

**PENGGUNAAN EKSTRAK DAUN SAGA (*Abrus precatorius*) TERHADAP  
BAKTERI *Pseudomonas fluorescens* SECARA IN VITRO**

**SKRIPSI**

Oleh:

**FITRI ARI ANDRIANI  
NIM. 155080501111031**



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN  
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERIKANAN  
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2019**

**PENGGUNAAN EKSTRAK DAUN SAGA (*A. precatorius*) TERHADAP  
BAKTERI *P. fluorescens* SECARA IN VITRO**

**SKRIPSI**

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

Oleh:

**FITRI ARI ANDRIANI  
NIM. 155080501111031**

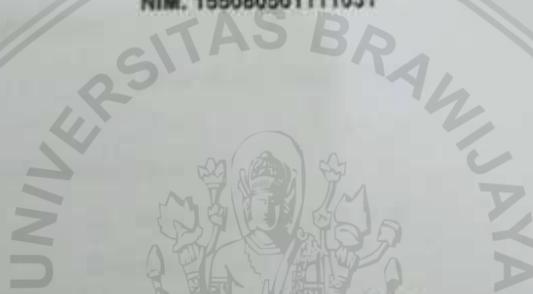


**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN  
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERIKANAN  
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
APRIL, 2019**

SKRIPSI

PENGUNAAN EKSTRAK DAUN SAGA (*A. precatorius*) TERHADAP  
BAKTERI *P. fluorescens* SECARA IN VITRO

Oleh:  
FITRI ARI ANDRIANI  
NIM. 155080501111031



Mengetahui,  
Ketua Jurusan,



(Dr. Ir. M. Firdaus, MP)  
NIP. 19680819 200501 1 001  
Tanggal : 09 MAY 2019

Menyetujui,  
Dosen Pembimbing,

(Prof. Dr. Ir. Arief Pralitno, MS)  
NIP. 195502131984031001  
Tanggal : 09 MAY 2019



## IDENTITAS TIM PENGUJI

Judul : Penggunaan Ekstrak Daun Saga (*A. precatorius*) Sebagai Antibakteri *P. fluorescens* Secara *In Vitro*

Nama Mahasiswa : Fitri Ari Andri ani

Nim : 155080501111031

Program Studi : Budidaya Perairan

### PENGUJI PEMBIMBING :

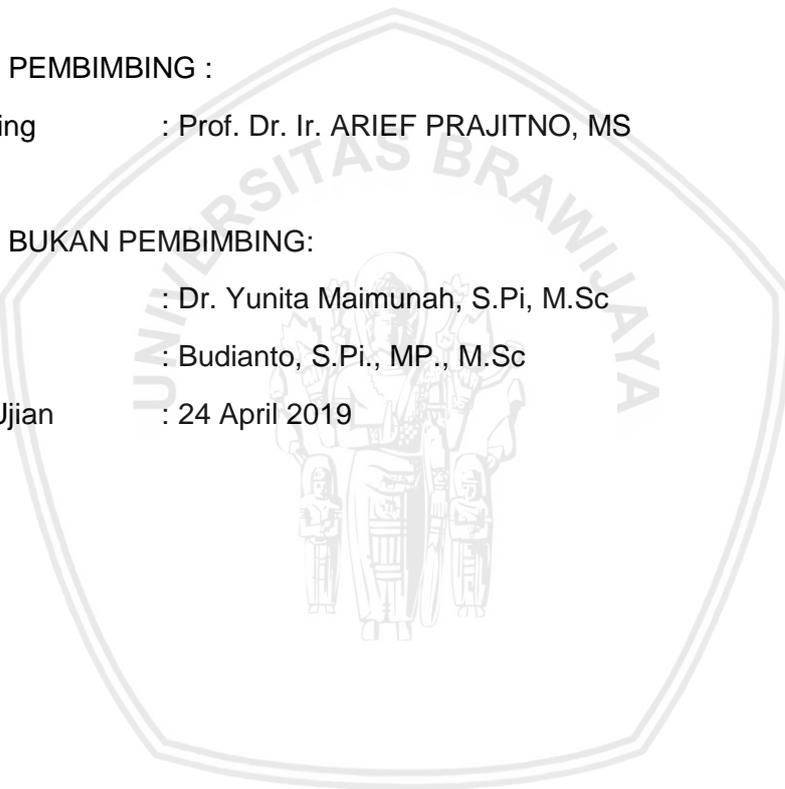
Pembimbing : Prof. Dr. Ir. ARIEF PRAJITNO, MS

### PENGUJI BUKAN PEMBIMBING:

Penguji 1 : Dr. Yunita Maimunah, S.Pi, M.Sc

Penguji 2 : Budianto, S.Pi., MP., M.Sc

Tanggal Ujian : 24 April 2019



## PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, dan sepanjang pengetahuan saya juga 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 akan menerima sanksi atas perbuatan tersebut, sesuai hukum yang berlaku di Indonesia.



Malang, Mei 2019

Mahasiswa

Fitri Ari Andriani

## UCAPAN TERIMAKASIH

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT karena atas limpahan rahmat dan hidayahnya penulis dapat menyelesaikan laporan PKM ini. Penulis juga menyampaikan ucapan terimakasih kepada:

1. Kedua orang tua Bapak Sunandar dan Ibu Sringing yang telah memberikan bantuan moril maupun materil selama pelaksanaan kegiatan penelitian ini.
2. Prof. Dr.Ir. Arief Prajitno, MS selaku pembimbing yang telah meluangkan waktu, memberikan ilmu maupun materil serta bimbingan dalam pelaksanaan penelitian ini.
3. Dr. Yunita Maimunah, S.Pi, M.Sc dan Budianto, S.Pi., MP., M.Sc selaku dosen penguji atas dedikasi dan juga waktu luangnya untuk hadir dalam ujian skripsi penulis.
4. Seluruh pihak yang membantu selama proses penelitian skripsi ini

Malang, Mei 2019

Penulis

## RINGKASAN

**Fitri Ari Andriani . Penggunaan Ekstrak Daun Saga (*A. precatorius*) Sebagai Antibakteri *P. fluorescens* Secara *In Vitro*. Di bawah bimbingan Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS.**

---

Sektor perikanan dan kelautan merupakan salah satu sektor ekonomi yang memiliki peranan penting dalam kehidupan. Salah satu kendala dalam usaha perikanan adalah timbulnya penyakit yang menginfeksi pada ikan yang dibudidayakan. Salah satu penyakit yang disebabkan oleh bakteri adalah penyakit merah yang disebabkan oleh *P. fluorescens*.

Pencegahan terhadap penginfeksi bakteri pada umumnya dilakukan dengan pemberian antibiotik dan bahan kimia. Namun penggunaan antibiotik secara berlebihan dapat menyebabkan resistensi. Oleh karena itu dibutuhkan pengobatan yang aman bagi pembudidaya dan ramah lingkungan. Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk mengobati penyakit bakterial yaitu dengan menggunakan tanaman herbal yang mempunyai kemampuan anti bakteri yaitu dengan menggunakan tanaman daun saga (*A. precatorius*).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penggunaan ekstrak daun saga (*A. precatorius*) sebagai antibakteri *P. fluorescens* secara *in vitro*. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Budidaya Ikan Divisi Parasit dan Kesehatan Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang pada bulan Januari 2019 – Maret 2019.

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen dengan 2 kontrol, yaitu kontrol positif dengan menggunakan kertas cakram pada dosis 5000 ppm dan kontrol negatif dengan menggunakan larutan DMSO 10%. Rancangan penelitian ini dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan menggunakan 5 perlakuan dengan 3 kali ulangan. Konsentrasi ekstrak daun saga (*A. precatorius*) yang digunakan yaitu 300 ppm (A), 600 ppm (B), 900 ppm (C), 1200 ppm (D), 1500 ppm (E). Semua kertas cakram direndam selama 15 menit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan pemberian ekstrak daun saga (*A. precatorius*) terhadap bakteri *P. fluorescens* selama 24 jam diperoleh hasil berbeda nyata yaitu pada pengamatan diameter zona bening didapatkan nilai tertinggi pada perlakuan D (1200 ppm) dengan rata-rata 8,39 mm. Sedangkan rata-rata zona bening terendah pada perlakuan E (1500 ppm) sebesar 7,66 mm. Dosis optimum yaitu 900 ppm pada perlakuan C diperoleh hasil zona bening yaitu 8,31 mm. Zona bening yang dihasilkan pada masing-masing perlakuan menunjukkan peningkatan secara kuadratik dengan persamaan  $y = -0,0000015x^2 + 0,0027x + 7,1$  koefisien  $R^2 = 0,70$ .

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa karena atas limpahan rahmat dan karunia-Nya, sehingga kami dapat menyusun Laporan Skripsi dengan judul Penggunaan Ekstrak Daun Saga (*A. precatorius*) Terhadap Bakteri *P. fluorescens* Secara *In Vitro* dengan baik dan tepat waktu tanpa ada halangan suatu apapun. Laporan Skripsi ini disusun sebagai salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS selaku dosen pembimbing yang selalu sabar dalam membimbing, memberi saran dan dukungan kepada penulis. Kami sudah berusaha semaksimal mungkin untuk menyelesaikan laporan skripsi ini. Namun kritik dan saran yang bersifat membangun masih kami harapkan dari pembaca untuk penyempurna laporan skripsi ini. Akhir kata semoga laporan ini dapat memberikan manfaat bagi kita semua.

Malang, April 2019

Penulis

## DAFTAR ISI

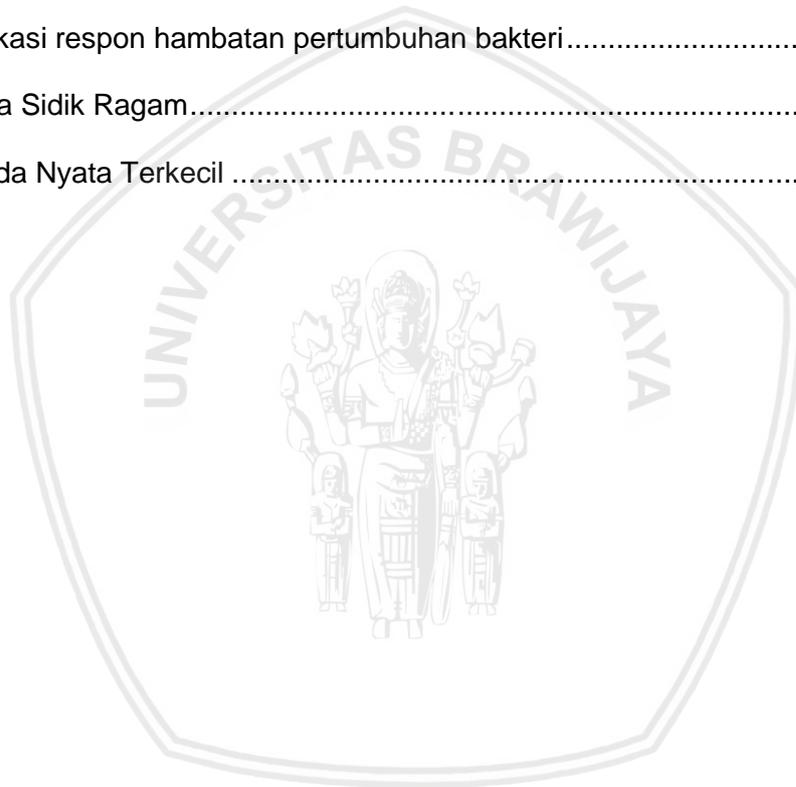
	HALAMAN
HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN .....	Error! Bookmark not defined.
IDENTITAS TIM PENGUJI .....	iv
PERNYATAAN ORISINALITAS.....	v
UCAPAN TERIMAKASIH.....	v
RINGKASAN.....	vii
KATA PENGANTAR .....	viii
DAFTAR ISI .....	viii
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
<b>1. PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	5
1.3 Tujuan .....	5
1.4 Hipotesis .....	5
1.5 Kegunaan.....	6
1.6 Tempat dan Waktu .....	6
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>7</b>
2.1 Bakteri <i>Pseudomonas fluorescens</i> .....	7
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi .....	7
2.1.2 Habitat dan Penyebaran .....	8
2.1.3 Infeksi dan Penyerangan .....	8
2.2 Biologi Tanaman Saga ( <i>Abrus precatorius</i> ) .....	12
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi .....	12
2.2.2 Habitat dan Penyebaran .....	14
2.2.3 Kandungan Bahan Aktif .....	14
2.3. Mekanisme Kerja Antimikroba .....	15
<b>3. MATERI DAN METODE .....</b>	<b>17</b>
3.1 Materi Penelitian .....	17
3.1.1 Alat Penelitian.....	17
3.1.2 Bahan Penelitian.....	18
3.2 Metode Penelitian.....	18
3.3 Rancangan Penelitian .....	19
3.4 Prosedur Penelitian .....	21
3.4.1 Pembuatan Ekstak Daun Saga ( <i>A. precatorius</i> ) .....	21
3.4.2 Uji Fitokimia .....	22
3.4.3 Sterilisasi Alat dan Bahan .....	24
3.4.4 Pembuatan Media Agar Miring.....	25
3.4.5 Pembuatan Media TSB ( <i>Tryptitone Soy Broth</i> ) .....	25

3.4.6 Pembuatan Media PSA ( <i>Pseudomonas Selective Agar</i> ) .....	26
3.4.7 Pembuatan Nafis (Natrium Fisiologi).....	26
3.4.8 Peremajaan Bakteri <i>P. fluorescens</i> .....	27
3.4.9 Kultur Bakteri <i>P. fluorescens</i> .....	27
3.4.10 Pengenceran Bakteri <i>P. fluorescens</i> .....	28
3.4.11 Pembuatan Dosis Ekstrak Daun Saga ( <i>A. precatorius</i> ) .....	28
3.4.12 Pewarnaan Gram.....	29
3.5 Pelaksanaan Penelitian.....	30
3.5.1 Uji Cakram.....	30
3.5.2 Parameter Uji.....	31
3.5.3 Analisa Data .....	31
<b>4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>32</b>
4.1 Identifikasi Bakteri <i>P. fluorescens</i> .....	32
4.2 Uji Fitokimia.....	34
4.3 Uji Cakram .....	35
4.4 Parameter Penunjang .....	42
<b>5. KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>43</b>
5.1 Kesimpulan.....	43
5.2 Saran.....	43
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>43</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>49</b>



## DAFTAR TABEL

TABEL	HALAMAN
1. Alat-Alat Penelitian .....	17
2. Bahan-bahan Penelitian.....	18
3. Hasil Uji Fitokimia Daun Saga ( <i>A. precatorius</i> ).....	34
4. Data hasil pengukuran Zona bening .....	37
5. Klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri.....	37
6. Analisa Sidik Ragam.....	38
7. Uji Beda Nyata Terkecil .....	39



## DAFTAR GAMBAR

<b>GAMBAR</b>	<b>HALAMAN</b>
1. Bakteri <i>P. fluorescens</i> .....	7
2. Fase Pertumbuhan Bakteri .....	10
3. Daun Saga.....	13
4. Denah Rancangan Percobaan.....	20
6. Bakteri <i>P. fluorescens</i> pembesaran 1.000x.....	32
7. Hasil Uji Cakram .....	36
8. Grafik Hubungan Zona Hambat antar Perlakuan .....	39



## DAFTAR LAMPIRAN

LAMPIRAN	HALAMAN
1. Hasil Uji Biokimia Baketri <i>P. fluorescens</i> .....	49
2. Hasil Uji Fitokimia Daun Saga ( <i>A. Precatorius</i> ) .....	50
3. Alat dan Bahan .....	51
4. Pembuatan Ekstrak Kasar Daun Saga ( <i>A. precatorius</i> ).....	57
5. Pembuatan Media Agar Miring dan Peremajaan Bakteri.....	57
6. Kultur bakteri <i>P. fluorescens</i> .....	59
7. Pembuatan Media Cair ( <i>Tryptic Soy Borth</i> ).....	61
8. Pembuatan Natrium Fisiologi .....	62
9. Pengenceran Bakteri <i>P. fluorescens</i> .....	63
10. Pembuatan Dosis .....	64
11. Uji Cakram .....	65
12. Hasil Uji Cakram .....	66
13. Perhitungan Ekstrak Dosis.....	68
14. Analisa Data Uji Daya Hambat.....	70



## 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara kepulauan, dimana wilayahnya dikelilingi oleh lautan yang luas dan sangat potensial untuk melakukan pengembangan kegiatan perikanan. Menurut Lasabuda (2013), secara geografis Indonesia membentang dari 6<sup>o</sup> LU sampai 11<sup>o</sup> LS dan 92<sup>o</sup> sampai 142<sup>o</sup> BT, terdiri dari pulau-pulau besar dan pulau kecil dengan jumlah kurang lebih 17, 504 pulau. Tiga perempat wilayah Indonesia adalah laut yaitu sekitar 5, 9 juta km<sup>2</sup> (terdiri atas 3, 2 juta km<sup>2</sup> perairan teritorial dan 2, 7 juta km<sup>2</sup> perairan zona ekonomi eksklusif, luas perairan ini belum termasuk landas kontinen) serta panjang garis pantai yaitu 95.161 km. Luas laut yang besar ini dapat menjadikan negara Indonesia unggul dalam bidang perikanan dan kelautan. Landas kontinen merupakan dasar laut yang merupakan kelanjutan dari benua, kedalaman landas kontinen tidak lebih dari 150 meter.

Sektor perikanan dan kelautan merupakan salah satu sektor ekonomi yang memiliki peranan dalam pembangunan ekonomi nasional, perolehan devisa, dan penyedia lapangan pekerjaan. Selain itu ikan merupakan produk utama dari bidang perikanan penghasil protein hewani yang dibutuhkan oleh manusia. Salah satu kendala dalam usaha peningkatan dan pengembangan perikanan adalah masalah-masalah penyakit yang sering menyerang pada ikan yang dibudidayakan. Diantara penyakit-penyakit tersebut adalah penyakit infeksi yang disebabkan oleh virus, bakteri, jamur, protozoa dan parasit. Penyakit non infeksi diakibatkan oleh lingkungan, pakan, genetik dan tumor (Jasmanindar, 2011).

