

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETIL  
ASETAT DAUN KAPAS (*Gossypium hirsutum* L.)  
TERHADAP *Staphylococcus aureus***

**SKRIPSI**



**Oleh:**

**GUSTIAN RIZA PUTRA**  
**NIM: 2020112063**

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS PERINTIS INDONESIA  
PADANG  
2024**

## ABSTRAK

Daun kapas (*Gossypium hirsutum* L.). diketahui mengandung senyawa alami yang berpotensi sebagai antibakteri seperti saponin, alkaloid, polifenol, dan flavonoid. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun kapas terhadap *Staphylococcus aureus*. Proses ekstraksi daun kapas dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etil asetat. Pada Pengujian antibakteri dilakukan menggunakan metode sumuran, penentuan KHM dan KBM dilakukan menggunakan metode dilusi. Hasil uji kandungan fitokimia yang terdapat pada ekstrak etil asetat daun kapas yaitu fenolik dan steroid. Uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi 80%, 60%, 40%, dan 20% secara berturut-turut adalah 21,96 mm, 19,26 mm, 18,86 mm dan 18,03. Hasil penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) didapatkan nilai KHM pada konsentrasi 20% yaitu -0,765 namun nilai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) tidak didapatkan hasil karena tetap adanya koloni bakteri pada setiap variasi konsentrasi yang diujikan. Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etil asetat daun kapas dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* tetapi tidak dapat membunuh bakteri *Staphylococcus aureus*.

**Kata Kunci:** *Gossypium hirsutum* L, tanaman kapas, *Staphylococcus aureus*, Antibakteri

## ABSTRACT

Cotton (*Gossypium hirsutum* L.) leaves are known to contain natural compounds that have potential as antibacterials such as saponins, alkaloids, polyphenols, and flavonoids. This study was conducted to determine the antibacterial activity of ethyl acetate extract of cotton leaves against *Staphylococcus aureus*. The extraction process of cotton leaves was carried out by maceration method using ethyl acetate solvent. Antibacterial testing was carried out using the pitting method, determination of KHM and KBM was carried out using the dilution method. The results of the phytochemical content test contained in the ethyl acetate extract of cotton leaves are phenolics and steroids. Antibacterial activity tests against *Staphylococcus aureus* bacteria with concentrations of 80%, 60%, 40%, and 20% were 21.96 mm, 19.26 mm, 18.86 mm and 18.03, respectively. The results of determining the Minimum Inhibitory Concentration (KHM) obtained the KHM value at a concentration of 20%, namely -0.765, but the Minimum Kill Concentration (KBM) value was not obtained because there were still bacterial colonies in each concentration variation tested. From this research it can be concluded that ethyl acetate extract of cotton leaves can inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria but cannot kill *Staphylococcus aureus* bacteria.

**Keywords:** *Gossypium hirsutum*, Cotton leaves, *Staphylococcus aureus*

## DAFTAR ISI

<b>ABSTRAK</b> .....	<b>ii</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>iii</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>iv</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>vii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>viii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>ix</b>
<b>BAB I. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah Penelitian .....	3
1.3. Tujuan Penelitian.....	3
1.4. Manfaat Penelitian .....	3
<b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>5</b>
2.1 Tinjauan Botani Tanaman Kapas.....	5
2.1.1 Klasifikasi Tanaman Kapas .....	5
2.1.2 Morfologi Tanaman Kapas .....	5
2.1.3 Nama Lain Tanaman Kapas .....	6
2.2 Kandungan Kimia dan Kegunaan Tanaman Kapas.....	7
2.2.1 Kandungan Kimia Tanaman Kapas .....	7
2.2.2 Tanin .....	7
2.2.3 Flavonoid .....	8
2.2.4 Saponin .....	9
2.2.5 Steroid.....	9

2.2.6 Terpenoid .....	10
2.2.7 Kegunaan Tanaman Kapas .....	11
2.3 Tinjauan Farmasetik Daun Kapas .....	11
2.4 Tinjauan Farmakologi Daun Kapas.....	12
2.5 Definisi Bakteri .....	12
2.5.1 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	14
2.6 Antibakteri .....	15
2.7. Tinjauan Umum .....	16
2.7.1 Ekstraksi .....	16
2.7.2 Metode Ekstrasi .....	16
2.7.3 Pelarut.....	18
2.7.4 Metode Pengujian Aktivitas Antibakteri.....	18
<b>BAB III. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>20</b>
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	20
3.2 Alat dan Bahan.....	20
3.2.1 Alat .....	20
3.2.2 Bahan .....	20
3.3 Prosedur dan Cara Kerja .....	21
3.3.1 Pengambilan Sampel.....	21
3.3.2 Identifikasi Sampel .....	21
3.3.3 Penyiapan Sampel.....	21
3.3.4 Ekstraksi Daun Kapas.....	21
3.3.5 Karakterisasi Ekstrak .....	22
3.3.6 Pemeriksaan Kandungan Kimia Ekstrak .....	23
3.4 Pengujian Aktivitas Antibakteri .....	25
3.4.1 Sterilisasi Alat.....	25

3.4.2 Pembuatan Media Agar.....	25
3.4.3 Pembuatan Larutan Standar Mc Farland .....	27
3.4.4 Peremajaan Bakteri .....	27
3.4.5 Pembuatan Suspensi Bakteri.....	27
3.4.6 Pembuatan Larutan Uji.....	28
3.4.7 Pembuatan Larutan Kontrol Positif .....	28
3.4.8 Pengujian Aktivitas Antibakteri.....	28
3.5 Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) .....	29
3.5.1 Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) .....	30
<b>BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>31</b>
4.1 Hasil Penelitian.....	31
4.2 Pembahasan.....	32
<b>BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>41</b>
5.1 Kesimpulan .....	41
5.2 Saran.....	41
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>42</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Kriteria Diameter Zona Hambat.....	19
Tabel 2. Hasil Pemeriksaan Organoleptik Ekstrak Etil Asetat Daun Kapas .....	56
Tabel 3. Hasil Rendemen Simplisia Ekstrak Etil Asetat Daun Kapas.....	56
Tabel 4. Hasil Perhitungan Susut Pengeringan Ekstrak Daun Kapas .....	56
Tabel 5. Hasil Perhitungan Kadar Abu Ekstrak Daun Kapas.....	57
Tabel 6. Pemeriksaan Kandungan Kimia Ekstrak Daun Kapas .....	58
Tabel 7. Pengujian Aktivitas Antibakteri .....	59
Tabel 8. Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) .....	60
Tabel 9. Penentuan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM).....	60

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Tanaman kapas (Sumber. Saleh S. Masir, 2023) .....	5
Gambar 2. Struktur Kimia Tanin .....	7
Gambar 3. Struktur Kimia Flavonoid.....	8
Gambar 4. Struktur Senyawa Saponin .....	9
Gambar 5. Struktur Senyawa Steroid.....	9
Gambar 6. Struktur Senyawa Terpenoid .....	10
Gambar 7. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	14
Gambar 8. Diagram Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri .....	37
Gambar 9. Daun kapas .....	47
Gambar 10. Surat Hasil Identifikasi.....	48
Gambar 11. Surat Keterangan Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	49
Gambar 12. Skema Kerja Ekstrak Daun kapas .....	50
Gambar 13. Skema Kerja Persiapan Bakteri Uji.....	51
Gambar 14. Skema Kerja Pembuatan Larutan Uji.....	52
Gambar 15. Skema Kerja Pengujian Aktivitas Antibakteri.....	53
Gambar 16. Skema KHM dan KBM.....	55
Gambar 17. Foto Pengujian Aktivitas Antibakteri .....	60
Gambar 18. Foto Penentuan Konsentrasi Bunuh Minimum .....	62

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Tanaman kapas Daun Kapas ( <i>Gossypium hirsutum</i> L.).....	47
Lampiran 2. Surat Identifikasi Tanaman Kapas ( <i>Gossypium hirsutum</i> L.).....	47
Lampiran 3. Surat Keterangan Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	49
Lampiran 4. Skema Kerja Pembuatan dan Evaluasi Ekstrak .....	50
Lampiran 5. Skema Kerja Persiapan Bakteri Uji .....	51
Lampiran 6. Skema Kerja Pembuatan Larutan Uji .....	52
Lampiran 7. Skema Kerja Pengujian Aktivitas Antibakteri .....	53
Lampiran 8. Skema KHM dan KBM .....	54
Lampiran 9. Hasil Karakterisasi Ekstrak Ekstrak Etil Asetat Daun Kapas.....	56
Lampiran 10. Pemeriksaan Kandungan Kimia Ekstrak .....	58
Lampiran 11. Pengujian Aktivitas Antibakteri .....	59
Lampiran 12. Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM).....	60
Lampiran 13. Penentuan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM).....	61

## BAB I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar belakang

Pemanfaatan bahan alam sebagai obat cenderung mengalami peningkatan dengan adanya kesadaran untuk kembali ke alam (*back to nature*) untuk mencapai kesehatan yang optimal. Sugianti (2005) menuliskan bahwa keuntungan penggunaan tanaman sebagai obat tradisional antara lain relatif lebih aman, mudah diperoleh, tidak menimbulkan resistensi, dan relatif tidak berbahaya terhadap lingkungan sekitarnya. Obat tradisional memiliki efek samping yang jauh lebih rendah tingkat bahayanya dibandingkan obat-obatan modern, sehingga tubuh manusia relatif lebih mudah menerimanya. Tanaman yang digunakan sebagai obat tradisional bisa berupa buah, sayur mayur, bumbu dapur, tanaman hias dan tumbuhan yang hidup di perairan darat dan laut hingga bahkan tanaman liar yang tumbuh di sembarang tempat.

Tumbuhan yang berkhasiat obat diantaranya daun kapas (*Gossypium hirsutum* L.) tumbuhan yang secara etnobotani memiliki khasiat sebagai antibakteri, karena daun kapas mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid, saponin, terpenoid dan steroid. Daun kapas bersifat sebagai antikanker, antimikroba, antivirus, antiparasit, insektisida, dan antifertilitas (Jagt *et al.*, 2000).

Senyawa kimia yang memiliki aktivitas antibakteri dalam ekstrak etanol daun kapas yaitu alkaloid dan flavonoid (Cowan,2009). Hasil penelitian Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Kapas (*Gossypium hirsutum* L.) Sebagai Anti Bakteri *Staphylococcus aureus* dari Fauzi (2023) membuktikan bahwa ekstrak daun kapas yang mengandung senyawa saponin, flavonoid, polifenol, alkaloid efektif menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

Penyakit infeksi merupakan penyumbang tertinggi angka kesakitan dan angka kematian dinegara berkembang termasuk di Indonesia. Hal ini tidak terlepas dari banyak bakteri patogen yang menyerang manusia sehingga menimbulkan berbagai macam penyakit (radji, 2009). *Staphylococcus aureus* adalah spesies patogen paling umum dari genus *Staphylococcus* yang terlibat dalam penyakit infeksi nosokomial. Seringkali secara asimtomatik menyerang kulit dan selaput lendir individu sehat.

Infeksi *Staphylococcus aureus*, dimulai dengan masuknya bakteri ini ke kulit ini melalui goresan luka. Infeksi akan ditandai dengan kerusakan jaringan yang disertai abses bernanah. Abses lokal seperti bisul atau jerawat merupakan infeksi kulit yang sering terjadi di daerah volikel rambut dan kelenjar keringat (louise, 2009). Kandungan metabolit skunder pada daun kapas diketahui dapat mencegah terjadinya infeksi yang di sebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus*. Pada manusia tingkat keparahan infeksi yang disebabkan bakteri *Staphylococcus aureus* bervariasi, mulai dari infeksi minor di kulit (furunkulosis dan impetigo), infeksi traktus urinarius, infeksi traktus respiratorius, sampai infeksi pada mata dan *Central Nervous system* (CNS). (Syahrurachman A, *et al*, 1993)

Pada penelitian yang telah di lakukan oleh Fauzi (2023) uji daya hambat ekstrak daun kapas sebagai antibakteri *Staphylococcus* menggunakan etanol 95% menunjukkan hasil zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi 50% masih dikategorikan resisten (lemah) karena besarnya zona hambat yang terbentuk kurang dari 12 mm, zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi 60%, 70%, dan 80% dikategorikan intermediet karena besarnya zona hambat yang terbentuk 13-17 mm. Pada konsentrasi 100% zona hambat yang terbentuk dikategorikan sensitif karena besarnya zona hambat yang terbentuk lebih dari 18 mm.

Berdasarkan uraian diatas peneliti tertarik untuk melakukan penelitian mengenai Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Kapas (*Gossypium hirsutum* L) terhadap *Staphylococcus aureus*.

### **1.2. Rumusan Masalah Penelitian**

1. Apakah ekstrak etil asetat daun kapas dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus*?
2. Berapa Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dari ekstrak etil asetat daun kapas yang efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*?
3. Berapakah Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak etil asetat daun kapas yang efektif untuk membunuh pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*?

### **1.3. Tujuan Penelitian**

1. Untuk mengetahui apakah ekstrak etil asetat daun kapas memiliki aktivitas penghambat terhadap *Staphylococcus aureus*.
2. Untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dari ekstrak etil asetat daun kapas yang efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.
3. Untuk mengetahui Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak etil asetat daun kapas yang efektif untuk membunuh bakteri *Staphylococcus aureus*.

### **1.4. Manfaat Penelitian**

1. Hasil penelitian ini juga bisa menjadi referensi tentang aktivitas dan pemanfaatan daun kapas dalam bidang kesehatan.

2. Manfaat penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang uji aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun kapas terhadap *Staphylococcus aureus*.
3. Memberikan informasi kepada masyarakat tentang potensi daun kapas sebagai antibakteri.
4. Menjadi sumber informasi dan wawasan bagi peneliti dan pembaca mengenai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari ekstrak daun kapas untuk menghambat dan membunuh bakteri *Staphylococcus aureus*.

## BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tinjauan Botani Tanaman Kapas (*Gossypium hirsutum* L.)

#### 2.1.1 Klasifikasi Tanaman Kapas (*Gossypium hirsutum* L.)

Menurut Elvira (2014), klasifikasi tanaman kapas adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Dicotyledone
Ordo	: Malvales
Famili	: Malvaceae
Genus	: <i>Gossypium</i>
Spesies	: <i>Gossypium hirsutum</i> L.

#### 2.1.2 Morfologi Tanaman Kapas (*Gossypium hirsutum* L.)



**Gambar 1.** Tanaman kapas (Sumber. Saleh S. Masir, 2023)

Tanaman kapas biasanya dikembangkan dari biji. Pada saat waktu berkecambah calon akar tunggang tumbuh terlebih dahulu masuk kedalam tanah, kemudian diikuti oleh keping biji. Kapas memiliki akar tunggang yang panjang dan dalam tergantung pada umur dan besar tanaman. Pada saat terbukanya keping, panjang akar dapat mencapai 15 cm atau lebih (Rusim, 2001).

Batang berwarna hijau tua, merah dan ada juga yang berwarna hijau bernoktah merah. Batang umumnya berbulu dan ada pula yang tidak serta ada yang ujungnya

berbulu pangkalnya tidak berbulu. Pada tiap ruas tanaman kapas, tumbuh daun dan cabang pada ketiaknya. Bentuk daun pertama sampai kelima belum bisa dikatakan sempurna, karena daunnya masih agak bulat atau panjang. Setelah daun kelima bentuk daun dapat dikatakan sempurna dan bentuknya sesuai dengan jenis kapas. Terdapat paling sedikit 5 bentuk daun, yaitu bentuk okra, entire. Warna daun hijau kemerahan dan merah. Daun berbulu ada yang lebat panjang, lebat pendek, ada juga yang berbulu jarang, bahkan ada juga yang halus tidak berbulu (Rusim, M., 2001).

