Cahyono, 1998; Puspita, 2011).

b. Batang

Batang tembakau agak bulat, lunak tetapi kuat, makin ke ujung makin kecil. Ruas batang mengalami penebalan yang ditumbuhi daun dan batang tanaman tidak bercabang atau sedikit bercabang. Pada setiap ruas batang selain ditumbuhi daun juga tumbuh tunas ketiak daun dengan diameter 5 cm. Fungsi dari batang adalah tempat tumbuh daun dan organ lainnya, tempat jalan pengangkutan zat hara dari akar ke daun, dan sebagai jalan menyalurkan zat hasil asimilasi ke seluruh bagian tanaman (Cahyono, 1998; Puspita, 2011).

c. Daun

Bentuk daun tembakau adalah bulat lonjong, ujungnya meruncing, tulang daun yang menyirip, bagian tepi daun agak

bergelombang dan licin. Daun bertangkai melekat pada batang, kedudukan daun mendatar atau tegak. Ukuran dan ketebalan daun tergantung varietasnya dan lingkungan tumbuhnya. Daun tembakau tersusun atas lapisan *palisade parenchyma* pada bagian atasnya dan *spongy parenchyma* pada bagian bawah. Jumlah daun dalam satu tanaman berkisar 28-32 helai, tumbuh berselang-seling mengelilingi batang. Daun tembakau secara umum dapat diklasifikasikan menurut letaknya pada batang yang dimulai dari bawah ke atas, yaitu: daun pasir (*zand blad/lugs*), kaki (*voet blad/cutters*), tengah (*midden blad/leaf*), dan atas (*top blad/tips*). Bagian dari daun tembakau yang mempunyai nilai tertinggi adalah bawah dan tengah menyusul daun.atas, sedang daun pasir dan pucuk hampir tidak bernilai kecuali untuk tembakau rajangan (Abdullah, 1982; Puspita, 2011).

d. Bunga

Bunga tembakau merupakan bunga majemuk yang terdiri dari beberapa tandan dan masing-masing berisi 15 bunga. Bunga berbentuk terompet dan panjang. Warna bunga merah jambu sampai merah tua pada bagian atasnya, sedangkan bagian lain berwarna putih. Kelopak memiliki 5 pancung, benang sari berjumlah 5 tetapi yang satu lebih pendek dan melekat pada mahkota bunga. Kepala putik atau tangkai putik terletak di atas bakal buah di dalam tabung. Letak kepala putik dekat dengan benang sari dengan kedudukan sama tinggi (Cahyono, 1998; Puspita, 2011).

e. Buah

Buah tembakau akan tumbuh setelah tiga minggu penyerbukan. Buah tembakau berbentuk lonjong dan berukuran kecil berisi biji yang sangat ringan. Biji dapat digunakan untuk perkembangbiakan tanaman (Cahyono, 1998; Puspita, 2011).

2.4 Debu Tembakau

Tembakau merupakan salah satu komoditas perdagangan penting di dunia termasuk Indonesia. Produk tembakau yang utama diperdagangkan yaitu daun tembakau dan rokok.

Tembakau dan rokok merupakan produk bernilai tinggi, sehingga bagi beberapa negara termasuk Indonesia berperan dalam perekonomian nasional, yaitu sebagai salah satu sumber devisa, sumber penerimaan pemerintah berupa pajak dan cukai, sumber pendapatan petani dan lapangan kerja masyarakat (usaha tani dan industri rokok).

Menurut Departemen Kesehatan RI (2003) debu ialah partikel-partikel kecil yang dihasilkan oleh proses mekanis. Jadi pada dasarnya pengertian debu adalah partikel yang berukuran kecil sebagai hasil dari proses alami maupun mekanik. Menurut Widyawati (2004) debu tembakau adalah debu yang dihasilkan selama proses perajangan dengan bahan baku berupa daun tembakau.

Menurut Peraturan Menteri Pertanian Nomor 56/Permentan/OT.140/9/2012 tentang Pedoman Penanganan Pascapanen Tembakau, pengolahan pascapanen meliputi pembersihan, pengupasan, sortasi, pengawetan, pengemasan, penyimpanan, standarisasi mutu, dan transportasi hasil produksi budidaya tanaman. Penanganan pasca panen tembakau adalah penanganan daun tembakau setelah dipanen hingga menghasilkan produk primer berupa tembakau rajangan atau kerosok. Salah satu prosesnya adalah pemisahan tulang daun dan perajangan ini menghasilkan beberapa ukuran daun tembakau yang kemudian akan diolah menjadi rokok. Tembakau yang telah melewati proses pemisahan dan perajangan kemudian dikumpulkan pada suatu saringan. Saringan tersebut memiliki ukuran yang berbeda-beda. Saringan pertama memiliki ukuran pori sebesar 0.32 cm. Material tembakau yang dikategorikan baik dan dapat diolah menjadi rokok biasanya berukuran di atas 0.32 cm. Selanjutnya saringan kedua dapat berukuran lebih kecil dari ukuran saringan pertama. Material tembakau yang lolos dari saringan kedua dikategorikan sebagai debu tembakau. Debu tembakau ini kemudian dikumpulkan untuk dibuang (Yudhatama, 2012).

2.5 Senyawa Metabolit Sekunder

Istilah bahan alam menurut Cannell (2008) merupakan suatu penamaan yang kurang tepat. Secara langsung, semua molekul biologi adalah suatu bahan alam, tetapi dalam konteks bahan alam ini hanyalah senyawa metabolit sekunder saja. Senyawa metabolit sekunder merupakan molekul kecil yang dihasilkan oleh suatu organisme tetapi tidak secara langsung dibutuhkan dalam mempertahankan hidupnya, tidak seperti protein, asam nukleat, dan polisakarida yang merupakan komponen dasar untuk proses kehidupan. Metabolit sekunder merupakan kelompok metabolit yang sangat luas, dengan perbedaan yang tidak terlalu terlihat, dan dikelompokkan dengan berbagai macam definisi. Isolasi bahan alam berbeda dengan cara isolasi makromolekul biologi yang umum karena lebih kecil dan secara kimia lebih beragam daripada protein, asam nukleat, dan polisakarida yang relatif homogen. Sehingga teknik isolasi harus benar-benar diperhatikan. Kelompok senyawa metabolit sekunder diantaranya adalah terpenoid, fenilpropanoid, flavonoid, dan alkaloid.

Kandungan senyawa dalam ekstrak daun tembakau dapat diketahui dengan penggunaan gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) (Cai *et al.*, 2002). Berdasarkan analisis GC-MS diketahui bahwa ekstrak tembakau mengandung alkaloid (Andersen *et al.*, 1980). Gabungan alkaloid dan nitrat dengan bentuk nitrosamin dapat menimbulkan risiko karsinogenik. Kandungan nikotin yang juga merupakan senyawa alkaloid pada tembakau yang digunakan sebagai rokok dikenal dapat memicu timbulnya penyakit kanker paruparu, sesak nafas, gigi kuning, kerusakan jaringan, leukoplakia, resiko kanker mulut, dan penurunan kemampuan indra pengecap (DerMarderosian, 2001). Secara sederhana, komposisi kimia ekstrak daun tembakau dapat dilihat pada Tabel 2.1. Namun demikian, tembakau juga dikenal sebagai tanaman herbal yang bermanfaat. Hal itu dapat diperkuat dengan diketahuinya senyawa kimia pada tembakau yang bersifat antioksidan dan juga antibakteri.

Tabel 2.1. Komposisi senyawa pada daun tembakau

Komponen	Komposisi (% bk)
Total nitrogen	2,20
Protein nitrogen (protein)	1,58
Nikotin	0,67
Nitrogen dari asam α -amino	0,30
Air terlarut karbohidrat	25,9
Selulosa	12,3
Pektin	13,4
Polypentose	4,90
Minyak atsiri	0,13
Resin yang diekstrak menggunakan benzena	7,42
Resin yang diekstrak menggunakan petroleum eter	6,20
Polyphenol	4,39
Volatile karbonil (asetaldehid)	0,26
Asam organic	9,12
-Asam oxalic	2,18
-Asam citric	1,27
-Asam malat	4,57
-Asam volatile	1,12
pH dari air yang terekstrak	5,54
Abu	15,4

Sumber: Podlejski & Olejniczak (1983)

Senyawa antibakteri pada tembakau yang diketahui berdasarkan penelitian sebelumnya misalnya flavonoid (Machado *et al.*, 2010) dan minyak atsiri (*essential oil*) (Pal ic *et al.* 2002). Minyak atsiri tersebut dapat diperoleh melalui proses distilasi air selama 4 jam yang kemudian diekstrak menggunakan kloroform dan selanjutnya dikeringkan dengan anhidrat Na₂SO₄. Pelarut yang tersisa dapat dihilangkan dengan cara vakum distilasi. Total rendemen minyak atsiri berdasarkan perlakuan itu dapat mencapai 0.13% untuk daun bagian atas dan 0.05% untuk daun bagian

tengah (Stojanovic *et al.*, 2000). Sementara itu, penelitian sebelumnya terkait rendemen ekstrak daun tembakau terhadap Tembakau Virginia, Burley, dan Turkish adalah 0.18 %, 0.40%, dan 0.08% disertai adanya aroma yang khas. Adanya aroma yang khas itu dipengaruhi oleh komposisi senyawa minyak atsiri yang terdiri atas neophytadien sebagai senyawa utama untuk daun tembakau bagian tengah dan atas (20.4% dan 20.7%).

