

**PENGARUH METODE EKSTRAKSI MASERASI DAN  
SOXHLETASI BIJI COKLAT (*Theobroma cacao* L.)  
TERHADAP AKTIVITAS ANTIJAMUR  
*Candida albicans***

**SKRIPSI**



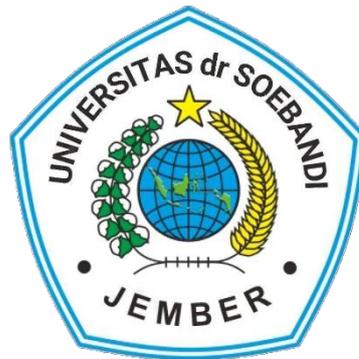
**Oleh:  
Aprilia Permata Sanny  
NIM. 18040014**

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI  
FAKULTAS ILMU KESEHATAN  
UNIVERSITAS dr. SOEBANDI  
JEMBER  
2022**

**PENGARUH METODE EKSTRAKSI MASERASI DAN  
SOXHLETASI BIJI COKLAT (*Theobroma cacao* L.)  
TERHADAP AKTIVITAS ANTIJAMUR  
*Candida albicans***

**SKRIPSI**

Untuk Memenuhi Persyaratan  
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi



**Oleh:**  
**Aprilia Permata Sanny**  
**NIM. 18040014**

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI  
FAKULTAS ILMU KESEHATAN  
UNIVERSITAS dr. SOEBANDI  
JEMBER  
2022**

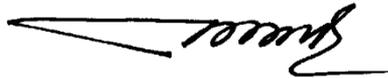
## HALAMAN PERSETUJUAN

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

dr. Soebandi

Jember, 7 September 2022

Pembimbing Utama



Dr. apt. Nuri, M.Si.  
NIDN. 0012046905

Pembimbing Anggota



Aliyah Purwanti, M.Si.  
NIDN. 0709129002

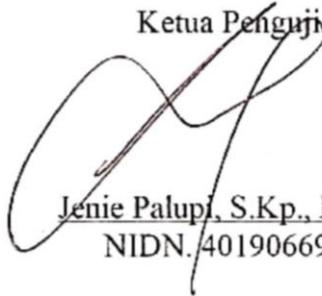
## HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul “Pengaruh Metode Ekstraksi Maserasi dan Soxhletasi Biji Coklat (*Theobroma cacao* L.) Terhadap Aktivitas Antijamur *Candida albicans*” telah diuji dan disahkan oleh Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan pada:

Hari : Senin  
Tanggal : 12 September 2022  
Tempat : Program Studi Sarjana Farmasi  
Universitas dr. Soebandi

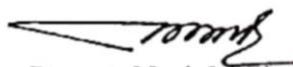
Tim Penguji

Ketua Penguji



Jenie Palupi, S.Kp., M.Kes  
NIDN. 4019066901

Penguji II,



Dr. apt. Nuri, M.Si  
NIDN. 0012046905

Penguji III,



Aiyah Purwanti, M.Si  
NIDN. 0709129002

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan,



Universitas dr. Soebandi  
Nella Mulya Tursina, S.Kep., Ns., M.Kep  
NIDN. 0706109104

## PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI

Yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Aprilia Permata Sanny

NIM : 18040014

Program Studi : Sarjana Farmasi

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

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

Jember, 7 September 2022

Yang menyatakan,



Aprilia Permata Sanny

## **SKRIPSI**

### ***PENGARUH METODE EKSTRAKSI MASERASI DAN SOXHLETASI BIJI COKLAT (*Theobroma cacao L.*) TERHADAP AKTIVITAS ANTIJAMUR *Candida albicans****

Oleh:  
Aprilia Permata Sanny  
NIM. 18040014

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Dr. apt. Nuri, M.Si  
Dosen Pembimbing Anggota : Aliyah Purwanti, M.Si

## PERSEMBAHAN

*Bismillahirrahmanirrahim*, atas izin Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya, saya persembahkan skripsi ini kepada:

1. Orang tua tercinta, Alm Bapak Kasdi, Ibu Bondan Wulandari Diah Kusumaning Tias, Bapak Syaifudin Zuhri, Adik Bathari Sasadhara Pratiwi, Adik Mochammad Dauffan Naufalda, Adik Dayinta Thrusta Aulani, Nenek Rukijati, Paman Rudi Santoso, Bibi Finish Relawati, dan Bibi Elik C. Saptaningsih yang selalu memberikan saya kasih sayang, doa, semangat, dukungan, motivasi, serta bantuan kepada saya sehingga mampu menyelesaikan skripsi ini.
2. Bapak dan Ibu dosen pembimbing saya, Bapak Dr. apt. Nuri, M.Si dan Ibu Aliyah Purwanti, M.Si yang telah meluangkan waktu dan memberikan saran, serta masukan sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini.
3. Sahabat-sahabat saya, Khofifah Indah Rahmawati, Rahadinda Mutia D.D, Giffarin Ittaqillah, Agustin Nourma Diana, Maharani Fauziah H.P yang selalu menjadi penyemangat serta memberi dukungan kepada saya dalam menyelesaikan skripsi ini.
4. Teman seperjuangan dalam penelitian skripsi, Aurellia Firjanti Syafiq, Dianty Bella Agustin, dan Beta Putri Ananda yang telah membantu dan memberikan semangat untuk saya dalam menyelesaikan skripsi ini.
5. Semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu yang telah memberikan semangat, motivasi, serta dukungan kepada saya sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini.

## MOTTO

*“The most important thing isn’t how fast you walk, but how you walk until the finish line. Don’t stop even if you walk slowly”*

“Hal yang paling penting bukan dilihat dari seberapa cepat kamu berjalan, tetapi dilihat dari bagaimana kamu berjalan hingga garis akhir. Jangan berhenti walaupun kamu berjalan dengan pelan-pelan”

~ Park Sungjin~

*“Your efforts will never betray you. All your efforts will pay of”*

“Usaha yang kamu lakukan tidak akan pernah mengkhianatimu. Semua usahamu akan terbayar”

~Lee Taeyong~

## ABSTRAK

Permata Sanny, Aprilia\* Nuri\*\* Purwanti, Aliyah\*\*\*. 2022. **Pengaruh Metode Ekstraksi Maserasi dan Soxhletasi Biji Coklat (*Theobroma cacao* L.) Terhadap Aktivitas Antijamur *Candida albicans***. Skripsi. Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi.

**Latar Belakang:** Biji coklat (*Theobroma cacao* L.) merupakan salah satu tanaman yang memiliki banyak potensi yang menguntungkan, baik untuk teknologi pangan maupun untuk dikembangkan sebagai obat tradisional. Kandungan senyawa polifenol yang cukup besar pada biji coklat memiliki potensi sebagai antijamur. Jamur *Candida albicans* merupakan salah satu jamur penyebab terjadinya keputihan pada wanita. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh dari metode ekstraksi maserasi dan *soxhletasi* terhadap nilai rendemen, kandungan senyawa kimia, dan aktivitas antijamur *Candida albicans*.

**Metode:** Desain penelitian ini adalah *true experimental posttest only-control group*. Proses ekstraksi biji coklat dengan menggunakan metode maserasi dan *soxhletasi* dengan pelarut etanol 70%, dilanjutkan dengan skrining fitokimia untuk mengetahui kandungan senyawa kimia, dan uji antijamur terhadap *Candida albicans* menggunakan metode difusi cakram dengan konsentrasi dari masing-masing metode yang digunakan sebesar 25% dan 50% dengan replikasi sebanyak 3 kali.

**Hasil Penelitian:** Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai rendemen metode *soxhletasi* dan maserasi adalah  $10,215 \pm 0,085$  dan  $9,36 \pm 0,729$ . Ekstrak etanol biji coklat dengan metode maserasi dan *soxhletasi* sama-sama mengandung senyawa fenol, tanin, flavonoid, alkaloid, dan terpenoid. Hasil uji antijamur menggunakan metode *soxhletasi* dan maserasi dengan konsentrasi 50% menghasilkan zona hambat sebesar  $2,217 \text{ mm} \pm 0,506$  dan  $1,350 \text{ mm} \pm 0,356$ .

**Kesimpulan:** Berdasarkan hasil uji statistik dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat pengaruh metode ekstraksi maserasi dan *soxhletasi* terhadap nilai rendemen, kandungan senyawa kimia, dan aktivitas antijamur *Candida albicans*.

**Kata Kunci:** *Theobroma cacao* L., biji coklat, maserasi, *soxhletasi*, *Candida albicans*

- \* Peneliti
- \*\* Pembimbing 1
- \*\*\* Pembimbing 2

## **ABSTRACT**

Permata Sanny, Aprilia\* Nuri\*\* Purwanti, Aliyah\*\*\*. 2022. *The Effect Of The Maceration And Soxhletation Extraction Methods Of Cocoa Beans (Theobroma Cacao L.) On The Antifungal Activity Of Candida albicans*. Thesis. Pharmacy Undergraduate Study Program, Universitas dr. Soebandi.

**Introduction:** *Cocoa bean (Theobroma cacao L.) is a plant that has a lot of beneficial potential, both for food technology and for development as a traditional medicine. The content of polyphenolic compounds, which is quite large in cocoa beans, has potential as an antifungal. Candida albicans is a fungus that causes leucorrhoea. The purpose of this study was to determine the effect of maceration and soxhletation extraction methods on yield, chemical compounds, and antifungal activity of Candida albicans.*

**Methods:** *The design of this study was a true experimental posttest only-control group. The extraction process of cocoa beans using maceration and soxhletation methods with 70% ethanol solvent was followed by phytochemical screening to determine the content of chemical compounds and antifungal tests against Candida albicans using the disc diffusion method, with concentrations of each method used being 25% and 50 % with 3 times replication.*

**Results and Analysis:** *The results showed that the yield of the soxhletation and maceration methods were  $10.215 \pm 0.085$  and  $9.36 \pm 0.729$ . Both maceration and soxhletation ethanol extracts of cocoa beans contain phenolic compounds, tannins, flavonoids, alkaloids, and terpenoids. The results showed that antifungal tests using the soxhletation and maceration methods with both concentrations of 50% produced an inhibition zone of  $2.217 \text{ mm} \pm 0.506$  and  $1.350 \text{ mm} \pm 0.356$*

**Conclusion:** *Based on the results of statistical tests, it can be concluded that there is no effect of maceration and soxhletation extraction methods on yield, chemical compound compounds, and antifungal activity of Candida albicans.*

**Keywords:** *Theobroma cacao L., cocoa beans, maceration, soxhletation, Candida albicans.*

\* Researcher

\*\* Advisor 1

\*\*\* Advisor 2

## KATA PENGANTAR

*Assalamu 'alaikum Warohmatullahi Wabarokatuh*

Syukur Alhamdulillah penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya kepada penulis sehingga penyusunan Skripsi ini dapat terselesaikan. Skripsi ini disusun untuk memenuhi persyaratan memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi dengan berjudul “Pengaruh Metode Ekstraksi Maserasi Dan *Soxhletasi* Biji Coklat (*Theobroma cacao L.*) Terhadap Aktivitas Antijamur *Candida albicans*”.