Tanaman kapas mulai berbunga setelah umur 30-45 hari dan mulai bermekaran sekitar 45-60 hari sesuai dengan jenis dan varietas kapas. Kuncup bunga mirip seperti piramid kecil dan berwarna hijau. Tangkai bunga yang menghubungkan buah dan cabang tanaman, kadang berbentuk panjang atau pendek sesuai ukuran buah. Di dalam kotak buah terdapat serat dan biji secara teratur. Tiap ruang buah ada dua baris biji dan rata-rata setiap ruang biji terdiri dari 9 biji. Bentuk biji bulat telur, berwarna coklat kehitaman, panjangnya antara 6-12 mm, dengan berat 100 biji sekitar 6-17 gram (Rusim, M. 2001).

### **2.1.3 Nama Lain Tanaman Kapas (*Gossypium hirsutum* L.)**

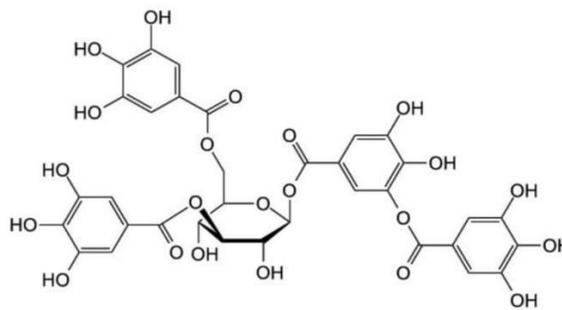
Nama lain dari tanaman kapas berbagai daerah yaitu di Bayan (Lombok Barat) danamakan kapas Bayan, kapas di Demak dinamakan kapas Demak, kapas di Palembang dinamakan dengan kapas Hulu, kapas di Grobogan Jawa Tengah dinamakan dengan kapas Grobogan (Ditjenbun, 1977).

## 2.2 Kandungan Kimia dan Kegunaan Tanaman Kapas (*Gossypium hirsutum* L.)

### 2.2.1 Kandungan Kimia Tanaman Kapas (*Gossypium hirsutum* L.)

Daun kapas mengandung senyawa alkaloid, tanin, terpenoid, flavonoid, saponin dan steroid. Daun kapas dapat digunakan sebagai antibakteri untuk mencegah penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* (Fauzi *et al*, 2023).

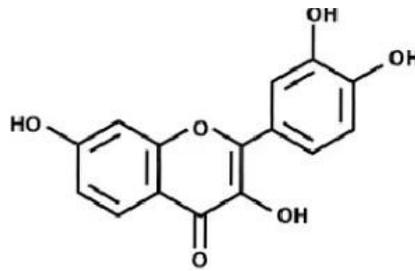
### 2.2.2 Tanin



**Gambar 2.** Struktur Kimia Tanin (Hargeman, 2002)

Tanin berperan sebagai astringent yang menyempitkan pori-pori, mengeraskan kulit, menghentikan eksudat dan pendarahan, sehingga dapat menutup luka dan mencegah pendarahan yang biasa terjadi pada luka (Anief, 1997). Senyawa tanin memiliki khasiat seperti antibakteri, antiinflamasi, antimikroba dan efek astringen yang dapat menyembuhkan luka. Diduga efek antibakteri ini berasal dari kemampuan tanin untuk berikatan dengan dinding sel bakteri, yang menonaktifkan kemampuan bakteri untuk menempel pada inang, pemecahan protein, mengganggu aktivitas enzimatik dan menurunkan tegangan permukaan (Masduki, 1996).

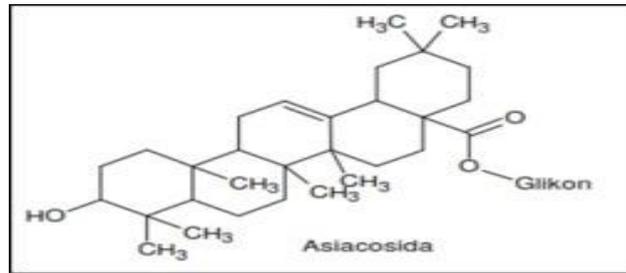
### 2.2.3 Flavonoid



**Gambar 3.** Struktur Kimia Flavonoid (Markham., 1988)

Flavonoid adalah salah satu senyawa metabolit sekunder yang keberadaannya pada jaringan tumbuhan diperkirakan dipengaruhi oleh adanya proses fotosintesis, sehingga pada tanaman atau daun muda diketahui belum banyak mengandung flavonoid (Markham, 1988). Flavonoid merupakan pigmen yang memiliki warna yang terdapat pada tumbuhan, misalnya antosianin sebagai penyusun warna biru, violet, dan merah, flavon dan flavonol penyusun warna kuning redup, khalkon dan auron sebagai penyusun warna kuning terang, sedangkan isoflavon dan flavonol merupakan senyawa yang tidak berwarna (Febrianti, 2016). Senyawa flavonoid merupakan senyawa yang mengandung gugus C<sub>15</sub> yang terdiri atas dua inti fenolat yang dihubungkan dengan tiga satuan karbon (Nugraha, 2017).

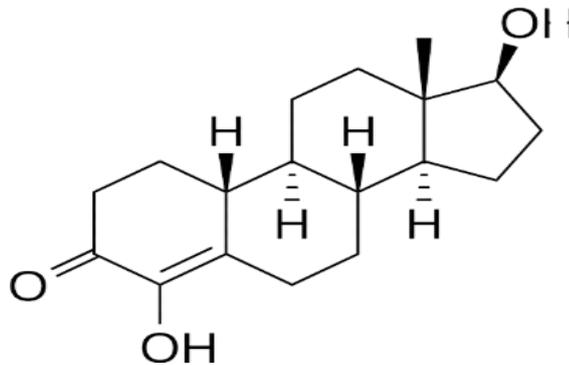
## 2.2.4 Saponin



**Gambar 4.** Struktur Senyawa Saponin (Chapagin, 2005)

Saponin adalah deterjen atau glikosida alami yang mempunyai sifat aktif permukaan yang bersifat amfifilik, mempunyai berat molekul besar dan struktur molekulnya terdiri dari aglikon steroid atau triterpen yang disebut dengan sapogenin dan glikon yang mengandung satu atau lebih rantai gula (Sirohi *et al.*, 2014). Saponin berasal dari kata Latin yaitu *sapo* yang berarti mengandung busa stabil bila dilarutkan dalam air. Kemampuan busa dari saponin disebabkan oleh kombinasi dari sapogenin yang bersifat hidrofobik (larut dalam lemak) dan bagian rantai gula yang bersifat hidrofilik (larut dalam air) (Naoumkina *et al.*, 2010).

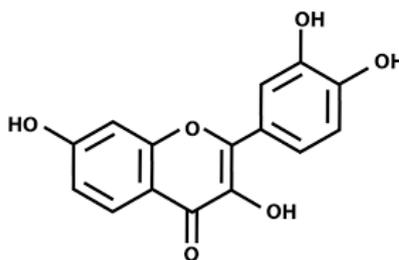
## 2.2.5 Steroid



**Gambar 5.** Struktur Senyawa Steroid (Chapagin, 2005)

Steroid adalah molekul bioaktif penting dengan kerangka dasar 17 atom C yang tersusun dari 4 buah gabungan cincin, 3 diantaranya yaitu sikloheksana dan siklopentana (Dang *et al.*, 2018). Senyawa steroid berupa kristal berbentuk jarum dengan karakteristik mengandung gugus OH, gugus metil, dan memiliki ikatan rangkap yang tidak terkonjugasi (Suryelita *et al.*, 2017). Steroid memiliki peran penting dalam dunia medis, salah satunya yaitu androgen yang merupakan hormon steroid yang berfungsi sebagai agen yang menstimulasi organ seksual pada wanita (Nogrady, 1992). Tugas utama steroid endogen atau yang secara alami terdapat dalam tubuh yaitu berperan dalam proses regulasi metabolisme seperti metabolisme energi, air dan keseimbangan natrium, fungsi reproduksi dan fungsi perilaku dan kognitif. Selain itu, senyawa steroid sintetis dalam jumlah besar secara struktural yang memiliki target spesifik telah menunjukkan aktifitasnya terhadap beberapa penyakit seperti kanker, gangguan hati, kardiovaskular, inflamasi, dan penyakit lainnya yang berhubungan dengan hormon steroid (Bhawani *et al.*, 2011).

### 2.2.6 Terpenoid



**Gambar 6.** Struktur Senyawa Terpenoid (Chapagin, 2005)

Terpenoid merupakan senyawa yang berasal dari unit senyawa terpen (isoprena). Hal ini dikarenakan dalam keadaan alaminya, terpenoid umumnya terdapat dalam bentuk gugus hidrokarbon, glikosida, eter, alkohol, keton, aldehida, asam karboksilat, dan eter (Julianto, 2013). Salah satu senyawa

terpenoid pada tumbuhan kapas yang bersifat sebagai antibakteri adalah gosipol. Senyawa ini merupakan komponen senyawa seskuiterpen (Heinrich *et al.*, 2010). Jenis senyawa gosipol yang terdapat pada tanaman kapas yaitu hemigosipol dan hemigosipol-6-metil eter (Bell dkk., 1975).

### **2.2.7 Kegunaan Tanaman Kapas (*Gossypium hirsutum* L.)**

Berdasarkan pengalaman dikalangan masyarakat Lamlhom, daun kapas sering dijadikan sebagai obat batuk, daun kapas juga digunakan sebagai obat diabetes, asma, nyeri haid dan penyakit kulit di Unani dan Ayurveda (Raheman *et al.*, 2016). Di Indonesia sendiri daun kapas juga dimanfaatkan sebagai obat batuk berdarah, diabetes, menstruasi, penyakit kulit (Soediby, 1998).

Serabut kapas yang memiliki kualitas mutu tinggi dipergunakan sebagai benang dan diolah menjadi pakaian. Sedangkan serabut yang kasar dapat diolah menjadi kasur dan kertas yang bermutu tinggi. Biji kapas dapat diolah menjadi minyak goreng, margarin, bahan sabun. Kulit buah, apabila dibakar akan menjadi abu dan berguna sebagai pupuk yang banyak mengandung kalium (AAK, 1986).

### **2.3 Tinjauan Farmasetik Daun Kapas**

Berdasarkan hasil penelitian Hasniar *dkk.*, (2015) menyatakan bahwa daun kapas telah diformulasi dalam bentuk sediaan krim dan memiliki aktivitas antioksidan, sehingga dapat melindungi kulit dari radikal bebas. Dimana daun kapas ini memiliki senyawa flavonoid berpotensi sebagai tabir surya karena adanya gugus kromofom dimana gugus kromofom merupakan sistem aromatik terkonjugasi yang memiliki kemampuan untuk menyerap kuat radiasi pada sinar UV (Abdiana 2017).

## 2.4 Tinjauan Farmakologi Daun Kapas

Daun Kapas adalah salah satu tanaman yang berpotensi sebagai antibakteri. Daun kapas ini memiliki metabolit sekunder yaitu senyawa flavonoid yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Secara empiris, tanaman kapas digunakan sebagai obat jerawat. Ekstrak daun kapas dan minyak esensialnya memiliki potensi antimikroba pada beberapa mikroorganisme. Hasil penelitian dari spesies yang berbeda (*Gossypium arboreum* L.) diketahui bahwa ekstrak etanol daun kapas memiliki aktivitas antibakteri. Selain itu, ekstrak air daun kapas memiliki aktivitas sebagai penyembuh luka. Informasi penggunaan daun kapas sebagai obat luka menimbulkan dugaan bahwa daun kapas mengandung senyawa yang dapat membunuh bakteri (antibakteri) (Nugrahani 2020., *dkk*).

## 2.5 Definisi Bakteri

Bakteri adalah kelas mikroorganisme prokariotik (bersel tunggal) yang biasanya hidup berkoloni dengan berdiameter sekitar 1  $\mu$ l dan tidak memiliki membran inti. Bakteri bersifat kosmopolitan dan sangat tersebar luas dilingkungan kita, bisa saja hidup dalam bentuk parasit atau saprofit. Pada ilmu taksonomi, bakteri awalnya milik kingdom Monera, namun pada tahun 1977, ahli mikrobiologi Carl Woese dan ilmuwan lain dari University of Illinois menemukan sesuatu yang baru berupa sekelompok bakteri dengan karakteristik unik yang berbeda dari anggota kingdom lain. Kelompok itu disebut archaeobacteria. Archaeobacteria lebih dekat dengan eukariota jika dibandingkan bakteri prokariotik. Hal ini menjadi sebab kingdom Monera terpecah menjadi Archaeobacteria dan Eubacteria.

Eubakteria ini dikenal sebagai protobakteri *in vivo*, yang strukturnya terbagi menjadi dua yaitu. struktur dasar dan struktur tambahan. pada umumnya struktur

dasar dimiliki oleh bermacam jenis bakteri meliputi: dinding sel, membran plasma, sitoplasma, ribosom, DNA dan butiran penyimpanan. Meskipun hanya jenis bakteri tertentu yang memiliki struktur tambahan yang meliputi: flagel, pili, fimbriae, kapsul, vakuola gas, kromosom dan endospora. Bakteri bersifat uniseluler, biasanya tidak mengandung klorofil, beberapa bersifat fotosintesis, dan produksi aseksualnya adalah dengan pembelahan (Jawetz & Adelberg's, 2013).

Pada dasarnya dalam pewarnaan gram, bakteri dibagi menjadi dua kelompok, yaitu gram positif dan gram negatif. Bakteri gram positif adalah bakteri yang mempertahankan pewarnaan gram-A yang mengandung kristal violet, selama proses pewarnaan gram. Bakteri jenis ini berwarna ungu ketika dilihat di bawah mikroskop, sedangkan gram negatif berwarna merah atau merah muda karena warna ungu dapat memudar, sebagai warna kontras bakteri gram negatif akan berikatan dengan pewarnaan gram-D. Perbedaan klasifikasi kedua jenis bakteri tersebut umumnya didasarkan pada perbedaan struktur dinding sel bakteri (Rachmawaty dkk., 2009). Sehingga Beveridge dalam (Rachmawaty dkk., 2009) juga mengatakan pada bakteri gram positif, strukturnya lebih sederhana terdiri dari 2 lapisan, dengan lapisan peptidoglikan yang tebal, sedangkan pada bakteri yang lebih kompleks dinding selnya terdiri dari 3 lapisan, dengan lapisan peptidoglikannya tipis.

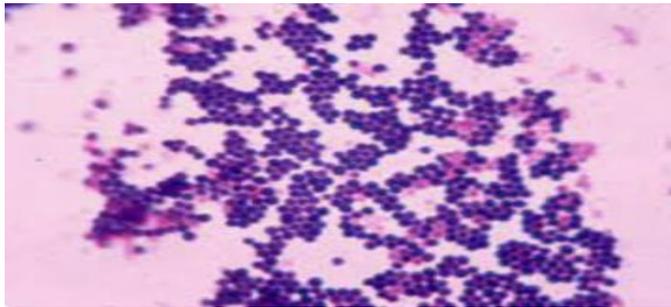
### 2.5.1 *Staphylococcus aureus*.

#### a. Klasifikasi

Menurut (Brooks, GF., Carroll KC, Butel JS, Morse, 2013) klasifikasi

*Staphylococcus aureus*:

Kingdom	: Monera
Divisi	: Protophyta
Kelas	: Schizomycetes
Ordo	: Eubacteriales
Family	: Micrococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>



**Gambar 7.** *Staphylococcus aureus* (Sumber: (Brooks, GF., Carroll KC, Butel JS, Morse, 2013))

*Staphylococcus aureus* adalah suatu nama marga dari bakteri yang berbentuk bulat (coccus), hidup secara berkoloni tidak beraturan yang menyerupai buah anggur dan memiliki sifat katalase yang membedakannya dengan genus *Streptococcus*. *Staphylococcus* terbagi menjadi 32 spesies berdasarkan komposisi DNA, namun hanya 14 spesies yang hidup pada tubuh manusia. *Staphylococcus aureus* merupakan satu-satunya spesies yang menghasilkan enzim koagulasi dan

membedakannya dengan 14 spesies lainnya (Brooks, GF., Carroll KC, Butel JS, Morse, 2013).

