

EVALUASI PENGGUNAAN EKSTRAK LAMUN SEBAGAI BAHAN AKTIF ANTIFOULING TERHADAP PRODUSEN PERAIRAN

Rachma Puspitasari¹⁾

¹⁾Pusat Penelitian Oseanografi – LIPI

Diterima tanggal: 15 Januari 2016; Diterima setelah perbaikan: 10 Februari 2016; Disetujui terbit tanggal 5 Maret 2016

ABSTRAK

Penggunaan TBT sebagai cat antifouling telah dilarang di dunia, oleh karena itu diperlukan bahan alternatif yang dapat menggantikannya. Fase awal dari fouling adalah pembentukan biofilm yang melibatkan bakteri. *Cymodocea serrulata* dan *Syringodium isoetifolium* diketahui berpotensi antibakteri terhadap *Vibrio harveyi* dan *Bacillus subtilis*. Sebelum dikembangkan lebih jauh sebagai bahan aktif cat antifouling, perlu diteliti keamanan dari lamun tersebut terhadap produsen primer perairan, salah satunya *Chaetoceros gracilis*. Ekstrak kedua jenis lamun tersebut dipaparkan terhadap diatom selama 96 jam pada kondisi laboratorium dan dianalisis pengaruhnya terhadap pertumbuhan fitoplankton. Ternyata, *S. isoetifolium* menunjukkan penghambatan pertumbuhan diatom. Hasil dari uji anti bakteri dan bioassay menunjukkan bahwa lamun *C. serrulata* lebih potensial untuk dikembangkan sebagai bahan aktif cat antifouling daripada *S. isoetifolium*.

Kata kunci: *diatomae*, *fouling*, *C. serrulata*, *S. isoetifolium*

ABSTRACT

The use of TBT as antifouling paints had been banned in the world, so it is necessary to develop alternative materials that can replace it. Initial phase of fouling is biofilm, involving bacteria. *Cymodocea serrulata* and *Syringodium isoetifolium* known had antibacterial activity against *Vibrio harveyi* and *Bacillus subtilis*. Before developed further as an active ingredient antifouling paint, they need to be examined about the security of the seagrass to aquatic primary producer, *Chaetoceros gracilis*. Extract from both seagrass were exposed to diatoms for 96-h and analyzed its influence to phytoplankton growth. Apparently, *S. isoetifolium* showed inhibition of growth of diatoms. Results of anti-bacterial and bioassay test showed that *C. serrulata* were more potential to be developed as an active ingredient antifouling paints than *S. isoetifolium*.

Keywords: *diatom*, *fouling*, *C. serrulata*, *S. isoetifolium*

PENDAHULUAN

Biofouling umum terjadi pada benda-benda yang sering mengalami kontak dengan air laut seperti bagian bawah kapal dan bangunan-bangunan yang terendam di bawah laut. Beberapa kerugian dari adanya organisme penempel ini adalah meningkatnya konsumsi bahan bakar yang akan berdampak pada meningkatnya polusi karbondioksida dan polusi udara lainnya, meningkatnya beban kerja mesin untuk mempertahankan kecepatan, meningkatnya pembersihan dock dalam keadaan kering dan meningkatnya biaya perawatan ketika kapal tidak beroperasi, hilangnya kemampuan manuver (*maneuverability*) dari kapal, serta meningkatnya resiko kontaminasi ekologis dari spesies asing (Bellas, 2006). Oleh karena itu, penggunaan cat antifouling banyak digunakan dalam industri perkapalan. Dahulu, cat antifouling berbahan dasar tributiltin (TBT) banyak digunakan pada pertengahan 1960an karena terbukti sangat efektif untuk menanggulangi organisme target penyebab fouling. Lebih dari 30 tahun, senyawa organotin ini digunakan sebagai senyawa antifoulant hampir di 70% dunia pelayaran (Bellas, 2006). Namun