2.6 Potensi Antibakteri Ekstrak Daun Tembakau

Senyawa kimia dalam tanaman dapat bersifat antibakteri yaitu mampu menghambat pertumbuhan bakteri (Pelczar & Chan, 1998; Puspita, 2011). Hal itu diuraikan oleh Pelczar *et al.* (1993) dan Puspita (2011) bahwa beberapa senyawa metabolit sekunder yang meliputi fenol dan senyawa fenolik, alkaloid, dan minyak atsiri (*essential oil*) memiliki sifat antibakteri. Antibakteri digambarkan sebagai produk alami organik dengan berat molekul rendah dibentuk oleh mikroorganisme dan tumbuhan yang aktif melawan mikroorganisme lain pada konsentrasi rendah. Pengembangan aktivitas ini melalui jumlah terbatas dari mekanisme antibakteri yang dapat mempengaruhi sintesis dinding sel, integritas membran sel, sintesis protein, replikasi DNA dan *repair*, transkripsi, dan metabolit *intermediate* (Wax *et al.*, 2008). Berdasarkan cara kerjanya, antibakteri dibedakan menjadi bakterisidal dan bakteriostatik. Bakteriostatik adalah zat yang bekerja menghambat pertumbuhan bakteri sedangkan bakterisidal adalah zat yang bekerja mematikan bakteri. Beberapa zat antibakteri bersifat bakteriostatik pada konsentrasi rendah dan bersifat bakterisidal pada konsentrasi tinggi (Chomnawang *et al.*, 2005). Mekanisme penghambatan mikroorganisme oleh senyawa antibakteri dapat disebabkan oleh beberapa cara, antara lain:

1. Mengganggu pembentukan dinding sel

Mekanisme ini disebabkan karena adanya akumulasi komponen lipofilat yang terdapat pada dinding atau membran sel sehingga menyebabkan perubahan komposisi penyusun dinding sel. Terjadinya akumulasi senyawa antibakteri dipengaruhi oleh

bentuk tak terdisosiasi. Pada konsentrasi rendah molekul-molekul phenol yang terdapat pada minyak *thyme* kebanyakan berbentuk tak terdisosiasi, lebih hidrofobik, dapat mengikat daerah hidrofobik membran protein, dan dapat melarut baik pada fase lipid dari membran bakteri.

2. Bereaksi dengan membran sel

Komponen bioaktif dapat mengganggu dan mempengaruhi integritas membrane sitoplasma yang dapat mengakibatkan kebocoran materi intraseluler. Misalnya senyawa fenol dapat mengakibatkan lisis sel dan menyebabkan denaturasi protein, menghambat pembentukan protein sitoplasma dan asam nukleat, dan menghambat ikatan ATP-ase pada membran sel.

3. Menginaktivasi enzim

Mekanisme yang terjadi menunjukkan bahwa kerja enzim akan terganggu dalam mempertahankan kelangsungan aktivitas bakteri sehingga mengakibatkan enzim memerlukan energi dalam jumlah besar untuk mempertahankan kelangsungan aktivitasnya. Akibatnya energi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan menjadi berkurang sehingga aktivitas bakteri menjadi terhambat atau jika kondisi ini berlangsung lama akan mengakibatkan pertumbuhan bakteri terhenti (inaktif). Efek senyawa antibakteri dapat menghambat kerja enzim jika mempunyai spesifitas yang sama antara ikatan kompleks yang menyusun struktur enzim dengan komponen senyawa antibakteri. Metabolit sekunder akan memblok biosintesis dinding sel dengan menghambat kerja enzim dalam mensintesis komponen berbeda dari dinding sel. Jika metabolit ini dapat mempengaruhi integritas membran sel maka akan mengacaukan strukturnya atau menghambat fungsi dari membran bakteri tersebut. Antibakteri yang mempengaruhi sintesis protein bertindak sebagai perusak unit ribosom, mengikat pada unit 50S dan mencegah translasi dan mengikat unit 30S menyebabkan terjadinya kesalahan translasi, memproduksi racun, dan mempengaruhi protein. Senyawa antibakteri akan mempengaruhi fungsi replikasi DNA dan *repair*, menghambat enzim girase, dan topoisomerase dan Nmetiltransferase.

Akhirnya, beberapa senyawa antibakteri mengganggu metabolisme *intermediate* dengan menghambat enzim dalam biosintesis dari substansi berbeda (Berdy, 2005).

4. Menginaktivasi fungsi material genetik

Komponen bioaktif dapat mengganggu pembentukan asam nukleat (RNA dan DNA) dan menyebabkan terganggunya transfer informasi genetik yang selanjutnya akan menginaktivasi atau merusak materi genetik sehingga terganggunya proses pembelahan sel untuk pembiakan. Kemampuan suatu zat antibakteri tersebut dipengaruhi oleh faktor antara lain:

- a. Konsentrasi zat antibakteri;
- b. Waktu penyimpanan;
- c. Suhu lingkungan;
- d. Sifat-sifat fisik dan kimia makanan termasuk kadar air, pH, jenis, dan jumlah senyawa di dalamnya

(Fardiaz, 1989; Puspita, 2011).

Mekanisme kerjanya secara umum adalah merusak dinding sel (seperti penisilin; sefalosporin; dan vankomisin), mengganggu permeabilitas sel (seperti penisilin, sefalosporin, vankomisin), dan menghambat sintesis protein dan asam nukleat (seperti kloramfenikol; rifampisin; dan asam) (Fardiaz *et al.* 1987; Puspita, 2011).

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

BAB III

METODOLOGI

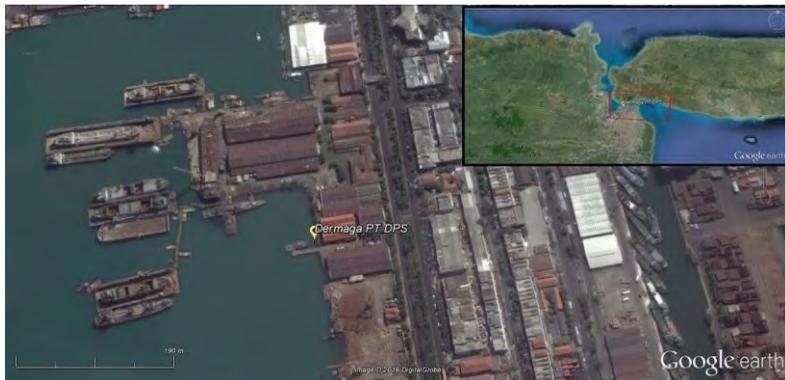
3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan

3.1.1 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan April sampai Juli 2016.

3.1.2 Deskripsi Tempat Penelitian

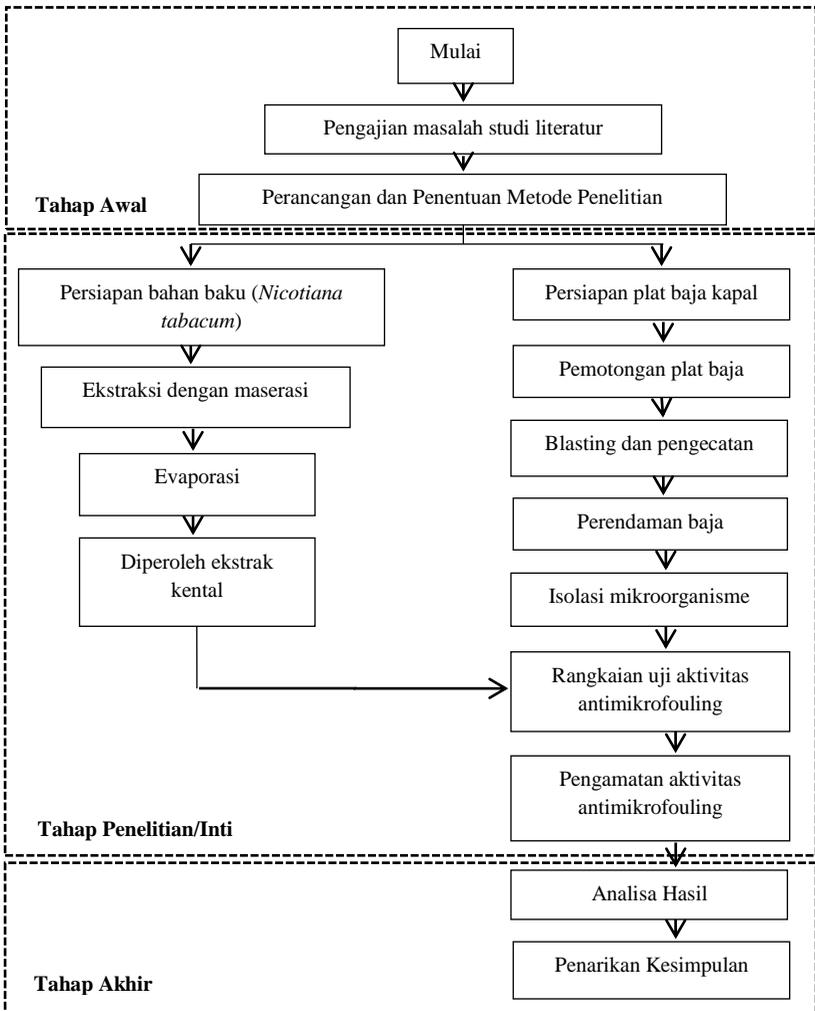
Kegiatan Penelitian dilakukan di laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya dan di PT Dok dan Perkapalan Surabaya.



Gambar 3.1 Peta lokasi dermaga PT Dok dan Perkapalan Surabaya.

3.2 Metode yang Digunakan

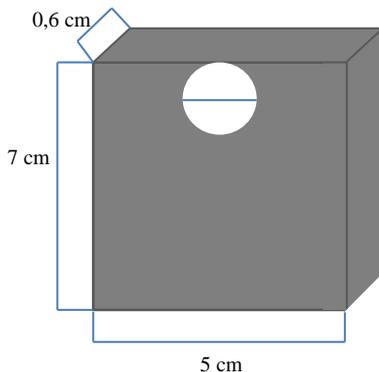
Adapun metode pelaksanaan yang digunakan, secara garis besar digambarkan pada diagram alir berikut:



Gambar 3.2 Diagram alir garis besar penelitian yang dilakukan

3.2.1 Preparasi Plat Baja

Plat baja yang digunakan adalah baja *body* kapal dengan ukuran panjang 5 cm, lebar 0,6 cm, dan tinggi 7 cm. Kemudian, Pada kedua ujung atas diberi lubang dengan diameter 1 cm untuk tali pengikat. Setelah itu plat baja di *blasting* untuk menghilangkan debu, kotoran, minyak, lemak dan pengotor lainnya agar cat dapat menempel optimal.



