PERBANDINGAN METODE EKSTRAKSI SOKLETASI DAN UAE TERHADAP AKTIVITAS ANTIJAMUR *Candida albicans* PADA EKSTRAK BIJI COKLAT (*Theobroma cacao L.)*

SKRIPSI

Oleh:
Novi Purwaningtiyas
NIM 17040093

PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS dr. SOEBANDI
JEMBER
2023

PERBANDINGAN METODE EKSTRAKSI SOKLETASI DAN UAE TERHADAP AKTIVITAS ANTIJAMUR *Candida albicans* PADA EKSTRAK BIJI COKLAT (*Theobroma cacao L.)*

SKRIPSI

Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Ilmu Sarjana Kefarmasian (S.Farm.)

Oleh:
Novi Purwaningtiyas
NIM 17040093

PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS dr. SOEBANDI
JEMBER
2023

LEMBAR PERSETUJUAN

Hasil penelitian ini telah diperiksa oleh pembimbing dan telah disetujui untuk mengikuti seminar skripsi hasil pada Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi

Jember, 14 Agustus 2023

Pembimbing Utama,

apt. Lindawati Setyaningrum, M.Farm.
NIDN. 0703068903

Pembimbing Anggota,

apt. Dina Trianggaluh Fauziah, M.Farm.
NIDN. 0703028901

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul "Perbandingan Metode Ekstraksi Sokletasi Dan UAE Terhadap Aktivitas Antijamur *Candida albicans* Pada Ekstrak Biji Coklat (*Theobroma cacao L.*)" telah diuji dan disahkan oleh Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan pada:

Nama : Novi Purwaningtiyas

NIM : 17040093

Hari, Tanggal : 14 Agustus 2023

Program Studi : Program Studi Sarjana Farmasi

Universitas dr. Soebandi

Tim Penguji

Ketua Penguji,

apt. Sholihatil Hidayati, M.Farm.
NIDN. 0509088601

Penguji II,

apt. Lindawati Setyaningrum, M.Farm.
NIDN. 0703068903

Penguji III,

apt. Dina Trianggaluh Fauziah, M.Farm.
NIDN. 0703028901

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan
Universitas dr. Soebandi

apt. Lindawati Setyaningrum, M.Farm.
NIDN. 0703068903

PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI

Yang bertandatangan dibawah ini:

Nama : Novi Purwaningtiyas

NIM : 17040093

Program Studi : Sarjana Farmasi

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar hasil karya saya sendiri dan bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau hasil tulisan orang lain.

Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagaian atau keselruhan skripsi ini adalah karya orang lain atau ditemukan adanya pelanggaran terhadap etika keilmuan dalam skripsi, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut. Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Jember, 14 Agustus 2023

Yang menyatakan,

Novi Purwaningtiyas

SKRIPSI

PERBANDINGAN METODE EKSTRAKSI SOKLETASI DAN UAE TERHADAP AKTIVITAS ANTIJAMUR *Candida albicans* PADA EKSTRAK BIJI COKLAT (*Theobroma cacao L.)*

Oleh:
Novi Purwaningtiyas
NIM 17040093

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : apt. Lindawati Setyaningrum, M.Farm.

Dosen Pembimbing Anggota : apt. Dina Trianggaluh Fauziah, M.Farm.

PERSEMBAHAN

Bismillahirrahmanirrahim, segala puji dan syukur kehadirat Allah SWT yang selalu melimpahkan rezki dan kasih sayangnya, selalu ada disetiap kesulitan dan kemudahan yang semua itu sejatinya karena kehadiran-Nya. Skripsi ini dengan sepenuh hati saya persembahkan kepada:

1. Kedua orang tua saya yaitu Bpk. Poerhadi serta Ibu Sutatik yang telah sangat berjuang keras dalam bekerja, berdo'a dan memberikan semangat yang tak terhingga untuk putrinya yang keras kepala ini;
2. Adik saya Mu'ammar Kadhafi dan Ais Rahmawati yang selalu menjadi penghibur dan peramai dalam hidup saya, terima kasih sudah selalu menyemangati meskipun dalam diam;
3. Partner saya Sendi Oktavian Sari yang telah mendukung, membantu, menemani, mensupport dan memotivasi saya dalam menyusun skripsi ini hingga selesai. Terima kasih untuk semua yang sangat berarti untuk saya;
4. Ibu apt. Lindawati Setyaningrum M.Farm. selaku pembimbing I dan ibu apt. Dina Trianggaluh Fauziah M.Farm. selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan waktu, saran, kesabaran dan ilmunya untuk membimbing saya dalam menyelesaikan skripsi ini;
5. Seluruh dosen Laboran Fakultas Ilmu Kesehatan Prodi Sarjana Farmasi dan Prodi Teknologi Laboratorium Medis Universitas dr. Soebandi atas kerjasama, kesabaran dan ilmunya yang melimpah;
6. Tim antibakteri Nailiyatul Hikmiyah dan Ni Putu Dinda Prasasty Putri yang selalu mendukung, menemani dan mensupport satu sama lain dari awal

pembuatan proposal skripsi ini hingga akhir dari sidang skripsi ini. Kita hebat sudah sampai ditahap ini;

7. Semua teman-teman seperjuangan yang sama-sama berjuang keras dengan hebat hingga sampai pada titik ini dan ikut membantu dalam penyelesaian penyusunan skirpsi ini;
8. Serta seluruh pihak yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu yang juga ikut ambil dalam membantu dalam penyelesaian skripsi ini.

MOTTO

“Jalani kehidupan sesuai dengan derajatnya masing-masing, tidak memaksakan apa yang menjadi takdir telah ditentukan Allah SWT. Kita sudah punya jalan dan rencana Tuhan yang indah pada waktunya. Santai tetapi berplanning”

Novi Purwaningtiyas

“Allah tidak akan membebani seseorang melainkan sesuai dengan kadar kesanggupannya”

QS. Al-Baqarah: 286

“Sesungguhnya Allah bebas melaksanakan kehendak-Nya, Dia telah menjadikan untuk setiap sesuatu menurut takarannya.”

QS. At-Thalaq: 3

ABSTRAK

Purwaningtiyas, Novi* Setyaningrum, Lindawati** Trianggaluh Fauziah, Dina***. 2023. **Perbandingan Metode Ekstraksi Sokletasi Dan UAE Terhadap Aktivitas Antijamur *Candida albicans* Pada Ekstrak Biji Coklat (*Theobroma cacao L.*).** Skripsi. Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi.

Latar Belakang: Biji coklat merupakan salah satu tumbuhan di Indonesia yang biasanya dikonsumsi untuk dijadikan produk makanan maupun minuman. Biji coklat mengandung cukup tinggi senyawa yang aktif sebagai antioksidan, diantaranya adalah katekin 33-42 %, leukosianidin 23-25%, dan antosianin 5%. Tumbuhan coklat diketahui kaya akan kandungan senyawa bioaktif, terutama polifenol, dimana polifenol dapat berkhasiat sebagai antioksidan alami dan antimikroba. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan metode ekstraksi sokletasi dan UAE terhadap aktivitas antijamur *Candida albicans*.

Metode: Desain penelitian ini adalah eksperimental. Proses ekstraksi biji coklat menggunakan metode sokletasi dan UAE dengan pelarut metanol, kemudian dilakukan skrining fitokimia untuk mengetahui kandungan senyawa kimia yang terkandung didalamnya, lalu dilakukan uji antijamur terhadap *Candida albicans* dengan metode difusi sumuran dengan kosentrasi 50% dilakukan replikasi 3 kali.

Hasil penelitian: Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai rendemen metode sokletasi dan UAE sebesar 3,81±0,0022 dan 4,18±0,0012. Ekstrak metanol biji coklat dengan metode sokletasi sama-sama mengandung senyawa kimia alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan polifenol dengan metode UAE. Hasil uji antijamur dengan menggunakan metode sokletasi dan UAE dengan kosentrasi 50% menghasilkan zona hambat 5.44 mm dan 6.60 mm.

Kesimpulan: Berdasarkan hasil uji antijamur dapat disimpulkan bahwa metode ekstraksi tidak mempengaruhi kandungan senyawa kimia tetapi mempengaruhi aktivitas antijamur *Candida albicans* yang ditunjukkan dengan adanya diameter zona hambat. Dimana nilai hasil diameter zona hambat antara metode sokletasi dan metode uae tidak memperlihatkan adanya perbedaan nyata secara signifikan.

Kata Kunci: Biji coklat, Sokletasi, UAE, *Candida albicans*

* Peneliti
** Pembimbing 1
*** Pembimbing 2

ABSTRACT

Purwaningtiyas, Novi Setyaningrum, Lindawati** Trianggaluh Fauziah, Dina***. 2023.* ***Comparison Of Soxhletation Extraction Methods And UAE On Antifungal Activities Candida albicans On Cocoa Bean Extract (Theobroma Cacao L.).*** *Thesis. University of Pharmacy Undergraduate Study Program, dr. Soebandi.*

Background: *Chocolate beans (Theobroma cacao L.) is the main part of the chocolate fruit and can be consumed after it becomes a food or beverage product. Cocoa beans contain quite high levels of active antioxidant compounds, some of which are 33-42% catechins, 23-25% leukocyanidins, and 5% anthocyanins. One of the bioactive compounds that are efficacious as natural antioxidants and antimicrobials is polyphenols. This study aims to determine the comparison of soxhletation and UAE extraction methods on antifungal activity Candida albicans on cocoa bean extract.*

Method: *The research design is an experimental laboratory. Processed using the soxhletation and UAE extraction methods with methanol as a solvent, then a phytochemical screening was carried out to determine the chemical compound content in cocoa beans and an antifungal test was carried out on Candida albicans by hole cup diffusion method with a concentration of 50%.*

Research result: *The results showed that the yield values of the soxhletation and UAE method were 3.81 ± 0.0022 and 4.18 ± 0.0012. Methanol extract of cocoa beans by soxhletation method and UAE contains chemical compounds of alkaloids, flavonoids, saponins, tannins and polyphenols. The results of the antifungal test by the soxhletation and UAE methods with a concentration of 50% produced an average inhibition zone diameter of 5.44 ± 0.5652 mm and 6.60 ± 0.6372 mm.*

Conclusion: *Based on the results of the antifungal It can be concluded that the extraction method does not affect the content of chemical compounds in cocoa beans and has an effect on antifungal activityCandida albicans which was indicated by the diameter of the inhibition zone but did not show a significant difference.*

Keywords: Chocolate Beans, Soxhletation, UAE, *Candida albicans*

** Researcher*
*** Advisor 1*
**** Advisor 2*

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah segala puji dan syukur bagi Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat serta hidayah-Nya sehingga penyusunan Skripsi ini dapat terselesaikan. Skripsi disusun untuk memenuhi persyaratan memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Program Studi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi dengan judul "Perbandingan Metode Ekstraksi Sokletasi Dan UAE Terhadap Aktivitas Antijamur *Candida albicans* Pada Ekstrak Biji Coklat (*Theobroma cacao L.*)".

Selama proses penyusunan penulisan dibantu dan dibimbing oleh berbagai pihak, oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Andi Eka Pranata, S.ST, S.Kep., Ns. M.Kes. selaku Rektor Universitas dr. Soebandi Jember
2. apt. Lindawati Setyaningrum, M.Farm Selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi Jember
3. apt. Dhina Ayu, S.Farm. M.Kes. selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi Jember
4. apt. Lindawati Setyaningrum, M.Farm. selaku Dosen Pembimbing Utama
5. apt. Dina Trianggaluh Fauziah, M.Farm. selaku Dosen Pembimbing Anggota
6. apt. Sholihatil Hidayati, M.Farm. selaku Ketua Penguji

Penulis tentu menyadari bahwa Skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Penulis mengharapkan kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan dalam Skripsi ini.

Semoga Skripsi ini dapat bermanfaat. Akhir kata penulis mengucapkan terima kasih.

Jember, 14 Agustus 2023

(Novi Purwaningtiyas)

DAFTAR ISI

LEMBAR PERSETUJUAN ..... **iii**
HALAMAN PENGESAHAN ..... **iv**
PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI ..... **v**
PERSEMBAHAN ..... **vii**
MOTTO ..... **ix**
ABSTRAK ..... **x**
KATA PENGANTAR ..... **xii**
DAFTAR ISI ..... **xiii**
DAFTAR TABEL ..... **xv**
DAFTAR GAMBAR ..... **xvi**
DAFTAR SINGKATAN ..... **xvii**
BAB 1 PENDAHULUAN **1**
1.1 Latar Belakang 1
1.2 Rumusan Masalah 5
1.3 Tujuan Penelitian 6
1.3.1 Tujuan Umum 6
1.3.2 Tujuan Khusus 6
1.4 Manfaat Penelitian 6
1.4.1 Manfaat Bagi Peneliti 6
1.4.2 Manfaat Bagi Masyarakat 6
1.4.3 Manfaat Bagi Institusi Pendidikan 7
1.5 Keaslian Penelitian 7
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA **9**
2.1 Tanaman Coklat *(Theobroma cacao L.*) 9
2.1.1 Klasifikasi Tanaman Coklat 9
2.1.2 Morfologi Tanaman 11
2.1.3 Kandungan Biji Coklat 18
2.1.4 Manfaat Biji Coklat 19
2.2 Skrining Fitokimia 20
1.2.1 Metabolit Sekunder 21
1.3 Ekstraksi 24
1.3.1 Metode Ekstraksi 25
1.3.2 Rendemen 30
1.4 *Candida albicans* ..... **Error! Bookmark not defined.**
1.4.1 Klasifikasi *Candida albicans* 30
1.4.2 Morfologi *Candida albicans* 31
1.4.3 Patogenesis dan Patologi *Candida albicans* 32
1.4.4 *Candida albicans* Penyebab Sariawan 33
1.4.5 Pertumbuhan dan Reproduksi *Candida albicans* 34
1.5 Antijamur 35
1.5.1 Metode Pengujian Antivitas Antijamur 36
1.5.2 Senyawa Antijamur 38

BAB 3 KERANGKA KONSEP 41
3.1 Kerangka Konsep Penelitian 41
3.2 Hipotesis 42
BAB 4 METODE PENELITIAN 43
4.1 Desain Penelitian 43
4.2 Populasi dan Sampel 43
4.2.1 Populasi 43
4.2.2 Sampel 43
4.3 Variabel Penelitian 43
4.4 Tempat Penelitian 44
4.5 Waktu Penelitian 44
4.6 Definisi Operasional 45
4.7 Teknik Pengumpulan Data 45
4.7.1 Determinasi Tanaman 46
4.7.2 Pembuatan Serbuk Simplisia Keping Biji Coklat 46
4.7.3 Pembuatan Ekstrak 46
4.7.4 Pengenceran Ekstrak Biji Coklat 47
4.7.5 Kontrol Positif dan Kontrol Negatif 47
4.7.6 Skrining Fitokimia 48
4.7.7 Sterilisasi Alat dan Bahan 49
4.7.8 Persiapan Media Tumbuh PDA (*Potato Dextrose Agar*) 49
4.7.9 Preparasi dan Uji Aktivitas Antijamur 49
4.8 Teknik Analisa Data 51
4.8.1 Pengumpulan Data 51
4.8.2 Analisa Data 51
BAB 5 HASIL PENELITIAN 53
5.1 Determinasi Tanaman 53
5.2 Ekstraksi Sokletasi dan UAE 53
5.3 Skrining Fitokimia 53
5.4 Uji Antijamur 55
5.5 Analisa Data 57
BAB 6 PEMBAHASAN 59
6.1 Ekstraksi Sokletasi dan UAE 59
6.2 Skrining Fitokimia 60
6.3 Uji Antijamur 62
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN 68
7.1 Kesimpulan 68
7.2 Saran 68
DAFTAR PUSTAKA 68
LAMPIRAN 79

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Klasifikasi Diameter Zona Hambat..... 38
Tabel 4.1 Definisi Operasional 45
Tabel 5.1 Hasil Ekstraksi Biji Coklat..... 53
Tabel 5.2 Hasil Skrining Fitokimia Biji Coklat 54
Tabel 5.3 Hasil Pengukuran Zona Hambat 56
Tabel 5.4 Hasil Uji Normalitas 57
Tabel 5.5 Hasil Uji Homogenitas..... 57
Tabel 5.6 Hasil Uji One-Way ANOVA 58
Tabel 5.7 Hasil Uji Post-Hoc Duncan..... 58

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Jenis-jenirs Buah Coklat 11
Gambar 2.2 Tanaman Coklat 11
Gambar 2.3 Akar Coklat 12
Gambar 2.4 Batang Coklat 14
Gambar 2.5 Daun Coklat 15
Gambar 2.6 Bunga Coklat 16
Gambar 2.7 Buah Coklat 17
Gambar 2.8 Biji Coklat 18
Gambar 2.9 Candida albicans 31
Gambar 2.10 Morfologi Candida albicans 32
Gambar 3.1 Kerangka Konsep 41
Gambar 5.1 Skrining Fitokimia 56
Gambar 5.2 Larutan *Mc Farland* dan Suspensi Jamur *Candida albicans* 56

DAFTAR SINGKATAN

ANOVA	: *Analysis of Varian*
DNA	: Deoxyribo Nucleic Acid
DPPH	: *1,1-Diphenyl-2-Picryl Hidrazil*
KBM	: Kadar Bakterisidal Minimum
KHM	: Kadar Hambat Minimum
PDA	: *Potato Dextrose Agar*
pH	: Power of H
RH	: *Relative Humidity*
ROS	: *Reactive Oxygen Species*
SDA	: *Sabaround Glukosa Agar*
SPSS	: *Statistic Product and Servive Solutions*
UAE	: *Ultrasound Assisted Extraction*
UV	: Ultraviolet

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia sebagai negara tropis mempunyai lahan subur tumbuhnya jamur. Hal ini tidak mengherankan Indonesia memiliki suhu dan kelembapan yang tinggi. Inilah sebabnya mengapa penyakit yang disebabkan oleh jamur sering menyerang manusia. *Candida* adalah jamur yang paling sering menyebabkan infeksi. Pada iklim tropis, biasanya infeksi *Candida* bersifat superfisial pada kulit, saluran pencernaan, rongga mulut serta vagina. Beberapa studi epidemiologi yang melakukan di Hong Kong menunjukkan bahwa *Candida albicans* merupakan spesies yang paling banyak teridentifikasi dengan rata-rata 56% kasus kandidiasis. *Candida albicans* sebagai spesies dominan bervariasi dari 37% di Amerika Latin hingga 70% di Norwegia (Puspitasari *et al*, 2019).

Pertumbuhan *Candida albicans* dapat tumbuh dimulut yang menyebabkan penyakit sariawan. Sariawan merupakan kondisi penyakit mulut yang umum. Berbagai kalangan balita, remaja, orang tua hingga lansia tentunya pernah mengalami penyakit ini. Hal ini sendiri menyebabkan penderitanya bisa mengalamai kehilangan nafsu makan dan sakit pada mulut (Sandy *and* Irawan, 2018). Prevalensi terjadinya sariawan dirongga mulut diperkirakan mencapai lebih dari 25% populasi dunia (Adi *et al,* 2019). kasus sariawan yaitu sebanyak >75% merupakan sariawan minor. Sariawan minor mempunyai diameter kurang dari 1 cm, biasanya tidak begitu nyeri atau sakit serta akan pulih dengan sendirinya dalam kurun waktu 1 sampai 2 minggu. Sariawan mayor yaitu bentuk sariawan lebih berat

yang memiliki diameter luka diatas 1-3cm, disertai rasa nyeri atau sakit yang lebih kuat dan berlangsung beberapa minggu sampai bulan (Kurniawati *and* Swasti, 2016).

Pemberian obat antifungi seperti amphotericin B, echinocandin, ketokonazol, griseofulvin, azole, nistatin dan flucytosine. Dimana penggunaan obat antifungi ini dapat memiliki efek samping lebih besar, oleh karena itu perlu diperhatikan penggunaan obatnya dari segi keamanan obat yang digunakan (Candrasari, 2014). Berdasarkan penelitian Sandy *and* Irawan (2018) menyatakan sariawan bisa sembuh tanpa kita harus merasakan efek sampingnya. Meskipun proses penyembuhan relatif lebih lama, namun cara alami merupakan cara yang paling aman untuk digunakan (Sandy *and* Irawan, 2018). Sebab itu perlu pengobatan alternatif seperti obat dari bahan alam. Zaman sekarang pengobatan menggunakan bahan alam memiliki pengaruh besar dalam pengobatan Indonesia. Hal tersebut, didukung dengan keaneragaman tanaman di Indonesia.

Indonesia merupakan salah satu negara produsen dan eksportir kakao terbesar di dunia. Pada tahun 2020, Indonesia menempati peringkat ke tiga di dunia dalam ekspor kakao setelah Pantai Gading dan Ghana. Setiap tahunnya Indonesia berkontribusi pada pedagangan kakao sebesar 10%. Menurut Darwis *et* al (1999) dalam Ananta *et* al (2021), buah kakao sendiri terdiri dari 75% kulit buah, 22% kulit biji dan 3% plasenta (Ananta *et al*, 2021). Sedangkan untuk lahan tumbuhan kakao di Indonesia seluas ±992,448 Ha dengan produktivitas rata-rata 900Kg/Ha. Salah satu potensial perkebunan yang berkembang di wilayah Kabupaten Jember adalah perkebunan kakao dari total luas area 4.641 hektar yang dikelola perusahaan

perkebunan seperti PTPN XII yang mengelola 4 kebun dengan luas 3.914 hektar, 3 kebun seluas 216 hektar dikelolah PDP dan 5 kebun dikelola pihak swasta dengan luas area 511 Ha. (Arfitasari, 2015).

Biji buah coklat memiliki kandungan senyawa aktif cukup tinggi khususnya antioksidan, antara lain katekin 33 sampai 42 %, leukosianidin 23 higga 25%, serta antosianin 5%. Sedangkan pada bubuk biji kakao bebas lemak mengandung 5-18% senyawa polifenol seperti katekin dan antosianin. Tumbuhan coklat memiliki banyak kandungan senyawa bioaktif terutama polifenol yang dapat bermanfaat sebagai antioksidan alami serta antimikroba (Laboko *and* Nurhasafah, 2020). Menurut Attahmid (2021) ekstrak biji coklat mengandung senyawa polifenol dan antioksidan flavonoid yang tinggi. Senyawa polifenol pada biji kakao antara lain flavonoid, katekin, procyanidin, antosianin dan tanin kompleks. Senyawa flavonoid dalam biji kakao memiliki aktivitas antibakteri, antioksidan, antiinflamasi dan antikanker. Flavonoid menghambat aktivitas DNA gyrase bakteri dengan cara merusak membran sitoplasma bakteri serta merusak dinding sel bakteri. Flavonoid adalah senyawa polar yang larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol dan air (Diyantika *et al*, 2017). Menurut Jawetz (2007) dalam Angelina (2012), ada sekitar 8.000 senyawa polifenol di alam, dan setengahnya adalah flavonoid. Ekstrak biji coklat terdapat sekitar 4,08% didalamnya serta memiliki banyak fungsi diantaranya antioksidan, antiinflamasi, dapat menyebabkan denaturasi protein dan bertindak sebagai antivirus ataupun antibakteri dan anti jamur.