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

1. Bapak Drs. Said Mardijanto, S.Kep., Ns., M.M. selaku Rektor Universitas dr. Soebandi
2. Ibu Hella Meldy Tursina, S.Kep., Ns., M.Kep. 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. Bapak Dr. apt. Nuri, M.Si. selaku Dosen Pembimbing Utama
5. Ibu Aliyah Purwanti, M.Si. selaku Dosen Pembimbing Anggota
6. Ibu Jenie Palupi, S.Kp., M.Kes. selaku Ketua Penguji

Penulis menyadari bahwa Skripsi ini masih jauh dari kata sempurna, sehingga saran dan masukan yang bersifat membangun dari semua pihak sangat penulis harapkan demi kesempurnaan Skripsi ini. Semoga Skripsi ini dapat bermanfaat. Akhir kata penulis mengucapkan terima kasih.

*Wassalamu 'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh.*

Jember, 7 September 2022

Penulis

## DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL DEPAN .....	
HALAMAN PERSETUJUAN.....	iii
HALAMAN PENGESAHAN .....	iv
PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI.....	v
PERSEMBAHAN.....	iii
MOTTO .....	iii
ABSTRAK .....	iii
ABSTRACT .....	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR TABEL.....	xv
DAFTAR SINGKATAN.....	xvi
<b>BAB 1 PENDAHULUAN .....</b>	<b>17</b>
1.1 Latar Belakang.....	17
1.2 Rumusan Masalah.....	21
1.3 Tujuan.....	21
1.3.1 Tujuan Umum.....	21
1.3.2 Tujuan Khusus .....	21
1.4 Manfaat Penelitian.....	22
1.4.1 Bagi Peneliti.....	22
1.4.2 Bagi Masyarakat .....	22
1.4.3 Bagi Institusi.....	22
1.5 Keaslian Penelitian .....	23
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>24</b>
2.1 Tumbuhan Coklat .....	24
2.1.1 Sejarah Tanaman Coklat.....	24
2.1.2 Klasifikasi Tanaman Coklat.....	25
2.1.3 Morfologi Tanaman Coklat .....	26
2.1.4 Kandungan Biji Coklat .....	28
2.1.5 Manfaat Biji Coklat .....	29
2.2 Skrining Fitokimia.....	30
2.3 Ekstraksi .....	31
2.3.1 Metode Ekstraksi .....	31
2.3.2 Rendemen .....	35
2.4 Jamur <i>Candida albicans</i> .....	35
2.4.1 Klasifikasi Ilmiah <i>Candida albicans</i> .....	36
2.4.2 Morfologi <i>Candida albicans</i> .....	36
2.4.3 Pertumbuhan dan Reproduksi <i>Candida albicans</i> .....	37
2.5 Antijamur.....	38
2.6 Uji Antimikroba.....	44
<b>BAB 3 KERANGKA KONSEP.....</b>	<b>46</b>
3.1 Kerangka Konsep .....	46

3.2 Hipotesis Penelitian .....	47
<b>BAB 4 METODE PENELITIAN .....</b>	<b>48</b>
4.1 Desain Penelitian .....	48
4.1.1 Jenis Penelitian .....	48
4.1.2 Rancangan Penelitian.....	48
4.2 Populasi dan Sampel.....	49
4.2.1 Populasi.....	49
4.2.2 Sampel .....	50
4.3 Variabel Penelitian .....	50
4.4 Tempat Penelitian.....	50
4.5 Waktu Penelitian.....	51
4.6 Definisi Operasional .....	52
4.7 Teknik Pengumpulan Data .....	53
4.7.1 Determinasi Tumbuhan.....	53
4.7.2 Pembuatan Serbuk Simplisia Biji Coklat.....	53
4.7.3 Ekstraksi Metode Maserasi.....	53
4.7.4 Ekstraksi Metode <i>Soxhletasi</i> .....	54
4.7.5 <i>Defatting</i> Lemak Ekstrak Biji Coklat .....	54
4.7.6 Pengenceran Ekstrak Biji Coklat .....	54
4.7.7 Kontrol Positif dan Kontrol Negatif .....	54
4.7.8 Skrining Fitokimia .....	55
4.7.9 Sterilisasi Alat dan Bahan.....	56
4.7.10 Pembuatan Media Tumbuh.....	56
4.7.11 Peremajaan Jamur <i>Candida albicans</i> .....	57
4.7.12 Pembuatan Standar Kekeruhan 0,5 <i>McFarland</i> .....	57
4.7.13 Pembuatan Suspensi <i>Candida albicans</i> .....	57
4.7.14 Penentuan Aktivitas Antijamur dengan Metode Difusi Cakram .....	58
4.8 Teknik Analisa Data .....	58
<b>BAB 5 HASIL PENELITIAN .....</b>	<b>59</b>
5.1 Determinasi Tanaman.....	59
5.2 Ekstraksi Maserasi dan <i>Soxhletasi</i> .....	59
5.3 Skrining Fitokimia.....	60
5.4 Uji Antijamur.....	61
5.5 Analisa Data .....	63
5.4.1 Analisa Data Nilai Rendemen Biji Coklat.....	63
5.4.2 Analisa Data Hasil Uji Antijamur.....	63
<b>BAB 6 PEMBAHASAN .....</b>	<b>65</b>
6.1 Ekstraksi Maserasi dan <i>Soxhletasi</i> .....	65
6.2 Skrining Fitokimia.....	68
6.3 Uji Antijamur.....	70
<b>BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>78</b>
7.1 Kesimpulan.....	78
7.2 Saran .....	78
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>79</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>85</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Coklat .....	24
Gambar 2.2 Jenis-jenis Buah Coklat.....	26
Gambar 2.3 Biji Coklat .....	28
Gambar 2.4 <i>Candida albicans</i> .....	37
Gambar 3.1 Kerangka Konsep .....	46
Gambar 4.1 Skema Rancangan Penelitian Aktivitas Antijamur .....	48
Gambar 5.7 Hasil Uji Antijamur .....	62

## DAFTAR TABEL

Tabel 1.1 Keaslian Penelitian.....	23
Tabel 4.1 Definisi Operasional .....	52
Tabel 5.1 Hasil Ekstraksi Biji Coklat.....	59
Tabel 5.2 Hasil Skrining Fitokimia Biji Coklat Dengan Metode Maserasi .....	60
Tabel 5.3 Hasil Skrining Fitokimia Biji Coklat Dengan Metode <i>Soxhletasi</i> .....	60
Tabel 5.4 Hasil Pengukuran Zona Hambat Jamur (mm).....	63
Tabel 5.5 Hasil Uji Normalitas dan Homogenitas .....	63
Tabel 5.6 Hasil Uji <i>Mann Whitney</i> .....	63
Tabel 5.7 Hasil Uji Asumsi ANOVA .....	64
Tabel 5.8 Hasil Uji <i>Kruskall Wallis</i> .....	64
Tabel 5.9 Hasil Uji Duncan.....	64

## DAFTAR SINGKATAN

AIDS : *Acquired Immunodeficiency Syndrome*

ATP : *Adenosine Triphosphate*

HIV : *Human Immunodeficiency Virus*

IU : *International Unit*

PDA : *Potato Dextrose Agar*

Psi : *Per square inchi*

ROS : *Reactive Oxygen Species*

SDA : *Sabouraud Glucose Agar*

## **BAB 1 PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Infeksi merupakan salah satu penyebab dari masalah kesehatan yang ada di Indonesia. Penyakit infeksi dapat disebabkan oleh adanya mikroba patogen yang masuk ke dalam tubuh (Hartini, 2017). Salah satu penyebab dari penyakit infeksi adalah infeksi karena jamur. Jamur memiliki banyak spesies, salah satu spesies jamur yang sering menyebabkan infeksi yaitu *Candida albicans* (Hartini, 2017).

*Candida albicans* merupakan salah satu jamur golongan khamir yang dapat ditemukan pada manusia. Kebanyakan jamur *Candida albicans* dapat diisolasi dari sariawan, rongga mulut, dan pada penderita HIV/AIDS (Hartini, 2017). Jamur *Candida albicans* hidup di dalam tubuh manusia sebagai saprofit dan dapat berubah menjadi patogen bila terjadi faktor risiko seperti terjadinya gangguan endokrin, menurunnya imunitas tubuh, dan terapi antibiotik dalam jangka panjang (Hartini, 2017). Pada keadaan normal, *Candida albicans* dapat hidup sebagai parasit baik yang berada di dalam rongga mulut, saluran pernafasan, saluran pencernaan, serta vagina tanpa menimbulkan suatu gejala (Hartini, 2017). Pada daerah vagina, *Candida albicans* dapat menjadi pengaruh yang dapat menyebabkan keputihan. Keputihan merupakan salah satu masalah utama bagi wanita karena dapat mengganggu aktivitas, bahkan pada stadium lanjut dapat menyebabkan kemandulan, dan kanker pada organ reproduksi wanita (Hartini, 2017). Salah satu hal yang dapat dilakukan untuk menghambat dan membunuh *Candida albicans* yaitu dengan penggunaan zat antibiotik.

