

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR DAUN JARAK (*Jatropha
curcas*) TERHADAP DAYA HAMBAT BAKTERI *Pseudomonas fluorescens*
SECARA IN VITRO**

**SKRIPSI
PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

**Oleh:
NURUL AZIZAH
NIM. 125080500111032**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2016**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR DAUN JARAK (*Jatropha curcas*) TERHADAP DAYA HAMBAT BAKTERI *Pseudomonas fluorescens*
SECARA IN VITRO**

**SKRIPSI
PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan
di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Brawijaya**

**Oleh:
NURUL AZIZAH
NIM. 125080500111032**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

MALANG

2016

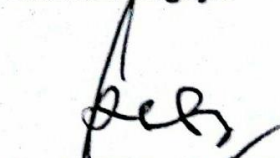
SKRIPSI

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR DAUN JARAK (*Jatropha curcas*) TERHADAP DAYA HAMBAT BAKTERI *Pseudomonas fluorescens* SECARA IN VITRO

Oleh :
NURUL AZIZAH
NIM. 125080500111032

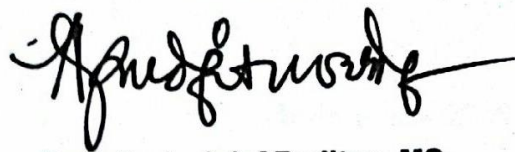
Telah dipertahankan di depan penguji
pada tanggal 01 Juni 2016
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Dosen Penguji I



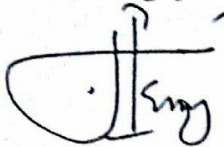
Dr. Ir. Maftuch, M.Si
NIP. 19660825 199203 1 001
Tanggal : 13 JUN 2016

Menyetujui,
Dosen Pembimbing I



Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS
NIP. 19550213 198403 1 001
Tanggal : 13 JUN 2016

Dosen Penguji II



Ir. Heny Suprastyani, MS
NIP. 19620904 198701 2 001
Tanggal : 13 JUN 2016

Dosen Pembimbing II



Ir. Ellana Sanoesi, MP
NIP. 19630924 199803 2 002
Tanggal : 13 JUN 2016

Mengetahui,
Ketua Jurusan
Manajemen Sumberdaya Perairan



Dr. Ir. Arning Widjeng Ekawati, MS
NIP. 19620805 198603 2 001
13 JUN 2016

PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil penjiplakan (plagiasi), maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut, sesuai hukum yang berlaku di Indonesia.



Malang, Juni 2016

Mahasiswa

Nurul Azizah

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis ucapkan atas terselesaikannya laporan skripsi ini, penulis mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada:

1. Allah SWT atas limpahan rahmat serta karunia-Nya, yang telah memberikan kelancaran dan kemudahan dalam menyelesaikan laporan skripsi ini.
2. Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS dan Ir. Ellana Sanoesi, MP selaku dosen pembimbing yang senantiasa memberikan dukungan, arahan dan saran dalam menyelesaikan laporan skripsi ini.
3. Dr. Ir. Maftuch, M.Si dan Ir. Heny Suprastyani, MS selaku dosen penguji atas segala bimbingan, arahan dan saran yang telah diberikan dalam menyelesaikan laporan skripsi ini.
4. Mbak Titin selaku laboran Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan yang senantiasa memberikan bantuan, arahan dan saran selama kegiatan penelitian berlangsung.
5. Ayah, Ibu, kakak-kakak dan adek tercinta atas segala dukungan, motivasi, bimbingan dan do'anya dalam menyelesaikan laporan skripsi ini.
6. Seluruh rekan-rekan tim penyakit yang telah banyak membantu penulis dan selalu memberikan dukungan serta motivasi untuk terselesaikannya laporan skripsi ini.
7. Teman-teman Aquasean BP 2012 yang telah ikut serta mendukung penyelesaian skripsi ini.
8. Seluruh pihak yang sudah membantu penulis selama penelitian dan penyelesaian laporan skripsi ini.

RINGKASAN

NURUL AZIZAH. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Jarak (*Jatropha curcas*) Terhadap Daya Hambat Bakteri *Pseudomonas fluorescens* Secara *In Vitro*. Di bawah bimbingan **Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS.** dan **Ir. Ellana Sanoesi, MP**

Keberhasilan suatu usaha budidaya ikan tidak terlepas dari masalah penyakit dan parasit ikan. Bakteri *Pseudomonas fluorescens* merupakan salah satu bakteri yang menyerang ikan-ikan air tawar. Selama ini pencegahan terhadap serangan bakteri pada umumnya dilakukan dengan pemberian antibiotik dan bahan kimia. Akan tetapi, penggunaan antibiotik ternyata dapat menimbulkan efek samping bagi patogen itu sendiri maupun terhadap ikan yang dipelihara. Salah satu alternatif yang digunakan untuk mengatasi permasalahan serangan penyakit adalah mengganti penggunaan antibiotik dengan bahan alami seperti tumbuhan jarak (*Jatropha curcas* L.) yang mengandung senyawa antibakteri alami seperti flavonoid dan fenol.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar daun jarak (*J. curcas*) terhadap daya hambat dari bakteri *P. fluorescens* secara *In Vitro*. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan pada bulan Januari sampai bulan Maret 2016. Penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan yaitu penggunaan dosis 5ppt (perlakuan A), dosis 11 ppt (perlakuan B), dosis 17 ppt (perlakuan C), dosis 23 ppt (perlakuan D) dan dosis 29 (perlakuan E) dengan 3 ulangan. Parameter utama dalam penelitian ini adalah mengamati dan mengukur diameter zona bening yang terbentuk di sekeliling kertas cakram. Parameter penunjang dalam penelitian ini adalah suhu inkubator sebesar 30 °C dan lama perendaman kertas cakram dalam ekstrak selama 15 menit.

Hasil yang diperoleh dari penelitian ini adalah pemberian ekstrak kasar daun jarak berpengaruh sangat nyata terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *P. fluorescens*. Hasil rata-rata pengukuran diameter zona bening pada perlakuan A sebesar 6,68 mm. Pada perlakuan B diperoleh rata-rata diameter zona bening sebesar 7,85 mm. Untuk perlakuan C rata-rata diameter zona bening yang didapatkan sebesar 9,75 mm. Pada perlakuan D diperoleh rata-rata diameter zona bening sebesar 10,94 mm. Untuk perlakuan E rata-rata diameter zona bening yang didapatkan sebesar 12,62 mm. Hubungan antara dosis ekstrak kasar daun jarak terhadap diameter zona bening menunjukkan perpotongan garis secara linier dengan persamaan $y = 5,33 + 0,25x$ dengan nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,906 dan nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0,952. Ekstrak kasar daun jarak (*J. curcas*) memiliki sifat antibakteri secara bakteriostatik karena hanya menghambat pertumbuhan bakteri *P. fluorescens*.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga Laporan Skripsi dengan judul Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Jarak (*Jatropha curcas*) Terhadap Bakteri *Pseudomonas fluorescens* Secara *In Vitro* ini dapat diselesaikan. Laporan ini disusun berdasarkan hasil Penelitian yang telah dilaksanakan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang pada bulan Januari sampai dengan Maret 2016. Laporan Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Perikanan pada Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Brawijaya.

Penulis menyadari bahwa karya tulis ilmiah Laporan Skripsi ini masih belum sempurna, sehingga penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun demi perbaikan dan kesempurnaan karya tulis ilmiah ini di masa mendatang. Penulis berharap karya tulis ilmiah Laporan Skripsi ini dapat bermanfaat dan memberikan informasi yang berguna bagi pembaca.

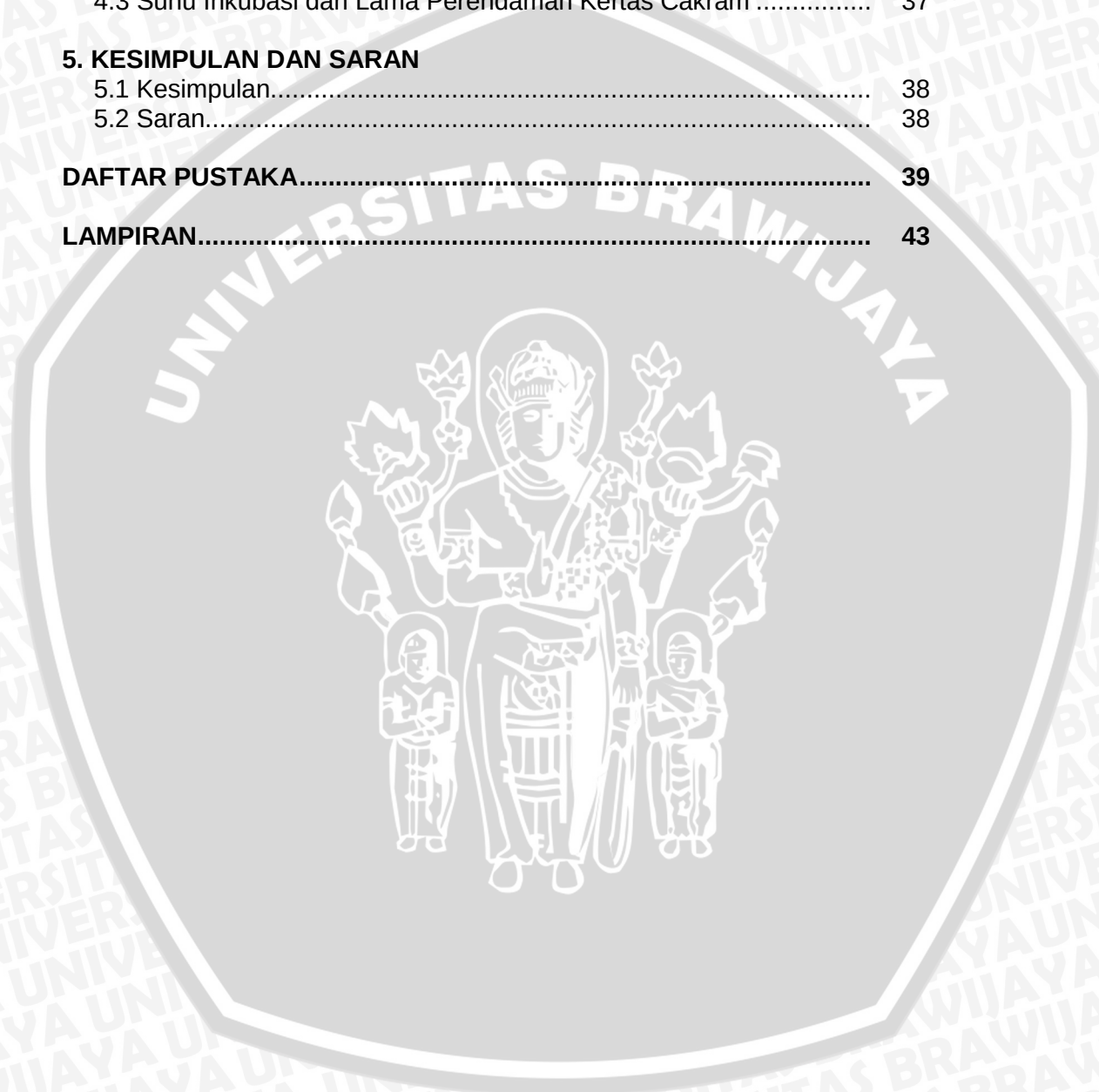
Malang, Juni 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	iii
UCAPAN TERIMAKASIH	iv
RINGKASAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
1.5 Hipotesis	5
1.6 Tempat Dan Waktu Penelitian	5
2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Bakteri <i>P. fluorescens</i>	6
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi	6
2.1.2 Habitat dan Penyebaran	7
2.1.3 Pertumbuhan	8
2.1.4 Infeksi Bakteri <i>P. fluorescens</i>	8
2.2 Daun Jarak (<i>J. curcas</i>)	10
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi	10
2.2.2 Bahan Aktif Daun Jarak (<i>J. curcas</i>).....	11
2.2.3 Aktivitas Antimikroba.....	12
2.3 Uji Efektivitas Antibakteri Dengan Uji Cakram	13
3. METODE PENELITIAN	
3.1 Materi Penelitian.....	15
3.1.1 Alat Penelitian.....	15
3.1.2 Bahan Penelitian.....	16
3.2 Metode Penelitian.....	16
3.3 Pengambilan Data	17
3.4 Rancangan Penelitian	17

3.5 Prosedur Penelitian	20
3.5.1 Persiapan Penelitian	20
3.5.2 Pelaksanaan Penelitian	26
3.6 Parameter Uji	28
3.7 Analisa Data	29
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Daya Antibakterial Ekstrak Daun Jarak (<i>J. curcas</i>)	30
4.3 Suhu Inkubasi dan Lama Perendaman Kertas Cakram	37
5. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan.....	38
5.2 Saran.....	38
DAFTAR PUSTAKA.....	39
LAMPIRAN.....	43



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Bakteri <i>P. fluorescens</i>	7
2. Pohon Jarak (<i>J. curcas</i>)	11
3. Denah Penelitian Uji Cakram	19
4. Hasil Uji Cakram Ekstrak Kasar Daun Jarak terhadap Pewarnaan Gram Bakteri <i>P. fluorescens</i>	30
5. Grafik Hubungan antara Dosis Ekstrak Kasar Daun Jarak (<i>J. curcas</i>) terhadap Diameter Zona Hambat Bakteri <i>P. fluorescens</i>	35