Dalam isolasi aktif pada tanaman biasanya menggunakan metode ekstraksi pelarut melalui pemisahan komponen kimia campur dengan larutan penyaring atau

pelarut. Akan tetapi sebelum itu, faktor yang harus diperhatikan sebelum dilakukan isolasi yaitu sifat dari senyawa target yang ada dalam ekstrak awal. Menurut Sarker *et al,* (2006) dalam Mukhriani (2014), molekul memiliki sifat umum yang dapat memudahkan proses isolasi yaitu kelarutan (hidrolitik atau hidrofobik), sifat asam basa, muatan, stabilitas dan ukuran molekul. Sifat ekstrak juga membantu dalam memilih metode isolasi yang tepat (Mukhariani, 2014). Ekstraksi bertujuan agar dapat menarik komponen bahan kimia atau bahan aktif dalam sampel. Ekstraksi merupakan langkah awal menuju proses isolasi metabolit sekunder tanaman setelah proses sampel. Ekstraksi dapat dibagi menjadi ekstraksi dingin (maserasi, perkolasi, UAE) dan ekstraksi panas (sokletasi, refluks, digesti, dekokta, infusa) (Hikmawanti *et al,* 2021).

Berdasarkan dari beberapa metode ekstraksi, peneliti memilih metode ekstraksi UAE serta metode ekstraksi sokletasi. Pemilihan metode ekstraksi sokletasi dan UAE (*Ultrasound Assisted Extraction*) karena memiliki banyak keunggulan dibandingkan metode ekstraksi yang lain. Keuntungan utama dari metode ekstraksi panas (sokletasi) adalah proses ekstraksi berlangsung secara *continue* dan sampel terekstraksi dengan pelarut murni karena adanya proses kondensasi, sehingga rendemen lebih tinggi dibandingankan dengan metode perendaman (Mukhariani, 2014). Sedangkan untuk metode ekstraksi UAE (*Ultrasound Assisted Extraction*) adalah teknik yang menggunakan gelombang ultrasonik dengan frekuensi tinggi 20 kHz. Dari hasil penelitian Susanti *et al,* (2020) menunjukkan bahwa teknik ini dapat diterapkan dalam proses ekstraksi senyawa fitokimia seperti alkaloid, flavonoid, fenol, tanin dan saponin (Susanti *et al,* 2020). Metode UAE dapat menghilangkan

ekstrak dari matriks tanpa ada struktur ekstrak yang rusak. Penggunan metode ini pada suhu rendah dapat mengurangi kehilangan panas serta mencegah hilangnya senyawa dengan titik didih rendah (Handaratri and Yuniati, 2019).

Berdasarkan latar belakang serta penelitian sebelumnya terhadap ekstrak biji coklat, perlu dilakukan pengujian yang lebih lanjut untuk mendapatkan aktivitas antibakteri ekstrak yang terbaik dengan menggunakan metode ekstraksi yang berbeda, yaitu dengan menggunakan metode ekstraksi panas (sokletasi) dan menggunakan ekstraksi dingin (UAE) yang sama-sama menggunakan pelarut metanol. Maka, dari uraian diatas mendorong peneliti untuk melakukan ekstraksi yang berbeda antara ekstraksi panas dan dingin dengan bertujuan untuk mengetahui perbedaan ekstraksi manakah yang dapat mengekstrak senyawa metabolit yang baik agar berfungsi sebagai antijamur dengan melihat zona hambat aktivitas antijamur *Candida albicans* dan pengujian aktivitas antijamur dengan menggunakan metode difusi sumuran.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah yang dirumuskan adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana perbedaan kandungan senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak metanol biji coklat (*Theobroma cacao L.*) yang diekstraksi menggunakan metode sokletasi dan UAE (*Ultrasonic assisted extraction*)?
2. Bagaimana perbedaan aktivitas antijamur ekstrak metanol biji coklat (*Theobroma caco L.*) yang diekstraksi dengan metode sokletasi dan UAE (*Ultrasonic Assisted Extraction*) terhadap jamur *Candida albicans*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini dilakukan untuk menganalisis aktivitas antijamur ekstrak metanol biji coklat (*Theobroma cacao L.*) yang diekstraksi menggunakan metode sokletasi dan UAE (*Ultrasonic Assisted Extraction*) terhadap jamur *Candida albicans.*

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengidentifikasi perbedaan kandungan senyawa kimia dalam ekstrak metanol biji coklat (*Theobroma cacao L.*) yang diekstrakasi menggunakan metode sokletasi dan UAE (*Ultrasonic Assisted Extraction*).
2. Menganalisis perbedaan aktivitas antijamur ekstrak metanol biji coklat (*Theobroma cacao L.*) yang diekstraksi dengan metode sokletasi dan UAE (*Ultrasonic Assisted Extraction*) dengan melihat diameter zona hambat terhadap jamur *Candida albicans.*

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan beberapa manfaat. Adapun manfaat penelitian ini adalah sebagai berikut:

1.4.1 Manfaat Bagi Peneliti

Diharapkan penelitian ini dapat menjadi referensi penelitian selanjutnya dalam pencarian obat antijamur baru dari bahan alami serta sebagai sumber informasi yang dapat dijadikan bahan pertimbangan dalam penelitian tentang aktivitas antijamur.

1.4.2 Manfaat Bagi Masyarakat

Penelitian ini diharapkan memberikan pengetahuan baru bagi masyarakat dalam bidang kesehatan dan pengetahuan alam tentang potensi antijmur ektrak metanol keping biji coklat (*Theobroma cacao L*.).

1.4.3 Manfaat Bagi Institusi Pendidikan

Diharapkan penelitian ini dapat memberikan konstribusi bertambahnya pengetahuan khususnya dibidang farmasi mengenai antijamur, sekaligus menjadi bahan bacaan di perpustakaan dan bahan referensi bagi mahasiswa lainnya.

1.5 Keaslian Penelitian

Dalam tinjauan pustaka dibahas beberapa hasil penelitian terdahulu untuk melihat originalitas, kejelasan arah serta manfaat penelitian ini dibandingkan dengan hasil penelitian terdahulu, khususnya sebagai berikut:

Tabel 1.1 Keaslian Penelitian

Peneliti	Judul Jurnal	Persamaan	Perbedaan
(Kevin and Kadiwijati, 2018)	Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Ekstrak Metanol Biji Kakao *(Theobroma cacao)* Terhadap Aktivitas Antibakteri Pada Bacteri *Propionibacterium acnes* Dan *Staphylococcus epidermidis* Secara In Vitro	1. Menggunakan biji coklat 2. Menggunakan pelarut metanol 3. Menggunakan *Candida albicans*	1. Menggunakan metode sumuran 2. Ekstraksi sokletasi dan UAE *(Ultrasound Assisted Extraction)*
(Pohan, Kakerissa and Arodes, 2020)	Uji Efektivitas Biji Kakao (*Theobroma cacao L.*) Sebagai Antibakteri Dalam Berbagai Konsentrasi pada *Streptococcus Pyogenes*	1. Menggunakan biji coklat	1. Menggunakan pelarut metanol 2. Ekstraksi menggunakan sokletasi dan UAE 3. Menggunakan metode sumuran
(Angelina, 2012)	Pengaruh Biji Kakao Sebagai Pembersih	1. Menggunakan biji coklat	1. Menggunakan pelarut metanol

	Gigi Tiruan Akrilik Terhadap Jumlah Koloni *Candida albicans*	2. Menggunakan antijamur *Candida albicans*	2. Menggunakan ekstraksi soxhletasi dan UAE *(Ultrasound Assisted Extraction)*
(Ruggirello *et al*, 2019)	Antifungal Activity Of Yeasts And Lactic Acid Bacteria Isolated From Cocoa Bean Fermentations	1. Menggunakan biji coklat 2. Menggunakan metode sumuran	1. Ekstraksi soxhletasi dan UAE *(Ultrasound Assisted Extraction)* 2. Menggunakan antijamur *Candida albicans*

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Coklat *(Theobroma cacao L.)*

2.1.1 Klasifikasi Tanaman Coklat

Menurut Zhafirah (2020) Klasifikasi tanaman coklat adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Divisio : Spermatophyta

Sub Divisio : Magnoliophyta

Class : Magnoliopsida (Dicotyledoneae)

Ordo : Malvales

Family : Sterculiaceae

Genus : Theobroma

Spesies : *Theobroma cacao L.*

Kakao adalah sejenis tanaman yang ditanam di pertanian. Secara garis besar tanaman ini mempunyai tiga macam yaitu Forastero, Criollo dan Trinitario yang merupakan hasil persilangan Forastero dengan Criollo. Varietas kakao campuran merupakan varietas kakao Tritario yang mempunyai kapasitas produksi lebih tinggi dibandingkan varietas Crillo dan Forastero (Zhafirah, 2020). Menurut Ali (2019) ciri-ciri dari setiap tanaman coklat tersebut sebagai berikut:

1) Criollo

Varietas criollo adalah varietas kakao berkualitas tinggi (kakao halus: choiced, edel cocoa) dan tumbuh lebih dari 400m diatas permukaan laut (dpl) dan memiliki ciri buah kecil dengan warna merah serta kulit menonjol, biji tidak memiliki warna, kualitas tinggi serta aroma dan rasa yang khas (Ali, 2019).

2) Forestero

Varietas Forestero berkualitas rendah (kakao lindak: bulk cacao) yang tumbuh kurang dari 400m di atas permukaan laut, ciri-ciri buah kuning dan ungu, kulit buah sebagian besar rata dan halus. Biji ungu dan besar, cepat berbuah, bau dan rasa kurag menyengat dibanding Criollo. Hibrida dari Forestero dan Criollo dikenal dengan nama Trinitario, buahnya agak bulat dan ada juga yang cukup panjang dan berwarna hijau atau merah (Ali, 2019).

3) Trinitario

Menurut Nasution, dkk (1985), kualitas biji kakao trinitario sedikit bermutu daripada biji kakao Criollo. Iklim juga faktor yang menentukan pertumbuhan serta produksi tumbuhan kakao. Faktor iklim meliputi suhu, curah hujan, kelembapan (RH). Tanaman kakao dibudidaya oleh petani untuk diambil bijinya, sehingga upaya telah dilakukan untuk meningkatkan hasil dan kualitas pengolahan bijinya (Ali, 2019).

Gambar 2.1 Jenis-jenirs Buah Coklat
Sumber: (Sanny, 2022)

2.1.2 Morfologi Tanaman

Kakao merupakan tanaman dengan nama latin *Theobroma cacao L*. Tanaman ini berasal dari hutan hujan tropis Amerika Selatan dan saat ini banyak ditemukan di berbagai wilayah tropis (Farhanandi dan Indah, 2022). Kakao *(Theobroma cacao L.)* menurut Estrita (2009) dalam Syahputra (2021), juga merupakan benih yang cocok bagi petani kecil karena pembungaan dan produksi buahnya sepanjang tahun, sehingga dapat menjadi sumber pendapatan harian atau mingguan bagi petani. Di wilayah setempat, kakao merupakan tanaman kecil di hutan hujan tropis yang tumbuh di bawah naungan pohon-pohon besar (Syahputra, 2021).

Gambar 2.2 Tanaman Coklat
Sumber: (Syahputra, 2021)

1) Akar (*radix*)

Tanaman kakao mempunyai akar tunggang. Rata rata ketinggiannya bisa mencapai 8 meter dan 15 meter ke arah dasar. Kakao yang berkembangbiak secara vegetatif mempunyai banyak akar serabut, bukan akar primer. Bila dilihat, pohon itu membentuk dua akar tunggang. Pada umur 1 empat belas hari perkecambahan, sekarang sudah terdapat akar yang memanjang (radix sejajar), disinilah helaian rambut (fibril) terisi secara masal. Pada ujung akar terdapat bulu-bulu akar yang dilindungi oleh tudung akar (kaliptra). Garam dan larutan tanah diserap oleh bulu-bulu akar ini. Lebar rambut akar hanya 10 mikron, dan panjang paling ekstrim hanya 1mm (Burhanudin, 2021).

Gambar 2.3 Akar Coklat
Sumber: (Burhanudin, 2021)

2) Batang (*caulis*)

Ketinggian pohon kakao bisa mencapai 4 hingga 10 meter dari dasar wadah penyimpanan hingga ke permukaan tanah, atau setidaknya dapat tumbuh ke atas, artinya batang utama tumbuh 1-2 m tanpa cabang. Batang utama ini disebut batang ortotropik, cabang yang tumbuh menyamping disebut plagiotropik. Tanaman kakao bersifat dimorfik, atau setidaknya memiliki dua jenis tunas vegetatif. Tunas yang tumbuh ke atas disebut tunas ortotrofik atau tunas air (wiwilan atau chupon),

sedangkan tunas yang tumbuh menyamping disebut tunas plagiotrofik (cabang kipas atau kipas) (Burhanudin, 2021).

Pohon kakao dan biji kakao berhenti berkembang ketika mencapai ketinggian 0,9 hingga 1,5 m dan membentuk jorket. Jorket merupakan titik temu dari desain kipas ortotropik hingga plagiotropik dan merupakan ciri khas pohon kakao. Susunan jorket dihilangkan sebelum akhir pertumbuhan tunas ortotropik karena bagiannya tidak meregang. Pada ujung pucuk, bintik-bintik (seperti kuncup bunga) dan kuncup ketiak yang tak ada habisnya tidak terbentuk. Kemudian pada titik tersebut berkembang 3 sampai 6 cabang, arah perkembangannya digeser ke samping membingkai titik 0 sampai 60^{o}C pada tajuk tingkat. Cabang-cabang ini disebut cabang esensial (cabang plagiotropik). Cabang-cabangnya sejajar (kipas) sehingga pohon membingkai keteduhan yang kaya. Tunas air (chupon) tumbuh dari batang panjang pohon kakao dewasa. Namun dengan strategi penanaman yang tepat, pada pohon kakao liar tunas air ini akan membentuk batang paku baru sehingga tanaman mempunyai batang yang berlapis. Tunas plagiotrop umumnya dibuat dari tunas plagiotrop, namun terkadang juga dibuat dari tunas ortotrop besar yang merangsang perkembangan tunas ortotrop. Tunas ortotrofik menyusun tunas ortotrofik baru dengan mengembangkan tunas air (Burhanudin, 2021).

Pohon kakao dapat membingkai jorket jika kompartemen penyimpanannya memiliki 60 hingga 70 bagian. Namun batasan tersebut masih belum pasti karena banyak faktor alam yang dapat mempengaruhi dan sulit untuk dikendalikan. Misalnya, kakao yang ditanam di kebun akan memiliki tunas yang lebih panjang dibandingkan kakao yang ditanam di polibag dengan intensitas cahaya 80%. Selain

itu, ukuran daunnya lebih kecil dan jarak antar daunnya sangat kecil. Media root adalah pendorong utama efek samping ini. Sedangkan pohon kakao ditanam pada kebun-kebun yang berdekatan dengan batang yang tinggi karena etiolasi (batang memanjang karena kurangnya konsumsi cahaya matahari) (Burhanudin, 2021).

Gambar 2.4 Batang Coklat
Sumber: (Puslit Kopi dan Kakao, 2023)

3) Daun (*folium*)

Menurut Nasamsir (2014) dalam Syahputra (2021) kakao mempunyai daun yang bersifat dimorfik, yaitu berkembang dengan dua pucuk ((ortotropik) dan plagiotropik)). Panjang daun pada batang ortotropik adalah 7,5 hingga 10 sentimeter, sedangkan panjang daun pada pucuk plagiotropik sekitar 2,5 sentimeter. Perkembangan daun pada cabang plagiotropik terjadi secara bersamaan, namun pada waktu yang bersamaan. Selama dedaunan merah (flush), setiap pucuk membentuk 3 hingga 6 daun baru secara bersamaan. Daun muda belum memiliki klorofil dan banyak mengandung pewarna antosianin. Klorofil baru mulai terbentuk pada saat daun mencapai normalnya dan berumur 3 sampai 4 minggu (Syahputra, 2021).

Gambar 2.5 Daun Coklat
Sumber: (Puslit Kopi dan Kakao, 2023)

4) Bunga (*flos*)

Bunga kakao merupakan bunga majemuk, yaitu bunga yang tumbuh dan berkembang dari ketiak daun pada batang dan dahan. Area di mana bunga berkembang menjadi massa yang lebih tebal dan lebih besar biasanya disebut sebagai bunga laurel mekar. bunga coklat dengan rangkaian putih, ungu, atau kemerahan. Mahkota bunga dan benang sari keduanya memiliki warna yang cerah. Warna bunga kakao merupakan hal yang normal pada setiap spesies. Daun mahkota berbentuk cawan dan kelopak bunga lanset yang menyusun batang bunga ini berasal dari bantalan bunga yang terletak pada batang. Benang sari yang tidak mengandung serbuk sari tersusun dua lingkaran mengelilingi bunga. Bunga coklat tergolong bunga indah, yaitu dalam satu mekar terdapat putik atau bunga jantan dan benang sari atau bunga betina. Bunga jantan lebih sedikit dibandingkan bunga hemafrodit (Ritonga, 2019).

Gambar 2.6 Bunga Coklat
Sumber: (Burhanudin, 2021)

5) Buah (*fructus*)

Daging buah kakao sangat lembut. Perubahan bentuk, ukuran dan variasi biji kakao merupakan salah satu ciri utama sekaligus mengenali perbedaan antar genotipe kakao. Buahnya dikategorikan menjadi empat kelompok berdasarkan bentuknya: Angoleta (buah lonjong), Cundeamar (buah elips), Amelonado, dan Calabacil (buah bulat). Lapisan luar produk alami halus, cukup halus, agak kasar terus-menerus dengan alur dangkal, sedang dan dalam, jumlah takiknya sekitar 10 dengan ketebalan berkisar antara 1 dan 2 cm tergantung jenis klonnya. Produk alami berukuran panjang 16,2 hingga 20,5 cm dan lebar 8 hingga 10,7 cm. Buah muda beraneka warna, antara lain merah jambu, merah keputihan, dan merah muda kecoklatan. Produk alami yang tersedia berwarna merah kekuningan, kuning kemerahan, kuning cerah, kuning agak kehijauan, dan oranye. Peneduh hasil alam dapat dimanfaatkan untuk membedakan koleksi kakao secara turun temurun (Martono, 2014).

Biji coklat dari varietas Criollo atau Trinitario biasanya memiliki rona merah, sedangkan biji coklat dari varietas Forastero, termasuk spesies Trinitario, biasanya

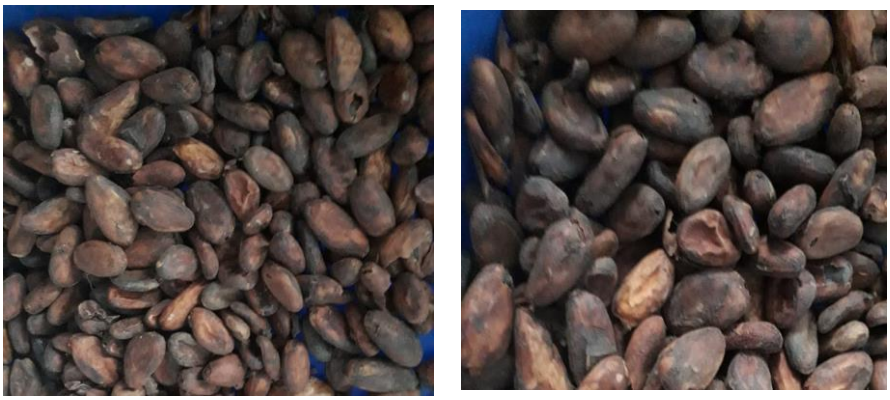
memiliki rona hijau. Kulit, plasenta, dan biji merupakan tiga bagian utama buah kakao. Bagian terbesar dari produk organik kakao adalah kulitnya (lebih dari 70% dari berat produk alami yang sudah jadi). Biji kakao pada produk organik mewakili 27 hingga 29%, dan sisanya merupakan plasenta yang mengikat sekitar 30-40 biji pada produk organik. Kulitnya (endocarpium) tebal, berdaging dan permukaannya keras seperti kayu kering dengan ketebalan 4-8 mm. Cherelle atau buah muda yang panjangnya kurang dari 10 sentimeter merupakan gejala khusus dari gugurnya tanaman kakao (cherelle layu) (Martono, 2014).

Gambar 2.7 Buah Coklat
(Sumber: Pusat Penelitian Kopi dan Kakao, 2023)

6) Biji (*semen*)

Kotiledon (87,10%), kulit (12%), dan tubuh (0,9%) merupakan tiga bagian utama biji kakao. Ada sekitar 20 hingga 60 biji untuk setiap produk alami, dan kandungan lemaknya 40 hingga 59%. Biji berukuran 2,5 x 1,5 cm berbentuk lonjong dan agak pipih. Biji kakao ditutupi dengan cairan tubuh berwarna putih (tumbuk). Lapisan ini disebut mash atau micilage. Tumbuk dapat menghambat perkecambahan, sehingga menghindari kerusakan pada benih harus dihilangkan.

Biji kakao tidak dapat disimpan dalam jangka waktu lama karena tidak mempunyai masa dormansi. Menyimpan benih pada suhu 4 hingga 15^{o}C dapat menyebabkan kerusakan benih dan perkecambahan. Suhu 17^{o}C merupakan suhu ideal untuk menyimpan benih. Menyimpan benih dalam satuan pada suhu 5 sampai 10^{o}C menyebabkan benih mati dalam waktu 2 hari atau kurang. Menurut Martono (2014), jika benih disimpan pada suhu antara 15 sampai 30^{o}C maka keawetan benih akan 100 %, dengan pengeringan terjadi antara 45 sampai 36,7% (Martono, 2014).