#### **b. Morfologi**

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram Positif berbentuk bulat berdiameter 0,7-1,2  $\mu\text{m}$ , tersusun dalam kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur, fakultatif anaerob, tidak membentuk spora dan tidak bergerak. Organisme ini paling cepat berkembang pada suhu 37°C akan tetapi suhu terbaik untuk menghasilkan pigmen adalah suhu ruangan (20-25°C).

Koloni dari *Staphylococcus aureus* biasanya bentuk kolononya memiliki warna abu-abu hingga kuning tua kecoklatan. *Staphylococcus aureus* termasuk jenis bakteri yang paling kuat daya tahannya. Dalam keadaan kering pada benang, kertas, kain dan dalam tanah dapat tetap hidup selama 6-14 minggu (Jawetz, Melnick, 2004).

#### **2.6 Antibakteri**

Antibakteri merupakan zat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri atau bahkan membunuh bakteri dengan cara menghambat metabolisme bakteri tersebut. Antibakteri dapat digunakan hanya dengan memiliki sifat toksik selektif, yaitu dapat membunuh bakteri penyebab penyakit tetapi tidak beracun bagi penderita. Faktor-faktor yang mempengaruhi aktivitas antibakteri meliputi pH, stabilitas suhu senyawa, jumlah bahan yang ada, lama inkubasi dalam aktivitas metabolisme bakteri. Komponen antibakteri merupakan komponen yang dapat menjadi penghambat pertumbuhan bakteri atau membunuh bakteri. Bahan aktif dalam berbagai jenis ekstrak tumbuhan dapat mencegah beberapa mikroba patogen dan merusak makanan (Triwati, 2014).

## **2.7. Tinjauan Umum**

### **2.7.1 Ekstraksi**

Ekstraksi merupakan proses penarikan senyawa kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Cara ekstraksi yang tepat tergantung pada bahan tumbuhan yang diekstraksi dan jenis senyawa yang diisolasi (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

### **2.7.2 Metode Ekstraksi**

Metode ekstraksi dengan pelarut dapat dilakukan dengan cara dingin dan panas. Ekstraksi dengan cara dingin yaitu maserasi dan perkolasi, sedangkan ekstraksi dengan cara panas yaitu refluks, sokletasi, digesti, infusa, dan dekokta (Departemen Kesehatan RI, 2000).

#### **1. Cara Dingin**

##### **a. Maserasi**

Maserasi adalah proses ekstraksi sederhana dengan cara merendam bahan alam atau tumbuhan dalam pelarut pada waktu tertentu dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu kamar. Maserasi ini bertujuan untuk menarik zat-zat berkhasiat dari simplisia.

##### **b. Perkolasi**

Perkolasi adalah proses ekstraksi dengan cara melewatkan pelarut secara lambat pada simplisia dalam suatu alat perkolator pada suhu kamar. Proses ini terdiri dari tahap pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetasan atau penampungan ekstrak) terus-menerus sampai diperoleh ekstrak atau perkolat yang jumlahnya 1-5 kali bahan.

## 2. Cara Panas

### a. Refluks

Refluks adalah metode penyarian dengan cara cairan penyari dipanaskan hingga mendidih, penyari akan menguap ke atas melalui serbuk simplisia, uap penyari mengembun karena didinginkan oleh pendingin balik (kondensor). Embun turun melalui serbuk simplisia sambil melarutkan zat aktifnya dan kembali kelabu. Cairan akan menguap berulang hingga pelarut jenuh. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna.

### b. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada suhu yang lebih tinggi dari suhu kamar yaitu secara umum dilakukan pada suhu 40°- 50° C. Cara ini dilakukan untuk simplisia yang pada suhu kamar tidak terekstraksi dengan baik.

### c. Infusa

Infusa adalah sediaan cair yang dibuat dengan ekstraksi simplisia nabati dengan air pada suhu 90°C selama waktu tertentu (15-20 menit).

### d. Dekokta

Dekok adalah suatu proses ekstraksi yang hampir sama dengan infusa, tetapi dekokta dipanaskan selama 30 menit pada suhu 90°C. Cara ini dapat dilakukan untuk simplisia yang tidak mengandung minyak atsiri atau simplisia yang mengandung bahan yang tahan terhadap pemanasan.

### 2.7.3 Pelarut

Pelarut yang digunakan adalah Etil asetat adalah senyawa organik dengan rumus kimia  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OC(O)CH}_3$ . Senyawa ini merupakan ester dari etanol dan asam asetat. Etil asetat merupakan pelarut semi polar yang dapat melarutkan senyawa polar dan nonpolar, namun lebih cenderung melarutkan senyawa polar. Karena sifatnya yang mudah menguap (volatil, tidak beracun dan tidak higroskopis) etil asetat baik digunakan sebagai pelarut. Senyawa ini berupa cairan tidak berwarna dengan bau yang khas). Etil asetat dapat melarut air hingga 3% dan hingga 8% dalam air pada suhu kamar. Kelarutannya akan meningkat pada suhu yang lebih tinggi. Namun, senyawa ini tidak stabil dalam air yang mengandung basa atau asam. Berdasarkan kelarutannya, etil asetat larut dalam eter, alkohol, minyak lemak dan minyak atsiri (Departemen Kesehatan RI, 1995).

### 2.7.4 Metode Pengujian Aktivitas Antibakteri

#### 1. Metode Difusi

Metode difusi digunakan untuk mengetahui aktivitas zat antimikroba. Cawan berisi bahan antimikroba ditempatkan pada media agar yang telah diinokulasi dengan mikroorganisme yang menyebar ke dalam media agar. Daerah bening pada permukaan media agar menunjukkan penghambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba (Pratiwi, 2008). Metode difusi dibagi menjadi beberapa metode yang berbeda, diantaranya:

#### a. Metode Silinder

Metode silinder melibatkan penempatan beberapa gelas atau silinder baja tahan karat terhadap agar yang diinokulasi dengan bakteri. Di setiap silinder ditempatkan pada agar, kemudian diisi dengan larutan uji dan diinkubasi. Setelah

inkubasi, bakteri tumbuh dan terdapat zona hambat di sekitar silinder (Kusmiyati & Gustini, 2006).

b. Metode Sumuran/Lubang

Metode ini mirip dengan metode difusi lempeng, dimana lubang dibuat pada media agar yang diinokulasi dengan mikroorganisme dan agen antimikroba ditambahkan ke sumur uji (Pratiwi, 2008). Setelah inkubasi, pertumbuhan bakteri dimonitor untuk mengetahui adanya zona hambat di sekitar lubang (Kusmiyati & Gustini, 2006).

c. Metode Cakram Kertas

Metode cakram kertas adalah menempatkan cakram kertas yang direndam dalam larutan uji pada permukaan padat yang terinfeksi bakteri. Setelah inkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk mengetahui adanya zona hambat di sekitar lempeng (Kusmiyati & Gustini, 2006).

Pengukuran dari zona hambat antibakteri dapat dilihat dari zona bening yang terbentuk. (Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), 2018) skriteria zona hambat antimikroba.

**Tabel 1.** Kriteria Diameter Zona Hambat

<b>Diameter Zona Hambat (mm)</b>	<b>Respon Hambatan Pertumbuhan</b>
$\geq 20$	<i>Susceptible</i> (kuat)
15-19	<i>Intermediate</i> (sedang)
$\leq 14$	<i>Resistant</i> (lemah)

## 2. Metode Dilusi

Metode dilusi dibagi menjadi dua yaitu dilusi cair dan dilusi padat.

### a. Metode Dilusi Cair

Metode ini mengukur KHM (konsentrasi hambat minimum) dan KBM (Konsentrasi Bakterisidal Minimum). Metode yang digunakan adalah menyiapkan rangkaian pengenceran zat antimikroba dalam media cair, yang ditambahkan ke dalam mikroba uji (Pratiwi, 2008).

### b. Metode Dilusi Padat

Metode ini mirip dengan metode pengenceran cair, tetapi menggunakan media padat. Keuntungan dari metode ini adalah beberapa mikroba uji dapat diuji dengan satu konsentrasi antimikroba yang diuji (Pratiwi, 2008)

## BAB III. METODE PENELITIAN

### 3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilakukan dari bulan Januari – Juni 2024 di Laboratorium Kimia Bahan Alam dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Farmasi Universitas Perintis Indonesia.

### 3.2 Alat dan Bahan

#### 3.2.1 Alat

Pisau, blender, wadah simplisia, botol maserasi, kain flanel, *rotary evaporator*, timbangan analitik, krus porselen, oven, desikator, furnace, tabung reaksi, plat tetes, *yellow tip*, *blue tip*, vial, pipet tetes, kertas saring, erlenmeyer, kapas, kasa, kertas koran, inkubator, gelas ukur, autoklaf, cawan petri, *aluminium foil*, jarum ose, corong, lampu spiritus, *swab*, batang penyebar, *vortex stirrer*, jangka sorong, Spektrofotometer UV-Vis.

#### 3.2.2 Bahan

Sampel daun kapas (*Gossypium hirsutum* L.) bakteri *Staphylococcus aureus*, etil asetat, aquades, kloroform, serbuk Mg, HCl pekat, FeCl<sub>3</sub> 10%, norit, asam asetat anhidrat, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, kloroform amoniak 0,05 N, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2 N, pereaksi Mayer, (HgCl<sub>2</sub>, KI), *Nutrient Agar* (NA), *Nutrient Broth* (NB), *Mueller Hinton Agar* (MHA) amoxicillin, larutan standar 0,5 Mc Farland (barium klorida 1%, asam sulfat 1%) NaCl 0,9% DMSO (dimetil sulfoksida).

### **3.3 Prosedur dan Cara Kerja**

#### **3.3.1 Pengambilan Sampel**

Sampel yang digunakan adalah sampel segar daun kapas (*Gossypium hirsutum* L.) yang diperoleh dari desa Solok Ambah, Kabupaten Sijunjung Provinsi Sumatera Barat.

#### **3.3.2 Identifikasi Sampel**

Sampel yang digunakan diidentifikasi di Herbarium ANDA Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Andalas, Padang.

#### **3.3.3 Penyiapan Sampel**

Daun kapas (*Gossypium hirsutum* L.) dibersihkan dari kotoran yang masih menempel, kemudian dicuci dengan air mengalir hingga bersih lalu ditiriskan. Selanjutnya daun kapas sebanyak 1,5 kg dikeringanginkan tanpa terkena sinar matahari langsung. Selanjutnya daun kapas yang telah kering dihaluskan dengan blender. Serbuk simplisia yang didapatkan ditimbang dan dihitung rendemennya menggunakan rumus.

$$\% \text{ Rendemen simplisia} = \frac{\text{Berat serbuk simplisia kering}}{\text{Berat simplisia basah}} \times 100 \%$$

#### **3.3.4 Ekstraksi Daun Kapas**

Serbuk kering dari daun kapas ditimbang 250 g dimaserasi menggunakan etil asetat (semi polar), serbuk dimasukkan ke dalam botol berwarna coklat lalu direndam dengan etil asetat sebanyak 2,5 L selama 3 x 24 jam (3 hari) sambil sesekali diaduk. Setelah di *rotary evaporator*, ekstrak ditimbang untuk mengetahui

rendemen ekstrak. Kemudian disimpan dalam lemari es dalam botol kedap udara hingga saat digunakan (Romadanu, Siti Hanggita Rachmawati, 2014).

### 3.3.5 Karakterisasi Ekstrak

#### 1. Pemeriksaan Organoleptik Ekstrak

Pemeriksaan dilakukan dengan menggunakan panca indera dengan mengamati bentuk, warna, dan bau ekstrak kental daun kapas sebagai pengenalan awal secara sederhana dan objektif (Dirjen POM, 2000)

#### 2. Penentuan Rendemen Ekstrak

Nilai rendemen ekstrak didapat dengan membandingkan berat ekstrak kental daun kapas terhadap berat serbuk simplisia kering dauan kapas dan dinyatakan dalam bentuk persen.

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak kental yang diperoleh}}{\text{Berat serbuk simplisia kering}} \times 100 \%$$

#### 3. Pemeriksaan Susut Pengeringan Ekstrak

Krus porselen dan tutupnya yang telah dibersihkan, dikeringkan dengan oven dengan suhu 105°C selama 30 menit lalu dibiarkan dingin dan ditimbang sebagai krus porselen kosong (A). Selanjutnya ekstrak daun kapas ditimbang 1-2 g dan dimasukkan ke dalam krus poselen lalu diratakan dengan menggoyangkan krus porselen secara perlahan. Krus porselen ditimbang kembali sebagai berat krus porselen ditambah sampel sebelum dikeringkan (B). Selanjutnya dimasukkan ke dalam oven, tutupnya dibuka dan dikeringkan pada suhu 105°C selama 1 jam. Selanjutnya krus didinginkan dalam keadaan tutup di dalam desikator hingga suhu ruang. Selanjutnya ditimbang kembali sebagai berat krus porselen ditambah sampel

setelah dikeringkan (C). Persentase susut pengeringan dihitung menggunakan rumus (Kemenkes RI, 2017).

$$\% \text{ Susut pengeringan} = \frac{(B - A) - (C - A)}{B - A} \times 100 \%$$

Keterangan: A = Berat krus kosong (g)

B = Berat krus + sampel sebelum dipanaskan (g)

C = Berat krus + sampel setelah dipanaskan (g)

#### 4. Pemeriksaan Kadar Abu Ekstrak

Krus yang akan digunakan dibersihkan dan ditimbang sebagai berat krus kosong (A). Selanjutnya ekstrak kental daun kapas ditimbang sebanyak 2-3 g dan dimasukkan ke dalam krus. Kemudian ditimbang sebagai berat krus ditambah sampel sebelum dipijar (B). Krus berisi sampel dimasukkan ke dalam furnace dan dipijar pada suhu 600°C selama 4 jam hingga terbentuk abu. Selanjutnya diamkan krus sampai dingin lalu ditimbang kembali sebagai berat krus ditambah sampel setelah dipijarkan (C). Presentase kadar abu dihitung menggunakan rumus (Dirjen POM, 2000).

$$\% \text{ Kadar abu} = \frac{C - A}{B - A} \times 100 \%$$

Keterangan: A = Berat krus kosong (g)

B = Berat krus + sampel sebelum dipijarkan (g)

C = Berat krus + sampel setelah dipijarkan (g)

#### 3.3.6 Pemeriksaan Kandungan Kimia Ekstrak

Timbang ekstrak sebanyak 0,5 gram, tambahkan kloroform dan aquadest (1:1) 5 mL masing-masingnya, kocok dengan baik, lalu masukan kedalam tabung reaksi, dan biarkan sejenak sampai terbentuk dua lapisan kloroform-air. Lapisan air pada bagian atas untuk pemeriksaan: flavonoid, fenolik, dan saponin. Sedangkan lapisan

kloroform dibagian bawah untuk pemeriksaan senyawa: terpenoid, steroid, alkaloid (Harbone 1987).

a. Pemeriksaan Fenolik

Ambil 1-2 tetes lapisan air kemudian teteskan kedalam plat tetes, kemudian tambahkan 1-2 tetes pereaksi  $\text{FeCl}_3$ . Terbentuknya warna biru atau hijau menandakan adanya senyawa fenolik.

b. Pemeriksaan Flavonoid

Ambil 1-2 tetes lapisan air kemudian teteskan pada plat tetes, lalu tambahkan logam Mg dan 1-2 tetes HCl pekat. Terbentuknya warna orange sampai dengan merah menandakan adanya senyawa flavonoid.

c. Pemeriksaan Saponin

Sebagian lapisan air dimasukkan kedalam tabung reaksi dan kemudian dikocok dengan kuat. Terbentuknya busa permanen ( $\pm 15$  menit) menandakan adanya saponin.

d. Pemeriksaan Terpenoid dan Steroid

Ambil 1-2 tetes lapisan kloroform kemudian disaring melalui pipet yang didalamnya sudah terdapat norit dan kapas sehingga dapat diperoleh filtrat yang jernih dan tidak bewarna. Teteskan filtrat pada tiap lobang plat tetes, biarkan sampai kering. Kemudian pada lobang pertama masukan asam sulfat pekat, sedangkan dua lobang ditambahkan setetes asam asetat anhidrat dan setetes asam sulfat pekat. Warna merah menunjukkan adanya senyawa terpenoid dan warna biru kehijauan menunjukkan adanya senyawa steroid (Harbone 1987).

e. Pemeriksaan Alkaloid

Pipet 1 mL lapisan kloroform kemudian tambahkan 1 mL kloroform amoniak 0,05 N dan 1 mL asam sulfat 2 N, selanjutnya kocok tabung reaksi perlahan. Kocok sejenak hingga terbentuk pemisahan lapisan asam dan lapisan kloroform. Kemudian lapisan asam (lapisan atas) dipipet dan pindahkan dalam tabung reaksi lainnya. Tambahkan setetes pereaksi mayer kedalam tabung reaksi tersebut. Reaksi positif ditandai dengan adanya kabut putih hingga terdapat gumpalan putih/endapan (Harbone 1987).