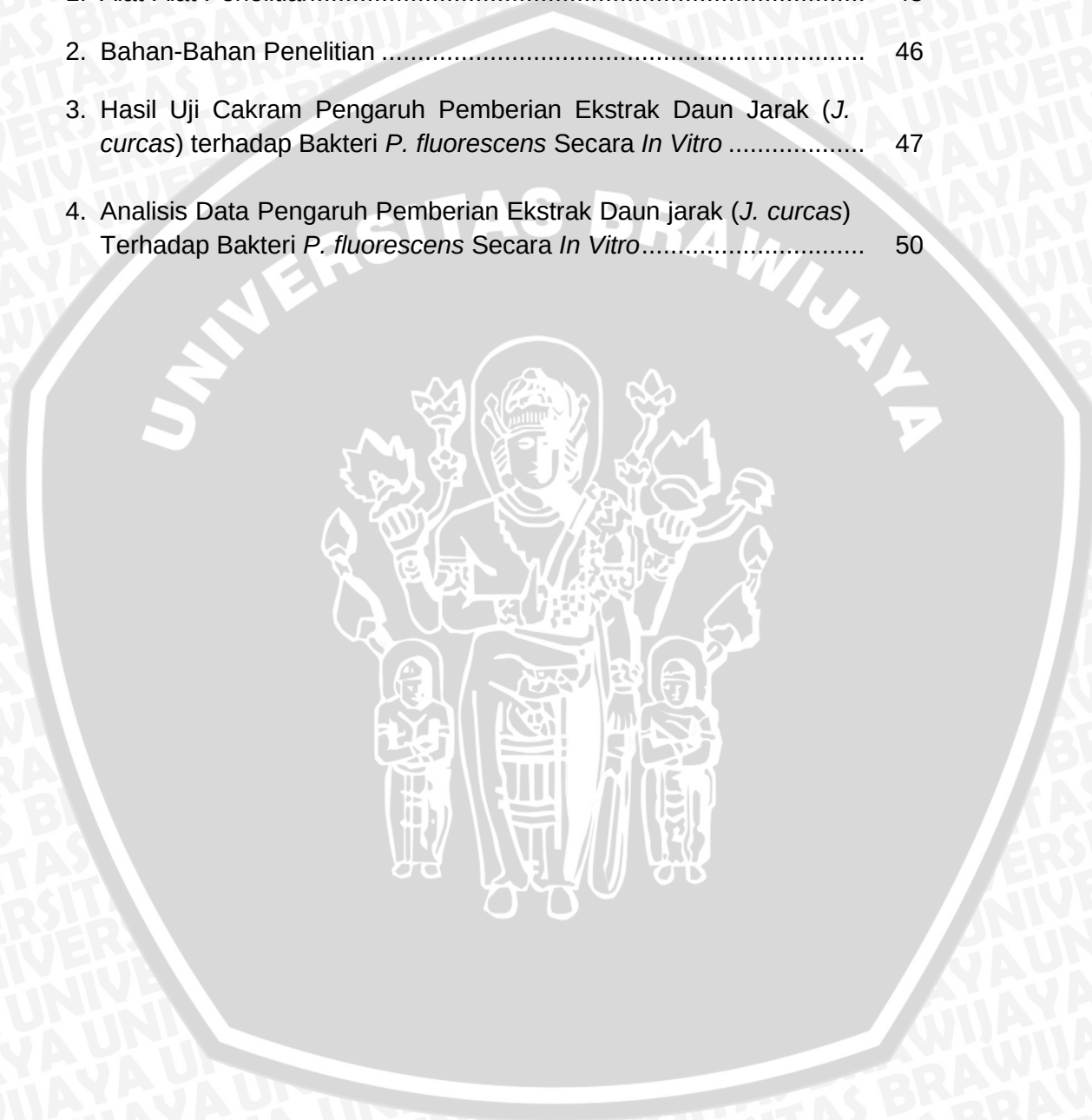
DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Klasifikasi Respon Hambatan Pertumbuhan Bakteri	31
2. Data Rata-Rata Hasil Pengukuran Zona Hambat Ekstrak Kasar Daun Jarak terhadap Bakteri <i>P. fluorescens</i>	32
3. Hasil Perhitungan Sidik ragam Diameter Zona Hambat Ekstrak Kasar Daun Jarak terhadap Bakteri <i>P. fluorescens</i>	33
4. Uji Perbandingan Beda Nyata Terkecil (BNT) Ekstrak Kasar Daun Jarak (<i>J. curcas</i>) Terhadap Bakteri <i>P. fluorescens</i>	33



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alat-Alat Penelitian.....	43
2. Bahan-Bahan Penelitian	46
3. Hasil Uji Cakram Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Jarak (<i>J. curcas</i>) terhadap Bakteri <i>P. fluorescens</i> Secara <i>In Vitro</i>	47
4. Analisis Data Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun jarak (<i>J. curcas</i>) Terhadap Bakteri <i>P. fluorescens</i> Secara <i>In Vitro</i>	50



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara kepulauan (*Archipelagic state*) terluas di dunia dengan jumlah pulau sebanyak 17.504 buah dan panjang garis pantai mencapai 104.000 km. Total luas laut Indonesia sekitar 3,544 juta km² (Kelautan dan Perikanan Dalam Angka 2010) atau sekitar 70% dari wilayah Indonesia. Keadaan tersebut seharusnya meletakkan sektor perikanan menjadi salah satu sektor riil yang potensial di Indonesia (Putra, 2011).

Menurut Kordi (2010), akuakultur menjadi penting dan strategis bagi peningkatan produksi perikanan Indonesia. Akuakultur diharapkan dapat menjadi industri dalam penyediaan pangan, terutama protein hewani. Sebagai industri, akuakultur dapat membuka lapangan kerja dan menghasilkan devisa, serta menggerakkan perekonomian bangsa. Dari sisi lingkungan, akuakultur menjadi penyeimbang bagi kegiatan penangkapan.

Keberhasilan suatu usaha budidaya ikan tidak terlepas dari masalah penyakit dan parasit ikan. Meskipun jarang terjadi pada kolam-kolam yang terawat dengan baik, wabah penyakit dan parasit yang menyerang ikan dapat menimbulkan kerugian besar bagi petani ikan karena sering menyebabkan kematian ikan secara massal. Adapun organisme penyebab penyakit yang biasa menyerang ikan umumnya berasal dari golongan jamur, bakteri, virus, parasit dan hewan invertebrate lainnya (Yuliartati, 2011). Payung dan Manoppo (2015), menambahkan bahwa munculnya penyakit biasanya tidak disebabkan oleh faktor tunggal, tetapi merupakan hasil interaksi kompleks antara ikan budidaya (kualitas), lingkungan budidaya (intern dan ekstern), dan organisme penyebab penyakit.

Menurut Mastan (2013), penyakit lebih sering terjadi dalam sistem budidaya modern. Dalam sistem budidaya intensif, kolam dipupuk menggunakan bahan kimia anorganik, menggunakan suplemen pakan buatan, dan stok ikan dengan kepadatan yang sangat tinggi. Semua kegiatan yang bertujuan untuk meningkatkan produksi ikan dari ekosistem tertentu, pada saat yang bersamaan juga menyebabkan kondisi stress pada ikan. Ikan rentan terhadap berbagai infeksi. Kualitas air yang buruk, bahan organik tinggi, pakan yang terkontaminasi dan kondisi yang tidak higienis adalah beberapa faktor timbulnya penyakit bakteri pada hewan air.

Selama ini pencegahan terhadap serangan bakteri pada umumnya dilakukan dengan pemberian antibiotik dan bahan kimia. Akan tetapi, penggunaan antibiotik ternyata dapat menimbulkan efek samping bagi patogen itu sendiri maupun terhadap ikan yang dipelihara. Pemberian antibiotik secara terus menerus dapat menyebabkan organisme patogen menjadi resisten, sehingga penggunaan antibiotik menjadi tidak efektif. Selain itu, residu dari antibiotik dapat mencemari lingkungan perairan yang mengakibatkan kualitas air menjadi turun. Salah satu alternatif yang digunakan untuk mengatasi permasalahan serangan penyakit adalah mengganti penggunaan antibiotik dengan bahan alami seperti tumbuhan obat yang dapat dijadikan sebagai antibakteri (Rinawati, 2010).

Payung dan Manoppo (2015), menyatakan bahwa beberapa keuntungan menggunakan bahan alami tanaman obat antara lain relatif lebih aman, mudah diperoleh, murah, tidak menimbulkan resistensi, dan relatif tidak berbahaya terhadap lingkungan sekitarnya. Tanaman obat merupakan unsur yang penting untuk pengobatan tradisional pada kegiatan budi daya. Tanaman obat harganya murah dan lebih aman dibandingkan antiprotozoa dari bahan kimia, sehingga bisa dijadikan solusi untuk kegiatan budi daya ikan sekarang ini.

Seiring dengan berkembangnya teknologi di zaman sekarang maka sangat memungkinkan pengembangan obat-obatan dari bahan alam. Indonesia memiliki banyak keanekaragaman hayati yang dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional, masyarakat dulu telah mempercayai bahwa dengan obat dari bahan alam mampu mengobati beberapa penyakit dan obat dari bahan alam juga jarang menimbulkan efek yang merugikan. Salah satu bahan alam yang dapat dijadikan sebagai obat tradisional adalah tanaman jarak pagar.

Menurut Setyaningsih, Pandji dan Perwatasari (2014), tanaman jarak (*J. curcas* L) merupakan tanaman yang tergolong ke dalam keluarga *Euphorbiaceae*. Daun jarak merupakan salah satu bagian tanaman yang banyak mengandung senyawa metabolit sekunder yang merupakan senyawa aktif. Ekstrak etanol dari daun jarak mengandung zat-zat berupa alkaloid, saponin, tannin, dan flavonoid. Senyawa aktif yang terkandung pada tanaman menyebabkan tanaman memiliki aktivitas biologis tertentu. Aktivitas biologis dari ekstrak tanaman jarak berupa aktivitas antioksidan. Sementara itu, ekstrak alkoholik daun tanaman jarak dilaporkan memiliki aktivitas antimikroba.

Penggunaan alternatif tanaman obat tradisional diharapkan dapat menghambat pertumbuhan bakteri tanpa harus menggunakan bahan-bahan kimia yang berbahaya bagi lingkungan seperti antibiotik dan sebagainya. Kelebihan menggunakan obat tradisional yaitu aman bagi lingkungan, bersifat antibakteri, murah dan mudah untuk didapatkan. Salah satu obat tradisional yang bersifat antibakteri yaitu daun jarak (*Jatropha curcas*) yang mengandung senyawa antibakteri alami seperti flavonoid dan fenol. Dengan demikian perlu dilakukan penelitian menggunakan ekstrak daun jarak yang diharapkan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas fluorescens* sebagai patogen ikan air tawar.

1.2 Perumusan Masalah

Penyakit pada ikan dalam kondisi alami dapat timbul akibat adanya interaksi antara inang (ikan budidaya), jasad patogen (organisme penyebab penyakit) dan kondisi lingkungan. Apabila interaksi antara ketiga komponen tersebut tidak seimbang, dapat mengakibatkan penyakit pada ikan. Ikan mudah terserang penyakit terutama disebabkan oleh kondisi ikan yang lemah (semakin turunnya daya tahan ikan) akibat dari beberapa faktor seperti kepadatan yang tinggi, makanan yang kurang baik, fluktuasi suhu yang besar, penanganan yang buruk serta adanya pembendungan atau polusi yang dapat menyebabkan perubahan ekosistem perairan. Selain itu lemahnya kondisi ikan juga disebabkan oleh perkembangan alat produksi atau pemijahan (Prajitno, 2007a).

Pseudomoniasis merupakan salah satu penyakit infeksi berbahaya yang menyerang ikan budidaya, khususnya ikan air tawar. Penyakit ini dapat mengakibatkan risiko kematian yang tinggi karena menular pada bagian kulit dalam waktu cepat bila kondisi perairan semakin memburuk. Adanya penyakit tersebut dapat mengganggu pertumbuhan ikan sehingga produksi budidaya ikan berkurang, untuk itu maka diperlukan upaya pencegahan seperti penggunaan bahan herbal maupun penambahan vitamin dalam pakan agar dapat meningkatkan ketahanan tubuh ikan sehingga menurunkan persentase kehidupan bakteri *Pseudomonas* sp. dalam menginfeksi ikan budidaya air tawar disamping menjaga kebersihan kondisi perairan.

Berdasarkan permasalahan di atas, maka didapatkan rumusan sebagai berikut :

- Bagaimanakah pengaruh pemberian ekstrak kasar daun jarak (*Jatropha curcas*) dengan uji cakram terhadap daya hambat bakteri *P. fluorescens* ?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar daun jarak (*J. curcas*) terhadap daya hambat dari bakteri *P. fluorescens* secara *In Vitro*.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah untuk membuktikan pengaruh pemberian ekstrak kasar daun jarak (*J. curcas*) terhadap daya hambat dari bakteri *P. fluorescens* secara *In Vitro*.

1.5 Hipotesis

Hipotesis yang dapat diambil dari penelitian ini antara lain:

- H_0 : Diduga pemberian ekstrak kasar daun jarak (*J. curcas*) dengan dosis yang berbeda tidak berpengaruh terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *P. fluorescens*.
- H_1 : Diduga pemberian ekstrak kasar daun jarak (*J. curcas*) dengan dosis yang berbeda dapat berpengaruh terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *P. fluorescens*.

1.6 Tempat Dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang pada bulan 18 Januari – 16 Maret 2016.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bakteri *P. fluorescens*

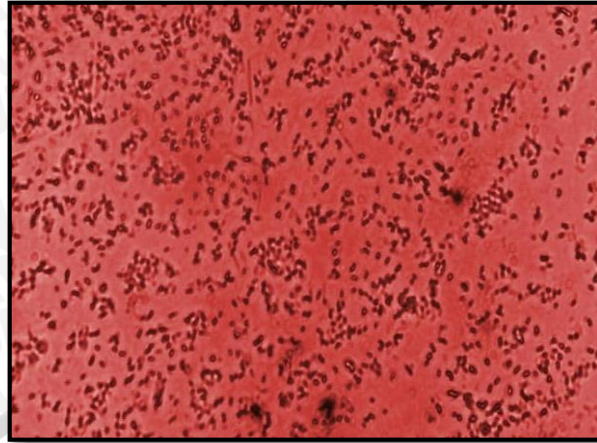
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Klasifikasi bakteri *P. fluorescens* menurut Scales, Dickson, LiPuma dan Huffnagle (2014), sebagai berikut :

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gamma Proteobacteria
Order	: Pseudomonadales
Family	: Pseudomonadaecae
Genus	: Pseudomonas
Species	: <i>P. fluorescens</i>

Menurut Rhodes (1959), bakteri *P. fluorescens* adalah spesies gram negatif, tidak membentuk endospora, berbentuk batang dengan berbagai ukuran 0,7-0,8 nm sampai 2,3-2,8 nm. Mampu tumbuh aerobik dalam waktu 48 jam. Katalase-positif. Menghasilkan beberapa amonia bebas ketika tumbuh di media air pepton. Flagela polar dan exocellular lendir serta harus aerob. Arwiyanto, Maryudani dan Azizah (2007), menambahkan secara individu bakteri *P. fluorescens* berbentuk batang dengan ukuran 0,5-1,0 – 1,5-4,0 μm . Bersifat gram negatif, membentuk enzim katalase, oksidase positif, memerlukan oksigen untuk tumbuh (aerob), mampu menghidrolisa pati dan arginin, membentuk enzim gelatinase, melakukan denitrifikasi, tidak mengakumulasi polyhydroxybutirate.

Adapun bentuk bakteri *P. fluorescens* dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Bakteri *P. fluorescens* Dengan Perbesaran 1000x (Dokumentasi Pribadi).

Menurut Mastan (2013), secara mikroskopis sel *P. Fluorescens* dan *Pseudomonas* sp. berbentuk batang dengan ukuran 0.9-1,0 μm sampai 2,5-10 μm dan Gram negatif, sedangkan hasil uji biokimiawinya adalah oksidase positif, katalase positif, motilitas positif, indhol positif, ornithin positif, fermentatif, simmon citrate positif, MR-VP negatif, hidrolisis gelatin positif, methyl red positif, terdapat gas, dan tidak mengandung H_2S .