Gambar 3.3 Dimensi plat uji dan ukurannya yang akan direndam pada perairan PT. Dok dan Perkapalan Surabaya

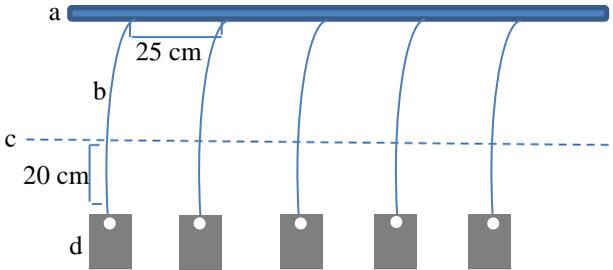
3.2.2 Proses Pengecatan

Tahap pengecatan dilakukan dengan metode penyemprotan atau *spray*. Sigma Utama merekomendasikan pengecatan dengan ukuran 80 mikron (Yudhatama, 2012). Kemudian, ketebalan cat diukur menggunakan alat bernama *Dry Film Thickness* (DFT). Warna cat yang digunakan adalah putih yang merupakan warna cat yang umum digunakan untuk cat dekoratif kapal.

3.2.3 Proses Pemasangan Plat Baja

Plat baja yang telah melalui proses pengecatan dipersiapkan. Plat baja kemudian diletakkan 20 cm di bawah

permukaan air pada waktu surut terendah, hal ini dimaksudkan agar plat baja terus terendam dalam air laut sehingga mikroorganisme target memiliki kesempatan besar untuk menempel. Sebelumnya, tali nilon dimasukan pada lubang yang terletak pada sisi tengah atas plat baja (Yudhatama, 2012).



Gambar 3.4 Desain pemasangan plat baja untuk perendaman.
Keterangan: a. Penyangga b. Tali c. Batas surut terendah air laut
d. Plat baja kapal

Setelah direndam selama 24 jam, plat baja dimasukkan ke dalam *ziplock* steril untuk dibawa ke laboratorium mikrobiologi dan bioteknologi untuk dilakukan isolasi bakteri.

3.2.4 Isolasi Bakteri *Biofilm*

Preparasi bakteri *biofilm* dilakukan dengan menggunakan modifikasi metode Sabdono *et al.*, (2005). Plat baja diambil setelah perendaman sehari. Plat baja dimasukkan ke dalam kotak pendingin dan dibawa ke laboratorium untuk proses isolasi bakteri *biofilm*. Proses isolasi dilakukan dengan pengerokan (*scrapping*) permukaan plat dengan *cotton bud* steril secara aseptis di LAF. *Biofilm* yang telah dikerok terlebih dahulu dimasukkan dalam larutan NaCl yang merupakan larutan fisiologis. Isolasi bakteri dilakukan dengan menggunakan metode tuang (*pour plate*).

Langkah pertama yang dilakukan pada metode tuang (*pour plate*) adalah 1 ml suspensi bakteri diinokulasi ke dalam cawan Petri kosong secara aseptis. Media NA yang masih cair namun sudah tidak terlalu panas dituangkan ke dalam cawan Petri dan kemudian dihomogenkan dengan cara diputar (Noorhayati, 2009). Selanjutnya diinkubasi selama 24 jam dalam suhu ruang. Bakteri yang tumbuh diisolasi berdasarkan bentuk morfologi koloninya ke medium yang baru dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang.

3.2.5 Morfologi Sel Bakteri

Satu ose isolat bakteri diratakan di atas gelas objek yang telah ditetesi dengan aquades steril kemudian difiksasi di atas api bunsen. Selanjutnya preparat diwarnai dengan pewarna primer *crystal violet* selama 30 detik kemudian dibilas dengan air mengalir selama 5 detik. Setelah itu, preparat ditetesi dengan iodin dan dibiarkan selama 60 detik sebelum dibilas dengan air mengalir. Tahap selanjutnya preparat ditetesi dengan alkohol selama 15-20 detik dan dibilas dengan air mengalir. Kemudian preparat diwarnai dengan safranin selama 60-80 detik dan dibilas dengan air mengalir dan dikeringanginkan di udara. Tahap terakhir preparat diamati dibawah mikroskop dengan menggunakan bantuan minyak imersi (Harley & Prescott, 2002).

3.2.6 Ekstraksi Debu Tembakau

Proses ekstraksi debu tembakau dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Pelarut yang digunakan adalah etanol 96%. Debu tembakau yang sudah dihaluskan kemudian ditimbang sebanyak 250 gram. Selanjutnya debu tembakau dimasukkan ke dalam *beaker glass* dan direndam dengan menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 1 liter. Menurut Azis dkk. (2014), etanol digunakan sebagai pelarut karena bersifat polar, universal, dan mudah didapat. Pelarut etanol memiliki polaritas yang tinggi sehingga dapat menghasilkan persen *yield* lebih banyak dibandingkan menggunakan pelarut lainnya. Etanol juga mempunyai titik didih yang rendah dan cenderung aman,

tidak beracun dan tidak berbahaya. Pelarut etanol memiliki dua sisi yang terdiri dari gugus -OH yang bersifat polar dan gugus CH_2CH_3 yang bersifat non polar.

Setelah direndam dengan etanol, dilakukan pengadukan dan ditutup rapat. Perendaman tersebut dilakukan selama 3x24 jam, tetapi tetap dilakukan pengadukan setiap harinya menggunakan spatula. Selanjutnya dipisahkan ampas dan filtrat rendaman dengan cara disaring menggunakan kertas saring, untuk memperoleh ekstrak cair daun tembakau. Untuk mendapatkan ekstrak kental, maka diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 50°C . Proses ekstraksi selesai dan diperoleh ekstrak kental debu tembakau.

3.2.7 Uji Penempelan *Microfouling*

Uji aktivitas *antimicrofouling* diawali dengan memasukkan suspensi bakteri yang berasal dari kultur murni bakteri ke dalam air laut steril. Kemudian ke dalam masing-masing wadah perendaman dimasukkan plat baja steril dan selanjutnya diinkubasi selama 7 hari. Setelah 7 hari perendaman, plat baja diambil dan dilakukan deteksi visual *biofilm* terhadap bakteri yang menempel pada plat baja tersebut. Pada pengamatan tersebut dilihat jenis isolat bakteri mana yang positif melakukan penempelan pada plat baja dengan membentuk *biofilm*. Kelompok bakteri yang terlihat melakukan penempelan di plat baja akan dipakai pada uji aktivitas antibakteri penyebab *microfouling*.

3.2.8 Deteksi Visual *Biofilm*

Deteksi visual *biofilm* dapat dilakukan dengan cara pewarnaan *biofilm* yang terbentuk pada permukaan plat baja. Satu plat baja diambil dari tempat perendaman kemudian kaca objek ditempelkan pada permukaan plat baja. Selanjutnya kaca objek sedikit ditekan secara merata agar *biofilm* tertempel di gelas objek. Kemudian, plat baja dipisahkan secara perlahan dari kaca objek dan dilakukan fiksasi di atas api bunsen. Bagian (sisi) kaca objek yang tertempel pada plat baja diwarnai dengan *methylen*

blue ± 1 menit. Setelah itu, kaca objek dibilas dengan aquades secara perlahan dan dikeringanginkan. Kaca objek diamati dengan mikroskop pada perbesaran 1000x dengan bantuan minyak imersi pada kaca penutup.

3.2.9 Uji Aktivitas Antibakteri Penyebab *Microfouling*

Pada tahap selanjutnya, dilakukan pengujian ekstrak kasar *Nicotiana tabacum* terhadap bakteri *biofilm* dengan menggunakan metoda *standard disc diffusion* (Radjasa *et al.*, 2007). Untuk uji dengan metode *disk-diffusion*, digunakan medium Nutrisi Agar (NA). Sebanyak 9 ml medium ditempatkan ke dalam cawan petri, medium dibiarkan supaya membeku. Penutup setiap cawan petri diberi label sesuai dengan konsentrasi ekstrak yang akan diuji. Selanjutnya, inokulum bakteri *biofilm* dimasukkan ke dalam cawan petri lalu diratakan dengan drygalski steril, kemudian kultur dibiarkan mengering. Cakram steril dengan diameter 6 mm direndam selama dua menit pada masing-masing konsentrasi ekstrak, yaitu pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%. Setiap cakram ditempatkan dengan menggunakan pinset steril. Cakram ditekan oleh pinset steril untuk memastikan cakram menempel pada medium. Hal yang sama dilakukan untuk kontrol positif dan negatif, kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam untuk kemudian dilakukan pengukuran diameter zona hambat dengan menggunakan kertas millimeter. Ekstrak kasar memiliki aktivitas anti *microfouling* apabila disekitar *paper disc* atau cakram terbentuk zona bening.

3.3 Rancangan Penelitian

Parameter yang diamati pada uji potensi ekstrak *Nicotiana tabacum* sebagai anti *microfouling* adalah hasil isolasi dan morfologi bakteri *biofilm*, hasil simulasi perendaman substrat pada media yang telah diberi isolat bakteri, dan diameter hasil uji aktivitas antibakteri. Kontrol positif menggunakan cat *antifouling* yang mengandung TBT, sedangkan kontrol negatif menggunakan

akuades steril. Selanjutnya data yang diperoleh akan dianalisis secara deskriptif kualitatif.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok Faktorial (RAKF) dan dianalisa dengan metode *Analysis of Variance* (ANOVA) Two Way dengan bantuan software SPSS19. Dalam penelitian ini variabel bebasnya adalah jenis isolat dan konsentrasi ekstrak debu tembakau, sedangkan variable terikatnya adalah diameter zona bening. Adapun hipotesisnya adalah sebagai berikut:

1. H_0 : Tidak ada pengaruh perbedaan konsentrasi terhadap diameter zona bening.
 H_1 : Ada pengaruh perbedaan konsentrasi terhadap diameter zona bening.
1. H_0 : Tidak ada pengaruh perbedaan jenis isolat terhadap diameter zona bening.
 H_1 : Ada pengaruh perbedaan jenis isolat terhadap diameter zona bening.
2. H_0 : Tidak ada pengaruh interaksi konsentrasi dan jenis isolat terhadap diameter zona bening.
 H_1 : Ada pengaruh interaksi konsentrasi dan jenis isolat terhadap diameter zona bening.

BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Isolasi Bakteri

Bakteri diisolasi dari plat baja yang telah direndam di perairan dermaga PT Dok dan Perkapalan Surabaya. Berdasarkan karakter isolat, ditemukan lima isolat bakteri pembentuk *microfouling* yang tercantum dalam tabel 4.1.

Tabel 4.1 Karakter bakteri *microfouling* yang diisolasi dari plat baja kapal yang direndam di perairan PT Dok dan Perkapalan Surabaya.

Isolat	Bentuk Sel	Bentuk koloni	Bentuk Tepi koloni	Bentuk Permukaan Koloni	Gram (+/-)
1	<i>rod</i>	<i>circular</i>	<i>Undulate</i>	<i>Convex</i>	-
2	<i>rod</i>	<i>circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Convex</i>	-
3	<i>coccus</i>	<i>circular</i>	<i>Undulate</i>	<i>Convex</i>	-
4	<i>rod</i>	<i>circular</i>	<i>Lobate</i>	<i>Flat</i>	-
5	<i>rod</i>	<i>irregular</i>	<i>Lobate</i>	<i>Flat</i>	-

Keterangan: Gambar di lampiran 8 dan 9

Bakteri berbentuk *rod* (batang) dapat hidup di perairan karena memiliki flagel yang digunakan sebagai alat gerak (Jaelani, 2014) sesuai pernyataan Gorbenko (1977) dalam Railkin (2005) bahwa sebagian besar bakteri laut penyebab fouling bersifat motil. Menurut Sidharta (2000) flagel memungkinkan bakteri bergerak menuju kondisi lingkungan yang menguntungkan atau menghindari dari lingkungan yang merugikan bagi kehidupannya.

Kehadiran bakteri berbentuk bulat (*coccus*) disebabkan karena bakteri ini tidak memiliki alat gerak sehingga mempertahankan hidupnya dengan cara melekatkan diri pada suatu benda yang terdapat di perairan (Jaelani, 2014). Hal ini didukung oleh pernyataan Hutching dan Saenger (1987) bahwa

kebanyakan bakteri *coccus* terikat atau bergabung sesamanya untuk membentuk permukaan yang kuat (solid) karena adanya bahan berlendir sehingga sel-sel saling terikat, mengakibatkan bakteri dapat hidup pada alga, rumput laut, lamun, dan karang.

Bentuk koloni bakteri yang ditemukan kebanyakan berbentuk *circular* dan satu isolat yang berbentuk *irregular*. Bentuk tepi koloni bakteri yang ditemukan ada yang berbentuk *undulate*, *entire*, dan *lobate*. Sedangkan bentuk permukaan koloni bakteri ada yang berbentuk *convex* dan *flat*. Menurut Railkin (2005), kelompok bakteri yang banyak menjadi bakteri fouling antara lain *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Micrococcus*, *Achromobacter*, dan *Flavobacterium*, sedangkan yang frekuensinya intensitasnya lebih kecil adalah genus *Bacterium*, *Bacillus*, dan *Sarcina*. *Micrococcus* mempunyai karakteristik koloni berwarna kuning, berbentuk bulat (*circular*), tepi koloni halus (*entire*), dan elevasinya cembung (*convex*) (Holt *et al.*, 1994). *Pseudomonas* mempunyai karakteristik koloni berwarna kuning, berbentuk bulat (*circular*), tepi koloni halus (*entire*), dan elevasinya cembung (*convex*) (Holt *et al.*, 1994). *Vibrio* mempunyai warna koloni kuning, bentuk koloni bulat (*circular*) dan elevasinya cembung (*convex*) (Amelia, 2005). *Achromobacter* memiliki bentuk koloni bulat (*circular*), tepi koloni rata (*entire*), dan elevasi cembung (*convex*) (Febrianti dan Tresnani, 2009). *Flavobacterium* memiliki koloni berwarna kuning tua, berbentuk bundar (*circular*), tepian licin (*entire*), dan elevasinya cembung (*convex*) (Thoyib dkk., 2006).

Berdasarkan hasil pewarnaan Gram, seluruh isolat yang diperoleh adalah Gram negatif (lampiran 8). Hal ini sesuai dengan pendapat Kathiresan dan Bingham (2001), yang menyatakan bahwa hampir semua bakteri laut bersifat Gram negatif. Pelczar dan Chan (1988) juga menyatakan bahwa bakteri laut 95% adalah Gram negatif. Hal itu karena bakteri Gram negatif memiliki struktur dinding sel yang lebih kompleks dibanding bakteri Gram positif, yaitu terdiri dari lapisan luar berupa lipoprotein, lapisan tengah berupa lipopolisakarida dan lapisan

dalam berupa peptidoglikan (Pelczar dan Chan, 2008). Hal itulah yang menyebabkan bakteri Gram negatif mampu bertahan pada kondisi lingkungan yang lebih ekstrim dibandingkan bakteri Gram positif.

4.2 Deteksi dan Visualisasi *Biofilm*

Pembentukan *Biofilm* merupakan mekanisme adaptasi bakteri terhadap lingkungan yang kurang menguntungkan. Antar sel bakteri akan melekat satu sama lain dengan mengekskresikan matriks ekstraseluler salah satunya berupa eksopolisakarida, yang dapat digunakan juga sebagai perlekatan bakteri ke permukaan polimer (Olson *et al.*, 2002). Salah satu metode untuk mendeteksi keberadaan biofilm adalah dengan visualisasi *biofilm* (Ochoa *et al.*, 2013).

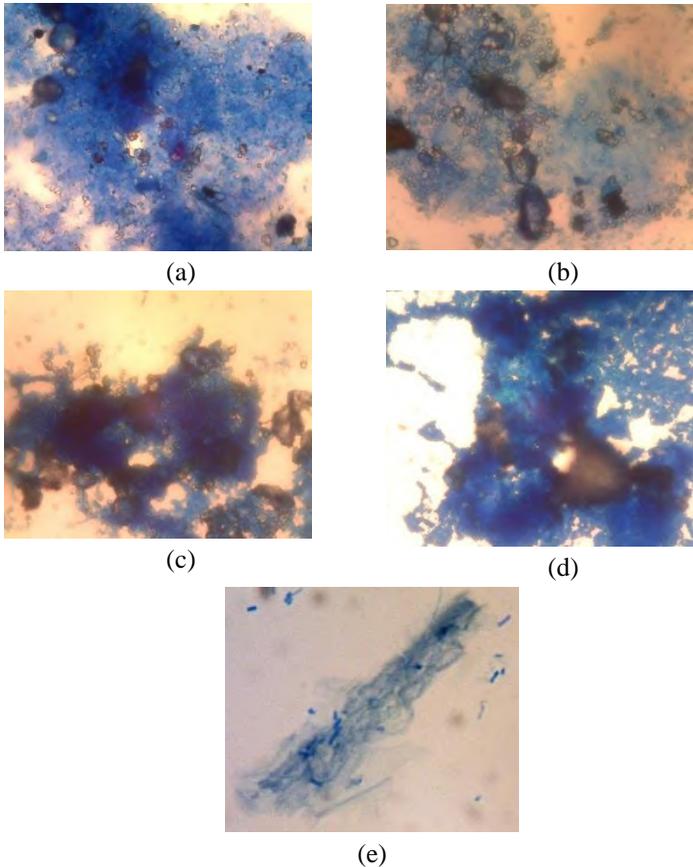
Biofilm dipindahkan dari permukaan plat baja yang telah direndam selama 7 hari di air laut yang telah dicampur dengan medium NB pada kondisi laboratorium pada saat simulasi penempelan *microfouling*. Hasil deteksi dan visualisasi *biofilm* dapat dilihat pada tabel 4.2 dan gambar 4.1.

Tabel 4.2 Deteksi penempelan *biofilm* pada substrat plat baja kapal.

Isolat	Penempelan Bakteri Pada Substrat
1	+
2	+
3	+
4	+
5	+

Keterangan:

- (+) : Terdapat penempelan *biofilm* pada plat baja saat simulasi.
- (-) : Tidak terdapat penempelan *biofilm* pada plat baja saat simulasi.



Gambar 4.1 Visualisasi *biofilm* yang terbentuk pada permukaan plat baja kapal pada saat simulasi penempelan *microfouling* (lensa perbesaran 1000x). Keterangan: (a) *biofilm* isolat 1, (b) *biofilm* isolat 2, (c) *biofilm* isolat 3, (d) *biofilm* isolat 4, (e) *biofilm* isolat 5.

Dari tabel 4.2 dan gambar 4.1 diketahui bahwa dari kelima isolat yang ditemukan, semuanya dapat membentuk *biofilm* pada permukaan plat baja kapal yang direndam pada air laut steril yang diinokulasi isolat uji. Bakteri yang melekat

membentuk koloni dan melekat secara permanen pada substrat karena terjadi produksi eksopolimer dalam hitungan menit hingga jam. Selanjutnya terjadi proses pematangan *biofilm* tahap awal (maturasi 1) dalam hitungan 1 jam sampai 24 jam. Pematangan *biofilm* tahap akhir (maturasi 2) terjadi pada hitungan 24 jam hingga 1 minggu (Ruslan, 2014). Warna biru seperti yang terlihat pada gambar 4.1 dihasilkan dari ikatan antara dinding sel dengan pewarna *methylen blue* yang menunjukkan banyaknya sel bakteri.

