UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK KULIT BUAH KAKAO *(Theobroma cacao L.)* TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus*

SKRIPSI

Oleh :

Ni Putu Dinda Prasasty Putri
NIM. 19040090

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

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK KULIT BUAH KAKAO *(Theobroma cacao L.)* TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus*

SKRIPSI

Untuk memenuhi persyaratan

Memperoleh gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)

Oleh :

Ni Putu Dinda Prasasty Putri
NIM. 19040090

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

HALAMAN PERSETUJUAN

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

Jember, 08 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 "Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Kakao *(Theobroma cacao L.)* Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus"* telah diuji dan disahkan oleh Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan pada:

Hari : Jum'at

Tanggal : 11 Agustus 2023

Tempat : Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi

Tim Penguji

Ketua,

Mohammad Rofik Usman, M.Si
NIDN.0705019003

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

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Ni Putu Dinda Prasasty Putri

NIM : 19040090

Program Studi : S1 Farmasi

Menyatakan bahwa skripsi yang berjudul "Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Kakao *(Theobroma cacao L.)* Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus"* benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri dan belum pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan suatu perguruan tinggi manapun. Selain itu, sumber informasi yang dikutip penulis lain telah disebutkan dalam teks dan cantukan daftar pustaka.

Apabila kemudian hari ditemukan kecurangan dalam menyusun skripsi ini, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Jember,02 Agustus 2023

Yang Menyatakan,

Ni Putu Dinda Prasasty Putri

NIM : 19040090

SKRIPSI

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK KULIT BUAH KAKAO *(Theobroma cacao L.)* TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus*

Oleh :

Ni Putu Dinda Prasasty Putri
NIM. 19040090

Dosen Pemping Utama	: apt. Lindawati Setyaningrum, M.Farm.
Dosen Pembimbing Anggota	: apt. Dina Trianggaluh Fauziah, M.Farm.

HALAMAN PERSEMBAHAN

Puji syukur kehadirat Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis diberi kemudahan dalam menyelesaikan skripsi. Skripsi ini dipersembahkan kepada:

1. Tuhan Yang Maha Esa, yang selalu melimpahkan rahmat dan karunianya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
2. Orang tua penulis, yaitu bapak I Made Ardita, ibu Eni Kurniawati beserta keluarga besar yang telah memberikan begitu banyak doa, kasih sayang, nasihat serta perjuangan dan pengorbanan untuk dapat menuntun saya hingga titik ini serta memberikan begitu banyak dukungan untuk saya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dalam Pendidikan S1 Farmasi.
3. Ibu apt. Lindawati Setyaningrum, M.Farm. selaku dosen pembimbing 1 dan ibu apt. Dina Trianggaluh Fauziah, M.Farm selaku dosen pembimbing II yang telah meluangkan waktu, pikiran, perhatian dan kesabaran dalam memberikan bimbingan skripsi ini sehingga terselesaikan dengan baik.
4. Bapak Muhammad Rofik Usman, M.Si selaku penguji yang telah memberikan waktu dan sarannya dalam skripsi ini.
5. Seluruh pihak lembaga Universitas dr. Soebandi yang telah memberikan fasilitas selama berjalannya penelitian sampai selesai.
6. Kepada Bripda I Komang Primuliana, terimakasih sudah menemani setiap proses saya selama 4 tahun ini, yang selalu menjadi penyemangat suka maupun duka dan terimakasih selalu menjadi pendengar yang baik dan tempat berbagi keluh kesah bagi saya.
7. Untuk sahabat seperjuangan Arda dan teman-teman saya lainnya terimakasih untuk kerja samanya dalam 4 tahun ini, semoga kita bisa sukses dan dapat membanggakan orang tua.
8. Teman kuliah satu angkatan terutama kelas 19B Farmasi terimakasih untuk perjuangan yang telah kita lewati bersama dan sukses untuk kita semua.

9. Kepada rekan-rekan dan staf di Laboratorium yang menerima dengan sepenuh hati sehingga membantu kelancaran dalam proses penyelesaian skripsi ini.
10. Untuk Ni Putu Dinda Prasasty Putri , terimakasih telah berjuang sampai saat ini sedih senang semua sudah terlewati , terimakasih telah mengerjakan skripsi dengan sangat sungguh-sungguh, semoga kehidupanmu nanti akan lebih baik dan terkabul doa harapan dan cita-citamu.

MOTTO

“Keringat dihari muda adalah
minuman segar di hari tua”

ABSTRAK

Putri, Ni Putu Dinda Prasasty * , Setyaningrum, Lindawati **, Fauziah, Dina Trianggaluh ***.2023. **Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Kakao *(Theobroma cacao L.)* Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus***. Skripsi. Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi.

Latar Belakang : Tanaman kakao *(Theobroma cacao L.)* yang dapat dimanfaatkan salah satunya adalah kulit buahnya. Kulit buah kakao mengandung metabolit sekunder yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen seperti ***Staphylococcus aureus,*** Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol 96% kulit buah kakao *(Theobroma cacao L.)* terhadap ***Staphylococcus aureus.***

Metode : Kulit buah kakao diekstraksi dengan metode *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) dan Soxhletasi menggunakan pelarut etanol 96%. Ekstrak yang dihasilkan kemudian diskrining fitokimia dan selanjutnya diuji aktivitas antibakterinya terhadap bakteri ***Staphylococcus aureus*** dengan metode difusi sumuran.

Hasil Penelitian : Ekstrak kulit buah kakao mengandung senyawa kimia berupa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan polifenol. Hasil uji daya hambat pada bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan metode *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) dan Soxhletasi dengan konsentrasi 64%, memiliki nilai rata-rata zona hambat sebesar yaitu 11,30 mm untuk metode pada metode UAE dan 13,41 mm pada metode soxhletasi.

Kesimpulan : Uji daya hambat ekstrak kulit buah kakao lebih besar terdapat pada ekstraksi yang dilakukan dengan menggunakan metode soxhletasi terhadap bakteri *Staphylococus aureus.*

Kata Kunci : Kulit buah kakao, antibakteri, *Staphylococcus aureus,*

*Peneliti
** Pembimbing 1
***Pembimbing 2

ABSTRACT

Putri, Ni Putu Dinda Prasasty * , Setyaningrum, Lindawati *, Fauziah, Dina Trianggaluh **.2023. **Antibacterial Activity Test of Cocoa Fruit Bark Extract (Theobroma cacao L.) Against *Staphylococcus aureus* Bacteria**. Thesis. University of Pharmacy Undergraduate Study Program, dr. Soebandi.

Background: One of the cocoa plants (Theobroma cacao L.) that can be utilized is a peel of the fruit. Cocoa pod shell contains secondary metabolites that can inhibit the growth of pathogenic bacteria like a Staphylococcus aureus. The purpose of this study for determine the antibacterial activity of 96% ethanol extract of the cocoa pod shell (Theobroma cacao L.) against *Staphylococcus aureus.*

Methods : Skin of the cocoa pod was extract used Ultrasonic Assisted Extraction (UAE) and Soxhletation methods using 96% ethanol. The resulting extract then will screened for phytochemicals and then tasted for thats antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* bacteria using the well-diffusion method.

Results : Cocoa pod extract contains chemical compounds in the form like a alkaloids, flavonoids, tannins, saponins and polyphenols. The results of the inhibition test on *Staphylococcus aureus* bacteria using the Ultrasonic Assisted Extraction (UAE) and Soxhletation methods with a concentration of 64%, had an average inhibition zone value of 11.30 mm for the UAE method and 13.41 mm for the soxhletation method.

Conclusion: The inhibition test of cocoa pod extract was greater in the extraction performed using the soxhletation method against *Staphylococus aureus* bacteria.

Keywords: Cocoa pod skin, antibacterial, *Staphylococcus aureus*

* Author
** Advisior 1
*** Advisior 2

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur kehadirat Tuhan Yang Maha Esa, atas segala berkat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi ini dengan judul "Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Kakao *(Theobroma cacao l.*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus"*

Penyusunan Skripsi ini dapat terlaksana dengan baik berkat dukungan dan bimbingan dari banyak pihak. Untuk itu, pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Bapak Andi Eka Pratana, S.ST, S.Kep., Ns., M.Kes., selaku Rektor Universitas dr. Soebandi
2. Ibu apt. Lindawati Setyaningrum, M.Farm. selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi
3. Ibu apt. Dhina Ayu Susanti, S.Farm., M.Kes., selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi
4. Ibu apt. Lindawati Setyaningrum, M.Farm. selaku Dosen Pembimbing Utama
5. Ibu apt. Dina Trianggaluh Fauziah, M.Farm. selaku Dosen Pembimbing Anggota
6. Bapak Muhammad Rofik Usman, M.Si selaku Ketua Penguji

Penulis menyadari skripsi ini tidak luput dari berbagai kekurangan. Penulis mengharapkan saran dan kritik demi kesempurnaan dan perbaikannya sehingga dapat memberikan manfaat bagi bidang pendidikan.

Jember, 2 Maret 2023

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL ..... **i**
HALAMAN JUDUL ..... **ii**
HALAMAN PERSETUJUAN ..... **iii**
HALAMAN PERSEMBAHAN ..... **vii**
MOTTO ..... **ix**
ABSTRAK ..... **x**
ABSTRACT ..... **xi**
KATA PENGANTAR ..... **xii**
DAFTAR ISI ..... **xiii**
DAFTAR TABEL ..... **xvi**
DAFTAR GAMBAR ..... **xvii**
DAFTAR SINGKATAN ..... **xviii**
BAB 1. PENDAHULUAN 1
1.1 Latar Belakang 1
1.2 Rumusan Masalah 4
1.3 Tujuan Penelitian 4
1.3.1 Tujuan Umum 4
1.3.2 Tujuan Khusus 5
1.4 Manfaat Penelitian 5
1.4.1 Manfaat Bagi Peneliti 5
1.4.2 Manfaat Bagi Peneliti Lain 5
1.4.3 Manfaat Bagi Masyarakat 5
1.4.4 Manfaat Bagi Institusi Pendidikan 6
1.5 Keaslian Penelitian 6
BAB 2.TINJAUAN PUSTAKA 8
2.1 Tanaman Kakao *(Theobroma cacao L.)* 8
2.1.1 Klasifikasi Tanaman 8
Spesies : *Theobroma cacao* 8
2.1.2 Morfologi Tanaman 8
2.1.3 Kandungan Kimia 9

2.1.4 Manfaat 11
2.2 Tinjauan Metode Ekstraksi **12**
2.3 Pelarut **17**
2.4 Bakteri **18**
2.4.1 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Bakteri 18
2.5 *Staphylococcus aureus* **20**
2.5.1 Klasifikasi Staphylococcus aureus 21
2.5.2 Morfologi *Staphylococcus aureus* 21
2.5.3 Penyakit yang Ditimbulkan oleh *Staphylococcus aureus* 22
2.6 Antibakteri **22**
2.6.1 Metode Aktivitas Antibakteri 23
2.7 Uji Efektivitas Antibakteri **25**
BAB 3.KERANGKA KONSEP 28
3.1 Kerangka Konsep **28**
3.2 Hipotesis Penelitian **29**
BAB 4. METODE PENELITIAN 30
4.1 Desain Penelitian **30**
4.2 Populasi dan Sampel **30**
4.2.1 Populasi Penelitian 30
4.2.2 Sampel Penelitian 30
4.3 Variabel Penelitian **31**
4.3.1 Variabel Bebas 31
4.3.2 Variabel Terikat 31
4.4 Tempat Penelitian **31**
4.5 Waktu Penelitian **31**
4.6 Definisi Operasional **31**
4.7 Teknik Penggunaan Data **32**
4.7.1 Determinasi Tanaman 32
4.7.2 Pembuatan Serbuk Simplisia Kulit Kakao *(Theobroma cacao L.)* 32
4.7.3 Pembuatan Ekstrak Kulit Kakao *(Theobroma cacao L.)* 33
4.7.4 Skrining Fitokimia 34
4.7.5 Sterilisasi Alat dan Bahan 35
4.7.6 Pembuatan Media 35
4.7.7 Pembuatan Konsentrasi Sampel 36

4.7.8 Pembuatan Kontrol Negatif dan Kontrol Positif 37
4.7.9 Preparasi dan Uji Aktivitas Antibakteri 37
4.7.10 Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Sumuran 39
4.8 Teknik Analisa Data **39**
4.8.1 Pengumpulan Data 39
4.8.2 Analisa Data 39
BAB 5 HASIL 41
5.1 Hasil Determinasi Kulit Buah Kakao **41**
5.2 Hasil Ekstraksi Kulit Buah Kakao **41**
5.3 Hasil Skrining Fitokimia **42**
5.4 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri **44**
5.5 Hasil Analisis Data **45**
BAB 6.PEMBAHASAN 49
6.1 Ekstraksi Kulit Buah Kakao **49**
6.2 Kandungan Senyawa Kimia Ekstrak Kulit Buah Kakao **50**
6.3 Uji Aktibakteri **52**
BAB 7.PENUTUP 57
7.1 Kesimpulan **57**
7.2 Saran **57**
DAFTAR PUSTAKA 58
LAMPIRAN 64

DAFTAR TABEL

Tabel 1. 1 Keaslian Penelitian 6

Tabel 2. 1 Klasifikasi Kategori Zona Hambat Antibakteri 27

Tabel 5. 1 Hasil uji kandungan senyawa kimia metode UAE 42

Tabel 5. 2 Hasil uji kandungan senyawa kimia metode soxhletasi 43

Tabel 5. 3 Hasil Uji Ekstrak Kulit Buah Kakao metode UAE 45

Tabel 5. 4 Hasil Uji Ekstrak Kulit Buah Kakao metode Soxhletasi 45

Tabel 5. 5 Anova 46

Tabel 5. 6 Hasil Uji Normalitas 45

Tabel 5. 7 Hasil Uji Homogenitas 46

Tabel 5. 8 Hasil Uji Duncan 47

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Buah Kakao *(Theobroma cacao L.)*..... 9

Gambar 2. 2 Set Alat Maserasi..... 12

Gambar 2. 3 Set Alat Perkolasi 13

Gambar 2.4 Set Alat Sokhletasi..... 14

Gambar 2. 5 Set Alat Refluks..... 14

Gambar 2. 6 Ser Alat Digesti 15

Gambar 2. 7 Set Alat UAE..... 16

Gambar 2. 8 Set Alat MAE 17

Gambar 2. 9 Bakteri *Staphylococcus aureus*..... 21

Gambar 3. 1 Kerangka Konseptual..... 28

Gambar 5. 1 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri..... 44

DAFTAR SINGKATAN

MAE : *Microwave Assisted Extraction*

UAE : *Ultrasonic Assisted Extractio*

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan Negara tropika, terletak pada 60 04’ 30’’ lintang utara (LU) dengan 110 00’ 36’’ lintang selatan (LS) dan antara 940 58’ 21’’ dengan 1410 01’ 10’’ bujur timur (BJ). Secara Geografis, Letak Indonesia sendiri yaitu di antara benua Asia dengan benua Australia dan antara lautan Pasifik dengan lautan Indonesia (Wirjohamidjojo *et al*., 2015). Karena posisi geografi tersebutlah menjadikan Indonesia sebagai salah satu negara kepulauan di dunia yang memiliki keanekaragaman flora dan fauna yang tinggi (Retnowati *et al*., 2019).

Salah satu flora atau tumbuhan yang memiliki banyak keunggulan di Indonesia, baik dari bidang teknologi pangan atau sebagai obat tradisional adalah tanaman kakao atau *(Theobroma cacao L.).* Di Indonesia sendiri tanaman kakao *(Theobroma cacao L.)* merupakan salah satu tanaman yang cukup banyak di kembangan. Luas perkebunan kakao di Indonesia mencapai 959.000 hektar, Indonesia memproduksi 70.919 ton kakao pada tahun 2010 dan terus meningkat pada 15 tahun terakhir. Namun jika proporsi limbah mencapai 75 % dari produksi, maka kulit buah kakao mencapai 53.190 ton per tahun (Kamelia *et al*., 2017).

Kabupaten Jember menjadi salah satu potensi perkebunan kakao yang berkembang, dengan luas perkebunan mencapai 4.641 hektar. Perkebunan kakao dalam setiap hektarnya dikekola oleh PTPN XII yakni mencapai 3,27 ton sedangkan yang dikelola oleh PDP dan swasta masing-masing yakni mencapai 4,93 ton dan 7,67 ton pertahunnya (Moelyaningrum, 2015).

Dari tingginya produksi kakao di kabupaten Jember maka akan semakin meningkat jumlah limbah kakao yang dihasilkan. Pada saat panen umumnya petani akan memanen biji kakao untuk kemudian diolah menjadi coklat. Dari hasil panen tersebut akan menghasilkan limbah kulit kakao yang cukup banyak, yakni mencapai 75% dari seluruh berat buah dan hanya 25% saja yang akan dioleh menjadi coklat (Moelyaningrum, 2014). Apabila limbah tersebut tidak dapat dikelola dengan baik maka akan berdampak terhadap pencemaran lingkungan.