Menurut Afrianto, Liviawaty, Jamaris dan Hendi (2015), penyakit adalah segala bentuk penyimpangan yang dapat menyebabkan ikan merasa terganggu kehidupannya. Penyakit sebagai sesuatu keadaan fisik, kimia, biologis, morfologi

dan atau fungsi yang mengalami perubahan dari kondisi normal karena penyebab dari dalam (internal) dan luar (eksternal). Penyebab penyakit dapat berasal dari tubuh ikan sendiri atau dari luar. Penyebab penyakit dari dalam tubuh ikan antara lain akibat keturunan (genetik), sekresi internal, kelainan saraf atau gangguan metabolik. Adapun penyebab penyakit dari luar tubuh ikan antara lain serangan patogen, hama, akibat pengaruh lingkungan, dan pakan (malnutrisi).

Penyakit ikan adalah penyebab keadaan tidak normal pada ikan atau hewan inang yang disebabkan oleh organisme lain, virus atau kondisi lingkungan nutrisi baik secara langsung maupun tidak langsung. Gangguan terhadap ikan dapat disebabkan oleh faktor biotik yaitu faktor yang meliputi semua makhluk hidup, baik tumbuhan, hewan maupun mikroorganisme seperti jamur, bakteri dan alga. Gangguan dapat pula disebabkan oleh faktor abiotik yaitu faktor lingkungan seperti pH, suhu dan kondisi perairan serta faktor pakan atau nutrisi. Pada dasarnya kejadian sakit akan berlangsung ketika terjadi interaksi negatif antara faktor lingkungan, parasit dan ikan sebagai inang yaitu kondisi lingkungan buruk, parasit atau patogen yang hadir dalam jumlah yang besar dan inang dalam keadaan lemah (Rahmaningsih, 2018).

Penyakit yang disebabkan oleh bakteri merupakan penyakit yang paling umum menyerang ikan yang dibudidayakan. Bakteri sendiri merupakan salah satu golongan organisme prokariotik (tidak mempunyai selubung inti) namun bakteri memiliki informasi genetik berupa DNA yang berbentuk panjang dan bisa disebut nucleoid (Holderman, Queljoe dan Rondonuwu, 2017). Bakteri merupakan jasad renik yang sangat kecil dengan ukuran sekitar 20 kali lebih kecil daripada sel-sel jamur, protozoa atau sel daging ikan. Bakteri sangat banyak terdapat di lingkungan alam semesta dan sebagian besar bakteri itu sendiri sebenarnya tidak menyebabkan penyakit. Namun, karena bakteri mampu

memperbanyak diri sangat cepat, maka jika tidak ditanggulangi san terdapat dalam tubuh ikan dapat menyebabkan penyakit (Murtidjo, 2002).

Bakteri merupakan patogen yang sangat ditakuti oleh banyak peternak ikan, udang dan kerang-kerangan. Karena organisme mikro ini dapat mengancam bahkan menyebabkan kematian masal pada ikan dan udang. Hal ini tentu akan sangat merugikan sektor perikanan dan juga dapat mengancam pada kesehatan manusia (Rahmaningsih, Wilis dan Mulyana 2012).

Salah satu penyakit yang disebabkan oleh bakteri adalah penyakit merah yang disebabkan oleh *P. fluorescens*. *P. fluorescens* adalah bakteri yang sering ditemukan di tanah, udara dan air. Bakteri ini juga merupakan salah satu komponen paling dominan dari ekosistem air tawar. *P. fluorescens* sebagai organisme pembusuk dan patogen umum atau sekunder dari jaringan ikan yang rusak. *P. fluorescens* dapat menyebabkan penyakit pada berbagai spesies ikan. *P. fluorescens* sering menginfeksi pada bagian sirip atau ekor membusuk. Ikan yang terinfeksi bakteri ini ditandai adanya lesi kulit hemoragik dan pada dasar sirip (Darak dan Barde, 2015).

Bakteri *P. fluorescens* tergolong jenis bakteri gram negatif, berbentuk batang dengan ukuran sekitar 2-3  $\mu$  dan mempunyai flagel untuk bergerak. Hampir semua bagian tubuh ikan dapat terinfeksi oleh bakteri ini. Penginfeksi bakteri ini menimbulkan kematian sehingga kerugian yang ditimbulkan sangat besar. Penularannya dapat melalui air, alat-alat, bagian tubuh ikan yang telah terinfeksi, melalui hewan dan melalui tumbuhan air (Cahyono, 2001).

Infeksi pseudomonas pada ikan menyebabkan penyakit yang disebut kulit merah. Karena kurangnya cara yang efektif untuk mengendalikan penyakit ini sering menyebabkan kematian yang tinggi, sehingga menyebabkan kerugian besar (Mastan, 2013). Serangan *Pseudomonas* sp. dapat menyebabkan

kematian pada ikan mas sebesar 30-80% (Murwantoko, Rozi, Istoqomah dan Nitimulyo, 2013).

Pencegahan yang dapat dilakukan untuk mengatasi bakteri yang menginfeksi ikan yaitu dengan pemberian antibiotik dan bahan kimia. Antibiotik sudah lama digunakan dalam pengobatan penyakit ikan, namun penggunaan antibiotik secara berlebihan dapat menyebabkan resistensi mikroorganisme patogen dan terakumulasi pada ikan dan lingkungannya (Lengka, Manoppo dan Kolopita, 2013). Sedangkan penggunaan bahan kimia yang berlebihan juga dapat mengakibatkan keracunan, kematian hewan perairan dan biota air, terjadinya resistensi serta pencemaran lingkungan hidup (Pangaribuan, Pribadi dan Indriyati, 2012). Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk mengobati penyakit bakterial yaitu dengan menggunakan bahan alami yang mempunyai kemampuan anti bakteri (Simatupang dan Anggraini, 2013). Contoh tanaman alami yang dapat digunakan untuk pengobatan ikan yaitu kunyit, bawang putih, mengkudu, kulit manggis, jeruk nipis dan daun saga.

Saga (*A. precatorius*) merupakan tanaman obat yang dapat tumbuh liar di hutan, semak belukar, atau ditanam di pekarangan. Daun saga mengandung alkaloid, flavonoid, dan saponin yang berfungsi sebagai antibakteri. Secara tradisional daun saga banyak digunakan masyarakat sebagai obat sariawan, batuk kering, bronkitis, sakit tenggorok, radang amandel, sakit kuning, hepatitis, kencing terasa panas, dan panas dalam (Marhamah, 2015).

Daun saga merupakan tanaman merambat yang biasa tumbuh liar di hutan, ladang, halaman dan tempat lain pada ketinggian 300 sampai 1000 m dari permukaan laut. Daun saga memiliki kandungan senyawa abrin yang bersifat sangat toksik, padahal daun saga banyak dimanfaatkan secara tradisional untuk mengobati berbagai penyakit. Pada daun saga juga terdapat senyawa flavonoid

yang telah diketahui mempunyai aktivitas sebagai antioksidan (Juniarti, Osmeli, dan Yuhernita, 2009).

Berdasarkan uraian diatas dapat diperoleh informasi bahwa daun saga memiliki kandungan senyawa flavonoid, saponin, alkaloid dan steroid yang berpotensi untuk dijadikan antibakteri, maka diperlukan penelitian lanjutan mengenai penggunaan ekstrak daun saga (*A. precatorius*) terhadap bakteri *P. fluorescens* secara *In Vitro*.

## 1.2 Rumusan Masalah

Penggunaan antibiotik dan bahan kimia untuk ikan dapat menyebabkan terjadinya resistensi bakteri terhadap bahan kimia yang digunakan. Oleh karena itu, diperlukan alternatif pengobatan dengan menggunakan bahan alami. Berdasarkan latar belakang, masalah ini belum diketahui pengaruh penggunaan ekstrak daun saga (*A. precatorius*) terhadap bakteri *P. fluorescens*. Maka didapatkan rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu:

- Apakah pemberian ekstrak daun saga (*A. precatorius*) berpengaruh terhadap bakteri *P. fluorescens* ?

## 1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun saga (*A. precatorius*) pada bakteri *P. fluorescens* secara *in vitro*.

## 1.4 Hipotesis

$H_0$  : Diduga pemberian ekstrak daun saga (*A. precatorius*) tidak berpengaruh terhadap bakteri *P. fluorescens* secara *in vitro*.

$H_1$  : Diduga pemberian ekstrak daun saga (*A. precatorius*) berpengaruh terhadap bakteri *P. fluorescens* secara *in vitro*.

### 1.5 Kegunaan

Kegunaan dari penelitian ini adalah untuk membuktikan dan mengetahui penggunaan ekstrak daun saga (*A. precatorius*) pada bakteri *Pseudomonas fluorescens* secara *in vitro*.

### 1.6 Tempat dan Waktu

Penelitian ini sudah dilaksanakan di Laboratorium Penyakit dan Kesehatan Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang pada bulan Januari 2019 – Maret 2019.



## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Bakteri *Pseudomonas fluorescens*

#### 2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Klasifikasi dari bakteri *P. Fluorescens* disajikan pada (Gambar 1.) menurut Siegrist, 2010 adalah sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria  
Phylum : Proteobacteria  
Class : Gamma Proteobacteria  
Order : Pseudomonadales  
Family : Pseudomonadaceae  
Genus : *Pseudomonas*  
Species : *P. fluorescens*



**Gambar 1.** Bakteri *P. fluorescens*  
(Scales, Dickson, Lipuma dan Huffnagle, 2014)

Bakteri *P. fluorescens* memiliki karakteristik seperti, gram negatif, berbentuk batang (*rods*), aerob obligat, motil mempunyai flagel (Suyono dan Salahudin, 2011). *P. fluorescens* merupakan bakteri yang berkoloni hidup pada

permukaan tanah, air dan tanaman. *P. fluorescens* merupakan gram negatif yang berbentuk batang (Ganeshan dan Kumar, 2005).

*P. fluorescens* merupakan bakteri gram negatif dengan bentuk batang yang memiliki ukuran 0.8 -1.0  $\mu\text{m}$  (Hardi dan Febrianto, 2012). Bakteri *P. fluorescens* menghasilkan pyocyanin yang merupakan pigmen biru-hijau (Meera dan Balabaskar, 2012). Bakteri *P. fluorescens* bersifat aerob berbentuk batang, katalase positif, oksidasi positif. Bakteri ini termasuk dalam famili Pseudomonadaceae (Manurung dan Susantie, 2017).

### 2.1.2 Habitat dan Penyebaran

Menurut Ganeshan dan Kumar, (2005), *P. fluorescens* merupakan bakteri yang biasanya ditemukan di tanah, air dan lingkungan permukaan tanaman. Bakteri ini termasuk bakteri gram negatif berbentuk batang. Bakteri *P. fluorescens* dapat hidup optimum berada pada kisaran suhu 30°C - 34°C (Sembiring dan Swiwuryandari, 2000).

*P. fluorescens* merupakan bakteri Gram-negatif yang secara umum sering ditemukan pada tanah, air, tanaman, dan hewan. Dalam budidaya bakteri ini merupakan patogen umum yang sering menginfeksi udang dan berbagai jenis ikan (Yuan-Yuan Sun, Heng Chi dan Li Sun, 2016). Bakteri *P. fluorescens* juga dapat ditemukan di epidermis dan rambut akar pada tanaman. Bakteri ini dapat menghasilkan lendir yang mirip dengan pektin (asam poligalakturonat) (Botelho, dan Hagler, 2006).

### 2.1.3 Infeksi dan Penyerangan

*P. fluorescens* adalah patogen akuakultur yang dapat menginfeksi banyak spesies ikan, termasuk ikan mas India, ikan mas hitam, ikan mas biasa, dan ikan flounder Jepang. Infeksi ikan oleh bakteri *P. fluorescens* dapat disebut juga penyakit kulit merah, yang dapat terjadi sepanjang tahun dan terutama pada ikan

terluka, misalnya, penanganan dan transportasi yang tidak tepat. Ketika kondisi lingkungan normal berubah, penyakit ini sering menyebabkan kematian, sehingga menyebabkan kerugian ekonomi yang besar (Younes, Mohamed, Eida MF, dan Gaafar AY, 2015).

Bakteri *Pseudomonas* merupakan patogen oportunistik yang menyerang ikan air tawar dan digolongkan ke dalam kelompok bakteri perusak sirip (*bacterial fin rot*). Gejala ikan yang terinfeksi bakteri ini adalah terdapat benjolan merah pada pangkal sirip dada, perut membengkak, tubuh penuh borok, pendarahan pada organ internal, sekitar mulut, opercula dan daerah, terjadi nekrosis pada jaringan limpa dan ginjal (Manurung dan Susantie, 2017).

#### **2.1.4 Pertumbuhan Bakteri**

Menurut Wignyanto dan Hidayat (2017), pertumbuhan bakteri dibagi menjadi empat tahapan yaitu fase lag, fase logaritma atau eksponensial, fase stasioner dan fase kematian adalah sebagai berikut:

1. Fase lag

Mikroorganisme mulai menyesuaikan diri dengan lingkungan baru, terjadi pada fase ini. Beberapa enzim dan zat perantara dibentuk agar keadaanya memungkinkan bisa terjadi untuk pertumbuhan lebih lanjut, pada fase ini ukuran sel telah membesar tetapi belum terjadi pembelahan diri.

2. Fase pertumbuhan atau eksponensial

Fase ini mengalami penambahan dalam hal jumlah dan ukuran. Terjadi periode waktu tertentu biomas menjadi dua kali lipat. Pada fase logaritma atau terkadang dikenal dengan fase eksponensial ini, jumlah sel yang ada dalam kultur mengalami kenaikan dalam jumlah yang pesat. Waktu generasi pada fase ini berlangsung singkat dan tetap. Metabolisme pada fase ini berlangsung paling cepat, jadi sintesis bahan sel sangat singkat dan tetap.

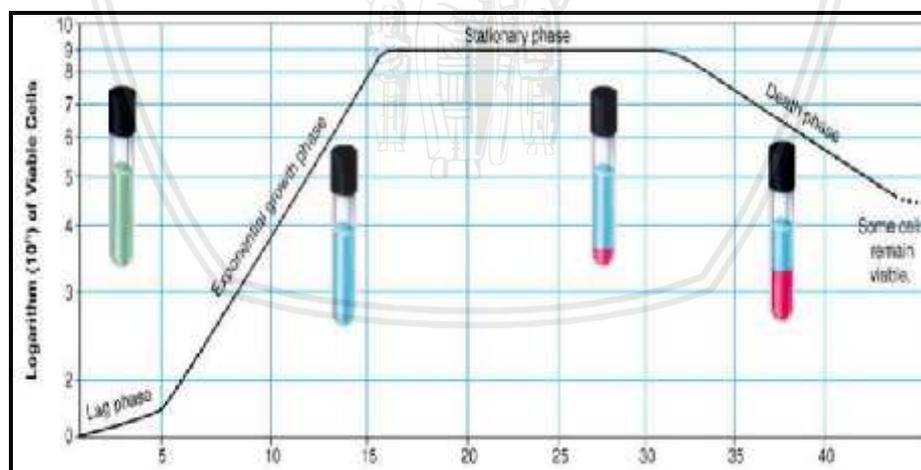
Kondisi ini berlangsung terus sampai salah satu atau beberapa nutrisi habis atau telah terjadi timbunan metabolisme yang bersifat racun yang menyebabkan pertumbuhan menjadi terhambat.

### 3. Fase stasioner

Pada fase ini mikroorganisme cenderung stabil, karena jumlah sel yang membelah diri dan yang mati sama. Kematian bakteri disebabkan karena adanya penurunan kandungan nutrisi dan meningkatnya timbunan zat-zat racun.

### 4. Fase kematian

Fase ini biasa dikenal dengan fase menurun. Pada fase ini kecepatan kematiannya semakin meningkat sedangkan kecepatan pembelahan terus menerus menurun akhirnya menjadi nol. Pada fase kematian logaritma kecepatan kematian menjadi maksimal dan jumlah sel yang mati meningkat dengan cepat. Kurva pertumbuhan bakteri disajikan pada Gambar 2.



**Gambar 2.** Fase Pertumbuhan Bakteri (Wignyanto dan Hidayat (2017))

Menurut Lestari dan Hartati, (2017), menyatakan bahwa faktor – faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri sebagai berikut:

#### 1. Suhu

Pada suhu rendah dibawah minimum bakteri tidak dapat berkembangbiak, bahkan ada yang tahan sampai bertahun-tahun pada suhu minus 70°C tetapi

bakteri patogen pada manusia umumnya cepat mati pada suhu 0°C. Pada suhu tinggi keberadaan bakteri lebih berbahaya, bila bakteri dipanaskan diatas suhu maksimum akan segera mati. Semua bakteri baik yang patogen atau tidak dalam bentuk vegetatifnya dalam 30 menit akan mati jika dipanaskan diatas suhu maksimum.

## 2. Cahaya

Cahaya mempengaruhi keberadaan bakteri. Hal ini terjadi pada beberapa spesies cahaya matahari dapat menyebabkan kematian bakteri karena adanya ultraviolet. Selain itu sebagian besar bakteri adalah kemotrof sehingga pertumbuhannya tidak tergantung cahaya.

## 3. Kelembapan

Air sangat penting untuk pertumbuhan bakteri karena hanya dapat mengambil makanan dalam bentuk larutan. Semua bakteri tumbuh dalam kondisi basah dan udara yang lembab dan tidak tumbuh pada media dan udara yang kering. Pada kondisi kering bakteri tidak dapat merombak bahan makanan. Tetapi di laboratorium bakteri dan virus dapat mempertahankan hidupnya dalam keadaan kering, jika perbenihan dibekukan secara cepat dan dikeringkan secara cepat juga dalam ruang hampa udara. Hal tersebut merupakan salah satu cara pembuatan cadangan (*stock*) bakteri, virus, enzim, toksin, plasma darah dan biasanya dibuat dalam bentuk serbuk.

## 4. Keasaman (pH)

Perubahan pH dapat menghambat pertumbuhan organisme. Perubahan pH dapat dicegah dengan menggunakan larutan penyangga (senyawa atau pasangan senyawa yang dapat menahan perubahan pH) seperti  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  dan  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  yang merupakan kombinasi garam – garam fosfat ke dalam media.

## 5. Pengaruh tekanan osmotik

Air keluar masuk melalui proses osmosis, untuk kelangsungan hidupnya. Protoplasma bakteri mengandung zat yang terlarut karena itu tekanan osmosisnya selalu lebih tinggi bila dibandingkan air murni. Jika sel bakteri dimasukkan ke dalam air murni maka akan terjadi mekanisme plasmolisis (bakteri dalam keadaan menggelembung). Tetapi jika bakteri berada dalam larutan hipertonis akan terjadi lepasnya plasma dari dinding sel yang menyebabkan kematian. Peristiwa ini digunakan dalam kehidupan sehari – hari untuk pengawetan makanan. Untuk kelangsungan hidupnya bakteri tidak mudah dipengaruhi oleh tekanan osmosis karena mempunyai membran sitoplasma.