2.1.2 Habitat dan Penyebaran

Menurut Scales, *et al.* (2014), sejumlah studi telah mengidentifikasi bakteri *P. fluorescens* sebagai mikrobiota yang banyak terdapat ditubuh, termasuk mulut, perut, dan paru-paru. Letak yang paling umum dari *P. fluorescens* terletak di aliran darah. Kemampuan metabolisme yang sangat baik dari *P. fluorescens* membuat bakteri ini mampu untuk bertahan dalam berbagai lingkungan, termasuk tanah, rizosfer dan permukaan tanaman, dan bahkan dalam permukaan dinding ruangan.

Menurut Mastan (2013), banyak spesies *Pseudomonas* terdapat pada perairan pantai, rawa, kolam dan di tanah. *P. fluorescens* merupakan komponen dominan pada ekosistem air tawar. *P. fluorescens* biasanya ditemukan dalam air,

tanah dan pada tubuh ikan. Bakteri *P. fluorescens* bersifat aerob, dan berkembang biak di tanah dan air. *P. fluorescens* secara konsisten ditemukan dalam organ hati, ginjal, limpa, insang dan darah.

2.1.3 Pertumbuhan

Menurut Scales, *et al.* (2014), Bakteri *P. fluorescens* adalah spesies gram negatif, berbentuk batang, bersifat motil, aerobik dan tumbuh pada pH antara 4 dan 8. *P. fluorescens* dapat ditemukan dalam hubungan antagonistik dengan mikroba eukariotik, termasuk Oomycetes dan amuba, yang berpotensi untuk mekanisme pengawetan menggunakan makrofag, seperti yang telah dihipotesiskan untuk bakteri lain. *P. fluorescens* wajib aerob tetapi mampu menggunakan nitrat sebagai akseptor elektron terakhir selama respirasi seluler. Suhu optimal untuk pertumbuhan 25 – 30 °C, dan dapat tumbuh dengan baik pada Trypticase soy agar (TSA) and Luria agar (LA).

Spesies *P. fluorescens* ini memiliki semua sifat-sifat dari genus *Pseudomonas*, dengan karakter berikut: tidak akan tumbuh pada 42° atau 37°; akan tumbuh dengan baik pada 25°. Akan tumbuh di media nutrisi kompleks pada pH 5. Tumbuh, tapi tidak menghasilkan hidrogen sulfida, pada media Kligler. Akan memanfaatkan glukosa, galaktosa, fruktosa, maltosa, asam malat atau asam laktat sebagai satu-satunya sumber karbon dalam media Kosher jenis garam anorganik (Rhodes, 1959).

2.1.4 Infeksi Bakteri *P. fluorescens*

P. fluorescens adalah patogen budidaya yang dapat menginfeksi banyak spesies ikan, termasuk ikan koi India, ikan mas hitam, ikan mas, dan flounder Jepang. Infeksi ikan oleh *P. fluorescens* mengarah pada penyakit Red Skin, yang dapat terjadi sepanjang tahun dan terutama pada ikan yang terluka, misalnya,

penanganan yang tidak tepat dan transportasi. Karena kurangnya sarana yang efektif untuk pengendalian, penyakit sering menyebabkan kematian, sehingga menyebabkan kerugian ekonomi yang besar. Saat ini, studi tentang patogenesis dalam budidaya terkait *P. fluorescens* masih jarang, dan mekanisme virulensi bakteri ini masih belum jelas (Wei-wei, Yong-hua, Hua-lei dan Li, 2009).

Menurut Mastan (2013), pseudomonas septicemia merupakan salah satu penyakit yang paling serius pada ikan yang disebabkan oleh spesies *P. fluorescens*. Gejala klinis yang ditunjukkan terjadi perdarahan, lesi kulit, sisik mengelupas, dan sekresi lendir. Hemoragik petechia juga diamati pada organ dalam seperti hati, ginjal, dan usus. Bakteri ini merupakan patogen budidaya yang dapat menginfeksi banyak spesies ikan, termasuk ikan koi India, ikan mas dan ikan flounder Jepang. Infeksi *Pseudomonas* pada ikan menyebabkan penyakit *Red Skin*, yang terjadi sepanjang tahun terutama ketika ikan terluka oleh penanganan yang kurang tepat serta luka fisik selama transportasi. Karena kurangnya sarana yang efektif untuk pengendalian penyakit yang sering menyebabkan kematian yang tinggi, sehingga dapat menyebabkan kerugian yang besar.

Menurut Fattah dan Sayed (2006), *Pseudomonas* adalah bakteri gram negatif yang telah dilaporkan menginfeksi ikan cichlid di wilayah geografis yang berbeda. *P. fluorescens* ditemukan menyebabkan kematian kronis pada ikan nila di Jepang. Ikan yang terinfeksi ditandai dengan nodul putih halus di limpa dan abses di kandung kemih. Infeksi terjadi terutama di musim dingin dan musim semi, dengan angka kematian puncak pada suhu air rendah (15-20 °C). Miyazaki *et al.* (1984) dalam Fattah dan Sayed (2006), juga menemukan kolam budidaya ikan nila di Jepang yang terinfeksi dengan pseudomonas menderita exophthalmia, warna tubuh gelap, lesi nodular, nekrosis focal dalam hati, limpa, ginjal dan insang, kandung kemih meradang dan abses di mata.

2.2 Daun Jarak (*J. curcas*)

2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Nurcholis dan Sumarsih (2007), tanaman jarak mempunyai nama lain *J. curcas* (Linnaeus). Dalam sistematika (taksonomi) tumbuhan, kedudukan tanaman jarak pagar diklasifikasi sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Superdivisio	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Rosidae
Ordo	: Euphorbiales
Familia	: Euphorbiaceae
Genus	: <i>Jatropha</i>
Spesies	: <i>J. curcas</i> L.

Daun jarak berupa daun tunggal berwarna hijau muda sampai hijau tua (Gambar 2). Daun menjari berbentuk bundar dengan diameter 10-75 cm. Bunganya tersusun dalam suatu malai yang muncul dari ujung batang atau cabang. Panjang malai bunga antara 10-40 cm (Pratiwi, 2008). Daun jarak pagar berupa daun tunggal, berwarna hijau muda sampai hijau tua, permukaan bawah lebih pucat daripada bagian atasnya. Bentuk daun agak menjari (5 – 7 lekukan) dengan panjang dan lebar 6 – 15 cm yang tersusun secara selang-seling. Panjang tangkai daun sekitar 4 – 15 cm (Prihandana dan Hendroko, 2006).



Gambar 2. Pohon Jarak (*J. curcas*) (Prihandana dan Hendroko, 2006).

Menurut Kusdianti dan Meirandi (2005), tanaman jarak merupakan perdu atau pohon kecil yang mempunyai tinggi 1 – 5 meter. Daun jarak berbentuk jantung atau bulat telur melebar dengan panjang dan lebar hampir sama yaitu sekitar 5 – 15 cm. Helai daun bertoreh, berlekuk bersudut 3 atau 5. Pangkal daun berlekuk dan ujungnya meruncing. Tulang daun menjari dengan 7 – 9 tulang utama. Tangkai daun panjang, sekitar 4 – 15 cm. Daun jarak merupakan daun tunggal dengan pertumbuhan daun yang berseling, bangun daun bulat dengan diameter 10 – 40 cm, menjari 7 – 9, ujung daunnya runcing dengan tepi yang bergigi. Daun di permukaan atas berwarna hijau tua sedangkan di permukaan bawah berwarna hijau muda. Tangkai daunnya panjang, berwarna merah kehijauan dan pertulangan daunnya menjari.

2.2.2 Bahan Aktif Daun Jarak (*J. curcas*)

Pemanfaatan bahan alam yang berasal dari tumbuhan sebagai obat tradisional telah lama dilakukan oleh masyarakat Indonesia untuk menangani berbagai masalah kesehatan. Hal ini cukup menguntungkan karena bahan bakunya mudah didapat atau dapat ditanam di pekarangan sendiri, relatif murah dan dapat diramu sendiri di rumah. Salah satu tumbuhan yang telah

dimanfaatkan oleh masyarakat adalah tanaman jarak. Tanaman jarak yang termasuk dalam famili Euphorbiaceae, genus *Jatropha* mempunyai daun yang berkhasiat sebagai obat gatal-gatal, eksim, dan jamur di sela-sela kaki (Syamsuhidayat, 2000 *dalam* Nuria, Faizaton dan Sumantri, 2009).

Menurut Dhaniaputri (2013), tanaman jarak (*Jatropha curcas*) termasuk family Euphorbiaceae yang memiliki kandungan senyawa kimia dalam organ-organ tubuhnya. Daun, batang, buah, lateks dan kulit kayu mengandung metabolit sekunder diantaranya adalah alkaloid, tannin, flavonoid dan saponin. Metabolit dari jarak pagar menunjukkan adanya aktivitas antibakteri, antifungi, agen pengobatan dan pelindung tanaman.

Menurut Setyaningsih, *et al.* (2014), senyawa aktif yang terkandung pada tanaman menyebabkan tanaman memiliki aktivitas biologis tertentu. Pada penelitian terdahulu terhadap *Jatropha curcas* L dilaporkan bahwa tanaman ini menunjukkan aktivitas bioaktif sebagai penyembuh luka, antidiarrhoeal, antidiabetes, antitumor, dan aktivitas imunomodulator. Sementara itu, ekstrak alkoholik daun tanaman jarak dilaporkan memiliki aktivitas antimikroba. Penelitian yang dilakukan oleh Windarwati (2011) *dalam* Setyaningsih, *et al.* (2014), juga menunjukkan aktivitas biologis dari ekstrak tanaman jarak berupa aktivitas antioksidan.

2.2.3 Aktivitas Antimikroba

Antimikroba adalah suatu zat yang mampu mengganggu pertumbuhan dan metabolisme mikroba. Apabila zat tersebut mampu mengganggu pertumbuhan dan metabolisme bakteri disebut antibakteri. Mekanisme kerja antimikroba antara lain dengan jalan merusak dinding sel, merusak membran sitoplasma, mendenaturasi protein sel dan menghambat kerja enzim dalam sel (Prajitno, 2007b).

Menurut Mawaddah (2008), kerja senyawa antimikroba adalah merusak dinding sel, mengubah permeabilitas membran sitoplasma sehingga menyebabkan terjadinya kebocoran nutrisi dari dalam sel. Kerusakan dinding sel akan menyebabkan gangguan permeabilitas sel sehingga menyebabkan berkurangnya kemampuan sel dalam menjaga keutuhan struktur sel. Selain itu juga gangguan permeabilitas membran dapat mengganggu kelangsungan metabolisme sel.

Menurut Nuria *et al.* (2009), hasil uji kualitatif golongan senyawa yang terdapat dalam ekstrak etanol daun tanaman jarak menunjukkan positif mengandung flavonoid, saponin, dan tanin. Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler. Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar. Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri adalah menghambat enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk.

2.3 Uji Efektivitas Antibakteri Dengan Uji Cakram

Menurut Kusmiati dan Agustini (2006), metode cakram kertas yaitu meletakkan cakram kertas yang telah direndam larutan uji di atas media padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan disekeliling cakram.

Metode cakram merupakan cara yang mudah untuk menetapkan kerentanan organisme terhadap antibiotik adalah dengan menginokulasi pelat agar dengan biakan dan membiarkan antibiotik berdifusi ke media agar. Cakram

yang telah mengandung antibiotik diletakkan di permukaan pelat agar yang mengandung organisme yang diuji. Konsentrasi menurun sebanding dengan luas bidang difusi. Pada jarak tertentu pada masing-masing cakram, antibiotik terdifusi sampai pada titik antibiotik tersebut tidak lagi menghambat pertumbuhan mikroba. Efektivitas antibiotik ditunjukkan oleh zona hambatan. Zona hambatan tampak sebagai area jernih atau bersih yang mengelilingi cakram tempat zat dengan aktivitas antimikroba terdifusi (Harmita dan Radji, 2008).

Metode yang digunakan dalam uji antibakteri yaitu metode difusi cakram kertas. Metode ini dilakukan dengan meletakkan cakram kertas yang telah direndam larutan uji diatas media padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Pencelupan cakram pada larutan uji hingga seluruh permukaan cakram basah. Pengamatan dilakukan setelah bakteri diinokulasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat zona bening disekitar cakram. Pemilihan metode uji cakram ini karena mudah dan sederhana untuk menentukan aktivitas antibakteri pada sampel yang diuji (Mulyadi, Wuryanti dan Sarjono, 2013).

3 METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.3.1 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan untuk penelitian tentang Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Jarak (*J. curcas*) terhadap Daya Hambat Bakteri *Pseudomonas fluorescens* Secara *In Vitro* antara lain :

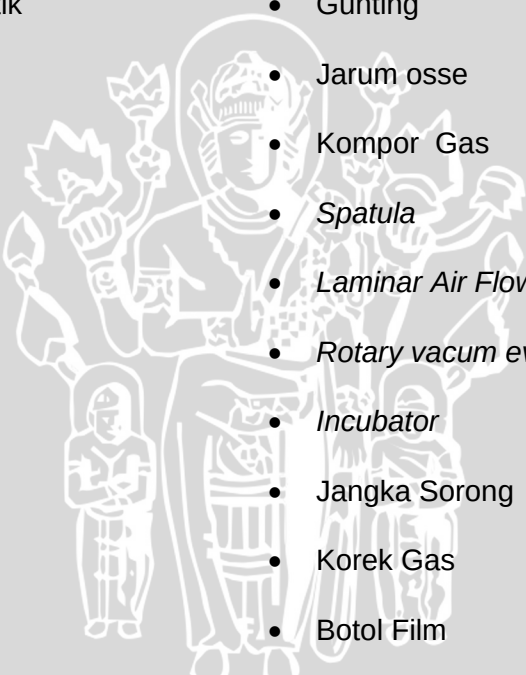
- 
- Toples Kaca
 - Timbangan Digital
 - Timbangan Analitik
 - *Beaker Glass*
 - Gelas Ukur
 - Erlenmeyer
 - Bunsen
 - Cawan Petri
 - Nampan
 - Pipet Tetes
 - *Micropipet*
 - *Hotplate*
 - *Pinset*
 - *Autoclave*
 - Lemari Pendingin
 - Corong
 - Tabung Reaksi
 - Rak Tabung Reaksi
 - Gunting
 - Jarum osse
 - Kompor Gas
 - *Spatula*
 - *Laminar Air Flow*
 - *Rotary vacum evaporator*
 - *Incubator*
 - Jangka Sorong
 - Korek Gas
 - Botol Film
 - *Blue tip*
 - *Vortex Mixer*
 - Oven

Foto dari alat-alat untuk penelitian dapat dilihat pada Lampiran 1.