kemudian, ditemukan efek lingkungan berupa toksisitas akut yang disebabkan oleh TBT pada organisme nontarget dan akhirnya TBT dilarang digunakan di berbagai negara. Menurut Wang *et al.* (2008), penelitian mengenai efek TBT pada tiram dan kerang-kerangan pada konsentrasi nanomol yang rendah telah dilakukan. TBT mengganggu sistem endokrin di sejumlah kerang laut yang mengakibatkan perkembangan karakteristik organ kelamin jantan pada siput laut betina. TBT juga menyebabkan gangguan sistem imun pada organisme membentuk perubahan formasi (*malformation*) cangkang setelah pelepasan TBT pada level yang sangat rendah di air (Sudaryanto, 2001). Pada November 1999, *International Maritime Organization* mengeluarkan resolusi mengenai pembatasan penggunaan cat berbahan dasar TBT pada kapal yang berlaku sejak Januari 2003, sedangkan pelarangan diberlakukan penuh sejak Januari 2008 (IMO RESOLUTION A. 895 21, 25/11/1999 dalam Bellas, 2006). Sejak pelarangan penggunaan cat berbahan dasar TBT, penggunaan biosida alternatif pengganti meningkat karena dianggap aman secara ekologis dan memiliki nilai ekonomis yang tinggi. Hal yang perlu diperhatikan

Korespondensi Penulis:

Jl. Pasir Putih I Ancol Timur, Jakarta Utara 14430. Email: poespsari@gmail.com

adalah bagaimana efek ekologis dari biosida-biosida tersebut pada ekosistem akuatik, baik pada organisme target maupun pada organisme nontarget.

Di dalam lingkungan laut, semua permukaan benda bawah air dipengaruhi oleh penempelan organisme fouling seperti bakteri, alga dan invertebrata khususnya remis dan teritip. Biofilm merupakan sekelompok sel yang dihasilkan oleh bakteri tertentu yang bersifat *irreversible* dan menutupi permukaan dengan bahan utamanya berupa polisakarida. Bakteri laut diduga turut menyebabkan terjadinya *fouling*. Menurut Zobell & Allen dalam Sidharta (2000), bakteri berperan dalam terjadinya fouling dengan cara: 1. memberikan tempat perlekatan untuk larva planktonik berbagai organisme *fouling*, 2. menyuramkan permukaan benda-benda yang cerah dan terang, 3. menyediakan sumber makanan bagi teritip, tiram, tunicate dan lainnya, 4. menyediakan pengendapan bahan-bahan berkapur bagi organisme sesil, dan 5. Meningkatkan kandungan CO₂ dan amonia yang dibutuhkan tumbuhan laut.

Arlyza (2008) melaporkan bahwa ada delapan jenis lamun yang menunjukkan aktifitas sebagai antibakteri. Jenis lamun yang paling berpotensi sebagai antibakteri secara berurutan diantaranya adalah *Thalassia hemprichii*, *Halodule pinnifolia*, *Syringodium isoetifolium*, *Cymodocea serrulata* dan *Cymodocea rotundata*. Bila potensi ekstrak lamun ini dapat dikembangkan tentu akan membawa manfaat ekonomi dan aman bagi lingkungan.

Untuk membuktikan bahwa ekstrak lamun ini aman bagi lingkungan khususnya produsen perairan yaitu mikroalga, perlu dilakukan penelitian untuk mempelajari efek dari biosida alami berbahan dasar ekstrak lamun terhadap pertumbuhan mikroalga. Mikroalga adalah komponen esensial dari ekosistem akuatik yang memproduksi oksigen dan substansi organik melalui proses fotosintesis yang sangat dibutuhkan bagi organisme lainnya seperti ikan dan invertebrata. Mikroalga berperan penting dalam keseimbangan ekosistem akuatik karena berada di tingkat pertama dalam rantai makanan yang memproduksi bahan organik dan oksigen melalui fotosintesis (Berard, 1996).