## 2.2 Biologi Tanaman Saga (*Abrus precatorius*)

### 2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi

Klasifikasi Tanaman Saga (*A. precatorius*) disajikan pada (Gambar 3.) menurut Das, Jain dan Mishra (2016) adalah:

Kingdom	: Plantae
Division	: Magnoliophyta
Order	: Fabales
Family	: Fabaceae
Subfamily	: Faboideae
Genus	: <i>Abrus</i>
Species	: <i>A. precatorius</i>



**Gambar 3.** Daun Saga (Okhale dan Nwanosike, 2016).

Saga (*A. precatorius*) merupakan tanaman yang termasuk dalam famili fabaceae (Leguminosae) - keluarga kacang. Saga (*A. precatorius*) memiliki banyak cabang, ramping, abadi (dapat bertahan hidup dalam jangka panjang) gugur, kayu, berduri atau memanjat berduri. Saga (*A. precatorius*) juga memiliki bentuk batang silindris, berkerut, kulit kayu bertekstur halus, berwarna coklat. Daunnya menyirip dan gundul, dengan selebaran sebanyak  $\pm 12$  dengan panjangnya 2,5 cm dan lebar 1,5 cm. Saga (*A. precatorius*) memiliki bunga dengan ukuran 1-3 cm biasanya berwarna merah sampai ungu atau kadang-kadang putih dan bunganya terdapat di sepanjang batang. Tanaman ini menghasilkan biji dengan warna merah dan hitam yang terjumbai, 4 hingga 6 biji dalam satu (Das, Jain dan Mishra, 2016).

*A. precatorius* merupakan tanaman hias, melilit, berkayu yang tumbuh hingga ketinggian 10 hingga 20 kaki saat tumbuh atau menopang pada tanaman lain. Tanaman ini memiliki daun yang berganti-ganti, majemuk, seperti bulu, terbagi tipis, dengan selebaran kecil dan memiliki cabang-cabang berwarna kuning kehijauan. Saga (*A. precatorius*) memiliki bunga dalam jumlah banyak dan muncul di axils (permukaan) daun di sepanjang batang dengan ukuran kecil yaitu 3 inci, biasanya bunganya berwarna merah keungu, atau kadang-kadang putih. Buahnya adalah kacang-kacangan (polong berbentuk kacang) dengan

panjang sekitar 3 cm yang mengandung biji keras seperti telur (berwarna mengkilap, merah tua dan berwarna hitam) ukurannya sekitar 1 cm. Biji berwarna merah dengan bercak hitam menutupi satu ujung. Akarnya berkayu, berliku dan banyak bercabang, dengan rasa manis, agak seperti akar manis (Okhale dan Nwanosike, 2016).

### 2.2.2 Habitat dan Penyebaran

*A. precatorius* termasuk dalam family leguminoseae dan subfamily Papilionaceae yang merupakan tanaman asli India dan Hindia Timur dan Barat, dalam bahasa Hindi dikenal sebagai Ratti atau Gumchi (Prakash, Nainwal, Rawat, Chauhan dan Bisht, 2013). Saga (*A. precatorius*) termasuk tumbuhan yang tumbuhnya merambat dan biasanya memiliki panjang sekitar 2-5 meter. Tanaman ini dapat tumbuh dengan baik di daerah daratan rendah sampai ketinggian 1.000 meter (Suranto, 2004).

*A. precatorius* merupakan tanaman yang menyerupai kayu dengan ciri biji berwarna merah yang beracun dengan ditanda warna hitam di pangkalan. Tanaman ini asli dari India yang dapat tumbuh pada ketinggian sekitar 1.200 m dpl di Himalaya luar (Bhatia, Siddiqui NA dan Gupta, 2013). Tanaman saga (*A. precatorius*) ini merupakan tanaman yang tumbuh secara liar di hutan, ladang atau sengaja dipelihara di pekarangan. Saga dapat tumbuh dengan baik pada daerah daratan rendah sampai ketinggian 1000 m dari permukaan laut (Thomas, 1992).

### 2.2.3 Kandungan Bahan Aktif

Air rebusan daun saga dapat digunakan sebagai obat sariawan, batuk, dan radang tenggorokan. Biji, batang dan akar saga (*A. precatorius*) dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku obat, namun bagian biji saga memiliki sifat

beracun sehingga penggunaannya harus dengan hati-hati. Daun saga mengandung senyawa flavonoid, saponin dan alkaloid. Senyawa tersebut mempunyai efek farmakologi salah satunya sebagai antibakteri (Misrahanum, Puteri dan Yulvizar, 2017).

Daun saga mengandung senyawa fitokimia yang kompleks. Senyawa tersebut meliputi phenol, flavonoid, isoflavon, flavon. Senyawa ini memiliki aktivitas antioksidan yang kuat. Banyaknya kandungan zat fitokimia yang ditemukan pada daun dan biji tanaman saga menandakan bahwa tanaman ini merupakan tanaman serbaguna yang dapat digunakan sebagai obat. Tanaman saga dapat digunakan sebagai sumber alami antioksidan dalam formulasi obat (Nassir, Sahib dan Kadhim, 2017).

### **2.3. Mekanisme Kerja Antimikroba**

Senyawa antibakteri flavonoid memiliki kemampuan untuk menginaktivasi protein (enzim) pada membran sel bakteri sehingga mengakibatkan struktur protein menjadi rusak dan menyebabkan ketidak stabilan pada dinding sel. Sel bakteri kehilangan bentuk dan mengalami lisis. Senyawa saponin memiliki kemampuan untuk menyebabkan lisis pada dinding sel bakteri (Putri, Mursiti dan Suwarni, 2017).

Antibakteri merupakan zat yang berfungsi membunuh atau menekan pertumbuhan dan reproduksi bakterinya. Berdasarkan aktivitas zat antibakteri dapat bersifat bakterisidal (membunuh bakteri), bakterostatik (menghambat pertumbuhan bakteri) atau menghambat germinasi spora bakteri (Sartika, Melki dan Purwiyanto, 2013). Aktivitas antimikroba dapat dilihat dari nilai diameter zona hambat yang dihasilkan yaitu zona bening disekitar kertas cakram dikurangi diameter kertas cakram. Penggunaan senyawa antimikroba khususnya yang alami secara umum mengalami peningkatan dari tahun ke tahun. Senyawa

antimikroba yang terkandung dalam berbagai jenis ekstrak tumbuhan diketahui dapat menghambat beberapa mikroba patogen maupun pembusuk. Senyawa antimikroba tersebut dapat berasal dari bagian tumbuhan seperti bunga, biji, buah, rimpang, batang, daun dan umbi (Suliani, Latief dan Rahmi, 2016).

#### **2.4 Uji Bakteri Secara In Vitro**

Pengukuran aktivitas antibakteri umumnya dilakukan dengan menggunakan metode metode dilusi dan metode difusi (Sulistiyani, Kurniati, Yakup dan Cempaka, 2016). Metode difusi merupakan pengujian aktivitas antibakteri dengan menentukan kerentangan bakteri. Ekstrak sampel akan membentuk zona bening (daya hambat) sehingga diketahui bersifat sebagai antibakteri. Kontrol positif digunakan sebagai tolak acuan pada penentuan keaktifan ekstrak sebagai antibakteri (Febrina, Riris dan Silaban, 2017). Metode dilusi dilakukan untuk mengamati aktivitas antibakteri dan dinyatakan lebih efektif karena bahan coba langsung kontak dengan mikroorganisme (Pasril dan Uliasanti, 2014). Metode dilusi cair memberikan hasil yang lebih kuantitatif dan tepat dibandingkan dengan metode difusi agar karena tingkat difusi zat aktif dalam agar lebih lambat dibandingkan dalam media cair (Astrini, Wibowo dan Nugrahani, 2014).

Metode difusi cakram adalah metode yang paling sering digunakan dimana cara kerja difusi cakram yaitu antibakteri fraksi yang akan diuji diserapkan pada kertas cakram dan ditempelkan pada media agar yang telah dihomogenkan dengan bakteri kemudian diinkubasi sampai terlihat zona hambat didaerah sekitar cakram (Novita, 2016). Kekuatan aktivitas antibakteri oleh senyawa aktif dikelompokkan menjadi empat kategori, yaitu aktivitas lemah (<5 mm), sedang (5-10mm), kuat (11-20 mm) dan sangat kuat (>20-30 mm) (Marselia, Wibowo dan Arreneuz, 2015).

### 3. MATERI DAN METODE

#### 3.1 Materi Penelitian

##### 3.1.1 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian tentang uji daya hambat ekstrak kasar daun saga (*A. pectorius*) terhadap bakteri *P. fluorescens* secara *in vitro* disajikan pada Tabel 1, sedangkan untuk gambar alat-alat penelitian dapat disajikan pada **Lampiran 3**.

**Tabel 1.** Alat-Alat Penelitian

No	Alat	Kegunaan
1	Kulkas	Sebagai tempat penyimpanan bahan dan bakteri pada suhu dingin
2	Autoklaf	Sebagai alat untuk mensterilkan peralatan dan media yang akan digunakan
3	Bunsen	Untuk mencegah terjadinya kontaminasi
4	Hot plate	Sebagai alat pemanas media
5	Beaker Glass 1000 ml	Sebagai tempat maserasi
6	Gelas ukur 100 ml	Sebagai alat untuk mengukur larutan
7	Cawan petri	Sebagai tempat uji cakram
8	Tabung reaksi	Sebagai tempat peremajaan bakteri
9	Mikropipet 10-100 $\mu$ l	Sebagai alat untuk mengambil bahan yang berbentuk cairan
10	Timbangan digital	Sebagai alat untuk menimbang bahan dengan ketelitian 10-2
11	Timbangan analitik	Sebagai alat untuk menimbang bahan dengan ketelitian 10-3
12	Jerigen 5 liter	Sebagai tempat penyimpanan akuades
13	Vortex mixer	Sebagai alat untuk menghomogekan larutan
14	Erlenmeyer 500 ml	Sebagai tempat pembuatan media
15	Sprayer	Sebagai tempat menyimpan alkohol
16	Oven	Sebagai alat untuk mengeringkan cawan petri
17	Nampan	Sebagai tempat meletakkan alat dan bahan
18	Sendok bahan	Sebagai alat untuk mengambil sampel
19	Inkubator	Sebagai alat untuk inkubasi
20	LAF ( <i>Laminary Air Flow</i> )	Sebagai tempat dilakukan perlakuan
21	Sarung tangan	Sebagai alat untuk mencegah kontaminasi
22	Washing bottle	Sebagai tempat penyimpanan akuades

### 3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian tentang uji daya hambat ekstrak kasar daun saga (*A. precatorius*) terhadap bakteri *P. fluorescens* secara *in vitro* disajikan pada Tabel 2, untuk gambar bahan-bahan penelitian dapat disajikan pada **Lampiran 3**.

**Tabel 2.** Bahan-bahan Penelitian

No.	Bahan-bahan	Kegunaan
1.	Daun Saga ( <i>A. precatorius</i> )	Sebagai bahan ekstrak yang akan diujikan daya hambat
2.	Bakteri <i>P. fluorescens</i>	Sebagai bahan penelitian
3.	TSB ( <i>Tryptitone Soy Broth</i> )	Sebagai media pengencer bakteri
4.	PSA ( <i>Pseudomonas Selective Agar</i> )	Sebagai media peremajaan bakteri
5.	DMSO 10%	Sebagai pelarut ekstrak
6.	Alkohol 70%	Sebagai bahan aseptis
7.	Methanol 70%	Sebagai bahan pelarut saat proses maserasi
8.	Tali kasur/ karet	Sebagai bahan untuk mengikat alat saat proses sterilisasi
9.	Kertas label	Sebagai pemberi tanda pada setiap perlakuan
10.	Spiritus	Sebagai bahan bakar pada Bunsen
11.	<i>Tissue</i>	Sebagai bahan untuk mengeringkan alat setelah dicuci
12.	Kertas Cakram ukuran 6 mm	Sebagai bahan untuk mengetahui besar zona bening dari ekstrak yang digunakan
13.	Kertas Saring	Sebagai bahan penyaring hasil maserasi ekstrak daun.
14.	Aquades	Sebagai bahan pengencer
15.	<i>Aluminium foil</i>	Sebagai bahan penutup toples kaca saat proses maserasi
16.	Kapas	Sebagai bahan penutup alat saat proses sterilisasi

### 3.2 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Metode eksperimen merupakan metode untuk menguji hipotesis, yakni menguji keterkaitan variabel bebas (*independent variable*) dan variabel terikat (*dependent variable*). Variabel bebas adalah variabel rekayasa. Sementara variabel terikat adalah konstan. Hasil rekayasa variabel bebas terhadap variabel terikat dapat

diukur atau diuji (*measurable*). Diawal percobaan kedua kelompok diasumsikan sama. Perbedaan yang terjadi disebabkan oleh perlakuan yang diberikan pada kelompok eksperimen (Prijana dan Rohman, 2016).

Teknik pengambilan data dalam penelitian ini dilakukan dengan cara observasi. Observasi merupakan cara atau metode menghimpun keterangan atau data yang dilakukan dengan mengadakan pengamatan dan pencatatan secara sistematis terhadap fenomena yang sedang dijadikan sasaran pengamatan. Observasi sangat diperlukan jika observer belum memiliki banyak keterangan tentang masalah yang diselidikinya. Sehingga observer dapat memperoleh gambaran yang jelas tentang masalahnya serta petunjuk-petunjuk cara memecahkannya. Observasi harus dilakukan sesuai prosedur yaitu sistematis dan terarah sehingga hasil observasi memberi kemungkinan untuk ditafsirkan secara ilmiah (Mania, 2008).

### 3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan percobaan yang digunakan yaitu menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 2 kontrol dan 5 perlakuan yang dilakukan 3 kali ulangan. Menurut Sastrosupadi (2000), Rancangan Acak Lengkap (RAL) digunakan untuk percobaan yang mempunyai media atau tempat percobaan yang seragam atau homogen, sehingga RAL banyak digunakan untuk percobaan laboratorium, rumah kaca, dan peternakan. Adapun model untuk RAL adalah sebagai berikut:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \epsilon_{ij}$$

Keterangan

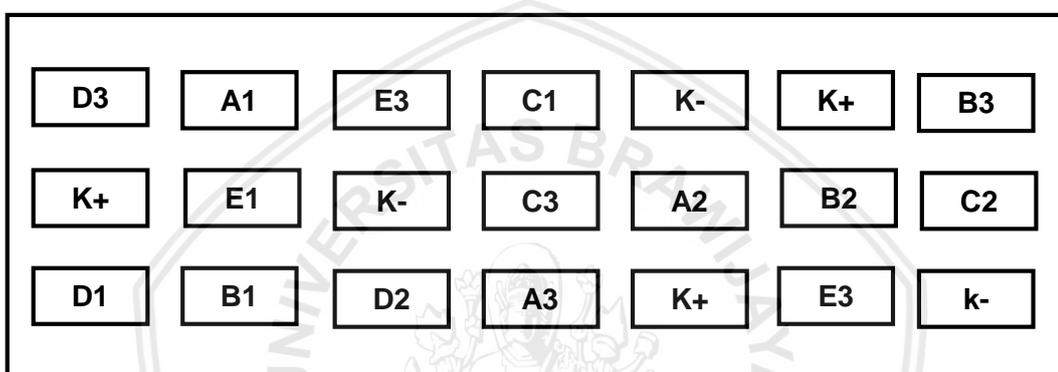
Y = Respon

$\mu$  = Nilai tengah

T = Pengaruh perlakuan

$\epsilon$  = Pengaruh galat

Penelitian ini menggunakan variable bebas berupa pemberian ekstrak daun saga (*A. precatorius*) dengan konsentrasi yang diberikan. Dasar penelitian ini adalah penelitian pendahuluan untuk mengetahui aktivitas antibakteri daun saga (*A. precatorius*) dengan konsentrasi yang diberikan. Perlakuan dalam penelitian ini adalah sebanyak 5 perlakuan dengan 3 kali ulangan dan 2 kontrol yaitu kontrol positif dan kontrol negatif. Sehingga tiap perlakuan dapat dilihat pada denah yang disajikan pada Gambar 4.



**Gambar 4.** Denah Rancangan Percobaan

- Keterangan :
- Perlakuan A : Bakteri *P. fluorescens* dengan pemberian ekstrak daun saga (*A. Precatorius*) dengan dosis 300 ppm.
  - Perlakuan B : Bakteri *P. fluorescens* dengan pemberian ekstrak daun saga (*A. Precatorius*) dengan dosis 600 ppm.
  - Perlakuan C : Bakteri *P. fluorescens* dengan pemberian ekstrak daun saga (*A. Precatorius*) dengan dosis 900 ppm.
  - Perlakuan D : Bakteri *P. fluorescens* dengan pemberian ekstrak daun saga (*A. Precatorius*) dengan dosis 1.200 ppm.
  - Perlakuan E : Bakteri *P. fluorescens* dengan pemberian ekstrak daun saga (*A. Precatorius*) dengan dosis 1.500 ppm.
  - Kontrol Positif : Bakteri *P. fluorescens* dengan pemberian ekstrak daun saga (*A. Precatorius*) dengan dosis 5.000 ppm.
  - Kontrol Negatif : Bakteri *P. fluorescens* tanpa ekstrak daun saga (*A. Precatorius*)

### 3.4 Prosedur Penelitian

#### 3.4.1 Pembuatan Ekstak Daun Saga (*A. precatorius*)

Proses ekstraksi daun saga (*A. precatorius*) dilakukan dengan metode maserasi, adapun langkah – langkahnya adalah sebagai berikut :

- Daun saga didapatkan dari daerah persawahan dicuci terlebih dahulu dan dikeringkan dengan cara dijemur dibawah sinar matahari selama 7 hari.
- Daun saga yang sudah kering dihaluskan menggunakan blender sampai menjadi serbuk.
- Serbuk diayak dengan menggunakan ayakan untuk memisahkan serbuk yang halus dan yang masih kasar.
- Daun saga yang sudah kering ditimbang sebanyak 200 gram dan dimasukkan kedalam toples ukuran 2 L untuk proses maserasi.
- Diukur methanol 70 % sebanyak 1.000 ml dan dicampurkan kedalam serbuk daun saga dengan perbandingan 1:5, kemudian dihomogenkan dengan cara toples digoyangkan.
- Toples ditutup dan lapisi aluminium foil agar tidak menguap.
- Proses maserasi ini ditunggu sampai 1 x 24 jam.
- Daun yang telah dimaserasi disaring dengan menggunakan kertas saring dengan tujuan untuk memisahkan larutan dengan endapannya.
- Hasil penyaringan dievaporasi dengan rotary evaporator pada suhu 60-70° C sampai pelarut menguap.
- Hasil ekstrak kemudian ditimbang.