3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan untuk penelitian tentang Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Jarak (*J. curcas*) terhadap Daya Hambat Bakteri *Pseudomonas fluorescens* Secara *In vitro* antara lain :

- Daun Jarak (*Jatropha curcas*)
- Bakteri *P. fluorescens*
- PSA (*Pseudomonas Selective Agar*)
- TSB (*Tryptitone Soy Broth*)
- Lap Kering
- Kertas Label
- DMSO 10%
- Alkohol 70 %
- Etanol 96 %
- Karet Gelang
- Kertas Saring
- Aquades
- Spirtus
- Kertas Cakram
- Tali
- Alumunium Foil
- Plastik Wrap
- Kertas Bekas
- Kapas
- Tissue

Foto dari bahan-bahan untuk penelitian dapat dilihat pada Lampiran 2.

3.2 Metode Penelitian

Metode Penelitian yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode eksperimen. Menurut Nurjannah (2013), penelitian eksperimen dapat diartikan sebagai metode penelitian yang digunakan untuk mencari pengaruh perlakuan tertentu terhadap yang lain dalam kondisi yang terkendalikan. Penelitian eksperimen menggunakan suatu percobaan yang dirancang secara khusus guna membangkitkan data yang diperlukan untuk menjawab pertanyaan penelitian. Dalam melakukan eksperimen peneliti memanipulasikan suatu stimulan, treatment atau kondisi-kondisi eksperimental, kemudian mengobservasi pengaruh yang diakibatkan oleh adanya perlakuan atau manipulasi tersebut.

Menurut Jaedun (2011), penelitian eksperimen adalah penelitian yang dilakukan terhadap variabel yang data-datanya belum ada sehingga perlu dilakukan proses manipulasi melalui pemberian treatment/perlakuan tertentu terhadap subjek penelitian yang kemudian diamati/diukur dampaknya (data yang akan datang). Penelitian eksperimen juga merupakan penelitian yang dilakukan secara sengaja oleh peneliti dengan cara memberikan treatment/perlakuan tertentu terhadap subjek penelitian guna membangkitkan sesuatu kejadian/keadaan yang akan diteliti bagaimana akibatnya.

3.3 Pengambilan Data

Pada penelitian ini dilakukan pengambilan data dengan cara observasi secara langsung. Menurut Suryana (2010), observasi adalah upaya mengamati dan mendokumentasikan hal-hal yang terjadi selama tindakan berlangsung. Pada saat dilakukan tindakan, secara bersamaan juga dilakukan pengamatan tentang segala sesuatu yang terjadi selama proses pembelajaran berlangsung. Data dari hasil observasi dijadikan sebagai bahan masukan dalam refleksi.

Menurut Wibisono (2013), observasi langsung dapat memberikan suatu rekaman yang sangat mendetail tentang kejadian atau apa yang dilakukan oleh seseorang pada saat itu juga. Dengan observasi langsung ini, tidak akan ada usaha untuk mengawasi atau memanipulasi situasi. Pengamat merekam apa yang tengah terjadi pada saat itu juga. Ada banyak tipe data yang dapat diperoleh secara lebih akurat melalui pengamatan langsung dibandingkan melalui pertanyaan seperti yang diajukan dalam wawancara.

3.4 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL). Menurut Muhammad, Rusgiyono dan Mukid (2014), RAL merupakan rancangan yang paling sederhana diantara rancangan-rancangan percobaan

yang lain. Dalam rancangan ini perlakuan dikenakan sepenuhnya secara acak terhadap satuan-satuan percobaan atau sebaliknya. Pola ini dikenal sebagai pengacakan lengkap atau pengacakan tanpa pembatasan. Penerapan percobaan satu faktor dalam RAL biasanya digunakan jika kondisi satuan-satuan percobaan relatif homogen. Model linier aditif untuk rancangan ini adalah:

$$y_{ij} = \mu + t_i + \varepsilon_{ij}$$

Keterangan :

y_{ij} : pengamatan pada satuan percobaan ke- j yang mendapat perlakuan ke- i

μ : rata-rata keseluruhan

t_i : pengaruh perlakuan ke- i

ε_{ij} : komponen galat

Penelitian ini menggunakan variabel bebas berupa pemberian ekstrak kasar daun jarak (*J. curcas*) dengan perlakuan yang diberikan adalah perbedaan dosis ekstrak kasar daun jarak (*J. curcas*) terhadap bakteri *P. fluorescens*. Dasar penelitian ini adalah penelitian pendahuluan untuk mengetahui dosis daya hambat yang tepat dalam penggunaan ekstrak kasar daun jarak (*J. curcas*) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *P. fluorescens*. Dalam penelitian ini menggunakan 5 perlakuan dengan 3 kali ulangan dan 2 kontrol sebagai pembanding yaitu kontrol positif dan kontrol negatif. Adapun tingkat dosis yang digunakan dalam masing-masing perlakuan sebagai berikut :

- A : Perlakuan pemberian ekstrak kasar daun jarak (*J. curcas*) dengan dosis 5 ppt.
- B : Perlakuan pemberian ekstrak kasar daun jarak (*J. curcas*) dengan dosis 11 ppt.

- C : Perlakuan pemberian ekstrak kasar daun jarak (*J. curcas*) dengan dosis 17 ppt.
- D : Perlakuan pemberian ekstrak kasar daun jarak (*J. curcas*) dengan dosis 23 ppt.
- E : Perlakuan pemberian ekstrak kasar daun jarak (*J. curcas*) dengan dosis 29 ppt.
- K (-) : Perlakuan pemberian ekstrak kasar daun jarak (*J. curcas*) dengan dosis 0 ppt.
- K (+) : Perlakuan pemberian ekstrak kasar daun jarak (*J. curcas*) dengan dosis 100 ppt.

Denah penelitian yang digunakan disajikan pada Gambar 3 sebagai berikut :

D3	B2	E1	C3	A2	K(+)
E2	C1	A3	D2	B1	K(-)
D1	B3	C2	A1	E3	

Gambar 3. Denah Penelitian Uji Cakram

Keterangan :

K (+) : Kontrol Positif

K (-) : Kontrol Negatif

A – E : Perlakuan

1 – 3 : Ulangan

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Persiapan Penelitian

a. Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang akan digunakan saat penelitian sebelumnya perlu dilakukan proses sterilisasi. Sterilisasi adalah suatu usaha untuk memusnakan segala macam mikroorganisme yang ada pada benda, bahan bahkan tempat. Adapun tahapan proses sterilisasi sebagai berikut :

- Alat-alat yang akan digunakan dicuci menggunakan sabun cuci dan ditunggu hingga kering kemudian dibungkus dengan menggunakan plastik tahan panas atau dibungkus dengan kertas dan diikat menggunakan benang.
- Sterilisasi bahan dilakukan dengan cara memasukkan bahan ke dalam erlenmeyer atau ke dalam tabung reaksi. Mulut tabung reaksi ataupun erlenmeyer ditutup dengan menggunakan kapas hingga benar-benar rapat lalu dibungkus dengan menggunakan kertas aluminium foil dan dirapatkan dengan menggunakan tali.
- Aquades secukupnya dituang ke dalam *autoclave* sampai menutup sistem pemanas (*heater*). Alat dan bahan yang akan disterilisasi diletakkan dalam keranjang sterilisasi kemudian dimasukkan ke dalam *autoclave* dan ditutup rapat dengan mengencangkan baut secara simetris. Klep keluarnya uap (*safety valve*) dipastikan pada posisi berdiri atau tegak.
- Tombol ON dinyalakan, temperatur diputar pada posisi maksimal. Ditunggu hingga keluar uap air lalu klep ditutup atau arah ke samping. Setelah mencapai suhu 121°C dan tekanan menunjukkan 1 atm, keadaan ini dipertahankan sampai 15 menit dengan cara membuka dan atau menutup klep uap yang berada di bagian atas tutup *autoclave*.

- Tombol OFF ditekan, ditunggu beberapa saat sampai suhu menunjukkan angka 0 (nol), kemudian buka klep uap lalu buka penutup *autoclave* dengan cara simetris.
- Kemudian alat yang disterilisasi diambil dan disimpan dalam kotak penyimpanan, sedangkan bahan yang telah disterilkan disimpan dalam lemari pendingin.

Menurut Pelczar (2005) dalam Nufailah, Wibawa dan Wijanarko (2012), cawan petri, erlenmeyer, tabung reaksi, penjepit, spatula, sprider, kertas saring, *Nutrient Bolt (NB)*, *Nutrient Agar (NA)*, dan seluruh alat dan bahan yang akan digunakan disterilisasi di dalam autoklaf setelah sebelumnya dicuci bersih, dikeringkan, dan dibungkus dengan kertas. Alat-alat yang digunakan untuk proses sterilisasi antara lain autoklaf, oven dan kompor. Autoklaf menurut Dwijoseputro (2010) dalam Pratama, Nairfana dan Rosmawati (2012), yakni alat untuk mensterilkan berbagai macam alat dan bahan yang pada mikrobiologi menggunakan uap air panas bertekanan. Tekanan yang digunakan pada umumnya 15 psi atau sekitar 2 atm dan dengan suhu 121°C selama lebih kurang 15–20 menit.

b. Sterilisasi Tempat Perlakuan

Selain alat dan bahan, sterilisasi tempat perlakuan dan laboran juga penting dilakukan karena bertujuan untuk menghindari resiko terjadinya kontaminasi. Tangan laboran yang bersinggungan, meja dan semua barang disekitar tempat perlakuan yang akan digunakan dalam penelitian harus selalu dalam kondisi aseptis. Sterilisasi tempat perlakuan dapat dilakukan dengan cara sterilisasi kimia menggunakan alkohol 70 % serta dapat dilakukan dengan cara sterilisasi fisika menggunakan pemijaran dengan api bunsen maupun menggunakan penyinaran dengan sinar UV.

c. Pembuatan Ekstrak Daun Jarak (*J. curcas*)

Proses pembuatan ekstrak dimulai dengan menyiapkan daun jarak basah sebanyak 5 kg yang didapatkan dari daerah Malang, Jawa Timur. Kemudian dijemur di bawah sinar matahari dan didapatkan berat kering sebanyak 1 kg. Selanjutnya daun jarak kering tersebut dipotong kecil-kecil dengan menggunakan gunting untuk mendapatkan ekstrak kasar yang baik. Selanjutnya dilakukan penggilingan dengan menggunakan *blender* sampai halus. Hasil yang didapatkan berupa serbuk daun jarak. Kemudian serbuk daun jarak tersebut diambil sebanyak 200 gr dengan cara ditimbang menggunakan timbangan digital. Langkah selanjutnya adalah perendaman (*maserasi*) dimana serbuk daun jarak sebanyak 200 gr dituang dalam bejana maserasi berupa wadah dari kaca dan ditambahkan etanol 96% sebanyak 1750 ml, kemudian dimaserasi selama 24 jam dalam suhu kamar. Larutan yang didapat kemudian disaring dengan kertas saring lalu diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator*.

Prosedur ekstraksi daun jarak tersebut di atas, sesuai dengan penelitian Okechukwu, Offor dan Ibiem (2015), yaitu daun segar jarak pagar dikeringkan (untuk mendapatkan zat aktif murni) di bawah suhu kamar selama 72 jam. Sampel kering ditumbuk sampai menjadi bentuk serbuk. 200g serbuk daun jarak pagar direndam dalam 1750 ml etanol 96% dan dimaserasi selama 24 jam. Setelah itu diperas dengan kertas saring untuk mendapatkan filtrat. Hasil ekstrak dibiarkan menguap di bawah sinar matahari yang kemudian disimpan di lemari pendingin dan digunakan untuk penelitian.

d. Penentuan Dosis Ekstrak Daun Jarak

Daun jarak yang telah dilakukan maserasi dan didapatkan ekstrak dari hasil evaporasi, selanjutnya dilakukan penentuan dosis ekstrak kasar daun jarak dengan penambahan 3 ml pelarut DMSO 10% sebagai berikut :

- Pembuatan stock ekstrak kasar daun jarak
Serbuk daun jarak sebanyak 200 gr ditambahkan etanol 96% sebanyak 1750 ml sehingga didapatkan stock ekstrak daun jarak sebanyak 114,286 ppt.
- Pembuatan ekstrak kasar daun jarak dengan dosis 5 ppt
Ekstrak kasar daun jarak sebanyak 0,13 ml dari stock dan ditambahkan DMSO 10% sebanyak 2,87 ml.
- Pembuatan ekstrak kasar daun jarak dengan dosis 11 ppt
Ekstrak kasar daun jarak sebanyak 0,30 ml dari stock dan ditambahkan DMSO 10% sebesar 2,70 ml sehingga didapatkan 3 ml ekstrak kasar daun jarak dengan dosis 11 ppt.
- Pembuatan ekstrak kasar daun jarak dengan dosis 17 ppt
Ekstrak kasar daun jarak sebanyak 0,45 ml dari stock dan ditambahkan DMSO 10% sebesar 2,55 ml sehingga didapatkan 3 ml ekstrak kasar daun jarak dengan dosis 17 ppt.
- Pembuatan ekstrak kasar daun jarak dengan dosis 23 ppt
Ekstrak kasar daun jarak sebanyak 0,60 ml dari stock dan ditambahkan DMSO 10% sebesar 2,40 ml.
- Pembuatan ekstrak kasar daun jarak dengan dosis 29 ppt
Ekstrak kasar daun jarak sebanyak 0,76 ml dari stock dan ditambahkan DMSO 10% sebesar 2,24 ml.

e. Pembuatan Media

(1) PSA (*Pseudomonas Selective Agar*)

Penelitian ini menggunakan bakteri *P. fluorescens*, sehingga media yang digunakan yaitu PSA (*Pseudomonas Selective Agar*). Dosis yang digunakan dalam pembuatan PSA sebesar 20 gram/L. Adapun langkah – langkah dalam pembuatan PSA sebagai berikut:

- Ditimbang PSA sebanyak 14 gram kemudian dilarutkan ke dalam erlenmeyer yang berisi aquades sebanyak 350 ml.
- PSA diaduk dengan menggunakan spatula pada kondisi hangat diatas *hotplate* hingga benar-benar larut secara homogen.
- Setelah larut sempurna, erlenmeyer ditutup dengan menggunakan kapas sampai rapat, lalu dibungkus dengan kertas alumunium foil dan dirapatkan dengan tali.
- Media yang sudah tertutup rapat, disterilasi dengan menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit.
- Setelah disterilasi, media dibiarkan dingin hingga mencapai suhu $\pm 30^{\circ}\text{C}$ karena bakteri akan mati apabila diinokulasi pada media yang masih panas.
- Kemudian media dituang ke dalam cawan petri dalam kondisi steril dan ditunggu hingga mengeras dan siap untuk digunakan.
- Media yang tidak langsung digunakan, diberi label dan disimpan dalam lemari pendingin agar tidak terkontaminasi. Media dipanaskan lagi apabila akan digunakan kembali.