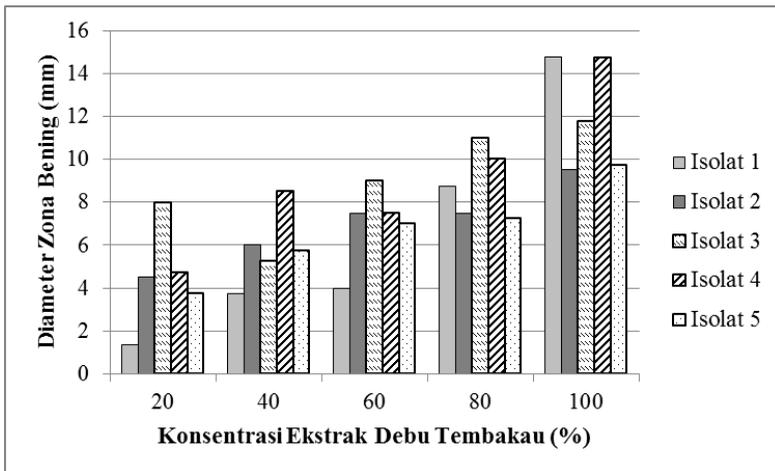
Dari hasil visualisasi *biofilm* (gambar 4.1) terlihat bahwa isolat 1, 2, 3, dan 4 membentuk lapisan *biofilm* yang lebih tebal daripada isolat 5. Kemampuan kelima isolat membentuk *biofilm* menandakan bahwa isolat-isolat tersebut berpotensi sebagai *microfouling*. Akan tetapi karena isolat 5 membentuk lapisan *biofilm* yang lebih tipis daripada isolat lain (lebih sedikit sel bakteri yang terwarnai), maka diduga potensi dan kemampuan isolat 5 untuk menjadi *microfouling* lebih kecil dari pada isolat-isolat lain.

Biofilm terutama terdiri dari materi matriks yaitu sekitar 85% dari volume dan kumpulan sel-sel bakteri sekitar 15% dari volume. *Extracellular Polymeric Substances* (EPS) mungkin menyusun 50%-90% karbon organik biofilm dan dapat dianggap sebagai material matrik yang utama. EPS bervariasi secara fisik dan kimia, tapi terutama terdiri dari polisakarida. EPS bersifat hidrofilik karena dapat mengikat air dalam jumlah yang banyak, dengan tingkat kelarutan yang berbeda-beda (Donlan *et al.*, 2002).

4.3 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Penyebab *Microfouling*

Pengujian aktivitas antibakteri bertujuan untuk mengetahui sensitivitas bakteri terhadap ekstrak *Nicotiana tabacum* (tembakau). Metode uji aktivitas antibakteri yang digunakan adalah metode difusi cakram dengan cara tuang. Pada metode ini sensitivitas bakteri terhadap sampel uji dilihat dengan adanya zona bening di sekitar cakram kertas yang menandakan adanya daya hambat pertumbuhan bakteri. Dari tabel 4.3 dapat

dilihat bahwa zona bening terbentuk di sekitar cakram yang telah direndam dengan ekstrak tembakau dan Tributyltin (TBT) (kontrol positif). Sedangkan pada kontrol negatif rata-rata tidak terbentuk zona bening karena pada cakram tidak dilakukan penambahan zat antibakteri. Zona bening yang terbentuk menunjukkan adanya daya hambat atau daya antibakteri ekstrak tembakau terhadap pertumbuhan bakteri penyebab *microfouling*. Dari gambar 4.2 diketahui adanya peningkatan diameter zona bening seiring dengan bertambahnya konsentrasi ekstrak tembakau. Hal ini diduga disebabkan karena semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun tembakau maka semakin banyak pula kandungan alkaloid nikotin, flavonoid dan minyak atsiri yang memiliki daya antibakteri (Adhanti, 2012).



Gambar 4.2 Grafik pengaruh rerata konsentrasi ekstrak debu tembakau terhadap pertumbuhan bakteri penyebab *microfouling*.

Liasi *et al.* (2009) menyatakan bahwa diameter zona hambat ≤ 5 mm dikategorikan lemah, zona hambat 6-9mm dikategorikan sedang (*moderate*), zona hambat 10-14 mm dikategorikan kuat (*strong*), dan zona hambat ≥ 15 mm dikategorikan sangat kuat (*very strong*). Pada penelitian tersebut Liasi *et al.* menggunakan cakram dengan diameter 6mm.

Adanya aktivitas anti bakteri pada pengujian ekstrak debu tembakau diduga dipengaruhi oleh kandungan senyawa antibakteri berupa komponen bioaktif pada ekstrak. Hasil pengujian fitokimia oleh Puspita (2011) membuktikan bahwa ekstrak daun tembakau mengandung alkaloid, flavonoid, terpenoid, dan steroid. Senyawa-senyawa tersebut bersifat antibakteri dengan mekanisme penghambatan pertumbuhan bakteri yang khas sesuai dengan karakteristiknya masing-masing.

Pada prinsipnya, mekanisme kerja senyawa alkaloid sebagai antibakteri adalah kemampuannya mengganggu sintesis DNA dan dinding sel (Cowan, 1999). Alkaloid utama yang terdapat dalam tembakau adalah nikotin. Konsentrasi nikotin dalam tembakau diperkirakan mencapai 6-8%. Kandungan lain dalam tembakau adalah flavonoid yang merupakan golongan senyawa fenol (Middleton dan Chitan, 1994). Harborne (1993) menyatakan bahwa flavonoid pada tumbuhan berfungsi untuk mengatur pertumbuhan, mengatur fotosintesis, mengatur kerja antibakteri, dan antivirus, serta mengatur kerja antiserangga. Hal itu dikarenakan flavonoid memiliki spektrum aktivitas antibakteri yang luas dengan mengurangi ketebalan pada organisme sasaran (Naidu, 2000). Flavonoid dapat berikatan dengan dinding sel melalui sebuah kompleks protein-fenol, yang melibatkan adanya ikatan hidrogen antara protein dan fenol. Kompleks ini nantinya akan dapat menyebabkan kerusakan (denaturasi) ikatan hidrogen dalam protein pada dinding sel. Selanjutnya, kerusakan inilah yang membuat matriks intraseluler keluar. Keluarnya matriks ini akan mengakibatkan kematian sel (Cushnie & Lamb, 2005).

Tabel 4.3 Kategori Respon Hambatan Pertumbuhan Pada Uji Antibakteri

KONSENTRASI	Rata-rata Diameter Zona Bening (mm)									
	Isolat 1	Kategori	Isolat 2	Kategori	Isolat 3	Kategori	Isolat 4	Kategori	Isolat 5	Kategori
20%	1.375	+	4.5	+	8	++	4.75	+	3.75	+
40%	3.75	+	6	++	5.25	+	8.5	++	5.75	++
60%	4	+	7.5	++	9	++	7.5	++	7	++
80%	8.75	++	7.5	++	11	+++	10	+++	7.25	++
100%	14.75	++++	9.5	+++	11.75	+++	14.75	++++	9.75	+++
Kontrol +	5	+	10	+++	4.125	+	4.5	+	4.25	+
Kontrol -	0	+	0	+	0.5	+	0	+	0	+

Keterangan: Kategori respon hambatan pertumbuhan berdasarkan Liasi *et al.* (2009).

- + : Zona hambat lemah/*weak* (≤ 5 mm)
- ++ : Zona hambat sedang/*moderate* (6-9 mm)
- +++ : Zona hambat kuat/*strong* (10-14 mm)
- ++++ : Zona hambat sangat kuat/*very strong* (≥ 15 mm)

Senyawa steroid dan terpenoid yang merupakan golongan minyak atsiri turut pula diduga sebagai senyawa yang berperan sebagai antibakteri. Nychas (1995) menyatakan bahwa minyak atsiri dapat menghambat enzim yang terlibat pada produksi energi dan pembentukan komponen struktural sehingga pembentukan dinding sel bakteri terganggu. Mekanisme kerusakan dinding sel disebabkan oleh adanya akumulasi komponen lipofilik yang terdapat pada dinding sel atau membran sel sehingga menyebabkan perubahan komposisi penyusun dinding sel. Minyak atsiri yang aktif sebagai antibakteri pada umumnya juga mengandung fenol yang merupakan gugus fungsi hidroksil (-OH) dan karbonil (Beuchat, 1994). Turunan fenol berinteraksi dengan sel bakteri melalui proses adsorpsi yang melibatkan ikatan hidrogen. Pada kadar rendah terbentuk kompleks protein fenol dengan ikatan yang lemah dan segera mengalami peruraian diikuti penetrasi fenol ke dalam sel dan menyebabkan presipitasi serta denaturasi protein. Pada kadar tinggi fenol menyebabkan koagulasi protein dan sel membran mengalami lisis (Parwata dan Dewi, 2008).

Tributyltin (TBT) 15% sebagai kontrol positif, memberikan pengaruh pada pembentukan zona bening di sekitar cakram. Hal itu menunjukkan adanya daya antibakteri yang dimiliki oleh TBT dengan rentang zona hambat tergolong lemah sampai kuat. Tributyltin (TBT) bersifat *toxic* bagi organisme, sehingga selama ini digunakan sebagai antifouling dengan cara dicampur dengan cat kapal. Aquades steril sebagai kontrol negatif, tidak menunjukkan adanya daya antibakteri. Hal ini dapat dilihat dari sangat jaranganya zona bening yang terbentuk di sekitar cakram yang diberi aquades. Aquades steril tidak memiliki kandungan apapun yang bersifat antibakteri dan antifungi serta memiliki pH netral. pH aquades yang netral membuat bakteri dapat tetap hidup karena pH aquades adalah pH optimal bagi bakteri (Jawetz et al., 1995).