Pembuatan ekstrak daun saga (*A. precatorius*) sesuai pernyataan dari Paul, Sangodare, Uroko, Agbaji dan Dakare (2013) perbandingan yang digunakan dalam penelitian yaitu 1:5. 1 merupakan ekstrak daun saga yang sudah dalam bentuk serbuk dan 5 merupakan larutan metanol dengan cara

maserasi selama 24 jam yang ditutupi aluminium foil ekstrak kemudian disaring menggunakan kertas saring.

Menurut Mukhriani (2014), ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Faktor-faktor yang berpengaruh dalam operasi ekstraksi yaitu penyiapan bahan sebelum ekstraksi, ukuran partikel, pelarut, metode yang digunakan dalam ekstraksi, waktu, suhu serta proses pemisahan pelarut dari hasil ekstraksi (Kawiji, Khasanah, Utami dan Aryani (2015).

Menurut Yulianingtyas dan Kusmartono (2016), titik optimal maserasi tercapai pada 48 jam. Dimana laju difusi flavonoid dan bahan aktif lainnya dari permukaan padatan ke pelarut sama besarnya dengan laju difusi flavonoid dari pelarut ke permukaan padatan. Hal tersebut menyebabkan Konsentrasi flavonoid dalam pelarut sudah berada dalam kesetimbangan. Hal ini menyebabkan penambahan waktu maserasi diatas 48 jam tidak lagi efektif untuk meningkatkan berat flavonoid terekstrak, namun yang terjadi justru berat flavonoid terekstrak cenderung menurun.

### **3.4.2 Uji Fitokimia**

Menurut Indrayati, Wibowo dan Indriawati (2015), Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak daun saga pohon pada masing - masing fraksi. Metabolit sekunder merupakan senyawa metabolit yang esensial bagi pertumbuhan organisme dan ditemukan dalam bentuk yang berbeda-beda antara spesies yang satu dengan

yang lainnya. Uji fitokimia yang dilakukan meliputi uji golongan senyawa alkaloid, steroid/triterpenoid, flavonoid, fenol dan saponin adalah sebagai berikut:

- Uji Alkaloid

Uji ini dilakukan dengan terlebih dahulu menambahkan  $H_2SO_4$  2 N ke dalam ekstrak dan dipanaskan. Selanjutnya diuji dengan reagen dragendroff, mayer dan wagner. Hasil uji positif diperoleh bila terbentuk endapan merah hingga jingga pada penambahan reagen dragendroff dan endapan putih kekuningan pada penambahan reagen mayer. Serta terbentuk endapan kecoklatan pada penambahan reagen wagner.

- Uji Triterpenoid/ Steroid

Sebanyak 1 ml larutan ekstrak ditambah dengan pereaksi Liebermann Burchard. Adanya senyawa steroid ditandai timbulnya warna hijau dan triterpenoid timbulnya warna merah.

- Uji Polifenol/Tanin

Larutan ekstrak dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 2 tetes pereaksi  $FeCl_3$  1%. Senyawa fenol akan menghasilkan warna hijau atau biru.

- Uji Flavonoid

Larutan ekstrak sebanyak 2 ml ditambah dengan sedikit serbuk Mg dan 2 mL HCl 2N. Senyawa flavonoid akan menimbulkan warna jingga sampai merah.

- Uji Saponin.

Larutan ekstrak ditambahkan akuades, kemudian dikocok kuat-kuat. Terbentuknya busa 1-10 cm yang stabil dan tidak kurang dari 10 menit menunjukkan adanya saponin.

### 3.4.3 Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi alat dan bahan dapat menggunakan *autoclave*, adapun prosedur penggunaan *autoclave* adalah sebagai berikut:

- Alat-alat yang akan digunakan dicuci menggunakan sabun cuci, dikeringkan kemudian dibungkus dengan menggunakan plastik tahan panas atau dengan menggunakan kertas bekas dan diikat menggunakan benang.
- Air secukupnya dituang ke dalam *autoclave* sampai elemen terendam, kemudian alat yang telah dibungkus kertas dimasukkan ke dalam *autoclave* dan ditutup rapat dengan mengencangkan baut secara diagonal.
- Tombol ON dinyalakan, kemudian suhu diputar maksimal hingga lampu hijau untuk proses *heating* menyala, ditunggu hingga uap air pada klep keluar dan klep pada autoklaf ditutup ke arah samping.
- Kemudian suhu diturunkan hingga lampu kuning untuk *sterilization* menyala, setelah mencapai suhu  $121^{\circ}\text{C}$  dan tekanan menunjukkan 1 atm, keadaan ini dipertahankan selama 15 menit
- Tombol OFF ditekan, ditunggu beberapa saat sampai suhu menunjukkan angka 0 (nol), kemudian buka kran uap lalu buka penutup *autoclave* secara diagonal, kemudian barulah alat dan bahan yang sudah disterilkan diambil.
- Apabila alat dan bahan tidak langsung dipakai, alat yang telah disterilkan disimpan dalam kotak penyimpanan, sedangkan bahan disimpan dalam lemari pendingin.

### 3.4.4 Pembuatan Media Agar Miring

Media agar miring berfungsi sebagai media peremajaan bakteri *P. fluorescens*. Adapun proses pembuatan media agar miring adalah sebagai berikut:

- Media PSA (*Pseudomonas Selective Agar*) bubuk ditimbang 0,44 gram dengan timbangan digital untuk membuat satu media.
- Media PSA dimasukkan ke dalam erlenmeyer.
- Dilarutkan dengan akuades 9 ml dan dihomogenkan.
- Kemudian media PSA dipanaskan diatas *hot plate* sembari di aduk sampai mendidih.
- Media yang sudah mendidih dimasukan ke dalam tabung reaksi.
- Tabung reaksi ditutup menggunakan kapas dan alumunium foil.
- Media disterilkan pada akutoclave dengan suhu 121<sup>0</sup>C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm.
- Media diambil dari autoclave dan dimiringkan sampai menjadi agar.

### 3.4.5 Pembuatan Media TSB (Tryptitone Soy Broth)

Media TSB (*Tryptitone Soy Broth*) adalah media cair yang digunakan untuk kultur bakteri. Adapun pembuatan media TSB adalah sebagai berikut:

- Ditimbang TSB sebanyak 0,3 gram menggunakan timbangan digital.
- Dimasukkan media ke dalam erlenmayer.
- Dilarutkan media dengan akuades sebanyak 10 ml lalu dihomogenkan dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi.
- Ditutup tabung reaksi berisi media TSB dan ditutup dengan kapas pada bagian atas dan dibungkus aluminium foil lalu diikat.
- Disterilisasi media menggunakan autoklaf dengan suhu 121<sup>0</sup>C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm.

### 3.4.6 Pembuatan Media PSA (*Pseudomonas Selective Agar*)

Media PSA (*Pseudomonas Selective Agar*) digunakan sebagai media agar dalam melakukan uji cakram. Adapun pembuatan media ini adalah sebagai berikut:

- Ditimbang PSA sebanyak 6,78 gram dengan timbangan digital dan dimasukkan dalam erlenmayer.
- Dilarutkan dengan akuades sebanyak 140 ml dan dihomogenkan.
- Media dipanaskan diatas hotplate sampai mendidih.
- Diberi kapas pada bagian atas erlenmayer dan dibungkus dengan menggunakan aluminium foil.
- Disterilkan media dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm.
- Dibiarkan media hingga suhunya menjadi hangat dan dituang ke dalam cawan petri sebanyak 20 ml.
- Ditanam bakteri pada media tersebut.

### 3.4.7 Pembuatan Nafis (Natrium Fisiologi)

Adapun cara pembuatan nafis (Natrium Fisiologi) sebagai berikut:

- Ditimbang garam NaCl sebanyak 0,36 gr dengan timbangan digital dan dimasukkan dalam erlenmayer
- Dilarutkan dengan akuades sebanyak 30 ml dan dihomogenkan.
- Dimasukkan kedalam 3 tabung reaksi sebanyak 10 ml tiap tabungnya
- Ditutup tabung reaksi dan diberi kapas pada bagian atas serta ditutup dengan aluminium foil dan dimasukkan dalam *beaker glass* serta dibungkus dengan aluminium foil.
- Disterilkan media dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm.

### 3.4.8 Peremajaan Bakteri *P. fluorescens*

Bakteri *P. fluorescens* didapatkan dari Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara dengan kepadatan  $10^{10}$ . Adapun pembiakan bakteri *P. fluorescens* adalah sebagai berikut:

- Disiapkan media agar miring yang sudah dibuat.
- Dipanaskan jarum ose diatas bunsen hingga berpijar dan goreskan pada media agar yang tidak ditumbuhi bakteri. Hal tersebut bertujuan untuk menurunkan suhu pada jarum ose agar bakteri tidak mati.
- Diambil 1 ose biakan murni dan digoreskan pada media PSA miring dengan metode gores.
- Ditutup tabung reaksi dengan kapas dan aluminium foil, kemudian inkubasi selama 24 – 48 jam pada suhu 32°.

### 3.4.9 Kultur Bakteri *P. fluorescens*

Adapun kultur bakteri *P. fluorescens* adalah sebagai berikut:

- Diambil bakteri yang sudah diremajakan dari media agar miring dengan menggunakan jarum ose steril sebanyak 1 ose.
- Bakteri yang sudah didapatkan dicelupkan pada media TSB yang telah dipersiapkan.
- Media TSB di vortex agar homogen dengan bakteri.
- Media TSB ditutup dengan menggunakan kapas dan dilapisi dengan aluminium foil.
- Dibiarkan larutan TSB selama 24 - 48 jam dalam inkubator pada suhu 30°C.
- Dilihat hasil biakan bakteri yang ditandai dengan warna keruh pada media biakan.
- Semua kegiatan kultur dilakukan di dalam LAF (*Laminary Air Flow*)

#### 3.4.10 Pengenceran Bakteri *P. fluorescens*

Adapun proses pengenceran bakteri *P. fluorescens* sebagai berikut :

- Disiapkan bakteri dengan kepadatan  $10^{10}$
- Disiapkan media Nafis (Natrium Fisiologi) yang sudah disterilisasi sebanyak 3 tabung reaksi dan ditandai dengan  $10^{-9}$ ,  $10^{-8}$  dan  $10^{-7}$
- Disiapkan bakteri yang telah dikultur dalam media TSB.
- Diambil 1000  $\mu\text{l}$  dengan *mikropipet* dari media TSB dan dimasukkan dalam tabung reaksi  $10^{-9}$  dan kemudian dihomogenkan dengan vortex selama 5 detik,
- Diambil lagi 1000  $\mu\text{l}$  dengan *mikropipet* dari tabung reaksi  $10^{-9}$  kemudian dihomogenkan dengan cara di vortex selama 5 detik dan dimasukkan kedalam tabung reaksi  $10^{-8}$
- Diambil lagi 1000  $\mu\text{l}$  dengan *mikropipet* dari tabung reaksi  $10^{-8}$  kemudian dihomogenkan dengan cara di vortex selama 5 detik dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi  $10^{-7}$
- Semua kegiatan pengenceran dilakukan didalam LAF.

#### 3.4.11 Pembuatan Dosis Ekstrak Daun Saga (*A. precatorius*)

Adapun proses Pembuatan dosis ekstrak daun saga (*A. precatorius*) sebagai berikut :

- Penelitian ini menggunakan lima konsentrasi yang berbeda yaitu 300 ppm, 600 ppm, 900 ppm, 1.200 ppm dan 1.500 ppm.
- Dosis diperoleh dari pengenceran larutan *stock*. Larutan *stock* dibuat dengan menimbang 25mg ekstrak daun saga dengan menggunakan timbangan analitik dan hasilnya dimasukan kedalam botol film.

- Pelarut yang digunakan yaitu DMSO 10% sebanyak 5 ml ditambahkan kedalam botol film yang sudah berisi ekstrak daun saga dan kemudian vortex agar homogen, sehingga didapat hasil larutan *stock* dengan dosis 5000 ppm sebanyak 5 ml.
- Dosis 300 ppm diambil 0,09 ml larutan *stock* dan ditambahkan DMSO 10% sebanyak 0,41ml. Dosis 600 ppm diambil 0,18 ml larutan *stock* dan ditambahkan DMSO 10% sebanyak 1,32 ml. Dosis 900 ppm diambil 0,27 ml larutan *stock* dan ditambahkan DMSO 10% sebanyak 1,23 ml. Dosis 1200 ppm diambil 0,36 ml larutan *stock* dan ditambahkan DMSO 10% sebanyak 1,14 ml. Dosis 1500 ppm diambil 0,45 ml larutan *stock* dan ditambahkan DMSO 10% sebanyak 1,05 ml

#### 3.4.12 Pewarnaan Gram

Adapun proses pewarnaan gram bakteri *P. fluorescens* sebagai berikut :

- Ditetesi objek glass dengan akuades
- Diambil bakteri 1 ose dari media agar miring
- Digoreskan pada objek glass
- Difiksasi di atas Bunsen
- Ditetesi Kristal violet direndam selama 1 menit
- Dibilas dengan akuades secara mengalir dan difiksasi kembali
- Ditetesi iodine 2 tetes direndam selama 1 menit
- Cuci dengan alkohol 96% direndam selama 30 detik, dibilas kemudian dikeringkan
- Ditetesi safranin direndam selama 30 detik, dibilas kemudian dikeringkan
- Diamati dimikroskop dengan perbesaran 1.000x.

Menurut Agustina, Yulvizar dan Nursanty (2012), tahapan pewarnaan Gram dilakukan sebagai berikut, sebanyak satu sampai dengan dua tetes

akuades ditetaskan pada kaca objek, selanjutnya diambil koloni tunggal dari masing-masing isolat bakteri menggunakan jarum inokulasi kemudian disebar secara merata. Olesan bakteri dibiarkan kering dan difiksasi. Selanjutnya olesan bakteri ditetesi dengan larutan ungu kristal-iodium selama satu menit dan dibilas dengan akuades. Olesan kemudian ditetesi larutan iodium selama dua menit serta dibilas kembali dengan akuades. Olesan selanjutnya ditetesi alkohol 95% selama 10 detik sampai zat warna tidak luntur lagi dan dibilas dengan akuades. Tahap akhir dari proses pewarnaan adalah dengan menambahkan pewarnaan pembanding yaitu safranin selama 10-15 detik dan dibilas dengan akuades. Selanjutnya ditetesi dengan minyak emersi, lalu dilihat bentuk dan warna sel bakteri di bawah mikroskop dengan pembesaran 40x10.

### **3.5 Pelaksanaan Penelitian**

#### **3.5.1 Uji Cakram**

Adapun tahapan pelaksanaan uji cakram adalah sebagai berikut:

- Disiapkan cawan petri yang telah terdapat media PSA.
- Uji cakram dilakukan dengan menggunakan 5 perlakuan yaitu konsentrasi 300 ppm, 600 ppm, 900 ppm, 1.200 ppm, 1.500 ppm. Perlakuan kontrol positif yaitu dengan merendam kertas cakram pada konsentrasi 5.000 ppm dan perlakuan kontrol negatif direndam DMSO 10% selama 15 menit. Latar belakang menggunakan konsentrasi tersebut berdasarkan penelitian sebelumnya yang menggunakan konsentrasi mulai 10 ppm. Namun pada percobaan penelitian ini, konsentrasi dengan range tersebut tidak memperlihatkan zona bening yang signifikan dan tidak dapat diukur karena terlalu kecil

- Diambil bakteri *P. fluorescens* sebanyak 100 µl dengan kepadatan  $10^7$  dan dimasukkan kedalam cawan petri kemudian diratakan dengan triangel.
- Kertas cakram yang sudah direndam selama 15 menit dimasukkan kedalam media PSA yang sudah terdapat bakteri.
- Media yang sudah ditanam bakteri dan diberi kertas cakram diinkubasi pada inkubator dengan suhu  $32^{\circ}\text{C}$  selama 24-48 jam.
- Diamati zona bening yang telah terbentuk di sekitar kertas cakram dengan menggunakan jangka sorong.

### 3.5.2 Parameter Uji

Parameter uji dalam penelitian ini ada 2 yaitu parameter utama dan parameter penunjang. Parameter utama dalam penelitian ini adalah hasil pengamatan yaitu zona bening yang terlihat disekitar kertas cakram. Parameter penunjang yaitu suhu inkubasi yang digunakan untuk mengetahui pertumbuhan bakteri *P. fluorescens* selama penelitian.

### 3.5.3 Analisa Data

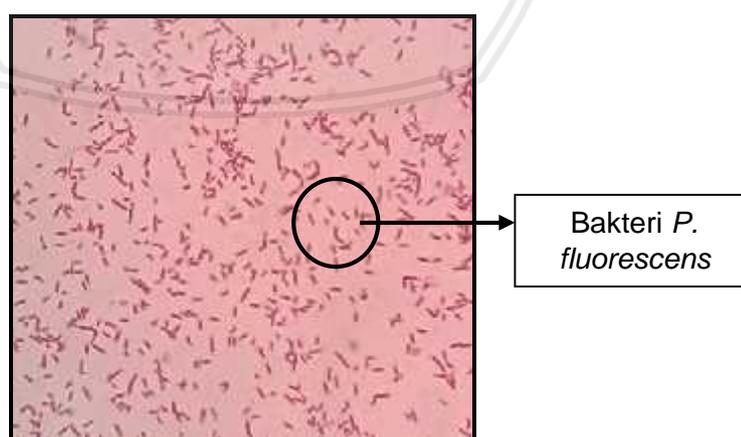
Berdasarkan hasil uji daya hambat (zona bening) pemberian ekstrak kasar daun saga (*A. precatorius*) terhadap bakteri *P. fluorescens* maka dilakukan analisa data secara statistik. Analisa data statistik dilakukan menggunakan analisa keragaman atau uji F (ANOVA) sesuai dengan rancangan yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL). Uji ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh perlakuan (variabel bebas) terhadap respon zona hambat (zona bening) yang diukur atau uji F. Apabila nilai uji F berbeda nyata atau berbeda sangat nyata maka dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan.