Menurut Mutschler (1999) dalam Putri (2018), antijamur merupakan antibiotik yang memiliki kemampuan untuk menghambat hingga membunuh pertumbuhan jamur. Obat antibiotik yang selama ini digunakan untuk mengobati kandidiasis kulit meliputi nistatin, klotrimazol, mikonazol, dan golongan azol lainnya. Namun, obat-obat antijamur tersebut memiliki keterbatasan, seperti efek samping mual dan muntah, spektrum antijamur yang sempit, penetrasi yang buruk pada jaringan tertentu, dan munculnya jamur yang resisten (Ani, 2018). Resistensi antijamur merupakan salah satu penyebab kegagalan pengobatan klinis pada infeksi jamur selain oleh penyebab lain seperti bioavailabilitas obat yang rendah, dan imunitas dari pasien yang lemah (Candrasari, 2014). Kasus resistensi *Candida albicans* yang terjadi terhadap flukonazol sebesar 34,07%, 10,99% resisten terhadap vorikonazol, 7,69% resisten terhadap ketokonazol, 6,59% resisten terhadap itrakonazol, 2,95% resisten terhadap nistatin, 2,19% resisten terhadap klotrimazol dan 1,09% resisten terhadap amfoterisin B (Ani, 2018). Oleh karena itu, perlu pengobatan alternatif lain yang lebih aman untuk mengobati kandidiasis kulit, salah satunya yaitu pengobatan dengan menggunakan tanaman.

Salah satu tanaman yang memiliki banyak potensi yang menguntungkan, baik untuk teknologi pangan maupun untuk dikembangkan sebagai obat tradisional adalah tanaman coklat (Sepriyani, 2020). Produksi coklat dunia saat ini mencapai sekitar 4,79 juta ton yang sebagian besar dipasok oleh Pantai Gading (43%), Ghana (20%), Ekuador (6%), dan Indonesia (6%), dan sisanya oleh negara-negara produsen lainnya yang relatif kecil (Ditjenbun, 2019). Saat ini luas areal pengembangan coklat mencapai 1,6 juta ha dengan produksi sekitar 593 ribu ton

menempatkan Indonesia sebagai salah satu negara produsen terbesar dunia yang berada di posisi ke-4 (Ditjenbun, 2019). Biji coklat pertama kali digunakan pada masa peradaban kuno suku Maya dan Aztec di Amerika Selatan untuk mengobati beberapa penyakit yang melibatkan sistem kardiovaskuler, gastrointestinal, dan sistem saraf (Abbey *et al.*, 2008 dalam Yulianti, 2013).

Biji coklat memiliki kandungan senyawa polifenol yang cukup besar. Kandungan polifenol yang terdapat pada biji coklat meliputi katekin 33-42%, leukosianidin 23-25% dan antosianin 5%, sedangkan pada biji coklat bubuk bebas lemak memiliki kandungan senyawa polifenol sebanyak 5-18% (sebanyak 120-180 g/kg) (Kusuma, Suwasono and Yuwanti, 2013). Adanya kandungan dari senyawa polifenol yang tinggi tersebut membuat produk coklat maupun produk turunannya memiliki kontribusi yang banyak untuk menyehatkan tubuh, seperti sebagai antioksidan, antiinflamasi, antikanker, antimikroba, antidiabetes, mencegah karies pada gigi, antihipertensi, memperbaiki kemampuan kognitif, dan menyehatkan jantung (Sepriyani, 2020). Biji coklat mengandung banyak senyawa kimia seperti glukosa, fruktosa, sukrosa, tanin, lemak dan protein. Penelitian yang dilakukan oleh Othman *et al.*, (2007) dalam Yulianti (2013) menyatakan bahwa biji coklat mengandung senyawa-senyawa fenolik, antara lain: asam fenolat, katekin, proantosianidin, tanin, epikatekin, dan flavonoid lainnya.

Senyawa-senyawa fenolik merupakan suatu senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tumbuhan dengan ciri khas berupa cincin aromatik yang mengandung satu atau dua gugus hidroksi (OH) (Julianto, 2019). Sebagai antifungi, senyawa fenolik memiliki mekanisme kerja berinteraksi dengan dinding

sel jamur, hal ini dapat menyebabkan terjadinya denaturasi protein pada kadar yang rendah, sedangkan pada kadar tinggi akan menyebabkan koagulasi protein sehingga dapat menyebabkan kematian pada sel (Ngazizah *et al.*, 2017).

Pada pembuatan ekstrak, kandungan senyawa yang akan tersari pada suatu ekstrak akan dipengaruhi oleh metode ekstraksi yang digunakan pada suatu simplisia (Desmiaty *et al.*, 2019). Berdasarkan suhu ekstraksi, kandungan senyawa kimia pada tanaman memiliki dua sifat, yaitu *thermolabil* seperti alkaloid, flavonoid, dan *thermostabil* (Najib, 2018). Pada penelitian ini, metode ekstraksi yang akan digunakan yaitu maserasi dan *soxhletasi*. Pemilihan kedua metode ini dikarenakan pada metode ekstraksi maserasi memiliki kelebihan yaitu tidak memerlukan peralatan yang khusus dan senyawa yang mudah rusak terhadap pemanasan akan tetap terjaga, akan tetapi metode ini memiliki kelemahan yaitu memerlukan pelarut yang banyak dan waktu untuk ekstraksi relatif lebih lama. Metode *soxhletasi* memiliki kelebihan yaitu lebih ekonomis, dan pelarut yang digunakan cenderung lebih sedikit, sedangkan kelemahannya yaitu senyawa yang terekstraksi dikuatirkan akan mengalami kerusakan, terutama untuk senyawa yang sensitif terhadap pemanasan (Saidi *et al.*, 2018).

Berdasarkan uraian di atas, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian mengenai pengaruh metode ekstraksi maserasi dan *soxhletasi* biji coklat (*Theobroma cacao L.*) terhadap aktivitas antijamur *Candida albicans*.

## 1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah yang terdapat pada penelitian ini adalah:

1. Apakah metode ekstraksi maserasi dan *soxhletasi* mempengaruhi nilai rendemen ekstrak etanol biji coklat?
2. Apakah metode ekstraksi maserasi dan *soxhletasi* mempengaruhi kandungan senyawa kimia yang terdapat pada ekstrak etanol biji coklat?
3. Apakah metode ekstraksi maserasi dan *soxhletasi* mempengaruhi aktivitas antijamur ekstrak etanol biji coklat terhadap pertumbuhan *Candida albicans*?

## 1.3 Tujuan

### 1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh metode ekstraksi maserasi dan *soxhletasi* pada ekstrak etanol biji coklat (*Theobroma cacao L.*) terhadap pertumbuhan *Candida albicans*.

### 1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui pengaruh dari metode ekstraksi maserasi dan *soxhletasi* terhadap nilai rendemen ekstrak etanol biji coklat.
2. Mengetahui pengaruh dari metode ekstraksi maserasi dan *soxhletasi* terhadap kandungan senyawa kimia yang terdapat pada ekstrak etanol biji coklat.
3. Mengetahui pengaruh dari metode ekstraksi maserasi dan *soxhletasi* terhadap aktivitas antijamur ekstrak etanol biji coklat terhadap pertumbuhan *Candida albicans*.

## **1.4 Manfaat Penelitian**

### **1.4.1 Bagi Peneliti**

Hasil penelitian ini dapat menambah pengetahuan mengenai pengaruh dari metode ekstraksi maserasi dan *soxhletasi* terhadap aktivitas antijamur ekstrak etanol biji coklat terhadap pertumbuhan *Candida albicans*.

### **1.4.2 Bagi Masyarakat**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah wawasan masyarakat mengenai manfaat dari biji coklat sebagai antijamur.

### **1.4.3 Bagi Institusi**

Hasil penelitian ini dapat menambah kepustakaan dan literasi mengenai pengaruh dari metode ekstraksi maserasi dan *soxhletasi* terhadap aktivitas antijamur ekstrak etanol biji terhadap pertumbuhan *Candida albicans*.

## 1.5 Keaslian Penelitian

Tabel 1.1 Keaslian Penelitian

Nama Penulis	Tahun Terbit	Judul Penelitian	Hasil Penelitian
Ivan Firmansyah	2014	Efek Ekstrak Etanol Biji Coklat ( <i>Theobroma cacao</i> ) sebagai Antifungi Terhadap <i>Candida albicans</i> Secara <i>In Vitro</i>	Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji coklat terbukti memiliki efek sebagai antifungi terhadap <i>Candida albicans</i> . Konsentrasi minimum ekstrak etanol biji coklat yang mampu menghambat pertumbuhan <i>Candida albicans</i> secara kualitatif adalah 7,81 mg/mL. Sedangkan konsentrasi hambat minimum secara kuantitatif yang didapatkan dari persamaan regresi adalah 3,749 mg/mL.
Fajar Daniswara M, Yuni Setyaningsih, Fajriati Zulfa	2020	<i>Effectiveness of Cocoa (Theobroma cacao L.) Seed Extract on The Growth of In Vitro Malassezia furfur</i>	Diameter zona hambat pada konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% adalah 3,42 mm; 4,07 mm; 4,9 mm; dan 7,3 mm. Dari data yang didapatkan, dapat disimpulkan bahwa kulit biji kakao memiliki aktivitas antifungi yang lemah.
Margaretta Indra Pratiwi	2013	Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Biji Kakao ( <i>Theobroma cacao L.</i> ) Kaya Polifenol Terserang <i>Phytophthora palmivora</i> Terhadap <i>Streptococcus mutans</i> dan <i>Candida albicans</i>	Nilai KHM ekstrak biji kakao A dan B (ekstrak etanol 70% <i>non-defatting</i> dan ekstrak etanol 70% <i>defatting</i> PB) pada konsentrasi 1,6% terhadap <i>Candida albicans</i> yaitu 16 mg/mL, sedangkan nilai KHM ekstrak biji kakao C dan D (ekstrak air panas <i>non-defatting</i> PB dan ekstrak air panas <i>defatting</i> PB) pada konsentrasi 4,0% terhadap <i>Candida albicans</i> yaitu 40 mg/mL,

Perbedaan penelitian ini dengan penelitian sebelumnya yaitu membandingkan dua metode ekstraksi yaitu metode ekstraksi maserasi dan *soxhletasi*, sedangkan untuk persamaan penelitian dengan penelitian sebelumnya yaitu menggunakan ekstrak etanol biji coklat sebagai antijamur *Candida albicans*.

## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tumbuhan Coklat

#### 2.1.1 Sejarah Tanaman Coklat

Tanaman coklat berasal dari Benua Amerika dan bukan tanaman asli dari Indonesia (Sugiharti, 2016). Masyarakat Aztec dan Maya di Amerika Tengah telah membudidayakan tanaman coklat sejak lama sebelum kedatangan orang-orang Eropa (Pracaya dan P.C Kahono, 2016). Tanaman coklat mulai masuk ke Indonesia sekitar tahun 1650 oleh orang Spanyol melalui Sulawesi, lalu menyebar ke Minahasa. Sejak tahun 1970 budidaya tanaman coklat mendapat perhatian yang lebih luas lagi hampir di seluruh Nusantara sehubungan dengan usaha diversifikasi budaya di berbagai perkebunan besar (Sugiharti, 2016). Dari Sulawesi tanaman ini meluas ke Ternate dan Ambon, kemudian penyebaran coklat menjalar ke arah barat, yaitu Jawa Timur dan Jawa Tengah pada tahun 1806 (Pracaya dan P.C Kahono, 2016). Pada waktu itulah berdiri perkebunan coklat di Bedono, Tlogo, Getas, dan Djati Runggo di Jawa Tengah. Sementara itu, di Jawa Timur berdiri perkebunan serupa di Malang, Kediri, dan Besuki (Pracaya dan P.C Kahono, 2016).



Gambar 2.1 Coklat  
(Karmawati *et al.*, 2010)

### 2.1.2 Klasifikasi Tanaman Coklat

Menurut (Tjitrosoepomo, 1988) dalam Pracaya dan P.C Kahono (2016), sistematika tanaman coklat sebagai berikut:

Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Subkelas	: Dialypetalae
Ordo	: Malvales
Famili	: Sterculiaceae
Genus	: Theobroma
Spesies	: <i>Theobroma cacao</i> L.

Pada umumnya tanaman coklat yang dibudidayakan di perkebunan adalah jenis *Criollo*, *Forastero*, dan *Trinitario* (Pracaya dan P.C Kahono, 2016). Ciri-ciri dari tiap tanaman coklat tersebut yaitu:

#### 1) *Criollo*

- (1) Menghasilkan biji dengan mutu sangat baik. Jenis coklat *Criollo* dikenal sebagai coklat mulia, *fine cacao*, *fine flavour cacao*, *choiced cacao*, atau *edel cacao*.
- (2) Buahnya berwarna merah atau hijau dengan kulit buah tipis, berbintil-bintil kasar, dan lunak.
- (3) Biji buahnya berbentuk bulat telur dan berukuran besar dengan kotiledon berwarna putih pada waktu basah.

(Pracaya dan P.C Kahono, 2016)

## 2) *Forastero*

- (1) Menghasilkan biji dengan mutu sedang. Dikenal dengan istilah coklat *bulk*, *bulk cacao*, dan *ordinary cacao*.
- (2) Buahnya berwarna hijau dengan kulit yang tebal
- (3) Biji buahnya tipis atau gepeng dengan kotiledon berwarna ungu pada waktu basah.

(Pracaya dan P.C Kahono, 2016)

## 3) *Trinitario*

- (1) Hibrida coklat *Criollo* dan *Forastero*. Memiliki sifat morfologi dan fisiologi yang sangat beragam. Demikian juga daya dan mutu hasilnya beragam.
- (2) Menghasilkan biji yang termasuk *edel cacao* dan *bulk cacao*.

(Pracaya dan P.C Kahono, 2016)



Gambar 2.2 Jenis-jenis Buah Coklat  
(Sepriyani, 2020)

### 2.1.3 Morfologi Tanaman Coklat

Tanaman coklat merupakan tumbuhan *Angiospermae* yang tersusun atas akar, batang, daun, bunga, buah, dan biji. Tanaman coklat memiliki akar

tunggang yang panjangnya dapat mencapai delapan meter ke arah samping dan 15-20 meter ke arah bawah (Sugiharti, 2016). Tinggi dari tanaman coklat dapat mencapai 8-10 meter. Tanaman coklat yang berasal dari biji akan tumbuh menjadi tanaman coklat yang berbatang lurus. Pada umur sekitar 10 bulan, batang akan membentuk 3-6 cabang kipas (*fan branches*). Titik-titik pertemuan cabang-cabang tersebut disebut dengan *jqquette* yang tumbuh sekitar 1-2 meter di atas permukaan tanah (Sugiharti, 2016).

Daun coklat terdiri dari tangkai daun dan helai daun. Tangkai daun pendek, berbentuk silinder, dan bersisik halus, bergantung pada tipe coklat. Bentuk helai daun dari tanaman coklat bulat memanjang, ujung daun meruncing, dan pangkal daun runcing. Susunan tulang daun menyirip dan tulang daun menonjol ke permukaan bawah helai daun. Tepi dari daun coklat rata, daging daun tipis, tetapi kuat seperti kertas perkamen. Permukaan daun licin dan mengkilap (Pracaya dan P.C Kahono, 2016). Panjang dari daun sekitar 25-34 cm dengan lebar 9-12cm (Sugiharti, 2016).

Bunga dari tanaman coklat berwarna putih, ungu, atau kemerah-merahan. Warna kuat terdapat pada benang sari dan daun mahkota. Tangkai bunga dari tanaman coklat kecil dengan panjang 1-1,5 cm. Daun mahkota mempunyai panjang 6-8 mm yang terdiri atas dua bagian. Bagian pangkal berbentuk seperti kuku binatang dan biasanya terdapat dua garis merah. Bagian ujung berupa lembaran tipis, fleksibel, dan berwarna putih (Pracaya dan P.C Kahono, 2016).

Buah coklat memiliki warna yang sangat beragam, tetapi pada dasarnya terdapat dua macam warna. Buah akan yang masih muda berwarna hijau atau

hijau agak putih, sedangkan bila matang akan berwarna kuning. Sementara itu, bila ketika muda buah coklat berwarna merah, maka bila matang akan berwarna merah kekuning-kuningan. Kulit buah coklat memiliki 10 alur dalam dan dangkal yang letaknya berselang-seling. Buah coklat akan masak setelah berumur enam bulan (Pracaya dan P.C Kahono, 2016).

Biji dari coklat tersusun dalam lima baris yang mengelilingi poros buah. Jumlah dari bijinya beragam sekitar 20-25 butir per buah. Apabila dipotong melintang, tampak biji tersusun oleh dua kotiledon yang saling melipat dan bagian pangkalnya menempel pada poros lembaga. Biji dari coklat dibungkus oleh daging buah (*pulp*) berwarna putih, berasa asam manis (Pracaya dan P.C Kahono, 2016).



Gambar 2.3 Biji Coklat  
(Karmawati *et al.*, 2010)

#### 2.1.4 Kandungan Biji Coklat

Biji coklat mengandung banyak senyawa kimia seperti glukosa, fruktosa, sukrosa, tanin, lemak dan protein. Kandungan yang terdapat pada biji coklat antara lain protein 9%. karbohidrat 14%, dan lemak 31%. Protein pada coklat kaya akan asam amino triptofan, fenilalanin, dan tirosin. Lemak dari biji coklat

terdiri dari tujuh macam asam lemak, diantaranya yaitu asam palmitat 24,8 %, asam stearat 11 33,0%, asam oleat 3,2%, asam arakhidonat 0,8%, asam palmitoleat 0,3%, dan asam miristat 0,2% (Sepriyani, 2020).

Biji coklat memiliki kandungan senyawa polifenol meliputi katekin 33-42%, leukosianidin 23-25%, dan antosianin sebesar 5%. Pada biji coklat bubuk bebas lemak mengandung 5-18% senyawa polifenol (Kusuma *et al*, 2013). Sekitar 35% dari total polifenol pada biji coklat varietas Forastero yang tidak difermentasi adalah berupa senyawa flavonoid (-)-epikatekin. Dengan kata lain, kandungan (-)-epikatekin pada biji coklat segar bervariasi antara 34,65-43,27 mg/g biji coklat bebas lemak tergantung pada varietas coklat dan daerah asal (Haryadi dan Supriyanto, 2012).

Senyawa teobromin ditemukan dalam biji coklat oleh Woskresensky pada tahun 1842, dan strukturnya ditentukan oleh Emil Fischer pada akhir abad ke 19. Teobromin berasal dari kata *Theobroma* yang merupakan isomer dari teofilin, dikenal sebagai senyawa *xanthine* yang mempunyai 2 gugus metil. Biji coklat segar yang tidak difermentasi mengandung teobromin antara 14-38 g dan kafein 1-8 g untuk setiap kg berat kering biji coklat, sementara itu pada kulit buah mengandung teobromin 1g/kg dan pada kulit biji mengandung teobromin 0,2/kg berat biji kering (Alexander *et al*, 2008 dalam Sepriyani, 2020).

### **2.1.5 Manfaat Biji Coklat**

Senyawa fenolik dari tanaman coklat telah diteliti dan dilaporkan mengandung senyawa komponen bioaktif yang memiliki banyak manfaat bagi kesehatan manusia, seperti antioksidan, antiradikal, dan antikarsinogenik

(Sudibyo, 2012). Dalam penelitian Osawa *et al* (2003) dalam Sudibyo (2012) menunjukkan bahwa senyawa fenolik yang terdapat pada coklat yang dapat digunakan sebagai antimikroba juga dapat berfungsi untuk melawan beberapa jenis bakteri patogen yang terdapat pada bahan pangan tetapi juga mampu untuk melawan beberapa jenis bakteri karsinogenik. Kemampuan dari senyawa bioaktif ini untuk menembus dinding sel bakteri secara langsung berhubungan dengan aktivitas antimikroba (Arlorio *et al*, 2000 dalam Sudibyo, 2012). Sifat antimikroba ekstrak biji coklat juga disebabkan karena terdapatnya beberapa senyawa yang bersifat antimikroba seperti katekin, flavonoid, tanin dan antosianin (Sepriyani, 2020).