Menurut penelitian yang dilakukan oleh (Rachmawaty *et al*., 2017) menyatakan bahwa kulit buah kakao *(Theobroma cacao L.)* yang diekstrak dengan pelarut etanol dan aseton menunjukkan bahwa terdapat kandungan senyawa kimia pada kulit buah kakao yaitu alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin, dan terpenoid. Dari hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah kakao dapat berpotensi sebagai antibakteri.

Berdasarkan penjelasan di atas menyatakan bahwa ekstrak kulit buah kakao *(Theobroma cacao L.)* memiliki beberapa kandungan yang potensi sebagai antibakteri. Kemudian berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh *(*Mulyatni *et al*., 2014) dilakukan pengujian ekstrak kulit buah kakao terhadap tiga bakteri yaitu *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis.* Dari ketiga bakteri tersebut didapatkan hasil yaitu ekstrak kulit buah kakao *(Theobroma cacao L.)* paling efektif dalam menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi hambat minimum (KHM) 8% (g/mL).

Staphylococcus aureus sendiri adalah bakteri aerob yang bersifat gram positif dan juga merupakan salah satu bagian flora normal manusia pada selaput mukosa

dan juga kulit. Hampir setiap manusia pernah mengalami infeksi *Staphylococcus aureus*. Mulai dari infeksi kulit ringan hingga keracunan makanan, umunnya gejala yang terjadi pada seseorang yang terinfeksi bakteri ini adalah muncul benjolan pada kulit yang penuh dengan nanah, peradangan, rasa sakit. Umumnya penderita yang terinfeksi akan diberikan terapi berupa antibiotik (Rini *et al*., 2020).

Namun akhir-akhir ini sudah banyak laporan terkait resistensi penggunaan antibiotik. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Refdanita *et al*., 2014) menyatakan bahwa *Staphylococcus aureus* telah resisten terhadap pemberian antibiotik dengan urutan penisilin 4,2%, eritromisin 6,6%, ampisilin 18,1%, kloramfenikol 23,6%, streptomisin 44,8%, dan tetrasiklin 53,3%.

Dari tingginya angka resistensi diatas maka dibutuhkan alternatif pengobatan. Beberapa bahan antibiotik alami dapat menjadi pilihan solusi terhadap pengobatan yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus,* salah satunya adalah senyawa senyawa polifenol yang terdapat dalam kulit buah kakao *(Theobroma cacao L.)* (Diyantika *et al*., 2017).

Berdasarkan uraian diatas untuk mendapatkan kandungan senyawa kulit buah kakao *(Theobroma cacao L.)* sebagai antibakteri maka perlu dilakukan ekstraksi. Tujuan dlakukannya ekstraksi adalah untuk memisahkan antara kandungan metabolit sekunder dari campurannya, dengan menggunakan pelarut yang sesuai (Mukhtarini, 2014). Metode ekstraksi yang akan digunakan pada penelitian kali ini adalah dengan menggunakan perbandingan dari ekstraksi Sokhletasi dan *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE). Uji aktivitas antibakteri kulit buah pada

penelitian kali ini menggunakan metode difusi yaitu metode sumuran. Metode sumuran dipilih dikarenakan ekstrak yang akan diujikan langsung dimasukkan disetiap tiap lubang sumuran maka, efek untuk menghambat bakteri akan lebih kuat (Misna *et al*., 2016)

Pengujian aktivitas antibakteri dapat dilihat dari diameter zona hambat bakteri yang dihasilkan. Pengukuran zona hambat dapat dikategorikan dalam beberapa kriteria kekuatan yaitu, diameter zona hambat <10 mm atau kurang dapat dikategorikan lemah, untuk zona hambat 5- 10 mm dikategorikan sedang, dan zona hambat 10-20 mm dapat dikategorikan kuat dan zona hambat >20 mm atau lebih dikategorikan yaitu sangat kuat (Alfath *et al*., 2014).

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah pada penelitian ini adalah :

1. Bagaimana kandungan senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak kulit buah kakao *(Theobroma cacao L.)* yang diekstraksi dengan metode UAE *(Ultrasonic Assisted Extraction)* dan soxhletasi
2. Bagaimana perbandingan aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah kakao *(Theobroma cacao L.)* yang diekstraksi dengan metode UAE *(Ultrasonic Assisted Extraction)* dan soxhletasi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus?*

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan umum dilakukan penelitian ini adalah untuk mengetahui ekstrak kulit buah kakao *(Theobroma cacao L.)* memiliki daya hambat antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus.*

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Untuk mengetahui kandungan senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak kulit buah kakao *(Theobroma cacao L.)* yang diekstraksi dengan metode UAE *(Ultrasonic Assisted Extraction)* dan soxhletasi
2. Untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari ekstrak kulit buah kakao *(Theobroma cacao L.)* yang diekstraksi dengan metode UAE *(Ultrasonic Assisted Extraction)* dan soxhletasi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Bagi Peneliti

Dapat menambah ilmu pengetahuan, wawasan, dan pengalaman mengenai aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah kakao *(Theobroma cacao L.)* yang diekstraksi dengan metode UAE *(Ultrasonic Assisted Extraction)* dan soxhletasi guna menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus.*

1.4.2 Manfaat Bagi Peneliti Lain

Penelitian ini diharap dapat menjadi acuan dalam penelitian selanjutnya khususnya unutk perkembangan aktivitas antibakteri baru dari pemanfaatan bahan alam terutama kulit buah kakao, dan juga dapat sebagai sumber informasi dan juga sebagai bahan pertimbangan dan referansi dalam penelitian selanjutnya tentang aktivitas antibakteri kulit buah kakao *(Theobroma cacao L.).*

1.4.3 Manfaat Bagi Masyarakat

Melalui penelitian ini diharapkan masyarakat dapat mengetahui dan menperoleh informasi tambahan bahwa pada kulit buah kakao *(Theobroma cacao*

L.) memiliki kandungan antibakteri yang dapat dimanfaatkan untuk pengobatan yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus.*

1.4.4 Manfaat Bagi Institusi Pendidikan

Penelitian ini diharapkan bisa memberikan informasi, dan juga tambahan ilmu pengetahuan, khususnya bagi ilmu kefarmasian dibidang antibakteri, serta dapat menjadi referensi di perpustakaan dan mahasiswa lain.

1.5 Keaslian Penelitian

Tabel 1.1 Keaslian Penelitian

Penelitian	Persamaan	Perbedaan
(Lestari *et al*., 2021)	a) Menggunakan sampel kulit buah kakao b) Menggunakan metode sumuran untuk pengujian antivitas antibakteri c) Menggunakan pelarut etanol 96%	a) Menggunakan bakteri *Staphylococcus epidermidis* sedangkan pada penelitian ini menggunakan bakteri *Staphylococcus aureus* b) Menggunakan metode maserasi sedangkan penelitian ini menggunakan metode UAE *(Ultrasonic Assisted Extraction)* dan soxhletasi
(Adha *et al*. ,2021)	a) Menggunakan sampel kulit buah kakao b) Menggunakan pelarut etanol 96% c) Untuk pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode sumuran	a) Menggunakan bakteri *Propionibacterium acnes* sedangkan pada penelitian ini menggunakan bakteri *Staphylococcus aureus* b) Menggunakan metode ekstraksi maserasi sedangkan pada penelitian ini menggunakan metode menggunakan metode UAE *(Ultrasonic Assisted Extraction)* dan soxhletasi

(Mulyatni *et al*., 2015)	a. Menggunakan sampel kulit buah kakao b. Menggunakan pelarut etanol 96%	a. Menggunakan tiga bakteri yaitu *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus* sedangkan pada penelitian ini menggunakan satu bakteri yaitu *Staphylococcus aureus* b. Untuk pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode cakram kertas sedangkan pada penelitian ini menggunakan metode sumuran c. Metode ekstraksi menggunakan metode maserasi sedangkan penelitian kali ini menggunakan metode UAE *(Ultrasonic Assisted Extraction)* dan soxhletasi

BAB 2.TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Kakao *(Theobroma cacao L.)*

2.1.1 Klasifikasi Tanaman

Klasifikasi tanaman buah kakao berdasarkan sistematiknya menurut klasifikasi botanis sebagai berikut :

Divisio : Spermatophyta

Famili : Sterculiceae

Genus : Theobroma

Ordo : Malvales

Spesies : *Theobroma cacao*

Klas : Dicotyledon

2.1.2 Morfologi Tanaman

Tanaman kakao termasuk kedalam kelompok tanaman *caulofloris*, yaitu merupakan tanaman yang dapat berubah dan berbunga berbunga pada batang dan cabang. Tanaman kakao dapat dibagi menjadi dua bagian yaitu bagian batang, akar, serta daun yang dinamakan bagian vegetatif dan bagian bunga dan buah atau biasa disebut bagian generatif. Benih kakao sendiri termasuk benih yang tidak tahan dikeringkan, kelembaban rendah peka terhadap suhu ruangan, berdaya tahan rendah dan peka terhadap peruahan lingkungan atau biasa disebut rekalsitran (Paniagua-Zambrana *et al*., 2020).

Buah kakao merupakan buah buni yang memiliki biji yang sangat lunak. Buah kakao memiliki panjang buah 16,2– 20,50 dengan diameter 8–

10,07 cm, memiliki permukaan buah halus, agak halus hingga kasar. Buah kakao memiliki tiga bagian utama yaitu terdiri dari kulit buah, plasenta dan biji dan komponen terbesar dari buah kakao yaitu terdapat pada kulit buah yaitu sekitar 70% lebih dari berat buah masak sedangkan presentase biji kakao yaitu kurang lebih 27-29% sisanya plasenta yang merupakan pengikat dari sekitar 30-40 biji yang terdapat dalam buah (Martono, 2014).

Gambar 2.1 Buah Kakao (*Theobroma cacao L.)*
Sumber (Koleksi Pribadi)

2.1.3 Kandungan Kimia

1) Alkaloid

Alkaloid adalah senyawa yang paling umum ditemukan, dikarenakan zat alkaloida sebagian besar ditemukan pada tumbuhan. Pada dasarnya alkaloida mempunyai satu buah atom nitrogen atau lebih yang memiliki sifat basa maka dari itu disebut alkaloid. Alkaloid memiliki fungsi sebagai perlindungan tanaman terhadap hama dan penyakit sebagai pengatur pertumbuhan dan juga sebagai basa mineral untuk mengatur ion-ion pada tanaman. Alkaloida yang dihasilkan dan yang ditemukan pada suatu

tanaman termasuk dalam kelompok metabolit sekunder (Sianipar *et al*., 2017).

2) Flavonoid

Flavonoid termasuk kedalam salah satu golongan senyawa fenol terbesar yang terdapat pada tanaman. Falvonoid tersusun dari 15 atom karbon befungsi sebagai inti dasarnya dan tersusun dari konfigurasi C6-C3 - C6 yang merupakan dua cincin aromatik yang dihubungkan dengan tiga atom karbon (Parwata, 2016).

3) Tanin

Tanin merupakan salah satu senyawa aktif metabolit sekunder yang memiliki beberapa manfaat di antaranya sebagai antidiare, astrigen, antioksidan dan juga sebagai antibakteri. Senyawa tanin sendiri terdiri dari dua jenis yaitu tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis *(*Makatambah *et al.*, 2020).

4) Saponin

Saponin merupakan yang banyak diproduksi oleh tanaman, beberapa bakteri dan juga hewan laut tingkat rendah. Jika di lihat dari segi manfaat saponin memmiliki sifat sebagai antioksidan, antijamur dan juga sebagai antiinflamasi, dan juga sebgai antibakteri (Pratiwi, 2019).

5) Fenol

Fenol termasuk tedalam metebolit sekunder dan tersusun dari turunan hidroksi dari satu atau lebih cincin benzena. Senyawa fenol memiliki

beberapa manfaat diantaranya yaitu sebagai antijamur dan juga antibakteri (Pratiwi, 2019).

2.1.4 Manfaat

Pada umumnya pada saat melakukan panen kulit buah kakao hanya di lihat sebagai menjadi limbah perkebunan saja sehingga dan dapat mengakibatkan pencemaran lingkungan, kurangnya pengetahuan masyarakat terutama petani mengenai pemanfaatan kulit buah kakao mengakibatkan kulit buah kakao terbuang secara percuma. Pemanfaatan kulit buah kakao, itu hanya sebatas dijadikan sebagai pupuk dan juga bahan pakan ternak saja, padahal kulit buah kakao memiliki banyak manfaat terutama bagi kesehatan (Kamelia *et al*., 2017).

Dalam beberapa penelitian di sebutkan bahwa kulit buah kakao sendir merupakan sumber bioaktif yang melimpah,mudah didapat dan juga murah, ada beberapa senyawa bioaktif yang terdapat dalam kulit buah kakao diantaranya adalah terdapat serat, antioksidan, pektin, mineral dan theobromine. Hal tersebut sangat berpotensi untuk dimanfaatkan dalam bidang farmasi, medis ataupun dalam produk makanan (Campos-Vega *et al*., 2018).

Kulit buah kakao juga memiliki beberapa senyawa kimia yang memiliki manfaat salah satunya sebagai pakan , yaitu diantaranya kulit buah kakao sendiri memiliki beberapa kandungan gizi sebagai berikut : protein kasar sebanyak 8%, serat sebanyak 40%, total digestible nutrient sebanyak 50,8% dan bahan kering sebanyak 88% (Kamelia *et al*., 2017).

2.2 Tinjauan Metode Ekstraksi

Penyaringan atau yang biasa disebut ekstraksi sendiri adalah proses dimana pemisahan suatu bahan dari campurannya, dan memakai pelarut yang sesuai (Mukhtarini, 2014). Terdapat beberapa jenis metode ekstraksi yang dapat digunakan, yaitu sebagai berikut :

a) Ekstraksi Dingin

Ektraksi dingin adalah ekstraksi yang tidak melibatkan proses pemanasan selama proses ekstraksi berlangsung, ekstraksi dingin terdiri dari :

1. Maserasi

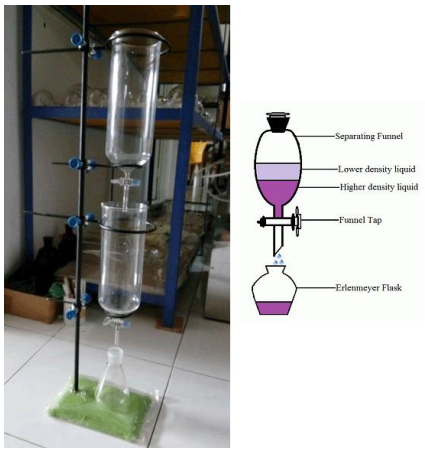
   Maserasi sendiri merupakan metode ekstraksi yang paling umum atau yag paling sering digunakan digunakan, dengan cara memasukan serbuk tanaman dengan pelarut yang sesuai kemudian dimasukkan kedalam wadah inert kemudian ditutup dan didiamkan disuhu ruang. Metode ini cukup memakan banyak waktu dan pelarut yang digunakanpun cukup banyak (Mukhtarini, 2014).

Gambar 2.2 Set Alat Maserasi
Sumber: (Sanny, 2022)

2. Perkolasi

   Pada metode perkolasi serbuk sampel dibasahi secara perlahan dalam sebuah perkolator. Kemudian pelarut ditambahkan dan dibiarkan menetes perlahan kebagian bawah. Metode perkolasi sendiri memiliki kelebihan

dimana sampel yang diuji akan selalu dialiri oleh pelarut sedangkan kekurangan dari metode perkolasi ini adalah membutuhkan banyak wantu dan juga membutuhkan banyak pelarut (Mukhtarini, 2014).



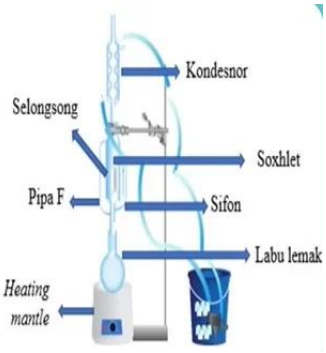
Gambar 2.3 Set Alat Perkolasi
Sumber (Triesty & Mahfud, 2017)

b) Ekstraksi Panas

Metode ekstraksi panas yaitu ekstraksi yang dilakukan dengan pemanasan dalam mengekstraksi suatu simplisia dengan menggunakan pelarut yang lebih sedikit dan waktu yang cepat. Ekstraksi secara panas dapat dilakukan dengan beberapa metode yaitu :

1. Sokhletasi

Sokhletasi merupakan suatu metode ektraksi yang dilakukan dengan cara memisahkan antara beberaoa komponen-komponen yang terdapat atau ada dalam sampel padat, dilakukan dengan cara ekstraksi yang berulang-ulang dan terus menerus menggunakan pelarut yang sama. Sehingga komponen yang diinginkan akan terisolasi dengan lebih sempurna (Ridwan *et al*., 2017).