### **3.4 Pengujian Aktivitas Antibakteri**

#### **3.4.1 Sterilisasi Alat**

Sterilisasi alat dilakukan dengan cara dicuci bersih lalu dikeringkan. Cawan petri dan tabung reaksi ditutup bagian mulutnya menggunakan kapas dan kasa kemudian dibungkus dengan kertas koran. Selanjutnya disterilkan dalam oven pada suhu 160°C selama 1 jam. Erlenmeyer, gelas ukur dan corong ditutup smenit. Jarum ose yang akan digunakan sterilkan dengan diflamber menggunakan lampu spiritus.

#### **3.4.2 Pembuatan Media Agar**

a. Pembuatan Media *Nutrient Agar* (NA)

Pembuatan media *Nutrient Agar* (NA) dilakukan dengan cara melarutkan 2 g serbuk *Nutrient Agar* (NA) dalam 100 mL aquades pada Erlenmeyer. Kemudian dipanaskan hingga mendidih dan kental berwarna kuning kecoklatan jernih. Sebanyak 5 mL larutan media dituangkan ke dalam tabung reaksi steril yang ditutup dengan *aluminium foil*. Larutan media NA disterilkan di autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Dibiarkan pada suhu ruangan selama  $\pm$  30 menit dalam kemiringan 30° sampai memadat. Jumlah bahan dan volume aquades yang akan

digunakan mengacu pada takaran yang tertera pada kemasan media. Media *Nutrient Agar* (NA) ini digunakan sebagai media dalam peremajaan bakteri (Kurniawati, 2015).

b. Pembuatan Media *Mueller Hinton Agar* (MHA)

Pembuatan media *Mueller Hinton Agar* (MHA) dilakukan dengan cara melarutkan 10 g serbuk *Mueller Hinton Agar* (MHA) dalam 1000 mL aquades pada erlenmeyer. Kemudian dipanaskan sampai larutan jernih berwarna kuning. Larutan media MHA disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Selanjutnya 25 mL media MHA dituang ke dalam cawan petri lalu dibiarkan hingga memadat. Jumlah bahan dan volume aquades yang akan digunakan mengacu pada takaran yang tertera pada kemasan media. Media *Mueller Hinton Agar* (MHA) ini digunakan sebagai media untuk pengujian aktivitas antibakteri (Nurhayati et al., 2020).

c. Pembuatan Media *Nutrient Broth* (NB)

Pembuatan media *Nutrient Broth* (NB) dilakukan dengan cara melarutkan 10 g serbuk *Nutrient Broth* (NB) dalam 1000 mL aquades pada erlenmeyer. Kemudian dipanaskan hingga menjadi larutan jernih berwarna kuning kecoklatan. Larutan *Nutrient Broth* (NB) disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Jumlah bahan dan volume aquades yang akan digunakan mengacu pada takaran yang tertera pada kemasan media. Media *Nutrient Broth* (NB) ini digunakan sebagai media untuk penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) (Dewi, 2010).

### **3.4.3 Pembuatan Larutan Standar Mc Farland**

Larutan standar 0,5 Mc Farland dibuat dengan mencampur 0,05 mL barium klorida 1% dengan 9,95 mL asam sulfat 1%. Kemudian diaduk homogen dan dihasilkan endapan halus barium sulfat (Toy et al., 2015).

Larutan standar Mc Farland digunakan untuk standarisasi perkiraan jumlah bakteri dalam suspensi bakteri uji. Standarisasi dilakukan dengan membandingkan kekeruhan suspensi bakteri uji dengan kekeruhan standar Mc Farland. Standar Mc Farland memiliki skala 0,5-10 yang menjelaskan konsentrasi bakteri per mL 0,5 yang mana 0,5 sama dengan  $1,5 \times 10^8$  CFU/mL (Nurhayati et al., 2020). Mc Farland merupakan standar paling umum yang digunakan di laboratorium mikrobiologi klinis untuk pengujian kerentanan antimikroba dan pengujian kinerja media kultur (Dalynn Biological, 2014).

### **3.4.4 Peremajaan Bakteri**

Peremajaan bakteri dilakukan dengan cara bakteri uji diambil menggunakan jarum ose steril. Kemudian ditanamkan dengan menggoreskan pada permukaan media *Nutrient Agar* (NA) miring yang telah disiapkan sebelumnya. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pada setiap jenis bakteri uji diberi perlakuan yang sama (Kurniawati, 2015).

### **3.4.5 Pembuatan Suspensi Bakteri**

Pembuatan suspensi bakteri dilakukan dengan cara mengambil koloni pada bakteri yang sebelumnya telah ditanamkan pada media agar miring menggunakan jarum ose steril. Lalu disuspensikan dengan dimasukkan ke dalam 5 mL media cair NaCl 0,9% pada tabung reaksi. Selanjutnya dihomogenkan menggunakan vortex

*stirrer* sampai didapat kekeruhan yang sama dengan standar 0,5 Mc Farland (sekitar  $1,5 \times 10^8$  CFU/mL) (Nurhayati et al., 2020).

Pensuspensian ini bertujuan untuk mengurangi jumlah populasi bakteri dan penggunaan NaCl 0,9% (NaCl fisiologis) pada pensuspensian bertujuan agar bakteri yang digunakan tidak mengalami lisis (Febrianasari, 2018).

#### **3.4.6 Pembuatan Larutan Uji**

Pembuatan larutan uji dilakukan dengan cara ekstrak daun kapas ditimbang 200 mg, 400 mg, 600 mg dan 800 mg. Kemudian masing-masing ekstrak dilarutkan dalam 1 mL pelarut DMSO (Dimetil Sulfoksida). Sehingga diperoleh larutan uji dengan konsentrasi, 20%, 40%, 60% dan 80% (Nugraha SE, 2018).

#### **3.4.7 Pembuatan Larutan Kontrol Positif**

Kontrol positif menggunakan antibiotik amoxicillin sebanyak 0,01 g yang dilarutkan dalam 1 mL DMSO, sehingga diperoleh larutan uji dengan konsentrasi 10%.

#### **3.4.8 Pengujian Aktivitas Antibakteri Menggunakan Metode Sumuran / Lubang**

Bakteri yang diencerkan dengan mencampur 1 ose suspensi bakteri uji ke dalam tabung reaksi yang telah berisi larutan 5 mL NaCl 0,9% dan telah distandarisasi sesuai konsentrasi 0,5 Mc Farland. Selanjutnya dituangkan 25 mL MHA ke dalam cawan petri. Setelah itu tunggu media MHA sampai dingin dan padat. Kemudian suspensi bakteri yang telah dibuat diteteskan 20 $\mu$ L ke media MHA lalu di ratakan dengan batang penyebar lalu di tunggu suspensi bakteri sampai kering. Setelah suspensi kering, lobang media menggunakan *blue tip* dan masukkan masing-masing 20 $\mu$ L konsentrasi ekstrak daun kapas ke setiap lubang. Kemudian

diinkubasi ke dalam incubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Selanjutnya amati dan ukur diameter zona bening yang terbentuk disekitar lubang menggunakan jangka sorong.

Menurut (Toy et al., 2015) kepekaan bakteri terhadap bahan antibakteri dilihat dari zona bening yang terbentuk di sekitar sumur dan dinyatakan dengan luas zona hambat. Zona hambat yang terbentuk di ukur diameter secara vertikal, horizontal, diagonal kiri dan diagonal kanan dengan satuan mm menggunakan jangka sorsong.

### **3.5 Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)**

Penentuan konsentrasi hambat minimum (KHM) dilakukan dengan metode dilusi. Pada penentuan KHM dilakukan pengamatan terhadap pertumbuhan bakteri uji melalui nilai absorbansi Spektrofotometer UV-Vis sebelum dan setelah inkubasi. Kemudian ke dalam masing-masing tabung reaksi steril ditambahkan 9 mL media *Nutrient Broth* (NB) untuk penentuan KHM. Kemudian ditambahkan 0,5 mL ekstrak yang telah dibuat menjadi tujuh konsentrasi (20%, 40%, 60%, dan 80%), 0,5 mL larutan antibiotik amoxicillin untuk kontrol positif dan 0,5 mL DMSO untuk kontrol negatif, kemudian ditambahkan 0,5 mL suspensi bakteri (Rachmawaty, 2016).

Seluruh tabung reaksi tersebut diukur absorbansi (*Optical Density = OD*) bakteri menggunakan Spektrofotometer UV-Vis ( $\lambda = 600 \text{ nm}$ ). Kemudian diinkubasi di dalam inkubator pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Absorbansi (*Optical Density = OD*) bakteri tersebut diukur lagi setelah diinkubasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis ( $\lambda = 600 \text{ nm}$ ). Nilai OD merupakan nilai yang menunjukkan tinggi rendahnya pertumbuhan atau populasi bakteri dalam suatu media (Rachmawaty, 2016).

Penentuan KHM dihitung dengan cara menghitung nilai  $\Delta OD$ . Selisih nilai absorbansi (*Optical Density*) ini sebanding dengan kepekatan sel di dalam suspensi. KHM ditentukan dengan melihat konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri, hal ini ditunjukkan dengan tidak terlihat atau tidak adanya kekeruhan (nilai  $\Delta OD$  bakteri  $\leq 0$ ). Nilai  $\Delta OD$  bakteri  $\leq 0$  menunjukkan tidak adanya peningkatan nilai absorbansi yang berarti tidak ada pertumbuhan bakteri (Jebarus, 2015).

Rumus mencari  $\Delta OD$  yaitu:

$\Delta OD = \text{nilai absorbansi setelah diinkubasi} - \text{nilai absorbansi sebelum diinkubasi}$ .

### **3.5.1 Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)**

Penentuan konsentrasi bunuh minimum (KBM) dilakukan dengan metode dilusi. Penentuan KBM dilakukan uji lanjutan dengan menginokulasikan kembali, konsentrasi yang menunjukkan KHM ke cawan petri berisi media *Muller Hinton Agar* (MHA). Selanjutnya diinkubasi di dalam inkubator pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Penentuan KBM dilakukan dengan mengamati ada tidaknya pertumbuhan bakteri pada media. KBM didapatkan jika terdapat konsentrasi terkecil yang tidak menunjukkan pertumbuhan bakteri (Jebarus, 2015).

## BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Hasil Penelitian

Dari penelitian yang telah dilakukan tentang uji aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun kapas (*Gossypium hirsutum* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* didapatkan hasil sebagai berikut:

1. Hasil identifikasi tanaman kapas yang digunakan sebagai sampel pada penelitian ini dengan spesies *Gossypium hirsutum* L. dengan nama famili *Malvaceae* yang dibuktikan dengan nomor identifikasi 48/K-ID/ANDA/I/2024.
2. Dari 1,5 kg daun kapas yang digunakan, didapatkan simplisia kering daun kapas sebanyak 250 g. Dari hasil tersebut didapatkan persentase rendemen simplisia sebanyak 16,66%.
3. Dari 250 g simplisia kering daun kapas didapatkan persentase rendemen ekstrak sebanyak 5,3 %.
4. Hasil organoleptik di dapatkan bentuk ekstrak yang kental dengan warna hijau kehitaman dan memiliki bau yang khas.
5. Hasil dari ekstrak etil asetat daun kapas didapatkan persentasi susut pengeringan sebanyak 4,34%.
6. Hasil dari ekstrak etil asetat daun kapas didapatkan persentasi kadar abu sebanyak 1,43%.
7. Hasil dari uji skrining fitokimia ekstrak daun kapas mengandung senyawa fenolik dan steroid.
8. Hasil uji daya hambat pada ekstrak daun kapas didapatkan pada konsentrasi 80% dengan rata rata 21,96 mm, 60% dengan 19,26 mm, 40% dengan 18,86

mm, 20% dengan 18,03mm, untuk kontrol + dan – didapatkan rata rata 69,3 dan 0 mm.

9. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun kapas menggunakan metode sumuran, penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan penentuan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) *Staphylococcus aureus*, KHM  $\Delta$ OD pada konsentrasi 80% dengan nilai - 0,767, 60% dengan nilai - 0,71, 40% dengan nilai - 0,446, 20% dengan nilai – 0,414, untuk kontrol + dan – di dapat kan dengan nilai – 0,09 dan 0,105, untuk hasil uji KBM tidak mendapat hasil karena ada nya pertumbuhan bakteri.

#### 4.2 Pembahasan

Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antibakteri dari daun kapas terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan metode sumuran. Pada penelitian ini sampel yang digunakan adalah daun tanaman kapas yang diambil dari desa Solok Ambah, Kabupaten Sijunjung Sumatera Barat. Selanjutnya kapas dilakukan identifikasi di Herbarium ANDA, Jurusan Biologi, Fakultas Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), Universitas Andalas dengan nomor 48/K-ID/ANDA/I/2024. Pemeriksaan identifikasi tanaman ini bertujuan untuk memastikan spesies tanaman kapas yang akan digunakan sebagai sampel pada penelitian ini. Hasil identifikasi tanaman didapatkan bahwa nama spesies daun kapas adalah *Gossypium hirsutum* L. dengan nama famili *Malvaceae* (Lampiran 2, gambar 10) dan sesuai dengan sampel yang akan digunakan. Sampel yang diambil yaitu bagian daun dari tanaman kapas.

Sampel daun kapas yang diambil sebanyak 1,5 kg dicuci bersih dengan air mengalir. Selanjutnya sampel dikeringanginkan di dalam ruangan tanpa terkena

cahaya matahari selama kurang lebih 7 hari. Pengeringan ini dilakukan bertujuan untuk mencegah reaksi enzimatik yang dapat merusak senyawa yang ada dalam sampel dan dengan pengeringan ini dapat membuat sampel menjadi awet dan tahan lama. Setelah sampel kering, dilanjutkan dengan sampel dihaluskan menggunakan blender yang bertujuan untuk mempermudah selama proses maserasi. Karena, semakin kecil atau semakin halus ukuran sampel maka akan semakin besar luas permukaannya yang akan kontak dengan pelarut sehingga mempermudah proses penarikan zat aktif dari sampel yang digunakan (Asworo & Widwastuti, 2023)

Simplisia yang didapatkan dilakukan proses maserasi untuk mendapatkan ekstrak. Metode maserasi dipilih karena prosesnya yang sederhana, efektif untuk menarik zat-zat yang ada pada tanaman dan tidak menggunakan proses pemanasan yang dapat merusak zat aktif pada sampel akibat suhu tinggi (Dermawan, 2021). Proses maserasi simplisia dilakukan selama 3x24 jam menggunakan etil asetat, alasan dipilih pelarut tersebut karena bersifat semipolar, tidak beracun dan volatil terhadap pemanasan, sehingga diharapkan dapat menarik senyawa-senyawa semipolar (Putri *et al*, 2013). Selama proses maserasi dilakukan pengadukan sesekali untuk mempercepat penetrasi pelarut ke dalam sampel. Setelah proses maserasi selesai maka didapatkan maserat yang akan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* untuk mendapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental yang didapatkan sebanyak 13,25 g.