## **2.2 Skrining Fitokimia**

Fitokimia adalah suatu kajian ilmu yang mempelajari tentang sifat dan interaksi dari senyawa kimia metabolit sekunder dalam tumbuhan. Keberadaan dari senyawa kimia metabolit sekunder memiliki peranan yang sangat penting bagi tumbuhan untuk mempertahankan dirinya dari makhluk hidup lainnya. Selain itu, senyawa metabolit sekunder juga dapat mengundang kehadiran serangga untuk membantu proses penyerbukan dan lain-lain (Julianto, 2019).

Skrining fitokimia merupakan suatu cara yang dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa bioaktif yang belum tampak melalui suatu pemeriksaan atau tes yang dapat memisahkan antara kandungan fitokimia tertentu yang terkandung dalam tanaman yang sedang diteliti dengan cepat (Khotimah, 2016). Skrining fitokimia dilakukan dengan cara uji reaksi warna yang meliputi

uji terhadap senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid, dan terpenoid dengan menggunakan larutan yang spesifik untuk masing-masing metabolit yang akan diuji (Idores *et al*, 2019).

## **2.3 Ekstraksi**

Ekstraksi merupakan salah satu metode pemisahan kimia untuk menarik atau memisahkan satu atau lebih komponen atau senyawa-senyawa dari suatu sampel dengan menggunakan pelarut tertentu yang sesuai. Prinsip pemisahan didasarkan pada kemampuan atau daya larut suatu analit dalam pelarut tertentu. Maka dari itu, pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi harus mampu menarik komponen analit dari sampel secara maksimal (Leba, 2017).

### **2.3.1 Metode Ekstraksi**

Untuk mendapatkan ekstrak dari suatu tanaman, terdapat beberapa metode ekstraksi menggunakan pelarut adalah sebagai berikut:

#### 1) Cara dingin

Proses ekstraksi menggunakan cara dingin mempunyai keuntungan dalam proses ekstraksi total, yaitu memperkecil kemungkinan terjadinya kerusakan pada suatu senyawa termolabil yang ada pada sampel (Febryanto, 2017).

Berikut merupakan jenis-jenis dari metode ekstraksi dengan cara dingin:

##### (1) Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruang (kamar) (Depkes RI, 2000). Proses ekstraksi ini

dilakukan dengan cara merendam sampel pada suhu kamar menggunakan pelarut yang sesuai, sehingga dapat melarutkan analit dalam sampel. Proses perendaman biasanya dilakukan selama 3-5 hari sambil diaduk sesekali agar mempercepat proses pelarutan dari analit. Indikasi bahwa semua analit telah terekstrak secara sempurna yaitu ketika pelarut yang digunakan tidak berwarna (Leba, 2017).

Kelebihan dari metode ekstraksi maserasi adalah alat dan cara yang digunakan pada proses ekstraksi sangat sederhana, dapat digunakan untuk analit baik yang tahan dengan pemanasan maupun yang tidak tahan terhadap pemanasan. Sedangkan untuk kelemahan dari metode ekstraksi ini adalah membutuhkan banyak pelarut (Leba, 2017).

## (2) Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (*exhaustive extraction*) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan (Depkes RI, 2000). Pola penambahan pelarut yang dilakukan adalah dengan menggunakan pola peneteskan pelarut dari bejana terpisah disesuaikan dengan jumlah pelarut yang dikeluarkan atau dilakukan dengan penambahan pelarut dalam jumlah besar secara berkala (Leba, 2017). Proses ekstraksi dilakukan hingga analit dalam sampel terekstraksi secara sempurna. Indikasi bahwa seluruh analit telah terekstraksi secara sempurna adalah pelarut yang digunakan tidak berwarna (Leba, 2017).

## 2) Cara panas

Pada metode ekstraksi menggunakan cara panas melibatkan pemanasan selama proses berjalannya ekstraksi. Adanya pemanasan pada cara ini secara otomatis kan mempercepat proses ekstraksi dibandingkan dengan menggunakan cara dingin (Febryanto, 2017). Berikut ini beberapa jenis metode ekstraksi dengan cara panas:

### (1) *Soxhletasi*

*Soxhletasi* adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Depkes RI, 2000). Prinsip dari metode ini adalah ekstraksi dilakukan secara terus menerus dengan menggunakan pelarut yang relatif sedikit. Bila proses ekstraksi telah selesai, maka pelarut dapat diuapkan untuk mendapatkan ekstrak (Leba, 2017).

Kelebihan dari metode ekstraksi *soxhletasi* dibanding dengan metode yang lain yaitu sampel kontak dengan pelarut yang murni secara berulang-ulang, kemampuan mengekstraksi sampel tidak tergantung pada jumlah pelarut yang banyak (Maretniatin, 2008 dalam Febryanto, 2017). Sedangkan untuk kelemahan dari metode ekstraksi *soxhletasi* adalah dapat menyebabkan terjadinya kerusakan pada *solute* atau komponen lain yang tidak tahan terhadap pemanasan selama proses pemanasan ekstrak yang dilakukan secara terus menerus (Tiwari *et al.*, 2011 dalam Febryanto, 2017).

## (2) Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna (Depkes RI, 2000). Kelebihan dari metode ini adalah padatan yang bertekstur kasar dan tahan terhadap pemanasan langsung dapat diekstraksi dengan menggunakan metode ini. Sedangkan untuk kelemahan dari metode ini adalah membutuhkan banyak pelarut pada proses ekstraksi (Irwan, 2010 dalam Febryanto, 2017).

## (3) Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan (kamar), yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50°C (Depkes RI, 2000).

## (4) Infusa

Infusa adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur 96-98°C) selama waktu tertentu (15-20 menit) (Depkes RI, 2000).

## (5) Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama (~30°C) dan temperatur sampai titik didih air (Depkes RI, 2000).

### 2.3.2 Rendemen

Rendemen merupakan perbandingan dari massa ekstrak yang dihasilkan pada proses ekstraksi dengan berat simplisia bahan baku. Semakin tinggi nilai rendemen yang didapat menunjukkan bahwa ekstrak yang dihasilkan pada suatu proses ekstraksi semakin besar. Nilai rendemen yang diperoleh dari proses ekstraksi dapat dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Jumlah ekstrak yang dihasilkan}}{\text{Jumlah simplisia yang digunakan}} \times 100$$

(Nahor *et al.*, 2020)

### 2.4 Jamur *Candida albicans*

*Candida* telah dikenal dan dipelajari sejak abad ke-18. Pada tahun 1850, Robin mengisolasi jamur ini dari stomatitis (sariawan), yang disebut dengan *oral thrush* pada seorang penderita *thrush fungus* (Komariah dan Sjam, 2012). *Candida albicans* merupakan jamur diploid yang mampu bereproduksi secara seksual, tetapi tidak bermiosis dan merupakan penyebab dari infeksi oportunistik oral dan genital pada manusia. Jamur ini komensal, terdapat pada flora usus dan merupakan organisme terbanyak pada mulut dan saluran pencernaan manusia. Pada kondisi normal, *Candida albicans* hidup pada 80% dari populasi manusia tanpa menimbulkan suatu efek merugikan, tetapi bila terjadi pertumbuhan berlebihan, jamur ini dapat menjadi penyebab penyakit candidiasis (Mustofa dan Handono, 2012).

#### 2.4.1 Klasifikasi Ilmiah *Candida albicans*

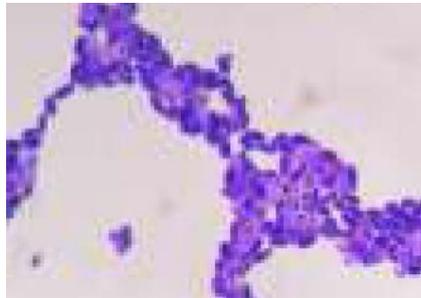
Menurut (Dumilah, 1992 dalam Munawwaroh, 2016), klasifikasi dari *Candida albicans* adalah sebagai berikut:

Divisi	: Thallophyta
Subdivisi	: Fungi
Kelas	: Deuteromycetes
Ordo	: Moniliales
Famili	: Cryptococcaceae
Genus	: <i>Candida</i>
Spesies	: <i>Candida albicans</i>

#### 2.4.2 Morfologi *Candida albicans*

*Candida albicans* merupakan organisme komensal dimorfik dari traktus genitalis dan gastrointestinalis yang merupakan salah satu penyebab terjadinya kandidiasis vulvovaginal pada sekitar 80-90% pasien dengan kultur jamur positif. Jamur ini memiliki bentuk germ tubes, spora, hifa, dan pseudohifa (Mustofa dan Handono, 2012). Sel ragi berbentuk bulat, lonjong, atau bulat lonjong yang memiliki ukuran 2-5  $\mu\text{m}$  x 3-6  $\mu\text{m}$  hingga 2-5,5  $\mu\text{m}$  x 5-28  $\mu\text{m}$ . *C. albicans* tumbuh sekitar 48-72 jam dengan optimum pada pH antara 2,5-7,5 dan suhu berkisar antara 20-38 °C. *Candida albicans* dapat tumbuh dengan baik pada media padat, tetapi pertumbuhannya akan lebih cepat bila pada media cair dengan kondisi pH yang asam (Hartini, 2017). Koloni jamur ini pada medium padat sedikit menimbul dari permukaan media tumbuh dengan permukaanya

yang halus, licin atau berlipat-lipat, berbau seperti ragi, dan berwarna putih kekuningan (Munawwaroh, 2016).



Gambar 2.4 *Candida albicans*  
Pembesaran 100x/1,25  
(Ratnawati, 2016)

Dinding sel *Candida albicans* berfungsi sebagai pelindung dan juga sebagai target dari beberapa antimikotik. Dinding sel berperan pula dalam proses penempelan dan kolonisasi serta bersifat antigenik. Membran sel *Candida albicans* terdiri dari lapisan fosfolipid ganda. Membran protein ini memiliki aktivitas enzim seperti manan sintase, khitin sintase, glukon sintase, ATPase dan protein yang mentranspor fosfat. Membran sterol pada dinding sel *Candida albicans* memegang peranan penting sebagai target antimikotik dan kemungkinan merupakan tempat bekerjanya enzim-enzim yang berperan dalam sintesis dinding sel (Hartini, 2017).

