

Abstrak tesis yang dikemukakan kepada Senat Universiti Malaysia Terengganu sebagai memenuhi keperluan untuk Ijazah Sarjana Sains

PENCIRIAN BAKTERIA MARIN, *Pseudomonas aeruginosa* YANG MENGHASILKAN KOMPOUN ANTI BIO-LEKATAN

NURUL NAJIHAH BINTI RAWI

SEPTEMBER 2023

Penyelia : **Professor Dr. Noraznawati Ismail, Ph.D**

Penyelia Bersama : **Ts. Dr. Fazilah Ariffin, Ph.D**

Pusat Pengajian/Institut : **Institut Adaptasi Iklim dan Bioteknologi Marin**

Bio-lekatan ditakrifkan sebagai proses kolonisasi organisma epibiotik dalam pertumbuhan secara berlebihan pada permukaan. Masalah ini boleh diselesaikan dengan pengeluaran metabolit sekunder daripada bakteria marin kerana ia boleh dikulturkan dalam skala besar. Tujuan kajian ini ialah untuk mengesahkan bioaktiviti dalam mencegah pembentukan biofilem, untuk mencirikan bakteria marin dan untuk menentukan kompoun yang mempunyai sifat-sifat anti-lekatan. Dalam kajian ini, 152 isolat bakteria dikulturkan dan diasingkan untuk mendapatkan supernatan yang bebas sel (CFS). CFS disaring untuk aktiviti anti-bakteria terhadap strain ujian Gram-positif dan negatif, *Escherichia coli* dan *Bacillus cereus*. Satu isolat daripada semua isolat yang dinamakan RL telah dipilih kerana keupayaannya untuk menghasilkan lebih banyak CFS yang diekstrak untuk kajian lebih lanjut dalam aktiviti anti-lekatan. CFS daripada isolat diekstrak dan diuji untuk mengesahkan bioaktiviti dalam mencegah pembentukan biofilem mengikut kaedah ujian berpandu; analisis kristal ungu dan ujian akuarium. Isolat bakteria yang menunjukkan aktiviti yang signifikan dalam kedua-dua ujian telah dikenalpasti dan dicirikan untuk mengesahkan spesies bakteria marin. Komponen-komponen bioaktif daripada isolat bakteria dianalisis menggunakan kromatografi lapisan nipis (TLC), pengekstrakan fasa pepejal, kromatografi lajur, spektroskopi Inframerah fourier-Transformasi (FTIR) dan Kromatografi Cecair -

Spektrometri Berat (LC-MS) untuk mendapatkan profil kimia. Telah ditemui bahawa isolat bakteria tersebut menunjukkan aktiviti untuk menghalang biofilem untuk kedua-dua ujian. Bakteria marin ini telah dicirikan sebagai bakteria Gram-negatif, aerobik dan berbentuk rod panjang dan disahkan sebagai *Pseudomonas aeruginosa* strain RLimb (nombor akses: OP522351) yang berkait rapat dengan persamaan 100% *P. aeruginosa* strain DSM 50071. Sistem pelarut yang dioptimumkan untuk memisahkan metabolit aktif ialah kloroform (CHCl_3): etil asetat ($\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$) (4:6). Profil kimia menggunakan TLC menunjukkan kehadiran kompoun fenol, terpenoid, aromatik, ikatan berganda dan lipid, sementara analisis FTIR telah menunjukkan kumpulan hidroksil (O-H), alifatik (C-H) dan karbonil (C=O) yang bertanggungjawab untuk mencegah pembentukan biofilem. Enam belas kompoun telah diperolehi menggunakan LC-MS boleh menjadi metabolit yang bertindak sebagai agen anti-lekatan. Kesimpulannya, metabolit bioaktif dari *P. aeruginosa* boleh digunakan sebagai pengganti untuk anti-lekatan yang toksik dalam menghalang pembentukan biofilem dengan kajian lebih lanjut.

Abstract of thesis presented to the Senate of Universiti Malaysia Terengganu in fulfilment of the requirements for the degree of Master of Science

**CHARACTERIZATION OF MARINE BACTERIA, *Pseudomonas aeruginosa*
PRODUCING ANTIFOULING COMPOUNDS**

NURUL NAJIHAH BINTI RAWI

SEPTEMBER 2023

Main Supervisor : Professor Dr. Noraznawati Ismail, Ph.D

Co-Supervisor : Ts. Dr. Fazilah Ariffin, Ph.D

**School/Institute : Institute of Climate Adaptation and Marine
Biotechnology**

Biofouling is defined as the colonization processes of epibiotic organisms in excessive growth on any surface. This problem could be solved by the producing secondary metabolites from marine bacteria as it can be cultured in a large scale easily. The objectives of this study were to verify the bioactivity in preventing the biofilm formation, to characterize the marine bacteria isolate and to determine the compounds that possess the antifouling properties. In this study, 152 of bacteria isolates were cultured and separated for cell free supernatant (CFS). CFS were screened for antibacterial test against Gram-positive and negative test strains, *Escherichia coli* and *Bacillus cereus*. Out of the bacteria isolates, one isolate named as RL was chosen due to capability to yield more CFS extract for further study in antifouling activities. CFS of isolates were extracted and investigated to verify its bioactivity in prevention of biofilm formation following bioassay guided method; crystal violet assay and aquarium test. The bacteria isolate which exhibiting activities in both tests was identified and characterized to validate the species of the marine bacteria. The bioactive components from the bacteria isolate were analysed using thin layer chromatography (TLC), solid phase extraction, column chromatography, Fourier-transform Infrared Spectroscopy (FTIR) and Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (LC-MS) to obtain the chemical profiles. It was found that the bacteria

isolate shows activity to inhibit the biofilm in both methods. This marine bacteria was characterized as a Gram-negative, aerobic and long-rod-shaped bacteria and revealed as *Pseudomonas aeruginosa* strains RLimb (accession number: OP522351) with the closest described as *P. aeruginosa* strain DSM 50071 with 100% similarity. The optimized solvent system to separate the bioactive metabolites is chloroform (CHCl₃): ethyl acetate (C₄H₈O₂) (4:6). Chemical profiling using TLC indicated the presence of phenols, terpenoids, aromatics, double bonds and lipids compounds, while FTIR analysis showed hydroxyl (O-H), aliphatic (C-H) and carbonyl (C=O) groups which responsible to prevent the formation of biofilm. Sixteen compounds were obtained using LC-MS that could act as antifouling agents. In conclusion, bioactive metabolites from *P. aeruginosa* can potentially be used as a substitute for the toxic antifoulant in preventing the formation of biofilm with further studies.