Pada penelitian ini digunakan mikroalga Diatomae, *Chaetoceros gracilis*. Diatom planktonik *C. gracilis* adalah spesies yang dapat digunakan sebagai biota uji dalam bioassay karena memenuhi beberapa persyaratan sebagai biota uji yaitu pertumbuhannya yang cepat, sensitivitas dan penanganannya mudah di laboratorium (Hindarti, 2008). *Chaetoceros gracilis* merupakan spesies dari kelas *Bacillariophyceae* dan merupakan salah satu genus diatom penting dalam plankton laut karena merupakan genus terbesar dan

berperan sebagai produsen primer serta merupakan makanan penting bagi biota lain terutama udang (Panggabean, 1997). Dalam uji toksisitas, beberapa parameter yang umum dilihat untuk memperkirakan efek dari toksikan terhadap mikroalga antara lain pertumbuhan dan aktivitas fotosintetik (Campanella *et al.*, 2000).

Tujuan khusus dari penelitian ini adalah membandingkan keamanan dari ekstrak dari dua jenis lamun yang berbeda yaitu *C. serrulata* dan *S. isoetifolium* terhadap mikroalga *C. gracilis*. Pemilihan kedua jenis lamun ini berdasarkan pada ketersediaan lamun di lokasi penelitian karena tidak semua jenis lamun dapat ditemui di lokasi dan mempertimbangkan faktor kecukupan lamun untuk memenuhi berat ekstrak. Informasi dari penelitian ini bermanfaat untuk mengkaji resiko keamanan penggunaan senyawa biosida berbahan dasar ekstrak lamun terhadap mikroalga, *C. gracilis*.

METODE PENELITIAN

Larutan uji

Larutan uji yang digunakan diperoleh dari ekstrak lamun yaitu *Cymodocea serrulata* dan *Syringodium isoetifolium*. Ekstrak diperoleh dari maserasi lamun segar selama 24 jam dalam pelarut polar metanol pekat dengan menggunakan *magnetic stirrer* pada kecepatan konstan. Setelah itu, ekstrak disaring dan filtratnya dievaporasi pada suhu di bawah titik didih pelarut organik (40-50° C). Ekstrak lamun *C. serrulata* dalam metanol menunjukkan aktivitas antibakteri yang kuat terhadap *Vibrio harveyii* dan *Bacillus subtilis* sedangkan *S. isoetifolium* terhadap *B. subtilis* saja (Arlyza, 2008). Tiap ekstrak dibuat larutan stok konsentrasi 10.000 ppb (0,01 g ekstrak dalam 1 L akuades) dengan menambahkan 0,5 ml metanol kemudian ditambah akuades hingga 1 L. Larutan stok kemudian diencerkan dengan air laut saring 0,45 µm untuk mendapatkan konsentrasi larutan uji yang diinginkan. Setiap 1 liter air laut saring ditambahkan 1 mL media Walne non EDTA. Komposisi media Walne dapat dilihat dalam Tabel 1.

Setelah larutan stok siap, larutan stok diletakkan di tempat gelap dan pada suhu kamar untuk menghindari fotodegradasi. Konsentrasi yang dipakai adalah kontrol negatif dan seri konsentrasi uji yaitu 1, 10, 100 dan 1000 ppb ekstrak senyawa uji. Tiap konsentrasi dibuat tiga ulangan dan diletakkan secara acak di rak perlakuan.

Secara umum, kondisi pengujian ini mengacu pada CPMS-II, 1995 seperti yang tercantum dalam Tabel 2.

Tabel 1. Komposisi bahan-bahan media Walne bagi pemeliharaan *C. gracilis* (CPMS II, 1995)

Komponen	Komposisi	Jumlah terlarut dalam 100 mL akuades
Stok 1	NaNO ₃	10,0 g
	Na ₂ EDTA	4,5 g
	H ₃ BO ₃	3,36 g
	NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O	2,0 g
	FeCl ₃ ·6H ₂ O	0,13 g
	MnCl ₂ ·4H ₂ O	0,036 g
Stok Vitamin Primer	Vitamin B1	100 mg
	Vitamin B2	5 mg
Stok Trace Metal	ZnCl ₂	2,1 g
	CoCl ₂ ·H ₂ O	2,0 g
	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·4H ₂ O	0,9 g
	CuSO ₄ ·5H ₂ O	2,0 g