Gambar 2.8 Biji Coklat
(Sumber: Pusat Penelitian Kopi dan Kakao, 2023)

2.1.3 Kandungan Biji Coklat

Biji kakao mengandung 50-70% lemak (cocoa spread), dimana 34% bersifat korosif stearat (18:0), korosif oleat (18:1), 25% korosif palmitat (16:0) dan 2% korosif linoleat (18 : 0). Kakao merupakan pohon yang tumbuh setinggi 10 meter, namun tinggi pohon yang dibudidayakan dibatasi hingga 5 meter karena tajuknya yang lebar dan menyamping. Langkah ini diperlukan untuk pertumbuhan cabang yang efisien. Kakao merupakan tanaman milik bangsawan dan modern yang disebut

sebagai produk komoditas seperti halnya minyak dan gas, dengan potensi yang sangat besar selain cengkeh. Kasus kakao berkembang dari bunga yang diserbuki. Dibandingkan dengan buah kakao, bunga kakao jauh lebih kecil. Warna hasil alam berubah-ubah yang ditunjukkan dengan kesiapan bahan pangan yang ditanam dari tanah berbentuk bulat atau lonjong. Saat masih muda, buah tersebut mempunyai warna kuning kehijauan. Di Indonesia terdapat dua jenis kakao yaitu kakao mulia yang berasal dari varietas Criollo dan mempunyai warna merah, serta kakao lindak yang berasal dari varietas Forastero dan Trinitario serta mempunyai warna buah hijau (Aprillia *and* Suryadarma, 2020).

Menurut Damar (2020) dalam Lili *et al,* (2022) biji kakao merupakan sumber lemak tak jenuh tunggal, mengandung nutrisi, mineral, serat, pati alami dan protein yang sangat baik untuk kesehatan (Lili *et al,* 2022). Kandungan senyawa polifenol absolut pada bubuk kakao lebih menonjol dibandingkan pada anggur atau teh. Kandungan polifenol yang paling tinggi pada kakao adalah flavonoid, yaitu senyawa yang mengandung 15 molekul karbon pada biji kakao yang memiliki dua cincin benzena yang dihubungkan oleh rantai karbon (Aprillia *and* Suryadarma, 2020).

2.1.4 Manfaat Biji Coklat

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Pohan (2020) bahwa efektivitas biji coklat sebagai antibakteri terhadap *Stapilococus pygenes* disebabkan oleh senyawa aktif alkaloid yang merupakan senyawa organik bernitrogen dan memiliki sifat basa. Untuk mencegah pembentukan dinding sel dan kematian sel bakteri, senyawa

ini menyebabkan protein dalam sel bakteri menghambat pembentukan peptidoglikan. Selain alkaloid, biji coklat mengandung senyawa flavonoid yang dapat berinteraksi dengan protein membran sel melalui penyerapan dengan mengikat hidrofilik membrann sel. Senyawa fenolik menembus membrane sel, dan mengganggu permeabilitas membran sel, sehingga sel mati (Pohan, Kakerissa and Arodes, 2020).

Pada penelitian Yusuf *et al*, (2021) dalam Fitriani (2021) potensi kakao, kayu manis dan buni secara in vitro pada kandungan polifenol serta aktivitas pengeblokan enzyme α-amylase dan α-glucosidase. Ketiga bahan tersebut mempunyai kandungan antioksidan yang baik sebagai treatment bagi pasien diabetes melitus (Fitriani *et al*, 2021).

2.2 Skrining Fitokimia

Ilmu yang mempelajari sifat dan interaksi metabolit sekunder pada tumbuhan dikenal dengan istilah fitokimia. Tumbuhan membutuhkan metabolit sekunder tersebut untuk melindungi diri, menangkap serangga pendukung penyerbuk, dan lain sebagainya. Metabolit tambahan juga bermanfaat bagi makhluk hidup lainnya (Julianto, 2019).

Menurut Agustin (2022), skrining fitokimia merupakan suatu metode untuk membedakan bahan alam yang tidak mengandung fitokimia dengan cara mengidentifikasi suatu senyawa yang tidak dapat dilihat melalui pengujian atau evaluasi secara cepat. Langkah awal dalam penelitian fitokimia bertujuan untuk

memberikan gambaran golongan zat yang terdapat pada tumbuhan melalui skrining fitokimia (Agustin, 2022).

1.2.1 Metabolit Sekunder

Hasil dari metabolisme sekunder meiliki banyak campuran (kira-kira 200.000 campuran) yang tidak memainkan peran bermanfaat dalam meningkatkan pertumbuhan dan kemajuan tanaman. Bagaimanapun, tanaman harus menyesuaikan diri dengan keadaannya saat ini. Metabolisme sekunder mengahsilkan senyawa khusus yang sangat penting untuk tehubung dengan organisme lain dengan cara mutualistik (misalnya dengan penarik organisme memberikan keuntungan misalnya penyerbukan) atau interaksi antagonis (seperti pencegahan terhadap pemakan tumbuhan atau bakteri patogen). Selain itu, metabolisme sekunder membantu mengatasi tekanan abiotik misalnya meningkatnya radiasi UV meskipun mekanisme kerjanya belum dipahami sepenuhnya (Julianto, 2019).

Senyawa organik yang berasal dari produk tumbuhan yang tidak berpartisipasi langsung dalam fotosintesis, pertumbuhan atau respirasi, transpor zat terlarut, translokasi, sintesis protein, asimilasi nutrisi, diferensiasi, atau pembentukan karbohidrat, protein, dan lipid disebut sebagai metabolit sekunder. Metabolit primer (asam amino, nukleotida, gula, dan lipid), yang dapat ditemukan di hampir semua spesies tumbuhan, berbeda dengan metabolit sekunder, yang biasanya ditemukan pada satu spesies atau kelompok spesies (Julianto, 2019). Fungsi penting dari metabolit sekunder, diantaranya:

1. Hormon
2. Untuk pewarna dalam menarik dan memperingatkan spesies lain
3. Fitoalexan (sebagai racun) yang melindungi dari predator
4. Merangsang sekresi senyawa lain seperti alkaloid, terpenoid, senyawa fenolik, glikosida, gula dan asam amino (Julianto, 2019).

1) Alkaloid

Alkaloid mempunyai pergerakan fisiologis dan merupakan salah satu metabolit pembantu yang banyak ditemukan di alam (Maimunah, 2021). Khasiat alkaloid adalah sebagai antibakteri yang mengganggu sistem bagian peptidoglikan pada sel bakteri sehingga menyebabkan lapisan dinding sel tidak terbentuk sempurna yang pada akhirnya mempunyai sifat pereda nyeri (morfin dan kodein), ekspektoran (kodein), antimalaria. (quinine), spasmolitik (papaverine), antiamoebic dan antiemetic (emetine) (Chairani *and* Harfiani, 2018).

Alkaloid menurut Sabilla (2021) merupakan komponen dasar tumbuhan. Mereka juga memiliki sifat dasar, bereaksi dengan reagen alkaloid, dan biasanya mengandung satu atau lebih atom nitrogen dalam ikatan siklik. Seringkali, nitrogen aminolah yang memberikan kebebasan pada alkaloid. Alkaloid biasanya berbentuk kristal padat, meskipun beberapa di antaranya terpolarisasi dan memiliki rasa pahit. Standar penting pengembangan alkaloid adalah senyawanya terdiri dari amino (NH2) dan karboksil (COOH) (Sabilla, 2021).

2) Flavonoid

Menurut Putra (2021) menyatakan bahwa flavonoid merupakan senyawa fenolik yang diisolasi dari beberapa tumbuhan berpembuluh dan memiliki kurang

lebih 8.000 senyawa yang diketahui. Pada tumbuhan, flavonoid berperan sebagai antioksidan, antimikroba, fotoreseptor, penarik visual, pengusir, nutrisi, serta menyerap dan menyaring cahaya. Penelitian sebelumnya banyak menunjukkan bahwa flavonoid memiliki efek biologis, terasuk efek antialergi, antivirus, antiinflamasi dan vasodilatasi. Flavonoid bisa dibagi lagi menjadi subkelompok flavonoid yang tidak sama dengan efek farmakologis yang menarik tergantung pada karbon di cincin C dimana cincin B dan T, antiinflamasi, penurunana lipid darah, kolesterol, tingkat ketidak jenuhan dan antioksidan (Fitri *and* Putra, 2021).

3) Tanin

Tanin merupakan salah satu senyawa aktif metabolit aktif opsional dinamis yang mempunyai beberapa khasiat, antara lain sebagai astringen, antidiare, antimikroba, dan penguat sel. Tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis adalah dua jenis senyawa tanin. Tanin adalah himpunan pilihidroksi fenol yang bisa dibedakan menggunakan senyawa fenol yang lain karena tanin memiliki sifat bisa mengendapkan protein (Makatambah *et al*, 2020). Secara struktural, tanin adalah sentawa fenolik dengan berat molekul yang didalamnya terdapat gugus hidroksi serta beberapa gugus positif misalnya karboksil sebagai pembentuk kompleks yang sangat efisien dengan protein serta beberapa makromolekul. Dari kedua jenis tanin yang terdapat pada tumbuhan, jenis tanin terkondensasi yang paling dominan terdapat pada tumbuhan (Fathurrahman *and* Musfiroh, 2018).

4) Saponin

Saponin merupakan senyawa metabolit sekunder. Damanau *et al*, (2015) menyatakan bahwa senyawa tersebut termasuk golongan organik dan mempunyai

potensi steroid yang tinggi. Karena saponin memiliki rangkaian atom C dan H dalam struktur molekulnya, saponin digunakan untuk membuat sabun dan memiliki sifat antibakteri. Karena saponin diketahui efektif sebagai obat melawan jamur, bakteri, dan tumor, saponin juga dapat digunakan dalam pengobatan. Saponin pada dasarnya terdiri dari rantai glikolisis yang merupakan jenis penguatan dari beberapa tandan pati yang terikat satu sama lain (Ngginak *et al*, 2021).

5) Polifenol

Menurut Rahmasiah (2018) senyawa fenolik dibedakan secara sintetik dengan adanya cincin wangi yang mengandung setidaknya satu pengganti hidroksi fenol (polifenol), termasuk bawahan yang berguna. Tumbuhan mengandung kelas bahan kimia yang disebut polifenol. Ciri khasnya yaitu mempunyai banyak gugus fenolik dalam molekulnya. Polifenol punya spektrum yang luas dan kelarutan dalam berbagai pelarut. Polifenol dapat diklasifikasikan menjadi beberapa jenis berdasarkan komponen penyusunya antara lain fenol, pyrocatechol, pirogalla, resorsinol, floroglucinol dan hidroquinon. Senyawa yang dimaksud diantaranya epicatechin dan epigallocatechin (Rahmasiah, 2018).

1.3 Ekstraksi

Ekstraksi yaitu proses pemisahan bahan aktif dari suatu campuran yang diperoleh dengan perendaman dalam pelarut tertentu. Proses ekstraksi berhenti ketika tercapai keseimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dan konsentrasi sel tumbuhan (Prayudo *et al*, 2015).

1.3.1 Metode Ekstraksi

1) Ekstrksi Dingin

Pada dasarnya ekstraksi dingin tidak memerlukan pemanasan. Yaitu bahan alam yang mengandung senyawa yang tidak tahan panas dan bahan alami yang teksturnya lembut, seperti pada daun dan bunga. Keuntungan dari ekstrasi dingin adalah sederhana, tidak diperlukan alat yang rumit serta alat yang digunakan relatif murah. Kerugiannya yaitu kurang efektifnya waktu serta penggunaan pelarut yang tidak efisien (Kiswandono, 2017).

(1) Maserasi

Menurut Chairunnisa *et al*, (2019) maserasi merupakan suatu teknik ekstraksi dimana bahan berupa simplisia direndam dalam suatu pelarut tanpa dipanaskan atau didinginkan. Perlakuan maserasi meliputi melarutkan simplisia dengan bahan larut khusus dalam wadah yang bagian atasnya tidak berlubang kemudian didiamkan pada suhu ruang (Mukhariani, 2014). Waktu yang tepat untuk proses perendaman simplisia adalah 24 hingga 48 jam agar diperoleh rendemen yang layak (Chairunnisa *et al*, 2019). Karena tidak memerlukan pemanasan, metode ini mempunyai keuntungan karena prosedurnya lebih sederhana. Senyawa akan diekstraksi dalam jumlah besar melalui pemisahan sederhana, maserasi jangka panjang, dan penggunaan pelarut berdasarkan polaritas dan kelarutan bahan. Selain kelebihannya, maserasi juga memiliki kelemahan yaitu waktu percikan yang lama dan tidak semua campuran dapat terurai

pada suhu ruangan, sehingga perlu dilakukan perubahan suhu untuk memperkuat interaksi maserasi (Chairunnisa *et al,* 2019).

(2) Perkolasi

Metode perkolasi adalah teknik ekstraksi dimana pelarut diaplikasikan pada bahan tanaman atau simplisia, kemudian senyawa tersebut disatukan (Hasrianti *et al,* 2016). Teknik perolasi dilakukan dengan hanya memasukkan simplisia ke dalam perkolator yang diisi bahan terlarut hingga air menetes dan ditampung pada wadah di bawahnya (Hasrianti *et al,* 2016). Penyerapan zat terlarut sebaiknya dapat dilakukan selama ± 3 jam, hasil percikan dilewatkan melalui perkolator selama 2 hari hingga warna tetesan bening (Hasanah *et al,* 2015).

Perkolasi mempunyai keuntungan bahwa zat terlarut yang mengalir ke dalam bahan juga memanfaatkan zat terlarut baru. Sebaliknya perkolasi memerlukan pelarut yang lebih banyak karena menurut Hasrianti *et al,* (2016), jika bahan simplisia tidak homogen maka pelarut akan sulit mengalir ke seluruh bagian yang perlu diairi (Hasrianti *et al,* 2016).

(3) *Ultrasound Asisted Extraction* (UAE)

Ultrasonik adalah metode non-termal yang dapat mengurangi waktu pemrosesan, memaksimalkan konsumsi pelarut, meningkatkan laju perpindahan massa, dan menghancurkan dinding sel dengan banyak mikropat. Cara kerja pancuran air ultrasonik adalah mengubah energi listrik menjadi getaran mekanis menggunakan transduser piezoelektrik. Setelah itu, getaran mekanis menyebabkan sistem penyesuaian

mengirimkan gelombang ultrasonik ke medium. Pancuran air ultrasonik memiliki sounder ultrasonik yang mengirimkan sinyal menarik seperti yang ditunjukkan oleh kekambuhan yang dipilih (Wen *et al,* 2019). Menurut Dolatowski *et al,* (2007) dalam Handarartri *and* Yuniati (2019) kelebihan ekstraksi *Ultrasound-Assisted Extraction* (UAE) dapat memisahkan ekstrak dari matriks tanpa merusak struktur ekstrak, penggunaan pada suhu rendah dapat mengurangi kehilangan panas dan mencegah kehilangan atau penguapan senyawa bertitik didih rendah (Handaratri *and* Yuniati, 2019).

2) Ekstraksi Panas

Menurut Tobo (2011) dalam penelitian Mauliyanti (2017) ekstraksi panas digunakan jika senyawa-senyawa yang dikandung simplisia bersifat tahan panas (Mauliyanti, 2017). Metode ekstraksi yang membutuhkan panas diantaranya:

(1) Infusa

Teknik ekstraksi yang umum untuk bahan aktif yang larut dalam air adalah ekstraksi infus. Teknik implantasinya sangat sederhana dan hampir tidak memerlukan biaya apa pun. Selain itu, ia mempunyai kelemahan, seperti hilangnya zat-zat esensial melalui penguapan, pengendapan zat ketika kelarutannya menjadi sangat jenuh, dan ketidakmampuan beberapa simplisia untuk menggunakan metode ini karena ketidakmampuan senyawa yang dikandungnya untuk menahan pemanasan yang berkepanjangan. (Karim, 2014).

(2) Sokletasi

Sokletasi merupakan salah satu metode pemisahan komponen – komponen dalam sampel padat dengan cara ekstraksi berulang kali menggunakan pelarut yang sama, sehingga seluruh komponen yang diambil dari sampel terpisah dengan sempurna. Cara ini dilakukan dengan menempatkan serbuk sampel dalam pembungkus kertas saring diletakkan diatas labu dan dibawah kondensor. Pelarut ditambahkan ke labu dan suhu penangas diatur (Mukhriani, 2014).

Pada metode ini dilakukan penungana beberapa kali hingga pelarut tidak lagi menghasilkan warna. Menururt Sudaryanto *et al*, (2016) hal ini dilakukan selama kurang lebih dua jam pada suhu tidak melebihi 70 °C dan melibatkan kurang lebih tiga siklus ekstraksi hingga warna pelarut memudar. Metode sokshletasi mempunyai kelemahan yaitu menjaga senyawa yang terurai tetap mendidih sehingga rentan mengalami kerusakan (Mukhriani, 2014).

(3) Refluks

Ekstraksi refluks mengikuti prinsip yang mirip dengan soxhletation, namun pelarut dan sampel digunakan secara terpisah dalam soxhletation, sedangkan pelarut dicampur langsung dengan sampel pada suhu dan waktu yang relatif tetap dengan air masuk dan air keluar (pendinginan terbalik) dalam ekstraksi refluks (Hasrianti *et al,* 2016). Suhu yang digunakan dalam teknik refluks adalah sekitar 60˚C selama 3 jam untuk menghasilkan konsentrat cair yang nantinya akan dihangatkan di atas

pancuran air sehingga menghasilkan konsentrat yang kental (Syamsul *et al*, 2020). Menurut Susanty *and* Fairus (2016), pelarut refluks yang ditempatkan pada tabung alas bulat secara teori dipanaskan sehingga menguap, mendingin ketika melewati kondensor hingga menjadi embun, kemudian dikembalikan ke tabung alas bulat sehingga pelarut yang diuapkan tidak habis pada saat proses refluks. Kemampuan mengekstraksi sampel dengan tekstur kasar merupakan keunggulan metode refluks (Lalu Mulyawan *et al*.2021).

(4) Digesti

Digesti adalah metode ekstraksi dengan cara maserasi kinetik di atas suhu kamar dan biasanya diantara suhu 40^{o}C dan 50^{o}C. Keuntungan dari metode digesti adalah kemampuan cairan penyari untuk melarutkan zat yang diinginkan meningkat dan menghasilkan efek yang sama seperti pengadukan, viskositas pelarut menurun, yang dapat menyebabkan penurunan lapisan batas dan koefisien difusi yang berbanding lurus dengan suhu absolut dan berbanding terbalik dengan viskositas, sehingga suhu menigkat. Umumnya mempengaruhi laju difusi, zat meningkat dengan meningkatnya suhu (Natsir, 2022).

(5) Dekok

Ekstraksi dengan metode dekok adalah metode mudah diekstraksi dengan pelarut air tanpa peralatan laboratorium atau industri. Cara ini lebih cocok dilakukan secara langsung ke masyarakat, khususnya penjamah makanan dan konsumen buah segar (Lestari, 2016). Dekok

adalah pada suhu yang sesuai dengan titik didih air yaitu pada suhu 90-100^{o}C untuk jangka waktu yang lebih lama (Marsono, dkk, 2017).

1.3.2 Rendemen

Rendemen adalah perbandingan berat kering produk yang diperoleh berdasarkan volume bahan. Menurut Nurhayati *et al*, (2009) dalam Senduk (2020) menyatakan bahwa nilai rendemen yang tinggi menunjukkan banyaknya komponen bioaktif yang dikandungnya. Secara umum, hasil adalah perbandingan antara apa yang dihasilkan dan apa yang ada di dalamnya dinyatakan dalam presentase. Perhitungan rendemen menggunakan rumus menurut Senduk (2020):

$$\text{Rendemen} = \frac{Bobot\ ekstrak\ akhir}{Bobot\ simplisia\ awal} \times 100\%$$

(Senduk, Montolalu *and* Dotulong, 2020).

1.4 Candida albicans

1.4.1 Klasifikasi *Candida albicans*

Penelitian ini akan menggunakan mikroba uji antijamur berupa *Candida albicans*. Menurut Salsabila (2022) klasifikasi dari *Candida albicans* sebagai berikut:

Kingdom : Fungi

Filum : Ascomycota

Kelas : Saccharomycetales

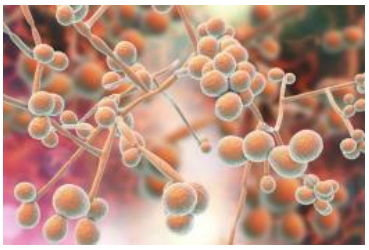
Ordo : Saccharomycetales

Family : Saccharomycetaceae

Genus : Candida

Spesies : *Candida albicans*

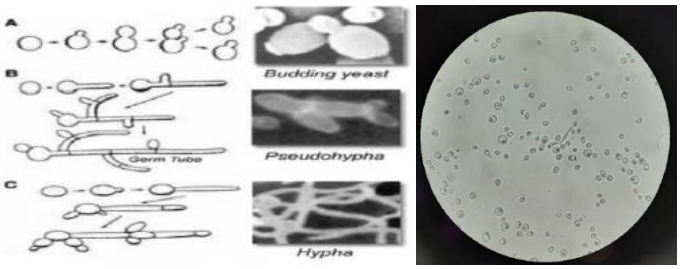
(Salsabila, 2022)



Gambar 2.9 *Candida albicans*
Sumber: (Asmara, 2021)

1.4.2 Morfologi *Candida albicans*

Menurut Harmoko (2012) dalam Salsabila (2022) *Candida albicans* adalah suatu jamur yang berbentuk sel sel tunas berbentuk oval berukuran 2-3 x 4-6 m dan menghasilkan pseudohifa dalam kultur, jaringan, dan eksudat. *Candida albicans* dimorfik dapat menghasilkan ragi dan pseudohifa selain hifa sejati. *Candida albicans* idealnya berkembang pada suhu 28-37^{o}C dan pH 4,5-5,5. Karbohidrat merupakan sumber karbon yang diperlukan untuk proses metabolisme dan pertumbuhan *Candida albicans*. Perkembangan *Candida albicans* mempunyai pseudohifa dengan tandan di sekeliling blastoconidia bulat, septa panjang dan berukuran 3-7 x 3-14 µm. Candida labicans dapat menghasilkan hifa sejati dan juga hifa palsu atau pseudohifa, yang sebenarnya merupakan blastospora atau spora jamur bercabang (Salsabila, 2022).