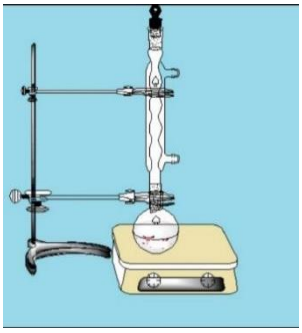
Gambar 2.4 Set Alat Sokhletasi
Sumber (Triesty, 2017)

2. Infusa

Infusa merupakan metode ekstraksi yang mendekati cara masyarakat dalam pembuatan obat tradisional. Kata Infusa sendiri yaitu berasal berasal dari bahasa latin yaitu *Infusum* yang memiliki arti sediaan cair yang dibuat dengan cara mengekstraksi bahan nabati dengan pelarut air pada suhu 90^{o}C selama 15 menit (Ainia, 2017).

3. Refluks

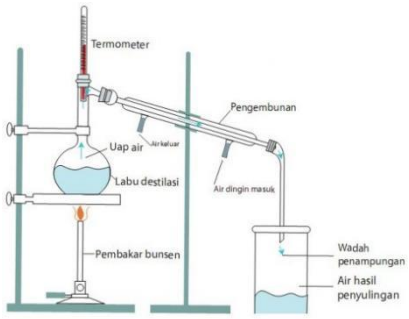
Refluks merupakan ekstraksi yang dilakukan dengan pelarut pada titik didihnya, dilakukan dalam waktu tertentu dengan menggunakan jumlah pelarut terbatas yang relatif lebih konstan, dengan adanya pendinginan balik. Ekstraksi dapat dilakukan secara efisien dan sampel lebih efektif dapat ditarik oleh pelarut (Susanty *et al*., 2016).



Gambar 2.5 Set Alat Refluks
Sumber (Supaya, 2019)

4. Digesti

Metode digesti juga sering disebut dengan metode kinetik (dengan pengadukan kontinu) dan menggunakan suhu panas yang lebih tinggi dan dilakukan pada suhu 40-50ºC.



Gambar 2.6 Set Alat Digesti
Sumber (Setiawan, 2018)

5. Dekok

Dekok merupakan metode ekstraksi yang menggunakan air sebagai pelarutnya kemudian dipanaskan pada temperature 90ºC selama 30 menit (Santoso *et al*., 2019).

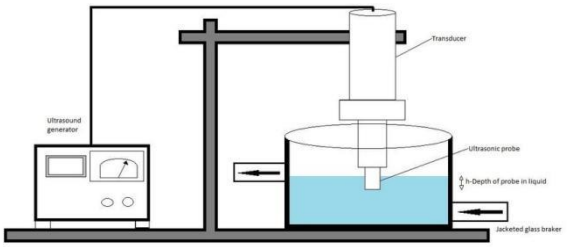
c) Ekstraksi Non-Konvensional

1. *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE)

Ultrasonic Assisted Extraction (UAE) juga di sebut metode maserasi yang telah dimodifikasi dengan melibatkan bantuan gelombang ultrasonik dengan sinyal dan frekuensi yang tinggi yaitu mencapai 20 kHz (Mukhtarini, 2014).

Teknik ekstraksi dengan menggunakan metode *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) kini menjadi salah satu metode ekstraksi yang banyak diminati karena efek dari kavitasi yang ditimbulkan waktu yang efektif dan penggunaan pelarut yang lenih sedikit. Selain itu metode ini merupakan

metode ekstraksi berbasis gelombang ultrasonik yang menghantarkan getaran ultrasonik > 20 kHz pada permukaan simplisia juga banyak diminati dalam perkembangan teknologi dari ekstraksipada bahan hasil pertanian dan proses kimia. Penggunaan gelombang ultrasonuik memiliki karakteristik proses non-destruktif dan non-invasif, sehingga dapat mudah diadaptasikan dengan berbagai aplikasi (Yuniarto *et al.*, 2021)



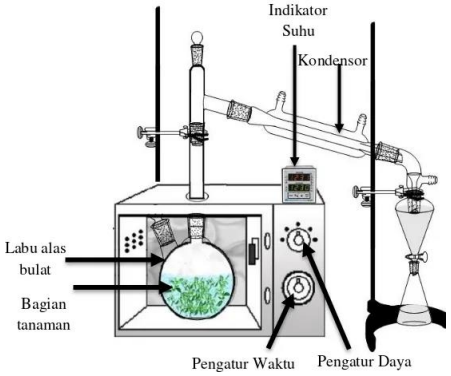
Gambar 2.7 Set Alat UAE
Sumber (Ayu *et al*., 2020)

2. *Microwave Assisted Extraction* (MAE)

Microwave Assisted Extraction (MAE) merupakan metode metode ekstraksi yang juga bisa di sebut esktraksi nonkonvensional yang dipakai untuk ekstraksi senyawa aktif dari berbagai tanaman karena keunggulannya itu, efisiensi energi yang dikeluarkan akan lebih tinggi sehingga penggunaan pelarut akan relatif lebih sedikit (Sari *et al*., 2020).

Ekstraksi MAE sering dipakai untuk proses ektraksi berbagai senyawa yang tidak tahan dengan suhu panas. Metode ekstraksi MAE juga dapat membantu memperbanyak jumlah rendemen yang didapatkan dari sampel atau ekstrak kasar, dan waktu ekstraksi juga membutuhkan pelarut yang lebih sedikit jika dibandingkan dengan metode ekstraksi konvensional. Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi ekstraksi dengan teknik *Microwave Assisted Extraction* (MAE) ini adalah temperatur,waktu, bahan, dan pelarut. Waktu

ekstraksi memiliki dampak besar terhadap ekstraksi, waktu ekstraksi yang terlalu panjang ataupun terlalu pendek dapat berpengaruh teradap sifak fisik dan kimia dari bahan yang diekstraksi (Kristanti *et al*., 2019).



Gambar 2.8 Set Alat MAE
Sumber (Shahid *et al*., 2016)

2.3 Pelarut

Pelarut juga bisa disebut cairan atau gas yang dapat mencairkan zat padat, gas atau cair yang dapat memberikan sebuah larutan, Adapun pelarut yang paling sering digunakan dalam kehidupan yaitu air. Selain itu pelarut yang juga umum digunakan merupakan bahan kimia organik yang mengandung karbon dan disebut pelarut organik. Pelarut umumnya memiliki temperatur yang lebih rendah dan juga lebih mudah menguap (Romadhoni, 2018).

Pada penelitian kali pelarut yang digunakan adalah etanol 96%, menurut (Afifah, 2014) pelarut etanol 96 % merupakan senyawa polar yang dapat mudah sekali menguap maka dari itu baik digunakan sebagai pelarut ekstrak. Digunakan etanol sebagai pelarut karena etanol memiliki sifat umum, polar dan juga mudah didapat, etanol 96% dipilih karena tidak toksik, selektif, dan absorbansinya baik juga dapat menyaring yang tinggi sehingga dapat memutuskan ikatan senyawa yang bersifat polar, semi polar dan non-polar. Pelarut etanol 96% juga lebih

mudah masuk kedalam dinding sel sampel, dibandingkan dengan pelarut etanol dengan konsentrasi yang lebih rendah, sehingga akan menghasilkan ekstrak yang lebih pekat (Wendersteyt *et al*., 2021).

2.4 Bakteri

Bakteri merupakan mikroorganisme prokariotik uniseluler masuk dalam dalam kelas *Schizomycetes*, bakteri berkembang biak dengan cara aseksual yaitu dengan cara membelah sel. Bakteri mempunyai bentuk yang bulat, bentuk batang yang melengkung. Bakteri juga dapat mengalami inovasi yaitu perumbahan bentuk yang di indikasi oleh suhu,makanan dan lingkungan yang kurang bagus bagi bakteri (Hidayati *et al*., 2016).

Menurut buku *Essential Microbiology* dijelaskan bahwa bakteri merupakan mikroba prokariotik uniseluler yang tidak memiliki membran inti sel dan berukuran mikroskopik. Secara umum bakteri berbentuk satu sel tunggal atau uniseluler, tidak memiliki klorofil, berkembang biak dengan cara pembelahan sel atau biner. Bakteri dapat hidup dengan cara menyebar di udara, pada tanaman, tanah, air dan juga pada tubuh hewan dan juga manusia. Berdasarkan sifatnya bakteri dikenal sebagai bakteri gram positif dan bakteri gram negatif (Nida *et al*., 2020).

2.4.1 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Bakteri

a) Nutrien

Nutrien berfungsi sebagai zat makanan yang digunakan untuk pertumbuhan bakteri dan memiliki sumber hidrogen, sumber karbon, mineral (sulfur, fosfat) dan juga faktor pertumbuhan bakteri diantaranya meliputi

purin, asam amino, vitamin dan pirimidin. Kekurangan sumber nutrini tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Sundu *et al*., 2018).

b) Suhu

Bakteri dapat dibagi menjadi tiga kelompok utama berdasarkan perbedaan suhunya, yaitu dapat hidup pada suhu dingin (psikofilik) pada suhu 15-20ºC. Kemudian ada (mesoflik) yaitu dapat hidup pada suhu 30-37ºC, dan (termofilik) atau dapat hidup pada suhu panas berkisar antara 50-60ºC (Susanty *et al*., 2016).

c) Kelembaban

Kelembaban merupakan hal yang sangat penting dalam pertumbuhan bakteri, bakteri pada umumnya membutuhkan kelembaban yang tinggi yaitu sekitar 85%. Kelembaban yang relatif tinggi dapat meningkatkan pertumbuhan mikroorganisme (Wulandari, 2014).

d) pH

pH memiliki pengaruh terhadap proses pembenihan suatu bakteri, umumnya kuman pathogen memiliki pH optimum 7,2-7,6. Walaupun suatu perkembang biakan yang pada dasarnya baik untuk suatu kuman, namum pada kuman selanjutnya akan terbatas disebabkan karena proses metabolisme kuman itu (Rica *et al*., 2019).

e) Tekanan Osmotik

Tekanan osmotik dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri, jika tenanan osmotik lingkungan lebih besar ((hipertonis) maka sel akan mengalami plasmolysis. Namun jika tekanan osmotik lingkungan yang hipotonis maka

akan menyebabkan pembengkakan sel dan kerusakan sel. Oleh karena itu bakteri memerlukan tingkat tekanan osmotik yang sesuai untuk mempertahankan hidupnya. Meskipun sel bakteri memiliki daya adaptasi, tetapi perbedaan osmitik dengan tekanan lingkungan tidak boleh terlalu besar (Nofita *et al*., 2020).

2.5 *Staphylococcus aureus*

Bakteri *Staphylococcus aureus* ditemukan dan oleh Pasteur dan Koch kemudian dibiakkan, lalu di teliti lebih terperinci oleh Ogston dan Rosenbach pada era tahun 1880-an. Sebab bakteri ini berbentuk seperti tangkai buah anggur, maka nama genus yang diberikan yaitu *Staphylococcus* dan diberikan oleh Ogston sedangkan nama spesies *aureus* diberikan oleh Rosenbach karena pada biakan murni, koloni ini terlihat kuning keemasan. Rosenbach juga menyebutkan bahwa baktei *Staphylococcus aureus* ini merupakan sebab dari infeksi pada luka (Adams, 2014).

Staphylococcus aureus merupakan bakteri yang termasuk kedalam bakteri gram positif dengan bentuk bulat dengan diameter 0,7-1,2 μm, bergerombol seperti anggur (*Staphylococcus)* dan koloni emas *(aureus),* fakultatif anaerob, tidak membentuk spora dan tidak bergerak. Bakteri *Staphylococcus aureus* dapat hidup pada suhu 37ºC, tetapi dapat membentuk pigmen yang baik pada suhu kamar (20-25ºC). Koloni pada pembenihan padat berwarna abu-abu sampai kuning keemasan, memiliki bentuk halus, bundar, meonjol dan berkilau (Adams, 2014).

2.5.1 Klasifikasi *Staphylococcus aureus*

Klasifikasi ilmiah *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut :

Kingdom : Bacteria

Divisi : Firmicutes

Genus : Staphylococcus

Familia : Staphylococcaceae

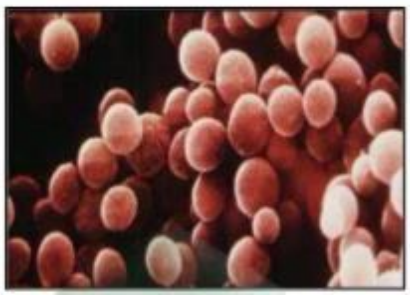
Kelas : Cocci

Ordo : Bacillales

Spesies : *Staphylococcus aureus*

2.5.2 Morfologi *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus adalah bakteri gram-positif berbentuk bulat yang biasanya memiliki rangkaian tidak beraturan yang menyerupai buah anggur. Beberapa di antaranya adalah flora normal pada kulit dan selaput mukosa manusia, yang menyebabkan abses, berbagai infeksi piogen, dan bahkan septikimia yang fatal. Tidak membentuk spora atau flagel, *Staphylococcus aureus* mengandung polisakarida dan protein yang bermanfaat sebagai antigen dan berperan penting dalam pembentukan dinding sel (Apriliana *et al*., 2018).



Gambar 2.9 Bakteri *Staphylococcus aureus*
Sumber (Mauliyanti, 2017)

2.5.3 Penyakit yang Ditimbulkan oleh *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus adalah bakteri aerob gram-positif yang termasuk dalam flora normal manusia yang ditemukan pada kulit dan selaput mukosa. Hampir setiap orang pernah terinfeksi *Staphylococcus aureus*, bakteri yang merupakan patogen utama pada manusia. Mulai dari masalah pencernaan hingga infeksi kulit ringan hingga infeksi berat, gejalanya termasuk benjolan pada kulit yang penuh dengan nanah dan peradangan yang sangat sakit. Penanganan antibiotik seperti cloxacillin, dicloxacillin, dan eritromycin biasanya diberikan kepada pasien yang mengalami infeksi *Staphylococcus aureus.* (Rini *et al*., 2020).

2.6 Antibakteri

Antibakteri adalah bahan yang membunuh, menghentikan, atau menghentikan pertumbuhan bakteri. Idealnya, zat antibakteri memiliki sifat toksisitas selektif, yang berarti bahwa obat membahayakan parasit tetapi tidak membahayakan hopses. Antibakteri terbagi menjadi dua kategori: bakteriostatik (yang menghentikan pertumbuhan bakteri) dan bakteriosid (yang membunuh bakteri). (Talaro *et al.*, 2020).

Antibakteri terbagi menjadi dua kelompok berdasarkan kemampuan mereka untuk menghambat atau membunuh bakteri. Yang pertama adalah antibakteri berspektrum sempit, yang dapat membunuh hanya bakteri tertentu, seperti bakteri gram positif atau gram negatif. Yang kedua adalah antibakteri berspektrum luas,

yang dapat membunuh baik bakteri gram negatif maupun gram positif. (Talaro *et al*., 2020).

2.6.1 Metode Aktivitas Antibakteri

Dua teknik, difusi dan dilusi, dapat digunakan untuk menentukan kepekaan bakteri terhadap antimikroba. Pengujian ini menggunakan mikroorganisme sebagai indikator untuk menentukan pengobatan yang efektif dan efisien untuk mengobati penyakit yang disebabkan oleh bakteri atau organisme yang diuji. (Pratiwi, 2019). Berikut jenis metode yang dapat dipergunakan untuk mengukur potensi antibiotik lain dalam sampel atau kepekaan mikrobia, yaitu:

a. Metode Difusi

1. Difusi Cakram

Metode difusi cakram merupakan metode yang paling umum digunakan untuk menentukan aktivitas antibakteri, menggunakan kertas cakram sebagai media untuk menyerap bahan antimikroba yang dijenuhkan ke dalam bahan uji. Setelah itu, kertas cakram diletakkan pada permukaan media, sehingga biakan mikroba yang akan diuji telah dimasukkan ke dalamnya. Selanjutnya diinkubasikan kemudian diamati untuk menentukan ada atau tidaknya pertumbuhan mikroba (Novita, 2016).

2. Metode Sumuran

Metode ini digunakan dengan membuat lubang tegak lurus pada media agar padat telah diinokulasi dengan bakteri yang akan diuji. Kemudian, sampel yang akan diuji dimasukkan ke dalam lubang, yang jumlah dan letaknya disesuaikan

dengan tujuan penelitian. Setelah inkubasi, lakukan pengamatan untuk memastikan apakah ada hambatan di sekitar lubang. (Nurhayati *et al*., 2020).

Kelebihan metode sumuran adalah lebih mudah untuk mengukur luas zona hambat yang terbentuk karena bakteri beraktivitas sampai ke bawah nutrien, bukan hanya di permukaan atasnya saja (Nurhayati *et al*., 2020).