Tabel 2. Komposisi bahan-bahan media Walne bagi pemeliharaan *C. gracilis* (CPMS II, 1995)

01. Tipe uji	Statis, tidak diperbarui
02. Suhu:	27+ 1°C
03. Intensitas cahaya	400 + 40 foot candles
04. Fotoperiodisasi:	pencahayaan terus menerus
05. Volume botol uji	Erlenmeyer 250-mL
06. Volume larutan uji:	100 mL
07. Umur kultur saat inokulasi:	4-7 hari
08. Kepadatan awal sel:	10,000 sel/mL
09. Jumlah ulangan:	3
10. Periode homogenisasi	Sehari dua kali dengan tangan
11. Pelarut:	Media pertumbuhan alga tanpa EDTA
12. Faktor pengenceran:	0.5
13. Lama uji	96 jam
14. Efek yang dilihat	Pertumbuhan (jumlah sel)
15. Titik akhir pengamatan	IC50, NOEC and LOEC untuk penghambatan pertumbuhan
16. Kriteria penerimaan uji:	Rata-rata sel dalam kontrol mencapai 2 x 10 ⁵ sel/mL

Bioassay terhadap mikroalga

Kultur murni *C. gracilis* berumur empat hari diperoleh dari laboratorium Marikultur-Pusat Penelitian Oseanografi LIPI. Satu mililiter larutan kultur *C. gracilis* dengan kepadatan satu juta sel/ml diinokulasikan ke dalam erlenmeyer berisi 100 ml larutan uji, sehingga kepadatan sel menjadi 10,000 sel/ml. Masing-masing perlakuan memiliki 3 ulangan. Titik akhir pengamatan adalah pertumbuhan (jumlah sel) diatom pada perlakuan lamun dibandingkan dengan kontrol setelah 96 jam yang dihitung dengan *haemocytometer*. Uji dianggap valid apabila jumlah sel pada kontrol mencapai 2 x 10⁵ sel/ml (CPMS-II, 1995, ASTM, 2006).

Nilai persentase penghambatan/*inhibition* (I) dan stimulasi (S) dari rata-rata jumlah sel tiap perlakuan lamun (P) dibandingkan dengan rata-rata jumlah sel pada kontrol air laut (K) setelah 96 jam pemaparan

dihitung berdasarkan persamaan berikut :

$$I = \frac{K - P}{K} \times 100 \% \dots\dots\dots(1)$$

$$S = \frac{P - K}{K} \times 100 \% \dots\dots\dots(2)$$

Parameter kualitas air yang dipantau selama uji adalah oksigen terlarut yang diukur menggunakan DOmeter YSI 55, salinitas menggunakan refraktometer, pH dan suhu menggunakan pH meter Eijkelkamp.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji toksisitas pertumbuhan mikroalga dianggap valid bila jumlah sel pada kontrol negatif setelah 96 jam adalah ≥ 2 x 10⁵ sel/mL (ASTM, 2006). Jumlah

sel pada masing-masing kontrol pada pengujian kali ini memenuhi persyaratan tersebut sehingga uji dinyatakan valid.

Hasil pengukuran kualitas air untuk uji ekstrak lamun *S. isoetifolium* dan *C. serrulata* disajikan dalam Tabel 3. Tampak dari Tabel 3 bahwa kualitas air laut selama uji ekstrak adalah baik dan memenuhi kondisi hidup/pertumbuhan diatom *C. gracilis*.