(2) TSB (*Tryptitone Soy Broth*)

TSB (*Tryptitone Soy Broth*) merupakan media dasar yang digunakan untuk kultur bakteri. Langkah-langkah pembuatan media TSB sebagai berikut :

- Ditimbang TSB sebanyak 0,6 gram, dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditambahkan aquades sebanyak 20 ml.
- Kemudian diaduk menggunakan spatula hingga larut sempurna dan berwarna kekuningan.
- Erlenmeyer ditutup dengan menggunakan kapas hingga rapat lalu dibungkus dengan menggunakan kertas aluminium foil dan diikat dengan menggunakan benang kasur agar benar – benar tertutup rapat.

- Kemudian disterilisasi menggunakan *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit.
- Setelah disterilisasi, media dibiarkan dingin karena bakteri akan mati bila diinokulasi pada media yang masih panas.

f. Pembiakan Bakteri *Pseudomonas fluorescens*

Dalam penelitian ini menggunakan bakteri *P. fluorescens* yang didapat dari isolat murni berasal dari Balai Besar Budidaya Air Payau (BBAP) Jepara. Isolat murni ini kemudian diremajakan (regenerasi bakteri) pada media agar miring yaitu dengan menggunakan media PSA (*Pseudomonas Selective Agar*). Sarjono dan Mulyani (2007), menyatakan bahwa sebelum dipakai dalam uji antibakteri, bakteri yang akan dipakai setiap kali harus diregenerasi terlebih dahulu. Yang pertama dilakukan adalah membuat biakan agar miring yaitu menggoreskan biakan dari stok bakteri ke agar miring yang masih baru. Kemudian diinkubasi 37°C selama 24 jam. Jadi biakan tersebut merupakan aktivitas awal dari stok bakteri yang telah disimpan pada suhu 4-5 °C.

Sebelum digunakan dalam penelitian, bakteri *P. fluorescens* yang telah diremajakan diencerkan dahulu dalam media cair yaitu TSB. Langkah yang dilakukan pada pembiakan bakteri *P. fluorescens* yaitu:

- Menyiapkan larutan media TSB yang telah dingin.
- Jarum ose dipanaskan di atas bunsen sampai berpijar untuk menghindari terjadinya kontaminasi.
- Setelah dingin, jarum ose disentuhkan pada biakan murni bakteri *P. fluorescens* kemudian dicelupkan pada media TSB.
- Media TSB dibiarkan selama 24 jam dalam inkubator dengan suhu 30°C.
- Setelah 24 jam, media TSB akan berubah menjadi keruh yang menandakan bahwa bakteri telah tumbuh. Kekeruhannya diseragamkan dengan

menggunakan standar McFarland 0,5 (kepadatan bakteri 10^8 CFU/ml) pada latar belakang hitam dan cahaya terang (Noverita, Fitria dan Sinaga, 2009).

- Kepadatan bakteri yang digunakan pada penelitian ini yaitu 10^7 CFU/ml. Standar kekeruhan dari Mc Farland yaitu 10^8 CFU/ml, sehingga untuk mendapatkan bakteri dengan kepadatan 10^7 CFU/ml, maka dilakukan pengenceran dengan cara diambil 1 ml bakteri dari media cair TSB dan diencerkan dengan menggunakan Nafis sebanyak 9 ml lalu didapatkan bakteri dengan kepadatan 10^7 CFU/ml (Niswah, 2014).

Selanjutnya dilakukan penanaman bakteri *P. fluorescens* dalam media PSA menggunakan metode sebar. Adapun langkah penanaman bakteri menggunakan metode sebar menurut Barus, Sitorus dan Lesmana (2013), yaitu disiapkan petridisk yang sudah berisi media PSA. Bakteri *P. fluorescens* yang telah diencerkan dalam media TSB dituang dalam petridisk sebanyak 1 ml, kemudian diratakan hingga seluruh permukaan media PSA. Selanjutnya media PSA diinkubasi di dalam inkubator dengan suhu 30°C selama 24 jam.

3.5.2 Pelaksanaan Penelitian

a. Prosedur Pelaksanaan Uji Cakram

Adapun langkah-langkah uji cakram sebagai berikut :

- Disiapkan cawan petri yang telah terdapat media PSA.
- Disiapkan berbagai konsentrasi ekstrak kasar daun jarak yang akan digunakan dalam uji cakram untuk mengetahui daya hambatnya.
- Disiapkan bakteri pada media TSB dengan kepadatan 10^8 dan diencerkan dengan menggunakan Nafis untuk mendapatkan bakteri *P. fluorescens* dengan kepadatan 10^7 .

- Penanaman bakteri pada media PSA menggunakan metode cawan sebar yang dilakukan pada *Laminar Air Flow* dengan kondisi yang tetap steril agar tidak terkontaminasi.
- Kertas cakram steril ukuran 6 mm direndam ke dalam ekstrak daun jarak selama 15 menit berdasarkan dosis perlakuan yang telah ditentukan.
- Kertas cakram yang telah direndam dalam ekstrak daun jarak ditiriskan dan diletakkan pada permukaan lempeng agar.
- Jarak kertas cakram dengan tepi cawan petri tidak boleh kurang dari 15 mm. Saat meletakkan kertas cakram tidak boleh bergeser, karena mengurangi validasi pengukuran.
- Kemudian diinkubasi selama 24 jam dengan suhu ruang yaitu 37°C.
- Dibaca hasil dengan mengukur diameter zona hambat yang terbentuk (zona bening) di sekitar kertas cakram menggunakan jangka sorong untuk menentukan konsentrasi optimum yang dapat menghambat bakteri.
- Untuk mengetahui sifat bakteriosidal (membunuh bakteri) maka dilakukan pengamatan setelah 48 jam.

Prosedur pengujian antibakteri dengan metode cakram menurut Mulyadi, *et al.* (2013), yaitu cakram dicelupkan ke dalam larutan sampel sampai merata di seluruh permukaan cakram dengan berbagai macam konsentrasi yang telah disiapkan. Penuangan media agar yang telah disterilkan ke dalam petridish. Media yang telah dingin dan memadat selanjutnya ditanami bakteri. Bakteri yang ditanam diratakan hingga seluruh permukaan media agar dengan menggunakan *spreader*. Kemudian cakram tersebut diletakkan dalam media agar yang telah ditanami bakteri. Dilakukan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil inkubasi yang berupa daerah bening disekitar cakram yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri diinterpretasikan sebagai zona hambat.

b. Uji Difusi Kertas Cakram

Metode difusi kertas cakram adalah salah satu metode yang paling umum digunakan dalam uji antibakteri, karena metode ini cukup sederhana dan efektif untuk mengetahui kemampuan antibakteri pada satu sampel uji. Uji cakram merupakan pengujian untuk antibakteri dengan mengukur diameter daerah hambatan yang terjadi di sekitar kertas cakram yang mengandung bahan antibakteri sesuai dengan konsentrasi perlakuan (Pelczar dan Chan, 1986).

Uji cakram digunakan untuk mengetahui pada konsentrasi tertentu yang dapat menghambat bakteri yang bersifat bakteriostatik (menghambat bakteri) setelah diinkubasi selama 24 jam, maupun bakterisidal (membunuh bakteri) setelah diinkubasi selama 48 jam. Kertas cakram yang telah direndam dengan zat antibakteri diletakkan di atas lempengan agar yang telah disemai dengan mikroorganisme yang diuji. Penghambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh zat antibakteri terlihat sebagai wilayah yang jernih di sekitar pertumbuhan mikroorganisme.

3.6 Parameter uji

Parameter uji yang diamati dalam penelitian ini terdiri dari parameter utama dan parameter penunjang. Parameter utama yaitu pengamatan terhadap daerah hambatan yang dilakukan dengan mengukur diameter zona bening di sekitar kertas cakram dari masing-masing perlakuan menggunakan jangka sorong yang dinyatakan dalam mm. Parameter penunjang dalam penelitian ini adalah suhu inkubasi yang digunakan selama penelitian yakni sebesar 30 °C serta lama perendaman kertas cakram pada ekstrak kasar daun jarak (*Jatropha curcas*) yakni selama 15 menit.

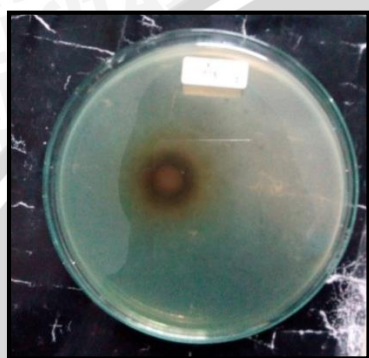
3.7 Analisa Data

Data hasil zona hambat yang didapatkan kemudian dianalisis secara deskriptif dengan membandingkan diameter zona hambat antar perlakuan. Untuk mengetahui pengaruh perlakuan pemberian ekstrak kasar daun jarak (*Jatropha curcas*) terhadap daya hambat bakteri *P. fluorescens* dilakukan uji statistik dengan menggunakan analisis keragaman (ANOVA) atau uji F sesuai dengan rancangan yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan selang kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$) dan 99% ($\alpha = 0,01$). Apabila dari data sidik ragam atau uji F diketahui bahwa perlakuan menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata (*significant*) atau berbeda sangat nyata (*highly significant*) ($F_{hitung} > F_{tabel}$), maka akan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Untuk mengetahui hubungan antara perlakuan dengan diameter zona hambat (zona bening), dilakukan uji polynomial orthogonal.

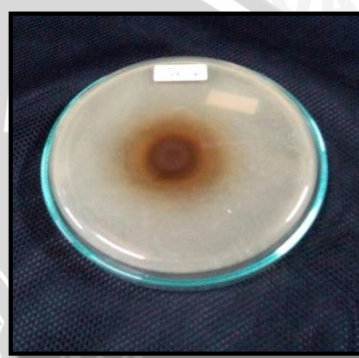
4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Daya Antibakterial Ekstrak Daun Jarak (*J. curcas*)

Berdasarkan hasil pengamatan selama penelitian tentang pengaruh pemberian ekstrak kasar daun jarak terhadap daya hambat bakteri *P. fluorescens* didapatkan gambar hasil penelitian zona bening yang ditunjukkan pada Gambar 4.



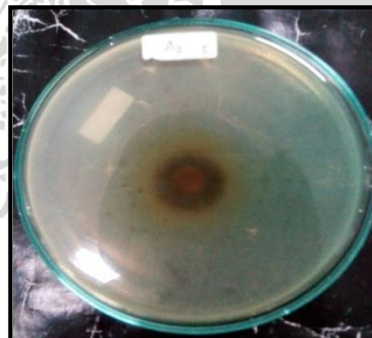
Perlakuan A dengan dosis 5 ppt



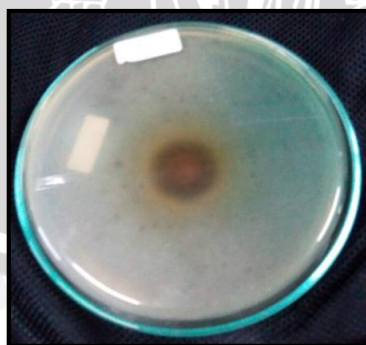
Perlakuan B dengan dosis 11 ppt



Perlakuan C dengan dosis 17 ppt



Perlakuan D dengan dosis 23 ppt



Perlakuan E dengan dosis 29 ppt

Gambar 4. Hasil Uji Kertas Cakram Ekstrak Kasar Daun Jarak terhadap Bakteri *P. fluorescens*

Pada Gambar 4 di atas dapat dilihat bahwa hasil uji daya hambat bakteri *P. fluorescens* ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan bakteri disekitar kertas cakram yang telah direndam menggunakan perlakuan dosis yang berbeda sehingga terbentuk zona bening. Diameter zona bening yang terbentuk semakin besar dengan naiknya konsentrasi ekstrak daun jarak yang digunakan. Hal ini dikarenakan semakin tinggi konsentrasi yang digunakan maka semakin banyak pula kandungan senyawa aktif yang bersifat antibakteri. Pernyataan tersebut sesuai dengan pernyataan Katno (2009), bahwa peningkatan diameter daerah hambatan pertumbuhan bakteri uji yang dihasilkan berbanding lurus dengan peningkatan konsentrasi ekstrak yang digunakan. Perbedaan besarnya daerah hambatan masing-masing konsentrasi akibat perbedaan besarnya kandungan senyawa aktif, karena faktor-faktor yang mempengaruhi uji daya hambat adalah konsentrasi senyawa aktif, kepekaan pertumbuhan mikroba uji, reaksi antara zat aktif dengan medium dan suhu inkubasi.

Menurut Suryawiria (2005), respon hambatan dari suatu bahan aktif terhadap pertumbuhan bakteri dapat diklasifikasikan seperti pada Tabel 1.

Tabel 1. Klasifikasi Respon Hambatan Pertumbuhan (Suryawiria, 2005)

Diameter Zona Bening	Respon Hambatan Pertumbuhan
<5 mm	Lemah
5 – 10 mm	Sedang
10 – 19 mm	Kuat
>20 mm	Sangat Kuat

Berdasarkan klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri pada Tabel 1 di atas dapat diketahui bahwa respon daya hambat ekstrak kasar daun jarak terhadap bakteri *P. fluorescens* pada masing-masing perlakuan berbeda,

yaitu pada perlakuan A dengan rata-rata diameter zona hambat 6,68 mm, perlakuan B dengan rata-rata diameter zona hambat 7,85 mm dan perlakuan C dengan rata-rata diameter zona hambat 9,75 mm sehingga diklasifikasikan pada respon hambatan sedang. Untuk perlakuan D dengan rata-rata diameter zona hambat 10,94 mm dan perlakuan E dengan rata-rata diameter zona hambat 12,62 mm sehingga diklasifikasikan pada respon hambatan kuat. Hasil data rata-rata pengukuran diameter zona hambat pada masing-masing perlakuan ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Data Rata-Rata Hasil Pengukuran Zona Hambat Ekstrak Kasar Daun Jarak terhadap Bakteri *P. fluorescens*

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-Rata $\pm$ Standard Deviasi
	1	2	3		
A (5 ppt)	6.87	5.46	7.72	20.05	6.68 $\pm$ 1.14
B (10 ppt)	8.71	7.92	6.91	23.54	7.85 $\pm$ 0.9
C (15 ppt)	8.95	9.68	10.63	29.26	9.75 $\pm$ 0.84
D (20 ppt)	10.88	11.36	10.58	32.82	10.94 $\pm$ 0.39
E (25 ppt)	12.75	11.83	13.29	37.87	12.62 $\pm$ 0.74
Total				143.54	

Berdasarkan hasil perhitungan rata-rata diameter zona hambat yang ditunjukkan pada Tabel 2 di atas didapatkan hasil pengukuran rata-rata diameter zona bening yang terbesar yaitu pada perlakuan E dengan dosis 29 ppt sebesar 12,62 mm sedangkan untuk rata-rata diameter zona bening yang terkecil yaitu pada perlakuan A dengan dosis 5 ppt sebesar 6,68 mm. Setelah pengukuran zona hambat, kemudian dilanjutkan dengan perhitungan sidik ragam untuk mengetahui pengaruh dari perlakuan yang telah diberikan dapat dilihat pada Tabel 3, untuk perhitungan lengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 4.