#### **2.4.3 Pertumbuhan dan Reproduksi *Candida albicans***

*Candida albicans* dapat dikembangbiakkan secara invitro selama 2-4 hari pada media tumbuh PDA (*Potato Dextrose Agar*) atau SDA (*Sabouraud Glukosa Agar*) pada temperatur 37°C. Besar kecilnya koloni *Candida albicans* tergantung pada umur dari biakan. Bagian tepi dari koloni jamur ini berupa hifa

semu sebagai benang-benang halus yang masuk ke dalam media, sedangkan pada media cair biasanya jamur ini tumbuh di dasar tabung (Dumilah, 1992 dalam Munawwaroh, 2016).

*C. albicans* berkembang biak dengan cara aseksual, yaitu spora yang dibentuk langsung dari hifa tanpa adanya peleburan inti dengan membentuk tunas. Spora dari jamur ini disebut dengan blastospora (sel ragi). Rangkaian dari blastospora yang bercabang-cabang kemudian membentuk pseudohifa yang membuat jamur ini dikatakan menyerupai ragi atau yeast (Jawetz, 2004 dalam Munawwaroh, 2016).

*Candida albicans* memiliki kemampuan untuk tumbuh menjadi dua bentuk yang berbeda, yaitu sebagai sel yang menghasilkan kecambah yang kemudian akan membentuk hifa semu dan sel tunas yang kemudian akan menjadi blastospora. Waktu generasi *Candida albicans* pada kondisi aerob yaitu 98 menit, sedangkan pada kondisi anaerob memiliki waktu generasi selama 248 menit. Jamur ini dapat tumbuh dengan baik pada media padat, namun kecepatan pertumbuhan *Candida albicans* lebih tinggi pada media cair yang digoyang pada suhu 37°C (Putri, 2013).

## **2.5 Antijamur**

Antijamur merupakan antibiotik yang memiliki kemampuan untuk menghambat hingga membunuh pertumbuhan jamur. Terdapat dua jenis antijamur, yaitu fungistatik dan fungisidal. Fungistatik diartikan sebagai suatu senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan jamur tanpa mematikannya,

sedangkan fungisidal merupakan suatu senyawa yang dapat membunuh pertumbuhan jamur (Mutschler, 1999 dalam Putri, 2018). Menurut Siswandono dan Soekardjo (1995) dalam Hartini (2017), berdasarkan mekanisme kerjanya, antijamur dibagi menjadi empat antara lain:

1) Gangguan pada Membran Sel

Kandungan ergosterol pada sel jamur merupakan komponen sterol yang sangat mudah diserang oleh antibiotik turunan dari polien. Kompleks polien-ergosterol yang terjadi dapat membentuk suatu pori, hal ini menyebabkan kebocoran pada konstituen esensial sel jamur seperti ion K, asam karboksilat, fosfat anorganik, asam amino dan ester fosfat hingga terjadi kematian pada sel jamur. Contohnya yaitu nistatin dan amfoterisin B.

2) Penghambatan Biosintesis Ergosterol dalam Sel Jamur

Penghambatan biosintesis ergosterol dalam sel jamur disebabkan oleh senyawa turunan imidazol karena mampu menimbulkan ketidakaturan membran sitoplasma jamur dengan cara mengubah permeabilitas membran dan mengubah fungsi membran dalam proses pengangkutan senyawa-senyawa esensial yang dapat menyebabkan ketidakseimbangan metabolik sehingga menghambat pertumbuhan atau menimbulkan kematian sel jamur. Contohnya yaitu ketokonazol, mikonazol dan bifonazol, klortimazol.

3) Penghambatan Sintesis Asam Nukleat dan Protein Jamur

Penghambatan sintesis asam nukleat dan protein jamur terjadi karena senyawa turunan pirimidin mampu mengalami metabolisme dalam sel jamur menjadi suatu antimetabolik. Metabolik antagonis tersebut kemudian

bergabung dengan asam ribonukleat dan kemudian menghambat sintesis asam nukleat dan protein jamur.

#### 4) Penghambatan Mitosis Jamur

Penghambatan mitosis jamur terjadi karena adanya senyawa antibiotik griseofulvin yang mampu mengikat protein mikrotubuli dalam sel, kemudian merusak struktur spindle mitotic dan menghentikan metaphase pembelahan sel jamur.

Senyawa metabolit sekunder mempunyai kemampuan sebagai antijamur. Metabolit sekunder merupakan sebagian kecil dari nitrogen, karbon, dan energi yang juga digunakan untuk mensintesis molekul organik yang secara langsung tidak mempunyai peran dalam pertumbuhan dan perkembangan. Pada tumbuhan, metabolit sekunder memiliki sifat yang sangat spesifik dalam hal fungsi dan tidak memiliki peranan yang terlalu penting karena bila tidak diproduksi dalam jangka pendek tidak menyebabkan kematian (Anggraito *et al.*, 2018). Menurut Julianto (2019), senyawa metabolit sekunder yang terkenal diantaranya yaitu alkaloid, polifenol termasuk flavonoid, dan terpenoid.

##### 1) Alkaloid

Alkaloid merupakan salah satu kelompok metabolit sekunder paling penting yang ditemukan pada tumbuhan. Di alam, keberadaan dari alkaloid tidak pernah berdiri sendiri, melainkan berupa campuran dari beberapa alkaloid utama dan beberapa kecil. Kebanyakan alkaloid mempunyai rasa yang pahit, bersifat basa lemah, sedikit larut dalam air, mudah larut dalam alkohol, dan dapat larut di dalam pelarut *non organic* seperti *kloroform*, *dietil*

*eter*, dan lain-lain. Alkaloid mempunyai beberapa warna seperti berberin yang berwarna kuning, dan gamar *sanguinarine* dengan tembaga berwarna merah (Julianto, 2019).

Alkaloid memiliki aktivitas antijamur dengan mekanisme kerja menyisip di antara dinding sel dan DNA, kemudian mencegah terjadinya replikasi DNA pada jamur sehingga pertumbuhan dari jamur akan terganggu (Komala *et al.*, 2020).

## 2) Fenolik

Menurut Julianto (2019), senyawa fenolik merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tumbuhan yang memiliki ciri berupa cincin aromatik yang mengandung satu atau dua gugus hidroksi. Senyawa fenolik terdiri dari beberapa kelompok, yaitu flavonoid sederhana, asam-asam fenolat, flavonoid kompleks, dan antosianin. Senyawa fenolik memiliki peran penting dalam proses-proses lain, seperti atraktan zat yang digunakan untuk mempercepat polinasi, zat warna untuk berkamuflase, aktivitas antibakteri, serta aktivitas antifungi (Julianto, 2019).

Fenol memiliki aktivitas antijamur dengan mekanisme kerja berinteraksi dengan dinding jamur, sehingga terjadi denaturasi protein pada kadar yang rendah dan koagulasi protein pada kadar yang tinggi. Hal ini menyebabkan terjadinya kematian pada sel (Ngazizah *et al.*, 2017). Selain itu, fenol dapat meningkatkan jumlah dari *reactive oxygen species* (ROS) dan menghambat pembentukan hifa dengan cara menargetkan gen TUP 1 yang memiliki peran dalam pembentukan hifa pada jamur *Candida albicans* (Arifin *et al.*, 2018).

### 3) Flavonoid

Senyawa flavonoid merupakan senyawa yang paling besar di dalam golongan fenolik alam. Senyawa flavonoid mempunyai sifat-sifat khas di alam bentuk terikat dengan gula, terutama dengan gula sederhana seperti glukosa, ramnosa, galaktosa, dan gula sederhana lainnya. Flavonoid masuk dalam golongan senyawa. Hal ini dikarenakan senyawa ini memiliki sejumlah gugus hidroksi, sehingga akan larut dalam pelarut polar seperti air, metanol, etanol, butanol, etil asetat, aseton, dimetil sulfoksida, dan dimetilformamida (Ilyas, 2013).

Flavonoid memiliki aktivitas antijamur dengan mekanisme kerja mengganggu permeabilitas membran sel jamur. Gugus hidroksil pada flavonoid menyebabkan perubahan pada komponen organik dan transportasi nutrisi yang akhirnya mengakibatkan terjadinya efek toksik terhadap jamur. Selain itu, flavonoid dapat menghambat transpor elektron pada mitokondria yang akhirnya dapat mengakibatkan pengurangan potensial membran pada mitokondria dengan melalui penghambatan proton di dalam rantai pernafasan yang menyebabkan terjadinya penurunan produksi ATP dan pada akhirnya menyebabkan kematian sel jamur berikutnya (Komala *et al.*, 2020).

### 4) Tanin

Tanin merupakan suatu senyawa fenolik yang memberikan efek rasa pahit dan kelat/sepat. Senyawa ini dapat bereaksi dan menggumpalkan protein atau senyawa organik lain yang memiliki kandungan alkaloid dan asam amino. Senyawa ini memiliki peran penting sebagai pelindung tumbuhan dari

pemangsa seperti herbivora dan hama, serta sebagai agen pengatur di dalam metabolisme suatu tumbuhan (Julianto, 2019).

Tanin memiliki sifat lipofilik yang menyebabkan tanin mudah terikat pada dinding sel jamur. Tanin memiliki aktivitas antijamur dengan mekanisme kerja menghambat terjadinya sintesis kitin yang digunakan untuk membentuk dinding sel jamur dan merusak membran sel jamur sehingga pertumbuhan pada jamur terhambat (Komala *et al.*, 2020). Selain itu tanin juga dapat menghambat biosintesis ergosterol yang merupakan sterol utama dalam susunan membran sel jamur (Arifin *et al.*, 2018).

#### 5) Terpenoid

Menurut Ilyas (2013), terpenoid merupakan salah satu dari golongan senyawa metabolit sekunder terbesar dan paling beragam dari bahan alam. Senyawa ini, seringkali memberikan bau yang kuat, hal ini digunakan untuk melindungi tanaman dari herbivora dan predator. Senyawa ini merupakan komponen utama minyak atsiri yang berasal dari beberapa jenis tumbuhan dan bunga (Julianto, 2019).

Sintesis kelompok terpen melalui jalur asam mevalonat dan metileritritol fosfat. Senyawa terpenoid memiliki aktivitas antimikroba, antivirus, antijamur, antihiperqlikemik, antiparasit, antialergenik, antipasmodik antiradang, kemoterapik, imunomodulator, dan lain-lain (Anggraito *et al.*, 2018).