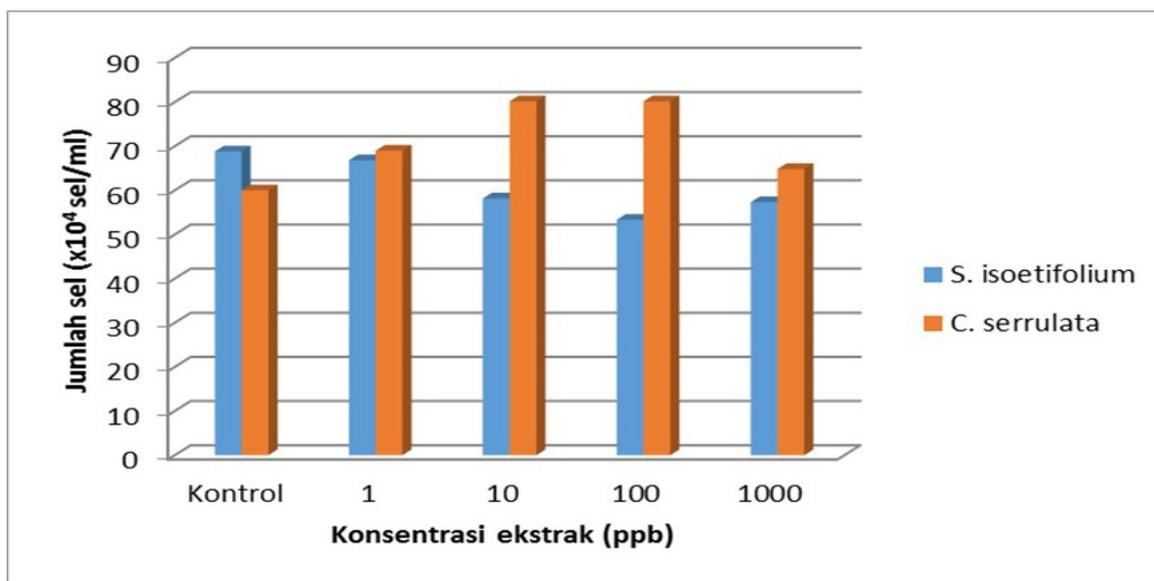
Uji ekstrak lamun terhadap pertumbuhan mikroalga mengikuti panduan yang direkomendasikan CPMS-II, 1995 dengan modifikasi pada suhu dan salinitas. Modifikasi yang dimaksud adalah kondisi suhu pengujian pada 25°C dan salinitas 34 ppt atau mengacu pada kondisi tropis sedangkan panduan yang tercantum dalam CPMS-II, 1995 mengacu pada kondisi subtropis.

Pemaparan ekstrak lamun terhadap diatom

Hasil pemaparan ekstrak lamun terhadap diatom selama 96 jam disajikan pada Gambar 1. Dari gambar tampak bahwa penambahan jumlah sel diatom yang dipaparkan dengan ekstrak lamun *S. isoetifolium* lebih lambat dari pemaparan *C. serrulata*. Larutan kontrol pada penelitian ini hanya berisi media pertumbuhan fitoplankton (media Walne) dan kultur *C. gracilis* tanpa penambahan ekstrak lamun sehingga perbedaan jumlah sel yang terlihat pada Gambar 1 disebabkan oleh variasi individu dari jenis *C. gracilis* itu sendiri. Variasi antar individu dalam satu spesies/jenis yang sama akan berpengaruh pada sistem metabolisme sehingga rerata jumlah sel yang dihasilkan juga berbeda.

Tabel 3. Hasil pengukuran kualitas air laut selama uji ekstrak lamun *S. isoetifolium* dan *C. serrulata* terhadap diatom, *C. gracilis*

Jenis Lamun	Konsentrasi (µg/L)	DO (mg/L)	pH	Temp. (°C)	Salinitas (ppt)
<i>S. Isoetifilum</i>	Kontrol	5,88	7,94	25,7	34
	1	5,77	8,01	25,6	34
	10	5,84	8,10	25,3	34
	100	5,88	8,14	25,4	34
	1000	5,95	8,14	25,5	34
	<i>C. Serrulata</i>	Kontrol	5,88	7,94	25,7
1	5,91	8,05	25,3	34	
10	5,89	8,08	25,4	34	
100	5,87	8,11	25,3	34	
1000	5,76	8,16	25,2	34	



Gambar 1. Rata-rata jumlah sel diatom setelah 96 jam pemaparan dengan ekstrak *C. serrulata* dan *S. isoetifolium*.