Tabel 3. Hasil Perhitungan Sidik ragam Diameter Zona Hambat Ekstrak Kasar Daun Jarak terhadap Bakteri *P. fluorescens*

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	4	67.61	16.90	23.96**	3.48	5.99
Galat	10	7.05	0.71			
Total	14					

Keterangan : ** = Berbeda sangat nyata

Pada hasil perhitungan sidik ragam Tabel 3 di atas dapat diketahui bahwa pengaruh pemberian ekstrak kasar daun jarak terhadap bakteri *P. fluorescens* adalah berbeda sangat nyata. Hal ini ditunjukkan dengan hasil perhitungan dari F hitung yang lebih besar dari F tabel 5% dan F tabel 1% atau nilai F hitung sebesar 23,96 lebih besar dibandingkan dengan F tabel 5% sebesar 3,48 dan F tabel 1% sebesar 5,99. Maka H_0 ditolak yang berarti perlakuan tersebut memberikan pengaruh sangat nyata. Selanjutnya dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan (Tabel 4).

Tabel 4. Uji Perbandingan Beda Nyata Terkecil (BNT) Ekstrak Kasar Daun Jarak (*J. curcas*) Terhadap Bakteri *P. fluorescens*

Rata-Rata Perlakuan	A (6.68)	B (7.85)	C (9.75)	D (10.94)	E (12.62)	Notasi
A (6.68)	-	-	-	-	-	a
B (7.85)	1.16 ^{ns}	-	-	-	-	a
C (9.75)	3.07**	1.91**	-	-	-	b
D (10.94)	4.26**	3.09**	1.19 ^{ns}	-	-	bc
E (12.62)	5.94**	4.78**	2.87**	1.68*	-	d

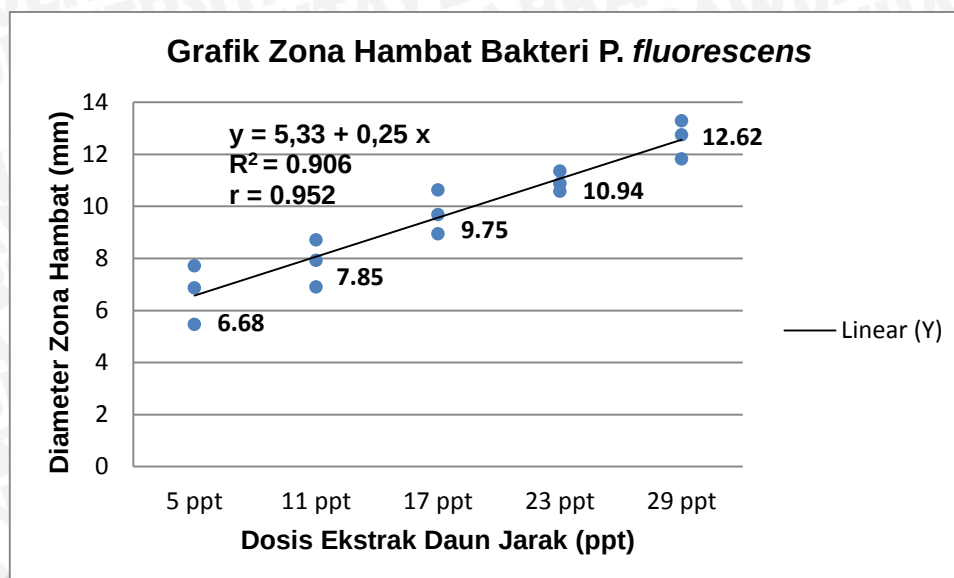
Keterangan : ns = Tidak berbeda nyata

* = Berbeda nyata

** = Berbeda sangat nyata

Pada hasil uji BNT Tabel 4 diatas diketahui bahwa perlakuan A tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap semua perlakuan dan diberi notasi a. Pada perlakuan B menunjukkan tidak berpengaruh nyata terhadap perlakuan A sehingga diberi notasi a. Untuk perlakuan C menunjukkan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap perlakuan A dan B sehingga diberi notasi b. Pada perlakuan D menunjukkan tidak berpengaruh nyata terhadap perlakuan C sehingga diberi notasi b. Untuk perlakuan E menunjukkan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap perlakuan A, B dan C dan pengaruh berbeda nyata pada perlakuan D sehingga diberi notasi c. Dari data tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstrak kasar daun jarak mampu menghambat pertumbuhan dari bakteri *P. fluorescens*, hal ini dikarenakan ekstrak kasar daun jarak mengandung senyawa antimikroba yang tinggi yaitu senyawa flavonoid. Hal ini sesuai dengan pernyataan Susilowati (2014), tumbuhan Jarak (*Jatropha Curcas L.*) memiliki aktivitas antimikroba dimana mempunyai kandungan kimia Saponin, Flavonoida, Tannin dan alkaloid. Flavonoid merupakan senyawa yang mudah larut dalam pelarut polar seperti etanol, butanol, dan aseton. Flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol. Senyawa fenol mempunyai sifat efektif menghambat pertumbuhan virus, bakteri, dan jamur. Menurut Wirakusumah (2010), Flavonoid merupakan komponen fenol, yaitu bioaktif yang akan mengubah reaksi tubuh terhadap senyawa lain seperti alergen, virus dan zat karsinogen.

Untuk mengetahui bentuk hubungan (regresi) antara perlakuan dengan parameter yang diuji yaitu daya hambat bakteri *P. fluorescens* maka dilakukan perhitungan uji polynomial orthogonal dapat dilihat pada Lampiran 4. Kemudian dari hasil perhitungan tersebut didapat grafik regresi linier seperti yang ditunjukkan pada Gambar 5.



Gambar 5. Grafik Hubungan antara Dosis Ekstrak Kasar Daun Jarak (*J. curcas*) terhadap Diameter Zona Hambat Bakteri *P. fluorescens*

Berdasarkan grafik yang ditunjukkan pada Gambar 5 di atas dapat diketahui bahwa hubungan antara dosis ekstrak kasar daun jarak terhadap diameter zona hambat bakteri *P. fluorescens* menunjukkan perpotongan garis secara linier dengan persamaan $y = 5,33 + 0,25x$ dengan nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,906 dan nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0,952. Pada grafik di atas dapat dilihat bahwa dari dosis 5 ppt sampai dosis 29 ppt mengalami peningkatan, hal ini dikarenakan semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun jarak maka kandungan senyawa aktif yang bersifat sebagai antibakteri juga tinggi sehingga diameter zona hambat yang terbentuk semakin besar, begitupun juga sebaliknya. Pernyataan tersebut sesuai dengan Roslizawaty, Nita, Fakhurrrazi dan Herrialfian (2013), bahwa efektivitas suatu zat antibakteri dipengaruhi oleh konsentrasi zat yang diberikan. Semakin tinggi konsentrasi maka semakin tinggi pula bahan aktif yang terkandung sebagai antibakteri sehingga meningkatkan kemampuan daya hambatnya terhadap mikroba. Pada umumnya, diameter zona hambat cenderung meningkat sebanding dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak.

Ekstrak kasar daun jarak memiliki senyawa antibakteri yang berfungsi untuk membunuh bakteri, senyawa yang terkandung didalam daun jarak diantaranya adalah flavonoid. Menurut Roslizawaty *et al.* (2013), flavonoid merupakan golongan terbesar senyawa fenol alam yang berperan langsung sebagai antibiotik dengan mengganggu fungsi dari mikroorganisme seperti bakteri atau virus. Mekanisme penghambatan flavonoid terhadap pertumbuhan bakteri diduga karena kemampuan senyawa tersebut membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler, mengaktivasi enzim, dan merusak membran sel. Senyawa ini merupakan antimikroba karena kemampuannya dalam menghambat metabolisme energi dengan cara menghambat sistem respirasi.

Pengamatan diameter zona hambat setelah diinkubasi selama 48 jam dilakukan untuk mengetahui sifat antibakteri dari ekstrak kasar daun jarak (*J. curcas*). Pada pengamatan 24 jam, zona hambat yang terbentuk diamati dan diukur. Setelah diinkubasi selama 48 jam, dilakukan kembali pengamatan dan pengukuran zona hambat. Didapatkan hasil dimana pada pengamatan dan pengukuran setelah 48 jam terjadi penurunan diameter zona hambat yang terbentuk, sehingga dapat disimpulkan bahwa daya hambat ekstrak kasar daun jarak masih bersifat bakteriostatik (menghambat pertumbuhan mikroba) bukan bakteriosidal (membunuh mikroba). Hal ini sesuai dengan pendapat Rostinawati (2009), efek antibakteri dibagi menjadi dua kelompok yaitu bakteriostatik, merupakan efek yang menghambat pertumbuhan bakteri, tetapi tidak menyebabkan kematian seluruh bakteri. Mekanisme bakteriostatik biasanya terjadi pada ribosom yang menyebabkan penghambatan sintesis protein. Sedangkan bakteriosidal adalah antibakteri yang dapat membunuh sel bakteri, tetapi tidak menyebabkan lisis atau pecahnya sel bakteri.

4.2 Suhu Inkubasi dan Lama Perendaman Kertas Cakram

Pada penelitian ini parameter penunjang yang digunakan yaitu suhu inkubasi dan lama perendaman kertas cakram dalam ekstrak daun jarak. Parameter penunjang yang pertama yaitu suhu inkubator yang merupakan faktor utama yang mempengaruhi laju pertumbuhan bakteri selama inkubasi. Selama 48 jam masa inkubasi suhu yang digunakan sebesar 30 °C. Pada suhu tersebut merupakan kisaran suhu yang optimal untuk pertumbuhan bakteri *P. fluorescens* sehingga hasil pembiakan bakteri dapat tumbuh dengan baik. Pernyataan ini didukung Meyer dan Collar (1964), yang menyatakan bakteri *P. fluorescens* merupakan bakteri gram negatif yang dapat tumbuh optimal pada suhu 30 °C. Sedangkan suhu maksimal yang dapat ditoleransi bakteri *P. fluorescens* untuk tumbuh sebesar 34 °C. Bakteri ini dapat tumbuh pada kisaran pH antara 4,5 – 10,7 dengan pH optimal untuk pertumbuhan sebesar 7,1.

Parameter penunjang yang kedua adalah lama perendaman kertas cakram dalam ekstrak daun jarak selama 15 menit. Hal ini bertujuan agar kertas cakram dapat menyerap bahan aktif dalam ekstrak dengan sempurna sehingga hasil diameter daya hambat yang terbentuk juga maksimal serta mencegah agar kertas cakram yang digunakan tidak rusak akibat terlalu lama dilakukan perendaman. Hal ini sesuai dengan pernyataan wiyanto (2010), pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode Kirby-Bauer yang dikenal dengan sebutan metode cakram kertas. Tiap – tiap kertas cakram dilakukan perendaman ke dalam larutan uji selama 15 menit, agar bahan aktif ekstrak yang digunakan dapat meresap ke dalam kertas cakram. Kemudian secara aseptik, kertas cakram diletakkan pada permukaan media yang telah berisi mikroba uji.

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian tentang pengaruh pemberian ekstrak kasar daun jarak (*J. curcas*) terhadap daya hambat bakteri *P. fluorescens* secara *in vitro* diperoleh kesimpulan bahwa pemberian ekstrak kasar daun jarak berpengaruh sangat nyata terhadap daya hambat bakteri *P. fluorescens* dengan dosis minimal 5 ppt ekstrak daun jarak sudah dapat menghambat pertumbuhan bakteri *P. fluorescens*, dan bersifat bakteriostatik (menghambat pertumbuhan bakteri).

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini maka disarankan penggunaan ekstrak daun jarak (*J. curcas*) untuk menghambat pertumbuhan bakteri *P. fluorescens* yang menyerang ikan air tawar. Selain itu juga disarankan untuk dilakukan penelitian lanjutan tentang pengaruh pemberian ekstrak kasar daun jarak (*J. curcas*) terhadap daya hambat bakteri *P. fluorescens* secara *in vivo*.

DAFTAR PUSTAKA

- Arwiyanto, T., YMS. Maryudani dan N. N. Azizah. 2007. Sifat-Sifat Fenotipik *Pseudomonas fluoresen*, Agensi Pengendalian Hayati Penyakit Lincat pada Tembakau Temanggung. *Biodiversitas*. ISSN: 1412-033X. **8** (2) : 147 – 151.
- Barus, W. N. U., H. Sitorus dan I. Lesmana. 2013. Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kamboja (*Plumiera rubra*) Pada Konsentrasi yang Berbeda Terhadap Pertumbuhan *Aeromonas hydrophyla* Secara In Vitro. Universitas Sumatera Utara. 7 hlm.
- Dhaniaputri, Risanti. 2013. Pengaruh Pertumbuhan Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) Terhadap Akumulasi Metabolit Sekunder Terpenoid. *Jurnal Bioedukatika*. **1** (2) : 1 – 56.
- Fattah, Abdel dan M. El-Sayed. 2006. Tilapia Culture. CABI. 277 hlm.
- Harmita dan M. Radji. 2008. Buku Ajar Analisis Hayati. Penerbit Buku Kedokteran EGC: Jakarta. 167 hlm.
- Jaedun A. 2011. Metodologi Penelitian Eksperimen. UNY. Yogyakarta. 13 hlm.
- Kordi, M. G. H. 2010. Panduan Lengkap Memelihara Ikan Air Tawar di Kolam Terpal. Lily Publisher. Yogyakarta. 280 hlm.
- Kusdianti dan Erwin R. Meirandi. 2005. Tinjauan tentang Bunga Jarak (*Ricinus communis* Linn.). Universitas Pendidikan Indonesia. Bandung. 20 hlm.
- Mastan, S. A. 2013. *Pseudomonas* Septicemia In *Labeo rohita* (Ham.) and *Cyprinus carpio* (Linn.) In Andhra Pradesh–Natural Occurrence and Artificial Challenge. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. ISSN- 0975-1491. **5** (2): 564 – 568.
- Meyer, F. P. dan J. D. Collar. 1964. Description and Treatment of a *Pseudomonas* Infection in White Catfish. *Microbiology*. **12** (3) : 201 – 203.
- Muhammad, I., A. Rusgiyonodan M. A. Mukid. 2014. Penilaian Cara Mengajar Menggunakan Rancangan Acak Lengkap (Studi kasus: Cara Mengajar Dosen Jurusan Statistika UNDIP). *Jurnal Gaussian*. ISSN: 2339-2541. **3** (2) : 183 – 192.
- Mulyadi, M., Wuryanti dan P. R. Sarjono. 2013. Konsentrasi Hambat Minimum (Khm) Kadar Sampel Alang-Alang (*Imperata cylindrica*) Dalam Etanol Melalui Metode Difusi Cakram. *Chem Info Journal*. **1** (1) : 35 – 42.