## 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Identifikasi Bakteri *P. fluorescens*

Pada penelitian ini dilakukan identifikasi bakteri yang dilakukan dengan pewarnaan gram. Proses identifikasi bakteri bertujuan untuk mengetahui bahwa bakteri yang akan digunakan adalah *P. fluorescens*. Pada bakteri *P. fluorescens* digolongkan bakteri gram negatif. Pewarnaan gram digunakan untuk mengetahui morfologi sel bakteri serta untuk membedakan bakteri gram positif dan gram negatif.

Menurut Suyono dan Salahudin (2011), bakteri *Pseudomonas* sendiri memiliki karakteristik seperti, gram negatif, berbentuk batang (*rods*), aerob obligat, motil mempunyai flagel polar. Bakteri ini, oksidase positif, katalase positif, nonfermenter dan tumbuh dengan baik pada suhu 4°C atau dibawah 43°C. *Pseudomonas* banyak ditemukan pada tanah, tanaman dan air. Hasil pewarnaan gram yang dilakukan dengan mikroskop menunjukkan warna merah. Hasil pewarnaan gram menunjukkan bahwa bakteri *P. fluorescens* adalah bakteri gram negative yang disajikan pada Gambar 6.



**Gambar 5.** Bakteri *P. fluorescens* pembesaran 1.000x (Dokumentasi pribadi, 2019)

Berdasarkan pewarnaan gram, koloni bakteri *Pseudomonas* sp. terlihat berwarna merah muda, berbentuk batang. Menurut Safrida, Yulvizar dan Devira,

(2012), bakteri gram negatif terlihat berwarna merah muda. Bakteri gram negatif mengandung lipid dan lemak dalam persentase yang lebih tinggi daripada bakteri gram positif. Selain itu bakteri gram negatif juga memiliki peptidoglikan yang lebih tipis daripada bakteri gram positif. Sedangkan menurut Holderman, Queijoe dan Rondonuwu (2017), bakteri gram negatif memiliki lapisan peptidoglikan yang tipis yaitu 5-10 nm dengan komposisi utama: lipoprotein, membran luar dan polisakarida. Menurut Nurhidayati, Faturrahman dan Ghazali (2015), bakteri gram negatif berwarna merah sebab kompleks tersebut larut pada saat pemberian larutan alkohol sehingga mengambil warna merah safranin.

Hasil uji biokimia yang dilakukan di Laboratorium Uji Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau Jepara dapat disajikan pada Lampiran 1. Hasil uji biokimia dari bakteri *P. fluorescens* yaitu gram negatif, berbentuk batang, katalase positif, oksidase positif, glukosa positif, memiliki pigmen fluorescent dan dapat hidup pada suhu 37°C. Menurut Rahayu dan Gumilar (2017), uji biokimia bakteri merupakan suatu cara atau perlakuan yang dilakukan untuk mengidentifikasi dan mendeterminasi suatu biakan murni bakteri hasil isolasi melalui sifat-sifat fisiologinya. Menurut Harti (2015), uji biokimia dapat digunakan untuk mengidentifikasi mikroorganisme secara fisiologis berdasarkan reaksi biokimia. Macam atau jenis biokimia dipengaruhi oleh faktor atau sifat mikroorganisme, jenis media dan faktor lingkungan. Menurut Saputri, Widyorini dan Purnomo (2016), uji biokimia meliputi uji *oksidatif/fermentatif*, uji *Sulphide Indole Motility* (SIM), uji *glucose (acid)*, uji *thioglycolate*, uji sulfida (H<sub>2</sub>S), uji pewarnaan spora yang bertujuan untuk mengetahui reaksi-reaksi yang ditimbulkan isolat bakteri setelah dimurnikan dan diinkubasi selama 24 jam atau 48 jam sehingga dapat digunakan untuk menentukan jenis dari masing-masing isolat.

## 4.2 Uji Fitokimia

Uji fitokimia dari ekstrak daun saga (*A. Precatorius*) bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa aktif yang terkandung yaitu senyawa flavonoid, Alkaloid, Tanin, Terpenoid, Polifenol, Saponin. Pada uji fitokimia yang dilakukan pada ekstrak daun saga (*A. Precatorius*) didapatkan hasil yang disajikan pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Hasil Uji Fitokimia Daun Saga (*A. precatorius*)

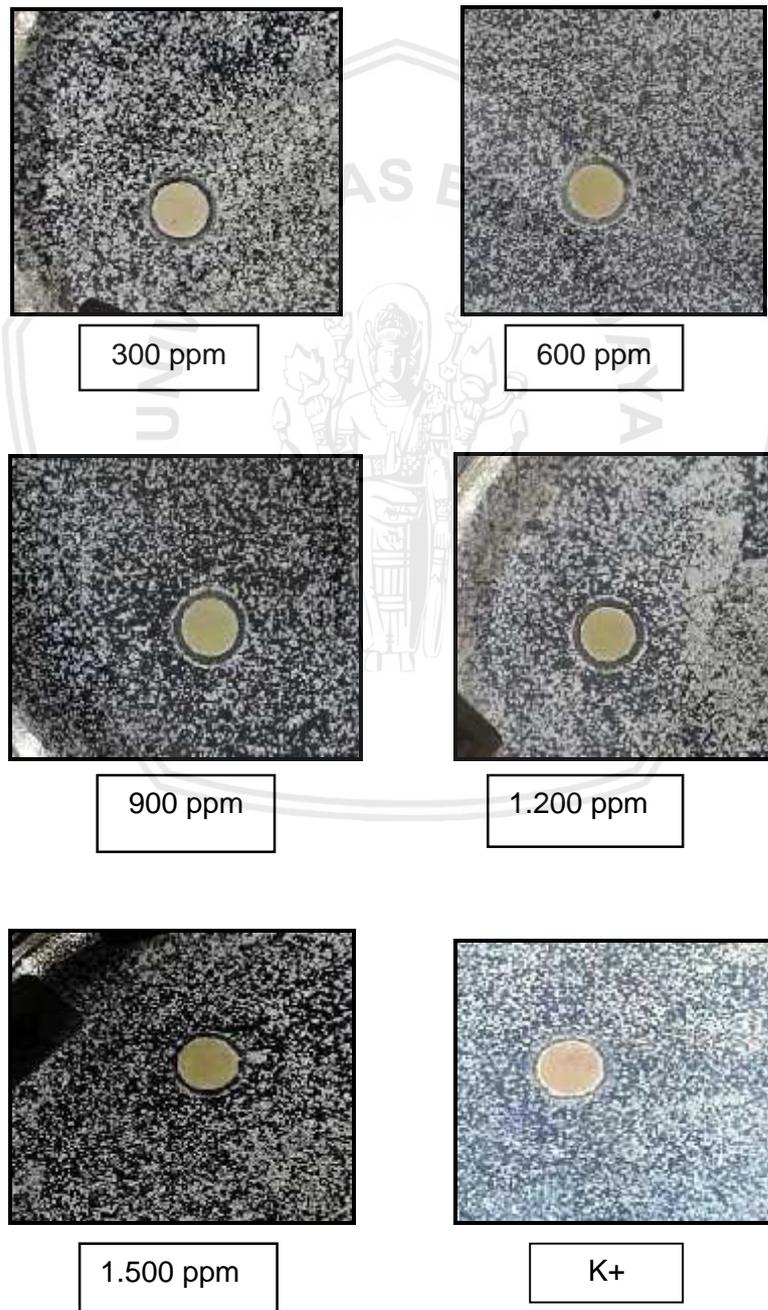
No.	Identifikasi Senyawa	Parameter	Hasil
1	Flavonoid	Merah bata, Merah muda, Merah Tua	Positif
2	Alkaloid		
	Meyer	Endapan Putih	Positif
	Dragendrof	Endapan Jingga	Positif
	Bouchardat	Endapan Cokelat	Positif
3	Tanin	Hijau kehitaman, Biru kehitaman, Coklat kehitaman	Positif
4	Terpenoid		
	Steroid	Hijau kebiruan	Positif
	Triterpenoid	Orange, Jingga kecokelatan	Positif
5	Polifenol	Hijau kehitaman, Biru kehitaman, Coklat kehitaman	Positif
6	Saponin	Busa Permanen	Positif

Berdasarkan hasil uji fitokimia yang telah dilakukan terhadap ekstrak daun saga (*A. Precatorius*) menunjukkan hasil positif mengandung senyawa aktif yaitu flavonoid, alkaloid, tanin, terpenoid dan saponin. Hasil uji fitokimia disajikan pada lampiran 2.

Menurut Indrayati, Wibowo dan Indiawati (2015), hasil uji fitokimia daun saga (*A. Precatorius*) menunjukkan hasil positif mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, polifenol dan steroid. Menurut Ningsih, Zusfahair dan Kartika (2016), kandungan senyawa aktif pada tanaman dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu jenis pelarut, konsentrasi pelarut, metode ekstraksi dan suhu yang digunakan untuk ekstraksi.

### 4.3 Uji Cakram

Berdasarkan hasil penelitian tentang uji daya hambat ekstrak daun saga (*A. precatorius*) terhadap pertumbuhan bakteri *P. fluorescens* secara *in vitro*, setelah dilakukan inkubasi selama 24 jam maka pada penelitian ini didapatkan hasil zona hambat dari masing-masing perlakuan yang disajikan pada Gambar 7 dan gambar kontrol positif dan kontrol negatif disajikan pada Lampiran 11.





K-

**Gambar 6.** Hasil Uji Cakram

Uji cakram dilakukan dengan menggunakan 5 dosis ekstrak daun saga yaitu 300 ppm, 600 ppm, 900 ppm, 1.200 ppm dan 1.500 ppm, kontrol positif dan kontrol negatif. Hasil yang didapat selama pengamatan 24 jam yaitu pada perlakuan A dosis 300 ppm memperoleh hasil rata-rata yaitu 7,93 mm, perlakuan B dosis 600 ppm memperoleh hasil rata-rata yaitu 8,14 mm, perlakuan C dosis 900 diperoleh zona bening yaitu 8,31 mm, perlakuan D dosis 1.200 ppm diperoleh zona bening yaitu 8,39, Perlakuan E dengan dosis 1.500 ppm diperoleh hasil zona bening yaitu 7,66 mm. Sedangkan pada kontrol positif yaitu 7,11 mm.

Berdasarkan pengukuran zona bening menunjukkan bahwa zona hambat terbesar ditunjukkan pada perlakuan D dengan Konsentrasi 1.200 ppm dengan ciri zona bening terlihat tebal dan lebar sedangkan zona hambat terkecil ditunjukkan oleh perlakuan kontrol negatif dengan ciri zona bening terlihat tipis dan ukurannya kecil.

Menurut Nendissa (2012), beberapa faktor yang dapat mempengaruhi ukuran zona penghambatan yaitu :

- a. Konsentrasi bakteri pada permukaan medium, apabila semakin tinggi konsentrasi bakteri maka zona penghambatan akan semakin kecil.
- b. Kedalaman medium pada cawan petri, apabila semakin tebal medium pada cawan petri maka zona penghambatan akan semakin kecil.

- c. Nilai pH dari medium. Beberapa antibakteri bekerja dengan baik pada kondisi asam dan beberapa pada kondisi alkali atau basa.
- d. Kondisi aerob atau anaerob. Beberapa antibakterial kerja terbaiknya pada kondisi aerob dan yang lainnya pada kondisi anaerob.

Hasil uji dengan menggunakan kertas cakram dari ekstrak daun saga (*A. precatorius*) dengan lima perlakuan dan tiga kali ulangan didapatkan rata-rata zona hambat setelah pengamatan selama 24 jam disajikan pada Tabel 4.

**Tabel 4.** Data hasil pengukuran Zona bening ekstrak Daun Saga (*A. precatorius*) terhadap bakteri *P. fluorescens* ke 24 Jam

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata±STDEV
	1	2	3		
<b>A(300 ppm)</b>	8,11	8,07	7,62	23,8	7,93±0,27
<b>B (600 ppm)</b>	8,04	8,13	8,24	24,41	8,14±0,10
<b>C (900 ppm)</b>	8,22	8,41	8,31	24,94	8,31±0,10
<b>D (1200 ppm)</b>	8,38	8,29	8,49	25,16	8,39±0,10
<b>E (1500 ppm)</b>	7,73	7,37	7,89	22,99	7,66±0,27
<b>Total</b>	40,48	40,27	40,55	121,3	

Tabel 4 menunjukkan bahwa perlakuan D (1.200 ppm) memiliki zona rerata zona hambat yang paling tinggi yaitu 8, 39 mm. Rerata zona bening terendah ditunjukkan oleh perlakuan E yaitu 7, 66 mm. Penelitian ini menggunakan kontrol positif (K+) yaitu ekstrak daun saga dengan dosis 5.000 ppm. Kontrol negatif (K-) dengan menggunakan kertas cakram yang direndam dengan DMSO 10%.

Menurut Sartika, Melki dan Purwiyanto (2013), respon hambatan pertumbuhan bakteri dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

**Tabel 5.** Klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri

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

Berdasarkan Tabel 6 mengenai klasifikasi respon hambatan suatu bahan aktif terhadap bakteri dengan uji cakram yang dapat ditentukan bahwa respon hambatan ekstrak kasar daun saga (*A. precatorius*) terhadap bakteri *P. fluorescens* dengan dosis 300 ppm, 600 ppm, 900 ppm, 1.200 ppm dan 1.500 ppm dikatakan kategori sedang. Diameter rata-rata daya hambat terbesar yang didapat pada konsentrasi 1.200 ppm dengan kategori daya hambat sedang yaitu kisaran 5-10 ppm, namun dosis yang optimal dalam menghambat pertumbuhan bakteri yaitu dengan perlakuan C dosis 900 ppm.

Setelah dilakukan pengukuran diameter zona hambat, lalu dilanjutkan analisa dengan menggunakan sidik ragam, hal ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh dari setiap perlakuan yang telah diberikan. Berikut merupakan tabel sidik ragam zona bening yang dihasilkan dari beberapa perlakuan ekstrak kasar daun saga (*A. precatorius*) yang berbeda seperti disajikan pada Tabel 6.

**Tabel 6.** Analisa Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	4	1,040	0,260	7,467	3,48	5,99
Acak	10	0,348	0,0348133			
Total	14					

Keterangan :

\*\* : Berbeda sangat nyata

Pada tabel perhitungan analisa sidik ragam diatas menunjukkan bahwa ekstrak kasar daun saga (*A. precatorius*) memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap daya hambat bakteri *P. fluorescens*. Hal ini dikarenakan nilai F hitung lebih besar dari pada nilai F tabel 5% dan F tabel 1% atau nilai dari 7, 467 lebih besar dari nilai 3,48 dan 5,99. Karena hasil uji F dinyatakan berbeda sangat nyata, maka akan dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui perbedaan pengaruh antar perlakuan. Hasil Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) disajikan pada Tabel 7.

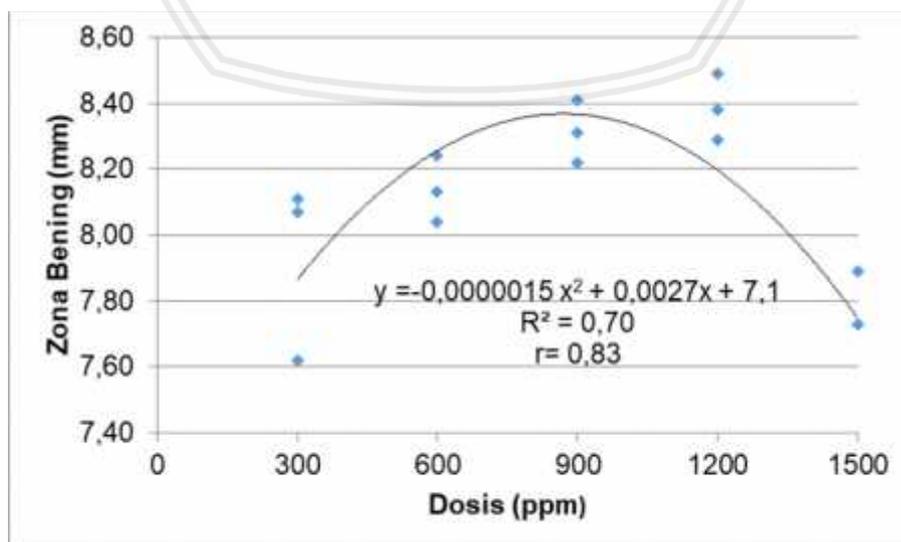
Tabel 7. Uji Beda Nyata Terkecil

Perlakuan	Rerata						Notasi
		E	A	B	C	D	
		7,66	7,93	8,14	8,31	8,39	
E	7,66	—					A
A	7,93	0,27 <sup>ns</sup>	—				A
B	8,14	0,48*	0,21 <sup>ns</sup>	—			B
C	8,31	0,65**	0,38*	0,17 <sup>ns</sup>	—		C
D	8,39	0,73**	0,46*	0,25 <sup>ns</sup>	0,08 <sup>ns</sup>	—	C

Keterangan :

- ns : tidak berbeda nyata
- \* : berbeda nyata
- \*\* : berbeda sangat nyata

Pada hasil tabel uji BNT (Tabel 7) didapatkan hasil pada perlakuan A dan E yang tidak memberikan pengaruh signifikan terhadap semua perlakuan sehingga diberi notasi a. Perlakuan B terhadap perlakuan A dan E berbeda nyata maka diberi notasi b. Perlakuan C terhadap perlakuan B, A dan E berbeda sangat nyata maka diberi notasi c. Perlakuan D berbeda sangat nyata pada perlakuan C, B, A dan E sehingga diberi notasi c. Kemudian berdasarkan hasil penelitian di dapatkan grafik regresi polynomial orthogonal zona bening yang dihasilkan dengan perlakuan berbeda. Hasil perhitungan uji polinomial ortogonal yang berupa grafik disajikan pada gambar (Gambar 8).



Gambar 7. Grafik Hubungan Zona Hambat antar Perlakuan

Berdasarkan gambar grafik diatas, hubungan zona hambat dari konsentrasi yang berbeda ekstrak kasar daun saga (*A. precatorius*) terhadap bakteri *P. fluorescens* menunjukkan perpotongan garis pola kuadratik dengan persamaan  $y = -0,0000015x^2 + 0,0027x + 7,1$  koefisien  $R^2 = 0,70$ . Dosis optimum yang diperoleh pada perlakuan C dosis 900 ppm dengan zona bening 8,31 mm namun zona bening terbesar yaitu perlakuan D dengan dosis 1200 ppm sebesar 8,39 mm.