3. Metode Silinder

Metode silinder menggunakan sejumlah silinder yang terbuat dari besi tahan karat atau gelas di atas media agar yang sebelumnya telah diinokulasi dengan bakteri yang akan diuji. Setiap silinder kemudian diatur sedemikian rupa sehingga berdiri di atas media agar, dan kemudian diisi dengan larutan yang akan diuji. Setelah itu diinkubasi. Kemudian perhatikan apakah ada area hambatan di sekitar silinder (Kusmiyati *et al.*, 2016).

b. Metode Dilusi

Metode dilusi menggunakan beberapa tabung reaksi yang telah diisi dengan media cair untuk mengukur jumlah sel mikroba yang akan diuji. Kemudian, masing-masing tabung reaksi diisi dengan obat atau sampel yang telah diencerkan, dan kekeruhan diamati pada tabung reaksi. Metode ini digunakan untuk menentukan kadar hambat minimum dan kasar bunuh minimum dari sampel atau obat yang diuji (Etikasari *et al*., 2017). Adapun metode dilusi ada dua jenis,yaitu:

1. Metode Dilusi Cair

Untuk kadar hambat minimum (KHM) dan kadar bunuh minimum (KBM), metode ini digunakan. Uji dilakukan dengan mengencerkan berbagai agen

antimikroba pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji. Uji dilakukan pada kasar terkecil yang terlihat jernih dengan kadar hambat minimum. Selanjutnya, kadar hambat minimum larutan diukur kembali pada media cair tanpa menambahkan agen antimikroba atau mikroba uji. Setelah inkubasi selama 18 hingga 24 jam, amati agar media cair tetap jernih setelah diinkubasi sampai kadar bunuh minimum (KBM) telah ditetapkan. (Etikasari *et al*. ,2017).

2. Metode Dilusi Padat

Metode dilusi cair serupa, tetapi menggunakan media padat (solid). Metode ini memiliki keunggulan bahwa satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji berbagai mikroba uji. (Etikasari *et al*., 2017).

2.7 Uji Efektivitas Antibakteri

a. Sterilisasi Alat

Sebelum melakukan pengujian alat harus selalu disterilkan terlebih dahulu. Proses sterilisasi alat dapat dilakukan menggunakan autoklaf dengan suhu 121ºC selama 15 menit. Tujuan dari poses ini adalah untuk menghindari terjadinya kontaminan (Nofita *et al*., 2020).

b. Pembuatan Media

Medium yang dipakai untuk pembiakan bakteri adalah Nutrient Agar, pembuatan Nutrient Agar dilakukan dengan cara menimbang sebanyak 6,9 gram NA, lalu dilarutkan dengan 300 ml aquadest kemudian dipanaskan diatas penangas air hingga mendidih sampai menjadi larutan yang homogen. Tambahan aquadest untuk mengganti volume yang hilang sampai tepat 300 ml,

siapkan gelas beaker yang sebelumnya sudah disterilkan kemudian tuangkan medium agar ke dalamnya. Selanjutnya disterilkan dengan autoklaf dengan suhu 121ºC dan tekanan 1 atm selama 30 menit (Nofita *et al*., 2020).

c. Peremajaan Bakteri

Tujuan dari peremajaan bakteri adalah untuk memberi bakteri kemampuan untuk memulai metabolisme kembali setelah mereka siap. Satu jarum ose biakan murni digunakan untuk meremajakan bakteri. Kemudian, agar permukaan baiakan miring, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kemudian setelah proses peremajaan bakteri selesai selanjutnya bakteri siap digunakan dengan proses inokulasi. Proses ini dilakukan dengan cara mengambil satu jarum ose suspensi bahan yang mengandung bakteri dari medium agar miring, lalu mencelupkan dedalam 10 ml medium cair. Selanjutnya diinokulasi pada suhu kamar 25ºC Selama 24 jam sambil diaduk (Wijayati *et al*., 2014).

d. Uji Efektivitas Antibakteri

Pengukuran dilakukan selama 24 jam masa inkubasi, aktivitas antibakteri dapat dilihat dari terbentuknya zona bening disekitar lubang sumuran. Setelah zona bening diidentifikasi sebagai zona hambat bakteri, diameternya diukur dengan jangka sorong manual. Untuk mengetahui diameter zona hambat pada masing-masing konsentrasi, ukuran lubang sumuran dibagi dengan diameter zona hambat. Nilai rata-rata dari masing-masing kuadran kemudian diambil dan digunakan untuk menghitung diameter zona hambat pada masing-masing konsentrasi (Nofita *et al.*,2020).

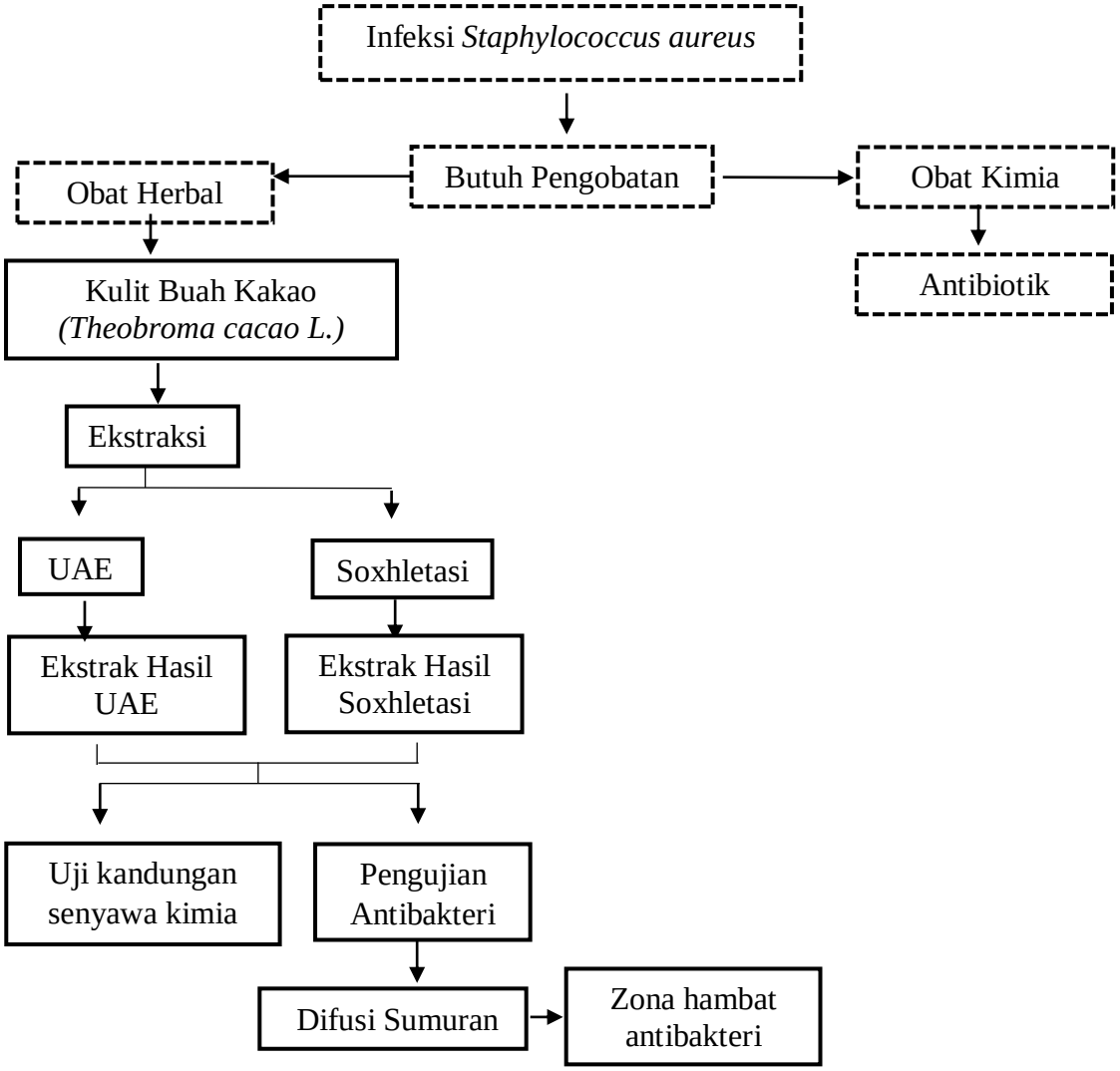
Adapun klasifikasi kategori zona hambat antibakteri menurut (Alfath *et al*., 2014) dapat dilihat pada tabel berikut :

Diamter Zona Terang	Respon Hambatan Pertumbuhan
>20 mm	Sangat kuat
10-20 mm	Kuat
5-10 mm	Sedang
<10 mm	Lemah

Tabel 2.1 Klasifikasi Kategori Zona Hambat Antibakteri

BAB 3.KERANGKA KONSEP

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3. 1 Kerangka Konseptual

3.2 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan kerangka konseptual diatas maka yang menjadi hipotesisnya adalah :

Ho : Tidak ada aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah kakao *(Theobroma cacao L.)* yang diekstraksi menggunakan metode UAE *(Ultrasonic Assisted Extraction)* dan soxhletasi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus.*

Hα : Ada aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah kakao *(Theobroma cacao L.)* yang diekstraksi menggunakan metode UAE *(Ultrasonic Assisted Extraction)* dan soxhletasi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus.*

BAB 4. METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Penelitian eksperimental laboratorium ini menggunakan metode ekstrasi UAE *(Ultrasonic Assisted Extraction)* dan soxhletasi dengan pelarut etanol 96%. Metode difusi sumuran digunakan untuk menguji aktivitas antibakteri. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah kakao *(Theobroma cacao L.)* dari masing-masing ekstrak dengan metode difusi sumuran terhadap *Staphylococcus aureus.*

4.2 Populasi dan Sampel

4.2.1 Populasi Penelitian

Populasi adalah sekumpulan objek penelitian yang memiliki karakteristik tertentu (Muhyi *et al*., 2018).Populasi dalam penelitian ini yaitu menggunakan kulit buah kakao *(Theobroma cacao L.)* yang diperoleh dari Puslit Koka (Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia) Jember, Jawa Timur, Indonesia.

4.2.2 Sampel Penelitian

Sampel adalah karakteristik yang dimiliki oleh populasi tersebut *(Muhyi et al*., 2018). Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak kulit buah kakao *(Theobroma cacao L.)* yang diekstraksi menggunakan pelarut etanol 96%.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas merupakan variabel yangterkait atau menjadi sebab timbulnya variabel lainnya (Muhyi *et al*., 2018). Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak kulit buah kakao *(Theobroma cacao L.)* yang diekstraksi dengan UAE (*Ultrasonic Assisted Extraction*) dan soxhletasi.

4.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat adalah variabel yang dipengaruhi atau yang menjadi akibat, karena adanya variabel bebas (Muhyi *et al*., 2018). Variabel terikat yang digunakan pada penelitian ini merupakan aktivitas antibakteri yang dilihat dengan terdapatnya zona bening yang muncul disekitar sumuran.

4.4 Tempat Penelitian

Pemberian ekstrak kulit buah kakao *(Theobroma cacao L.)* terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococus aureus* dilakukan di Laboratorium terpadu Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi Jember.

4.5 Waktu Penelitian

Waktu penelitian dilakukan pada bulan Mei sampai Juli 2023.

4.6 Definisi Operasional

Definisi operasional adalah suatu atribut atau sifat atau nilai dari objek dari kegiatan yang memiliki variasi tertentu yang telah ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari dan kemudian diambil kesimpulan dikenal sebagai definisi operasional. (Sugiono, 2016). Definisi operasional pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

Tabel 4.1 Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi	Alat Ukur	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala Data
1.	Kandungan senyawa kimia	Uji kandungan senyawa metabolit sekunder berupa tanin,saponin alkaloid,flavonoid, dan polifenol	Tabung reaksi,pipet tetes	Penambahan pereaksi reagen sesuai dengan senyawa yang akan diuji	Terbentuk warna, endapan pada setiap uji kandungan senyawa kimia ekstrak kulit buah kakao *(Theobroma cacao L.)*	Ordinal
2.	Aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus*	Antibakteri merupakan zat yang dapat digunakan sebagai penghambat atau dapat membutuh bakteri. Dengan tujuan untuk mencegah penyakit serta infeksi	Jangka Sorong	Mengukur diameter zona hambat pada area	Terbentuknya zona hambat disekitar sumuran	Rasio

4.7 Teknik Penggunaan Data

4.7.1 Determinasi Tanaman

Determinasi kulit buah kakao dilakukan di Laboratorium Tanaman Politeknik Negeri Jember, untuk memastikan kebenaran identitas dengan jelas bahwa kulit buah kakao yang akan diuji merupakan atau spesies *(Theobroma cacao L.).*

4.7.2 Pembuatan Serbuk Simplisia Kulit Kakao *(Theobroma cacao L.)*

Kulit buah kakao yang didapatkan dari perkebunan Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Kabupaten Jember. Selanjutnya kulit buah kakao dipotong-potong dan keringkan, kulit buah kakao dikeringkan dengan cara dijemur dibawah sinar matahari kemudian dihaluskan menjadi serbuk simplisia kulit buah kakao (Septriyanti *et al*., 2020).

4.7.3 Pembuatan Ekstrak Kulit Kakao *(Theobroma cacao L.)*

Sampel atau bahan yang akan digunakan pada penelitian ini merupakan kulit buah kakao *(Theobroma cacao L.)* yang didapatkan dari perkebunan Pusat Penelitian Kopi dan kakao Kabupaten Jember, Provinsi Jawa Timur , Indonesia.

1. Soxhletasi

Pembuatan ekstrak kulit buah kakao menggunakan metode soxhletasi yang dilakukan dengan cara menimbang terlebih dahulu serbuk simplisia kulit buah kakao yaitu sebanyak 200 gram Selanjutnya, dibungkus dengan kertas saring, diikat dengan benang pada kedua ujungnya, dan dimasukkan ke dalam alat soxhletasi. etanol 96% sebagai pelarut dimasukkan ke dalam labu soxhlet 400 ml. Proses sokletasi dilakukan pada suhu pemanasan antara 81-96°C dan berulang kali dilakukan hingga tetesan siklus tidak berwarna lagi atau kurang lebih tujuh siklus.. Ekstrak cair yang diperoleh lalu depekatkan dengan menggunakan waterbath hingga diperoleh berupa ekstrak kental (Amina, 2022).

2. UAE (*Ultrasonic Assisted Extraction*)

Sebanyak 100 gram ekstrak dimasukkan ke dalam erlenmeyer lalu ditambahkan pelarut etanol 96% sebanyak 300 ml. Selanjutnya tutup dengan akumunium foil lalu dimasukkan kedalam sinikator selama 30 menit. Kemudian dihilangkan pelarutnya menggunakan rotary evapolator dengan kecepatan 40 rpm dan pada suhu 40°C, dan dipekatkan di waterbath 60°C. Metode ini mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh Vodopivec (2014).

4.7.4 Skrining Fitokimia

1. Uji Alkaloid

Timbang ekstrak sebanyak 0,5 gram kemudian tambahkan HCl, selanjutnya bagai ekstrak kedalam tiga tabung. Pada tabung satu ditambahkan pereaksi Mayer, tabung dua ditambahkan pereaksi Dragendorff dan tabung tiga ditambahkan pereaksi Wagner. Hasil uji dinyatakan positif mengandung alkaloid apabila pada saat Endapan putih (putih kekuningan) dihasilkan oleh pereaksi Mayer, Wanger, Dragendrof dan Endapan cokelat dihasilkan oleh pereaksi Dragendrof. (Adhayanti *et al*., 2018).

2. Uji Flavonoid

Timbang sampel sebanyak 0,5 gram laku ditambahkan 5 ml air, Didihkan selama 5 menit lalu disaring. Filtrat diambil sebanyak 2 ml lalu ditambahkan 0,05 mg serbuk Mg dan 1 ml HCl pekat, lalu kocok hingga homogen. Dinyatakan positif jika terbentuk warna kuning hingga jingga (Ramadhan *et al*., 2020).

3. Uji Tanin

Sebanyak 0,2 gram ekstrak sampel dilarutkan dengan aquadest dalam tabung reaksi. Selanjutnya tambahkan $FeCl_3$ 1%. Dinyatakan positif bila hasil menunjukan atau menghasilkan warna biru kehitaman (Pappa *et al*., 2019).

4. Uji Saponin

Sampel diambil sebanyak 0,5 gram, lalu ditambahkan 5 ml air panas dan dikocok kuat selama 10 detik. Dapat dinyatakan positif apabila setelah 10 menit terbentuk busa yang stabil dan tidak hilang setelah ditambahkan 1 tetes HCl 2N. Jika buih tidak hilang dengan penambahan HCl 2N maka ekstraksi tersebut positif mengandung saponin (Adhayanti *et al*., 2018).

5. Uji Polifenol

Sampel diambil sebanyak 1 ml kemudian direaksikan dengan $FeCl_3$. Dapat dinyatakan positif apabila terbentuk warna hitam pekat, hitam kehijauan atau biru kehitaman (Adhayanti *et al*., 2018).

4.7.5 Sterilisasi Alat dan Bahan

Sebelum melakukan pengujian alat harus selalu disterilkan terlebih dahulu. Proses sterilisasi alat dapat dilakukan menggunakan autoklaf dengan suhu 121ºC selama 15 menit. Tujuan dari poses ini adalah untuk menghindari terjadinya kontaminan (Nofita *et al*., 2020).