Karakterisasi ekstrak daun kapas dilakukan dengan pemeriksaan organoleptik ekstrak, penentuan rendemen ekstrak, pemeriksaan susut pengeringan ekstrak dan pemeriksaan kadar abu ekstrak. Hasil dari pemeriksaan organoleptik daun kapas menunjukkan bahwa ekstrak berwarna hijau kehitaman, berbentuk kental, dan

memiliki baunya yang khas (Lampiran 9, Tabel 2). Pemeriksaan organoleptik pada ekstrak ini bertujuan sebagai pengenalan awal yang dilakukan secara sederhana menggunakan panca indera.

Selanjutnya hasil penentuan rendemen ekstrak daun kapas didapatkan hasil sebanyak 5,3% dari 250 g simplisia kering daun kapas (Lampiran 9, Tabel 3). Semakin banyak jumlah rendemen maka jumlah senyawa aktif yang terkandung pada sampel juga semakin banyak (Harborne, 1987).

Hasil pemeriksaan susut pengeringan ekstrak daun kapas sebanyak 4,34% (Lampiran 9, Tabel 4). Susut pengeringan bertujuan untuk mengetahui rentang atau batas maksimal senyawa yang hilang pada proses pengeringan pada suhu 105°C (pada suhu ini air akan menguap dan senyawa-senyawa dengan titik didih rendah dari air akan ikut menguap) (Sari *dkk*, 2021).

Hasil pemeriksaan kadar abu ekstrak daun kapas sebanyak 1,43% (Lampiran 9, Tabel 5). Pemeriksaan ini bertujuan untuk memberikan gambaran jumlah total material yang tersisa setelah pemijaran yang terdiri dari abu fisiologis yang berasal dari jaringan tanaman dan abu non fisiologis yang berasal dari residu dari senyawa (pasir dan tanah) yang menempel pada permukaan tanaman. Pemeriksaan kadar abu ini dilakukan pada suhu 600 °C, dimana pada suhu ini senyawa organik dan turunannya akan tereduksi dan menguap sehingga unsur mineral dan senyawa anorganik akan tertinggal (Dirjen POM, 2000).

Selanjutnya pemeriksaan skrining fitokimia dilakukan bertujuan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder apa saja yang terkandung dalam ekstrak etil asetat daun kapas. Dari pemeriksaan metabolit sekunder yang terkandung dalam

daun kapas yaitu fenolik dan steroid (lampiran 10, Tabel 6). Adanya kandungan fenolik, dan steroid pada daun kapas memiliki aktivitas antibakteri.

Tahap selanjutnya yaitu dilakukan pengujian aktivitas antibakteri dari ekstrak etil asetat daun kapas terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan metode difusi dengan sumuran. Pada tahap ini semua proses harus dilakukan dalam keadaan steril, karena itu sebelum memulai terlebih dahulu alat-alatnya disterilkan dan bekerja di tempat yang aseptis. Tujuannya agar pada saat pengerjaan terhindar dari cemaran mikroorganisme yang hidup termasuk spora yang dapat mempengaruhi hasil pengujian antibakteri (Elviona, 2021).

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun kapas dilakukan menggunakan metode difusi sumuran karena metode ini mudah dilakukan, peralatan yang digunakan sederhana, dan mendapatkan hasil zona hambat yang lebih besar dibandingkan dengan metode *disc diffusion*. Karena pada metode difusi sumuran, ekstrak langsung dimasukkan ke setiap sumur sehingga ekstrak dapat berdifusi lebih luas ke dalam medium dan kontak dengan bakteri lebih kuat (Prayoga, 2013). Hal ini sesuai dengan penelitian (Nurhayati dkk 2020) yang menyatakan bahwa aktivitas antibakteri metode difusi sumuran lebih besar dibandingkan metode difusi cakram untuk bakteri *E. coli* maupun *S. aureus*. Aktivitas antibakteri ditandai dengan adanya terbentuknya zona bening disekitar sumur. Menurut CLSI (2018) daya hambat pertumbuhan bakteri dibagi menjadi tiga kategori, yaitu  $\geq 20$  mm (kuat / *susceptible*), 15-19 mm (sedang / *intermediate*), dan  $\leq 14$  mm (lemah / *resistant*).

Larutan uji dibuat menjadi beberapa konsentrasi yaitu 20%, 40%, 60%, dan 80%. Untuk membuat larutan uji maka masing-masing ekstrak etil asetat daun kapas dilarutkan dengan DMSO (dimetil sulfoksida). Dipilih DMSO karena

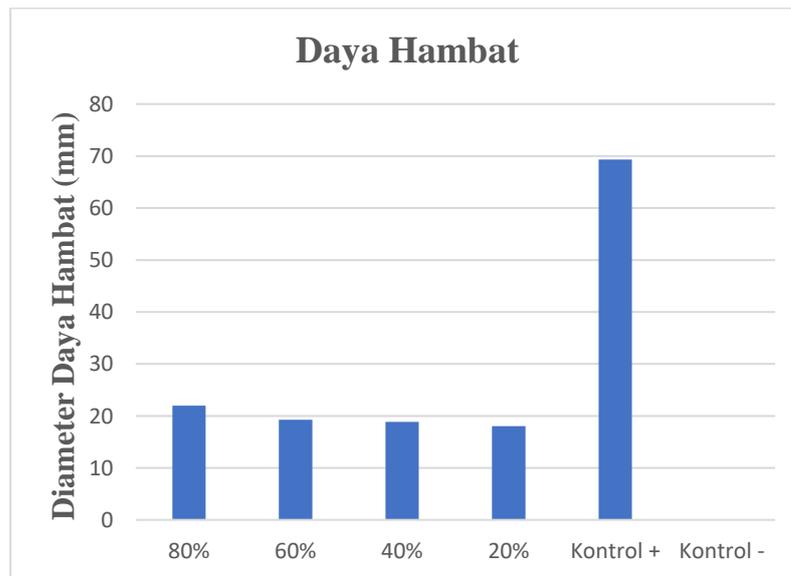
merupakan pelarut yang dapat melarutkan hampir semua senyawa baik komponen polar maupun non polar sehingga dapat melarutkan metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antibiotik dalam ekstrak tersebut (Etikasari *dkk*, 2017). Selain itu pelarut DMSO juga tidak mempengaruhi aktivitas antibakteri.

Media yang digunakan dalam pengujian aktivitas antibakteri ini adalah *Mueller Hinton Agar* (MHA) karena mengandung nutrisi yang cocok untuk membiakkan sebagian besar bakteri dan bersifat netral sehingga tidak mengganggu prosedur pengujian antibakteri (Utomo *dkk*, 2018). Selain itu, MHA bukan media selektif dan media differensial sehingga semua bakteri dapat tumbuh pada media ini dan mendukung pertumbuhan bakteri *non-fastidious* patogen serta *starch* (tepung pati) yang terdapat dalam MHA dapat menyerap racun yang dikeluarkan bakteri sehingga tidak mengganggu antibiotik (Atmojo, 2016).

Sebelum bakteri diinokulasikan pada media MHA, terlebih dahulu disuspensikan menggunakan NaCl 0,9% sehingga didapat kekeruhan yang sama dengan larutan standar 0,5 Mc Farland. Penggunaan NaCl 0,9% bertujuan untuk menghindari terjadinya lisis pada bakteri (Febrinasi, 2018). Hal ini bertujuan agar kepadatan jumlah koloni bakteri setara dengan  $1,5 \times 10^8$  CFU/mL. Larutan standar 0,5 Mc Farland merupakan standar paling umum digunakan untuk pengujian kerentanan antimikroba (Dalynn, 2014).

Pada pengujian ini kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO untuk melihat ada atau tidaknya kemampuan aktivitas antibakteri pelarut yang digunakan untuk melarutkan ekstrak yang dapat mempengaruhi pengujian aktivitas antibakteri ini. Sedangkan kontrol positif yang digunakan adalah antibiotik amoxicillin. Dipilih Amoxicillin karena merupakan antibiotik penisilin yang diguanakn untuk

mengobati infeksi yang disebabkan oleh bakteri gram negatif dan bakteri gram positif. amoxicillin yang digunakan sebanyak 0,01 g yang dilarutkan dalam 1 mL DMSO. Karena pada penelitian ini menggunakan bakteri positif yaitu *Staphylococcus aureus*.



**Gambar 8.** Diagram hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun kapas terhadap *Staphylococcus aureus*

Hasil pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* menunjukkan diameter daya hambat rata-rata pada larutan uji dengan konsentrasi 80% sebesar 21,96 mm yang termasuk kategori kuat, konsentrasi 60% sebesar 19,26 mm yang termasuk kategori sedang, konsentrasi 40% sebesar 18,86 mm termasuk kategori sedang, konsentrasi 20% sebesar 18,03 mm termasuk kategori sedang, dan kontrol positif dengan diameter hambat rata-rata sebesar 69,3 mm yang termasuk kategori kuat (Lampiran 11, Tabel 7). Diameter daya hambat ini dikategorikan berdasarkan klasifikasi daya hambat pertumbuhan bakteri menurut (CLSI, 2018). Hasil pengujian aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* memiliki diameter daya hambat yang relatif sedang.

kontrol positif amoxicillin lebih tinggi dibandingkan dengan hasil diameter daya hambat masing-masing konsentrasi ekstrak, hal ini dikarenakan amoxicillin termasuk dalam golongan antibiotik berspektrum luas dengan cara menghambat sintesis protein yang paten terhadap mikroorganisme dan menghambat fungsi RNA dari bakteri. Berdasarkan hasil pengujian daya hambat ekstrak etil asetat daun kapas terhadap *Staphylococcus aureus* paling baik dimulai dari konsentrasi 80% karena paling tinggi diameter hambatnya diantara konsentrasi yang lain.

Berdasarkan hasil pengujian daya hambat, pada kontrol negatif tidak terbentuk zona bening. Hal ini menunjukkan bahwa tidak adanya pengaruh DMSO sebagai pelarut ekstrak terhadap pengujian aktivitas antibakteri. Sedangkan kontrol positif didapatkan zona bening yang besar dan termasuk kategori kuat terhadap kedua bakteri uji. Hal ini menunjukkan bahwa antibiotik amoxicillin yang digunakan sebagai kontrol positif dapat digunakan untuk mengatasi infeksi bakteri.

Berdasarkan hasil pengujian daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* terdapat perbedaan daya hambatnya setiap konsentrasi. Dimana hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat daun kapas memiliki aktivitas antibakteri. Etil asetat adalah senyawa organik yang merupakan ester dari etanol dan asam asetat. Etil asetat adalah pelarut semi polar yang volatil dan tidak higroskopis. Etil asetat sering digunakan sebagai pelarut karena etil asetat dapat menyari senyawa-senyawa yang dapat memberikan aktivitas antibakteri diantaranya fenolik steroid dan yang lain (Wardhani, 2012). Hal ini terbukti dari diameter daya hambat bakteri *Staphylococcus aureus*.

Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak etil asetat daun kapas dilakukan dengan menggunakan metode dilusi yaitu dengan cara

menggunakan tabung reaksi yang diisi media cair NB, bakteri uji, dan larutan uji yang dimasukkan pada masing-masing tabung reaksi. Nilai KHM ditentukan dengan melihat konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan melihat kekeruhan sebelum dan sesudah inkubasi. Jika tidak terdapat perubahan kekeruhan atau tidak adanya kekeruhan pada larutan uji menunjukkan bahwa adanya penghambatan pertumbuhan bakteri. Sebaliknya jika terdapat kekeruhan pada larutan uji menunjukkan bahwa adanya pertumbuhan bakteri. Biasanya larutan uji akan bertambah keruh setelah inkubasi dikarenakan adanya peningkatan jumlah bakteri (Rachmawati, 2016).

Untuk mengamati ada atau tidaknya kekeruhan maka digunakan  $\Delta OD$  yaitu perbandingan nilai absorbansi sesudah dan sebelum diinkubasi untuk mengamati ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri secara spektrofotometer. Hasil  $\Delta OD$  yang positif menunjukkan bahwa tidak ada terjadi penghambatan pada pertumbuhan bakteri dan adanya pertumbuhan bakteri yang ditandai dengan larutan uji yang keruh, dimana kekeruhan larutan uji berbanding lurus dengan serapan. Hasil  $\Delta OD$  yang negatif menunjukkan bahwa terjadinya penghambatan pada pertumbuhan bakteri dan tidak adanya pertumbuhan bakteri pada larutan uji sehingga larutan uji tidak keruh. Pengukuran nilai absorbansi (*Optical Density*) dilakukan pada panjang gelombang 600 nm (Rachmawati, 2016).

Hasil penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dari ekstrak etil asetat daun kapas menunjukkan adanya daya hambat pada pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang ditunjukkan dengan penurunan nilai absorbansi (*Optical Density*) pada konsentrasi 80%, 60%, 40% dan 20% dengan nilai  $\Delta OD$  – 0,765, - 0,71, - 0,446 dan - 0,414 (Lampiran 12, Tabel 8). Menurut Rachmawati

(2016) nilai suatu KHM ditentukan dengan selisih absorbansi (*Optical Density*) sesudah dan sebelum inkubasi yang hasilnya negatif. Hal ini menunjukkan bahwa nilai absorbansi (*Optical Density*) sesudah inkubasi lebih kecil dibandingkan nilai absorbansi (*Optical Density*) sebelum inkubasi yang mana terdapat penurunan absorbansi setelah larutan uji diinkubasi. Dapat ditunjukkan bahwa nilai KHM terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* adalah pada konsentrasi 20%.

Berdasarkan hasil uji KHM yang hasilnya negatif, dilakukan pengujian lanjutan untuk menentukan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dengan cara menginokulasikan kembali konsentrasi yang menunjukkan nilai OD negatif pada media MHA. Hasil KBM ditentukan dengan melihat ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri setelah diinkubasi. Jika hasilnya tidak menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri, maka itu hasil KBM nya.

Hasil pengujian Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* menunjukkan bahwa adanya pertumbuhan bakteri pada konsentrasi 20%, 40%, 60% dan 80% (Lampiran 13, Tabel 9). Dari hasil yang didapatkan dapat dikatakan bahwa belum bisa ditentukan nilai KBM dari setiap konsentrasi ekstrak yang dicobakan, karena pada setiap konsentrasi masih tumbuh koloni bakteri. Nilai KBM didapatkan jika pada konsentrasi tidak menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri pada media MHA. Untuk konsentrasi 90% dan 100% tidak dilakukan uji di karena ekstrak tidak mencukupi untuk di lanjutkan uji KBM.

## **BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN**

### **5.1 Kesimpulan**

1. Ekstrak etil asetat daun kapas (*Gossypium hirsutum* L.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.
2. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) etil asetat daun kapas (*Gossypium hirsutum* L.) pada konsentrasi 20%, dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.
3. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari ekstrak etil asetat daun kapas (*Gossypium hirsutum* L.) belum bisa ditentukan dari pengujian yang telah dilakukan.

### **5.2 Saran**

1. Perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas antibakteri dengan menambahkan cara lain seperti uji dengan KLT Biografi agar mengetahui metabolit sekunder yang lebih spesifik yang bertindak sebagai antibakteri.
2. Perlu adanya penelitian lebih lanjut dari ekstrak etil asetat daun kapas (*Gossypium hirsutum* L.) seperti melakukan pembuatan sediaan antibakteri
3. Perlu adanya penelitian lebih lanjut seperti meningkatkan konsentrasi dari ekstrak etil asetat daun kapas (*Gossypium hirsutum* L.)