Gambar 2.10 Morfologi *Candida albicans*
a. Bentuk Khamir, b. Bentuk Pseudohifa, c. Bentuk Hifa, d. Mikroskopik Jamur *Candida albicans*
Sumber: (Komariah *et al*, 2012; Salsabila, 2022)

1.4.3 Patogenesis dan Patologi *Candida albicans*

Pertumbuhan *Candida albicans* merupakan jenis hewan yang patogen dan pendorong utama kandidiasis. Tidak ada parasit ini di alam liar, namun dapat berkembang sebagai pertumbuhan saprobe di berbagai organ tubuh manusia. Faktor risiko merupakan faktor yang mempengaruhi transformasi komensal menjadi patogen. Faktor fisik, seperti kehamilan, usia, dan siklus menstruasi, serta faktor non fisik, seperti trauma maserasi kulit, kerusakan mukosa mulut, malnutrisi, gangguan endokrin, kanker, penyakit menular neutropenia, dan kolonisasi jamur, merupakan beberapa faktor risiko. untuk kolonisasi yang dapat menyebabkan infeksi. *Candida albicans* juga dapat menyebabkan keputihan, sariawan, infeksi kulit dan kuku, infeksi paru-paru dan organ lainnya, serta kondisi lain selain kandidiasis mukokutan kronis (Diyanti *et al*, 2018).

Kandidiasis merupakan penyakit menular yang disebabkan oleh jamur, khususnya *Candida albicans*, sebagaimana dikemukakan oleh Setyani *et al*, (2017). *Candida albicans* merupakan pertumbuhan yang merupakan kumpulan makhluk hidup komensal dalam kondisi yang khas. Jamur *Candida albicans* dapat bersifat

patogen pada penderita gangguan sistem kekebalan tubuh. Septicemia, yaitu peradangan pada meningen atau selaput yang mengelilingi otak dan sumsum tulang belakang, serta endokarditis, atau infeksi pada katup jantung, dapat disebabkan oleh infeksi *Candida albicans* (Setyani *et al*, 2017).

1.4.4 *Candida albicans* Penyebab Sariawan

Menurut Setyani *et al*, (2017) mengatakan bahwa pasien dengan gangguan sistem imun sering kali mendapat infeksi oportunistik dari mikroflora *Candida albicans* mulut. *Candida albicans* sering hidup di lubang mulut, serangan *Candida albicans* pada jaringan halus rongga mulut dapat menyebabkan kandidiasis mulut. Kandidiasis mulut merupakan penyakit menular yang disebabkan oleh bakteri, khususnya *Candida albicans*. Parasit ini bersifat patogen jika seseorang memiliki sistem kekebalan tubuh yang lemah. Peningkatan *Candida albicans* di mulut lebih bermanfaat bila disertai dengan peningkatan kadar glukosa tinggi, kortikosteroid, dan penurunan resistensi (Setyani *et al*, 2017).

Kandidiasis dapat menyerang pria dan wanita. Kondisi patologis yang disebabkan oleh *Candida albicans* dapat mengakibatkan rasa nyeri, terbakar, dan rasa tidak nyaman terutama pada bayi pada selaput lendir pipi, disertai munculnya bintik-bintik putih. Patologi ini dapat menimbulkan dampak yang lebih serius, misalnya penyebaran penyakit ke jaringan yang lebih dalam melalui aliran darah dan menimbulkan masalah mendasar (Setyani *et al*, 2017).

1.4.5 Pertumbuhan dan Reproduksi *Candida albicans*

Candida albicans dapat tumbuh pada kisaran pH yang luas, namun pertumbuhannya paling baik pada pH 4,5-6,5. *Candida albicans* memerlukan senyawa organik sebagai sumber karbon dan energi untuk pertumbuhan dan proses metabolisme serta dapat tumbuh pada suhu antara 28 dan 37^{o}C. Komponen karbon ini bisa didapat dari pati. Jamur ini merupakan organisme anaerobik fakultatif yang dapat melakukan metabolisme sel baik dalam lingkungan aerobik maupun anaerobik (Sari, 2019).

Candida albicans dikembangbiakkan secara in vitro pada media SDA (*Sabaround Glukosa Agar*) atau PDA (*Potato Dextrose Agar*) selama 2-4 hari pada suhu 37^{o}C atau pada suhu ruang. Besar pada koloni ini tergantung pada umur biakannya. Bagian tepi koloni *Candida albicans* berupa hifa semu sebagai benang-benang halus yang masuk ke dalam media, pada media cair biasanya tumbuh padi dasar tabung. Sedangkan pada media *Cornmeal Agar* dapat membentuk clamydospora dan lebih mudah dibedakan melalui bentuk pseudomyceliumnya atau bentuk filamennya. Pada pseudomycelium terdapat kumpulan blastospora yang bisa terdapat pada bagian terminal atau intercalary. *Candida albicans* memperbanyak diri dengan cara aseksual, artinya spora yang dibentuk langsung dari hifa tanpa adanya peleburan inti dengan membentuk tunas. Spora *Candida albicans* disebut dengan blastospora atau sel ragi. *Candida albicans* membentuk psudohifa yang sebenarnya adalah rangkaian blastospora yang bercabang-cabang. Berdasrkan bentuknya itu, makan dikatakan bahwa *Candida albicans* menyerupai ragi atau yeast (Munawwaroh, 2016).

1.5 Antijamur

Antijamur adalah zat yang dihasilkan oleh mikroba, terutama fungi (jamur) yang dapat menghambat atau menghancurkan mikroba jenis lain yang meiliki sifat mematikan atau menghambat pertumbuhan kuman, sedangkan toksisitasnya terhadap manusia relatif rendah (Minarni *et al*, 2020). Antijamur mempunyai dua pengertian, yaitu fungisidal dan fungistatik. Dimana fungisidal diidentifikasikan sebagai suatu senyawa yang dapat membunuh jamur, sedangkan fungistatik sendiri dapat menghambat pertumbuhan jamur tanpa mematikannya. Tujuan utaman dari pengendalian jamur yaitu untuk mencegah penyebaran penyakit dan infeksi, membasmi jamur pada inangnya yeng terinfeksi dan mencegah pembusuhan dan perusakan yang disebabkan oleh jamur itu sendiri (Munawwaroh, 2016). Menurut Munawwaroh (2016) berdasarkan mekanisme kerja dari antijamur dapat dikelompokkan menjadi:

1) Gangguan pada Membran Sel

Kandungan ergosterol dalam sel parasit merupaan Agen anti infeksi berbahan dasar poliena secara efektif menghilangkan ergosterol, sterol penting yang ditemukan dalam sel parasit. Kompleks poliena-ergosterol yang terjadi dapat membentuk pori tempat munculnya komponen penting sel parasit seperti partikel K, fosfat anorganik, asam karboksilat, asam amino, dan ester fosfat sehingga menyebabkan pelepasan sel yang tidak dapat ditolak. Misalnya nistatin, amfoterisin B dan kandisidin.

2) Penghambatan Biosintesis Ergosterol Dalam Sel Jamur

Zat yang merupakan turunan imidazol bertanggung jawab menghambat biosintesis ergosterol pada sel menular karena dapat mengganggu lapisan sitoplasma parasit dengan mengubah keroposan film dan mengubah kemampuan lapisan dalam mengangkut campuran dasar, sehingga dapat menyebabkan ketidakteraturan metabolik yang menghambat pertumbuhan atau menyebabkan kematian sel parasit. Misalnya ketoconazole, moconazole, bifonazole, dan chlorthymazole.

3) Penghambatan Sintesis Asam Nukleat dan Protein Jamur

Efek antijamur terjadi karena senyawa turunan pirimidin yang dapat memanfaatkan sel menular menjadi antimetabolik. Musuh metabolik kemudian bergabung dengan asam ribonukleat dan kemudian menahan penggabungan asam nukleat yang menular.

4) Penghambatan Mitosis Jamur

Adanya senyawa antibiotik griseofulvin yang mampu mengikat protein mikrotubulus sel menyebabkan efek antijamur dengan merusak struktur gelendong mitosis dan menghentikan metafase pembelahan sel jamur (Hartini, 2017).

1.5.1 Metode Pengujian Antivitas Antijamur

Aktivitas antimikroba diukur secara in vitro untuk menentukan efektivitas obat antimikroba dalam larutan. Dilusi dan difusi adalah dua metode paling umum untuk mengukur aktivitas antimikroba. Metode dilusi terbagi menjadi dua yaitu dilusi cair dan dilusi padat. Metode dilusi cair digunakan untuk mengukur KMH (Kadar

Hambat Minimum), sedangkan KBM (Kadar Bakterisidal Minimum) (Fitriana *et al,* 2020). Pengujian dilakukan dengan cara melakukan seri pengenceran media cair yang ditambahnkan zat antijamur dan jamur uji. Pengenceran dengan kadar terkecil yaitu terlihat paling jernih ditetapkan sebagai KHM. Kemudin diinkubasi selama 18-24 jam dan diamati media yang paling jernih merupakan KBM. Pengujian menggunakan metode dilusi juga dapat dilakukan menggunakan media padat (Triasih, 2022).

Aktivitas antimikroba sering dianalisis menggunakan metode difusi.. Metode difusi dapat digunakan dalam tiga cara yakni metode sumuran, metode cakram dan metode silinder. Prinsip kerja metode difusi adalah terdifusinya senyawa antimikroba ke dalam media padat dimana mikroba uji telah diinokulasikan. Pengamatan dilakukan terhadap ada atau tidaknya zona bening yang terbentuk disekitar kertas cakram yang menunjukkan adanya zona pengahambatan pertumbuhan mikroba. Metode difusi sumuran (*Well Diffusion Method*) dilakukan dengan cara membuat sumuran pada media yang telah diinokulasi jamur uji, kemudian sumur diisi oleh zat antijamur dan diinkubasi selama 24-48 jam dengan suhu 37^{o}C untuk mengamati diameter zona hambat di sekitar sumur (Moslem, 2022).

Diameter zona hambat dapat dihitung dalam satuan milimeter (mm) menggunakan jangka sorong. Kekuatan daya antijamur tersebut kemudian diklasifikasikan berdasarkan diameter zona hambat berdasarkan Kandoli, Abijulu and Leman (2016), terdapat pada tabel 2.1 sebagai berikut:

Tabel 2.1 Klasifikasi Diameter Zona Hambat

Diameter Zona Hambat	Kategori
>20mm	Sangat kuat
10-20mm	Kuat
5-10mm	Sedang
<5mm	Lemah

Sumber: (Kandoli, Abijulu and Leman, 2016)

1.5.2 Senyawa Antijamur

Senyawa metabolit sekunder mempunyai kemampuan sebagai antijamur. Metabolit sekunder zat alami yang dihasilkan oleh tanaman yang tidak berperan langsung dalam pernafasan, transportasi zat terlarut, pergerakan, kombinasi protein, osmosis nutrisi, pemisahan, pembentukan karbohidrat, protein dan lipid. Metabolit sekunder adalah senyawa metabolik yang tidak esensial bagi pertumbuhan organisme dan ditemukan dalam bentuk yang unik atau berbeda-beda antara spesies yang satu dan yang lainnya. Fungsi dari metabolit sekunder adalah untuk mempertahankan diri dari kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan, seperti untuk mengatasi hama dan penyakit, menarik polinator dan sebagai molekul sinyal. Metabolit sekunder yang terkenal diantaranya yaitu alkaloid, flavonoid, polifenol dan saponin (Pitriani, 2022).

(1) Alkaloid

Aktivitas antijamur senyawa alkaloid bergantung pada pengendalian perkembangan sistem pernapasan sel dan susunan protein, sehingga menyebabkan matinya pertumbuhan. Senyawa alkaloid menyebabkan kerusakan pada komponen peptidoglikan dinding sel sehingga mengakibatkan hilangnya integritasnya. Kebocoran membran sel dan hilangnya beberapa bahan intraseluler, termasuk

elektrolit (terutama senyawa kalium) dan molekul lainnya, merupakan efek tambahan dari keberadaan alkaloid (Triasih, 2022).

(2) Flavonoid

Peran flavonoid sebagai agen antijamur adalah senyawa flavonoid yang berikatan dengan protein melalui ikatan hidrogen dan merusak struktur protein. Fungsi permeabilitas menjadi selektif bila dinding sel jamur dan membran sitoplasma tidak stabil sehingga menyebabkan fungsi transpor aktif dan pengendalian struktur protein sel terganggu. Flavonoid mendenaturasi protein sehingga meningkatkan daya tembus lapisan sel (Hartini, 2017).

(3) Fenol

Fenol sebagai antijamur bekerja dengan cara meningkatkan jumlah *Reactive Oxygen Species* (ROS) sehingga memicu terjadinya apoptosis sel jamur pada *Candida albicans*. Mekanisme kerja fenol adalah meningkatkan jumlah ROS dan menghambat pembentukan hifa dengan menargetkan gen TUP1 yang berperan dalam pembentukan hifa pada *Candida albicans* (Arifin *et al*, 2018).

(4) Saponin

Sebagai antijamur, senyawa saponin dapat merusak protein dan enzim sel jamur. Mereka juga dapat berdifusi dengan dinding sel jamur dan membran luar, sehingga dapat mengganggu stabilitas sel. Fungsi saponin yang ditingkatkan dalam menekan perkembangan penyakit menular adalah dengan meningkatkan daya tembus dinding sel parasit yang menyebabkan cairan sel yang mengandung bahan

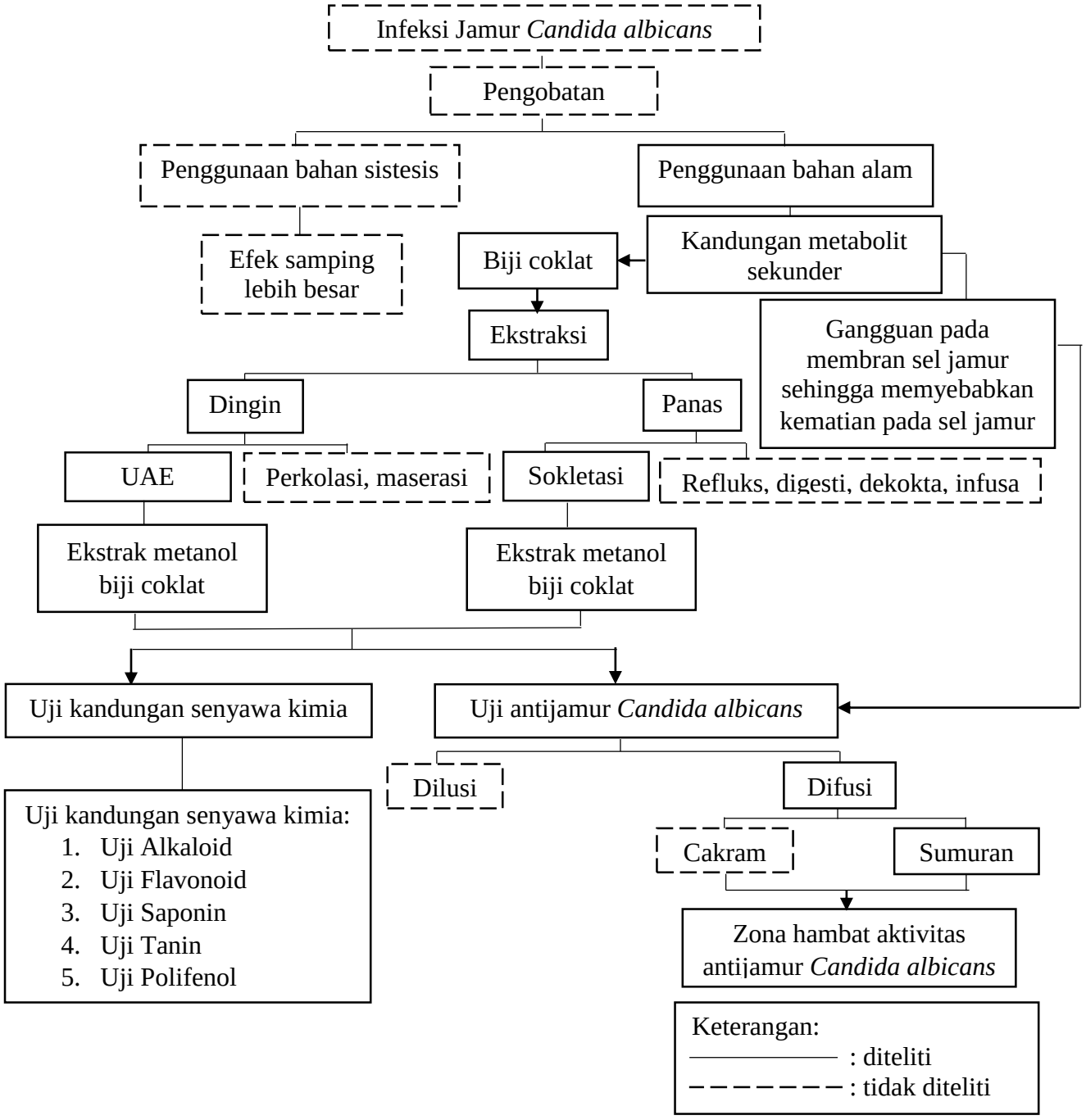
kimia, protein dan bahan metabolisme menempel di dalam sel dan menyebabkan gangguan penyakit menular (Triasih, 2022).

(5) Tanin

Mekanisme antijamur tanin adalah kemampuannya untuk menghambat sintesis kitin yang digunakan untuk membentuk dinding sel jamur dan merusak membran sel, dan mencegah pertumbuhan jamur. Menurut Najib (2009) dalam Alfiah (2015) menyatakan bahwa tanin merupakan senyawa lipofilik yang mudah berikatan dengan dinding sel dan merusak dinding sel jamur (Alfiah *et al*, 2015).

BAB 3 KERANGKA KONSEP

3.1 Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 3. 1 Kerangka Konsep

3.2 Hipotesis

Hipotesis merupakan jawaban sementara terhadap suatu persoalan yang menjadi objek kajian dalam penelitian. Hipotesis pada penelitian ini, yaitu:

H0: Tidak ada pengaruh perbandingan metode ekstraksi sokletasi dan UAE terhadap aktivitas antijamur *Candida albicans* pada ekstrak metanol biji Coklat (*Theobroma cacao L.*).

H1: Ada pengaruh perbandingan metode ekstraksi sokletasi dan UAE terhadap aktivitas antijamur *Candida albicans* pada ekstrak metanol biji Coklat (*Theobroma cacao L.*).

BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Desain penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimental.

4.2 Populasi dan Sampel

4.2.1 Populasi

Populasi merupaan suatu kategori dalam lingkup luas yang terdiri dari subjek dengan karakteristik tertentu yang nantinya akan menjadis subjek penelitian (Komala, 2017). Populasi dalam penelitian ini adalah tanaman coklat (*Theobroma cacao L.*) yang diambil dari Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia yang berada di Kebun Renteng, Kecamatan Jenggawah, Kabupaten Jember, Jawa Timur.

4.2.2 Sampel

Pengertian sampel menurut Wayan (2022) yaitu bagian subjek dari suatu populasi. Sampel yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah keping biji coklat (*Theobroma cacao L.*).

4.3 Variabel Penelitian

Variabel yaitu suatu hal yang sangat penting karena proses pengumpulan fakta atau perkiraan dapat dilakukan dengan baik apabila variabel dapat diketahui dengan cermat. Proses perincian variabel dimulai dengan menumbuhkan gambaran tentang semua yang menjadi pokok bahasan. Gagasan penting adalah istilah dan definisi yang digunakan untuk menggambarkan secara dinamis peristiwa dan kondisi suatu pertemuan atau orang tertentu yang menjadi subjek pemeriksaan (Nasution, 2017).

Variabel penelitian ini ialah variabel independent (bebas), variabel dependent (terikat) dan variabel terkonrol. Adapun pengertian dari masing-masing variabel adalah:

1. Variabel independent (bebas) adalah variabel yang mempengaruhi variabel lain (Nasution, 2017). Variabel independent pada penelitian ini adalah ekstrak metanol keping biji coklat menggunakan metode ekstraksi soxhletasi dan UAE (*Ultrasonic Assisted Extraction*).
2. Variabel dependent (terikat) adalah variabel yang menjadi faktor dan dipengaruhi oleh satu atau lebih variabel lain (Nasution, 2017). Variabel dependent pada penelitian ini adalah kandungan senyawa kimia ekstrak dan diameter zona hambat aktivitas antijamur *Candida albicans*.
3. Variabel terkontrol adalah variabel yang mengontrol pengaruh variabel independent terhadap variabel dependent. Variabel ini merupakan variabel yang dibuat konstan sehingga pengaruh variabel independen terhadap dependent tidak dipengaruhi oleh faktor luar yangtidak diteliti (Ulfa, 2019). Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah metode pengujian ekstraksi dan aktivitas antijamur.

4.4 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Terpadu Universitas dr. Soebandi Jember.

4.5 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada rentang waktu bulan Mei-Juni 2023.

4.6 Definisi Operasional

Definisi operasional merupakan definisi suatu variabel dengan memberikan makna atau dengan mengkarakterisasi suatu tindakan yang diperlukan untuk mengukur variabel penelitian (Dwiarti *and* Wibowo, 2018). Definisi operasional yang dijadikan acuan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

Tabel 4.1 Definisi Operasional

No.	Variabel	Definisi	Alat Ukur	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala Data
1.	Ekstrak biji coklat (*Theobroma cacao L.*)	Proses ekstraksi simplisia menggunakan pelarut metanol dengan cara disokletasi dan UAE	Neraca Analitik	Menghitung persentase bobot (b/b) antara ekstrak yang dihasilkan dengan bobot serbuk simplisia yang digunakan	Nilai % rendemen	Rasio
2.	Kandungan senyawa kimia	Hasil dari uji kandungan senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid, fenol, flavonoid, tanin serta terpenoid	Tabung reaksi dan pipet tetes	Menambahkan reagen sesuai senyawa yang akan diuji	Terbentuknya warna atau endapan yang terbentuk pada uji kandungan metabolit sekunder ekstrak metanol keping biji coklat	Nominal
3.	Aktivitas antijamur	Daerah sekeliling sumuran (zona bening) yang tidak ditemukan adanya pertumbuhan *Candida albicans*	Jangka sorong	Mengukur diameter zona hambat pada area jernih di sekitar sumuran	Diameter zona hambat (mm)	Rasio

4.7 Teknik Pengumpulan Data

Metode pengumpulan data merupakan masalah penting dalam penelitian karena metode ini merupakan strategi untuk memperoleh informasi yang

diperlukan. Keberhasilan penelitian sangat tergantung pada teknik pengumpulan data yang digunakan. Untuk memperoleh bahan informasi, fakta dan informasi yang terpercaya. Penelitian ini menggunakan teknik, prosedur, alat, dan aktivitas dunia nyata untuk mendapatkan data sebagaimana yang dimaksud (Nurdiansyah and Rugoyah, 2021).