4.7.6 Pembuatan Media

Tahapan pertama yaitu dilakukan sterilisasi alat terlebih dahulu, untuk alat non gelas disterilkan terlebih dahulu menggunakan autoklaf dengan menggunakan suhu 21°C dilakukan selama 15 menit lalu untuk alat gelas disterilkan menggunakan oven pada suhu 160-170°C dan disterilkan selama 2 jam. Selanjutnya untuk jarum ose disterilkan dengan cara dibakar diatas api bunsen (Ngajow *et al*., 2014).

a. Pembuatan Media Agar Miring *Nutrient Agar* (NA)

Diambil *Nutrient Agar* (NA) sebanyak 1 gram, kemudian dilarutkan dengan aquadest menggunakan erlenmeyer hingga 50 ml. Sterilkan media menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121ºC. Kemudian diamkan pada suhu ruang ± 30 hingga media memadat pada kemiringan 30º. Media agar miring ini akan digunakan sebagai inoculum bakteri (Ngajow *et al*., 2014).

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

Timbang MHA sebanyak 2 gram kemudian dilarutkan dalam labu erlenmeyer menggunakan aquadest hingga mencapai 58 ml, lalu dipanaskan hingga sediaan homogen. Lakukan sterilisasi media menggunakan autoklaf pada suhu 121℃ selama 15 menit. Tuangkan media pada cawan petri sekitar 25 ml kemudian diamkan hingga padat (Nurhayati *et al*., 2020)

4.7.7 Pembuatan Konsentrasi Sampel

Pada penelitian ini konsentrasi ekstrak kulit buah kakao yang digunakan mengacu pada penelitian (Mulyatni *et al*., 2015) Terdapat konsentrasi terbaik yakni 64%. Kemudian untuk mendapatkan konsentrasi stok ekstrak diambil sebanyak 3,2 gram ml ekstrak kental kemudian diencerkan dengan pelarut aquadest ad 5 ml.

4.7.8 Pembuatan Kontrol Negatif dan Kontrol Positif

Dalam penelitian ini, kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO 10%, yang dibuat dengan mengambil 10 mL DMSO, memasukkannya ke dalam gelas ukur, dan kemudian menambah akuades sampai volumenya 100 mL. Antibiotik klindamisin 0,01%, konsentrasi, dan jenis antibiotik yang digunakan dalam penelitian ini adalah (Sundu *et al*., 2018).

Klindamisin termasuk ke dalam antibiotik golongan linkosamida yang dapat digunakan untuk mengobati infeksi serius yang disebabkan oleh bakteri, kinerja dari antibiotik ini adalah dengan cara menghentikan perkembangbiakan suatu bakteri.Klindamisin berfungsi dengan menghentikan sintesis protein pada ribosom bakteri, Ini menghentikan bakteri untuk membuat rantai peptide (Athaillah & Sugesti, 2020).

4.7.9 Preparasi dan Uji Aktivitas Antibakteri

1. Pembiakan Bakteri *Staphylococcus aureus*

Pengambilan bakteri dilakukan dengan menggunakan kawat ose steril lalu goreskan pada media agar miring. Kemudian inkubasi pada incubator dengan suhu inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam (Nurhamidin *et al*., 2021).

2. Pembuatan Standar Mc.Farland

a. Pembuatan Larutan $BaCl_2$ 1%

Pertama, timbang BaCl2 sebanyak 1 gram dengan teliti. Kemudian, dengan menggunakan aquadest, larutkan ke labu ukur 100 ml sampai ada tanda batas, dan kemudian semuanya digabungkan. Pindahkan larutan kemudian ke dalam botol reagent yang bertutup rapat dan

gelap. Simpan larutan BaCl2 1 % dalam kulkas (Rosmania & Yanti, 2020).

b. Pembuatan Larutan H_2SO_4 1%

Siapkan labu ukur 100 mililiter yang sebelumnya diisi aquadest sebanyak ± 50 mililiter. Kemudian, dengan hati-hati pipet asam sulfat pekat sebanyak 1,02 mililiter, lalu masukkan secara mengalir ke dalam labu ukur 100 mililiter melalui dindingnya. Setelah mengeluarkan cairan sepenuhnya, campurkan campuran dengan aquadest sampai ada tanda batas. Pindahkan larutan ke dalam botol reagent dan tutupnya dengan rapat. Pastikan larutan H2SO4 1 % disimpan pada suhu ruang. (Rosmania & Yanti, 2020).

3. Pembuatan Larutan *Mc-Farland* 0,5

Ambil larutan $BaCl_2$ 1 % sebanyak 0,05 ml dengan menggunakan pipet keudian masukkan ke dalam tabung reaksi tutup ulir. Selanjutnta dipipet juga larutan H_2SO_4 1 % sebanyak 9,95 ml. Campurkan kedalam tabung reaksi tutup ulir yang sudah berisi larutan $BaCl_2$ 1 %. Vortex larutan selama 1 menit hingga larutan tercampur sempurna. Penyimpanan larutan di dalam kulkas (Rosmania & Yanti, 2020).

4. Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Pembuatan suspensi bakteri dilakukan dengan menggunakan bakteri uji yang telah diinokulasi. Kemudian beberapa bakteri yang sudah diinokulasi diambil menggunakan kawat ose yang sudah steril. Selanjutnya suspensikan bakteri kedalam tabung yang berisi 2 ml NaCl

0,9% hingga didapatkan kekeruhan yang sama dengan standar kekeruhan larutan *Mc. Farland* (Ngajow *et al.*, 2014).

4.7.10 Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Sumuran

Cara melakukan metode sumuran adalah dengan membuat lubang tegak lurus pada media agar yang sebelumnya sudah diinokulasi dengan bakteri. Selanjutnya lubang diisi dengan sampel yang akan diuji, untuk jumlah lubang dapat disesuaikan dengan tujuan penelitian. Pada masing-masing lubang sumuran dimasukkan kontrol positif, kontrol negatif, dan hasil ekstrak kulit buah kakao yang sudah diekstraksi dengan metode UAE (*Ultrasonic Assisted Extraction*) dan soxhletasi dengan konsentrasi 64% dan kemudian dilakukan proses inkubasi selama 24 jam dan diamati ada tidaknya daerah hambatan disekeliling lubang, replikasi dilakukan sebanyak tiga kali pada masing-masing ekstraksi (Nurhayati *et al*., 2020).

4.8 Teknik Analisa Data

4.8.1 Pengumpulan Data

Untuk mengetahui aktivitas antibakteri dapat dikakukan dengan mengukur zona hambat, yang merupakan zona bening pada sekeliling lubang disekitar sumuran dengan menggunakan jangka sorong sebanyak tiga kali (Purnamaningsih *et al*., 2020).

4.8.2 Analisa Data

Teknik Analisa data penelitian ini untuk identifikasi senyawa kimia dihasilkan oleh ekstrak kulit buah kakao *(Theobroma cacao L.)* menggunakan analisis deskriptif (menunjukan tabel ataupun gambar).

Kemudian analisis pada uji aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* dari ekstrak kulit buah kakao *(Theobroma cacao L.)* dengan metode soxhletasi dan UAE (*Ultrasonic Assisted Extraction*) dengan uji statistik SPSS yaitu uji one way ANOVA yang memiliki taraf kepercayaan 95% (Alifah *et al*,2023).

BAB 5.HASIL

5.1 Hasil Determinasi Kulit Buah Kakao

UPT (Pengembangan Pertanian Terpadu) Politeknik Negeri Jember adalah tempat dilakukan determinasi. Seperti yang terlampir pada surat identifikasi pada lampiran 1, hasil determinasi menunjukkan apabila kulit buah kakao yang digunakan dapat dipastikan merupakan spesies (*Theobroma cacao L.)*.

5.2 Hasil Ekstraksi Kulit Buah Kakao

Kulit buah kakao didapat dari pusat penelitian kopi dan kakao Indonesia kabupaten jember atau Puslit, Ada beberapa tanda buah kakao yang sudah siap dimakan: kulitnya berubah hijau saat masak, buahnya mentah berubah merah menjadi jingga tua, tangkainya mulai mengering, dan buahnya dikocok atau digoncangkan. akan mengelurkan bunyi, dan panen dilakukan dua periode dalam setahun. Pertama-tama akan dilakukan sortasi basah dengan cara memisahkan buah dengan kulit buah kemudian dirajang lalu dijemur di bawah terik matahari lalu dioven, setelah kering kemudian dihaluskan dengan cara diblender dan akan didapatkan hasil berupa serbuk simplisia dari kulit buah kakao.

Serbuk simplisia kulit buah kakao kemdian ditimbang sebanyak 200 gram kemudian di ektraksi dengan metode soxhletasi dengan menggunakan 400 ml etanol 96% dan dilakukan sebanyak tiga kali replikasi. Sedangkan untuk ekstraksi dengan metode UAE ditimbang sebanyak 100 gram kulit buah kakao kering kemudian di ekstraksi menggunakan 300 ml pelarut etanol 96%. Kemudian dipekatkan dengan menggunakan water bath sehingga didapatkan

hasil berupa ekstrak kental. Hasil ekstrak kental dari metode *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) di dapatkan untuk total hasil rendem yaitu 13,76% . Sedangkan untuk metode soxhletasi didapatkan total rendemen yaitu 15,05 %.

Tabel 5.1 Hasil Rendemen

Metode	Replikasi	Berat ekstrak kental	Total % rendemen
UAE	1	4,18 ± 0,36	13,76 %
	2	4,89 ± 0,36	
	3	4.69 ± 0,36	
Soxhletasi	1	5,15 ± 0,12	15,05%
	2	5,00 ± 0,12	
	3	4,90 ± 0,12	

5.3 Hasil Skrining Fitokimia

Hasil uji kandungan senyawa kimia menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah kakao mengandung sejumlah senyawa aktif, termasuk alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan polifenol. Endapan atau perubahan warna dari masing-masing pereaksi dapat dilihat dari hasil uji kandungan senyawa kimia. Hasil uji kandungan senyawa kimia ekstrak biji kakao dengan metode UAE dan soxhletasi dapat dilihat pada tabel 5.2 dan 5.3

Tabel 5.2 Hasil uji kandungan senyawa kimia ekstrak kulit buah kakao dengan metode ekstraksi UAE

Uji Senyawa	Pereaksi	Teoritis	Hasil Ekstrak	Kesimpulan
Alkaloid	Ekstrak + HCl 2N + 2 tetes pereaksi *mayer*	Apabila terbentuknya endapan putih	Terbentuk endapan putih	Positif (+)
	Ekstrak + HCl 2N + 2 tetes pereaksi *dragendorf*	Apabila terbebtuk endapan kuning kejinggan	Terbentuk endapan kuning kejinggan	Positif (+)
	Ekstrak + HCl 2N + 2 tetes pereaksi *wagner*	Apabila terbentuk endapan merah kecoklatan	Terbentuk endapan merah kecoklatan	Positif (+)

Flavonoid	Ekstrak + Air + serbuk Mg + HCl pekat	Apabila terbentuk warna kuning kejinggaan	Terbentuk warna kuning kejinggan	Positif (+)
Tanin	Ekstrak + FeCl3	Apabila terbentuk warna hitam kehijauan	Terbentuk warna hitam kehijauan	Positif (+)
Saponin	Ekstrak + air panas	Apabila terbentuk warna busa yang stabil	Terbentuk busa yang stabil	Positif (+)
Polifenol	Ekstrak + FeCl3	Apabila terbentuk warna hitam kehijauan	Terbentuk warna hitam kehijauan	Positif (+)

Keterangan: (+) mengandung senyawa kimia pada ekstrak biji kakao

Tabel 5.3 Hasil uji kandungan senyawa kimia ekstrak kulit buah kakao dengan metode ekstraksi UAE

Uji Senyawa	**Pereaksi**	**Teoritis**	**Hasil Ekstrak**	**Kesimpulan**
Alkaloid	Ekstrak + HCl 2N + 2 tetes pereaksi *mayer*	Apabila terbentuknya endapan putih	Terbentuk endapan putih	Positif (+)
	Ekstrak + HCl 2N + 2 tetes pereaksi *dragendorf*	Apabila terbebtuk endapan kuning kejinggan	Terbentuk endapan kuning kejinggan	Positif (+)
	Ekstrak + HCl 2N + 2 tetes pereaksi *wagner*	Apabila terbentuk endapan merah kecoklatan	Terbentuk endapan merah kecoklatan	Positif (+)
Flavonoid	Ekstrak + Air + serbuk Mg + HCl pekat	Apabila terbentuk warna kuning kejinggaan	Terbentuk warna kuning kejinggan	Positif (+)
Tanin	Ekstrak + FeCl3	Apabila terbentuk warna hitam kehijauan	Terbentuk warna hitam kehijauan	Positif (+)
Saponin	Ekstrak + air panas	Apabila terbentuk warna busa yang stabil	Terbentuk busa yang stabil	Positif (+)
Polifenol	Ekstrak + FeCl3	Apabila terbentuk warna hitam kehijauan	Terbentuk warna hitam kehijauan	Positif (+)

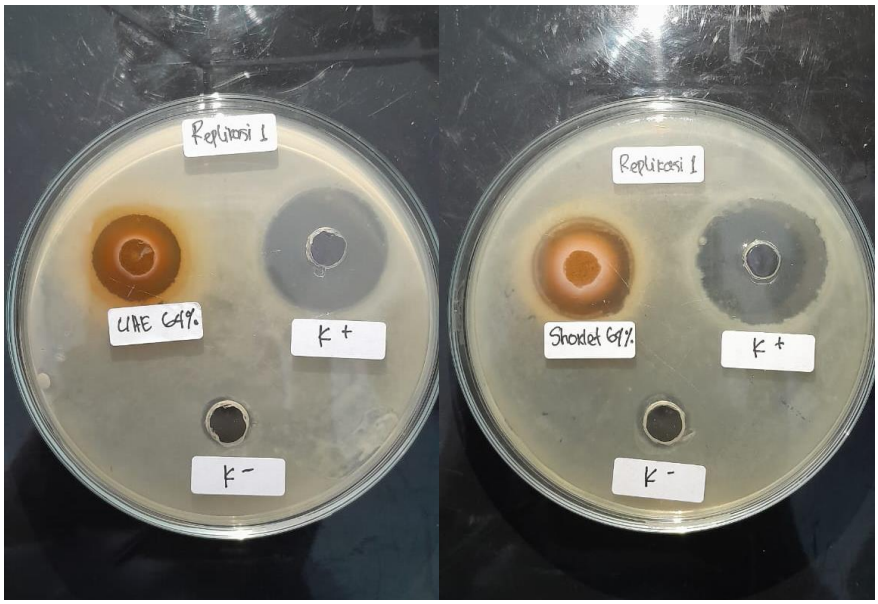
Keterangan: (+) mengandung senyawa kimia pada ekstrak biji kakao

5.4 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian standar kekeruhan Mc. Farland 0,5 dengan panjang gelombang 625 nm dan mendapatkan hasil absorbansi 0,091 dan untuk suspensi bakteri mendapatkan hasil absorbansi 0,091.

Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan ekstrak kulit buah kakao dapat menghambat bakteri *Staphylococus aureus.* Hasil uji aktibakteri *Staphylococus aureus* dengan menggunakan metode soxhletasi dengan konsentrasi 64% memiliki zona hambat yang lebih besar yaitu rata – rata sebesar 13,41 mm. Sedangkan zona hambat bakteri *Staphylococus aureus* dengan metode UAE dengan konsentrai 64% yaitu memiliki rata-rata sebesar 11,3 mm.

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah kakao



Gambar 5.1 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri
(Sumber : Koleksi Pribadi,2023)

Hasil uji aktivitas antibakteri berupa hasil pengukuran zona hambat untuk masing-masing ekstraksi dapat dilihat pada tabel 5.4 dan 5.5

Tabel 5 4 Hasil Uji Ekstrak Kulit Buah Kakao Terhadap Bakteri *Staphylococus aureus* dengan metode UAE

Bahan Uji	Konsentrasi	Replikasi	Zona Hambat (mm)	Rata-Rata Zona Hambat	SD
Ekstrak Kulit Buah Kakao	64%	1	10,79	11,30	0,535599
		2	11,07		
		3	12,04		
Klindamisin (kontrol positif)	0,001%	1	20,18	19,236	0,66715
		2	18,78		
		3	18,75		
DMSO (kontrol negatif)	10%	1	0	0	0
		2	0		
		3	0		

Tabel 5.5 Hasil Uji Ekstrak Kulit Buah Kakao Terhadap Bakteri *Staphylococus aureus* dengan metode Soxhletasi

Bahan Uji	Konsentrasi	Replikasi	Zona Hambat (mm)	Rata-Rata Zona Hambat	SD
Ekstrak Kulit Buah Kakao	64%	1	12,58	13,41	0,600389
		2	13,67		
		3	13,98		
Klindamisin (kontrol positif)	0,001%	1	19,87	20,42	0,3937
		2	20,77		
		3	20,62		
DMSO (kontrol negatif)	10%	1	0	0	0
		2	0		
		3	0		

5.5 Hasil Analisis Data

Hasil uji *one way* ANOVA dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya pengaruh metode ekstraksi UAE dengan metode ekstraksi Soxhletasi terhadap antivitas antibakteri *Staphylococus aureus* pada ekstrak etanol kulit buah kakao *(Theobroma cacao L.*) yang kemudian akan dilanjut dengan uji Duncam. Pengujian pertama yang dilakukan yaitu uji homogenitas dan normalitas yang dapat dilihat pada tabel 5.6 dan 5,7.