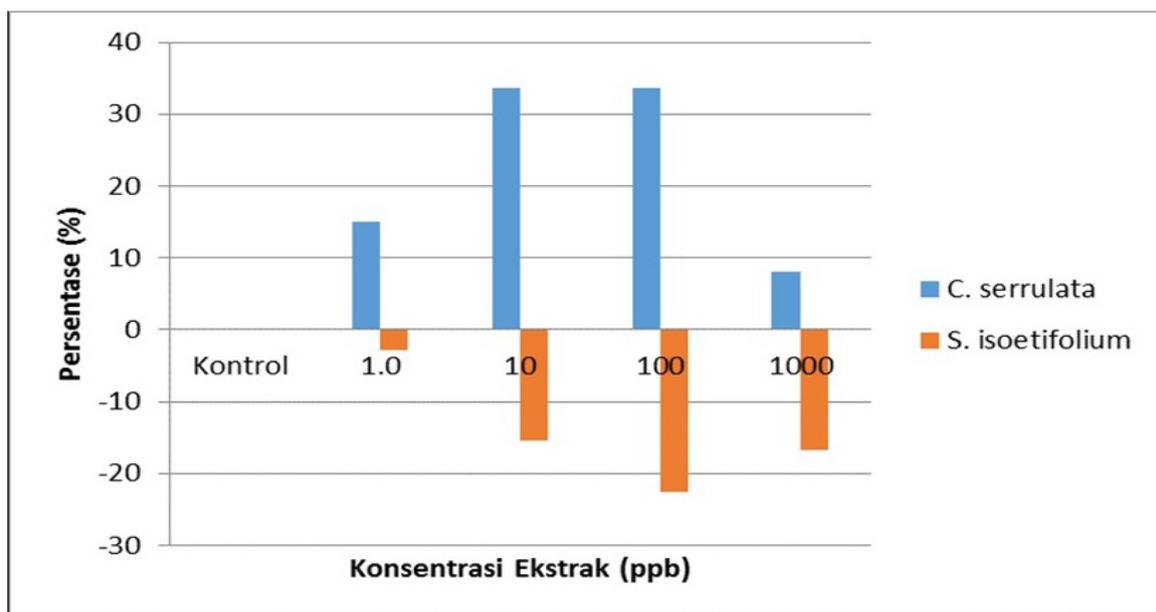
Pengaruh berbeda yang terjadi pada pertumbuhan diatom kemungkinan terjadi karena kandungan bahan aktif dari masing-masing ekstrak lamun yang terlarut dalam pelarut polar yaitu metanol. Zat-zat polar yang terkandung dalam lamun hanya larut pada pelarut polar, yaitu air, etanol, metanol dan butanol, sedangkan zat-zat yang nonpolar akan larut dalam pelarut nonpolar, antara lain kloroform, heksan, dan eter (Arlyza, 2008). Metanol merupakan salah satu pelarut yang paling luas digunakan dalam ekstraksi senyawa metabolit sekunder, meskipun metanol merupakan pelarut golongan polar, tetapi metanol dapat mengekstraksi/menarik senyawa-senyawa yang non polar seperti asam-asam lemak, klorofil dan lain.

Perbandingan pemberian ekstrak *C. serrulata* dan *S. isoetifolium* terhadap stimulasi ataupun penghambatan yang ditunjukkan oleh diatom disajikan berturut-turut pada Gambar 2.

Dari hasil pengujian ekstrak *C. serrulata* diperoleh bahwa kondisi optimum dimana pemberian ekstrak yang masih menstimulasi pertumbuhan diatom adalah pada 10 dan 100 ppb. Dapat pula dikatakan bahwa pemberian ekstrak *C. serrulata* konsentrasi 10 ppb sudah cukup untuk menstimulasi pertumbuhan diatom. Sedangkan pada pemberian ekstrak *S. isoetifolium*, penghambatan pertumbuhan optimum terjadi di 100 ppb. Penggunaan senyawa antifouling diharapkan tidak mengganggu kesinambungan populasi fitoplankton, oleh karena itu informasi dasar mengenai konsentrasi optimum dari tiap ekstrak terhadap penghambatan pertumbuhan menjadi penting. Penghambatan pertumbuhan dari ekstrak *S. isoetifolium* menunjukkan