Berdasarkan Gambar 8 hubungan antara pemberian ekstrak kasar daun saga (*A. precatorius*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *P. fluorescens* dengan rata-rata ukuran zona hambat yang dihasilkan menunjukkan nilai tertinggi terdapat pada perlakuan D dengan dosis 1.200 ppm dengan nilai rata-rata zona hambat sebesar 8,39 mm dan mengalami penurunan pada konsentrasi 1.500 ppm pada perlakuan E dengan nilai rata-rata zona bening yaitu 7,66 mm. Menurut Armedita, Asfrizal dan Amir (2018), bahwa diameter zona hambat tidak selalu naik sebanding dengan naiknya konsentrasi antibakteri. Hal ini dapat terjadi karena perbedaan kecepatan difusi senyawa antibakteri pada media agar. Jenis dan konsentrasi senyawa antibakteri yang berbeda memberikan diameter zona hambat yang berbeda pada lama waktu tertentu. Ketidakteraturan besar diameter zona hambat pertumbuhan bakteri uji adalah pada waktu pengeringan disk yang tidak sama. Oleh karena itu, menyebabkan zona hambat pada konsentrasi 1500 ppm terjadi penurunan.

Menurut Septiani, Dewi dan Wijayanti (2017), bahwa dimana diameter zona hambat tidak selalu naik sebanding dengan naiknya konsentrasi antibakteri, kemungkinan ini terjadi karena perbedaan kecepatan difusi senyawa antibakteri. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Darwis, Romauli dan Kasrina (2013), menyatakan bahwa penurunan zona bening diakibatkan adanya perbedaan kecepatan difusi. Pada konsentrasi tinggi kemampuan difusi zat antibakteri

rendah karena ekstrak terlalu pekat. Hal ini menyebabkan ekstrak sulit untuk berdifusi secara maksimal ke dalam media yang mengandung bakteri .

Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun saga (*A. precatorius*) yang baik digunakan berdasarkan kekuatan daya hambat yaitu pada perlakuan D dengan dosis 1.200 ppm yang bersifat bakteriostatik. Bakteriostatik ini menunjukkan bahwa ekstrak daun saga (*A. precatorius*) hanya mampu menghambat pertumbuhan bakteri *P. fluorescens*, dikarenakan setelah setelah inkubasi selama 48 jam terlihat bahwa zona hambat dari masing-masing perlakuan rata-rata mengalami penurunan. Menurut Angelina, Turnip dan Khotimah (2015), penurunan diameter zona hambat dari inkubasi 24 jam sampai dengan inkubasi 48 jam diduga akibat adanya viskositas ekstrak yang dapat mempengaruhi kemampuan berdifusi ekstrak kedalam media agar sehingga mempengaruhi daya hambat. Menurut Fauziyya, Nurani dan Sulistyani (2017), faktor yang mempengaruhi difusi cakram yaitu lama pemasangan cakram, kepekatan inokulum, suhu dan waktu inkubasi. Ketebalan media, diameter cakram, dan jarak antar cakram juga dapat mempengaruhi ukuran penghambatan. Faktor lain yang berpengaruh yaitu potensi zat antimikroba dan media yang digunakan.

Menurut Wiyanto (2010), senyawa antibakteri bekerja dengan cara berinteraksi dengan dinding sel bakteri sehingga mengakibatkan permeabilitas pada sel bakteri dan juga berdifusi ke dalam sel sehingga mengakibatkan pertumbuhan bakteri terhambat (bakteriostatik) dan atau mati (bakteriosidal). Selain itu, senyawa antibakteri juga dapat menembus membran dan berinteraksi dengan material genetik sehingga bakteri mengalami mutasi.

Kemampuan senyawa antibakteri seperti flavonoid sangat dipengaruhi oleh keaktifan biologis senyawa flavonoid untuk merusak dinding sel bakteri.

Penyusun dinding sel bakteri yang terdiri dari peptidoglikan, lipid dan asam amino yang akan bereaksi dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid sehingga dinding sel rusak akibat terjadinya kerusakan struktur DNA bakteri yang pada akhirnya sel bakteri mengalami lisis dan bakteri akan mati. Senyawa alkaloid sebagai antibakteri bekerja dengan cara memanfaatkan sifat reaktif gugus basa pada senyawa alkaloid yang mengandung nitrogen. Gugus basa ini apabila berkontak dengan penyusun dinding sel bakteri mengakibatkan perubahan keseimbangan pada penyusun dinding sel bakteri terutama DNA yang merupakan penyusun utama inti sel. Akibatnya inti sel bakteri mengalami kerusakan dan lisis sehingga bakteri akan mati. Saponin bekerja dengan cara berikatan dengan protein dan lipid yang terdapat pada membran sel yang dapat menimbulkan lisis pada sel. Kerusakan membran sel menyebabkan terganggunya transport nutrisi (senyawa dan ion) melalui membran sel sehingga sel bakteri mengalami kekurangan nutrisi yang diperlukan bagi pertumbuhannya (Misrahanum, Puteri dan Yulvizar, 2017).

#### **4.4 Parameter Penunjang**

Parameter penunjang dari penelitian ini adalah suhu selama inkubasi. Proses pertumbuhan bakteri dapat dipengaruhi oleh faktor lingkungan yaitu suhu. Pada penelitian ini suhu inkubasi yang digunakan adalah 31 °C - 32°C. Setiap bakteri dapat tumbuh pada suatu kisaran suhu tertentu. Menurut Nursyirwani dan Amolle (2007) bahwa bakteri *P. fluorescens* dapat tumbuh optimal pada kisaran suhu 30-35°C dan dapat tumbuh pada suhu 41°C.

## 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun saga (*A. precatorius*) berpengaruh terhadap zona hambat bakteri *P. fluorescens* dengan nilai rata-rata zona hambat tertinggi perlakuan D dengan dosis 1.200 ppm sebesar 8,39 mm namun dosis optimum yaitu pada perlakuan C dengan dosis 900 yaitu 8,31 mm. Yang termasuk dalam kategori daya hambat sedang yang bersifat bakteriostatik.

### 5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini ekstrak kasar daun saga (*A. precatorius*) dapat menghambat aktivitas bakteri *P. fluorescens* dengan dosis optimum yaitu 900 ppm akan tetapi disarankan dilakukan uji *toxic* atau *lethal* daun saga terlebih dahulu untuk membuktikan keefektifan bahan tersebut pada organisme budidaya.

## DAFTAR PUSTAKA

- Afrianto, E., E. Liviawaty, Z. Jamaris dan Hendi. 2015. Penyakit Ikan. Jakarta: Penebar Swadaya. 220 hlm.
- Agustina, D., C. Yulvizar dan R. Nursanty. 2012. Isolasi dan karakterisasi bakteri pada ikan (*Rastrelligersp.*) asin berkitosan. *Biospesies*. **6**(1): 15-19.
- Angelina, M., M. Turnip dan S. Khotimah. 2015. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Protobiont*. **4**(1): 184-189.
- Armedita, D., V. Asfrizal dan M. Amir. 2018. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun, kulit batang, dan getah angkana (*Pterocarpus indicus willd*) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *ODONTO Dental Journal*. **5**(1): 1-8.
- Arwiyanto, T., YMS. Maryudani dan N. N. Azizah. 2007. Sifat-sifat fenotipik *Pseudomonas fluoresen*, agensia pengendalian hayati penyakit lincat pada tembakau temanggung. *Biodiversitas*. **8**(2): 147-151.
- Astrini, D., M. S. Wibowo dan I. Nugrahan. 2014. Aktivitas antibakteri madu pahit terhadap bakteri gram negatif dan gram positif serta potensinya dibandingkan terhadap antibiotik kloramfenikol, oksitetrasiklin dan gentamisin. *Acta Pharmaceutica Indonesia*. **41**(3): 75-83.
- Bhatia , M., N. A. Siddiqui and Sumeet Gupta. 2013. *Abrus precatorius* (L.): an evaluation of traditional herb. *Journal of Pharmaceutical*. **3**(4): 3295-3315.
- Botelho, G. R and L. C. M.Hagler. 2006. *Fluorescent pseudomonads* associated with the Rhizosphere of crops. *Brazilian Journal of Microbiology*. **37**:401-416.
- Cahyono, B. 2001. Budidaya Ikan Di Peraian Umum. Penerbit Kanisius: Yogyakarta. 93 hlm.
- Darak, O and R. D. Barde. 2015. *Pseudomonas fluorescens* associated with Bacterial disease in catla catla in Marathwada region of Maharashtra. *Journal of Advanced Biotechnology*. **6**(2): 189-195.
- Darwis, W., M. Romauli dan Kasrina. 2013. Uji efektivitas ekstrak daun iler-iler (*Coleus scutellarioides* (Linn.) Benth) sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Konservasi Hayati*. **9**(2): 55-59.
- Das, A., V. Jain and A. Mishra. 2016. A brief review on a traditional herb: *abrus precatorius* (L.). *International Journal of Forensic Medicine and Toxicological Sciences*. **1**(1):1-10.
- Febrina, L., I. D. Riris dan S. Silaban. 2017. Uji aktivitas antibakteri terhadap *escherichia coli* dan antioksidan dari ekstrak air tumbuhan binara (*Artemisia vulgaris* L.). *Jurnal Pendidikan Kimia*. **9**(2): 311-317.

- Ganeshan, G and A. M. Kumar. 2005. *Pseudomonas fluorescens*, a potential bacterial antagonist to control plant diseases. *Journal of Plant Interactions*.1(3): 123134
- Harti, A. S. 2015. Mikrobiologi Kesehatan. ANDI. Yogyakarta. 280 hlm.
- Holderman, M. V., E. D. Queijoe dan S. B. Rondonuwu. 2017. Identifikasi bakteri pada pegangan eskalator di salah satu pusat perbelanjaan di kota manado. *Jurnal Imiah Sains*. 17(1): 13-18.
- Ibrahim, A., Y. T. Adiputra, A. Setyawan dan S. Hudaidah. 2013. Potensi ekstrak kulit buah dan biji rambutan (*Nephelium lappaceum*) sebagai senyawa anti bakteri patogen pada ikan. *Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan*. 1(2): 136-144.
- Indrayati, F., M. Agus Wibowo dan N. Idiawati. 2015. Aktivitas antijamur ekstrak daun saga pohon (*Adenantha Pavonina* L.) terhadap jamur *Candida albicans*. *JKK*. 5(2): 20-26.
- Jasmanindar, Y. 2011. Prevalensi parasit dan penyakit ikan air tawar yang dibudidayakan Di Kota/ Kabupaten Kupang. *Jurnal Ilmu-ilmu Hayati dan Fisik*.13(1): 25-30.
- Juniarti., D. Osmeli dan Yuhernita. 2009. Kandungan senyawa kimia, uji toksisitas (*Brine Shrimp Lethalitytest*) dan antioksidan (1,1-diphenyl-2-pikrilhydrazyl) dari ekstrak daun saga (*Abrus precatorius* L.). *Makara Sains*. 13(1): 50-54.
- Kawiji, L. U. Khasanah, R. Utami dan N. T. Aryani. 2015. Ekstraksi maserasi oleoresin daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC): optimasi rendemen dan pengujian karakteristik mutu. *AGRITECH*. 35(2): 178-184.
- Lasabuda, R. 2013. Pembangunan wilayah pesisir dan lautan dalam perspektif negara kepulauan republik indonesia. *Jurnal Ilmiah Platax*. 1(2): 92-101.
- Lengka, K., H. Manoppo dan M. E. F. Kolopita. 2013. Peningkatan respon imun non spesik ikan mas (*cyprinus carpio* l) melalui pemberian bawang putih (*Allium Sativum*). *Budidaya Perairan*. 1(2): 21-28.
- Lestari, P. B dan T. W. Hartati. 2017. Mikrobiologi Berbasis Inkuiry. Penerbit Gunung Samudera: Malang 223 hlm.
- Mania, S. 2008. Observasi sebagai alat evaluasi dalam dunia pendidikan dan pengajaran. *Lentera Pendidikan*. 11(2): 220-233.
- Marhamah. 2015. Perbandingan kemampuan ekstrak daun saga (*Abrus precatorius* Linn.) dengan madu hitam dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. *Jurusan Analis Kesehatan*. 4(2): 412-419.
- Marselia, S., M. A. Wibowo dan S. Arreneuz. 2015. Aktivitas antibakteri ekstrak daun soma (*Ploiarium alternifolium* Melch) terhadap *Propionibacterium acnes*. *JKK*. 4(4): 72-82.
- Manurung, U. N dan D. Susantie. 2017. Identifikasi bakteri patogen pada ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) di lokasi budidaya ikan air tawar Kabupaten Kepulauan Sangihe. *Budidaya Perairan* 5 (3): 11-17.



- 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*.5(2): 564-568.
- Murwantoko, Rozi, I. Istiqomah dan K. H. Nitimulyo. 2013. Isolasi, karakterisasi, dan patogenitas bakteri Penyebab penyakit pada gurami (*Osphronemus goramy*) Di kabupaten bantul. *Jurnal Perikanan*. **18** (2): 83-90.
- Misrahanum, C., I. A. Puteri dan C. Yulvizar. 2017. Activity test of *Abrus precatorius* L. leaf extract against clinical *Streptococcus pneumonia* growth. *Jurnal Natural*. **17**(1): 58-63.
- Murtidjo, B. A. 2002. Tuntunan Bagi Petambak dan Peminat Budidaya Bandeng Intensif. Kanisius. Yogyakarta. 126 hlm.
- Nassir, Z. S., H. B. Sahib dan E. J. kadhim. 2017. Phytochemical analysis and *in-vitro* antioxidant activity of ethanolic extract of Iraqi *A. precatorius* Linn. Of leguminosae family. *International Journal Pharmaceutical Science Review and Researh*. **46** (1):134-138
- Nenndissa, D. M. 2012. Analisa kemampuan alga hijau silpau (*Dictyosphaeria versluysii*) sebagai antibakteri. *Jurnal Ekologi dan Sains*. **1**(1): 47-52.
- Ningsih, D. R., Zufahair D. dan Kartika. 2016. Identifikasi senyawa metabolit sekunder serta uji aktivitas ekstrak daun sirsak sebagai antibakteri. *Molekul*. **11**(1): 101 – 111.
- Novita, W. 2016. Uji aktivitas antibakteri fraksi daun sirih (*Piper betle* L) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* Secara In Vitro. *JMJ*. **4**(2): 140–155.
- Nurhidayati, S., Faturrahman dan M. Ghazali. 2015. Deteksi bakteri patogen yang berasosiasi dengan *kappaphycus alvarezii* (doty) bergejala penyakit ice-ice. *Jurnal Sains Teknologi & Lingkungan*.1(2): 24-30.
- Nursyirwani dan K. C. Amolle. 2007. Isolasi dan karakterisasi bakteri hidrokarbonoklastik dari perairan dumai dengan sekuen 16S rDNA. *Ilmu Kelautan*. **12** (1): 12-17.
- Okhale, S. E. dan E. M. Nwanosike. *Abrus precatorius* Linn (Fabaceae): phytochemistry, ethnomedicinal uses, ethnopharmacology and pharmacological activities. *International Journal of Pharmaceutical Science and Research*. **1**(6): 37-43.
- Pangaribuan, M., T. A. Pribadi dan D. R. Indriyant. 2012. Uji ekstrak daun sirsak terhadap mortalitas ektoparasit benih udang windu (*Penaeus Monodon*). *Journal of Life Science*. **1**(1): 2252-6277.
- Paul, E. D., Sangodare R. S. A., Uroko R. I., Agbaji A.S. dan Dakare M. A. 2013. Chemical analysis of leaves of *Abrus precatorius*. *Journal of Plant Physiology and Biochemistry*. **5**(5): 65-67.



- Prakash, V., A. Nainwal, A. S. Rawat, J. S. Chauhan dan H. Bisht. 2013. enhancement of germination in *Abrus precatorius* L. seeds by specific pre-sowing treatments. *Journal Of Conservation Science*. **4**(2): 237-242.
- Prijana dan A. S. Rohman. 2016. Studi eksperimen mengenai metode baca good reading. *Jurnal Undip*. **2**(2): 71-81.
- Putri, R., S. Mursiti dan W. Sumarni. 2017. Aktivitas Antibakteri Kombinasi Temu Putih dan Temulawak terhadap *Streptococcus Mutans*. *Jurnal MIPA*. **40** (1): 43-47.
- Rahayu, S. A dan M. H. Gumilar. 2017. Uji cemaran air minum masyarakat sekitar margahayu raya bandung dengan identifikasi bakteri *Escherichia coli*. *IJPST*. **4**(2): 50-56.
- Rahmaningsih, S. 2018. Hama dan Penyakit Ikan. Penerbit Deepublish: Yogyakarta. 352 hlm.
- Rahmaningsih, S., S. Wilis dan A. Mulyana. 2012. Bakteri patogen dari perairan pantai dan kawasan tambak di Kecamatan Jenu Kabupaten Tuban. *Ekologia*. **12**(1): 1-15.
- Safrida, Y. D., C. Yulvizar dan C. N. Devira. 2012. Isolasi dan karakterisasi bakteri berpotensi probiotik pada ikan kembung (*Rastrelliger* sp.). *Depik*. **1**(3): 200-203.
- Sartika, R., Melki dan A. I.S. Purwiyanto. 2013. Aktivitas antibakteri ekstrak rumput laut *Eucheuma cottoni* terhadap bakteri *Escherichia Coli*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio Cholera* Dan *Salmonella typhosa*. *Maspari Journal*. **5**(2), 98-103.
- Sastrosupadi, S. 2000. Rancangan Percobaan Praktis Bidang Pertanian. Penerbit Kanisius: Yogyakarta. 244 hlm.
- Scales, B. S., R. P. Dickson, J. J. Lipuma and G. B. Huffnagle. 2014. Microbiology, genomics, and clinical significance of the *Pseudomonas fluorescens* species complex, an unappreciated colonizer of humans. *Journals American Society for Microbiology*. **27** (4): 927-948.
- Sembiring, T. dan L. Sriwuryandari. 2000. Bioeograoasi senyawa aromatic oleh *Pseudomonas* sp isolat I<sub>4</sub> dari tablet bakteri. *Jurnal Kimia Terapan Indonesia*. **10** (2): 30-36.
- Septiani., E. N. Dewi dan I. Wijayanti. 2017. Aktivitas antibakteri ekstrak lamun (*Cymodocea rotundata*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Journal of Fisheries Science and Technology*. **13**(1): 1-6.
- Siegrist, J. 2010. *Pseudomonas* a Communicative Bacteria. *Microbiology Focus*. **2**(4) : 1-8.
- Simatupang, N dan D. Anggraini. 2013. Potensi Tanaman herbal sebagai antimikrobal pada ikan lele sangkuriang (*Clarias* sp.). *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia*. **1**(2) : 216-225.