Tabel 5.6 Hasil Uji Normalitas
Tests of Normality

Sampel	Statistic	Df	Sig.	Hasil
Kontrol Positif	0,870	3	0,228	Normal
UAE 64%	0,908	3	0,411	Normal
Kontrol Negatif	.	3	.	-
Sokletasi 64%	0,983	3	0,748	Normal

Seperti yang ditunjukkan dalam Tabel 5.6, hasil uji normalitas menunjukkan bahwa pada masing-masing sampel, p > 0,05, terdapat nilai signifikan untuk uji normalitas, yang menunjukkan bahwa varian data tersebut terdistribusi normal. Dengan demikian, pengujian one-way anova dianggap layak.

Tabel 5.7 Hasil Uji Homogenitas

		Statistic	df1	df2	Sig.	Hasil
Kelompok Perbandingan	Based on Mean	3.090	3	11	0,072	Homogen
	Based on Median	1.771	3	11	0,211	Homogen
	Based on Median and with adjusted df	1.771	3	8.678	0,225	Homogen
	Based on trimmed mean	2.969	3	11	0,079	Homogen

Hasil uji homogenitas, yang ditunjukkan dalam tabel 5.7, menunjukkan bahwa masing-masing sampel memiliki nilai signifikan dengan p > 0,05. Oleh karena itu, hasil menunjukkan bahwa data tersebut terdistribusi homogen dan memenuhi syarat untuk pengujian one-way anova.

Tabel 5.8 Anova

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	807.949	3	269.316	536.822	0,000
Within Groups	5.519	11	.502		
Total	813.468	14			

Berdasarkan tabel 5.8 menujukkan bahwa uji aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah kakao dengan metode UAE dan soxhletasi mempunyai nilai signifikan sebesar 0,000 dengan nilai nyata P <0,05 . Maka dapat diletahui bahwa metode ekstraksi berdampak pada diameter area yang menghambat pertumbuhan antibakteri *Staphylococus aureus.*

Tabel 5.9 Hasil Uji Duncan

Kelompok Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Kontrol Negatif	3	0,0000			
UAE 64%	3		11.3000		
Soxhletasi 64%	3			13.4100	
Kontrol Positif	3				19.8283
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Keterangan :

1. Perbedaan letak kolom nilat subset menunjukkan singkat perbedaan antar varian.

2. Nilai yang terletak pada kolom subset menunjukkan adanya perbedan yang signifikan antar varian.

Berdasarkan tabel 5,0 Hasil uji Post-Hoc Duncam berikit menunjukkan bahwa adanya perbedaan nyata secara signifikan antara metode ekstraksi

soxhletasi lebih baik dibandingkan dengan metode UAE terhadap bakteri *Staphylococus aureus.*

BAB 6.PEMBAHASAN

6.1 Ekstraksi Kulit Buah Kakao

Ekskresi sendiri adalah proses pemisahan kandungan zat kimia dari jaringan tumbuhan atau hewan dengan menggunakan penyari tertentu. Pada penelitian ini, metode ekstraksi *ultrasonic assisted extraction* (UAE) dan soxhletasi digunakan dengan pelarut etanol 96%. Penggunaan pelarut etanol 96% dilakukan karena menghasilkan ekstrak yang kental (murni), yang memudahkan proses identifikasi. Etanol juga mudah menguap, mudah didapat, dan cukup aman (Amini *et al*., 2019).

Proses ekstraksi yang dilakukan menggunakan metode soxhletasi memiliki prinsip kerja dimana penyaringan yang dilakukan secara berulang-ulang, akan mendapatkan hasil yang lebih sempurna dan juga pelarut yang digunakan relatif sedikit, dan kemudian filtrat yang didapatkan dipekatan dengan cara di waterbath hingga didapatkan ekstrak kenal. Kelebihan dari metode soxhletasi sendiri adalah proses soxhletasi berlangsung dengan cepat, jumlah pelarut dan sampel yang digunakan lebih sedikit , Selain itu, karena selama proses ekstraksi, sampel selalu terbasahi dengan cairan penyari yang jernih dan proses berlangsung secara konsisten atau terus menerus, ekstraksi akan berjalan efektif (Febryanto, 2017). Sedangkan metode *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) sendiri adalah teknik ekstraksi yang dilakukan dengan memberikan gelombang ultrasonik pada bahan yang akan dilakukan ekstraksi, kemudian filtrat yang dihasilkan dipekatkan dengan cara di waterbath pada sehingga didapatkan hasil berupa ekstrak kental. Hasil ekstrak kental dari metode *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) rata-rata

sebesar 13,76 gram dari 300 gram simplisia dan untuk total hasil rendem yaitu 13,76% . Sedangkan untuk metode soxhletasi didapatkan total ekstrak kental yaitu 15,05 gram dari 600 gram simplisia dan untuk total rendemen didapatkan hasil yaitu 15,05 %.

6.2 Kandungan Senyawa Kimia Ekstrak Kulit Buah Kakao

Ekstrak kulit buah kakao yang telah didapat kemudian dilakukan pengujian kandungan senyawa kimia untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak kulit buah kakao. Hasilnya menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah kakao terbukti memiliki kandungan alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan polifenol, yang merupakan senyawa positif.

Pada penelitian ini analisa ekstrak kulit buah kakao ditemukan senyawa flavonoid, adapun flavonoid dapat bekerja dengan cara mendenaturasi protein, yang menghentikan metabolisme bakteri. Berhentinya proses metabolisme ini akan menyebabkan sel bakteri mati *(*Siti *et al*., 2016). Penelitian ini positif mengandung flavonoid yang ditunjukkan dengan terbentuknya warna kuning hingga jingga pada saat pengujian.

Uji alkaloid dilakukan dengan cara ekstrak ditimbang sebanyak 0,5 gram dan dilarutkan dengan HCl 2N , kemudian dibagi menjadi tiga tabung reaksi, tabung pertama diberi dengan pereaksi Mayer, tabung ke dua diberi pereaksi Dragendorff, kemudian tabung ke tiga diberi pereaksi Wagner. Penelitian ini positif mengandung alkaloid ditunjukkan dengan terbentuknya endapan berwarna putih pada tabung satu, kemudian endapan berwarna kuning kejinggaan pada tabung dua dan endapan berwarna merah kecoklatan pada tabung tiga (Adhayanti

et al., 2018). Alkaloid mempengaruhi bagian penyusun peptidoglikan sel bakteri, menyebabkan lapisan dinding sel tidak dapat terbentuk, mengakibatkan kematian pada sel. (Kurniawan *et al*., 2015).

Tanin juga dinyatakan positif terkandung dalam ekstrak kulit buah kakao ditandai dengan terbentuknya warna hitam kehijauan. Tanin memiliki kemampuan untuk menghentikan kerja enzim protease. Selain itu, ketersediaan asam amino pada sel sangat penting jika tidak tersedia, metabolisme bakteri akan terhenti, yang dapat menyebabkan kematian sel bakteri (Pappa *et al*., 2019).

Saponin juga dinyatakan positif terkandung pada ekstrak kulit buah kakao, yang ditandai dengan terdapatnya busa yang menetap pada ekstrak yang telah dicampur dengan menggunakan aquadest panas setelah dikocok. Mekanisme saponin sebagai antibakteri yaitu bereaksi dengan porin atau bisa juga disebut (protein transmembran) yang terdapat pada membran luar dinding sel bakteri, sehingga akan mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin tersebut akan mengakibatkan sel bakteri kekurangan nutrisi, sehingga dari sanalah pertumbuhan bakteri akan terhambat atau mati (Rahmawatiani *et al*., 2020).

Pengujian terakhir yaitu polifenol, adapun polifenol bertindak sebagai toksin dalam sitoplasma, merusak dan menembus dinding sel dan mengendapkan protein sel bakteri (Kumalasari *et al*., 2020). Adapun kulit buah kakao sendiri dinyatakan positif mrngandung poifenol ditandai dengan terbentuknya warna hitam pekat pada saat pengujian.

6.3 Uji Aktibakteri

Metode difusi agar sumuran digunakan untuk menguji aktivitas antibakteri. Metode ini dipilih karena mudah digunakan namun tetap memberikan hasil yang diharapkan. Kelebihan metode difusi agar sumuran adalah lebih mudah untuk mengukur luas zona hambat yang terbentuk karena bakteri beraktivitas tidak hanya pada permukaan atas nutrien agar saja tetapi juga sampai ke bawah. (Nurhayati *et al*., 2020). Prinsip dari metode sumuran yaitu membuat lubang pada media agar yang sebelumnya telah diinokulasi dengan bakteri uji terlebih dahulu, Larutan atau sampel akan kemudian diteteskan pada lubang sumuran yang telah dibuat sebelumnya. Ada zona hambat, atau wilayah jernih, di sekitar lubang sumuran yang terbentuk, yang menunjukkan bahwa mikroorganisme menghalangi pertumbuhan atau penghambatan *(*Retnaningsih *et al*., 2019).

Metode ini digunakan untuk mengetahui seberapa besar zona hambat yang terbentuk di sekitar sumuran ekstrak kulit buah kakao. Untuk mencapai tujuan ini, konsentrasi ekstrak kulit buah kakao yang digunakan yaitu 64% dengan menggunakan dua metode ekstraksi yaitu *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) dan Soxhletasi terhadap bakteri *Staphylococus aureus* dengan dilakukannya pengujian sebanyak 3 kali replikasi. Dari penelitian yang telah dilakukan dengan menggunakan metode sumuran didapatkan hasil yaitu terdapat zona hambat pada masing-masing ekstraksi baik dengan metode *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) ataupun dengan metode soxhletasi. Zona hambat sendiri merupakan daerah jernih di sekeliling sumur dari media pertumbuhan bakteri uji yang tidak terdapat

pertumbuhan bakterinya. Semakin besar zona bening yang dihasilkan pada saat pengujian maka semakin besar daya hambat antibakterinya (Putri *et al*., 2016).

Pengujian ini dilakukan dengan dua kontrol: kontrol positif dan kontrol negatif. Kontrol positif menggunakan antibiotik klindamisin, sedangkan kontrol negatif menggunakan DMSO 10%. Pemilihan klindamisin sendiri dikarenakan klindamisin termasuk ke dalam golonganantibiotik linkosamida yang dapat digunakan mengobati infeksi serius yang disebabkan oleh bakteri. Mekanisme kerja dari antibiotik klindamisin sendiri adalah dengan menghambat sintesis protein pada ribosom bakteri, sehingga akan mengganggu proses pembentukan rantai peptide pada sel bakteri (Athaillah *et.al.*, 2020). Sedangkan DMSO 10% sebagai kontrol negatif yaitu karena DMSO 10% merupakan pelarut yang dapat melarutkan hampir semua senyawa polar maupun non polar (Huda *et al*., 2019). Penggunaan kontrol positif digunakan untuk membandingkan aktivitas antibakteri kulit buah kakao dengan antivitas antibakteri antibiotik sinetik sebelumnya. Penggunaan kontrol negatif digunakan untuk memastikan bahwa zona hambat yang terbentuk tidak berasal dari pengaruh media atau pelarut.

Hasil uji daya hambat ekstrak kulit buah kakao yang di ekstraksi dengan metode soxhletasi menunjukkan daya hambat bakteri yang lebih besar terhadap bakteri *Staphylococus aureus* yaitu 13,41 mm dibandingkan dengan ekstraksi yang dilakukan dengan metode *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) yaitu 11,30 mm dan juga dengan hasil rendemen 15,05% pada soxhletasi dan 13,76% pada UAE. Terdapatnya perbedaan zona hambat dari kedua metode tersebut berbanding lurus dengan beberapa penelitian yang telah dilakukan terhadap kedua metode

ekstraksi tersebut, dimana dinyatakan rata-rata hasil rendemen tertinggi ditunjukkan pada metode soxhletasi yang memiliki hasil rendemen lebih tinggi dari pada metode ekstraksi UAE. Nilai hasil rendemen tersebut mempengaruhi besarnya antivitas antibakteri, dimana semakin tinggi rendemen ekstrak maka efektifitas antibakteri juga semakin besar.

Selain itu penelitian yang dilakukan oleh (Dewatisari.,*et al* 2018) juga menyatakan semakin besar presentase rendemen yang diperoleh maka komponen senyawa aktif dalam ekstrak yang diperoleh akan semakin banyak. Pada penelitian ini didapatkan hasil rendemen dengan metode soxhletasi lebih tinggi dibandingkan dengan ekstraksi yang dilakukan dengan metode UAE. Sehingga dapat disimpulkan bahwa kandungan senyawa aktif lebih besar terkandung pada ekstraksi yang dilakukan dengan metode soxhletasi sehingga dihasilkan zona hambat yang lebih besar.

Menurut penelitian yang dilakukan oleh (Ridwan *et al.*,2017) juga menyatakan proses ekstraksi soxhletasi yang dilakukan secara berulang-ulang dengan proses ekstraksi yang lebih lama akan menghasilkan komponen ekstrak yang terisolasi dengen lebih sempurna.

Terbentuknya zona hambat di sekitar sumuran disebabkan oleh aktivitas dari kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam kulit buah kakao yaitu terdapatnya Alkaloid, flavonoid, tannin, saponin dan polifenol yang dapat terbukti dapat menghambat bakteri *Staphylococus aureus*.

Senyawa-senyawa di dalam ekstrak masing-masing memiliki mekanisme penghambatan yang berbeda-beda terhadap pertumbuhan bakteri itu sendiri.

Pertama yaitu alkaloid, Alkaloid bekerja sebagai antibakteri dengan mengganggu dan menghambat komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak dapat terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel. Selanjutnya, flavonoid membentuk senyawa kompleks yang terdiri dari protein ekstraseluler juga yang terlarut, yang merusak membran sel bakteri dan menyebabkan kematian sel (Amalia *et al*., 2017). Tanin juga memiliki aktivitas antibakteri, bekerja dengan menghentikan enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase, yang mencegah pembentukan sel pada bakteri. Sebaliknya, cara saponin bekerja adalah dengan mengurangi tegangan permukaan, yang meningkatkan permeabilitas sel dan membuka sel, yang memungkinkan senyawa intraseluler keluar. (Ngajow *et al.*, 2014). Sedangkan mekanisme kerja dari senyawa polifenol sebagai antibakteri, polifenol bertindak sebagai toksin pada sitoplasma, merusak dinding sel, dan dapat mengikat protein ke sel bakteri (Kumalasari *et al*., 2020).

Untuk menganalisis data antibakteri dari ekstrak kulit buah kakao dalam penelitian ini, dilakukan dengan uji statistik One-way Anova dengan SPSS. Tujuan uji statistik ini adalah untuk menentukan normalitas, homogenitas, dan ada tidaknya perbedaan zona hambat pada ekstraksi UAE dan Soxhletasi. Tabel 5.6 menunjukkan bahwa pengujian normalitas menemukan nilai signifikan untuk masing-masing sampel dengan P> 0,05, sehingga varian data terdistribusi normal. Selanjutnya pada tabel 5.7 menunjukkan bahwa pengujian homogenitas menemukan nilai signifikan untuk masing-masing sampel, sehingga dapat disimpulkan bahwa varian data terdistribusi homogen.. Sedangkan pada tabel 5.9

menunjukkan bahwa adanya perbedaaan zona hambat pada ekstrak kulit buah kakao yang di ektraksi dengan metode *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) dan soxhletasi pada konsentrasi yang sama yaitu konsentrasi 64% terhadap bakteri *Staphylococus aureus* ditunjukkan dengan perbedaan kolom nitrat subset yang signifikan antar varian.

BAB 7.PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada penelitian ini dapat disimpulkan:

1. Ekstrak kulit buah kakao yang diekstraksi dengan metode UAE dan soxhletasi terbukti mengandung senyawa kimia yaitu terdapat kandungan alkaloid,flavonoid,tanin,saponin dan polifenol.

2. Uji aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah kakao yang di ekstraksi menggunakan metode soxhletasi dan UAE terhadap bakteri *Staphylococus aureus* terbukti adanya perbedaan nyata dan termasuk dalam kategori kuat dimana hasil diameter zona hambat pada metode UAE yaitu 11,30 mm dan 13,41 mm pada metode soxhletasi.

7.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang ekstrak kulit buah kakao terhadap *Staphylococus aureus* dengan varian konsentrasi, metode ekstraksi dan metode uji aktivitas antibekteri lainnya.

2. Pengujian tambahan diperlukan untuk mengetahui kandungan senyawa lain pada kulit buah kakao *(Theobroma cacao L.)* .

3. Untuk memperkuat hasil uji aktivitas antibakteri, sampel tanaman kakao perlu dilakukan pengujian pada bagian lainnya untuk memperkuat aktivitas anktibakteri yang terdapat dalam kakao.
4. Perlu ada lebih banyak informasi tentang kemajuan dalam ilmu kesehatan yang berkaitan dengan tanaman kakao sebagai zat antibakteri.