4.7.1 Determinasi Tanaman

Determinasi biji coklat (*Theobroma cacao L.*) dilakukan di Laboratorium Tanaman Politeknik Negeri Jember untuk memastikan bahwa biji coklat yang akan diuji merupakan spesies (*Theobroma cacao L.*).

4.7.2 Pembuatan Serbuk Simplisia Biji Coklat

Biji coklat (*Theobroma cacao L.*) yang sudah dipanen dilakukan sortasi basah, setelah itu dilakukan pengambilan biji coklat dengan cara memecah biji coklat menggunakan alat dan diambil bijinya. Lalu dilakukan fermentasi dan disangrai dengan suhu 50^0C. Kemudian biji coklat dipisahkan dengan kulit biji yang nantinya biji coklat dijadikan pasta dan dilakukan pengempaan untuk menghilangkan lemak biji coklat. Setelah itu disangrai kembali dan diayak (Pusat Penelitian Kopi dan Kakao, 2023).

4.7.3 Pembuatan Ekstrak

Metode ekstrasksi yang digunakan, yaitu metode sokletasi dan UAE. Adapun langkah kerjanya berikut ini:

1) Sokletasi

Sebanyak 100 gram serbuk biji coklat dibungkus dengan kertas saring lalu diikat dengan benang. Kemudian disiapkan metanol sebanyak 500mL. Proses ekstraksi dilakukan pada suhu 50^{o}C sampai tetesan siklus tidak berwarna lagi. Ekstrak cair yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak kental (Samudra *et al*, 2022). Replikasi 3 kali

2) UAE (*Ultrasound Assisted Extraction*)

Sebanyak 100 gram serbuk biji coklat dimasukkan dalam erlenmeyer dan ditambahkan pelarut metanol 500mL, kemudian diekstraksi selama 20 menit dengan menggunkan ultrasonic bath dalam frekuensi 37 kHz. Kemudian dihilangkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* dengan kecepatan 40rpm dan suhu 45^{o}C, lalu dipekatkan diwaterbath pada suhu 50^{o}C (Tutik *et al*, 2022). Replikasi 3 kali.

4.7.4 Pengenceran Ekstrak Biji Coklat

Konsentrasi ekstrak biji coklat yang digunakan berdasarkan penelitian sebelumnya oleh Angelina, (2012) adalah 50%. Ekstrak biji coklat kosentrasi 100% sejumlah 10ml ditambahkan 10ml DMSO 10% kemudian dicampur sampai memperoleh kosentrasi ekstrak biji coklat 50%.

4.7.5 Kontrol Positif dan Kontrol Negatif

Kontrol positif dan kontrol negative penelitian ini adalah suspensi nystatin 100.000 IU/mL dan DMSO 10%. Kontrol positif dan kontrol negatif masin masing ditambah sebanyak 20 µl DMSO 10% yang diambil menggunakan mikropipet, lalu diteteskan dilubang sumuran yang telah dibuat (Liliany, 2018).

4.7.6 Skrining Fitokimia

1) Uji Alkaloid

0,5 gram ekstrak kental dimasukkan ke dalam tabung reaksi, dilarutkan dengan 5mL HCl 2N, kemudian dibagi ke dalam 3 tabung. Pada tabung 1 ditambahkan pereaksi mayer, tabung 2 ditambahkan pereaksu Dragendroff, tabung 3 ditambahkan pereaksi Wagner. Hasil dinyatakan positif apabila pada tabung 1 terbentuk endapan putih, pada tabung 2 terbentuk endapan kuning kejinggan dan tabung terdapat endapan merah kecoklatan (Ramadhan *et al*, 2020).

2) Uji Flavonoid

0,5 gram ekstrak kental ditambahkan 5ml air, didihkan kurang lebih 5 menit lalu disaring. Filtrat sebanyak 2ml ditambahkan 0,05mg Mg dan 1 ml HCl pekat, kemudian dikocok hingga homogen. Hasil dinyatakan positif apabila terbentuk warna kuning kejinggan (Ramadhan *et al*, 2020).

3) Uji Saponin

0,5 gram ekstrak kental ditambahkan 5ml air panas lalu dikocok kuat selama kurang lebih 10 detik. Terbentuknya busa selama kurang lebih 1cm busa tidak hilang, maka dinyatakan positif (Ramadhan *et al*, 2020).

4) Uji Tanin

2 ml ekstrak kental dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 2ml $FeCl_3$. Hasil dinyatakan positif apabila terbenruk warna hitam kehijauan (Herman *et al*, 2020).

5) Uji Polifenol

1 ml ekstrak kental ditambahkan 3-4 tetes $FeCl_3$. Ternjadinya perubahan warna menjadi hitam kebiruan hingga pekat menunjukkan adanya kandungan polifenol (Manongko *et al*, 2020).

4.7.7 Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat disterilisasi sebelum penggunaan semua peralatan dengan cara dibungkus dengan kertas coklat. Selain itu, alat dan bahan yang akan digunakan diautoklaf pada suhu 121^{o}C dengan tekanan 1,5 psi selama 15 menit. Alat yang tidak tahan dengan panas dapat disterilisasi dengan alkohol 70% (Munawwaroh, 2016).

4.7.8 Persiapan Media Tumbuh PDA (*Potato Dextrose Agar*)

Ditimbang sebanyak 7,8 gram media PDA (*Potato Dextrose Agar*) kemudian dilarutkan 200ml aquadest kedalam erlenmeyer. Lalu dipanaskan media menggunakan hot plate & magnetic stirer hingga mendidih dan larutan homogen. Setelah larut dengan sempurna, disterilkan didalam autoklaf pada suhu 121^{o}C selama 15 menit (Fadli, 2017).

4.7.9 Preparasi dan Uji Aktivitas Antijamur

1) Peremajaan Jamur *Candida albicans*

Peremajaan jamur dengan cara mengambil 1 ose kultur jamur dari biakan murni *Candida albicans* pada media PDA miring ditabung reaksi. Jamur diambil dengan jarum ose pada biakan murni jamur, selanjutnya digoreskan ke media PDA dengan cara aseptis dan diinkubasi pada suhu 37^{o}C selama 2 x 24 jam (Purnamasari, 2021).

2) Pembuatan Standar Kekeruhan 0,5 *McFarland*

Standart kekeruhan yang paling umum digunakan di laboratorium mikrobiologi klinik adalah standart 0,5 *McFarland* yang digunakan untuk uji kerentanan antimikroba dan biakan pengujian kultur media. Sebanyak 0,05ml larutan $BaCl_2$ 1% dipipet dan dimasukkan kedalam tabung reaksi steril, lalu ditambahkan larutan H_2SO_4 1% sebanyak 9,95ml dan dihomogenkan didalam labu ukur. Lalu tuangkan campuran $BaCl_2$ 1% dan H_2SO_4 1% ke dalam tabung sebanyak 10ml (Simpson *et al*, 2014).

3) Pembuatan Suspensi *Candida albicans*

Kultur murni dari jamur *Candida albicans* yang sebelumnya diperemajakan diambil menggunakan ose yang sebelumnya sudah dipijarkan. Lalu disuspensikan ke dalam 10ml larutan NaCl 0,9%, kemudian dilakukan homogenisasi dengan menggunakan vortex. Suspensi *Candida albicans* lalu dibandingkan dengan standart kekeruhan 0,5 *McFarland* menggunakan spektofotometri pada panjang 625 nm untuk mendapatkan suspensi inokulum standar dan disamakan dengan kekeruhan *McFarland* (Sanny, 2022). Jika kekeruhannya sudah sama, maka kosentrasi jamur sama dengan 10^8 CFU/ml yang artinya dalam 1ml suspensi memiliki kepadatan sebanyak 100.000.000 jamur (Fitria, 2020).

4) Penentuan Aktivitas Antijamur dengan Metode Sumuran

Penentuan aktifitas antijamur *Candida albicans* dilakukan dengan menggunakan metode difusi sumuran. Media PDA dituangkan kedalam cawan petri steril. Setelah media PDA memadat, kemudian 100 µl (0,1ml)

inokulum jamur uji dipipet menggunakan mikropipet lalu dimasukkan kedalam cawan petri. Secara perlahan inokulum jamur diratakan dengan batang L hingga rata pada media PDA yang telah terdapat inokulum jamur (Purnamasari, 2021). Sumuran dibuat dengan menggunakan bagian ujung pipet steril. Tambahkan 40 µl ekstrak metanol biji coklat ke dalam sumuran yang telah disiapkan dan kemudian inkubasi selama 24 jam pada suhu 37^{o}C. Diamati zona bening disekitar sumuran tersebut (Nurhayati, Yahdiyani and Hidayatulloh, 2020).

4.8 Teknik Analisa Data

4.8.1 Pengumpulan Data

Aktivitas antijamur diukur dengan melihat diameter zona hambat yaitu zona bening pada daerah sekeliling sumuran terhadap *Candida albicans* dengan menggunakan jangka sorong (mm).

4.8.2 Analisa Data

Data yang diperoleh dalam penelitian diolah menggunakan uji statistik SPSS (*Statistic Product and Servive Solutions*) yaitu uji *One-Way* ANOVA dengan perbedaan nyata 5% *p-value* (sig.) <0.05 untuk mengetahui daya hambat pertumbuhan bakteri *Candida albicans* terhadap ekstrak metanol keping biji coklat, sedangkan untuk kendungan senyawa kimia dianalisis menggunakan analisis deskriptif.

Syarat uji ANOVA adalah normal dan homogen. Apabila data terdistribusi normal dan data pengujian homogenitas variasi terdistribusi homogen dengan nilai *p-value* (sig.) >0.05, maka diuji dengan ANOVA dan dilanjut dengan uji *Post-Hoc*

Duncan. Apabila data tidak terdistribusi normal dan atau data pengujian homogenitas variasi tidak terdistribusi homogen dengan nilai *p-value* (sig.) <0.05, maka diuji dengan *Kruskall-Wallis* dan dilanjut dengan uji *Mann-Whitney* untuk melihat adanya perbedaan bermakna masing-masing kelompok uji dengan tingkat kepercayaan sebesar 95%.

Anova adalah singkatan dari *Analysis of Varian* merupakansalah satu uji komparatif yang digunakan untuk menguji perbedaan mean (rata-rata) data lebih dari dua kelompok.

BAB 5 HASIL PENELITIAN

5.1 Determinasi Tanaman

Determinasi dilakukan di Politeknik Negeri Jember membuktikan bahwa sampel penelitian yang digunakan merupakan biji coklat (*Theobroma cacao L.*). Hasil identifikasi biji coklat terlampir di lampiran 1.

5.2 Ekstraksi Sokletasi dan UAE

Berdasarkan dari hasil ekstraksi biji coklat yang menggunakan metode sokletasi dan UAE dengan replikasi sebanyak 3 kali, maka didadaptkan hasil rata-rata ekstrak kental sebanyak 3,81 gram dengan ekstraksi metode sokletasi dan hasil rata-rata ekstrak kental sebanyak 4,18 gram pada metode ekstraksi UAE. Hasil tersebut ditunjukkan pada tabel berikut ini:

Tabel 5.1 Hasil Ekstraksi Biji Coklat

Metode Ekstraksi	Replikasi	Ekstrak Kental (gram)	Rendemen (%)	Rata-rata±SD
Sokletasi	1	3,75	3,75	3,81±0,2219
	2	4,06	4,06	
	3	3,63	3,63	
UAE	1	4,19	4,19	4,18±0,1206
	2	4,05	4,05	
	3	4,29	4,29	

5.3 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia yang didapat pada penelitian dari ekstrak sokletasi dan UAE biji coklat menggunakan pelarut metanol 96% membuktikan bahwa sampel

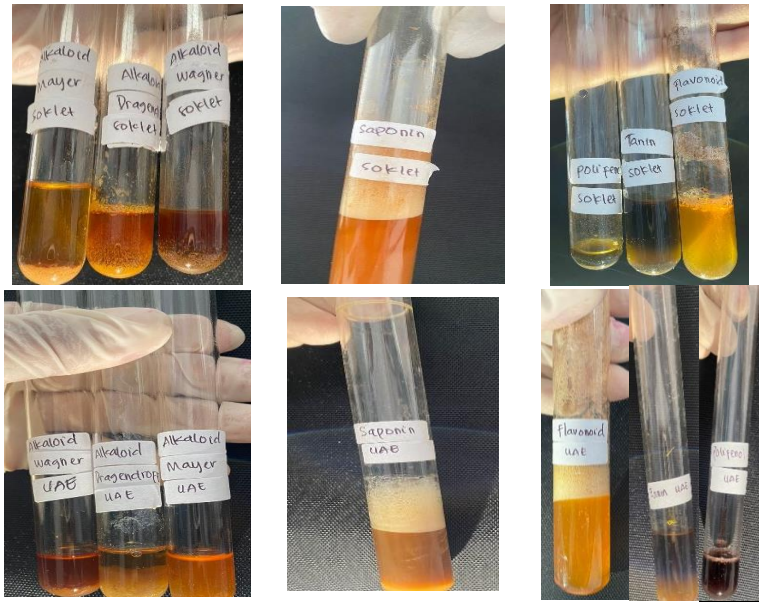
mengandung senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan polifenol. Hasil skrining fitokimia terlihat seperti tabel dibawah ini:

Tabel 5.2 Hasil Skrining Fitokimia Biji Coklat

Senyawa	Pereaksi	Hasil Menurut Literatur	Sokletasi		UAE	
			Hasil Pengamatan	Kesimpulan	Hasil Pengamatan	Kesimpulan
Alkaloid	Mayer	Adanya alkaloid ditunjukkan dengan adanya endapan putih (Ramadhan *et al*, 2020).	Terbentuknya endapan putih	(+)	Terbentuknya endapan putih	(+) (+)
	Dragendroff	Adanya alkaloid ditunjukkan dengan adanya endapan kuning kejinggan (Ramadhan *et al*, 2020).	Terbentuknya endapan kuning kejinggaan	(+)	Terbentuknya endapan kuning kejinggaan	(+)
	Wagner	Adanya alkaloid ditunjukkan dengan adanya endapan merah kecoklatan (Ramadhan *et al*, 2020).	Terbentuknya endapan merah kecoklatan	(+)	Terbentuknya endapan merah kecoklatan	(+)
Flavonoid	Serbuk Mg dan HCl pekat	Jika terbentuk warna kuning kejinggan menunjukkan adanya flavonoid (Ramadhan *et al*, 2020).	Terbentuknya warna kuning kejinggaan	(+)	Terbentuknya warna kuning kejinggaan	(+) (+)
Saponin	Aquadest	Terbentuknya busa selama kurang lebih 1cm busa tidak hilang menunjukkan adanya saponin (Ramadhan *et al*, 2020).	Terbentuknya busa yang stabil	(+) (+)	Terbentuknya busa yang stabil	(+)
Tanin	$FeCl_3$	Jika terbentuknya warna hitam	Terbentuknya warna hitam kehijauan	(+)	Terbentuknya warna hitam kehijauan	(+) (+)

		kehijauan menunjukkan adanya tanin (Herman *et al*, 2020).				
Polifenol	$FeCl_3$	Ternjadinya perubahan warna menjadi hitam kebiruan atau hitam kehijauan (Manongko *et al*, 2020).	Terbentuknya warna hitam kehijauan	(+)	Terbentuknya warna hitam kehijauan	(+) (+)

Keterangan: (+) adanya kandungan senyawa kimia



Gambar 5.1 Skrining Fitokimia

5.4 Uji Antijamur

Uji kekeruhan *Mc Farland 0,5* mendapatkan nilai absorbansi sebesar 0,097 dan untuk absorbansi suspensi jamur mendapatkan nilai sebesar 0,099. Hal ini dapat dilihat pada gambar 5.2.

Gambar 5.2 Larutan *Mc Farland* dan Suspensi Jamur *Candida albicans*

Hasil uji antijamur metode sokletasi memiliki daya hambat yang lebih kecil dibandingkan dengan metode UAE. Zona hambat metode sokletasi dengan kosentrasi 50% memiliki rata-rata sebesar 5,44±0,5652 dan zona hambat metode UAE dengan kosentrasi 50% memiliki rata-rata sebesar 6,60±0,6372. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak dari biji coklat memiliki aktivitas sebagai antijamur. Hasil Uji antijamur dapat dilihat pada tabel berikut ini:

Tabel 5.3 Hasil Pengukuran Zona Hambat

Sampel	**Replikasi**	**Metode Ekstraksi Biji Coklat**			
		Sokletasi (mm)	**Rata-rata±SD**	**UAE (mm)**	**Rata-rata±SD**
K+	1	24,74	24,47±0,6574	23,02	23,88±0,7712
	2	25,64		24,51	
	3	26,02		24,11	
K-	1	0	0	0	0
	2	0		0	
	3	0		0	
Perlakuan	1	4,79	5,44±0,5652 *	6,74	6,60±0,6372 *
	2	5,66		7,15	
	3	5,85		5,90	

Keterangan: ***** : Beda signifikan dengan K+

5.5 Analisa Data

Uji *One-Way* ANOVA dilakukan dengan cara melakukan perbandingan metode ekstraksi sokletasi dan UAE terhadap aktivitas antijamur *Candida albicans* pada ekstrak metanol biji coklat (*Theobroma cacao L.*) untuk melihat ada atau tidaknya pengaruh yang kemudian akan dilanjutkan uji Duncan jika adanya perbedaan yang signifikan P <0,05. Uji normalitas dan homogenitas dilkaukan terlebih dahulu dengan nilai signifikan P >0,05.

Tabel 5.4 Hasil Uji Normalitas

Kelompok Perlakuan	***Statistic***	**df**	**Sig.**	**Hasil**
Kontrol Positif	0,971	6	0,896	Normal
Kontrol Negartif	-	3	-	-
Sokletasi 50%	0,879	3	0,323	Normal
UAE 50%	0,962	3	0,626	Normal

Berdasarkan tabel 5.4 dapat dilihat hasil uji normalitas tersebut menunjukkan bahwa data terdistribusi secara normal dengan nilai signifikan *Shapiro Wilk* untuk masing-masing kelompok perlakuan sebesar P >0,05, maka dapat dilanjutkan dengan uji *One-Way* ANOVA.

Tabel 5.5 Hasil Uji Homogenitas

		Levene Statistic	**df1**	**df2**	**Sig.**	**Hasil**
Hasil Uji	*Based on Mean*	2,044	3	11	0,166	Homogen
	Based on Median	1,730	3	11	0,219	Homogen
	Based on Median and with adjused df	1,730	3	8,021	0,238	Homogen
	Based on trimmed mean	2,029	3	11	0,168	Homogen

Berdasarkan tabel 5.5 dapat dilihat hasil uji homogenitas tersebut menunjukkan bahwa nilai signifikan P >0,05 yang artinya data tersebut bersifat homogen, maka dari itu dapat dilanutkan dengan uji *One-Way* ANOVA.

Tabel 5.6 Hasil Uji One-Way ANOVA

	Sum of Squares	**df**	***Mean Square***	**F**	**Sig.**
Between Groups	1611,495	3	537,165	811,554	0,000
Within Groups	7,281	11	0,662		
Total	1618,775	14			

Berdasarkan tabel 5.6 menunjukkan bahwa uji aktivitas antijamur ekstrak biji coklat dengan metode ekstraksi sokletasi dan UAE mempunyai nilai signifikan sebesar 0,000 dengan nilai nyata P <0,05. Maka dapat diketahui bahwa metode ekstraksi berpengaruh terhadap diameter zona hambat pertumbuhan dari jamur *Candida albicans.*

Tabel 5.7 Hasil Uji Post-Hoc Duncan

Duncan[a,b]				
Perlakuan	**N**	**Subset for alpha = 0.05**		
		1	**2**	**3**
Kontrol - DMSO 10%	3	0,0000		
Soklet 50%	3		5,4333	
UAE 50%	3		6,5967	
Kontrol + Nystatin	6			24,6733
Sig.		1,000	0,088	1,000

Berdasarkan tabel 5.7 Hasil Uji *Post-Hoc* Duncan berikut menunjukkan bahwa tidak adanya perbedaan nyata yang secara signifikan antara metode ekstraksi biji coklat dengan metode UAE dan metode sokletasi terhadap aktivitas antijamur *Candida albicans.*

BAB 6 PEMBAHASAN

6.1 Ekstraksi Sokletasi dan UAE

Ekstraksi adalah proses pemisahan bahan aktif dari campuran hasil perendaman dalam pelarut tertentu. Ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara kosentrasi senyawa dalam pelarut dan kosentrasi dalam sel tanaman (Prayudo *et al,* 2015). Dalam penelitian, sokletasi dan UAE dipilih sebagai metode ekstraksi. Metode ekstraksi sokletasi memiliki beberapa keunggulan seperti pelarut yang digunakan lebih sedikit dan lebih ekonomis, sedangkan metode UAE menghasilkan nilai rendemen yang lebih tinggi dibandingkan dengan metode sokletasi serta wakttu prosesnya lebih singkat.

Metanol dipilih sebagai pelarut dalam ekstraksi sokletasi dan UAE karena menurut penelitian yang dilakukan Apriasari (2015) metanol merupakan pelarut organik yang lebih polar dibandingkan etanol karena mengandung atom C lebih sedikit. Dengan demikian senyawa yang diikat oleh etanol lebih non-polar daripada metanol, sehingga kosentrasi total flavonoid dalam metanol lebih tinggi daripada etanol. Hasilnya, pada ekstraksi batang pisang mauli dengan mengguakan pelarut metanol memiliki aktivitas sebagai antijamur *Candida albicans* lebih kuat dibandingkan dengan ekstrak etanol. Efektivitasnya sebagai agen antibakteri tergantung dengan jenis fenolat yang ada terutama pada senyawa tanin dan flavonoid. Apriasari (2015) juga menyimpulkan bahwa ekstrak metanol batang pisang mauli juga mengandung flavonoid yang lebih banyak dibandingkan dengan

ekstrak etanol batang pisang mauli. Karena itu, ekstrak metanol memiliki aktivitas antijamur yang lebih tinggi dari ekstrak etanol.

Hasil ekstraksi metode sokletasi dan UAE memmbuktikan terdapat perbedaan hasil ekstrak kental dan rendemen. Ekstraksi biji coklat dengan metode sokletasi menghasilkan rata-rata 3,81 gram ±0,2219 ekstrak kental, sedangkan ekstraksi biji coklat dengan metode UAE menghasilkan rata-rata 4,18 gram ±0,1206. Dimana hasil rata-rata ekstrak dengan menggunakan metode UAE lebih banyak daripada dengan menggunakan metode sokletasi.