- Suliani, A ., M. Latief dan S. L. Rahmi. 2016. Aktivitas antimikroba ekstrak etil aasetat buah dan daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi linn*) terhadap mikroba *Salmonella tyhipimurium* dan *Aspergillus flavus*. *Chempublish Journal*. **1**(2): 32-41.
- Sulistiyani, N., E. Kurniati, Yakup, dan R. A. Cempaka. 2016. Aktivitas Antibakteri Infusa daun lidah buaya (*Aloe barbadensis Miller*). *Jurnal Penelitian Saintek*. **21**( 2): 120-128.
- Suranto, A. 2004. Khasiat Dan Manfaat Madu Herbal. Penerbit Agromedia Pustaka: Jakarta. 140 hlm.
- Suyono, Y dan F. Salahudin. 2011. Identifikasi dan karakterisasi bakteri *Pseudomonas* pada tanah yang terindikasi terkontaminasi logam. *Jurnal Biopropal Industri*. **2**(1): 8-13.
- Thomas, A. N. S. 1992. Tanaman Obat Tradisional. Penerbit Kanisius: Yogyakarta. 123 hlm.
- Wignyanto dan N. Hidayat. 2017. Bioindustri. Penerbit Universitas Brawijaya. Malang. 132 hlm.
- Wiyanto, D. B. 2010. Uji aktivitas antibakteri ekstrak rumput laut *Kappaphycus alvarezii* dan *Eucheuma denticullatum* terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila* dan *Vibrio harveyii*. *Jurnal Kelautan*. **3**(1): 1-17.
- Younes A. M., L. A. Mohamed, Eida MF and Gaafar AY. 2015. Characterization and pathogen challenge of *Pseudomonas* species from *Oreochromis niloticus* in Egypt. *Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. **6**(1): 312-317.
- Yuan-Yuan Sun, Heng Chi and Li Sun. 2016. *Pseudomonas fluorescens* Filamentous hemagglutinin, an iron-regulated protein, is an important virulence factor that modulates bacterial pathogenicity. *Frontiers in Microbiology*. **7**: 1-11.
- Yulianingtyas, A. dan B. Kusmartono. 2016. Optimasi volume pelarut dan waktu maserasi pengambilan flavonoid daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi l.*). *Jurnal Teknik Kimia*. **10**(2): 58-64.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Uji Biokimia Baketri *P. fluorescens*



**KEMENTERIAN KELAUTAN DAN PERIKANAN  
DIREKTORAT JENDERAL PERIKANAN BUDIDAYA  
BALAI BESAR PERIKANAN BUDIDAYA AIR PAYAU  
LABORATORIUM UJI BBPBAP JEPARA**

Alamat surat: PO Box 1 Jepara, Kantor: Jl. Cik Larang - Bulu Jepara 59418  
Telp. : (0291) 591125, Faksimil : (0291) 591724  
[www.bbpbajepara.ditp.kkp.go.id](http://www.bbpbajepara.ditp.kkp.go.id) ; Email: bbpbajpr@gmail.com

---

**HASIL UJI BIODIAGNOSTIK**

Hal : Uji biokimia Identifikasi Bakteri  
 Asal : Lab. Mikrobiologi  
 Alamat : BBAPAP Jepara  
 Metode : Cowan and stell's, Manual for Identification of medical bacteria  
 Hasil :

Uji Bio Kimia	Isolat <i>Pseudomonas fluorescens</i>
Gram	-
Bentuk	Batang
Katalase	+
Oksidase	+
H <sub>2</sub> S	-
Indol	-
Citrate	+
OF medium	Oksidatif
VP	-
MR	-
TSIA	A/A
Urea	-
Glukosa	+
Sukrosa	-
37° C	+
Pigment fluorescent	+

Lab. Mikrobiologi BBPBAP Jepara

Penyelia



Sri Murti Astuti, SP





Lampiran 2. Hasil Uji Fitokimia Daun Saga (*A. Precatorius*)



**PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR**  
**DINAS KESEHATAN**  
**UPT LABORATORIUM HERBAL**  
**MATERIA MEDICA BATU**  
 Jalan Lahor No.87 Telp/Fax (0341) 593396. Batu  
**KOTA BATU**

65313

Nomor : 074 / 36D / 102.7 / 2019  
 Sifat : Biasa  
 Perihal : Surat Keterangan Analisa Kualitatif

Bersama ini kami sampaikan hasil analisa berikut ini :

1. Identitas Pemohon

Nama : Mega Putri Ulansari  
 NIM : 155080500111032  
 Fakultas : Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya  
 Alamat Instansi : Malang

2. Identitas Sampel

Nama daerah sampel : Saga  
 Nama latin : *Abrus precatorius*  
 Bagian Sampel : Daun  
 Bentuk sampel : Ekstrak  
 Pelarut : Metanol 70%  
 Tanggal penerimaan : 09 April 2019  
 Tanggal pemeriksaan : 11 April 2019

3. Hasil

No	Identifikasi Senyawa	Parameter	Hasil
1.	Flavonoid	Merah Bata, Merah Muda, Merah Tua	Positif
2.	Alkaloid		
	Meyer	Endapan Putih	Positif
	Dragendrof	Endapan Jingga	Positif
	Bouchardat	Endapan Cokelat	Positif
3.	Tanin	Hijau Kehitaman, Biru Kehitaman, Coklat Kehitaman	Positif
4.	Terpenoid		Positif
	Steroid	Hijau Kebiruan	Negatif
	Triterpenoid	Orange, Jingga Kecokelatan	Negatif
5.	Polifenol	Hijau Kehitaman, Biru Kehitaman, Coklat Kehitaman	Positif
6.	Saponin	Busa Permanen	Positif

4. Lampiran

Nama Sampel	Flavonoid	Alkaloid		
		Meyer	Dragendrof	Bouchardat
Daun Saga ( <i>Abrus precatorius</i> )				
Nama Sampel	Tanin	Terpenoid	Polifenol	Saponin
Daun Saga ( <i>Abrus precatorius</i> )				



### Lampiran 3. Alat dan Bahan



Kulkas



Mikropipet



Tip



Autoklaf



Inkubator



Destruktor

Lampiran 3. (Lanjutan)



Timbangan Analitik



Hot plate



Tri Angel



Vortex Mixer



Pinset



Erlenmeyer

Lampiran 3. (Lanjutan)



Bola Hisap



Beaker glass



Gelas Ukur



Bunsen



Jarum ose



Cawan petri

Lampiran 3. (Lanjutan)



Jangka sorong



Spatula besi



Kertas cakram



TSB (Tryptic Soy Broth)



Laminary Air Flow



Aluminium foil

Lampiran 3. (Lanjutan)



PSA *P. fluorescens*



TSB *P. fluorescens*



Safranin



Plastik wrap



DMSO



Kristal violet

Lampiran 3. (Lanjutan)



Alkohol 70%



Etanol 96%



Iodine



Akuades



Lampiran 4. Pembuatan Ekstrak Kasar Daun Saga (*A. precatorius*)



Pengeringan Daun Saga (*A. precatorius*)



Daun Saga dihaluskan



Penimbangan daun saga



Dtambahkan Methanol 70% dengan perbandingan 1:5



Ditutup dengan Aluminium foil saat maserasi selama 24 jam



Penyaringan daun saga



Dilakukan proses maserasi

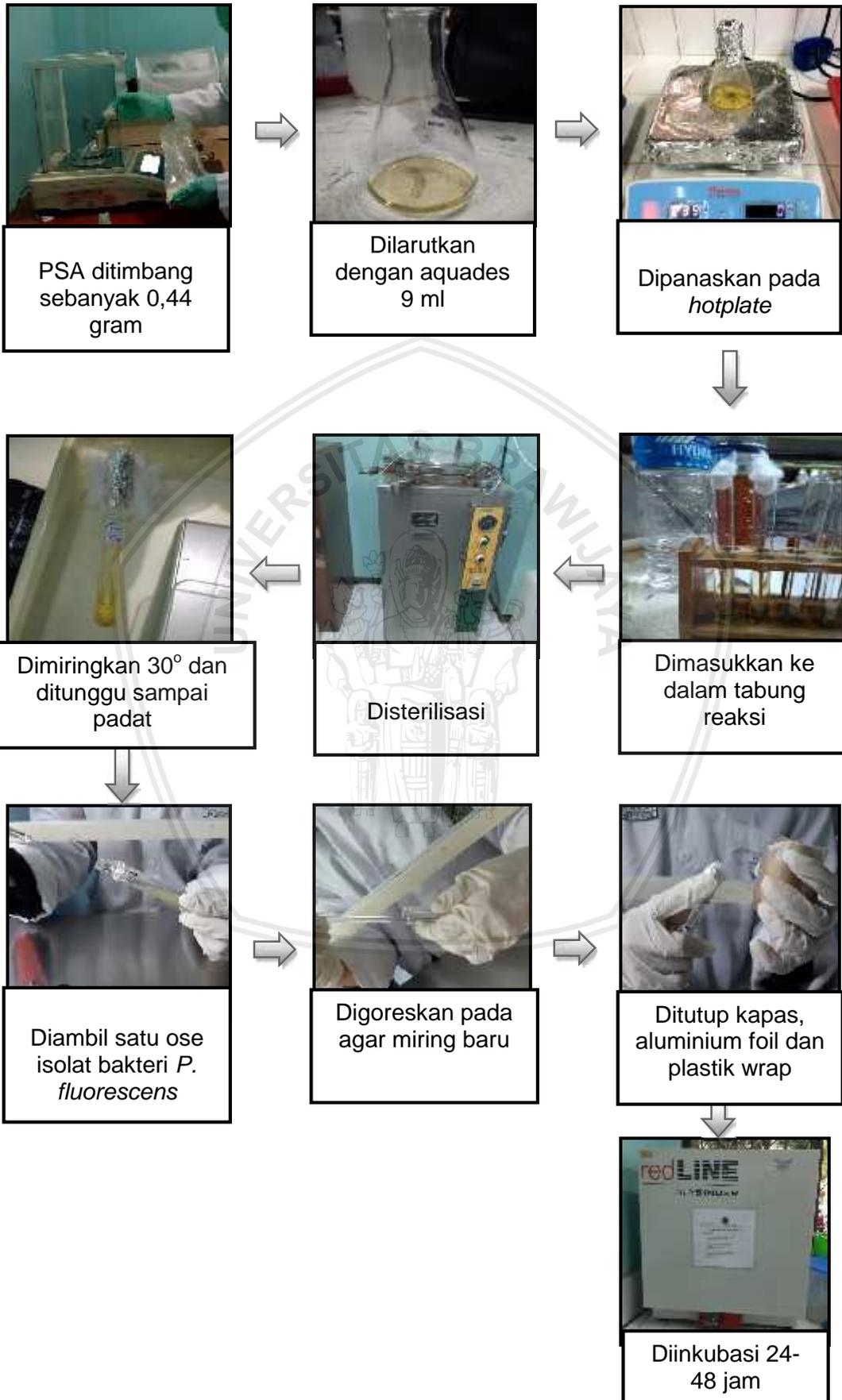


Dilakukan penimbangan ekstrak



Di bungkus dengan Aluminium foil setelah itu disimpan dalam kulkas

Lampiran 5. Pembuatan Media Agar Miring dan Peremajaan Bakteri



Lampiran 6. Kultur bakteri *P. fluorescens*



TSB ditimbang



Dimasukkan erlenmeyer dan ditambahkan aquades 9 ml



Dimasukkan ke dalam tabung reaksi



Dipanaskan menggunakan *hotplate* sampai mendidih



Dilakukan sterilisasi menggunakan autoclave



Disiapkan bakteri *P. fluorescens*



Dilakukan proses kultur bakteri



Diinkubator 24 jam *P.fluorescens*



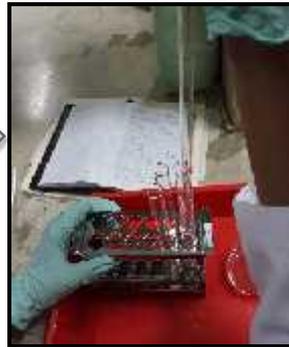
Lampiran 7. Pembuatan Media Cair (*Tryptic Soy Borth*)



### Lampiran 8. Pembuatan Natrium Fisiologi



NaCl dilarutkan dengan aquades



Dimasukkan ke dalam tabung reaksi



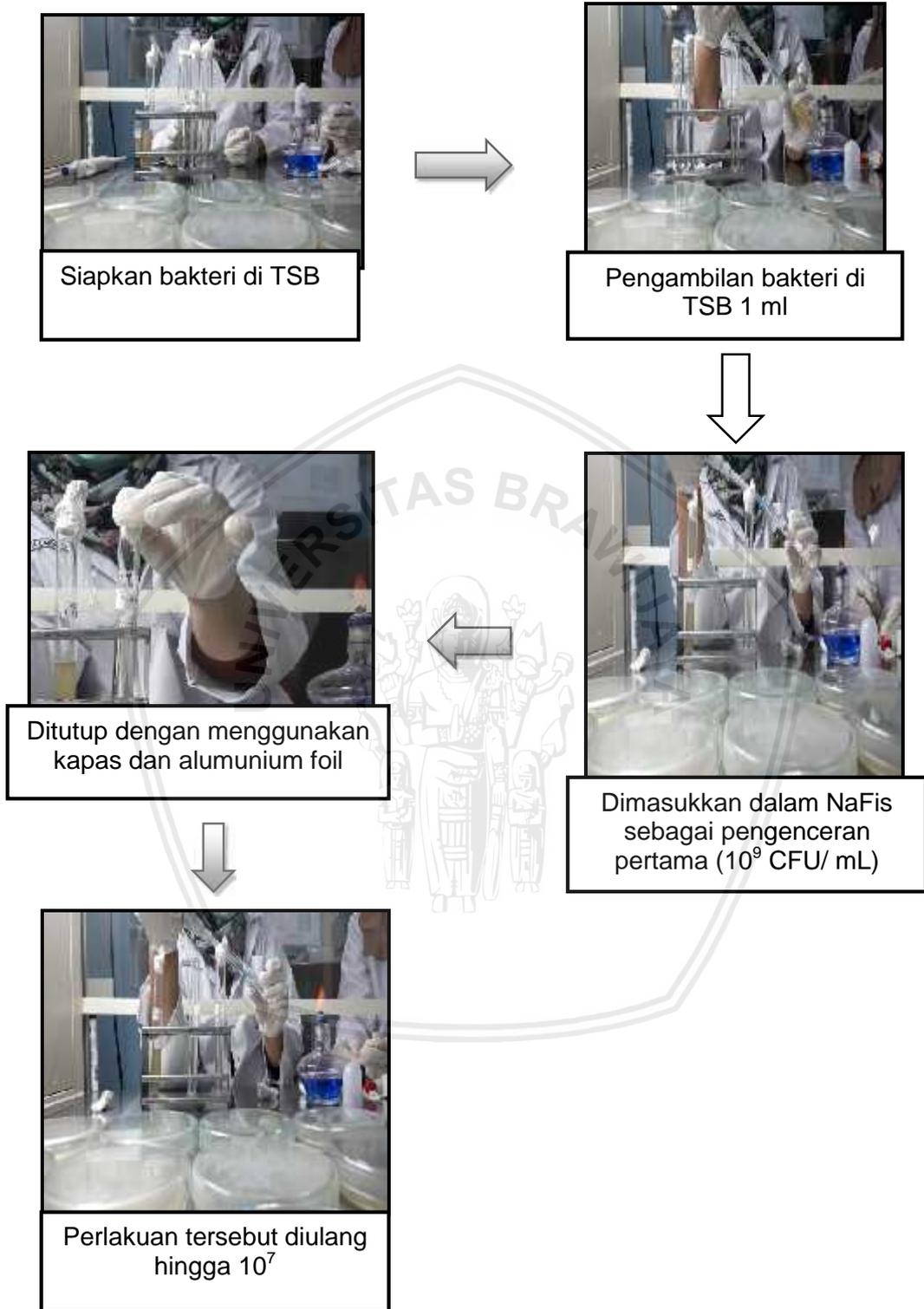
Ditutupi dengan kapas dan aluminium foil