4.4 Analisa Data

Penelitian uji anti *microfouling* ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok Faktorial (RAKF) dan dianalisa dengan metode *Analysis of Variance* (ANOVA) Two Way dengan bantuan software SPSS19. Dalam penelitian ini variabel bebasnya adalah jenis isolat dan konsentrasi ekstrak debu tembakau, sedangkan variabel terikatnya adalah diameter zona bening.

4.4.1 Pengujian Asumsi

Pengujian asumsi dilakukan untuk memeriksa apakah data hasil penelitian telah memenuhi syarat untuk dilakukan analisis dengan menggunakan metode yang telah ditentukan. Dalam hal penggunaan metode *Analysis of Variance* (ANOVA) asumsi-asumsi yang harus dipenuhi antara lain:

1. Populasi yang diuji berdistribusi normal (uji normalitas data)
2. Varian atau ragam populasi yang diuji sama (uji homogenitas varian)
3. Sampel tidak berhubungan satu dengan yang lain (prinsip independensi)

a. Uji Normalitas Data

Uji normalitas data dimaksudkan untuk memeriksa apakah data sampel berasal dari populasi yang berdistribusi normal atau tidak. Ada beberapa teknik yang dapat digunakan untuk menguji normalitas data salah satunya menggunakan uji kolmogorov-smirnov. Hipotesis pengujian normalitas data adalah sebagai berikut :

H_0 : Sampel berasal dari populasi berdistribusi normal

H_1 : Sampel tidak berasal dari populasi berdistribusi normal

Statistik Uji yang digunakan adalah kolmogorov-smirnov dengan taraf signifikansi (α) sebesar 5%. Apabila nilai signifikansi kurang dari 5% (0,05) maka H_0 dapat ditolak, sebaliknya apabila nilai signifikansi lebih besar daripada 5% (0,05) maka H_0 gagal ditolak. Berikut hasil pemeriksaan

normalitas data menggunakan uji kolmogorov-smirnov dengan bantuan software SPSS :

Tabel 4.5 *Tests of Normality*

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Val	.086	100	.064	.976	100	.060

Berdasarkan pengujian di atas, dapat diketahui bahwa nilai statistic uji kolmogorov-smirnov sebesar 0,086 dengan nilai signifikansi sebesar 0,064. Nilai ini lebih besar daripada α (0,05) sehingga H_0 gagal ditolak dan dapat disimpulkan bahwa data sampel penelitian berasal dari populasi berdistribusi normal.

b. Uji Homogenitas Varian

Uji homogenitas dimaksudkan untuk memeriksa apakah dua atau lebih kelompok data sampel berasal dari populasi yang memiliki variansi yang sama. Kelompok data yang diuji adalah kelompok berdasarkan konsentrasi senyawa karena diduga sumber utama variansi data berasal dari perbedaan konsentrasi senyawa. Uji homogenitas varian dapat dilakukan dengan menggunakan Levene's Test dengan hipotesis sebagai berikut :

H_0 : Variansi pada tiap kelompok sama (homogen)

H_1 : Variansi pada tiap kelompok tidak sama (tidak homogen)

Statistik uji yang digunakan adalah nilai *Levene statistics (based on mean)* dengan taraf signifikansi (α) sebesar 5%. Apabila nilai signifikansi kurang dari 5% (0,05) maka H_0 dapat ditolak, sebaliknya apabila nilai signifikansi lebih besar daripada 5% (0,05) maka H_0 gagal ditolak. Berikut hasil pemeriksaan homogenitas varian data dengan bantuan software SPSS:

Tabel 4.6 *Test of Homogeneity of Variance*

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Val	Based on Mean	.480	4	95	.750
	Based on Median	.427	4	95	.788
	Based on Median and with adjusted df	.427	4	87.558	.788
	Based on trimmed mean	.516	4	95	.724

Berdasarkan pengujian di atas, dapat diketahui bahwa nilai Levene Statistic Based on Mean sebesar 0,480 dengan nilai signifikansi sebesar 0,750. Nilai ini lebih besar daripada α (0,05) sehingga H_0 gagal ditolak dan dapat disimpulkan bahwa variansi pada tiap kelompok sama (homogen).

c. Prinsip Independensi

Prinsip independensi diperlukan untuk memastikan bahwa besaran tiap nilai data sampel tidak memiliki ketergantungan dengan nilai data sampel yang lain. Prinsip ini dapat dilihat dari metode pengambilan sampel dimana pengukuran luasan zona bening pada masing-masing isolat tidak berpengaruh terhadap sampel yang lain.

4.4.2 Two Way Analysis of Variance (ANOVA dua arah)

ANOVA dua arah digunakan apabila sumber keragaman yang terjadi tidak hanya karena satu faktor (perlakuan). Dalam hal ini sumber keragaman pada data pengukuran luasan zona bening diduga dipengaruhi oleh 2 faktor, yakni faktor perbedaan konsentrasi senyawa dan perbedaan jenis isolat. Disamping kedua faktor tersebut, diduga pula terdapat faktor interaksi antara jenis isolate dan derajat konsentrasi yang berpengaruh pada perbedaan luasan zona bening. Untuk itu pada data hasil penelitian ini digunakan metode ANOVA dua arah dengan interaksi berdasarkan tabel 4.3. Hipotesis yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

1. H_0 : Tidak ada pengaruh perbedaan konsentrasi terhadap diameter zona bening.
 H_1 : Ada pengaruh perbedaan konsentrasi terhadap diameter zona bening.
2. H_0 : Tidak ada pengaruh perbedaan jenis isolat terhadap diameter zona bening.
 H_1 : Ada pengaruh perbedaan jenis isolat terhadap diameter zona bening.
3. H_0 : Tidak ada pengaruh interaksi konsentrasi dan jenis isolat terhadap diameter zona bening.
 H_1 : Ada pengaruh interaksi konsentrasi dan jenis isolat terhadap diameter zona bening.

Adapun dasar pengambilan keputusannya adalah jika nilai signifikansi kurang dari 5% (0,05) maka H_0 ditolak, apabila nilai signifikansi lebih dari 5% (0,05) maka H_0 gagal ditolak. Berikut hasil pengujian ANOVA dua arah dengan bantuan software SPSS:

Tabel 4.7 *Tests of Between-Subjects Effects*

Dependent Variable: Val

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1041.090 ^a	24	43.379	11.986	.000
Intercept	5875.222	1	5875.222	1623.363	.000
Iso	130.290	4	32.572	9.000	.000
Cons	702.140	4	175.535	48.501	.000
Iso * Cons	208.660	16	13.041	3.603	.000
Error	271.438	75	3.619		
Total	7187.750	100			
Corrected Total	1312.527	99			

a. R Squared = .793 (Adjusted R Squared = .727)

Berdasarkan tabel ANOVA di atas dapat diketahui bahwa faktor isolat, konsentrasi senyawa dan interaksi antara keduanya masing-masing memiliki nilai signifikansi sebesar 0,00. Nilai ini lebih kecil daripada nilai α (0,05) sehingga

dapat dikatakan bahwa seluruh hipotesis nol (H_0) yang disusun di atas dapat ditolak dan disimpulkan bahwa faktor isolat, konsentrasi dan interaksi keduanya memiliki pengaruh yang signifikan terhadap luasan zona bening.

Untuk mengetahui lebih detail mengenai kontribusi masing-masing level faktor terhadap luasan zona bening, maka dapat dilakukan pengujian lanjutan dengan menggunakan Uji Duncan.

a. Uji Duncan untuk Faktor Isolat

Faktor jenis isolat memiliki 5 level yakni jenis 1 (kode 1), jenis 2 (kode 2), jenis 3 (kode 3), jenis 4 (kode 4) dan jenis 5 (kode 5). Berikut hasil pengujian Duncan untuk faktor isolat:

Tabel 4.8 Hasil pengujian Duncan untuk faktor isolat

Duncan ^{a,b}	N	Val	
		Subset	
		1	2
1.00	20	6.5250	
5.00	20	6.7000	
2.00	20	7.0000	
3.00	20		9.0000
4.00	20		9.1000

Berdasarkan tabel di atas dapat dilihat bahwa faktor isolat terbagi menjadi 2 subset (kelompok) dimana kelompok 1 terdiri dari jenis isolat 1, 2 dan 5 sedangkan kelompok 2 terdiri dari jenis isolate 3 dan 4. Hal ini menunjukkan bahwa pengaruh yang diberikan oleh jenis isolate 1, 2 dan 5 relatif sama, akan tetapi secara signifikan berbeda dengan pengaruh yang diberikan oleh isolate jenis 3 dan 4. Dengan melihat nilai kelompok 2 yang lebih besar daripada kelompok 1, maka dapat disimpulkan bahwa pengaruh isolate jenis 3 dan 4 memberikan pengaruh luasan zona bening lebih besar daripada jenis isolate 1, 2 dan 5. Hasil interpretasi ini sesuai dengan data hasil

penelitian pada tabel 4.3 dimana keduanya saling mendukung untuk menunjukkan bahwa isolat 3 dan 4 merupakan jenis isolat yang paling efektif untuk dihambat pertumbuhannya menggunakan ekstrak debu tembakau.

b. Uji Duncan untuk Faktor Konsentrasi

Faktor derajat konsentrasi senyawa memiliki 5 level yakni 20% (kode 1), 40% (kode 2), 60% (kode 3), 80% (kode 4) dan 100% (kode 5). Berikut hasil pengujian Duncan untuk faktor konsentrasi senyawa :

Tabel 4.9 Hasil pengujian Duncan untuk faktor konsentrasi senyawa

Duncan ^{a,b}		Val			
Cons	N	Subset			
		1	2	3	4
1.00	20	4.4750			
2.00	20		5.8500		
3.00	20		7.0000		
4.00	20			8.9000	
5.00	20				12.1000

Berdasarkan tabel di atas dapat dilihat bahwa faktor konsentrasi senyawa terbagi menjadi 4 subset (kelompok) sebagai berikut:

Tabel 4.10 Kelompok berdasarkan faktor konsentrasi senyawa

Kelompok	Anggota Kelompok	Kontribusi
1	20%	4,475
2	40%	5,850
	60%	7,000
3	80%	8,900
4	100%	12,100

Hal ini menunjukkan bahwa pengaruh yang diberikan oleh masing-masing level konsentrasi berbeda secara signifikan, kecuali pada level 40% dan 60% yang menunjukkan pengaruh yang relatif sama. Level konsentrasi 100% memberikan pengaruh paling besar dalam pembentukan luasan zona bening, sedangkan level 20% memberikan pengaruh paling kecil. Dengan nilai kontribusi pada tabel di atas dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi level konsentrasi senyawa maka akan berpengaruh semakin besar pada pembentukan zona bening.