bahwa senyawa aktif yang terkandung dari lamun ini berpotensi mengganggu pertumbuhan diatom. Ekstrak *S. isoetifolium* dilaporkan mengandung senyawa kimia golongan fenol dan alkaloid (Mani *et al.*, 2012a), dan ekstrak *Cymodocea rotundata* mengandung senyawa kimia golongan alkaloid (Mani *et al.*, 2012b). Uji fitokimia secara kualitatif dari ekstrak methanol terhadap *Syringodium isoetifolium* menunjukkan aktivitas positif terhadap fitokonstituen seperti saponin, resin, protein, karbohidrat, glikosida, senyawa-senyawa asam, gula tereduksi, fenol dan alkaloid namun negatif terhadap tannin, sterol, dan flavanoid (Mani *et al.*, 2012a). Untuk analisis fitokimia terhadap *C. serrulata* belum ditemukan data penelitian ilmiahnya, namun bila mengacu pada kesamaan genus, maka (Mani *et al.*, 2012b) pernah menganalisis kandungan fitokimia *C. rotundata* dalam ekstrak methanol. *C. rotundata* positif mengandung fitokonstituen seperti tannin, saponin, resin, protein, senyawa asam, gula tereduksi, terpenoid, dan alkaloid serta negatif terhadap keberadaan fenol, steroid, katekol dan flavanoid.

Robinson (1995) memaparkan senyawa golongan alkaloid potensial dimanfaatkan sebagai antibakteri dan bahan obat-obatan analgesik. Senyawa pada golongan alkaloid diduga mampu mengganggu komponen penyusun peptidoglikan, sehingga dinding sel bakteri tidak tersusun dengan utuh, kemudian menyebabkan kematian. Ekstrak yang mengandung senyawa golongan steroid diketahui memiliki potensi sebagai antibakteri dan antifungi, dengan mekanisme merusak membran sel bakteri, sehingga menghambat pertumbuhan bakteri (Dewi *et al.*, 2012). Kemungkinan yang terjadi adalah kedua jenis ekstrak lamun tersebut



Gambar 2. Stimulasi ekstrak lamun *C. serrulata* dan *S. isoetifolium* terhadap pertumbuhan diatom, *C. gracilis*. Grafik ke bawah menunjukkan penghambatan pertumbuhan dan grafik ke atas menunjukkan stimulasi pertumbuhan.

mengandung alkaloid yang berbahaya bagi sel organisme dengan kadar yang berbeda. Kandungan bahan aktif alkaloid dalam ekstrak metanol *S. isoetifolium* lebih tinggi daripada *C. serrulata* sehingga ekstrak *S. isoetifolium* cenderung menghambat pembelahan sel diatom dan menurunkan jumlah selnya. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa ekstrak *C. serrulata* lebih aman bagi populasi diatom. Selain itu, hasil penelitian aktivitas uji antibakteri yang dilakukan oleh Arlyza (2008), menunjukkan bahwa *C. serrulata* mampu menghambat bakteri *B. subtilis* dan *V. harveyii* sedangkan *S. isoetifolium* hanya menghambat terhadap *B. subtilis* saja, sehingga *C. serrulata* lebih potensial dikembangkan lebih lanjut sebagai bahan antifouling.

KESIMPULAN

Hasil bioassay menunjukkan bahwa ekstrak *C. serrulata* lebih aman bagi populasi diatom, *C. gracilis* dilihat dari adanya aktivitas stimulasi pada konsentrasi optimum ekstrak yaitu 10 dan 100 ppb dalam kondisi laboratorium. Selain itu, informasi sekunder mengenai kemampuan penghambatan terhadap *B. subtilis* dan *V. harveyii* dapat menguatkan potensi *C. serrulata* sebagai alternatif bahan antifouling yang lebih potensial dibanding *S. isoetifolium*.

PERSANTUNAN

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Sdr. Arifin dan Sdr. Triyoni Purbonegoro atas bantuannya selama penelitian di laboratorium dan di lapangan.