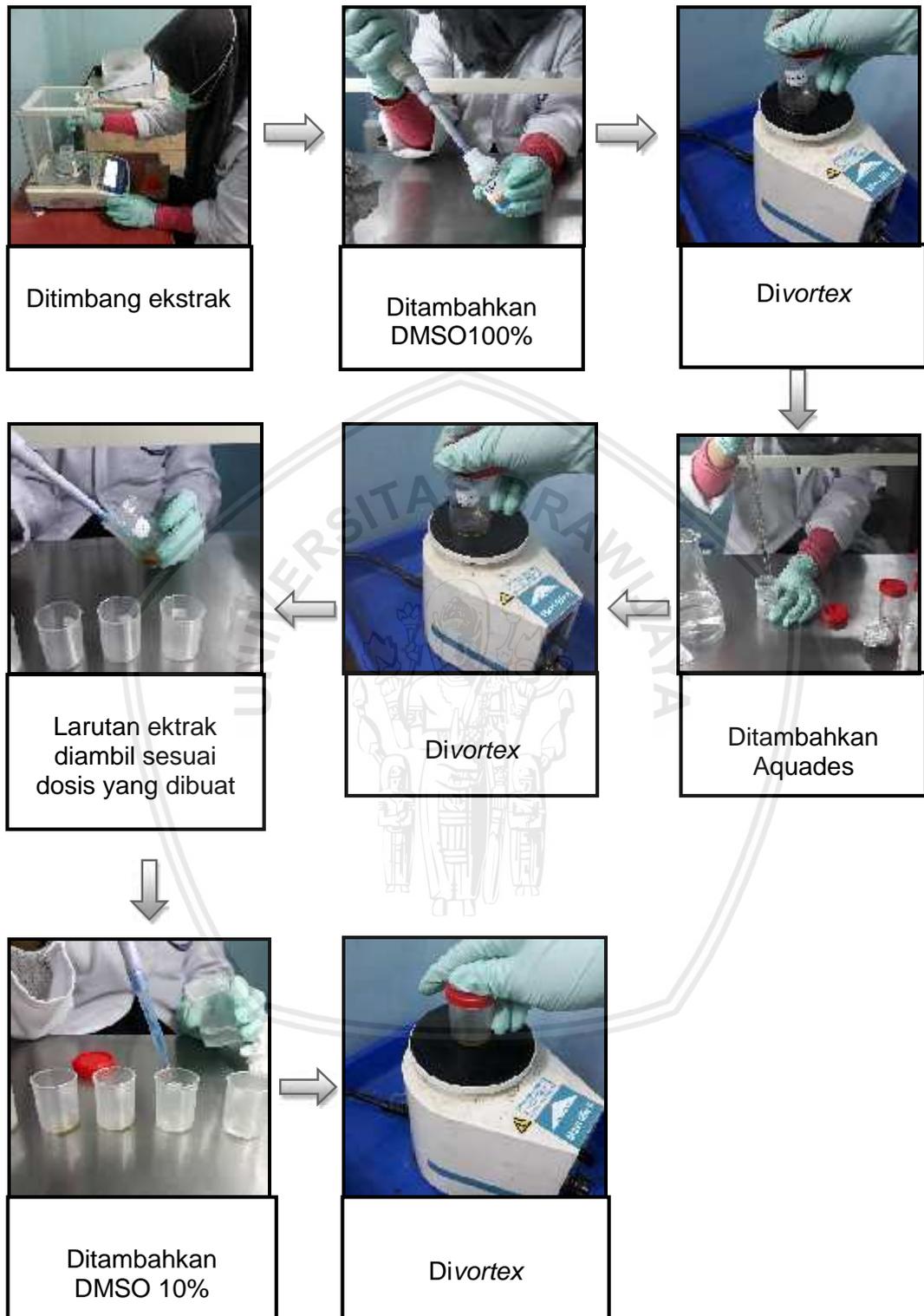
Disterilisasi



### Lampiran 9. Pengenceran Bakteri *P. fluorescens*



### Lampiran 10. Pembuatan Dosis

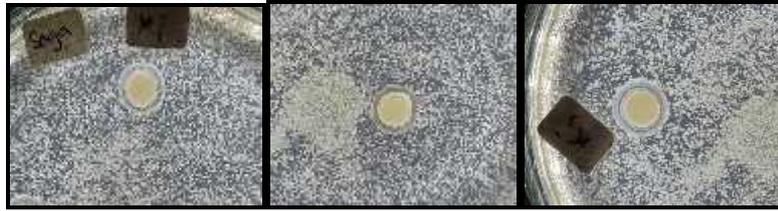


### Lampiran 11. Uji Cakram



**Lampiran 12.** Hasil Uji Cakram “Penggunaan Ekstrak Daun Saga (*A.precatorius*) Sebagai Antibakteri *P.fluorescens*.”

1. Perlakuan Kontrol – (DMSO 10%)



2. Perlakuan Kontrol + (5.000 ppm)



3. Perlakuan A dengan Konsentrasi 300 ppm



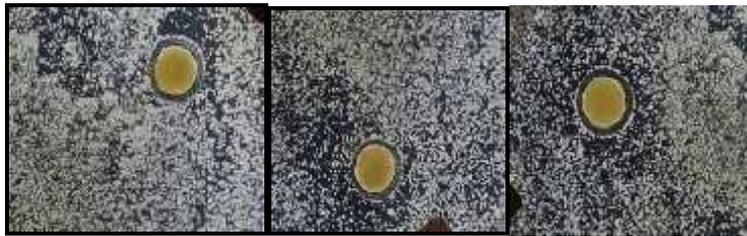
4. Perlakuan B dengan Konsentrasi 600 ppm



5. Perlakuan C dengan Konsentrasi 900 ppm



6. Perlakuan D dengan Konsentrasi 1200 ppm



7. Perlakuan E dengan Konsentrasi 1500 ppm



### Lampiran 13. Perhitungan Ekstrak Dosis

Pelarut yang digunakan dalam pembuatan ekstrak dosis uji yaitu DMSO 10%, adapun perhitungan dosis yang digunakan sebagai berikut:

#### a. Dosis 5000 ppm

Pembuatan dosis 5000 ppm merupakan dosis stok ekstrak kasar daun saga tertinggi yang digunakan dalam pembuatan dosis 300 – 1500 ppm.

- Pembuatan stok ekstrak sebesar 5000 ppm dengan rumus berikut:

$$5000 \text{ ppm} = \frac{25 \text{ mg ekstrak kasar}}{5 \text{ ml (0,5 DMSO 100\% + 4,5 aquadest steril)}}$$

#### b. Dosis 300 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\ 1,5 \text{ ml} \times 300 &= V_2 \times 5.000 \\ V_2 &= 0,09 \text{ ml} \\ \text{DMSO 10 \%} &= 1,5 \text{ ml} - 0,09 \text{ ml} = 1,41 \text{ ml} \end{aligned}$$

#### c. Dosis 600 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\ 1,5 \text{ ml} \times 600 &= V_2 \times 5.000 \\ V_2 &= 0,18 \text{ ml} \\ \text{DMSO 10 \%} &= 1,5 \text{ ml} - 0,18 \text{ ml} = 1,32 \text{ ml} \end{aligned}$$

**Lampiran 13. Perhitungan Ekstrak Dosis Uji (Lanjutan)**

d. Dosis 900 ppm

$$\begin{aligned}V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\1,5 \text{ ml} \times 900 &= V_2 \times 5.000 \\V_2 &= 0,27 \text{ ml}\end{aligned}$$

$$\text{DMSO } 10 \% = 1,5 \text{ ml} - 0,27 \text{ ml} = 1,23 \text{ ml}$$

e. Dosis 1.200 ppm

$$\begin{aligned}V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\1,5 \text{ ml} \times 1200 &= V_2 \times 5.000 \\V_2 &= 0,36 \text{ ml}\end{aligned}$$

$$\text{DMSO } 10 \% = 1,5 \text{ ml} - 0,3 \text{ ml} = 1,14 \text{ ml}$$

f. Dosis 1.500 ppm

$$\begin{aligned}V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\1,5 \text{ ml} \times 1.500 &= V_2 \times 5.000 \\V_2 &= 0,45 \text{ ml}\end{aligned}$$

$$\text{DMSO } 10 \% = 1,5 \text{ ml} - 0,45 \text{ ml} = 1,05 \text{ ml}$$

**Lampiran 14.** Analisa Data Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Saga ( *A.Precatorius*) Sebagai Antibakteri *P. fluorescens* Secara *In Vitro*.

- Data Rerata Zona Hambat (mm) Bakteri *P. fluorescens*

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata±STDEV
	1	2	3		
A(300 ppm)	8,11	8,07	7,62	23,8	7,93±0,27
B (600 ppm)	8,04	8,13	8,24	24,41	8,14±0,10
C (900 ppm)	8,22	8,41	8,31	24,94	8,31±0,10
D (1200 ppm)	8,38	8,29	8,49	25,16	8,39±0,10
E (1500 ppm)	7,73	7,37	7,89	22,99	7,66±0,27
<b>Total</b>	40,48	40,27	40,55	121,3	

Perhitungan :

1. Faktor Korelasi (FK)  $= \frac{C^2}{N}$   
 $= \frac{121,30^2}{15}$   
 $= 980,91$
2. JK Total  $= \sum i_j^2 - FK$   
 $= (A1^2+A2^2+A3^2+,,,,,+E3^2)- FK$   
 $= (8,11^2+8,07^2+7,62^2+,,,,,+7,78^2)-980,91$   
 $= 1,338$
3. JK Perlakuan  $= \frac{(\sum A)^2+(\sum B)^2+(\sum C)^2+(\sum D)^2+(\sum E)^2}{r} - FK$   
 $= \frac{(23,80)^2+(24,41)^2+(24,94)^2+(25,16)^2+(22,99)^2}{3} - 980,91$   
 $= 1,040$
4. JK Acak  $= JK \text{ Total} - JK \text{ Perlakuan}$   
 $= 1,338 - 1,040$   
 $= 0,348$
5. db Total  $= (n \times r) - 1$   
 $= (5 \times 3) - 1$   
 $= 14$
6. db Perlakuan  $= n - 1$   
 $= 5 - 1$   
 $= 4$
7. Derajat Bebas Acak (db Acak)  $= n \times (r - 1)$   
 $= 5 \times (3 - 1)$   
 $= 10$

$$\begin{aligned}
 8. \text{ Kuadrat Tengah Perlakuan (KTP)} &= \frac{JK \text{ Perlakuan}}{db \text{ perlakuan}} \\
 &= \frac{1,040}{4} \\
 &= 0,26
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 9. \text{ Kuadrat Tengah Acak (KTA)} &= \frac{JK \text{ Acak}}{db \text{ acak}} \\
 &= \frac{0,348}{10} \\
 &= 0,0348
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 10. \text{ F Hitung} &= \frac{KT \text{ Perlakuan}}{KT \text{ Acak}} \\
 &= \frac{1,040}{0,0348} \\
 &= 29,89
 \end{aligned}$$

- Tabel Analisa Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	4	1,040	0,260	7,467	3,48	5,99
Acak	10	0,348	0,0348133			
<b>Total</b>	<b>14</b>					

Keterangan : \* Berbeda Nyata

Karena F hitung lebih besar dari F tabel 5% dan lebih kecil dari F tabel 1% maka dinyatakan hasil tersebut Berbeda nyata. Sehingga dilanjutkan dengan uji BNT.

Uji BNT (Uji Nyata Terkecil)

$$\begin{aligned}
 SED &= \sqrt{\frac{2 \times KT \text{ Acak}}{\pi (\text{Ulangan})}} \\
 &= \sqrt{\frac{2 \times 0,0348}{3}} = 0,152
 \end{aligned}$$

$$\text{BNT 5\%} = T \text{ tabel 5\% (db acak)} \times SED = 0,339$$

$$\text{BNT 1\%} = T \text{ tabel 1\% (db acak)} \times SED = 0,483$$



- Tabel Uji BNT (Beda Nyata Terkecil)

Perlakuan	Rerata	Perbandingan (Ci)					Notasi
		E	A	B	C	D	
		7,66	7,93	8,14	8,31	8,39	
E	7,66	–					a
A	7,93	0,27 <sup>ns</sup>	–				a
B	8,14	0,48*	0,21 <sup>ns</sup>	–			b
C	8,31	0,65**	0,38*	0,17 <sup>ns</sup>	–		c
D	8,39	0,73**	0,46*	0,25 <sup>ns</sup>	0,08 <sup>ns</sup>	–	c

Keterangan :

- ns : tidak berbeda nyata
- \* : berbeda nyata
- \*\* : berbeda sangat nyata

Perlakuan terbaik dari uji BNT ini adalah D-C-B-A/E, selanjutnya dilakukan uji polynomial orthogonal

- Tabel Uji Polynomial Orthogonal

Perlakuan	Total	Perbandingan (Ci)			
		Linier	Kuadratik	Kubik	Kuartik
A	23,8	-2	2	-1	1
B	24,41	-1	-1	2	-4
C	24,94	0	-2	0	6
D	25,16	1	-1	-2	-4
E	22,99	2	2	1	1
Q= Sum(ci*Ti)		-0,87	-5,87	-2,31	-1,85
Hasil Kuadrat		10	14	10	70
Kr=Sum (ci <sup>2</sup> )*r		30	42	30	210
JK Regres (Q <sup>2</sup> /Kr)		0,025	0,82040	0,178	0,016
JK REGRESI	0,846				



• Tabel Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F. Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	4	0,846			3,48	5,99
Linier	1	0,025	0,02523	0,724722	Ns	
Kuadratik	1	0,80	0,820402	23,56575	**	
Kubik	1	0,178	0,17787	5,109249	*	
Kuartik	1	0,016	0,0162976	0,468143	ns	
Acak	10	0,3481	0,0348133	1	ns	
Total	14					

Keterangan :

- ns : tidak berbeda nyata
- \*\* : berbeda sangat nyata

R<sup>2</sup> Linier

$$= \frac{JK \text{ Linier}}{JK \text{ Linier} + JK \text{ Acak}}$$

$$= \frac{0,025}{0,025 + 0,3481}$$

$$= 0,08$$

R<sup>2</sup> Kuadratik

$$= \frac{JK \text{ Kuadratik}}{JK \text{ Kuadratik} + JK \text{ Acak}}$$

$$= \frac{0,80}{0,80 + 0,3481}$$

$$= 0,70$$

R<sup>2</sup> Kubik

$$= \frac{JK \text{ Kubik}}{JK \text{ Kubik} + JK \text{ Acak}}$$

$$= \frac{0,07}{0,07 + 0,52}$$

$$= 0,33$$

Hasil perhitungan R<sup>2</sup> diatas menunjukkan bahwa nilai R<sup>2</sup> kuadratik lebih besar dibandingkan dengan nilai R<sup>2</sup> linier dan kubik yaitu sebesar 0,70

Berdasarkan hasil tersebut, maka arah laju kurva yang digunakan adalah kurva kuadratik. Langkah selanjutnya yaitu mencari persamaan regresi kuadratik.

X	UJ
x=300	-2,0
x=600	-1,0
x=900	0,0
x=1200	1,0
X=1500	2,0

$$U_j = \frac{X - \text{Rerata } X}{d}$$

$$X = 300 \quad U_j = \frac{X - \text{Rerata } X}{d} = \frac{300 - 900}{300} = -2$$

$$X = 600 \quad U_j = \frac{X - \text{Rerata } X}{d} = \frac{600 - 900}{300} = -1$$

$$X = 900 \quad U_j = \frac{X - \text{Rerata } X}{d} = \frac{900 - 900}{300} = 0$$

$$X = 1200 \quad U_j = \frac{X - \text{Rerata } X}{d} = \frac{1200 - 900}{300} = 1$$

$$X = 1500 \quad U_j = \frac{X - \text{Rerata } X}{d} = \frac{1500 - 900}{300} = 2$$



= 2

Xj	300	600	900	1200	1500	TOTAL
Uj	-2,	-1	0	1	2	0
Uj <sup>2</sup>	4,	1	0	1	4	10
Uj <sup>4</sup>	16	1	0	1	16,000	34
Yij	23,8	24,41	24,94	25,16	22,99	121,30
UjYij	-47,6	-24,41	0	25,16	45,98	-0,9
Uj <sup>2</sup> Yij	95,2	24,41	0	25,16	91,96	236,73

Setelah mendapatkan data regresi seperti pada tabel diatas, maka disubstitusikan pada rumus berikut:

Persamaan 1 (Mencari b1) =  $U_j \cdot Y_{ij} = b_1 \cdot r \cdot U_j^2$   
 $-0,9 = b_1 \cdot 3 \cdot 10$   
 $b_1 = -0,03$

Persamaan 2 =  $Y_{ij} = b_0 \cdot n + b_2 \cdot r \cdot U_j^2$   
 $121,30 = b_0 \cdot 15 + b_2 \cdot 3 \cdot 10$   
 $121,69 = 15 b_0 + 30 b_2 \dots\dots (Persamaan 2)$

Persamaan 3 =  $U_j^2 \cdot Y_{ij} = b_0 \cdot r \cdot U_j^2 + b_2 \cdot r \cdot U_j^4$   
 $236,73 = b_0 \cdot 3 \cdot 10 + b_2 \cdot 3 \cdot 34$   
 $236,73 = 15b_0 + 102b_2 \dots\dots (Persamaan 3)$

Kemudian substitusikan persamaan 2 dan persamaan 3 untuk mencari b<sub>0</sub> dan b<sub>2</sub>.

$121,30 = 15 b_0 + 30 b_2$

$236,73 = 30 b_0 + 102 b_2$

$242,60 = 30 b_0 + 60 b_2$

$236,73 = 30 b_0 + 102 b_2$

$5,87 = -42 b_2$

$b_2 = -0,14$



Nilai  $b_2$  kemudian disubstitusikan ke Persamaan 2

$$121,30 = 15 b_0 + 30 b_2$$

$$121,30 = 15 b_0 + 30 \cdot (-0,14)$$

$$120,69 = 15 b_0 + (-2,1)$$

$$120,69 + (-2,1) = 15 b_0$$

$$123,4 = 15 b_0$$

$$b_0 = 8,27$$

Berdasarkan hasil persamaan diatas, maka diperoleh hasil sebagai berikut.

$$y = b_0 + b_1 \cdot U_j + b_2 \cdot U_j^2$$

$$y = 8,27 + (-0,03 \cdot U_j) + (-0,14) \cdot U_j^2$$

Kebalikan transformasi  $U_j = \frac{X_j - 28,5}{3}$ , pada persamaan tersebut yaitu:

$$y = 8,27 + (-0,03) \cdot \frac{X_j - 28,5}{3} + (-0,14) \left( \frac{X_j - 28,5}{3} \right)^2$$

$$y = 8,27 + \frac{(-0,03)X_j}{300} - \frac{27}{300} + (-0,14) \cdot \frac{X_j^2 - 2 \cdot 28,5X_j + (-810.000)}{900}$$

$$y = 8,27 + \frac{(-0,043)X_j}{300} + \frac{38,7}{300} + \frac{(-0,10 \cdot X_j^2)}{900} + \frac{1800X_j}{900} + \frac{(-81.000)}{900}$$

$$y = 8,27 - 0,0001X_j + 0,09 - 0,0000015 X_j^2 + 0,0028X_j - 1,26$$

$$y = - 0,0000015 X_j^2 + 0,0027X_j + 7,1$$

Mencari titik puncak kurva kuadratik ialah turunan pertama persamaan tersebut =

$$0 \text{ atau } y = 0$$

Persamaan:

$$y = - 0,0000015 X_j^2 + 0,0027X_j + 7,1$$

$$y' = - 2 \cdot (0,0000015)X_j + 0,0027$$

$$y' = 0,000003X_j + 0,00027$$

$$0,000003x_j = 0,00027$$



$x_j = 900$ , kemudian disubstitusikan nilai  $X_j = 900$  ke dalam persamaan  $y = -0,0000015 X_j^2 + 0,0027X_j + 7,1$  sehingga diperoleh hasil sebagai berikut.

$$y = -0,0000015 X_j^2 + 0,0027X_j + 7,1$$

$$y = 7,1 + 0,0027(900) - 0,0000015(900)^2$$

$$y = 7,1 + 0,0027(900) - 0,0027(810000)$$

$$y = 7,1 + 2,43 - 1,21$$

$$y = 8,32$$