## DAFTAR PUSTAKA

- AAK. (1986). *Buku Bertanam Kapas*. Kanisius: Yogyakarta
- Abdiana, R., & Anggraini, D.I. (2017). Rambut Jagung (*Zea mays* L.) Sebagai Alternatif Tabir Surya. *Jurnal Majority*, 7(1), 31-35
- Anief, M. 1997. *Formulasi Obat Topikal Dengan Dasar Penyakit Kulit*. Gajah Mada University Press: Yogyakarta.
- Artanti, N.Y., Ma'arifa & M. Hanafi. 2006. Isolation and Identification of Active Antioxsidant Compound from Star Fruit Mistletoe *Dendrophthoe pentandra* (L) Miq, Ethanol Extract. *Journal of Applied Sciences*, 6(8): 1659-1663
- Asworo, R. Y., & Widwastuti, H. (2023). Pengaruh Ukuran Serbuk Simplisia dan Waktu Maserasi terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Sirsak. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education*, 3(2). <https://doi.org/10.37311/ijpe.v3i2.19906>
- Atmojo, A.T., 2016. Media Mueller Hinton Agar. Diperoleh 9 Juli 2024 pada <http://medlab.id/media-mueller-hinton-agar.html>
- Bell AA. Stipanovic RD, Howell CR, dan Fryxell PA, 1975 Antimicrobial Terpenoids of Gossypion: by Hemigossypol, 6-methoxygossypol and 6-deoxyhemigossypol *Phytochemistry*, 14:225-231.
- Brooks, GF., Carroll KC, Butel JS, Morse, and all. (2013). *Mikrobiologi Kedokteran*. Jawetz, Melnick, & Adelberg. Ed. 25. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2018). *M100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. Wayne, Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).
- Cowan M. Plant Product as Antimicrobial Agent, *Clinical Microbiology Reviews*. 2009; 12 (4), hal. 564-582.
- Dalynn Biological. (2014). *Mc standard*. Dalynn Biological.
- Dang, X., Liu, Z., Zhou, Y., Chen, P., Liu, J., Yao, X., & Lei, B. (2018). Steroids-Specific Target Library for Steroids Target Prediction. *Steroids*, Journal Article 140, 83–91.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Departemen Kesehatan RI: Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI. (1995). *Farmakope Indonesia, Edisi IV*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dermawan S. 2021. Formulasi Gel Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) dan Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap *Staphylococcus epidermidis*. *Skripsi*. Padang: Universitas Perintis Indonesia.

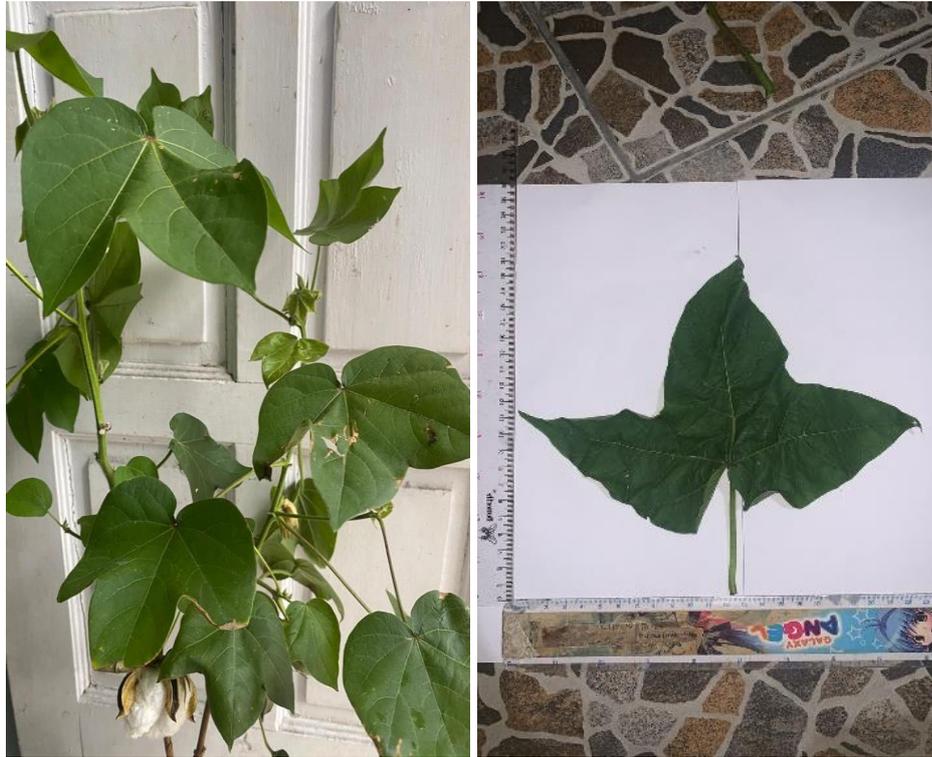
- Dewi, F. K. (2010). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda Citrifolia, Linnaeus*) Terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar, Skripsi Universitas Sebelas Maret.
- Direktorat Jendral Perkebunan. (1977). *Varietas dan Sifat-Sifat serta Kualitas Kapas di Indonesia*. Kementerian Pertanian: Jakarta.
- Dirjen POM (Direktur Jenderal Pengawas Obat dan Makanan). Depkes RI. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Elviona S. 2021. Uji Aktivitas Antibakteri Tepung Kulit Pisang Kepok (*Musa balbisiana* Colla) Pada *Staphylococcus aureus*. Skripsi. Padang: Universitas Perintis Indonesia.
- Elvira, Sari. D. (2014). *Aspek Agronomi Kapas*. Dapur Buku: Jakarta Timur
- Etikasari, R.; Murharyanti<sup>1</sup>, R.; Wiguna, A. S. (2017) Evaluai Pigmen Karotenoid Karang Lunak Sarcophyton Sp. Sebagai Agen Antibakteri Potensial Masa Depan. *J. Farm.*, 2 (1), 28
- Fauzi, A. Z., Daya, U., Ekstrak, H., & Kapas, D. (2023). Sebagai Anti Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Ilmu Kesehatan Dan Kedokteran*, 1(3), 43–51. <https://doi.org/10.55606/termometer.v1i3.1826>
- Febrianasari, F. (2018). *The Test Of Antibacterial Activity Of Kirinyu Leaf (Chromolaena odorata) Extract On Staphylococcus aureus*. *Jurnal Yogyakarta: Universitas Sanata Dharma*
- Febrianti, Novi dan Sari, Fajar Jaharia. 2016. Kadar Flavonoid Total berbagai Jenis Buah Tropis Indonesia. *Jurnal FKIP Universitas Ahmad Dahlan*. Yogyakarta.
- Harborne. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Edisi I. Terjemahan Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Bandung: Penerbit ITB
- Hasniar., Yusriadi., & Akhmad, K. 2015. Formulasi Krim Antioksidan Ekstrak Daun Kapas (*Gossypium sp.*). *Galentika Journal of Pharmacy*.1(1), 9-15
- Heinrich, M., Joanne, B., Simon, G., and Elizabeth, M. W. 2010. Farmakognosi dan Fitoterapi. Terjemahan dari *Fundamental of Pharmacognosy and Phytotherapy*, oleh Winny, R. Cucu, A. Ella, E. dan Euis, R. F. EGC, *Journa* Jakarta.
- Jagt, V. D. L., Deck, L. M., and Royer, R. E. 2000. Gossypol: Prototype of Inhibitors Targeted to Dinucleotide Folds. *Current Medicinal Chemistry*. 7(4): 479-498.

- Jawetz, M., & Adelberg's. (2013). *Mikrobiologi Kedokteran (23 Ed.)*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Jawetz, Melnick, dan A. (2004). *Mikrobiologi Kedokteran. (23 Ed.)*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Jebarus, A. (2015). *Skripsi Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Buah Petai (Parkisa speciosa Hassk.) Terhadap Staphylococcus aureus dan Escherichia coli*. Yogyakarta: Universitas Islam Indonesia.
- Julianto Y. dan Mufrod., 2013, Formulation Lozenges of Guava Leaves (*Psidium guava L.*) Containing Flavonoids with A Combination of Excipients Mannitol-Sucrose, *Tradisional Medicine Journal*, 18 (2), pp.103–108.
- Kurniawati, E. (2015). Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Tunas Bambu Apus Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Jurnal Wiyata*, 2(2), 193–199.
- Kusmiyati, & Gustini, N. W. S. (2006). Antibacterial activity assay from *Porphyridium cruentum* microalgae. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 8(1), 48–53. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d080110>
- Lenia, Ifda. 2022. Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi N-Heksan, Etil Asetat Dan N-Butanol Dari Ekstrak Etanol Daun Kapas (*Gossypium Hirsutum L.*). Skripsi Universitas Perintis Indonesia
- Louise, P. 2009. USMLE, Step 1. Microbiology and Immunology. Tersedia di: <http://www.rudolfblog.com/usmle-step-1-lecture-notes-immunology-and-microbiology-book-only-2009-edition-english.pdf>.
- Manoi, F. 2006. Pengaruh Cara Pengeringan Terhadap Mutu Simplisia Sambiloto. *Bull Litro*. 17(1):1-15
- Markham, 1988, *Cara Identifikasi Flavonoid*, Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, hal 1-20, penerbit ITB, Bandung
- Masduki I. 1996. Efek Antibakteri Ekstrak Biji Pinang (*Areca catechu*) terhadap *S. aureus* dan *E. coli*. *Cermin Dunia Kedokteran* 109: 21
- Naoumkina, M., Modolo, L.V., Huhman, D.V., Urbanczyk-Wochniak, E., Tang, Y. 2010. *Genomic and Coexpression Analyses Predict Multiple Gene Involved riterpene Saponin Biosynthesis in Medicago truncatula(C)(W) Plant Cell*.
- Nogrady, T. 1992. *Kimia Medisinal*, Edisi II, Alih Bahasa Raslim Rasyid. ITB. Bandung.
- Nugraha SE, A. S. dan S. E. (2018). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Buah Markisa Ungu (*Passiflora edulis Sims*) aktif *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. 1((2)), 28–33. [Jhttps://talenta.usu.ac.id/index.php/idjpcr](https://talenta.usu.ac.id/index.php/idjpcr)

- Nugrahani, A. W., Febriani G., & Akhmad K. (1989). *Gossypium barbadense*. 9(1), 1-7. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kapas (*Gossypium barbadense* L.) terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *P. ropionibacterium acnes*. *Jurnal Farmasi Udayana*, 9 (1), 52-61.
- Nurhayati, L. S., Yahdiyani, N., & Hidayatulloh, A. (2020). Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt dengan Metode Difusi Sumuran dan Metode Difusi Cakram. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, 1(2), 41. <https://doi.org/10.24198/jthp.v1i2.27537>
- Pratiwi, D. S. (2008). *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga.
- Prayoga, Eko. 2013. Perbandingan Efek Ekstraksi Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) dengan Metode Difusi Disk dan Sumuran Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Skripsi*. Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Putri, W. ) S., Warditiani, N. K., Larasanty, L. P. F., & Putri, W. S. (n.d.).2013. *Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Manggis (Garcinia mangostana L. Skrinig Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Manggis (Garcinia mangostana L.)*. *Jurnal farmasi Bali: Universitas Udayan*
- Rachmawati DU. 2016. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol, Etil Asetat, Dan Petroleum Eter Rambut Jagung Manis (*Zea mays ssaccharata* Sturt) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Rachmawaty, F. J., Citra, D. A., Nirwani, B., Nurmasitoh, T., & Tri Bowo, E. (2009). Manfaat Sirih Merah (*Piper crocatum*) sebagai Agen Anti Bakterial terhadap Bakteri Gram Positif dan Bakteri Gram Negatif. *Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan Indonesia*, 1(1), 12–20. <https://doi.org/10.20885/jkki.vol1.iss1.art3>
- Radji M., 2009. *Buku Ajar Mikrobiologi*. Edited by J. Manurung. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Raheman, K., & Sultana, A. (2016). *Gossypium Herbaceum* Linn: An Ethnopharmacological review. *Journal of Pharmaceutical and Scientific Innovation*, 1(5), 1- 5.
- Rusim, M. (2001). *Biologi Tanaman Kapas*. Monografi Balittas, Balai Penelitian Tanaman Tembakau Dan Serat 1(7), 1-9.
- Saleh S. Masir. 2023. *Manfaat Daun Kapas*. Kassemon blog.
- Sari, Noni Afriva. 2021. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Rimpang, Batang dan Daun Tanaman Pacing (*Cheilocostus speciosus* (J.koenig) C.D.Specht) Dengan Metode DPPH. *Skripsi*. Padang: Universitas Perintis Indonesia

- Sirohi, S.K., Goel, N., Singh, N. 2014. Utilization of Saponins, a Plant Secondary Metabolite in Enteric Methane Mitigation and Rumen Modulation. *Annual Research & Review in Biology*
- Soedibyo, B. R. A. Mooryati, 1998, *Alam Sumber Kesehatan dan Manfaat dan Kegunuaannya*, 1-11, Balai Pustaka: Jakarta.
- Sugianti, B. 2005. *Pemanfaatan Tumbuhan Obat Tradisional dalam Pengendalian Penyakit Ikan*. Sekolah Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Syahrurachman A, Chatim A, Soebandrio A, Karuniawati A, 1993. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi revisi. Binarupa Aksara; Jakarta
- Toy, T. S. S., Lampus, B. S., Hutagalung, B. S. P., Sam, U., & Manado, R. (2015). Uji Hambat Estraksi Rumpun Laut Gracilaria sp Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Program Studi Pendidikan Dokter Gigi Fakultas Kedokteran Seseorang , Karena Gigi dan Mulut yang Makan , Berbicara dan Bersosialisasi dengan Data Riskesdas 2013 menunjukkan bahwa prevalensi nasional masala. *Jurnal Farmasi*, 3(01), 156.
- Triwati. (2014). Karakterisasi Simplisia dan Skirining Fitokimia Serta Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Ceremai (*Phyllanthus acidus (L.) Skells*). Universitas Sumatera Utara Medan.
- Utomo, S. B., Fujiyanti, M., Lestari, W. P., & Mulyani, S. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa C-4 Metoksifenilkaliks [4] Resorsinarena Termodifikasi Hexadecyltrimethylammonium-Bromide Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia*, 3(3), 109-209
- Wardhani, L. K. Dan N. Sulistyani. 2012. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Binahong (*Anredera Scandens (L.)*) Jurnal Farmasi Yogyakarta: Universitas Ahmad Dahlan

**Lampiran 1. Tanaman Kapas Dan Daun Kapas (*Gossypium hirsutum* L.)**

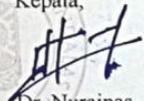


**Gambar 9. Tanaman Dan Daun kapas**

## Lampiran 2. Surat Identifikasi Tanaman Kapas (*Gossypium hirsutum* L.)

No	Family	Spesies
1.	Malvaceae	<i>Gossypium hirsutum</i> L.

Demikian surat ini dibuat untuk dapat digunakan seperlunya.

Padang, 19 Januari 2024  
Kepala,  
  
Dr. Nurainas  
NIP. 196908141995122001

HERBARIUM UNIVERSITAS ANDALAS (ANDA)  
Departemen Biologi FMIPA Universitas Andalas Kampus Limau Manih Padang  
Sumbar Indonesia 25163 Telp. +62-751-777427 e-mail: herbariumanda@yahoo.com

Nomor : 48/K-ID/ANDA/I/2024  
Lampiran : -  
Perihal : Hasil Identifikasi

Kepada Yth,  
Gustian Riza Putra  
di  
Tempat

Dengan hormat,  
Sehubungan dengan surat permohonan determinasi sampel daun kapas dari Universitas Perintis Indonesia di Padang No. 23/ADK/FAK.FARMASI-UPERTIS/I/2024 tanggal 18 Januari 2024 di Herbarium Universitas Andalas Departemen Biologi FMIPA Universitas Andalas, kami telah membantu mengidentifikasi tumbuhan yang dibawa, dari:

Nama : Gustian Riza Putra  
No. BP : 2020112063  
Instansi : Universitas Perintis Indonesia

Berikut ini diberikan hasil identifikasi yang dikeluarkan dari Herbarium Universitas Andalas.