6.2 Skrining Fitokimia

Ekstrak kental biji coklat yang diperoleh dari metode sokletasi dan UAE dilakukan uji skrining fitokimia. Dalam Agustin (2022), Khotimah (2016) menyatakan bahwa skrining fitokimia adalah suatu metode untuk mengidentifikasi senyawa yang tidak dapat dilihat dengan suatu tes atau penilian yang dapat dengan cepat membedakan bahan alam yang tidak mengandung fitokimia. Skrining fitokimia merupakan tahapan awal penelitian fitokimia yang bertujuan untuk memberikan gambaran tentang golongan zat yang terkandung dalam tumbuhan yang diteliti (Agustin, 2022). Hasil skrining fitikimia ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Nuraskin *et al,* (2022) yang menunjukkan bahwa hasil uji identifikasi ekstrak metanol biji coklat mengandung senyawa alkaloid, terpenoid, saponin, flavonoid, fenolik dan tanin (Nuraskin, Reca *and* Salfiyadi, 2022).

Pada penelitian ini ditemukan juga senyawa alkaloid pada ekstrak metanol biji coklat dengan metode sokletasi dan UAE, dimana pengujian alkaloid menggunakan 3 pereaksi yakni *Mayer*, *Dragendroff* dan *Wagner*. Hasil pengujian ditunjukkan

dengan adanya endapan putih dengan pereaksi *Mayer*, endapan kuning kejinggan dengan pereaksi *Dragendroff* dan endapan merah kecoklatan dengan pereaksi *Wagner*. Menurut penelitian Ramadhan (2020) dalam Hafsari *et al*, (2016) mekanisme alkaloid yakni dengan mengganggu komponen peptidoglikan yang menyebabkan lapisan dinding sel tidak dapat terbentuk secara utuh yang menyebabkan kematian sel. Hal tersebut yang menyebabkan adanya endapat putih.

Pada penelitian ini ditemukan senyawa flavonoid pada ekstrak metanol biji coklat dengan metode sokletasi dan UAE, dimana pengujian flavonoid ditunjukkan dengan adanya warna kunig kejinggaan. Menurut Ramadhan dalam Hafsari *et al*, (2016) mekanisme antibakteri dapan menghancurkan komponen membran sitoplasma yang dapat menyebabkan kematian sel dan dapat mendenaturasi serta menginaktifkan protein ataupun enzim.

Pada penelitian ini ditemukan senyawa saponin pada ekstrak metanol biji coklat dengan metode sokletasi dan UAE, dimana pengujian saponin ditunjukkan dengan adanya busa yang stabil dengan panjang 2cm kurang lebih dalam kurun waktu 10 menit busa tersebut tidaklah hilang. Menurut penelitian Ramadhan (2020) senyawa ini memiliki efek yang kuat pada bakteri gram positif. Sifat saponin didasarkan pada mekanisme kerjanya yang dapat meningkatkan permeabilitas membran sel, membuatnya tidak stabil dan menyebabkan hemolisis sel.

Pada penelitian ditemukan senyawa tanin pada ekstrak metanol biji coklat dengan metode sokletasi dan UAE, dimana pengujian tanin menujukkan terbentuknya warna hitam kehijauan. Menurut penelitian Alfiah *et al*, (2015) tanin memiliki kemampuan untuk mencegah sistesis kitin yang digunakan dalam

pembentukan dinding sel dan merusak membran sel, tanin juga merupakan senyawa lipofilik yang mudah berikatan dengan dinding sel dan mudah merusak dinding sel.

Pada penelitian ditemukan senyawa polifenol pada ekstrak metanol biji coklat dengan metode sokletasi dan UAE, dimana pengujian polifenol ini menunjukkan adanya warna hitam kehijauan. Menurut Arifin *et al,* (2018) mekanisme fenol dengan cara menghambat pembentukan hifa dengan menargetkan agen TUP1 yang berperan dalam pembentukan hifa pada jamur.

6.3 Uji Antijamur

Aktifitas antijamur ditentukan dengan metode difusi agar menggunakan sumuran. Metode ini dipilih karena dapat dengan mudah mengukur zona hambat yang terbentuk disekitaran sumuran, bakteri aktif yang hidup tidak hanya dibagian atas media agar tetapi juga sampai ke bagian bawah selain itu juga pengerjaannya sederhana dan memberikan hasil yang diharapkan. Menurut Khusuma (2019) pada uji dengan kertas cakram (uji kirby bauer), tumpukan kertas yang menyusun cakram disk juga mempengaruhi diameter zona hambat yang dihasilkan. Semakin tinggi tumpukan kertas, semakin kecil diameter area yang tersumbat. Sebaliknya pada metode difusi sumuran terjadi kontak langsung antara bahan uji atau ekstrak senyawa antibakteri dan media agar yang didalamnya mengandung bakteri atau jamur, maka bahan uji langsung terserap dan terjadi kontak langsung antara senyawa uji dengan bakteri ataupun jamur tersebut (Khusuma *et al*, 2019).

Media agar yang digunakan dalam penelitian ini yaitu media PDA, karena berdaarkan penelitian yang dilakukan oleh Aini and Rahayu (2015) berdasarkan

polupasinya media umbi garut merupakan media terbaik untuk pertumbuhan jamur *Candida albicans* dan *Aspergillus* niger, namun untuk melihat ukuran koloninya media PDA adalah yang terbaik diantara yang lainnya. Ada dua hal yang perlu dipertimbangkan ketika memilih kedua hal tersebut. Media PDA untuk pertumbuhan jamur *Candida albicans* merupakan media terbaik dibandingkan dengan media alternatif, sedangkan media alternatif terbaik adalah media ganyong, kemudian media umbi garut dan terakhir media umbi gembili (Aini and Rahayu, 2015).

Hasil uji antijamur menunjukkan bahwa ekstrak metanol biji coklat menghambat jamur *Candida albicans*. Hal ini ditunjukkan dengan adanya zona bening disekitaran sumuran yang terbentuk. Hasil uji antijamur metode UAE dengan nilai daya hambat 6,60mm ±0,6372 menunjukkan daya hambat yang lebih besar dibandingkan dengan metode sokletasi yang memiliki nilai daya hambat 5,44mm ±0,5652, karena itu kemampuan membunuh bakteri uji pada ekstrak biji coklat dengan metode UAE lebih baik. Menurut Ibrahim *et al,* (2015) menyatakan bahwa suhu ektraksi yang terlalu tinggi, dan waktu ekstraksi yang lama dapat menyebabkan senyawa hilang dalam larutan akibat penguapan dan sebaliknya, jika suhu ekstraksi terlalu rendah tidak semua zat aktif terekstraksi dari bahan dan membentuk senyawa dengan aktivitas lemah. Dikutip dari Handayani and Sriherfyna (2016) dalam penelitian Yuliantari *et al,* (2017) bahwa komponen bioaktif seperti flavonoid tidak dapat tahan dengan suhu diatas 50^{o}C, sehingga dapat mengalami perubahan struktur dan menghasilkan ekstraksi yang rendah.

Suhu ekstraksi yang terlalu rendah dan waktu ekstraksi yang terlalu singkat menyebabkan hasil yang rendah (Yuliantari, Widarta and Permana, 2017).

Nystatin sebagai kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini menunjukkan diameter zona hambat dengan rata-rata zona hambat sebesar 23,88mm sampai 25,47mm. Nystatin dipilih sebagai kontrol positif karena sifatnya yang dapat menghambat pertumbuhan jamur dan ragi, tetapi tidak aktif terhadap bakteri serta protozoa. Nystatin hanya diikat oleh jamur atau ragi yang sensitif saja (Novi Yanti and Mudatsir, 2016). Nystatin adalah obat antijamur yang digunakan untuk mengobati infeksi kandidiasis oleh jaur *Candida albicans.* Mekanisme kerja nystatin adalah dengan merusak permeabilitas membran dan transportasi sel yang mengakibatkan hilangnya makromolekul dari sel jamur (Hardani *et al,* 2020).

Perbedaan besar kecilnya zona hambat yang terbentuk disebabkan oleh perbedaan kandungan bahan aktif antijamur yang terdapat didalamnya dan kecepatan difusi medium agar yang digunakan. Menurut Handayani (2016) dalam Agustin (2022) bahwa ekstraksi dengan metode sonikasi kandungan senyawa flavonoidnya akan lebih banyak, oleh kaena itu hasil ekstraksi dengan metode sonikasi daya hambatnya besar. Pada penelitian Angelina (2012) bahwa pada kosentrasi 12,5%, 25% dan 50% menunjukkan semakin menurunnya jumlah koloni jamur *Candida albicans*. Penurunan jumlah koloni tersebut diakibatkan semakin tinggi kosentrasi ekstrak biji coklat, maka semakin banyak kandungan senyawa polifenol didalam larutan. Polifenol memiliki aktivitas mikrobsida yang merupakan senyawa berfungsi untuk mengurangi infeksi mikroba seperti virus, bakteri atau jamur. Selain itu, polifenol juga melakukan interaksi lain dengan mengurangi

aktivitas perlekatan mikroba yang diperlukan untuk kolonisasi inang dan mempengaruhi transpor protein dalam membran sel (Angelina, 2012).

Terbentuknya zona hambat disekitar sumuran disebabkan oleh aktivitas senyawa yang bertindak sebagai antijamur terhadap jamur *Candida albicans*. Kandungan senyawa kimia tersebut memiliki mekanisme kerja yang berbeda-beda dalam menghambat jamur *Candida albicans*. Menurut hasil skrining dari ekstrak biji coklat memiliki senyawa fitokimia seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan polifenol yang dapat menghambat pertumbuhan jamur dengan mekanisme kerja senyawa alkaloid didasarkan pada penghambatan pertumbuhan sistem pernafasan sel dan pembentukan protein, sehingga mengakibatkan kematian jamur. Komponen penyusun peptidoglikan pada dinding sel dirusak oleh senyawa alkaloid sehingga komponen tersebut tidak berbentuk utuh lagi. Dampak lain dengan adanya alkaloid adalah kebocoran membran sel dan hilangnya beberapa bahan intrasel seprti elektrolit (terutama senyawa kalium) dan molekul-molekul lainnya (Triasih, 2022).

Peran flavonoid sebagai agen antijamur adalah senyawa flavonoid yang berikatan dengan protein melalui ikatan hidrogen dan merusak struktur protein. Ketidakstabilan dinding sel jamur dan membran sitoplasma menyebabkan fungsi permeabilitas menjadi selektif, mengganggu fungsi transport aktif dan pengendalian susunan protein sel fungsi menjadi terganggu. Flavonoid mendenaturasi protein, sehingga meningkatkan permeabilitas membran sel (Hartini, 2017).

Mekanisme senyawa saponin dalam menghambat pertumbuhan jamur ialah dengan meningkatkan permeabilitas dinding sel jamur yang mengakibatkan cairan sel yang mengandung enzim, protein dan materi metabolisme tertarik keluar sel dan menyebabkan pertumbuhan jamur menjadi terganggu (Triasih, 2022). Mekanisme senyawa kimia tanin adalah dengan kemampuannya untuk menghambat sintesis kitin yang digunakan untuk membentuk dinding sel jamur dan merusak membran sel, dan mencegah pertumbuhan jamur. Menurut Najib (2009) dalam Alfiah (2015) menyatakan bahwa tanin merupakan senyawa lipofilik yang mudah berikatan dengan dinding sel dan merusak dinding sel jamur (Alfiah *et al*, 2015).

Setelah itu data yang diperoleh dari hasil uji aktivitas antijamur diolah dengan uji statistik SPSS yaitu uji *One-Way* ANOVA. Syarat uji ANOVA adalah normalitas dan homogenitas variasinya. Pada penelitian ini diperoleh nilai yang signifikan kontrol positif p= 0,896, metode sokletasi 50% p= 0,323 dan metode UAE 50% p= 0,626. Nilai signifikan dari masing-masing sampel adalah p >0.05, maka dapat disimpulkan bahwa varian data tersebut terdistribusi normal. Setelah itu dilakukan uji homogenitas diperoleh nilai yang signifikan pada Leavene Statistik p= 0,238. Nilai signifikan dari sampel adalah p >0,05, maka dapat disimpulkam data terdistribusi secara homogen. Kemudian data tersebut dapat dilanjutkan dengan Uji *One-Way* ANOVA dengan nilai signifikan p <0,05 karena data dari uji normalitas dan homogenitas sudah memenuhi syarat.

Selanjutnya dilakukan uji *Post-Hoc* Duncan sebagai uji lanjutan untuk mengetahui apakah ada berbedaan signifikan. Hasil dari uji *Post-Hoc* Duncan

menunjukkan zona hambat kontrol positif jamur *Candida albicans* berbeda nyata dengan kontrol negatif, sokletasi 50%, dan UAE 50%. Untuk zona hambat kontrol negatif jamur *Candida albicans* berbeda nyata dengan kontrol positif, sokletasi 50%, dan UAE 50%. Sedangkan untuk zona hambat sokletasi 50% dengan UAE 50% tidak menunjukkan adanya perbedaan nyata secara signifikan. Begitu pula dengan uji *Post-Hoc* Duncan yang menunjukkan bahwa tidak adanya perbedaan nyata secara signifikan antara metode ekstraksi biji coklat terhadap aktivitas antijamur *Candida albicans*. Hal ini didukung penelitian yang dilakukan oleh Sanny (2022) pada kosentrasi 50% ekstrak etanol biji coklat dengan menggunakan difusi cakram bahwa metode ekstraksi tidak menunjukkan adanya hasil perbedaan secara signifikan.

Penelitian ini memiliki kekurangan yang perlu diperbaiki lagi dalam penelitian selanjutnya. Pada penelitian ini tidak dilakukannya penentuan kadar senyawa yang terdapat di dalam ekstrak metanol biji coklat, maka dari itu tidak diketahui secara spesifik pengaruh metode ekstraksi sokletasi dengan UAE ekstrak biji coklat terhadap kandungan senyawa kimia yang diujikan. Serta penelitian ini dapat ditingkatkan lagi untuk kosentrasi yang digunakan sehingga hasil zona hambat yang didapat bisa lebih besar lagi dan dapat menunjukkan perbebedaan yang signifikan.

BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dari penelitian ini, maka dapat disumpulkan bahwa:

1. Metode UAE dan metode sokletasi tidak memiliki perbedaan kandungan senyawa kimia dari uji skrining fitokimia ekstrak metanol biji coklat seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan polifenol.
2. Hasil uji antijamur metode ekstraksi mempengaruhi aktivitas antijamur *Candida albicans* ditunjukkan dengan adanya diameter zona hambat. Dimana nilai diameter zona hambat metode sokletasi dan metode UAE tidak memperlihatkan adanya perbedaan secara signifikan.

7.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini, maka dapat disarankan untuk:

1. Melakukan penelitian lebih lanjut terhadap ekstrak biji coklat yang diperoleh dari pelarut lain.
2. Melakukan penelitian lebih lanjut terkait dengan pembuatan formulasi produk ekstrak biji coklat sebagai pengobatan infeksi yang disebabkan oleh jamur *Candida albicans.*
3. Melakukan pengembangan potensi antibakteri dapat dieksplor lebih jauh oleh Lembaga Puslit Kab. Jember dengan memanfaatkan senyawa kimia sebagai produk bermanfaat seperti formulasi sabun dari ekstrak coklat.

DAFTAR PUSTAKA

Adi, P. Aulia Hapsari, Y., Nurin Nafilah, A., Arifin, Z. (2019). 'Jumlah Fibroblas dan Angiogenesis Setelah Pemberian Gel Getah Jarak Cina Pada Ulserasi Tikus Wistar'. *E-Prodenta Journal of Dentistry*, 3(1), p. 180. Available at: https://doi.org/10.21776/ub.eprodenta.2019.003.01.1.

Agustin, D.B. (2022). 'Pengaruh Metode ektraksi Kulit Biji Kakao *(Theobroma Cacao L.)* Terhadap Aktivitas Antibakteri *Streptococcus Mutans*'. Universitas dr. Soebandi. Available at: http://repository.stikesdrsoebandi.ac.id/462/1/18040027 Dianty Bella Agustin.pdf.

Aini, N. and Rahayu, T. (2015). 'Media Alternatif untuk Pertumbuhan Jamur Menggunakan Sumber Karbohidrat yang Berbeda'. *Jurnal Ilmu Kesehatan*, 3(5), p. 863. Available at: https://media.neliti.com/media/publications/175619-ID-none.pdf.

Alfiah, R.R., Khotimah, S. and Turnip, M. (2015). 'Efektivitas Ekstrak Metanol Daun Sembung Rambat *(Mikania micrantha Kunth)* Terhadap Pertumbuhan Jamur Candida albicans'. *Journal Protobiont*, 4(1), p. 55.

Ali, B. (2019). 'Analisis Sistem Pendukung Keputusan Pemilihan Bibit Kakao Menggunakan Metode AHP'. *Jurnal Ilmiah d'Computare*, 9, p. 12. Available at: https://journal.uncp.ac.id/index.php/computare/article/view/1468.

Ananta, D.A., Ganda Putra, G.P. and Arnata, I.W. (2021). 'Pengaruh Suhu dan Waktu Maserasi Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Kakao *(Theobroma cacao L.)*'. *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*, 9(2), p. 187. Available at: https://doi.org/10.24843/jrma.2021.v09.i02.p04.

Angelina, R. (2012). 'Ekstrak Biji Kakao Sebagai Pembersih Gigi Tiruan Akrilik Terhadap Jumlah Koloni *Candida albicans*'. Universitas Airlangga. Available at: https://repository.unair.ac.id/18950/1/gdlhub-gdl-s1-2012-angelinari-20377-kg75-12-e.pdf.

Apriasari, M.L. (2015). 'Aktivitas Antifungi Ekstrak Etanol dan Metanol Batang Pisang Mauli 100%'. *Jurnal Kedokteran Gigi Unej*, 12(1), p. 28. Available at: https://jurnal.unej.ac.id/index.php/STOMA/article/view/2749.

Aprillia, D.N. and Suryadarma, P. (2020). 'Pemanfaatan Biji Kakao dalam Pembuatan Olahan Selai Coklat'. *Pusat Inovasi Masyarakat*, 2(3), p. 446. Available at: https://journal.ipb.ac.id/index.php/pim/article/download/31308/19975/.

Arfitasari, R.D. (2015). 'Analisis Efisiensi Teknis Penggunaan Faktor-Faktor Produksi Komoditas Kakao Bulk Pada PTPN XII Kebun Banjarsari Jember'. *Skripsi Fakultas Pertanian Universitas jember*. Universitas

Jember. Available at: https://repository.unej.ac.id/bitstream/handle/123456789/72890/Rikinta Desi Arfitasari cover 123.pdf?sequence=1.

Arifin, Z., Khotimah, S. and Rahmayanti, S. (2018). 'Aktivitas Antijamur Ekstrak Etil Asetat Daun Mangga Bacang *(Mangifera foetida L.)* Terhadap *Candida albicans* Secara In Vitro'. *Jurnal Cerebellum*, 4(3), p. 1112.

Asmara, C.C. (2021). 'Skrining Fitokimia dan Uji Akivitas Antifungi Terhadap *Candida albicans* dari Ekstrak Etanol, Larut Etil Asetat dan Tidak Larut Etil asetat Kulit Batang Durian *(Durio zibethinus Murr)*'. *Skripsi*.

Attahmid, N.F.U., Rauf, A. and Yusuf, M. (2021). 'Formulasi Minuman Imunomodulator Dari Biji Kakao Pilihan Klon Sulawesi Barat Dengan Penambahan Kayu Manis (*Cinnammomum cassia)*'. 21(2), p. 2. Available at: https://ppnp.e-journal.id/agrokompleks/article/view/333.

Burhanudin, M.A. (2021 . 'Pengaruh Berbagai Media Tanam Terhadap Pertumbuhan Bibit Kakao *(Theobroma cacao L.)* Di Polybag'. *Fakultas Pertanian Universitas Batanghari Jambi*. Universitas Batanghari Jambi. Available at: http://repository.unbari.ac.id/588/1/M Ali Burhan 1400854211005.pdf.

Candrasari, D.S. (2014). 'Kajian Molekuler Resistensi Candida albicans Terhadap Antifungi'. *Farmasi Sains Dan Komunitas*, 11(1), p. 44;46;47. Available at: https://media.neliti.com/media/publications/229845-kajian-molekuler-resistensi-candida-albi-289daf0f.pdf.

Chairani, A. and Harfiani, E. (2018). 'Efektivitas Getah Jarak Sebagai Antiseptik terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus, Escherichia coli* dan *Candida sp.* Secara In Vitro'. *JK Unila*, 2(2), p. 88. Available at: https://juke.kedokteran.unila.ac.id/index.php/JK/article/download/1942/1909.

Chairunnisa, S., Wartini, N.M. and Suhendra, L. (2019). 'Pengaruh Suhu dan Waktu Maserasi terhadap Karakteristik Ekstrak Daun Bidara *(Ziziphus mauritiana L.)* Sebagai Sumber Saponin'. *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*, 7(4), p. 552;553. Available at: https://doi.org/10.24843/jrma.2019.v07.i04.p07.

Diyanti, R., Dewi, S.S. and Iswara, A. (2018). 'Daya Hambat Ekstrak Etanol Buah Alpukat *(Persea americana Mill)* Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*'. *Universitas Muhammadiyah Semarang*. Available at: http://repository.unimus.ac.id/2283/1/ABSTRAK.pdf.

Diyantika, D., Mufida, D.C. and Misnawi. (2017). 'Perubahan Morfologi *Staphylococcus aureus* Akibat Paparan Ekstrak Etanol Biji Kakao *(Theobroma cacao)* Secara In Vitro'. *Journal of Agromedicine and Medical Sciences*, 3(1), p. 26;27. Available at: https://jurnal.unej.ac.id/index.php/JAMS/article/download/4094/3200.

Dwiarti, R. and Wibowo, A.B. (2018). 'Analysis of the Effect of Level of

Education, Compensation, and Work Environment on the Employee Performance in Pt Taman Wisata Candi Prambanan'. *Jpsb*, 6(2), p. 161.

Fadli, A. (2017). 'Media Alami Untuk Pertumbuhan Jamur *Candida albicans* Penyebab Kandidiasis Dari Tepung Biji Kluwih *(Artocarpus communis)*'. *Jurnal Kesehatan Prima*, 11(2), p. 162. Available at: https://poltekkes-mataram.ac.id/wp-content/uploads/2018/01/10.-Yunan-Jiwintarum.pdf.