- Niswah, Lukluatun. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Dari Ekstrak Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) Menggunakan Metode Difusi Cakram. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatulloh : Jakarta. 54 hlm.
- Noverita, D. Fitria dan E. Sinaga. 2009. Isolasi Dan Uji Aktivitas Antibakteri Jamur Endofit Dari Daun Dan Rimpang Zingiber ottensii Val. *Jurnal Farmasi Indonesia*. **4** (4) : 171 – 176.
- Nufailah, D., P. J. Wibawa dan Wijanarko. 2012. Uji Aktivitas Antibakteri Produk Reduksi Asam Palmitat dalam Sistem NaBH₄/BF₃.Et₂O terhadap *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Sains*. **6**(2) : 34 - 42.
- Nurcholis, Mohammad dan Sri Sumarsih. 2007. Jarak Pagar dan Pembuatan Biodiesel. Penerbit Kanisius : Yogyakarta. 85 hlm.
- Nuria, M. C., A. Faizatun dan Sumantri. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Salmonella typhi* ATCC 1408. *Mediargo*. **5** (2) : 26 – 37.
- Nurjannah, Amalia. 2013. Metode Penelitian Eksperimen. Universitas Sriwijaya : Palembang. 11 hlm.
- Okechukwu, P. C. U., C. E. Offor dan U. A. Ibiam. 2015. The Effect of Ethanol Extract of *Jatropha curcas* on Renal Markers of Chloroform Intoxicated Albino Wister Rats. *European Journal of Biological Sciences*. ISSN 2079-2085. **7** (1) : 21 – 25.
- Payung, Clara Nunia dan Henky Manoppo. 2015. Peningkatan Respon Kebal Non-spesifik dan Pertumbuhan Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Melalui Pemberian Jahe, *Zingiber officinale*. *Jurnal Budidaya Perairan*. **3** (1) : 11 – 18.
- Pelczar, M. J. dan E. C. S. Chan. 1986. Dasar-Dasar Mikrobiologi I. Universitas Indonesia : Jakarta. 443 hlm.
- Prajitno, A. 2007a. Penyakit Ikan – Udang : Bakteri. Penerbit Universitas Negeri Malang : Malang. ISBN:978-979-3506-89-0. 115 hlm.
- _____. 2007b. Uji Sensitifitas Flavonoid Rumput Laut (*Euclima cottoni*) Sebagai Bioaktif Alami Terhadap Bakteri *Vibrio harveyi*. *Jurnal Protein*. **15** (2): 66-71.
- Pratama, A. A., I. Nairfana dan Rosmawati. 2012. Isolasi dan Identifikasi Bakteri dari Perairan Tercemar untuk Menunjang Upaya Bioremediasi Badan Air. Universitas Mataram. Mataram. 18 hlm.
- Pratiwi, S. T. 2008. Mikrobiologi Farmasi. Penerbit Erlangga : Yogyakarta. 176 hlm.

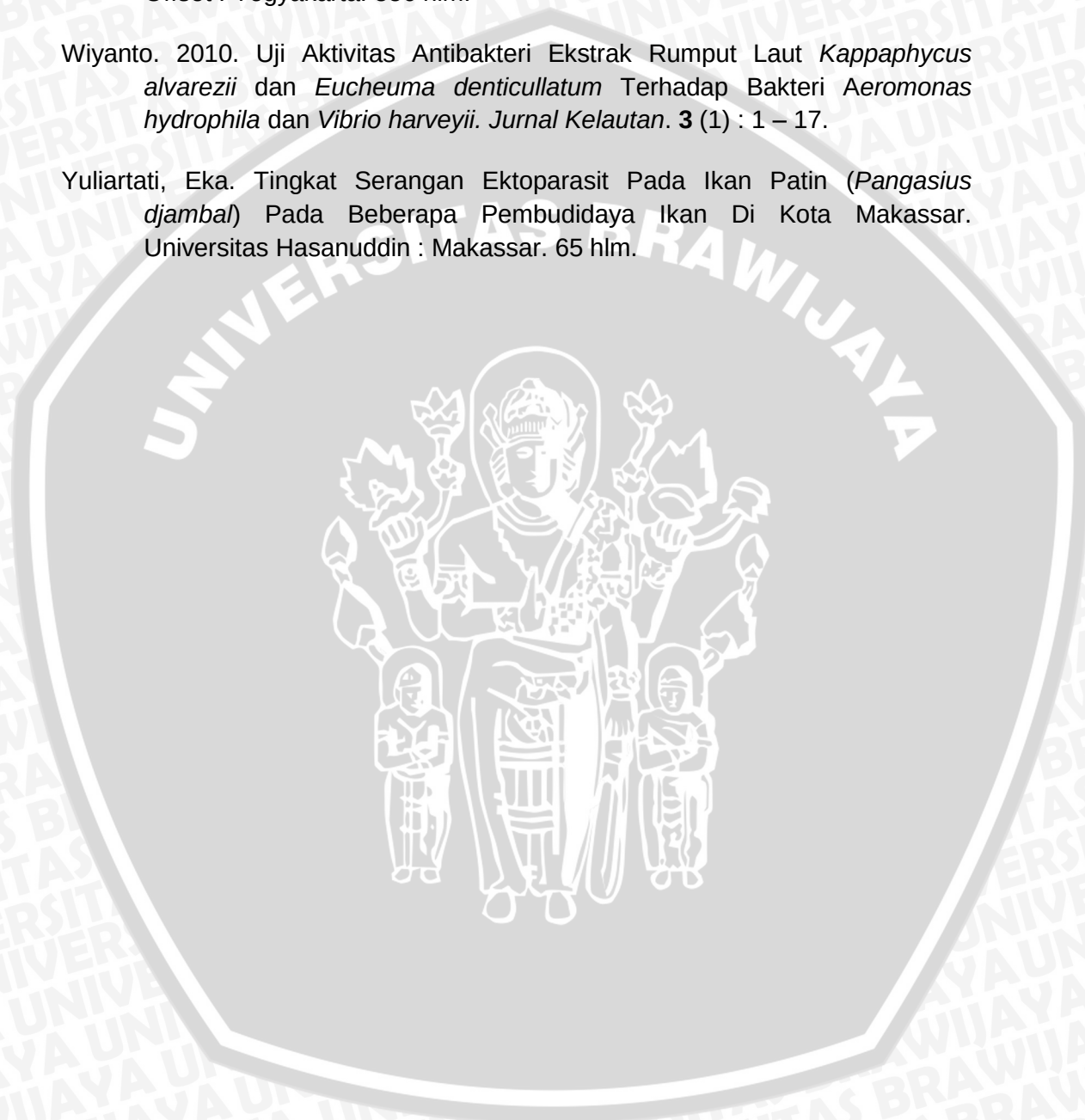
- Prihandana, Rama dan Roy Hendroko. 2006. Petunjuk Budidaya Jarak Pagar. Agromedia. 96 hlm.
- Putra, D.Y. 2011. Peran Sektor Perikanan dalam Perekonomian dan Penyerapan Tenaga Kerja di Indonesia: Analisis *input-output*. Universitas Andalas. Sumatra Barat. 93 hlm.
- Rhodes, Muriel E. 1959. The Characterization of *Pseudomonas fluorescens*. *Journal Gen. Microbial.* **21** : 221 – 263.
- Rinawati, Nanin Dwi. 2010. Daya Antibakteri Tumbuhan Majapahit (*Crescentia cujete* L.) Terhadap Bakteri *Vibrio alginolyticus*. Institut Teknologi Sepuluh Nopember. Surabaya. 13 hlm.
- Roihanah, S., Sukoso dan Andayani S. 2012. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Teripang *Holothuria* sp. Terhadap Bakteri *Vibrio harveyi* Secara *In vitro*. *Journal Experiment Life Science.* **2** (1) : 1 - 5
- Roslizawaty, Y. R. Nita, Fakhurrrazi dan Herrialfian. 2013. Aktivitas Antibakterial Ekstrak Etanol Dan Rebusan Sarang Semut (*Myrmecodia* sp.) Terhadap Bakteri *Eschericia coli*. *Jurnal Medika Veterinaria.* **7** (2) : 91 – 94.
- Rostinawati, T. 2009. Aktivitas Antibakteri Madu Amber dan Madu Putih Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Multiresisten DNA *Staphylococcus aureus* Resisten Mesilin. Universitas Padjadjaran : Jatinangor. 23 hlm.
- Sarjono, Purbowatiningrum R. dan Nies S. Mulyani. 2007. Aktivitas Antibakteri Rimpang Temu Putih (*Curcuma mangga* Vall). *Jurnal Sains & Matematika.* ISSN 0854-0675. **15** (2) : 89 – 93.
- Scales, B. S., R. P. Dickson, J. J. LiPuma dan G. B. Huffnagle. 2014. Microbiology, Genomics, and Clinical Significance of the *Pseudomonas fluorescens* Species Complex, an Unappreciated Colonizer of Humans. *Clinical Microbiology Journal.* **27** (4) : 927 – 948.
- Setyaningsih, D., C. Pandji dan D. D. Perwasari. 2014. Kajian Aktivitas Antioksidan Dan Antimikroba Fraksi Dan Ekstrak Dari Daun Dan Ranting Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) Serta Pemanfaatannya Pada Produk *Personal Hygiene*. *Agritech.* **34** (2) : 126 – 137.
- Suryana. 2010. Metodologi Penelitian. Universitas Pendidikan Indonesia : Jakarta. 58 hlm.
- Suryawiria, U. 2005. Mikrobiologi Dasar. Papas Sinar Sinanti : Jakarta.
- Susilowati, A. B. 2014. Pengaruh Getah Tanaman Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) Terhadap Daya Hambat Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara *In Vitro*. Universitas Hasanuddin Makassar. 45 hlm.

Wei-wei, Z., H. Yong-hua, W. Hua-lei dan S. Li. 2009. Identification and characterization of a virulence-associated protease from a pathogenic *Pseudomonas fluorescens* strain. *Veterinary Microbiology*. **139** : 183 – 188.

Wibisono, D. 2013. Panduan Penyusunan Skripsi, Tesis dan Disertasi. C.V Andi Offset : Yogyakarta. 556 hlm.

Wiyanto. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rumput Laut *Kappaphycus alvarezii* dan *Eucheuma denticullatum* Terhadap Bakteri *Aeromonas hydrophila* dan *Vibrio harveyi*. *Jurnal Kelautan*. **3** (1) : 1 – 17.

Yuliartati, Eka. Tingkat Serangan Ektoparasit Pada Ikan Patin (*Pangasius djambal*) Pada Beberapa Pembudidaya Ikan Di Kota Makassar. Universitas Hasanuddin : Makassar. 65 hlm.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Alat-alat Penelitian



Oven



Lemari Pendingin



Inkubator



Autoklaf



Laminar Air Flow



Cawan Petri

Lampiran 1. (Lanjutan)



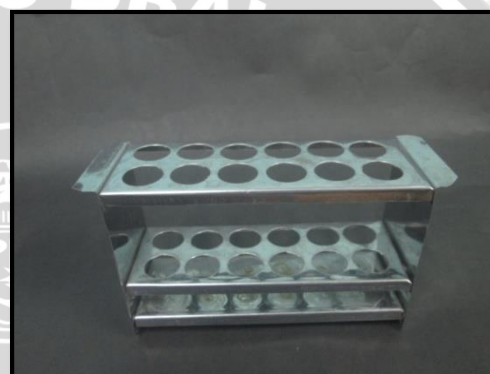
Gelas Ukur



Beaker Glass



Tabung Reaksi



Rak Tabung Reaksi



Corong Kaca



Erlenmeyer

Lampiran 1. (Lanjutan)



Jarum Osse, Spatula dan Pinset



Mikropipet dan Blue Tip



Timbangan Digital



Nampan



Jangka Sorong



Botol film

Lampiran 2. Bahan-Bahan Penelitian



Serbuk Daun Jarak



Kertas Cakram



Akuades



DMSO 10%

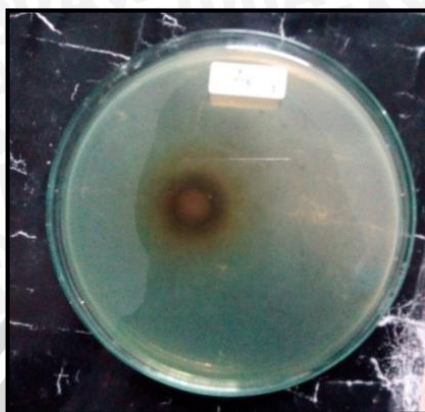


Etanol 96% dan Alkohol 70%

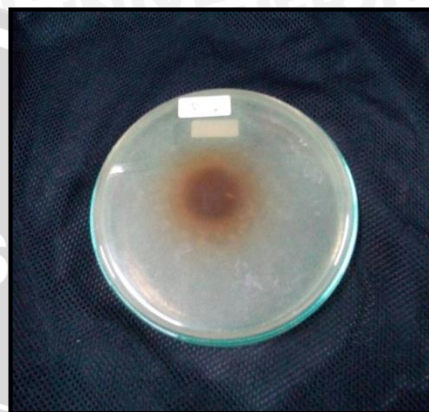


Kapas

Lampiran 3. Hasil Uji Cakram Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Jarak (*Jatropha curcas*) terhadap Daya Hambat Bakteri *Pseudomonas fluorescens* Secara *In Vitro*