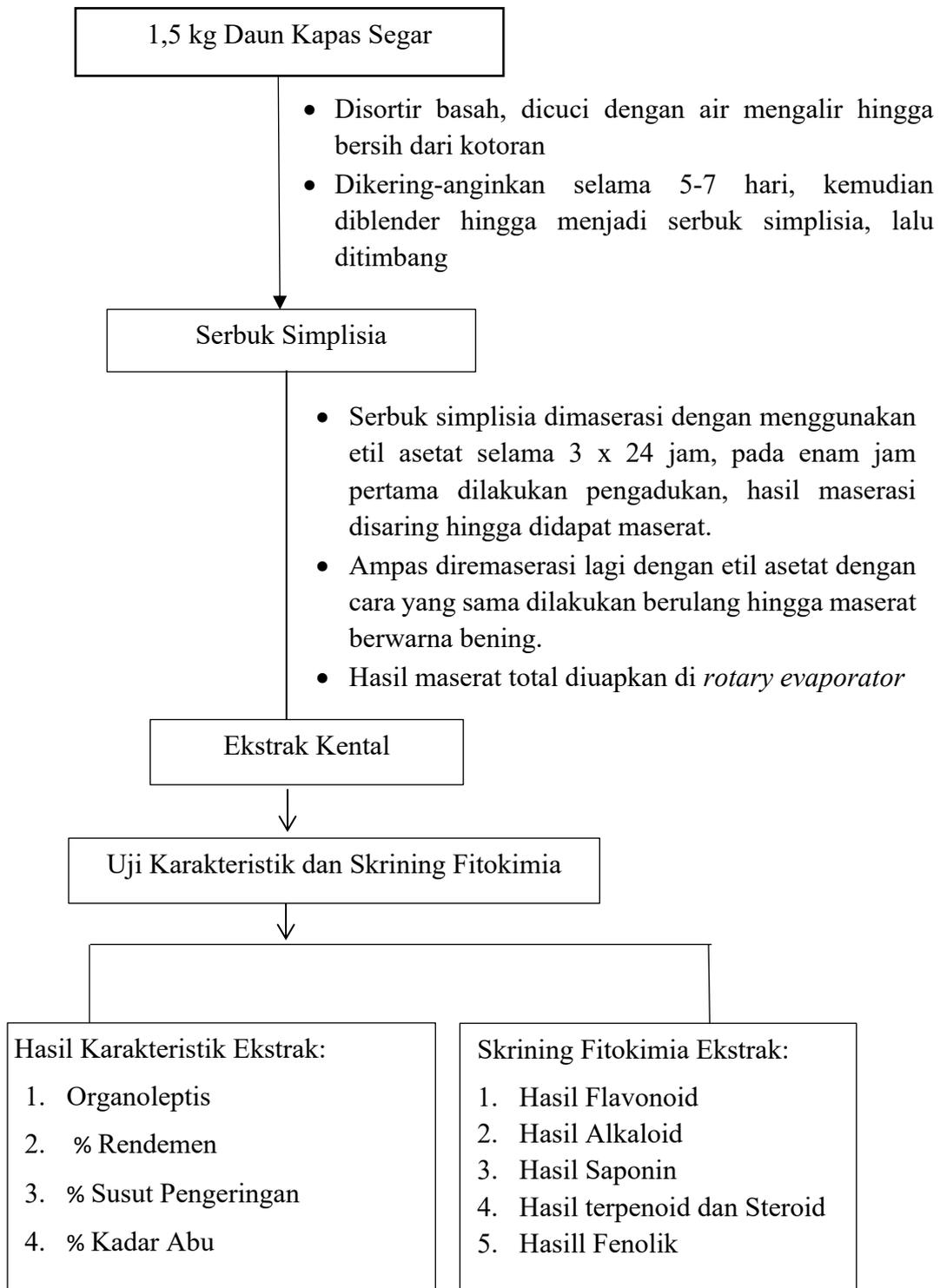
Gambar 10. Surat Hasil Identifikasi

### Lampiran 3. Surat Keterangan Bakteri *Staphylococcus aureus*

	<p>KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, RISET, DAN TEKNOLOGI UNIVERSITAS ANDALAS FAKULTAS KEDOKTERAN DEPARTEMEN MIKROBIOLOGI Alamat : Jl Perintis Kemerdekaan, Kode Pos 25127. Telp. 39725.</p>
Padang, 4 Juni 2024	
<p><b><u>SURAT KETERANGAN NAMA BAKTERI</u></b> No. 32C/UN 16.2/Lab.Mikro/VI/2024</p>	
<p>Dengan ini menerangkan bahwa isolat bakteri ini adalah bakteri murni: "<i>Staphylococcus aureus</i>"</p>	
<p>Demikian surat keterangan ini dibuat agar dapat diperlukan sebagaimana mestinya.</p>	
<p>Penanggung Jawab Laboratorium Fakultas Kedokteran UNAND,  <b><u>Nunung Aidawati</u></b> NIP. 196912112007102001</p>	

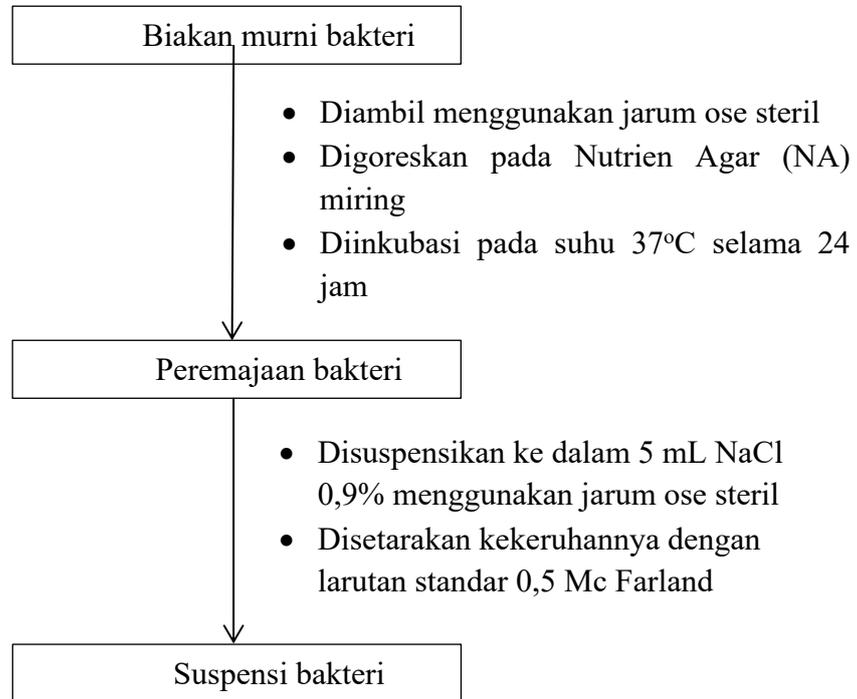
**Gambar 11.** Surat Keterangan Bakteri *Staphylococcus aureus*

**Lampiran 4. Skema Kerja Pembuatan dan Evaluasi Ekstrak Etil Asetat Daun Kapas**



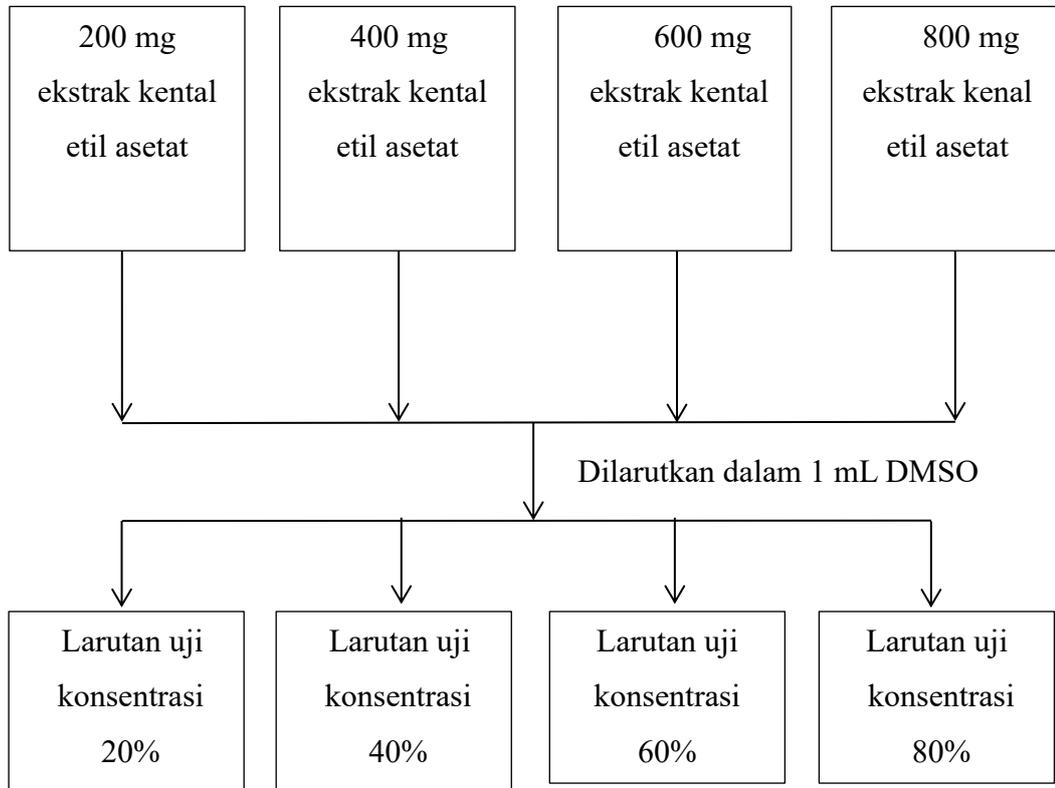
**Gambar 12.** Skema Kerja Ekstrak Daun kapas

### Lampiran 5. Skema Kerja Persiapan Bakteri Uji



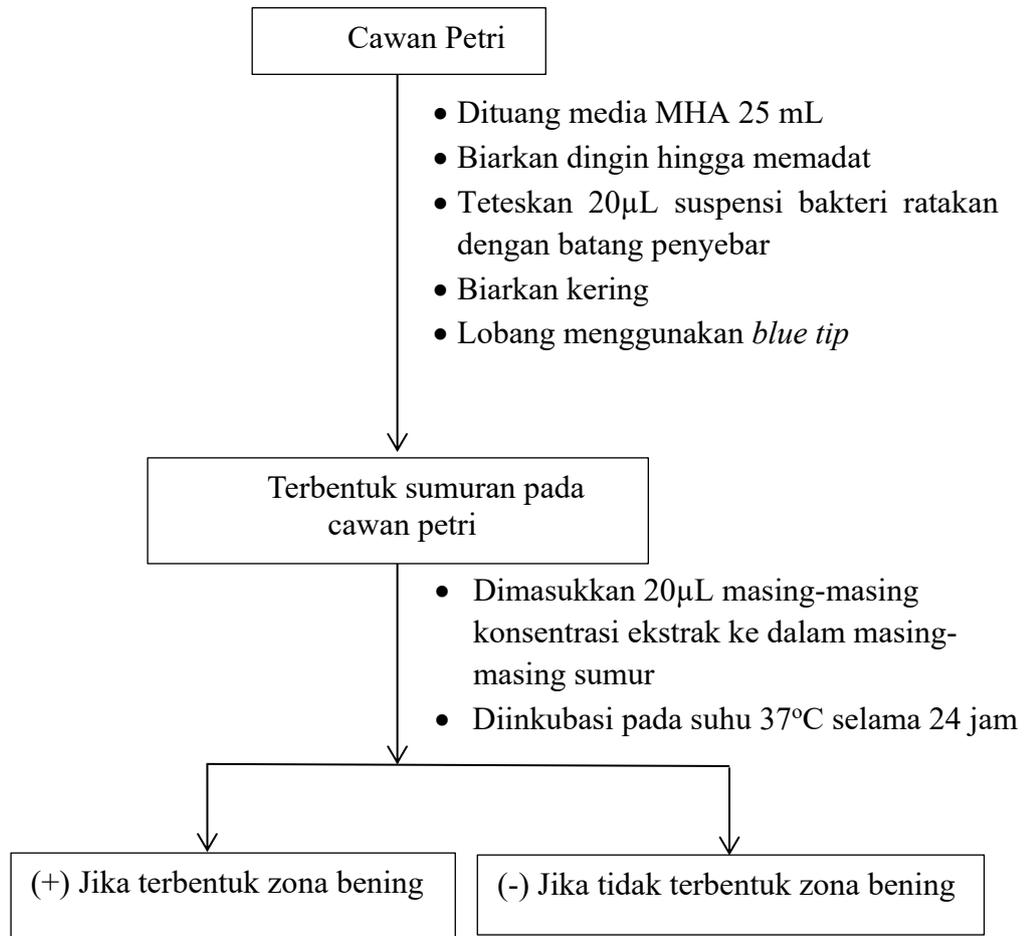
**Gambar 13.** Skema Kerja Persiapan Bakteri Uji

**Lampiran 6. Skema Kerja Pembuatan Larutan Uji**



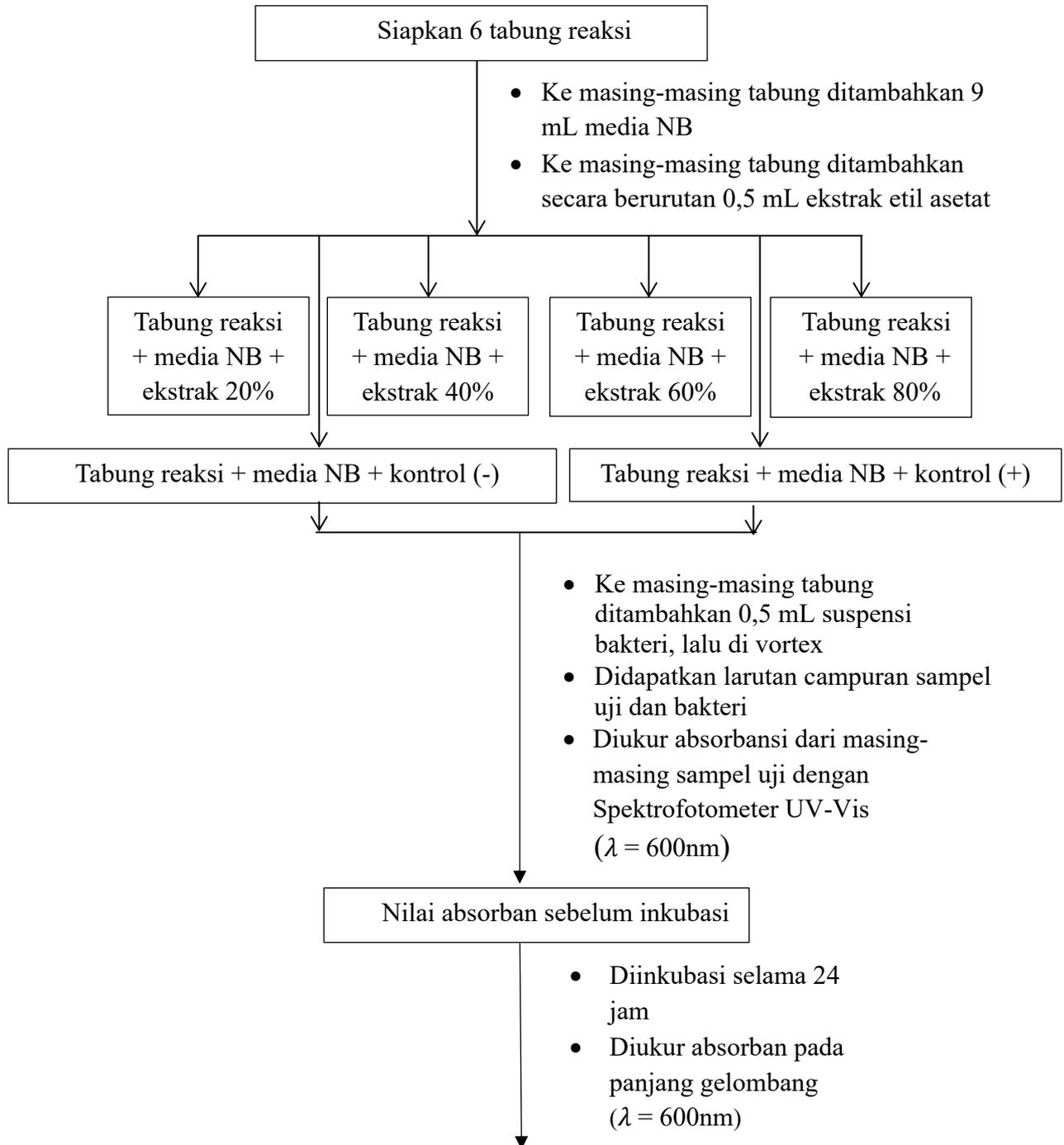
**Gambar 13.** Skema Kerja Pembuatan Larutan Uji