Terpenoid memiliki aktivitas antijamur dengan mekanisme kerja menurunkan permeabilitas dari membran sel mikroorganisme, hal ini dikarenakan senyawa yang terdapat pada terpenoid dapat berikatan dengan

molekul lipid dan protein yang akhirnya dapat mempengaruhi fungsi fisiologis dari protein membran sel dan protein enzim (Komala *et al.*, 2020).

## **2.6 Uji Antimikroba**

Uji senyawa antimikroba adalah uji untuk mengetahui apakah suatu senyawa uji dapat menghambat pertumbuhan mikroba dengan mengukur respon pertumbuhan populasi mikroorganisme terhadap agen antimikroba (Pratiwi, 2008 dalam Hartini, 2017).

Terdapat beberapa metode uji antimikroba diantaranya yaitu metode difusi dan metode dilusi. Metode difusi merupakan salah satu metode yang sering digunakan dalam uji antimikroba. Metode difusi dapat dilakukan dengan tiga cara yaitu metode silinder, lubang dan cakram kertas. Metode silinder yaitu meletakkan beberapa silinder yang terbuat dari gelas atau besi tahan karat di atas media agar yang telah diinokulasi dengan jamur. Tiap silinder ditempatkan sedemikian rupa hingga berdiri di atas media agar, diisi dengan larutan yang akan diuji dan inkubasi. Metode lubang yaitu membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi dengan jamur. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian lubang diisi dengan larutan yang akan diuji. Metode cakram kertas yaitu meletakkan cakram kertas yang telah direndam larutan uji di atas media padat yang telah diinokulasi dengan jamur (Kusmiyati, 2007 dalam Hartini, 2017).

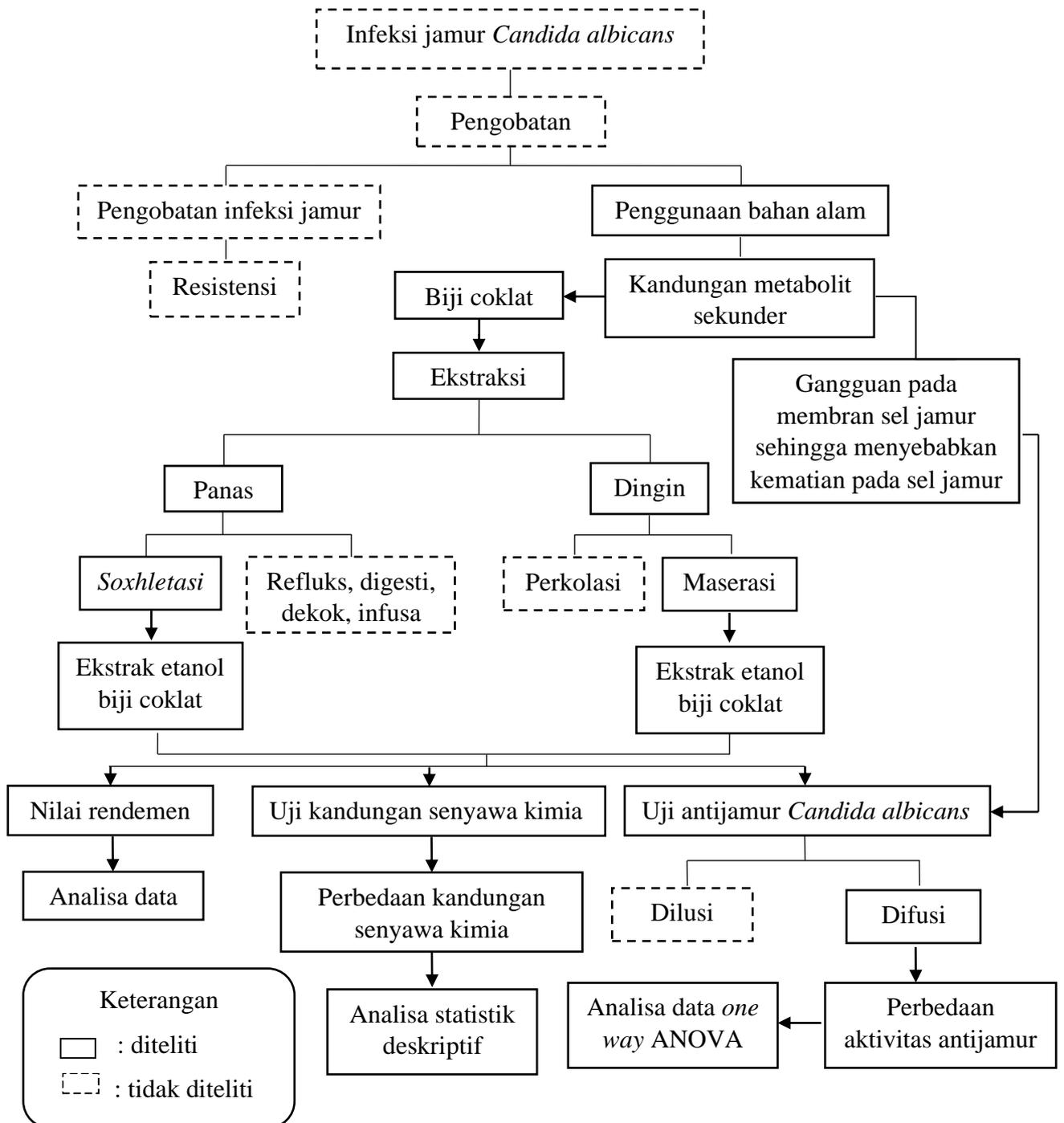
Metode dilusi dibuat dengan cara larutan uji diencerkan hingga diperoleh beberapa konsentrasi, kemudian dari masing-masing konsentrasi larutan uji

ditambahkan suspensi jamur dalam media. Pada dilusi padat, setiap konsentrasi larutan uji dicampurkan ke dalam media agar. Setelah padat kemudian ditanam jamur (Hugo dan Russel, 1987 dalam Hartini, 2017).

Metode dilusi biasanya digunakan untuk menentukan kadar hambat minimum dan kadar bunuh minimum dari bahan antimikroba. Pada prinsipnya metode dilusi menggunakan satu seri tabung reaksi yang diisi medium cair dan sejumlah tertentu sel mikroba yang diuji. Selanjutnya masing-masing tabung diisi dengan bahan antimikroba yang telah diencerkan secara serial, kemudian seri tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam dan diamati terjadinya kekeruhan konsentrasi terendah bahan antimikroba pada tabung yang ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih. Biakan dari semua tabung yang jernih ditumbuhkan pada medium agar padat, diinkubasi selama 24 jam dan diamati ada tidaknya koloni jamur yang tumbuh. Konsentrasi terendah bahan antimikroba pada biakan medium padat yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan jamur merupakan konsentrasi bunuh minimum bahan antimikroba terhadap jamur uji (Tortora *et al*, 2001 dalam Hartini, 2017).

## BAB 3 KERANGKA KONSEP

### 3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Kerangka Konsep

### 3.2 Hipotesis Penelitian

H<sub>0</sub>: Tidak ada pengaruh dari metode ekstraksi maserasi dan ekstraksi *soxhletasi* ekstrak biji coklat terhadap nilai rendemen, kandungan senyawa kimia, dan aktivitas antijamur *Candida albicans*.

H<sub>1</sub>: Ada pengaruh dari metode ekstraksi maserasi dan ekstraksi *soxhletasi* ekstrak biji coklat terhadap nilai rendemen, kandungan senyawa kimia dan aktivitas antijamur *Candida albicans*.

## BAB 4 METODE PENELITIAN

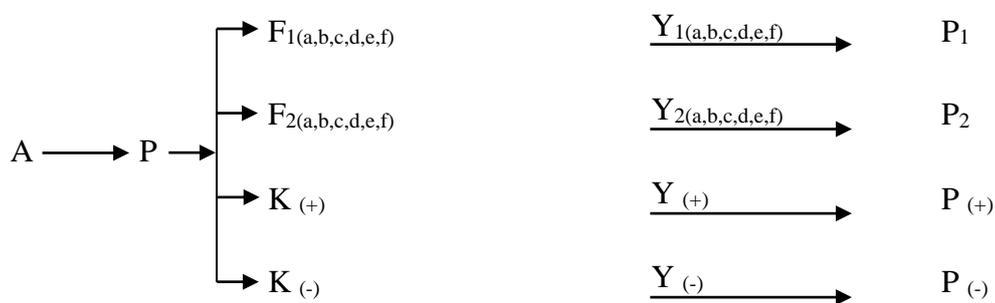
### 4.1 Desain Penelitian

#### 4.1.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini termasuk dalam jenis penelitian *True Experimental Laboratoris*.

#### 4.1.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan pada penelitian ini yaitu *Posttest-Only Control Group* dengan skema yang tertera sebagai berikut:



Gambar 4.1 Skema Rancangan Penelitian Aktivitas Antijamur

Keterangan:

A : Suspensi jamur *Candida albicans*

P : Media *Potato Dextrose Agar* (PDA)

F<sub>1-2</sub> : Berturut-turut kelompok perlakuan 1 dan 2

K<sub>(+)</sub> : Kelompok kontrol positif (Nistatin)

K<sub>(-)</sub> : Kelompok kontrol negatif (*Aquadest*)

Y<sub>1-2</sub> : Berturut-turut perlakuan berupa kontak dengan ekstrak pada konsentrasi 50% dan 25% (b/v)

Y<sub>(+)</sub> : Perlakuan berupa kontak dengan kontrol positif (Nistatin)

- Y (-) : Perlakuan berupa kontak dengan kontrol negatif (*Aquadest*)
- P<sub>1-2</sub> : Berturut-turut data perlakuan dengan ekstrak pada konsentrasi 50% dan 25% (b/v) selama inkubasi (24 jam)
- P (+) : Data perlakuan dengan kontrol positif (nistatin) selama inkubasi (24 jam)
- P (-) : Data perlakuan dengan kontrol negatif (*Aquadest*) selama inkubasi (24 jam)
- a : Ekstrak etanol 70% hasil metode ekstraksi maserasi (replikasi 1)
  - b : Ekstrak etanol 70% hasil metode ekstraksi maserasi (replikasi 2)
  - c : Ekstrak etanol 70% hasil metode ekstraksi maserasi (replikasi 3)
  - d : Ekstrak etanol 70% hasil metode ekstraksi *soxhletasi* (replikasi 1)
  - e : Ekstrak etanol 70% hasil metode ekstraksi *soxhletasi* (replikasi 2)
  - f : Ekstrak etanol 70% hasil metode ekstraksi *soxhletasi* (replikasi 3)

## 4.2 Populasi dan Sampel

### 4.2.1 Populasi

Populasi merupakan wilayah generalisasi yang terdiri atas objek/subyek yang mempunyai kualitas dan karakteristik tertentu yang ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari dan kemudian ditarik kesimpulannya (Garaika dan Darmanah, 2019). Populasi dalam penelitian ini adalah tanaman coklat (*Theobroma cacao L.*) yang diambil dari Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia yang berada di Kebun Renteng, Kecamatan Jenggawah, Kabupaten Jember, Jawa Timur.