Akan tetapi untuk dapat diterapkan dalam skala yang lebih luas, konsentrasi ekstrak yang mencapai 100% kurang efektif digunakan karena akan memerlukan bahan baku yang sangat banyak. Maka konsentrasi yang dinilai paling efektif untuk dapat diterapkan menjadi anti *microfouling* adalah konsentrasi 40% hingga 60%. Hal itu karena pada konsentrasi 40% hingga 60% dapat menghambat pertumbuhan bakteri penyebab *microfouling* hingga kategori sedang (tabel 4.3) dan pengaruh yang ditunjukkan juga relatif sama (tabel 4.9 dan 4.10).

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

- Ekstrak debu tembakau (*Nicotiana tabacum*) berpotensi sebagai anti *microfouling*.
- Konsentrasi ekstrak debu tembakau paling efektif untuk dapat diterapkan menjadi anti *microfouling* adalah konsentrasi 40%.
- Ekstrak debu tembakau paling efektif menghambat pertumbuhan isolat 3 dan 4 dengan rerata diameter zona bening yang terbentuk sebesar 9 mm dan 9,1 mm.

5.2 Saran

Saran dari penelitian ini yaitu:

- Pengamatan zona bening dilakukan pada inkubasi jam ke 24 dan 48 untuk mengetahui apakah ekstrak berperan sebagai bakteriostatik (rentang 24 jam) atau bakterisidal (rentang 48 jam).
- Perlu dilakukan purifikasi senyawa dari ekstrak debu tembakau yang memberikan dampak anti *microfouling* paling besar
- Identifikasi isolat bakteri dilakukan hingga tingkat genus atau spesies,

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

DAFTAR PUSTAKA

Abarzua, S. dan S. Jakubowski. 1995. Biotechnological Investigation for the Prevention of Biofouling. **Marine Ecology Progress Series** Vol. 123 ; 301-312.

Adhanti, R. 2012. Konsentrasi Efektif Ekstrak Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum*) sebagai Pembersih Gigi Tituan Resin Akrilik Terhadap Jumlah *Streptococcus mutans*. **Skripsi**. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Amelia, S. 2005. **Vibrio Cholerae**. Departemen Mikrobiologi dan Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara.

Andersen R.A, P.D. Fleming, H.R. Burton, T.R. Hamilton, and T.G. Sutton. 1991. Nitrosated, Aceylated, and Oxidized Pyridine Alkaloids During Storage of Smokeless Tobacco: Effects of Moisture, temperature and Their Interaction. **Journal Agric Food Chem**. 39:1280.

Azis, T., S.Febrizky dan A.D. Mario. 2014. Pengaruh Jenis Pelarut terhadap Persen Yield Alkaloid dari Daun Salam India (*Murraya koenigii*). **J. Teknik Kimia** No. 2 Vol. 20.

Bazes, A., A. Silkina, P. Douzenel, F. Fay, N.Kervarec, D. Morin, J. P. Berge and N. Bourgougnon. 2009. Investigation Of The Antifouling Constituents From The Brown Alga *Sargassum Muticum* (Yendo) Fensholt. **J. Appl. Phycol**. 21 (4): 395-403.

Berge, J.A and M. Walday. 1999. Alternatives To The Use Of TBT As An Antifouling Agent On The Hull Of Ships With Special Reference To Methods Not Involving Leaching Of Toxic Compounds To The Water. **Report No. O-98149 Norwegian Institute for Water Research** pp. 1- 34.

Beuchat LR. 1994. **Antimicrobial Properties of Species and Theirs Essential Oils**. USA: CRC Press.

Bhadury, P. and P. C. Wright. 2004. Exploitation of Marine Algae: Biogenic Compounds for Potential Antifouling Applications. **Journal Planta** 219 : 561–578.

Cahyono, B. 1998. **Tembakau, Budidaya dan Analisis Tani**. Yogyakarta: Kanisius.

Cai J.B., B.Z. Liu, P. Ling, and Q.D. Su. 2002. Analysis of Free and Bound Volatiles by Gas Chromatography and Gas Chromatography-mass Spectrometry in Uncased and Cased Tobaccos. **Journal of Chromatography A** 947: 267-275.

Cannel, R. J. P. 2008. **Natural Products Isolation**. New Jersey: Humana Press.

Chambers, L.D., K.R. Stokes, F.C. Walsh, and R.J.K. Wood. 2006. Modern Approaches To Marine Antifouling Coating. **J Surface & Coatings Technology** 201: 3642–3652.

Chomnawang, M.T., S. Surassno, V.S. Nukoolkarn, and W. Gristanapan. 2005. Antimicrobial Effects of Thai Medicinal Plants Against Acneinducing Bacteria. **Jethnopharmacol** 101: 330-333.

Cowan MM. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. **Clinical Microbiology Reviews** 12: 564–82.

Croot, P.L., B. Karlson, J.T. Elteren, and J. Kroon. 2003. Uptake and Efflux of ⁶⁴Cu by the Marine *Cyanobacterium synechococcus*. **Limnol.Oceanogr.** 48(1). 179-188.

Cushnie, T. P. T., and Lamb, J. A. 2005. Antimicrobial Activity of Flavonoids. **Int J of Antimicrobial Agents**, 26: 343 - 356.

Davis, W. W., dan Stout T.R. 1971. Disc Plate Method of Microbial Antibiotic Assay. **Appl Microbiol**, 22 (4). 659-665.

DerMarderosian, A. and J.A. Beutler. 2001. **The Review of Natural Products**. St. Louis Mo: Wolters Kluwer.

Donlan, R.M and Costerton J.W. 2002. Biofilms: Survival Mechanism of Clinically Relevant Microorganism. **Clinical Microbiology Reviews** p. 167-193 Vol 15 No.2

Fardiaz, S. 1989. **Mikrobiologi Pangan**. Institut Pertanian Bogor.

Febrianti, N. dan Tresnani, G. 2009. Bakteri yang Bersimbiosis dengan Landak Laut di Pantai Mentigi Lombok Barat. **Prosiding Seminar Nasional Penelitian, Pendidikan dan Penerapan MIPA**. Fakultas MIPA, universitas Negeri Yogyakarta.

Goodspeed, T.H. 1954. **The Genus Nicotiana, Origins, Relationships And Evolution Of Its Species In The Light Of Their Distribution, Morphology And Cytogenetics**. USA: Waltham Mass.

Gorbenko and Yu A. 1977. **Ekologiya Morskikh mikroorganizmov perifitona (Ecology of Microorganisms of Marine Periphyton)**. Nauk. Dumka, Kiev.

Harborne. 1993. **Metode Fitokimia: Penuntun cara modern menganalisis tumbuhan**. Edisi kedua. Penerjemah; Padmawinata K dan Soediro J, Niksolihin editor. Bandung: ITB.

Harder, T. 2004. Marine epibiosis: Concepts, ecological consequences and host defence. **In Marine and Industrial Biofouling Ed. Springer-Verlag** pp. 219–231.

Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Stanley, J. T., and Williams, S. T. 1994. **Bergey's Manual of Determinative**

Bacteriology 9th Edition. Baltimore: The Williams and Wilkins Company.

Hutching, P. and Saenger, P. 1987. **Ecology of Mangrove Aus. Eco. Series.** University of Queensland Press St Lucia, Queensland.

Iselin. 1967. The Effect Of Fouling In : US Naval Institute Marine Fouling and its Prevention. **Contrib n 580.** Annapolis. Woods Hole Oceanographic Institution.

Jaelani, I. 2014. Bakteri Asosiasi pada Karang *Pachyseris sp.* yang Terinfeksi Penyakit BBD (*Black Band Disease*) di Perairan Pulau Barrang Lompo. **Skripsi.** Jurusan Ilmu Kelautan Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan Universitas Hasanuddin Makassar.

Jawetz, E., Melnick, J. L., and Adelbreg, E. A. 1995. **Mikrobiologi Kedokteran Edisi 20.** Jakarta: EGC.

Jones, B. and T. Bolam. 2007. Copper Speciation Survey from UK Marinas, Harbours and Estuaries. **Mar. Pollut. Bul** 54, 1127–1138.

Karlsson, and J. Eklund. 2004. New Biocide-Free Anti-Fouling Paints Are Toxic. **Mar. Pollut. Bul** 49, 456–464.

Kathiresan, K., dan Bingham B. L. 2001. **Biology Of Mangrove And Mangrove Ecosystems.** Centre of advanced study in marine biology, Annamalai university.

Liasi, S.A., Azmi, T. I., Hassan, M.D., Shuhaimi, M., Rosfarizan, M., Ariff, A.B. 2009. Antimicrobial Activity and Antibiotic Sensitivity of Three Isolates of Lactic Acid Bacteria From Fermented Fish Product, Budu. **Malaysian Journal of Microbiology**, Vol 5(1), pp. 33-37

Machado, P. A., H. Fu, R. J. Kratochivl, Y. Yuan, T. S. Hahm, C. M. Sabliov, C. I. Wei and Y. M. Lo. 2010. Recovery of Solanesol

from Tobacco as a Value Added yproduct for Alternative Applications. **J Bioresources Technology** 101: 1091 – 1096.