DAFTAR PUSTAKA

Adha, S. D., & Ibrahim, M. (2021). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Kakao *(Theobroma Cacao L .)* Terhadap Bakteri *Propionibacterium Acnes*. *Lentera Bio*, *10*(2), 140–145.

Adhayanti, I., Abdullah, T., & Romantika, R. (2018). Uji Kandungan Total Polifenol Dan Flavonoid Ekstrak Etil Asetat Kulit Pisang Raja (*Musa Paradisiaca Var. Sapientum*). *Media Farmasi*, *14*(1), 39.

Agus Faizal, I., & Tri Kumala Swandari, M. (2023). Metode Perbandingan Maserasi Dan Soxhletasi Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum Ruiz & Pav)* Terhadap Efektivitas Bakteri Staphylococcus Epidermidis. *Jurnal Ilmu Kefarmasian*, *4*(1), 64–72.

Ainia, N. (2017). Uji Fitokimia Infusa Pekat Buah Pare (Momordica Charantia L.) Dan Pengaruh Lama Terapi Dengan Variasi Dosis Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Tikus (*Rattus Norvegicus)* Yang Diinduksi Aloksan. In *Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang*.

Alfath, C. R., Yulina, V., & Sunnati. (2014). Antibacterial Effect Of Granati Fructus Cortex Extract On *Streptococcus Mutans* In Vitro. *Journal Of Dentistry Indonesia*, *20*(1), 5–8.

Amalia, A., Sari, I., & Nursanty, R. (2017). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Sembung *(Blumea Balsamifera* (L.) DC.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus Aureus* (MRSA). *Jurnal UIN Ar-Raniry*, *5*(1), 387–391.

Amina. (2022). Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Jambu Biji *(Psidium Guajava L.)* Terhadap Bakteri *Propionibacterium Acnes* Dan *Staphylococus Aureus*.

Amini, H. M., Tivani, I., & Santoso, J. (2019). Pengaruh Perbedaan Pelarut Ekstraksi Daun Pandan Wangi (*Pandanus Amaryllifolius Roxb*.) Terhadap Aktivitas Antibakteri *Staphylococcus Aureus*. *DIII Farmasi Politeknik Harapan Bersama*, *9*, 1–9.

Apriliana, E., Ramadhian, M. R., Warganegara, E., & Hasibuan, A. (2018). Perbandingan Daya Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar (*Jatropha Curcas Linn*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureu*s Dan *Escherichia Coli* Secara In Vitro Comparison Of In Vitro Inhibitory Effect Of Jatropha Curcas Linn Extract On The Growth Of St. *J. Agromedicine Unila*, *5*, 556–561.

Athaillah, & Sugesti. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri *Staphylococcus Epidermis* Menggunakan Ekstrak Etanol Dari Simplisia Kering Bawang Putih (*Allium Sativum L.*). *Jurnal Education And Development*, *8*(2), 375–380.

Ayu, H. R., Suryono, S., & Suseno, J. E. (2020). Rancang Bangun Sistem *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) Dengan Otomasi Pengaturan Suhu

Dan Volume Pelarut. *Indonesian Journal Of Applied Physics*, *10*(01), 56. Https://Doi.Org/10.13057/Ijap.V10i01.35032

Campos-Vega, R., Nieto-Figueroa, K. H., & Oomah, B. D. (2018). Cocoa (Theobroma Cacao L.) Pod Husk: Renewable Source Of Bioactive Compounds. *Trends In Food Science And Technology*, *81*, 172–184. Https://Doi.Org/10.1016/J.Tifs.2018.09.022

Diyantika, D., Mufida, D. C., & Misnawi, M. (2017). The Morphological Changes Of *Staphylococcus Aureus* Caused By Ethanol Extracts Of Cocoa Beans (*Theobama Cacao*) Through In Vitro. *Journal Of Agromedicine And Medical Sciences*, *3*(1), 25. Https://Doi.Org/10.19184/Ams.V3i1.4094

Etikasari, R., Murharyanti, R., & Surya Wiguna, A. (2017). Evaluasi Pigmen Karotenoid Karang Lunak *Sarcophyton Sp*. *Indonesia Jurnal Farmasi*, *2*(1), 28–36.

Extraction, R., Curcuma, R., & Antibacterial, A. A. (2023). Review : Ekstraksi Rimpang Temulawak *(Curcuma Xanthorrhiza Roxb .)* Dan *Aktivitas Sebagai Antibakteri*. *8*(April), 10–17.

Febryanto, M. A. (2017). Studi Ekstraksi Dengan Metode Soxhletasi Pada Bahan Organik Umbi Sarang Semut *(Myrmecodia Pendans)* Sebagai Inhibitor Organik. In *Institut Teknologi Sepuluh Nopember*.

Hidayati, & Ika, P. (2016). Mikrobiologi Dasar. In *Universitas Kanjuruan Malang*.

Huda, C., Putri, A. E., & Sari, D. W. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Dari Maserat Zibethinus Folium Terhadap Escherichia Coli. *Jurnal Sainhealth*, *3*(1), 7. Https://Doi.Org/10.51804/Jsh.V3i1.333.7-14

Kamelia, M., & Fathurohman, F. (2017). Pemanfaatan Kulit Buah Kakao Fermentasi Sebagai Alternatif Bahan Pakan Nabati Serta Pengaruhnya Terhadap Pertumbuhan Ternak Entok *(Cairina Muschata*). *Biosfer: Jurnal Tadris Biologi*, *8*(1), 67. Https://Doi.Org/10.24042/Biosf.V8i1.1264

Kristanti, Y., Widarta, I. W. R., & Permana, I. D. G. M. (2019). Pengaruh Waktu Ekstraksi Dan Konsentrasi Etanol Menggunakan Metode Microwave Assisted Extraction (MAE) Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rambut Jagung (Zea Mays L.). *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, *8*(1), 94. Https://Doi.Org/10.24843/Itepa.2019.V08.I01.P11

Kumalasari, E., Aina, Aina, Ayu Checaria, Noverda, & Aisyah, Noor. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Bawang Dayak *(Eleutherine Palmifolia* (L.) Merr) Terhadap Pertumbuhan *Propionibacterium Acne*. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, *3*(2), 261–270. Https://Doi.Org/10.36387/Jifi.V3i2.584

Kurniawan, B., & Aryana, W. F. (2015). Binahong (*Cassia Alata L*) As Inhibitor Of Escherichiacoli Growth. *J Majority*, *4*(4), 100–104.

Lestari, H. D., Asri, M. T., Biologi, J., Matematika, F., Pengetahuan, I., Universitas, A., & Surabaya, N. (2021). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Kakao *(Theobroma Cacao L.)* Terhadap *Staphylococcus Epidermidis*. *10*, 302–308.

Makatambah, V., Fatimawali, F., & Rundengan, G. (2020). Analisis Senyawa Tannin Dan Aktifitas Antibakteri Fraksi Buah Sirih *(Piper Betle L*) Terhadap *Streptococcus Mutans. Jurnal MIPA*, *9*(2), 75. Https://Doi.Org/10.35799/Jmuo.9.2.2020.28922

Martono, B. (2014). Karakteristik Morfologi Dan Kegiatan Plasma Nutfah Tanaman Kakao. *Inovasi Teknologi Bioindustri Kakao*, 16–17.

Mauliyanti, R. (2017). Uji Aktivitas Gel Ekstrak Etanol Daun Cempedak (*Arthocarpus Champeden*) Terhadap Bakteri Penyebab Jerawat. In *Universitas Islam Negeri Alauddin*.

Misna, M., & Diana, K. (2016). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Bawang Merah *(Allium Cepa L.*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus. Jurnal* Farmasi Galenika *(Galenika Journal Of Pharmacy) (E-Journal)*, *2*(2), 142. Https://Doi.Org/10.22487/J24428744.2016.V2.I2.5990

Moelyaningrum, Anita Dewi, Yuniar Sulistyo, D. W. S. (2014). Potensi Limbah Kulit Kakao *(Theobroma Cacao)* Sebagai Pengikat Cemaran Logam Berat Timbal (Pb) Pada Air. 1–13.

Muhyi, M., Hartono, Budiyono, S. C., Satianingsih, R., Sumardi, Rifai, I., Zaman, A. Q., Astutik, E. P., & Fitriatien, S. R. (2018). Metodologi Penelitian. *Adi Buana University Press*, 1–83. Www.Unipasby.Ac.Id

Mukhtarini. (2014). Mukhtarini, "Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, Dan Identifikasi Senyawa Aktif," J. Kesehat., Vol. VII, No. 2, P. 361, 2014. *J. Kesehat.*, *VII*(2), 361. Https://Doi.Org/10.1007/S11293-018-9601-Y

Mulyatni, A. S., Budiani, A., & Taniwiryono, D. (2015). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Kakao *(Theobroma Cacao L.)* Terhadap *Escherichia Coli*, *Bacillus Subtilis*, Dan *Staphylococcus Aureus*. *E-Journal Menara Perkebunan*, *80*(2), 77–84. Https://Doi.Org/10.22302/Ppbbi.Jur.Mp.V80i2.39

N Afifah. (2014). Aktivitas Antibakteri Kombinasi Gentamisin Dan Ekstrak 10 Tanaman Obat Terhadap Bakteri *Pseudomonas Aeruginosa* Dan *Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus* (MRSA). *Journal Of Chemical Information And Modeling*, *53*(9), 1689–1699.

Ngajow, M., Abidjulu, J., & Kamu, V. S. (2014). Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia Pinnata)* Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Secara In Vitro. *Jurnal MIPA*, *2*(2), 128. Https://Doi.Org/10.35799/Jm.2.2.2014.3121

Nida, K., Wardiyah, & Yusmaniar. (2020). *Mikrobiologi Dan Parasitologi* (Vol. 21, Nomor 1). Http://Journal.Um-

Surabaya.Ac.Id/Index.Php/JKM/Article/View/2203

Nofita, A. D., Sari, W. Y., Mutripah, S., & Supriani. (2020). Uji Efektivias Antibakteri Ekstrak Etanolik Bawang Merah *(Allium Cepa L.)* Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dakam Media Mueller Hinton Aga (MHA). *Media Informasi*, *16*(1), 1–7. Https://Doi.Org/10.37160/Bmi.V16i1.355

Novita, W. (2016). Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Sirih (*Piper Betle L.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus Mutans* Secara In Vitro. *JMJ (Jambi Medical Journal)*, *4*(2), 140–155.

Nurhamidin, A. P. R., Fatimawali, F., & Antasionasti, I. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak N-Heksan Biji Buah Langsat *(Lansium Domesticum Corr)* Terhadap Bakteri *Staphylococus Aureus* Dan *Klebsiella Pneumoniae. Pharmacon*, *10*(1), 748. Https://Doi.Org/10.35799/Pha.10.2021.32772

Nurhayati, L. S., Yahdiyani, N., & Hidayatulloh, A. (2020). Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt Dengan Metode Difusi Sumuran Dan Metode Difusi Cakram. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, *1*(2), 41. Https://Doi.Org/10.24198/Jthp.V1i2.27537

Pappa, S., Jamaluddin, A. W., & Ris, A. (2019). Kadar Tanin Pada Kulit Buah Kakao *(Theobroma Cacao L .)* Kabupaten Poliwalimandar Dan Toraja Utara. *Indonesian E-Journal Of Applied Chemistry*, *7*(2), 92–101.

Parwata, I. M. O. (2016). Kimia Organik Bahan Alam Flavanoid. In *Diktat / Bahan Ajar*.

Pratiwi, M. N. (2019). Aktivitas Antibakteri Fraksi Buah Jambu Wer (*Prunus Persica (L.)* Batsch) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus.* In *Carbohydrate Polymers* (Vol. 6, Nomor 1).

Purnamaningsih, N., Kalor, H., & Atun, S. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Temulawak *(Curcuma Xanthorrhiza)* Terhadap Bakteri *Esxherichia Coli ATCC 11229* Dan *Staphylococcus Aureus ATCC 25923*. *21*(1), 143. Http://Journal.Um-Surabaya.Ac.Id/Index.Php/JKM/Article/View/2203

Putri, V. A. ., Posangi, J., Nangoy, E., & Bara, R. A. (2016). Uji Daya Hambat Jamur Endofit Rimpang Lengkuas *(Alpinia Galanga L.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia Coli* Dan *Staphylococcus Aureus*. *Jurnal E-Biomedik*, *4*(2). Https://Doi.Org/10.35790/Ebm.4.2.2016.14665

Rachmawaty, Mu'nisa, A., & Hasri. (2017). Analisis Fitokimia Ekstrak Kulit Buah Kakao *(Theobroma Cacao L.)* Sebagai Kandidat Antimikroba. *Proceedings Of National Seminar*, 667–670.

Rahmawatiani, A., Mayasari, D., & Narsa, A. C. (2020). Kajian Literatur: Aktivitas Antibakteri Ekstrak Herba Suruhan *(Peperomia Pellucida L.). Proceeding Of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, *12*, 117–124. Https://Doi.Org/10.25026/Mpc.V12i1.401

Ramadhan, H., Arsyad, M., Sayakti, I., Tinggi, S., Kesehatan, I., & Lestari, B. (2020). Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antivakteri Ekstrak Etanol 70% Biji Kalangkala *(Litsea Angulata Bl.)* Terhadap Bakteri Penyebab Jerawat Propionibacterium Acnes. *Borneo Journal Of Phamascientech*, *04*(01), 60–70.

Retnaningsih, A., Primadiamanti, A., & Marisa, I. (2019). Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Biji Pepaya Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* Dan *Shigella Dysentriae* Dengan Metode Difusi Sumuran. *Jurnal Analis Farmasi*, *4*(2), 122–129.

Retnowati, A., Rugayah, Rahajoe, J. S., & Arifiani, D. (2019). Status Keanekaragaman Hayati Indonesia : Kekayaan Jenis Tumbuhan Dan Jamur Indonesia. In *LIPI Press*.

Rica, Roosmarinto, F., & Budi Martono, B. M. (2019). Perbedaan Jumlah Angka Kuman Udara Sebelum Penggunaan Dua Ultraviolet Tube Di Ruang Laboratorium Bakteriologi Jurusan Analis Kesehatan (Doctoral Dissertation, Poltekkes Kemenkes Yogyakarta). *Convention Center Di Kota Tegal*, *4*(80), 4. Http://Eprints.Poltekkesjogja.Ac.Id/844/4/Chapter 2.Pdf

Ridwan, I., Meylin, M., Puspitasari, R., Dewi, D. R., & Ghozali, M. (2017). Pembuatan Biodiesel Dengan Proses Ekstraksi Reaktif Dari Ampas Perasan Kelapa. *Fluida*, *11*(2), 22–26. Https://Doi.Org/10.35313/Fluida.V11i2.83

Rini, C. S., & Rochmah, J. (2020). *Buku Ajar Mata Kuliah*.

Rosmania, R., & Yanti, F. (2020). Perhitungan Jumlah Bakteri Di Laboratorium Mikrobiologi Menggunakan Pengembangan Metode Spektrofotometri. *Jurnal Penelitian Sains*, *22*(2), 76. Https://Doi.Org/10.56064/Jps.V22i2.564

Sanny, A. P. (2022). Pengaruh Metode Ekstraksi Maserasi Dan Soxhletasi Biji Coklat *(Theobroma Cacao L.)* Terhadap Aktivitas Antijamur *Candida Albicans. (Doctoral Dissertation, Universitas Dr. SOEBANDI)*, 36–39.

Santoso, I., Rina B., Y., & Fadli, Z. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri Dari Dekokta Dan Ekstrak Kloroform Alga *Cladophora Sp.* Pada Bakteri Gram Positf Dan Negatif. *Jurnal Universitas Islam Malang*, *6*(1), 62–69.

Sari, B. L., Triastinurmiatiningsih, T., & Haryani, T. S. (2020). Optimasi Metode *Microwave-Assisted Extraction* (MAE) Untuk Menentukan Kadar Flavonoid Total Alga Coklat Padina Australis. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, *16*(1), 38. Https://Doi.Org/10.20961/Alchemy.16.1.34186.38-49

Septriyanti, I., Ramadhani, T. R., Ade, P., Yulis, R., & Putra, Y. (2020). Sebagai Bahan Baku Berpotensi Obat. *2*(2), 57–61.

Setiawan, T. (2018). Rancang Bangun Alat Destilasi Uap Bioetanol Dengan Bahan Baku Batang Pisang. *Jurnal Media Teknologi*, *4*(2), 119–128.

Sianipar, R. H., & Siahaan, M. A. (2017). Pemeriksaan Senyawa Alkaloid Pada

Beberapa Tanaman Familia *Solanaceae* Serta Identifikasinya Dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). *Jurnal Farmanesia*, *4*(1), 1.

Siti, N. S., & Mursiti, S. (2016). Isolasi Flavonoid Dari Biji Mahoni *(Swietenia Macrophylla, King*) Dan Uji Aktivitasnya Sebagai Antibakteri. *Indonesian Journal Of Chemical Science*, *5*(3), 178–183. Http://Journal.Unnes.Ac.Id/Sju/Index.Php/Ijcs

Sundu, R., Handayani, F., & Sapri. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Umbi Paku Atai Merah (*Angiopteris Ferox Copel*) Terhadap *Propionibacterium Acnes*. *Medical Sains : Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, *2*(2), 75–82.