DAFTAR PUSTAKA

- Arlyza, I. S. (2008). Ekstrak Lamun Sebagai Sumber Alternatif Antibakteri Penghambat Bakteri Pembentuk Biofilm. Oseanologi dan Limnologi di Indonesia. Vol. 34 (2). Hal. 207-225
- ASTM. (2006). Standard Guide for Conducting Static 96-h Toxicity Testing with Marine Algae method E 12 18-19 in : Annual Book of Standards. Vol. 11.06 Biological Effects and Environmental Fate; Biotechnology; Water and Environmental Technology. ASTM International, West Conshohocken, PA. pp. 58-78
- Bellas, J. (2006). Comparative toxicity of alternative antifouling biocides on embryos and larvae of marine invertebrates. Science of the Total Environment, 367: pp. 573-585.
- Berard, A. (1996). Effect of Organic Four Solvents on Natural Phytoplankton Assemblages: Consequences for Ecotoxicological Experiments on Herbicides". Bull. Environ. Contam. Toxicol.

57: 183–190.

- Campanella, L., F. Cubadda, M. P. Sammartino & A. Saoncella. (2000). An Algal Biosensor for the Monitoring of Water Toxicity in Estuarine Environments. Water Res. 25: 69–76.
- CPMS-II. (1995). Draft Protocol for Sub lethal Toxicity Tests Using Tropical Marine Organisms. ASEAN-Canada Cooperative Programme on Marine Science – Phase II. Regional Workshop on Chronic Toxicity Testing, Burapha University, Institute of Marine Science, Thailand. pp.14-19
- Dewi, C. S. U., D. Soedharma. & M. Kawaroe. (2012). Komponen Fitokimia dan Toksisitas Senyawa Bioaktif dari Lamun *Enhalus acoroides* dan *Thalassia hemprichii* dari Pulau Pramuka, DKI Jakarta. Jurnal Teknologi Perikanan dan Kelautan. Vol. 3(1) : 23-28
- Hindarti, D. (2008). Uji Toksisitas Sedimen Dengan Diatom Planktonik, *Chaetoceros gracilis*. Oseanologi dan Limnologi di Indonesia Vol.34 (3) : 461-478.
- Panggabean, L. M. G. (1997). Toxicity of Hexavalent Chromium and Cadmium to Green Mussels (*Perna viridis*) Embryo. Pp X-38-43. In : Vigers, G. A., K.S.Ong, C. McPherson, N. Millson, I. Watson and A. Tang (eds.). ASEAN Marine Environmental Management : Quality Criteria and Monitoring for Aquatic Life and Human Health Protection. Proceedings of the ASEAN – Canada Technical Conference on Marine Science (24-28 June 1996), Penang, Malaysia. EVS Environment Consultants, North Vancouver and Department of Fisheries Malaysia. p. 817.
- Mani A.E, V. Aiyamperumal & J. Petterson. (2012a). Phytochemical of the seagrass *Syringodium isoetifolium* and its antibacterial and insecticidal activities. European Journal of Biological Science, Vol. 4(3): 63 – 67.
- Mani A.E, V. Bharathi & J. Patterson. (2012b). Antibacterial activity and preliminary phytochemical analysis of seagrass *Cymodocea rotundata*. International Journal of Microbiological research. Vol. 2(2): 99 – 103.
- Robinson T. (1995). Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. Bandung: ITB Press. hal. 191
- Sudaryanto, A. 2001. Pencemaran Laut oleh Senyawa Organotin. Jurnal Teknologi Lingkungan, Vol. 2 (3) : 241-246

Sidharta, B. R. (2000). Sifat-sifat Bakteri Laut; Pengantar Mikrobiologi Kelautan. Yogyakarta. Universitas Atmajaya : hal.1-13

Wang, X., H. Hong, D. Zhao & L. Hong. (2008). Environmental Behavior of Organotin Compounds in the Coastal Environment of Xiamen, China. Marine Pollution Bulletin 57 : 419–424