Farhanandi, B.W. and Indah, N.K. (2022). 'Karakteristik Morfologi dan Anatomi Tanaman Kakao *(Theobroma cacao L.)* yang Tumbuh Pada Ketinggian Berbeda'. *LenteraBio : Berkala Ilmiah Biologi*, 11(2), p. 311. Available at: https://doi.org/10.26740/lenterabio.v11n2.p310-325.

Fathurrahman, N.R. and Musfiroh, I. (2018). 'Artikel Tinjauan: Teknik Analisis Instrumentasi Senyawa Tanin'. *Farmaka*, 16(2), pp. 449–450.

Fitri, W.E. and Putra, A. (2021). 'Peranan Senyawa Flavonoid Dalam Meningkatkan Sistem Imun Di Masa Pandemi Covid-19'. *Prosiding Seminar Nasional STIKES Syedza Saintika*, 1(1), p. 62. Available at: https://jurnal.syedzasaintika.ac.id/index.php/PSNSYS/article/view/909.

Fitria, H. (2020). 'Formulasi Sediaan Salep Minyak Atsiri Kemangi *(Ocimum basilicum)* dan Uji Aktivitas Antijamur Pada *Candida albicans*'. *Skripsi*. Universitas Islam Indonesia Yogyakarta. Available at: https://dspace.uii.ac.id/bitstream/handle/123456789/23549/16612007.pdf?sequence=1&isAllowed=y.

Fitriana, Y.A.N., Fatimah, V.A.N. and Fitri, A.S. (2020). 'Aktivitas Anti Bakteri Daun Sirih: Uji Ekstrak KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bakterisidal Minimum)'. *Sainteks*, 16(2), p. 104. Available at: https://doi.org/10.30595/sainteks.v16i2.7126.

Handaratri, A. and Yuniati, Y. (2019). 'Kajian Ekstraksi Antosianin dari Buah Murbei dengan Metode Sonikasi dan Microwave'. *Jurnal Ilmiah Teknik Sipil dan Teknik Kimia*, 4(1), p. 64. Available at: https://doi.org/10.33366/rekabuana.v4i1.1162.

Hardani, R., Krisna, I K. A., Hamzah, B., Hardani, M. F. (2020). 'Uji Anti Jamur Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia L.*)'. *Jurnal IPA & Pembelajaran IPA*, 4(1), p. 97. Available at: https://doi.org/10.24815/jipi.v4i1.16579.

Hartini .(2017). 'Uji Aktivitas Antifungi Ekstrak Sarang Lebah dari Luwu Utara terhadap *Candida albicans*'. *Skripsi. Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar*. Available at: http://repositori.uin-alauddin.ac.id/id/eprint/4125.

Hasanah, M., Tasriyanti, F. and Darwis, D. (2015). 'Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Benalu Sawo *(Helixanthere Sp)* Hasil Ekstraksi Soxhletasi dan Perkolasi'. *Prosiding SNaPP*, 1(1), pp. 189–194.

Hasrianti, Nururrahmah and Nurasia. (2016). 'Pemanfaatan Ekstrak Bawang Merah

dan Asam Asetat Sebagai Pengawet Alami'. *Dinamika*, 07(1), pp. 9–30.

Herman, Septriyanti, I., Ramadhani, T R., Ade, P., Yulis, R., Putra, A. Y. (2020). 'Ekstrak Etanol Limbah Kulit Buah Kakao *(Theobroma Cacao L.)* Sebagai Bahan Baku Berpotensi Obat'. *Journal Education and Chemistry*, 2(2), p. 58. Available at: https://core.ac.uk/download/pdf/328167805.pdf.

Hikmawanti, N.P.E., Fatmawati, S., Arifin, Z., Vindianita. (2021) 'Pengaruh Variasi Metode Ekstraksi Terhadap Perolehan Senyawa Antioksidan Pada Daun Katuk (*Sauropus androgynus (L.) Merr*)'. *Jurnal Farmasi Udayana*, 10(1), pp. 2-3;10. Available at: https://doi.org/10.24843/jfu.2021.v10.i01.p01.

Julianto, T.S. (2019). 'Analisis Fitokimia Tinjauan Metabolisme sekunder dan Skrining Fitokimia'. *Jakarta penerbit buku kedokteran EGC*. Yogyakarta: Universitas Islam Indonesia. Available at: https://chemistry.uii.ac.id/Tatang/Fitokimia.pdf.

Kandoli, F., Abijulu, J. and Leman, M. (2016). 'Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Durian *(Durio zybethinus)* Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* Secara In Vitro'. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 5(1), p. 49.

Karim, S.F. (2014). 'Uji Aktivitas Infusa Daun Srikaya *(Annona squamosa L.* Terhadap Penurunan Kadar Asam Urat Dalam Darah Mencit *(Mus musculus)*'. *Fakultas Ilmu Kesehatan*. UIN Alauddin Makassar. Available at: http://repositori.uin-alauddin.ac.id/2192/1/Suhrah Febrina Karim.pdf.

Kevin and Kadiwijati, L.R. (2018). 'Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Ekstrak Metanol Biji Kakao *(Theobroma cacao L.)* Terhadap Aktivitas Antibakteri Pada *Bacteri Propionibacterium acnes* Dan *Staphylococcus epidermis* Secara In Vitro'. *Indonesia Natural research Pharmaceutical*, 3(2502–8421). Available at: https://media.neliti.com/media/publications/341715-pengaruh-perbedn-konsentrasi-ekstrak-met-a5ab97ce.pdf.

Khusuma, A., Safitri, Y., Yuniarni, A., Rizki, K.(2019). 'Uji Teknik Difusi Menggunakan Kertas Saring Media Tampung Antibiotik dengan *Escherichia Coli* Sebagai Bakteri Uji'. *Jurnal Kesehatan Prima*, 13(2), p. 154. Available at: https://doi.org/10.32807/jkp.v13i2.257.

Kiswandono, A.A. (2017). 'Perbandingan Dua Ekstraksi Yang Berbeda Pada Daun Kelor *(Moringa oleifera, lamk)* Terhadap Rendemen Ekstrak Dan Senyawa Bioaktif Yang Dihasilkan'. *Jurnal Sains Natural*, 1(1), p. 53. Available at: https://doi.org/10.31938/jsn.v1i1.13.

Komala, R.D. (2017). 'Jurnal Fakultas Ilmu Terapan Universitas Telkom'. *Jurnal Fakultas Ilmu Terapan Universitas Telkom*, 3(2), pp. 330–337.

Komariah and Sjam, R. (2012). 'Kolonisasi Candida dalam Rongga Mulut'. *Majalah Kedokteran FK UKI*, XXVIII(1), p. 41.

Kurniawati, A. and Swasti (2016). 'Management of Recurrent Aphthous Stomatitis with Reproductive Hormones Predisposing Factor (Case Report)'. 4(1), p.

366.

Laboko, A. and Nurhasafah. (2020). 'Mutu Komponen Aktif Minuman Instan Kakao dengan Penambahan *Curcuma Xanthorriza Roxb*, *Suparyanto* dan *Rosad*'. Edited by P. Ishak. Gorontalo: Penerbit CV. Cahaya Arsh Publisher & Printing. Available at: http://repository.pertanian.go.id/bitstream/handle/123456789/15320/Buku Minuman Instant Kakao.pdf?sequence=1&isAllowed=y.

Lalu Mulyawan Mustika Candra1, Y.A. and Wirasisya, D.G. (2021). 'Pengaruh Ekstraksi Terhadap Kangdungan Fenolik Total Dan Flavonoid Total Pada Ekstrak Etanol Buncis *(Phaseolus vulgaris L.)*'. 16(3), pp. 397–405. Available at: https://doi.org/10.29303/jpm.v16i3.2308.

Lestari, J.H.S. (2016). 'Dekok Daun Kersen *(Muntingia calabura)* Sebagai Cairan Sanitasi Tangan Dan Buah Apel Manalagi *(Malus sylvestris)*'. Universitas Atma Jaya Yogyakarta. Available at: http://e-journal.uajy.ac.id/9682/1/Jurnalbl01236.pdf.

Lili, S., Nikman, A. and Hartati. (2022). 'Analisis Pengaruh Penambahan Bubuk Coklat *(Theobroma cacao)* Terhadap Sifat Fisik, Kadar Lemak, Protein, Karbohidrat Dan Organoleptik Mutu Kopi'. *Jurnal Sains Dan Terapan*, 1(3), p. 188. Available at: https://jurnal.jomparnd.com/index.php/js/article/download/245/432.

Liliany, N.F. (2018) . 'Daya Hambat Ekstrak Buah Pepaya *(Carica papaya L.)* Varietas Thailand Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*'. *Skripsi*.

Maimunah, S. (2021). 'Pengaruh Waktu Maserasi Terhadap Kadar Alkaloid Total Pada Brokoli *(Brassica oleracea var. italica)* Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis'. Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Akbidyo. Available at: http://digilib.akbidyo.ac.id/files/berbagi/Skripsi maimunah.pdf.

Makatambah, V., Fatimawali, F. and Rundengan, G. (2020). 'Analisis Senyawa Tannin Dan Aktifitas Antibakteri Fraksi Buah Sirih *(Piper betle L.)* Terhadap *Streptococcus mutans*'. *Jurnal MIPA*, 9(2), p. 75. Available at: https://doi.org/10.35799/jmuo.9.2.2020.28922.

Manongko, P.S., Sangi, M.S. and Momuat, L.I. (2020). 'Uji Senyawa Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Tanaman Patah Tulang *(Euphorbia tirucalli L.)*'. *Jurnal Mipa*, 9(2), p. 65. Available at: https://doi.org/10.35799/jmuo.9.2.2020.28725.

Marsono, O.S., Susilorini, T.E. and Surjowardojo, P. (2017). 'Pengaruh Lama Penyimpanan Dekok Daun Sirih Hijau (*Piper betle L.)* Terhadap Aktivitas Daya Hambat Bakteri *Streptococcus Agalactiae* Penyebab Matitis Pada Sapi Perah'. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Hasil Ternak*, 12(1), p. 48. Available at: https://jitek.ub.ac.id/index.php/jitek/article/view/258.

Martono, B. (2014). 'Karakteristik Morfologi Dan Kegiatan Plasma Nutfah Tanaman Kakao'. *Inovasi Teknologi Bioindustri Kakao*, pp. 18–19.

Available at: http://repository.pertanian.go.id/bitstream/handle/123456789/15504/02a. karakteristik morfologi dan kegiatan plasma nutfah tanaman kakao.pdf?sequence=1.

Mauliyanti, R. (2017). 'Uji Aktivitas Gel Ekstrak Etanol Daun Cempedak *(Arthocarpus Champeden)* Terhadap Bakteri Penyebab Jerawat'. *Universitas Islam Negeri Alauddin*. Universitas Islam Negeri Alauddin. Available at: http://repositori.uin-alauddin.ac.id/13599/1/Rezky Mauliyanti_70100113058.pdf.

Minarni, A., Widarti and Rahman, R. (2020). 'Uji Daya Hambat Beberapa Jenis Obat Antijamur Pada Jamur Yang Di Isolasi Dari Kuku Kaki'. *Jurnal Media Analis Kesehatan*, 11(2), p. 121. Available at: https://doi.org/10.32382/mak.v11i2.1784.

Moslem, A.H.A. (2022). 'Pengaruh Pelarut *Naturan Deep Eutectic Solvents* Terhadap Aktivitas Antijamur Ekstrak Daun Suruhan *(Peperomia pellucida L.)* Pada *Candida albicans*'. Universitas dr. Soebandi. Available at: http://repository.stikesdrsoebandi.ac.id/682/.

Mukhariani. (2014).'Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif'. *Jurnal Kesehatan*, 7, p. 362;363;365. Available at: https://media.neliti.com/media/publications/137566-ID-ekstraksi-pemisahan-senyawa-dan-identifi.pdf.

Munawwaroh, R. (2016).'Uji Aktivitas Antijamur Jamu Madura *"Empot Super"* Terhadap Jamur *Candida albicans*'. *Revista Cenic. Ciencias Biologicas*. Available at: file:///Users/andreataquez/Downloads/guia-plan-de-mejora-institucional.pdf%0Ahttp://salud.tabasco.gob.mx/content/revista%0Ahttp://www.revistaalad.com/pdfs/Guias_Alad_11_Nov_2013.pdf%0Ahttp://dx.doi.org/10.15446/revfacmed.v66n3.60060.%0Ahttp://www.cenetec.

Nasution, S. (2017). 'Variabel Penelitian'. *Raudhah*, 05(02), pp. 1; 2. Available at: http://jurnaltarbiyah.uinsu.ac.id/index.php/raudhah/article/view/182.

Natsir, A.A. (2022). 'Secara Digesti Pada Simplisia Daun Mengkudu *(Morinda citrifolia)* Terhadap Kadar Kumarin Totalnya'. Universitas Hasanuddin. Available at: http://repository.unhas.ac.id/id/eprint/18532/2/N11116524_skripsi_22-08-2022 1-2.pdf.

Ngginak, J., Apu, M.T. and Sampe, R. (2021). 'Analisis Kandungan Saponin Pada Ekstrak Seratmatang Buah Lontar *(Borassus flabellifer Linn)*'. *Jurnal Pendidikan Biologi*, 12(2), p. 222;225. Available at: https://doi.org/10.24127/bioedukasi.v12i2.4451.

Novi Yanti, S. and Mudatsir. (2016). 'Uji Aktivitas Antifungi Ekstrak Etanol Gal Manjakani (*Quercus infectoria)* Terhadap *Candida albicans*'. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pendidikan Biologi*, 1(1), p. 10. Available at: https://media.neliti.com/media/publications/187360-ID-uji-aktivitas-

antifungi-ekstrak-etanol-g.pdf.

Nuraskin, C.A., Reca and Salfiyadi, T. (2022). 'Identifikasi Ekstrak Metanol Biji Kakao *(Theobroma cacao L.)* Sebagai Bahan Dasar Pasta Gigi'. *Jurnal Mutiara Kesehatan Masyarakat*, 7(2), p. 72. Available at: https://doi.org/10.51544/jmkm.v7i2.3194.

Nurdiansyah, F. and Rugoyah, H.S. (2021). 'Strategi Branding Bandung Giri Gahana Golf Sebelum dan Saat Pandemi Covid-19'. *Jurnal Purnama Berazam*, 2(2), p. 162.

Nurhayati, L.S., Yahdiyani, N. and Hidayatulloh, A. (2020). 'Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt dengan Metode Difusi Sumuran dan Metode Difusi Cakram'. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, 1(2), pp. 41; 43. Available at: https://doi.org/10.24198/jthp.v1i2.27537.

Pitriani, E. (2022). 'Studi Pustaka Identifikasi Kandungan Metabolit Sekunder Golongan Senyawa Antioksidan'. *Skripsi*.

Pohan, D.J., Kakerissa, A.P. and Arodes, E.S. (2020) 'Uji Efektivitas Ekstrak Biji Kakao *(Theobroma Cacao L.)* Sebagai Antibakteri Dalam Berbagai Konsentrasi pada *Streptococcus Pyogenes*'. *Majalah Kedokteran Universitas Kristen Indonesia*, xxxvi(1), p. 12. Available at: http://repository.uki.ac.id/4589/1/UjiEfektivitasEkstrakBijiKakaoTheobromaCacaoLSebagaiAntibakteriDalam.pdf.

Prayudo, A.N., Novian, O., Setyadi, Antaresti. (2015). 'Jurnal Ilmiah Widya Teknik'. *Ilmiah widya teknik*, 14(1), pp. 26–31.

Purnamasari, A.I. (2021). 'Uji Aktivitas Antifungi Ekstrak Metanol Daun Dan Umbi Keladi Tikus *(Typhonium flagelliforme)* Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*'. *UIN Sunan Ampel Surabaya*.

Puspitasari, A., Kawilarang, A. P., Ervianti, E., Rohiman, A. (2019). 'Profil Pasien Baru Kandidiasis'. *Berkala Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin*, 31(1), p. 25. Available at: https://e-journal.unair.ac.id/Bikk/article/download/8809/pdf/44394.

Rahmasiah (2018) *Pengaruh Enkapsulasi Ekstrak Teh Hijau (Camellia sinensis) Terhadap Kadar Total Flavonoid Dan Polifenol Setelah Penyimpanan*, *Photosynthetica*. Hasanuddin Makassar. Available at: http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-76887-8%0Ahttp://link.springer.com/10.1007/978-3-319-93594-2%0Ahttp://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-409517-5.00007-3%0Ahttp://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.018%0Ahttp://dx.doi.org/10.1038/s41559-019-0877-3%0Aht.

Ramadhan, H., Arsyad, M. and Sayakti, P.I. (2020). 'Skining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70% Biji Kalangkala *(Litsea angulata BI.*) Terhadap Bakteri Penyebab Jerawat *Propionibacterium acnes*'. *Borneo Journal of Phamascientech*, 04(01), p. 63. Available at: https://core.ac.uk/download/pdf/328167805.pdf.

Ritonga, M.R. (2019). 'Respon Pertumbuhan Bibit Kakao *(Theobroma cacao L.)* Dengan Pemberian Pupuk Kotoran Burung Puyuh Dan Air Cucian Beras'. Universitas Pembangunan pasca Budi.

Ruggirello, M., Nucera, D., Cannoni, M., Peraino, A., Rosso, F., Fontana, M., Cocolin, L., Dolci, P.(2019). 'Antifungal Activity Of Yeasts And Lactic Acid Bacteria Isolated From Cocoa Bean Fermentations'. *Food Research International*. Elsevier Ltd. Available at: https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.10.002.

Sabilla, F. (2021). 'Identifikasi Senyawa Alkaloid, Flavonoid, Dan Saponin Pada Ekstrak Tanaman Daun Sereh Dapur *(Cymbopogon citratus)* Menggunakan Metode Warna'. Pekalongan.

Salsabila, A.I. (2022). 'Pemanfaatan Kulit Pisang Kepok *(Musa x Paradisiaca L.)* Sebagai Media Alternatif Pengganti *Sabouraud Dextrose Agar* Untuk Pertumbuhan Jamur *Candida albicans*'. *Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Yogyakarta*. Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan. Available at: http://eprints.poltekkesjogja.ac.id/9418/2/Abstract.pdf.

Samudra, A.G., Ramadhani, N., Fitriani, D., Putri, D. (2022). 'Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi Terhadap Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura)*'. *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta*, 1(2), p. 503. Available at: https://seminar.ustjogja.ac.id/index.php/semnas_LP2M_UST/article/download/528/237.

Sandy, P.M. and Irawan, F.B. (2018). 'Perkembangan Obat Sariawan dan Terapi Alternatifnya'. *Makalah Farmasetika*, 3(5), p. 98;101. Available at: https://jurnal.unpad.ac.id/farmasetika/article/view/21633.

Sanny, A.P. (2022). 'Pengaruh Metode Ekstraksi Maserasi Dan Soxhletasi Biji Coklat *(Theobroma cacao L .)* Terhadap Aktivitas Antijamur *Candida albicans*, *Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan*. Universitas dr. Soebandi. Available at: http://repository.stikesdrsoebandi.ac.id/482/1/18040014 Aprilia Permata Sanny.pdf.

Sari, N.N. (2019). 'Identifikasi *Candida albicans* Dari Air Bak Pada Toilet Sd. Negeri Di Kecilir timur 1 Kota Palembang Dan Sumbangsihnya Pada Mata Pelajaran Biologi SMA'. UIN Raden Fatah Palembang. Available at: http://repository.radenfatah.ac.id/12041/.

Senduk, T.W., Montolalu, L.A.D.Y. and Dotulong, V. (2020). 'Rendemen Ekstrak Air Rebusan Daun Tua Mangrove Sonneratia alba'. *Jurnal Perikanan Dan Kelautan Tropis*, 11(1), p. 11. Available at: https://doi.org/10.35800/jpkt.11.1.2020.28659.

Setyani, E., Dewi, S.S. and Wilson, W. (2017). 'Daya Hambat Infusa Lengkuas Merah *(Alpinia purpurata K. Schum)* Dan Lengkuas Putih *(Alpinia galanga W.)* Terhadap *Candida albicans* Penyebab Sariawan'. *Universitas*

Muhammadiyah Semarang. Available at: http://repository.unimus.ac.id/1357/.

Simpson, C.A., Geornaras, I., Yoon, Y., Scanga, J. A., Kendall, P. A., Sofos, J. N. (2014). 'McFarland Standard'. *Journal of Food Protection*, 71(3), p. 1. Available at: http://www.dalynn.com/dyn/ck_assets/files/tech/TM53.pdf.

Sudaryanto, Herwanto, T. and Putri, S.H. (2016). 'Aktivitas Antioksidan Pada Minyak Biji Kelor *(Moringa oleifera L.*) Dengan Metode Sokletasi Menggunakan Pelarut N-Heksan, Metanol Dan Etanol'. *Jurnal Teknotan*, 10(2528–6285), p. 18;19. Available at: https://jurnal.unpad.ac.id/teknotan/article/view/9112.

Susanti, Sundari, Ristina S., Sarwatiningsih, Y., Yuliawati, S., Kurniawan, R., Mardianingrum, R. (2020). 'Pengaruh Pelarut Ultrasound-Assisted Extraction Terhadap Aktivitas Antimikroba Umbi Gadung *(Dioscorea hispida Dennst.)*', *Journal of Pharmacopolium*, 3(3), p. 147. Available at: https://ejurnal.universitas-bth.ac.id/index.php/P3M_JoP/article/download/654/545.

Susanty and Fairus, B. (2016). 'Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Refluks terhadap Kadar Fenolik dari Ekstrak Tongkol Jagung (*Zea mays L.*)', *KONVERSI*, 5(2252–7311), p. 89;90. Available at: https://jurnal.umj.ac.id/index.php/konversi/article/download/1094/1001.

Syahputra, M.P. (2021). 'Pertumbuhan Bibit Tanaman Kakao *(Theobroma cacao L .)* Dengan Pemberian Pupuk Trichokompos Pertumbuhan Bibit Tanaman Kakao *(Theobroma cacao L .)* Dengan Pemberian Pupuk Trichokompos Tandan Kosong Kelapa Sawit'. *Fakultas Pertanian Dan Peternakan Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau Pekanbaru*. Universitas Islam Negeri Sultan Kasim Riau. Available at: https://repository.uin-suska.ac.id/52987/2/Skripsi Lengkap Kecuali Bab Iv.Pdf.

Syamsul, E.S., Amanda, N.A. and Lestari, D. (2020.) 'Perbandingan Ekstrak *Lamur Aquilaria malaccensis* Dengan Metode Maserasi Dan Refluks'. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 2(2), pp. 97–104. Available at: https://doi.org/10.33759/jrki.v2i2.85.