Supaya, S. S. (2019). Refdes Kombinasi Alat Refluks Dan Distilasi, Upaya Efisiensi Proses Refluks Dan Distilasi Untuk Praktikum Kimia Organik. *Indonesian Journal Of Laboratory*, *1*(4), 41. Https://Doi.Org/10.22146/Ijl.V1i4.52716

Susanty, S., & Bachmid, F. (2016). Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi Dan Refluks Terhadap Kasar Febolik Dari Ekstrak Tongkol Jagung (*Zea Mays L.*). *Jurnal Konversi*, *5*(2), 87. Https://Doi.Org/10.24853/Konversi.5.2.87-92

Sutomo, N., Hariyadi, B., & Ali, M. (2020). *Theobroma Cacao L. Malvaceae*. 1. Https://Doi.Org/10.1007/978-3-030-28933-1_282

Triesty, I., & Mahfud. (2017). Ekstraksi Minyak Atsiri Dari Gaharu *(Aquilaria Malaccensis)* Dengan Menggunakan Metode Microwave Hydrodistillation Dan Soxhlet Extraction. *6*(2).

Wendersteyt, N. V., Wewengkang, D. S., & Abdullah, S. S. (2021). Uji Aktivitas Antimikroba Dari Ekstrak Dan Fraksi *Ascidian Herdmania Momus* Dari Perairan Pulau Bangka Likupang Terhadap Pertumbuhan Mikroba *Staphylococcus Aureus*, *Salmonella Typhimurium* Dan *Candida Albicans*. *Pharmacon*, *10*(1), 706. Https://Doi.Org/10.35799/Pha.10.2021.32758

Wijayati, N., Astutiningsih, C., & Mulyati, S. (2014). Transformasi A-Pinena Dengan Bakteri *Pseudomonas Aeruginosa* ATCC 25923. *Biosaintifika: Journal Of Biology & Biology Education*, *6*(1), 24–28. Https://Doi.Org/10.15294/Biosaintifika.V6i1.2931

Wulandari, E. (2014). Faktor Yang Berhubungan Dengan Keberadaan *Streptococcus* Di Udara Pada Rumah Susun Kelurahan Bandarharjo Kota Semarang Tahun 2014. *Unnes Journal Of Public Health*, *2*(4), 1–9. Https://Doi.Org/10.15294/Ujph.V2i4.3059

Yuniarto, K., Okta Muvianto, C. M., & Ernia, E. (2021). Aplikasi Ultrasound Assisted Extraction Untuk Produksi Minyak Bawang Putih Varietas Lokal. *Jurnal Teknologi Pertanian*, *22*(3), 177–186.

LAMPIRAN

Lampiran 1 : Determenasi 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 - 68101 Telp. (0331) 333532 - 333534 Fax.(0331) 333531
E-mail : Polije@polije.ac.id Web Site : http//www.Polije.ac.id

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TANAMAN

No: 90/PL17.8/PG/2023

Menindaklanjuti surat dari Dekan Universitas dr. Soebandi Program Studi Sarjana Farmasi No: 2240/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	: Ni Putu Dinda Prasasty Putri
NIM	: 19040090
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 : Pembuatan Serbuk Simplisia

Sortasi basah

Hasil pengeringan

Pembuatan serbuk simplisia kulit buah kakao

Lampiran 3 : Pembuatan Ekstrak Metode Soxhletasi

Penimbangan bahan

Proses ekstraksi soxhletasi

Proses waterbath

Hasil ekstrak kental

Lampiran 4 : Pembuatan Ekstrak Metode UAE

Penimbangan bahan

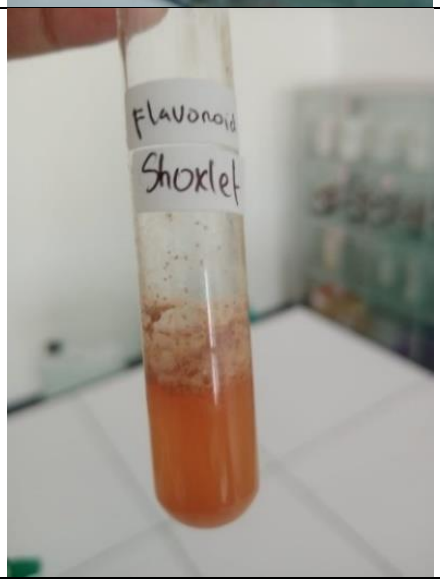
Proses ekstraksi UAE

Proses waterbath

Hasil ekstrak kental

Lampiran 5 : Skrining Fitokimia

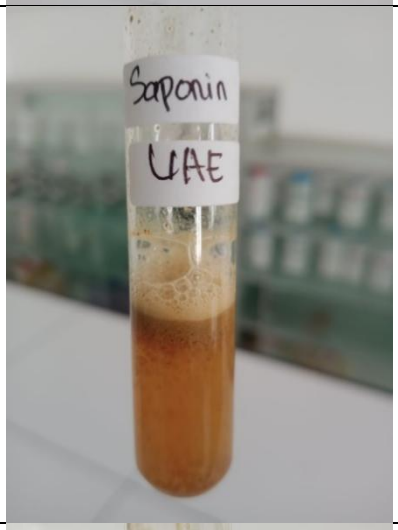
a. Skrining Fitokimia Ekstrak Dengan Metode Soxhletasi

Uji Senyawa	Pereaksi	Dokumentasi	Hasil Ekstrak
Alkaloid	Ekstrak + HCl 2N + 2 tetes pereaksi *mayer* Ekstrak + HCl 2N + 2 tetes pereaksi *dragendorf* Ekstrak + HCl 2N + 2 tetes pereaksi *wagner*		Terbentuk endapan putih Terbentuk endapan kuning kejinggan Terbentuk endapan merah kecoklatan
Flavonoid	Ekstrak + Air + serbuk Mg + HCl pekat		Terbentuk warna kuning kejinggan

Tanin	Ekstrak + FeCl3		Terbentuk warna hitam kehijauan
Saponin	Ekstrak + air panas		Terbentuk busa yang stabil
Polifenol	Ekstrak + FeCl3		Terbentuk warna hitam kehijauan

b. Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Kental Dengan Metode UAE

Uji Senyawa	Pereaksi	Dokumentasi	Hasil Ekstrak
Alkaloid	Ekstrak + HCl 2N + 2 tetes pereaksi *mayer* Ekstrak + HCl 2N + 2 tetes pereaksi *dragendorf* Ekstrak + HCl 2N + 2 tetes pereaksi *wagner*		Terbentuk endapan putih Terbentuk endapan kuning kejinggan Terbentuk endapan merah kecoklatan
Flavonoid	Ekstrak + Air + serbuk Mg + HCl pekat		Terbentuk warna kuning kejinggan

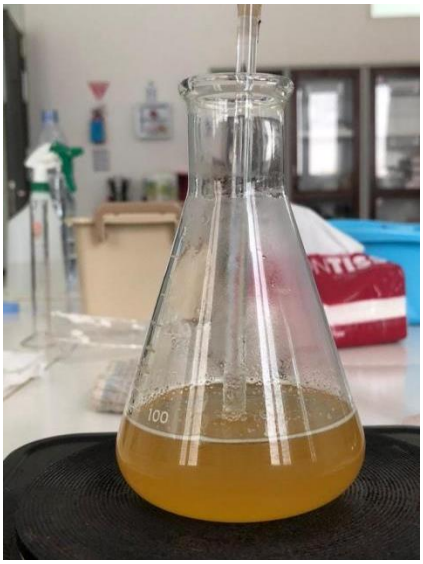
Tanin	Ekstrak + FeCl3		Terbentuk warna hitam kehijauan hingga hitam pekat
Saponin	Ekstrak + air panas		Terbentuk busa yang stabil
Polifenol	Ekstrak + FeCl3		Terbentuk warna hitam kehijauan

Lampiran 6 : Uji Aktivitas Antibakteri

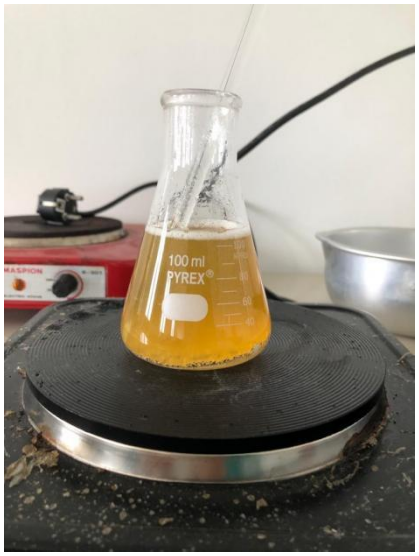
Peremajaan Bakteri *Staphylococus aureus*

Sterilisasi alat

Pembuatan *Mc Farland* dan suspensi bakteri



Pembuatan NA



Pembuatan MHA

Pengujian antibakteri

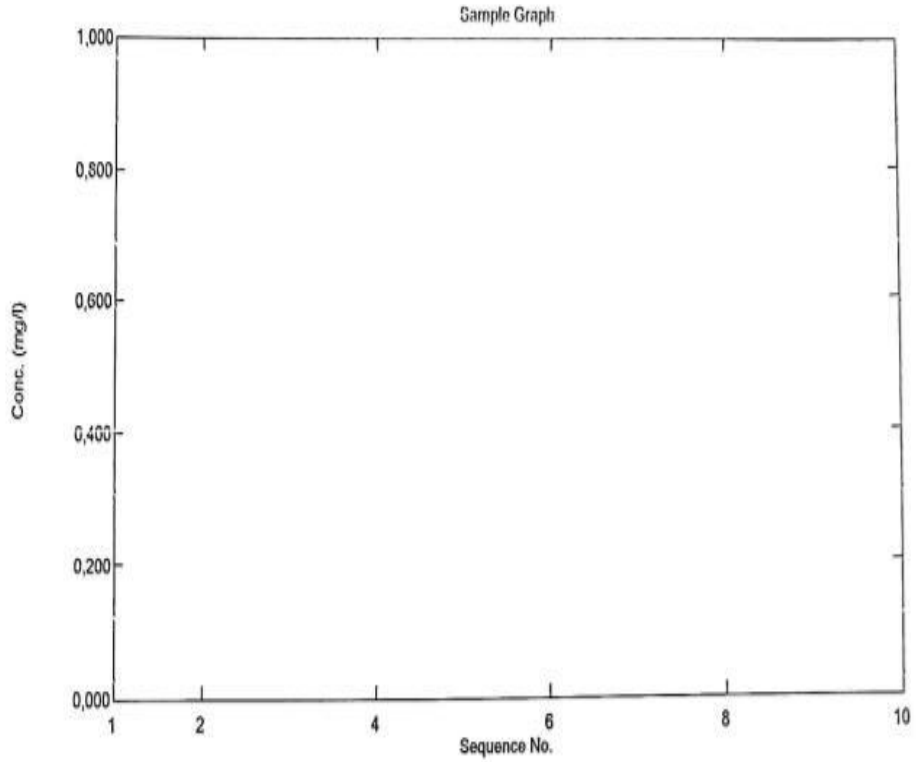
Inkubasi

Hasil absorbansi *mc.farland* dan suspensi bakteri

Sample Table Report

12/06/2023 13:33:15

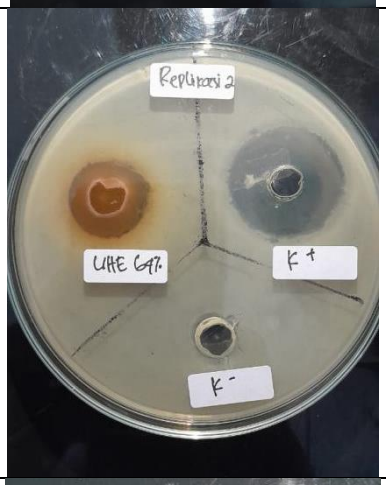
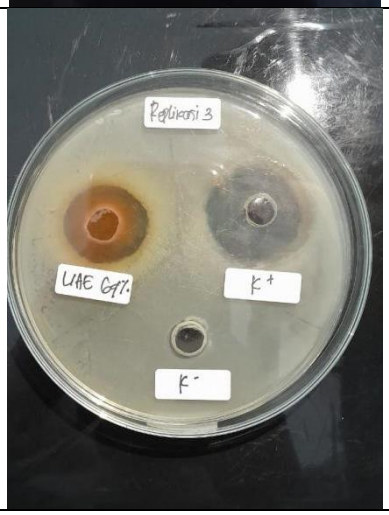
File Name: C:\Users\ACER\Documents\bakteri tim\nL.pho



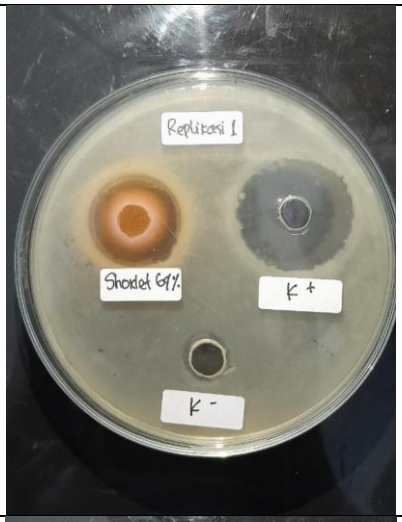
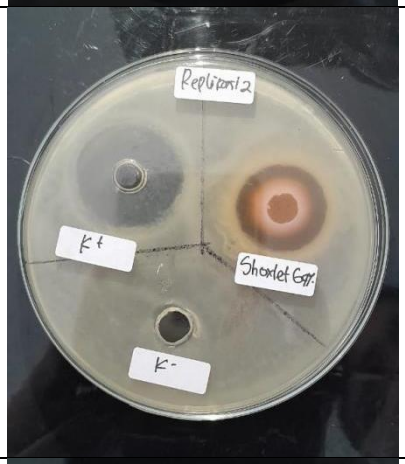
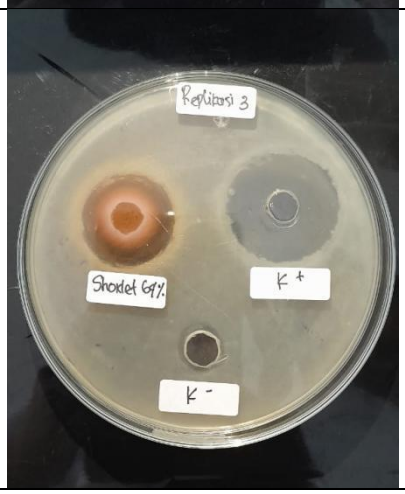
Sample Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL625,0	Comments
1	StandartMcFa	Unknown		*****	0.091	
2	Aureus	Unknown		*****	0.091	
3						

Lampiran 7: Hasil uji aktivitas antibakteri metode ekstraksi UAE

Sampel	Replikasi	Gambar
Ektrak kulit buah kakao	R1	
Ektrak kulit buah kakao	R2	
Ektrak kulit buah kakao	R3	

Lampiran 8: Hasil uji aktivitas antibakteri metode ekstraksi soxhletasi

Sampel	Replikasi	Gambar
Ektrak kulit buah kakao	R1	
Ektrak kulit buah kakao	R2	
Ektrak kulit buah kakao	R3	

Lampiran 9 : Hasil Uji Statistik

Tests of Normality

Sampel	Statistic	Df	Sig.	Hasil
Kontrol Positif	0,870	3	0,228	Normal
UAE 64%	0,908	3	0,411	Normal
Kontrol Negatif	.	3	.	-
Sokletasi 64%	0,983	3	0,748	Normal

Test of Homogeneity of Variances

		Statistic	df1	df2	Sig.	Hasil
Kelompok Perbandingan	Based on Mean	3.090	3	11	0,072	Homogen
	Based on Median	1.771	3	11	0,211	Homogen
	Based on Median and with adjusted df	1.771	3	8.678	0,225	Homogen
	Based on trimmed mean	2.969	3	11	0,079	Homogen

Anova

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	807.949	3	269.316	536.822	0,000
Within Groups	5.519	11	.502		
Total	813.468	14			

Hasil Uji Duncam

Sampel	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Kontrol Negatif-DMSO 10%	3	0.0000			
UAE 64%	3		11.3000		
Soxhletasi 64%	3			13.4100	
Kontrol Positif+Klindamisin	6				19.8283
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Lampiran 10 : Perhitungan

a. Perhitungan konsentrasi ekstrak

Konsentrasi 64% = 64 x 5 ml 100 = 3,2 gram

ad 5 ml aquadest

b. Perhitungan Kontrol Positif Klindamisin

300 gm : 1 kapsul ~ 100 ml akuadest

Kadar klindamisisn 3 mg/ml

1 ml ~ 100 ml = 300 µ

Caranya: Ambil klindamisin timbang 0,1 gram masukkan ke dalam labu ukur tambahkan akuadest sebanyak 100 ml