### Lampiran 7. Skema Kerja Pengujian Aktivitas Antibakteri

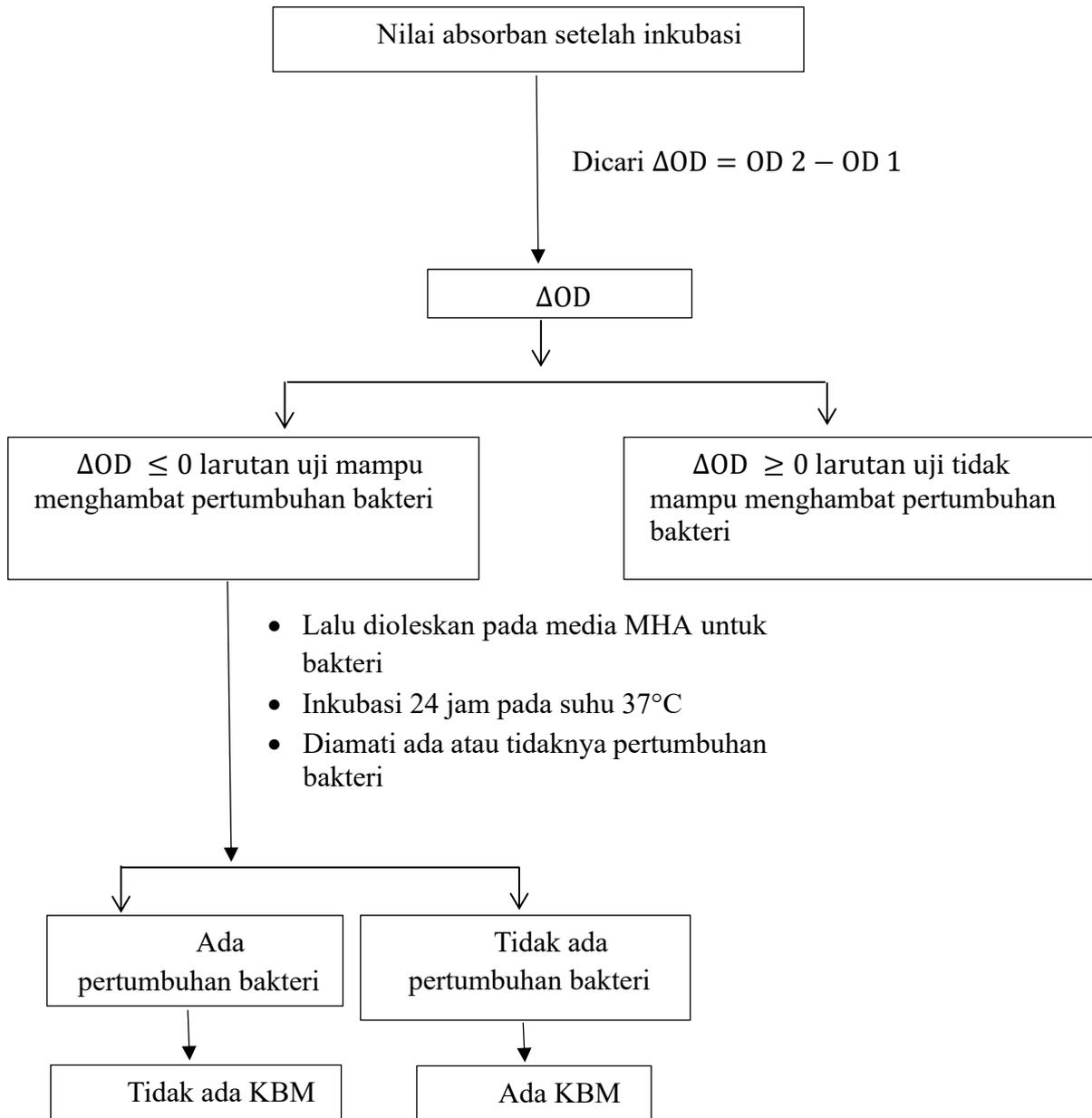


**Gambar 14.** Skema Kerja Pengujian Aktivitas Antibakteri *Staphylococcus aureus* Ekstrak Daun kapas

**Lampiran 8. Skema Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)**



**Lampiran 8. (Lanjutan)**



**Gambar 15.** Skema Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan penentuan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)

**Lampiran 9. Hasil Karakterisasi Ekstrak Ekstrak Etil Asetat Daun Kapas  
(*Gossypium hirsutum* L.)**

**Tabel 2.** Hasil Pemeriksaan Organoleptik Ekstrak Etil Asetat Daun Kapas

<b>Pemeriksaan</b>	<b>Pengamatan</b>
Bentuk	Ekstrak kental
Warna	Hijau kehitaman
Bau	Bau khas

**Tabel 3.** Hasil Rendemen Simplisia Ekstrak Etil Asetat Daun Kapas

<b>Pemeriksaan</b>	<b>Pengamatan</b>
% Rendemen simplisia	16,66%
% Rendemen ekstrak	5,3%

Perhitungan Rendemen Simplisia Daun Kapas

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{Berat serbuk simplisia kering}}{\text{Berat daun kapas}} \times 100\% \\ &= \frac{250 \text{ g}}{1500 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 16,66\% \end{aligned}$$

Perhitungan Rendemen Ekstrak Etil Asetat Daun Kapas

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak kental yang diperoleh}}{\text{Berat serbuk simplisia kering}} \times 100\% \\ &= \frac{13,2508 \text{ g}}{250 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 5,3\% \end{aligned}$$

**Tabel 4.** Hasil Perhitungan Susut Pengerinan Ekstrak Daun Kapas

<b>Pemeriksaan</b>	<b>Pengamatan</b>
A. Berat krus (g)	36,2385 g
B. Berat krus + sampel sebelum dipanaskan (g)	38,2301 g
C. Berat krus + sampel setelah dipanaskan (g)	38,2296 g
% Susut pengerinan	4,34%

### Lampiran 9. (Lanjutan)

Perhitungan Susut Pengeringan Ekstrak daun kapas

$$\begin{aligned}\% \text{ Susut Pengeringan} &= \frac{(B-A)-(C-A)}{(B-A)} \times 100\% \\ &= \frac{(38,3201-36,2385)-(38,2296-36,2385)}{(38,3201-36,2385)} \times 100\% \\ &= \frac{2,0816-1,9911}{2,0816} \times 100\% \\ &= 4,34\%\end{aligned}$$

Keterangan: A = Berat krus kosong (g)

B = Berat krus + sampel sebelum dipanaskan (g)

C = Berat krus + sampel setelah dipanaskan (g)

**Tabel 5.** Hasil Perhitungan Kadar Abu Ekstrak Daun Kapas

Pemeriksaan	Pengamatan
A. Berat krus kosong (g)	40,7377 g
B. Berat krus + sampel sebelum dipanaskan (g)	43,4289 g
C. Berat krus + sampel setelah dipanaskan (g)	40,7764 g
% Kadar abu	1,43%

Perhitungan Kadar Abu Ekstrak Daun Kapas

$$\begin{aligned}\% \text{ Kadar Abu} &= \frac{(C-A)}{(B-A)} \times 100\% \\ &= \frac{(40,7764-40,7377)}{(43,4289-40,7377)} \times 100\% \\ &= \frac{0,0387}{2,6912} \times 100\% \\ &= 1,43\%\end{aligned}$$

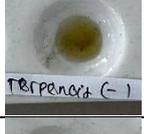
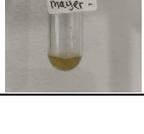
Keterangan: A = Berat krus kosong (g)

B = Berat krus + sampel sebelum dipanaskan (g)

C = Berat krus + sampel setelah dipanaskan (g)

**Lampiran 10. Pemeriksaan Kandungan Kimia Ekstrak Etil Asetat Daun  
Kapas (*Gossypium hirsutum* L.)**

**Tabel 6.** Pemeriksaan Kandungan Kimia Ekstrak Daun Kapas

<b>Kandungan Kimia</b>	<b>Pereaksi</b>	<b>Hasil Positif</b>	<b>Hasil Pengamatan</b>	<b>Bukti Pengamatan</b>
Flavonoid	Serbuk Mg, HCl pekat	Warna jingga	(-)	
Fenolik	FeCl <sub>3</sub>	Warna hijau, merah, biru atau hitam	(+)	
Saponin	Aquades	Busa stabil	(-)	
Terpenoid	Asam asetat anhidrat, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> pekat	Warna merah	(-)	
Steroid	Asam asetat anhidrat, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> pekat	Warna biru kehijauan atau ungu	(+)	
Alkaloid	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 2N, Pereaksi Mayer	Endapan putih	(-)	

Keterangan: + = mengandung fitokimia  
- = tidak mengandung fitokimia

**Lampiran 11. Pengujian Aktivitas Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus***

**Tabel 7.** Pengujian Aktivitas Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus*

No	Konsentrasi larutan uji	Diameter daya hambat (mm)				
		D1	D2	D3	Rata-rata	± SD
1.	80%	21,2	22,2	22,5	21,96	0,38
2.	60%	18,7	19	20,1	19,26	0,73
3.	40%	19,1	18,2	19,3	18,86	0,58
4.	20%	17,4	18,1	18,6	18,03	0,60
5.	Kontrol Positif	69,3	69,3	69,3	69,3	0
6.	Kontrol Negatif	-	-	-	-	-

Keterangan: D1 = diameter daya hambat pada pengulangan pertama  
D2 = diameter daya hambat pada pengulangan kedua  
D3 = diameter daya hambat pada pengulangan ketiga

Perhitungan diameter daya hambat

Pengulangan pertama

Konsentrasi 20%

$$\begin{aligned}
 D1 &= \frac{\text{Diameter horizontal} + \text{Diameter Vertikal} + \text{Diameter miring kiri} + \text{Diameter miring kanan}}{4} \\
 &= \frac{17,3 + 17,4 + 17,8 + 17,0}{4} \\
 &= \frac{69,5}{4} \\
 &= 17,4 \text{ mm}
 \end{aligned}$$

Perhitungan rata - rata daya hambat

konsentrasi 20%

$$\begin{aligned}
 &= \frac{D1+D2+D3}{3} \\
 &= \frac{17,4+18,1+18,6}{3} \\
 &= \frac{54,1}{3} \\
 &= 18,03
 \end{aligned}$$

Perhitungan Standar Deviasi (SD)

$$x_1 = 17,4 \text{ mm}$$

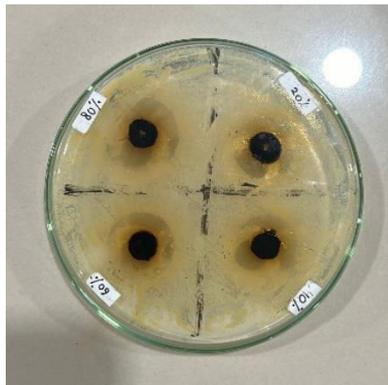
$$x_2 = 18,1 \text{ mm}$$

### Lampiran 11. (Lanjutan)

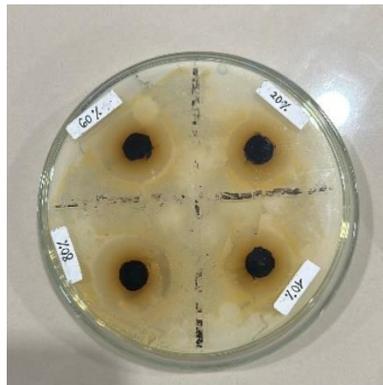
$$x_3 = 18,6 \text{ mm}$$

$$\bar{x} = 18,03 \text{ mm}$$

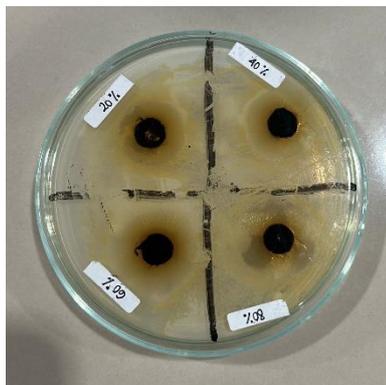
$$\begin{aligned} SD &= \sqrt{\frac{\sum(x - \bar{x})^2}{n-1}} \\ &= \sqrt{\frac{(x_1 - \bar{x})^2 + (x_2 - \bar{x})^2 + (x_3 - \bar{x})^2}{n-1}} \\ &= \sqrt{\frac{(17,4 - 18,03)^2 + (18,1 - 18,03)^2 + (18,6 - 18,03)^2}{3-1}} \\ &= \sqrt{\frac{0,3966 + 0,0049 + 0,3249}{2}} \\ &= \sqrt{0,36335} \\ &= 0,60 \end{aligned}$$



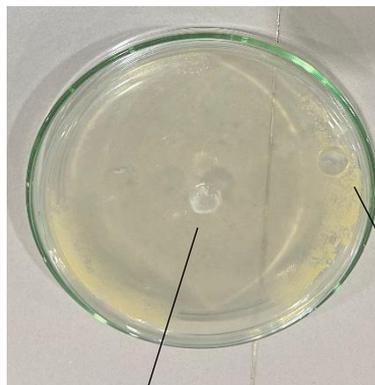
(Pengulangan 1)



(pengulangan 2)



(pengulangan 3)



(kontrol + Amoxicillin)

Kontrol - (DMSO)

**Gambar 15.** Foto Pengujian Aktivitas Antibakteri Menggunakan Metode Sumuran Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

## Lampiran 12. Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

**Tabel 8.** Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Terhadap Bakteri  
*Staphylococcus aureus*

Konsentrasi larutan uji	OD1	OD2	$\Delta$ OD
80%	0,987	0,222	- 0,765
60%	0,897	0,187	- 0,71
40%	0,609	0,163	- 0,446
20%	0,558	0,144	- 0,414
Kontrol Positif	0,144	0,054	- 0,09
Kontrol Negatif	0,128	0,233	0,105

Keterangan: OD1 = absorbansi sebelum diinkubasi

OD2 = absorbansi setelah diinkubasi

$\Delta$ OD = nilai absorbansi setelah diinkubasi dikurangi absorbansi sebelum diinkubasi

## Lampiran 13. Penentuan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)

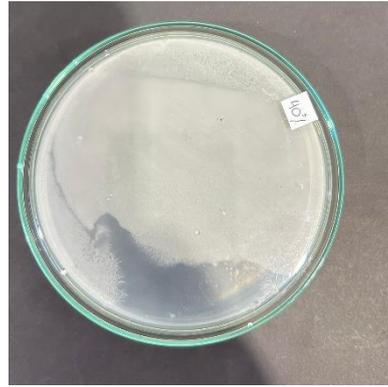
**Tabel 9.** Penentuan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) Terhadap Bakteri  
*Staphylococcus aureus*

No	Konsentrasi	Pertumbuhan Bakteri
1.	80%	ada koloni bakteri
2.	60%	ada koloni bakteri
3	40%	ada koloni bakteri
4	20%	ada koloni bakteri

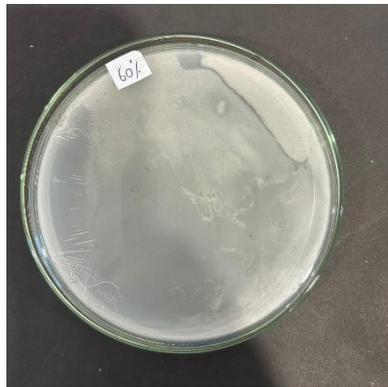
**Lampiran 13. (Lanjutan)**



20%



40%



60%



80%

**Gambar 16.** Foto Penentuan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) Ekstrak Etil Asetat Daun Kapas Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*