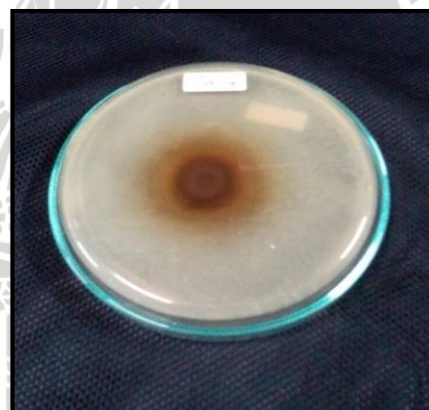
Perlakuan A1 dosis 5 ppt



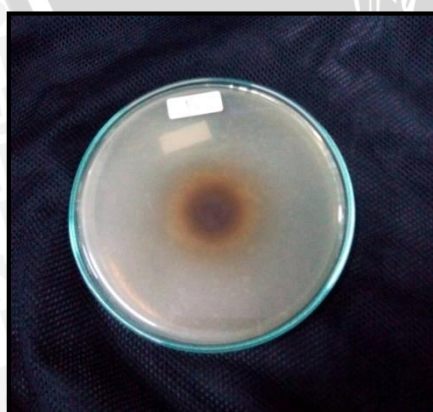
Perlakuan A2 dosis 5 ppt



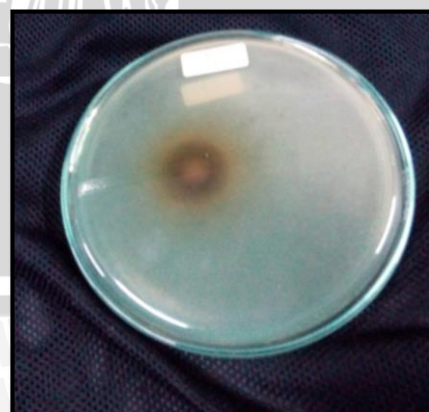
Perlakuan A3 dosis 5 ppt



Perlakuan B1 dosis 11 ppt



Perlakuan B2 dosis 11 ppt

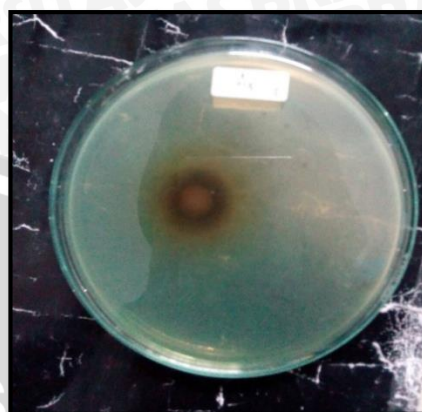


Perlakuan B3 dosis 11 ppt

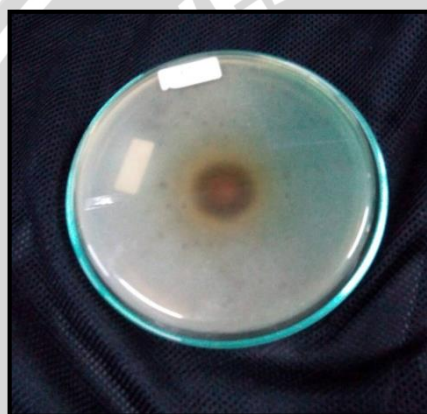
Lampiran 3. (Lanjutan)



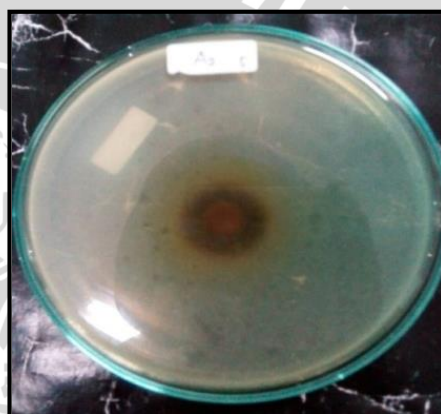
Perlakuan C1 dosis 17 ppt



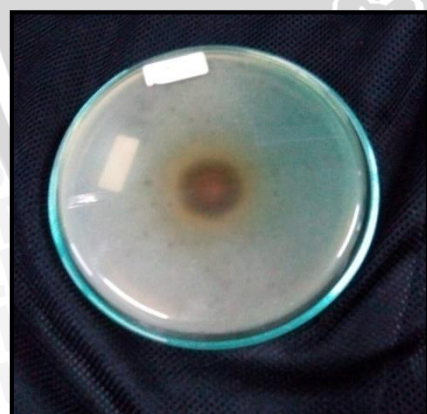
Perlakuan C2 dosis 17 ppt



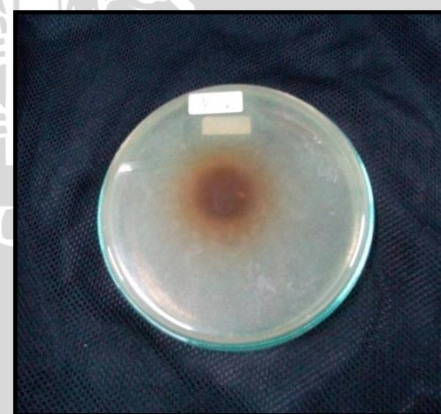
Perlakuan C3 dosis 17 ppt



Perlakuan D1 dosis 23 ppt

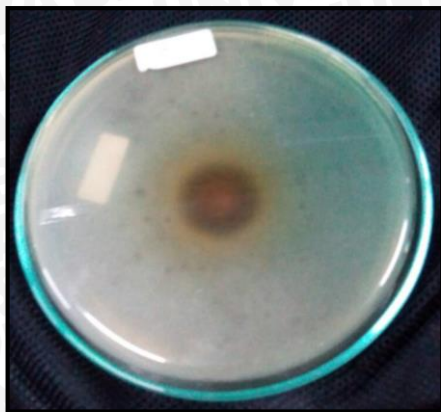


Perlakuan D2 dosis 23 ppt

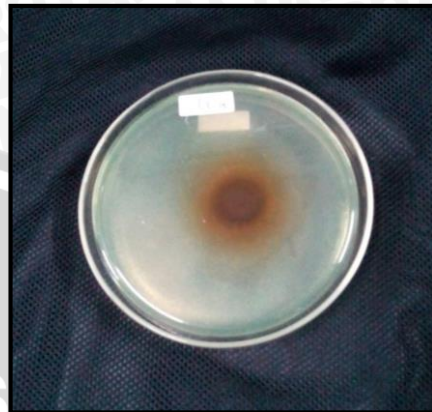


Perlakuan D3 dosis 23 ppt

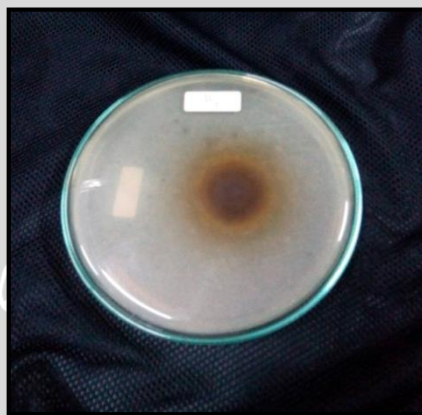
Lampiran 3. (Lanjutan)



Perlakuan E1 dosis 29 ppt



Perlakuan E2 dosis 29 ppt



Perlakuan E3 dosis 29 ppt

Lampiran 4. Analisis Data Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun jarak (*J. curcas*) Terhadap Bakteri *P. fluorescens* Secara *In Vitro*

❖ **Data Diameter Hambatan (mm) Bakteri *Pseudomonas fluorescens***

Perlakuan	R1	R2	R3	Total	Rerata	R1 ²	R2 ²	R3 ²	ΣR ²
A	6.87	5.46	7.72	20.05	6.68	47.20	29.81	59.60	136.61
B	8.71	7.92	6.91	23.54	7.85	75.86	62.73	47.75	186.34
C	8.95	9.68	10.63	29.26	9.75	80.10	93.70	113.00	286.80
D	10.88	11.36	10.58	32.82	10.94	118.37	129.05	111.94	359.36
E	12.75	11.83	13.29	37.87	12.62	162.56	139.95	176.62	479.14
Total				143.54					1448.24

Perhitungan :

$$\begin{aligned}
 1. \text{ Faktor Koreksi (FK)} &= \frac{G^2}{N} \\
 &= \frac{143.54^2}{15} \\
 &= 1373,58 \\
 2. \text{ JK total} &= \sum x_{ij}^2 - FK \\
 &= (A1^2 + A2^2 + A3^2 + \dots + D3^2) - FK \\
 &= (6,87^2 + 5,46^2 + 7,72^2 + \dots + 13,29^2) - 1373,58 \\
 &= 74,66 \\
 3. \text{ JK Perlakuan} &= \frac{\sum (\sum xi)^2}{r} - FK \\
 &= \frac{(TA^2 + TB^2 + TC^2 + TD^2)}{r} - FK \\
 &= \frac{20,05^2 + 23,54^2 + 29,26^2 + 32,82^2 + 37,87^2}{3} - 1373,58 \\
 &= 67,61
 \end{aligned}$$

Lampiran 4. (Lanjutan)

4. JK galat = JK Total - JK Perlakuan

= 74,66 – 67,61

= 7,05

5. db Total = (n x r) - 1

= (4 x 3) - 1

= 11

6. db Perlakuan = n - 1

= 4 – 1

= 3

7. db Galat = db Total - db Perlakuan

= 14 - 3

= 11

❖ **Analisa Sidik Ragam dengan Uji F tabel dalam Statistik Rancangan Percobaan Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Jarak (*Jatropha curcas*) Terhadap Daya Hambat Bakteri *Pseudomonas fluorescens* Secara *In vitro***

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	4	67.61	16.90	23.96**	3.48	5.99
Galat	10	7.05	0.71			
Total	14					

Berdasarkan hasil analisa sidik ragam di atas menunjukkan bahwa nilai F hitung (23,96) lebih besar dari F tabel 5% yaitu 3,48 maupun F tabel 1% sebesar 5,99 maka H_0 ditolak, hal ini berarti bahwa perbedaan perlakuan berpengaruh sangat nyata. Setelah H_0 ditolak, selanjutnya apabila ingin diketahui antar perlakuan (rata-rata) mana yang berbeda nyata, maka untuk mengetahui hal tersebut dilakukan uji nilai tengah (rata-rata) antar perlakuan atau disebut dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

Lampiran 4. (Lanjutan)

- ❖ Hasil Uji BNT Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Jarak (*Jatropha curcas*) Terhadap Daya Hambat Bakteri *Pseudomonas fluorescens* Secara *In vitro*

Perlakuan	A (6.68)	B (7.85)	C (9.75)	D (10.94)	E (12.62)	notasi
A (6.68)	-					a
B (7.85)	1.16 ^{ns}	-				a
C (9.75)	3.07**	1.91**	-			b
D (10.94)	4.26**	3.09**	1.19 ^{ns}	-		b
E (12.62)	5.94**	4.78**	2.87**	1.68*	-	c

*) berbeda nyata

**) berbeda sangat nyata

$$SED = \sqrt{\frac{2 \times KT \text{ galat}}{\text{ulangan}(r)}} = \sqrt{\frac{2 \times 0.71}{3}} = 0.69$$

$$BNT \ 5\% = t_{(0,05;dbG)} SED = 2,31 \times 0.69 = 1.24$$

$$BNT \ 1\% = t_{(0,01;dbG)} SED = 3,36 \times 0.69 = 1.89$$

- ❖ Tabel Uji Polinomial Orthogonal

Perlakuan	Data (Ti)	Perbandinagn Ci			
		Linear	Kuadratik	Kubik	Kuartik
A	20.05	-2	2	-1	1
B	23.54	-1	-1	2	-4
C	29.26	0	-2	0	6
D	32.82	1	-2	-2	-4
E	37.87	2	2	1	1
Q=ΣCi*Ti		44.92	0.96	-0.74	8.04
Hasil Kuadrat		10	14	10	70
Kr=(ΣCi^2)*r		30	42	30	210
JK=Q^2/Kr		67.62	0.02	0.02	0.31

Lampiran 4. (Lanjutan)

❖ Tabel Sidik Ragam Regresi Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Jarak (*Jatropha curcas*) Terhadap Daya Hambat Bakteri *P. fluorescens* Secara In Vitro

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	4	67.61			3.48	5.99
Linier	1	67.26	67.26	95.37**		
Kuadratik	1	0.02	0.02	0.03 ^{ns}		
Kubik	1	0.02	0.02	0.03 ^{ns}		
Kuartik	1	0.31	0.31	0.44 ^{ns}		
Galat	10	7.05	0.71			
Total	14					

Dari hasil sidik ragam terlihat bahwa regresi linier berbeda sangat nyata, berarti regresi yang sesuai untuk kurva respon ini adalah regresi linier.

Mencari persamaan linier $y = b_0 + b_1x$

X	Y	X.Y	X ²
5	6.87	34.35	25
5	5.46	27.30	25
5	7.72	38.60	25
11	8.71	95.81	121
11	7.92	87.12	121
11	6.91	76.01	121
17	9.68	164.56	289
17	8.95	152.15	289
17	10.63	180.71	289
23	10.88	250.24	529
23	11.36	261.28	529
23	10.58	243.34	529
29	12.75	369.75	841
29	11.83	343.07	841
29	13.29	385.41	841
$\Sigma = 255$	143.54	2709.70	5415
$\bar{X} = 17$	9.57		

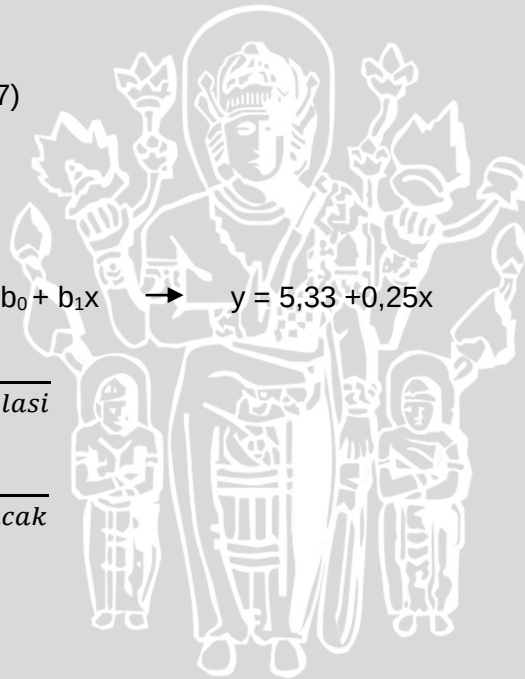
Lampiran 4. (Lanjutan)

$$\begin{aligned}
 B_1 &= \frac{\sum xy - (\sum x * \sum y)/n}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}} \\
 &= \frac{2709,7 - (255 * 143,54)/15}{5415 - \frac{(255)^2}{15}} \\
 &= \frac{2709,7 - 2440,18}{5415 - 4335} \\
 &= \frac{269,52}{1080} \\
 &= 0,25
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 B_0 &= \bar{y} - b_1 \bar{x} \\
 &= 9,57 - (0,25 \times 17) \\
 &= 9,57 - 4,24 \\
 &= 5,33
 \end{aligned}$$

Persamaan linier : $y = b_0 + b_1x \rightarrow y = 5,33 + 0,25x$

$$\begin{aligned}
 R^2 &= \frac{JK \text{ regresi}}{JK \text{ total terkorelasi}} \\
 &= \frac{JK \text{ regresi}}{JK \text{ regresi} + JK \text{ acak}} \\
 &= \frac{67,61}{67,61 + 7,05} \\
 &= \frac{67,61}{74,66} \\
 &= 0,906
 \end{aligned}$$



Lampiran 4. (Lanjutan)

- ❖ Grafik Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Jarak (*Jatropha curcas*) Terhadap Daya Hambat Bakteri *P. fluorescens* Secara *In Vitro*