Marhaeni, B. 2011. Potensi Bakteri Symbion Tumbuhan Lamun Sebagai Penghambat Terjadinya Biofouling Di Laut. **Tesis**. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Matthiessen, P., J. Reed, and M. Johnson. 1999. Sources and Potential Effects of Copper and Zinc Concentrations in the Estuarine Waters of Essex and Suffolk, United Kingdom. **Mar. Pollut. Bull.** 38. 908–20.

Middleton, E., dan Chitan, K. 1994 The Impact of Plant Flavonoids on Mammalian Biology: Implication for Immunity, Inflammation and Cancer. London: Chapman and Hall.

Naidu, A.S. 2000. **Natural Food Antimicrobial System**. USA: CRC Press

Noorhayati, E.S. 2009. **Isolasi dan Pemurnian Mikrobia**. Program Studi Teknik Lingkungan Fakultas Teknik Universitas Lambung Mangkurat.

Nychas, G.J.E. 1995. **Natural Antimicrobial From Plants**. London: Blackie Academic and professional.

Ochoa, S.A., F.L. Montiel, G. Escalona, A.C. Cordova, L.B. Davila, B.L. Martinez, Y.J. Tapia, S. Giono, C. Eslava, R.H. Castro, and J.X. Cortes. 2013. Pathogenic Characteristic of *Pseudomonas aeruginosa* Strains Resistant to Carbapenems Associated with Biofilm Formation. **Bol. Med. Hosp. Infant. Mex.**, 70(2): 133-144.

Olson, M. E., H. Ceri, D. W. Morck, A. G. Buret and R. R. Read. 2002. Biofilm bacteria: formation and comparative susceptibility to antibiotics. **Can J Vet Res.** 66(2): 86–92.

Palic, R., G. Stojavonic, S. Alagic, M. Nikolic and Z. Lepojevic. 2002. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of The Essential Oil and CO₂ Extracts of Semi-oriental Tobacco, Prilep. **Flavour Fragr Journal** 17: 323-326.

Panjaitan, M.F. 2011. **Analisa Penggunaan Arus Searah (DC) Pada Impressed Current Anti Fouling (ICAF) Sebagai Pencegahan Terjadinya Fouling Pada Cooling System.** Jurusan Teknik Sistem Perkapalan- ITS, Surabaya.

Park, K., R. Kim, J. J. Park, H. C. Shin, J.S. Lee, H. S. Cho, Y. G. Lee, J. Kim, and I.S. Kwak. 2012. Ecotoxicological Evaluation of Tributyltin Toxicity to the Equilateral Venus Clam, *Gomphina veneriformis* (Bivalvia: Veneridae). **Shellfish Immunol** 32 (3): 426–433.

Parwata, I. M. O. A. dan Dewi, P. F. S. 2008. Isolasi dan Uji Aktifitas Antibakteri Minyak Atsiri dari Rimpang Lengkuas (*Alpinia Galanga L.*). **Jurnal Kimia**, 2 (2): 100 - 4.

Pavia, C. S., A. Pierre, and J. Nowakowski. 2000. Antimicrobial Activity of Nicotine Against a Spectrum of Bacterial and Fungal Pathogens. **J. Med. Microbiol** 49: 674 – 675.

Pelczar, M.J, E.C.S Chan, and N.R. Krieg. 1993. **Microbiology. 5th ed.** New Delhi (India): Tata McGraw-Hill.

Pelczar, M.J., and E.C.S. Chan. 1988. **Dasar – Dasar Mikrobiologi.** Jakarta: UI Press.

Plouguerne, E., C. Hellio, C. Cesconetto, M. Thabard, K. Mason, B. Veron, R.C. Pereira, and B.A. P. da Gama. 2010. Antifouling

Activity as a Function of Population Variation in *Sargassum vulgare* from the Littoral of Rio de Janeiro (Brazil). **J Appl Phycol**, 22: 717-724.

Podlejski, J., and W. Oleniczak. 1983. Methods and Techniques in Research of Tobacco Flavour. **Nahrung** 27 (5): 429-436.

Puspita, P.E. 2011. Antibacterial Activity of Temanggung Tobacco Extrakt Variety Genjah Kemloko. **Skripsi**. Institut Pertanian Bogor.

Radjasa, O.K., S.I.O. Salasia, A. Sabdono, and J. Weise. 2007. Antibacterial Activity of Marine Bacterium *Pseudomonas* sp. Associated with Soft Coral *Sinularia polydactyla* against *Streptococcus equi* Subsp. *zooepidemicus*. **J. Pharmacol** 3(2): 170-174.

Railkin A.I. 2004. **Marine Biofouling: Colonization Processes & Defenses** . London: Lavoisier.

Railkin, A. I. 2005. **Marine Biofouling Colonization Processes and Defenses..** Boca Raton, London, New Work, Washington D.C: CRC PRESS.

Ruslan, A.F. 2014. Kepadatan dan Keragaman Macrobiofouling pada Dermaga Beton dan Dermaga Kayu di Pulau Balanglombo. Kec. Mattiro Sompe. Kab. Pangkep. **Skripsi**. Jurusan Ilmu Kelautan Fakultas Ilmu Kelautan Dan Perikanan Universitas Hasanuddin.

Sabdono, A., O.K. Radjasa, dan T. Bachtiar. 2005. **Eksplorasi Senyawa Bioaktif Antifoulant Bakteri yang Berasosiasi dengan Avertebrata Laut sebagai Alternatif Penanganan Biofouling Laut**. Pusat Studi Pesisir dan Laut Tropis, Universitas Diponegoro, Semarang.

Shin, H.W. dan M. Sidharthan. 2002. TBT: Asian scenarios and progress in alternative antifouling technologies. **In: Proceedings of the Seoul ocean seminar, The 1st APEC ocean related ministerial meeting: Towards the sustainability of marine and coastal resources.** pp. 27-49.

Sidharta, B. R. 2000. **Sifat-sifat Bakteri Laut: Pengantar Mikrobiologi Kelautan.** Yogyakarta: Universitas Atmajaya

Soedharma, D. dan A. Fauzan. 1996. Imposex pada Neogastropoda (*Thais sp*) sebagai akibat kontaminasi Tributyltin (Senyawa Sn) dari cat pelapis Kapal di sekitar Pelabuhan Ratu, Jawa Barat. **Jurnal Ilmu Perairan dan Perikanan Indonesia**, 4(1): 45-53.

Srinivasan, M. and G.W. Swain. 2007. Managing the Use of Copper-Based Antifouling Paints. **Environ. Manage.** 39. 423–441.

Stojanovic, G., R. Palic, S. Alagic, and Z. Zekovic. 2000. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil and co2 extracts of Semi-oriental Tobacco, Oltja. **Flavour Fragr J.** 15:335-338.

Sudaryanto, A. 2001. **Contaminan by Buyltin Compounds in Mussels, Fishes and Sediments from Coastal Waters of Asian Developing Countries.** Ehime University. Japan.

Thoyib, H., Setyaningsih, dan R., Suranto. Seleksi dan Identifikasi Bakteri Alkalifilik Penghasil Xilanase dari Tanah Bukit Krakitan, Bayat, Klaten. **Bioteknologi** 4 (1): 6-12.

Verma, S.R. and Shantasatyanaranyan. 2013. Toxicity of Heavy Metal to a Freshwater Crustacean Ceriodaphniadubia. **IJCPS.** 2. 123-131.

Wax G.R., K. Lewis, A.A. Salyer, and H. Taber. 2008. **Bacterial Resistance to Antimicrobials Second Edition**. New York: CRC Press.

Widyawati, S.A. 2004. Pengaruh Debu Tembakau Terhadap Fungsi Paru Tenaga Kerja Di Bagian Perajangan PT Djitoe Indonesian Tobacco Coy Surakarta. **Skripsi**. Universitas Diponegoro.

Yebra D.M., K. Soren, and K.D. Johansen. 2004. Antifouling Technology—Past, Present and Future Steps Towards Efficient and Environmentally Friendly Antifouling Coatings. **J. Prog. Org. Coat.** 50: 75–104.

Ytreberg, E., Karlsson, and J.,Eklund. 2010. Comparison of Toxicity and Release Rates of Cu and Zn from Anti-fouling Paints Leached in Natural and Artificial Brackish Seawater. **Sci.of the Total Environ** 408. 2459-2466.

Yudhatama, J.I. 2012. Pengaruh Campuran Ekstrak Debu Tembakau Terhadap Luasan dan Biomassa Biofouling Pada Substrat Baja di Perairan Dermaga PT DOK Surabaya. **Skripsi**. Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Teknologi Sepuluh Nopember.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

BIODATA PENULIS



Penulis bernama lengkap Ahmada Dian Nurilma, merupakan anak kedua dari dua bersaudara. Penulis dilahirkan di Kota Tulungagung pada tanggal 13 Juli 1994. Pendidikan formal yang pernah ditempuh penulis adalah MI Negeri Pucung Lor Tulungagung lulus tahun 2006, MTs Negeri Kunir Blitar lulus tahun 2009, SMA Negeri 1 Kedungwaru Tulungagung lulus tahun 2012, dan pada tahun 2012 diterima menjadi mahasiswa Jurusan Biologi ITS melalui jalur SNMPTN Undangan. Selama kuliah, penulis aktif di beberapa organisasi kemahasiswaan di ITS antara lain di KSBL (Kelompok Studi Burung Liar) Pecuk, Himpunan Mahasiswa Biologi ITS (HIMABITS), Badan Eksekutif Mahasiswa (BEM) FMIPA, dan Badan Eksekutif Mahasiswa (BEM) ITS. Penulis pernah bekerja praktek di Pusat Pendidikan dan Pelatihan Minyak dan Gas Bumi (PUSDILAT MIGAS) Cepu, Blora, Jawa Tengah. Segala saran dan kritik kepada penulis bisa disampaikan melalui nomor 085736923411 serta melalui email ahdian.nurilma@gmail.com.