Triasih, R. (2022). 'Aktivitas Antijamur Ekstrak Kulit Biji Kakao *(Theobroma cacao L .)* Dengan *Natural Deep Eutectic Solvent* Terhadap *Candida albicans*. Available at: http://repository.stikesdrsoebandi.ac.id/641/1/18040088 Retno Triasih.pdf.

Tutik, T., Putri, G.A.R. and Lisnawati, L. (2022). 'Perbandingan Metode Maserasi, Perkolasi Dan Ultrasounik Terhadap Aktivitas Antioksidan Kulit Bawang Merah (*Allium cepa L.)*'. *Jurnal Ilmu Kedokteran dan Kesehatan*, 9(3), p. 915. Available at: https://doi.org/10.33024/jikk.v9i3.5634.

Ulfa, R. (2019). 'Variabel Penelitian Dalam Penelitian Pendidikan'. *Jurnal Teknodik*, 6115, p. 349. Available at: https://doi.org/10.32550/teknodik.v0i0.554.

Wayan, P. (2022). ‘Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Agresivitas Pajak’. *Jurnal Pendidikan Indonesia*, 3(08), p. 14. Available at: https://doi.org/10.36418/japendi.v3i08.1115.

Wen, L., Zhang, Z., Rai, D., Sun, Da-W., Tiwari, B. K. (2019). ‘Ultrasound-assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from coffee silverskin : Impact on phenolic content , antioxidant activity , and morphological characteristics’. *Food Process*, (13191), p. 2. Available at: https://doi.org/10.1111/jfpe.13191.

Yuliantari, N.W.A., Widarta, I.W.R. and Permana, I.D.G.M. (2017). ‘Pengaruh Suhu dan Waktu Ekstraksi Terhadap Kandungan Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Daun Sirsak *(Annona muricata L.)* Menggunakan Ultrasonik’. *Media Ilmiah Teknologi Pangan*, 4(1), p. 39. Available at: https://ojs.unud.ac.id/index.php/pangan/article/view/29815.

Zhafirah, N.A. (2020). ‘Produksi Kakao *(Theobroma cacao L.) D*i Bawah Jenis Pohon Penaung Berbeda Di Kabupaten Polewali, Sulawesi Barat’. *Skripsi*. Universitas Hasanudin. Available at: http://repository.unhas.ac.id/3114/2/M11116505_skripsi I-II.pdf.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Hasil Determinasi Tanaman

Kode Dokumen : FR-AUK-064
Revisi : 0

KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN,
RISET DAN TEKNOLOGI
POLITEKNIK NEGERI JEMBER
UPA. PENGEMBANGAN PERTANIAN TERPADU
Jalan Mastrip Kotak Pos 164 Jember - 68101Telp. (0331) 333532 - 333534 Fax.(0331) 333531
E-mail : Polije@polije.ac.id Web Site : http//www.Polije.ac.id

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TANAMAN

No: 89/PL17.8/PG/2023

Menindaklanjuti surat dari Dekan Universitas dr. Soebandi Program Studi Sarjana Farmasi No: 2196/FIKES.UDS/U/V/2023 perihal Permohonan Identifikasi Tanaman dan berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirimkan ke UPA. Pengembangan Pertanian Terpadu, Politeknik Negeri Jember oleh:

Nama	: Novi Purwaningtiyas
NIM	: 17040093
Jur/Fak/PT	: Prodi Sarjana Farmasi/ Universitas dr. Soebandi

maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut di bawah ini (terlampir) adalah: *Kingdom: Plantae; Devisio: Spermatophyta; Sub Devisio: Magnoliophyta; Kelas: Magnoliopsida; Ordo: Malvales; Famili: Sterculiaceae; Genus: Theobroma; Spesies: Theobroma cacao,* L

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Jember, 16 Mei 2023
Ka. UPA. Pengembangan Pertanian Terpadu

Ir. Budi Prasetyo, S.Pt, MP, IPM
NIP. 197106212001121001

Lampiran 2. Dokumentasi Proses Penyerbukan Biji Coklat

Alat pemecah buah coklat dan Pemisah biji coklat (POD Beaker)

Mesin pemeras lendir biji coklat (DEPULPER)

Fermentasi biji coklat

Pengerin biji coklat (Mesin Roaster)

Hasil pengeringan biji coklat

Penghancur bungkul biji coklat (Desheller)

Mesin pengempa/Pemasta biji coklat

Hasil pengempaan/Penghilangan lemak biji coklat

Serbuk biji coklat disangrai

Mesin sangrai biji coklat

Mesin pengayak serbuk biji coklat

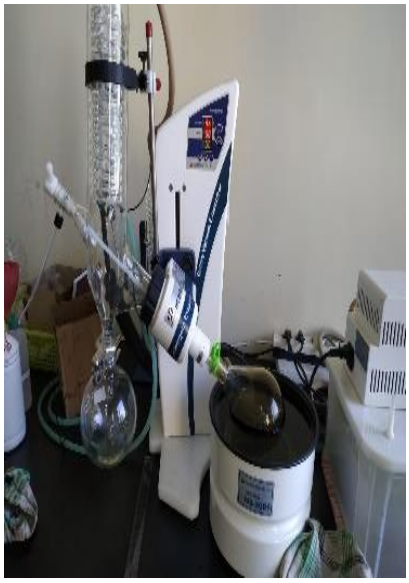
Serbuk biji coklat

Alur/Tahapan pengolahan biji coklat

Lampiran 3. Pembuatan Ekstrak Sokletasi dan UAE Biji Coklat

Penimbangan Serbuk bji coklat (Replikasi 3 kali)

Proses Ekstraksi Sokletasi



Pengentalan Ekstrak Biji Coklat Metode Sokletasi

Replikasi 1 Ekstrak Sokletasi

Ekstrak Sokletasi Replikasi 2

Ekstrak Sokletasi Replikasi 3

Penimbangan Serbuk bji coklat (Replikasi 3 kali)

Proses ekstraksi UAE

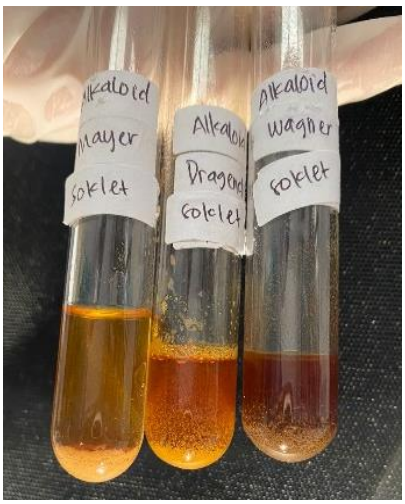
Pengentalan Ekstrak biji coklat metode UAE

Replikasi 1 UAE

Replikasi 2 UAE

Replikasi 3 UAE

Lampiran 4. Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Biji Coklat



Skrining Fitokimia Ekstrak Sokletasi: Alkaloid (Mayer, Dragendroff, Wagner)

Skrining Fitokimia Ekstrak Sokletasi: Saponin

Skrining Fitokimia Ekstrak Sokletasi: Polifenol, Tanin, Flavonoid

Skrining Fitokimia Ekstrak UAE: Wagner, Dragendroff, Mayer

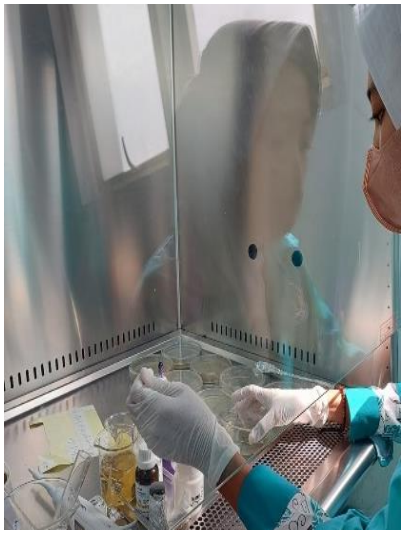
Skrining Fitokimia Ekstrak UAE: Saponin

Skrining Fitokimia Ekstrak UAE: Flavonoid, Tanin, Polifenol

Lampiran 5. Pengujian Antijamur Andida Albicans

Sterilisasi

Media PDA



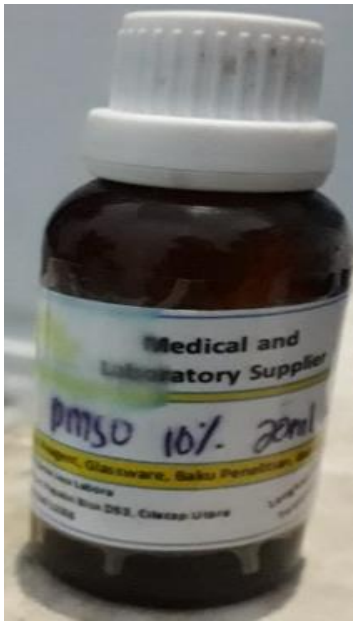
Uji Antijamur

Peremajaan Jamur *Candida albicans*

Mc Farland dan Suspensi Jamur *Candida albicans*

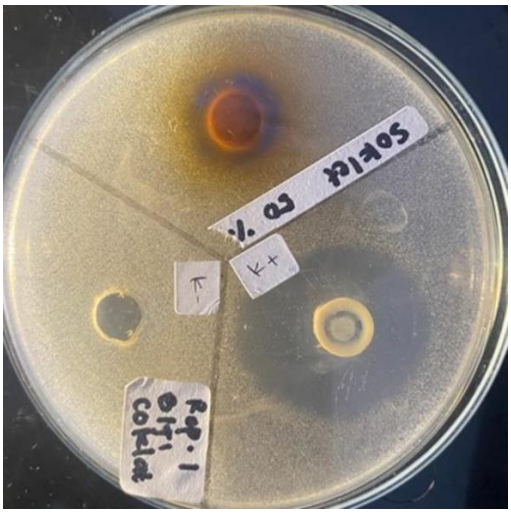
Proses Deffating lemak biji coklat

Kontrol + (Nystatin)



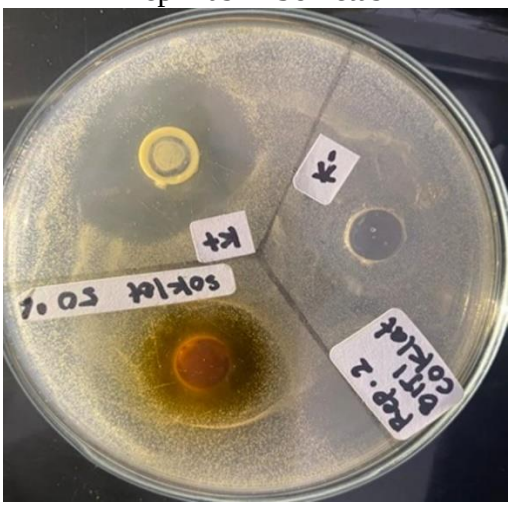
Kontrol – (DMSO 10%)

Lampiran 6. Hasil Uji Antijamur Ekstrak Metanol Biji Coklat Sokletasi dan UAE

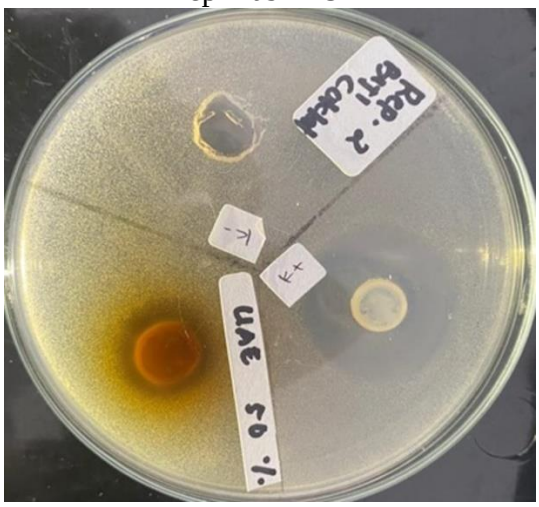


Replikasi 1 Sokletasi

Replikasi 1 UAE

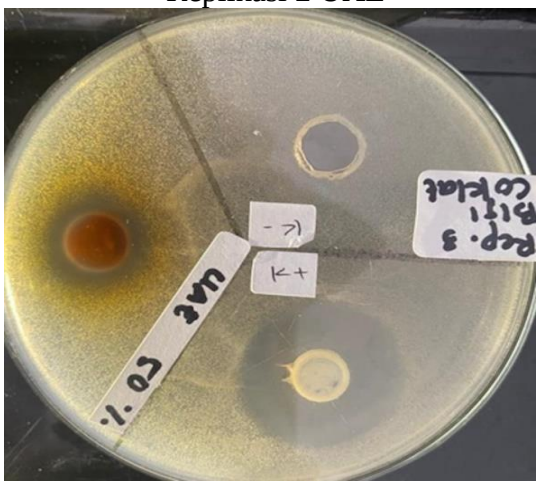


Replikasi 2 Sokletasi



Replikasi 2 UAE

Replikasi 3 Sokletasi



Replikasi 3 UAE

Lampiran 7. Jamur *Candida albicans*

KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN,
RISET, DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
Jalan Kalimantan No. 37 Kampus Bumi Tegalboto Jember 68121
Telepon: 0331-332988, 330738 Fax: 0331-334988 Laman: www.fkip.unej.ac.id

SURAT KETERANGAN ISOLAT
No: 009/ISOLAT/V/2023

Diberikan kepada : Novi Purwanintiyas
Asal Instansi : Universitas dr. Soebandi

Menyatakan bahwa;

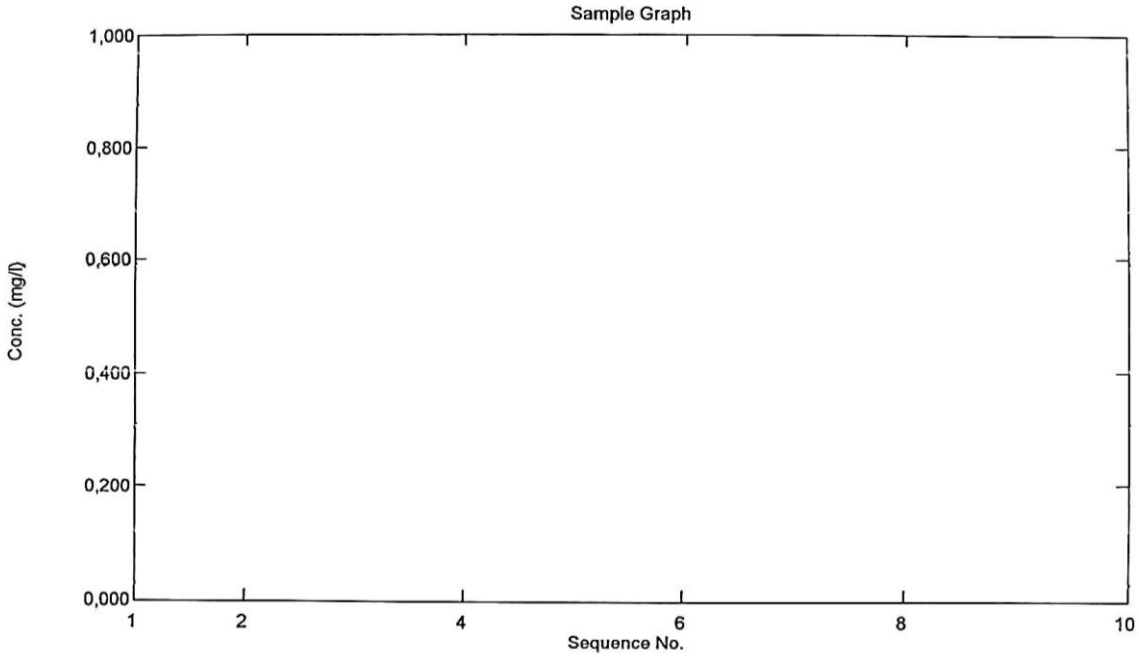
Isolat bakteri yang dibeli merupakan isolat *Candida albicans*

Isolat	Media	Kemasan	Warna koloni
C. albicans	PDA + 200 ppm *chloramphenicol*	Tube (tabung reaksi/agar slant)	Koloni bewarna putih, dengan menimbulkan aroma/bau

Jember, 31 Mei 2023
Kepala Laboratorium P. Biologi,

Kamalia Fikri, S.Pd., M.Pd.
NIP. 19840223 201012 2 004

Lampiran 8. Absorbandi *Mc Farland* dan Suspensi Jamur *Candida albicans*



Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL625,0	Comments
1	StandartMcFa	Unknown		*****	0.097	
2	Jamur	Unknown		*****	0.099	
3						

Lampiran 9. Uji One-Way ANOVA

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	Sampel	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Zona Hambat	**Kontrol + Nystatin**	**.148**	**6**	**.200***	**.971**	**6**	**.896**
	Kontrol - DMSO 10%	**.**	**3**	**.**	**.**	**3**	**.**
	Soklet 50%	**.322**	**3**	**.**	**.879**	**3**	**.323**
	UAE 50%	**.256**	**3**	**.**	**.962**	**3**	**.626**

***. This is a lower bound of the true significance.**

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Zona Hambat	Based on Mean	2.044	3	11	.166
	Based on Median	1.730	3	11	.219
	Based on Median and with adjusted df	1.730	3	8.021	.238
	Based on trimmed mean	2.029	3	11	.168

ANOVA

Zona Hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1611.495	3	537.165	811.554	.000
Within Groups	7.281	11	.662		
Total	1618.775	14			

Zona Hambat

			Subset for alpha = 0.05		
	Sampel	N	1	2	3
Tukey HSD[a,b]	Kontrol - DMSO 10%	3	.0000		
	Soklet 50%	3		5.4333	
	UAE 50%	3		6.5967	
	Kontrol + Nystatin	6			24.6733

	Sig.		1.000	.294	1.000
Duncan[a,b]	Kontrol - DMSO 10%	3	.0000		
	Soklet 50%	3		5.4333	
	UAE 50%	3		6.5967	
	Kontrol + Nystatin	6			24.6733
	Sig.		1.000	.088	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.429.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

Lampiran 10. Perhitungan

a. Perhitungan hasil % rendemen:

a) Sokletasi

Bobot simplisia awal =: 100 gram

- % Rendemen $= \frac{bobot\ ekstrak\ akhir}{bobot\ simplisia\ awal} \times 100\%$

$= \frac{3{,}75\ gram}{100\ gram} \times 100\% = 3{,}75\%$

- % Rendemen $= \frac{bobot\ ekstrak\ akhir}{bobot\ simplisia\ awal} \times 100\%$

$= \frac{4{,}06\ gram}{100\ gram} \times 100\% = 4{,}06\%$

- % Rendemen $= \frac{bobot\ ekstrak\ akhir}{bobot\ simplisia\ awal} \times 100\%$

$= \frac{3{,}63\ gram}{100\ gram} \times 100\% = 3{,}63\%$

b) UAE

Bobot simplisia awal = 100 gram

- % Rendemen $= \frac{bobot\ ekstrak\ akhir}{bobot\ simplisia\ awal} \times 100\%$

$= \frac{4{,}19\ gram}{b100\ gram} \times 100\% = 4{,}19\%$

- % Rendemen $= \frac{bobot\ ekstrak\ akhir}{bobot\ simplisia\ awal} \times 100\%$

$= \frac{4{,}05\ gram}{100\ gram} \times 100\% = 4{,}05\%$

- % Rendemen $= \frac{bobot\ ekstrak\ akhir}{bobot\ simplisia\ awal} \times 100\%$

$= \frac{4{,}29\ gram}{100\ gram} \times 100\% = 4{,}29\%$

b. Perhitungan Media PDA

a) *Potato Dextrose Agar* (PDA) = 39 gram ~ 1000 mL

= x ~ 200 mL

$= \frac{39\ gram \times 200\ mL}{1000\ mL} = 7{,}8\ gram \sim 200\ mL$

Caranya:

Timbang 7,8 PDA lalu masukkan dalam erlenmeyer dan tambahkan 200 mL aquadest.

c. Pembuatan Larutan *Mc Farland 0,5*

a) BaCl 1% = 1 gram ~ 100 mL

= x gram ~ 100 mL

x = 1 gram dalam 100 mL aquadest

b) H_2SO_4 1% = 1 mL ~ 100 mL

= x mL ~ 100 mL

x = 1 mL dalam 100 mL aquadest

Caranya:

Ambil BaCl 1% 0,05 mL dan H_2SO_4 1% 9,95 mL, masukkan kedalam tabung reaksi kemudian di vortex hingga homogen. Lalu amati absorbansinya dengan panjang gelombang 625nm dengan rentang 0,08-0,13.

d. Pembuatan Suspensi Jamur *Candida albicans*

NaCl 0,9% = 0,9 gram ~ 100 mL

= x gram ~ 100 mL

x = 0,9 gram dalam 100 mL aquadest

Caranya:

Ambil larutan NaCl 0,9% 10mL lalu masukkan tabung reaksi kemudian tambahkan kultur bakteri 1 goresan dengan kawat ose lalu vortex sampai homogen. Setelah itu amati absorbansinya.

e. Pembuatan Kosentrasi Sampel, Kontrol Positif dan Kontrol Negatif

a) K- dengan DMSO 10% = 10 mL ~ 100 mL

= x gram ~ 100 mL

x = 10 mL dalam 100 mL aquadest

b) K+ dengan suspensi Nistatyn 100.000 IU/mL diambil sebanyak 20 µL.

c) Larutan uji 100% b/v = 5 gram ~ 5 mL

= x gram ~ 5 mL

$$x = \frac{5\ gram \times 5\ mL}{5\ mL} = 5\ gram \sim 5\ mL$$

50% b/v = 2,5 gram ~ 5 mL

Caranya:

Timbang 2,5 gram ekstrak kental lalu larutkan dalam 5 mL DMSO 10% dalam labu ukur.

Lampiran 11. Jadwal Progres Penyususnan Skripsi

No.	Kegiatan	Des	Jan	Feb	Mar	Apr	Mei	Jun	Jul	Agst
1.	Penyusunan Proposal skripsi: a. Bimbingan b. Revisi c. Fixasi proposal Skripsi									
2.	Seminar proposal skripsi									
3.	Tahap penyiapan bahan dan ekstrak									
4.	Tahap pelaksanaan penelitian: a. Ekstraksi b. Preparasi sampel c. Peremajaan jamur d. Pembuatan kosentrasi e. Pembatan media f. Pembuatan suspensi jamur g. Pengujian aktivitas antijamur									
5.	Proses penyusunan hasil skripsi									
6.	Seminar hasil skripsi									