#### **4.2.2 Sampel**

Sampel merupakan bagian dari jumlah dan karakteristik yang dimiliki oleh populasi tersebut (Garaika dan Darmanah, 2019). Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak biji coklat (*Theobroma cacao L.*).

#### **4.3 Variabel Penelitian**

Variabel penelitian adalah suatu atribut atau sifat atau nilai dari orang, objek, atau kegiatan yang mempunyai variasi tertentu yang ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari dan kemudian ditarik kesimpulannya (Sugiyono, 2013). Variabel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu variabel bebas, variabel terikat, dan variabel kontrol. Adapun penjelasannya sebagai berikut:

1. Variabel bebas adalah variabel yang mempengaruhi atau yang menjadi sebab perubahannya atau timbulnya variabel terikat (Sugiyono, 2013). Variabel bebas dalam penelitian ini adalah metode ekstraksi yang digunakan, yaitu metode ekstraksi maserasi dan metode ekstraksi *soxhletasi*.
2. Variabel terikat adalah variabel yang dipengaruhi atau yang menjadi akibat karena adanya variabel bebas (Sugiyono, 2013). Variabel terikat dari penelitian ini adalah nilai rendemen ekstrak biji coklat, kandungan senyawa kimia dan aktivitas antijamur *Candida albicans*.

#### **4.4 Tempat Penelitian**

Tempat penelitian dilakukan di Laboratorium Terpadu Universitas dr. Soebandi.

#### **4.5 Waktu Penelitian**

Waktu penelitian dilakukan pada rentan waktu bulan Juni-Agustus 2022.

## 4.6 Definisi Operasional

Tabel 4.1 Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi	Alat Ukur	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala Data
1.	Rendemen ekstrak biji coklat ( <i>Theobroma cacao L.</i> )	Hasil dari perbandingan dari bobot ekstrak yang dihasilkan pada proses ekstraksi dengan berat simplisia bahan baku.	Neraca analitik	Menghitung persentase bobot (b/b) antara ekstrak yang dihasilkan dengan bobot serbuk simplisia yang digunakan	Nilai rendemen %	Rasio
2.	Kandungan senyawa kimia	Hasil dari uji kandungan senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid, fenol, flavonoid, tanin, dan terpenoid	Tabung reaksi dan pipet tetes	Menambahkan reagen sesuai senyawa yang akan diuji	Terbentuknya warna atau endapan yang terbentuk pada uji kandungan metabolit sekunder ekstrak biji coklat	Nominal
3.	Aktivitas antijamur	Daerah di sekeliling <i>paper disc</i> yang tidak ditemukan adanya pertumbuhan <i>Candida albicans</i>	Jangka sorong	Mengukur diameter zona hambat pada area jernih di sekitar piringan	Diameter zona hambat (mm)	Rasio

## **4.7 Teknik Pengumpulan Data**

### **4.7.1 Determinasi Tumbuhan**

Determinasi tumbuhan merupakan proses membandingkan suatu tumbuhan dengan mempelajari sifat morfologi tumbuhan tersebut, kemudian membandingkan atau mempersamakan ciri-ciri tumbuhan tersebut dengan tumbuhan lainnya yang sebelumnya telah diketahui identitasnya (INHERENT USU, 2006). Determinasi biji coklat (*Theobroma cacao L.*) dilakukan di Politeknik Negeri Jember.

### **4.7.2 Pembuatan Serbuk Simplisia Biji Coklat**

Biji buah coklat dibersihkan dari pulpa biji. Setelah bersih, biji coklat kemudian dikeringkan dengan menggunakan mesin selama  $\pm$  4-5 hari dengan suhu 40°C-50°C. Setelah kering, biji coklat dihaluskan dengan blender (Puslit Kopi dan Kakao, 2022).

### **4.7.3 Ekstraksi Metode Maserasi**

Sebanyak 50 gram serbuk biji coklat dimasukkan ke dalam maserator, kemudian ditambahkan 500 mL pelarut etanol 70% (1:10). Perendaman dilakukan selama 6 jam pertama sambil sesekali diaduk, kemudian didiamkan kembali selama 18 jam. Setelah itu, hasil maserasi disaring, lalu dilakukan pemekatan filtrat dengan menggunakan mesin *rotary evaporator* untuk memisahkan pelarut dengan ekstrak biji coklat hingga diperoleh ekstrak kental (Sepriyani, 2020; Pratiwi, 2013). Dilakukan replikasi sebanyak 4 kali.

#### **4.7.4 Ekstraksi Metode Soxhletasi**

Dilakukan pemasangan pada alat *soxhletasi*. Sebanyak 50 gram serbuk biji coklat dibungkus dengan kertas saring, kemudian diikat dengan benang. Setelah itu, serbuk yang telah terbungkus kertas saring dimasukkan ke dalam timbel pada soklet. *Soxhletasi* dilakukan pada suhu 70°C sampai tetesan siklus tidak berwarna lagi. Ekstrak cair yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak kental (Puspitasari, 2017; Pratiwi, 2013). Dilakukan replikasi sebanyak 4 kali.

#### **4.7.5 Defatting Lemak Ekstrak Biji Coklat**

Sebanyak 1 gram ekstrak etanol 70% biji coklat pekat dilarutkan dalam 10 mL etanol 50%, setelah larut ditambahkan pelarut n-heksana sebanyak 10 mL kemudian dikocok. Setelah itu, hasil *defatting* ekstrak biji coklat dipekatkan kembali (Wulandari, 2013).

#### **4.7.6 Pengenceran Ekstrak Biji Coklat**

Pada penelitian ini, konsentrasi ekstrak biji coklat yang digunakan berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Sepriyani (2020), yaitu 50% dan 25%. Sebanyak 0,5 gram ekstrak *defatting* biji coklat ditimbang, kemudian dilarutkan dalam *aquadest* steril 1 mL sehingga didapatkan konsentrasi 50%. Sebanyak 0,25 gram ekstrak *defatting* biji coklat ditimbang, kemudian dilarutkan dalam *aquadest* steril 1 mL sehingga didapatkan konsentrasi 25%.

#### **4.7.7 Kontrol Positif dan Kontrol Negatif**

Kontrol positif yang digunakan pada penelitian ini yaitu suspensi nistatin 100.000 IU/mL, sedangkan untuk kontrol negatif yang digunakan yaitu *aquadest*

steril. Sebanyak 20  $\mu$ L dari masing-masing kontrol positif dan kontrol negatif diambil menggunakan mikropipet kemudian diteteskan di atas *paper disk* (Liliany, 2018).

#### 4.7.8 Skrining Fitokimia

##### 1) Uji Fenol

Sebanyak 1 mL ekstrak ditambahkan 3-4 tetes  $\text{FeCl}_3$ . Terjadinya perubahan warna menjadi hitam kebiruan hingga hitam pekat menunjukkan adanya kandungan fenol (Manongko *et al*, 2020).

##### 2) Uji Tanin

Sebanyak 1 mL ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian, ditambahkan dengan 5 mL air panas, dan ditetesi dengan  $\text{FeCl}_3$  1%. Terbentuknya warna hijau kehitaman menunjukkan adanya kandungan tanin (Manongko *et al*, 2020).

##### 3) Uji Flavonoid

Sebanyak 1 mL ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan etanol sebanyak 5 mL, setelah itu dilakukan pemanasan  $\pm 5$  menit dan ditambahkan HCl pekat sebanyak 5 tetes dan serbuk Mg. Sehingga terbentuknya warna hitam kemerahan, kuning atau jingga menunjukkan hasil positif flavonoid (Septia *et al.*, 2020).

##### 4) Uji Alkaloid

Sebanyak 0,5 gram ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan kloroform sebanyak 2 mL, amonia sebanyak 10 mL serta 10 tetes  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Campuran dikocok dan dibiarkan hingga

membentuk dua lapisan. Lapisan  $H_2SO_4$  yang terbentuk dipindahkan dalam tiga tabung reaksi dengan volume masing-masing tabung 2,5 mL. Ketiga larutan diuji dengan pereaksi *Dragendorf*, dan *Wagner*. Hasil positif pereaksi *Dragendorf* terdapat endapan berwarna merah atau jingga sedangkan untuk pereaksi *Wagner* terdapat endapan berwarna coklat (Septia *et al.*, 2020).

#### 5) Uji Terpenoid

Sebanyak 1 mL ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan  $H_2SO_4$  pekat sebanyak 3-4 tetes. Larutan dikocok perlahan dan dibiarkan beberapa menit. Warna merah kecoklatan sampai ungu menunjukkan hasil positif uji terpenoid (Septia *et al.*, 2020).

### 4.7.9 Sterilisasi Alat dan Bahan

Hal yang perlu dilakukan sebelum melakukan sterilisasi yaitu dengan membungkus semua peralatan yang akan digunakan dengan kertas sampul coklat. Setelah itu, alat dan bahan yang akan digunakan dimasukkan ke dalam autoklaf pada suhu  $121^\circ C$  dengan tekanan 1,5 Psi (*Per square inchi*) selama 15 menit. Alat-alat yang tidak tahan pemanasan tinggi disterilisasi dengan etanol 70% (Munawwaroh, 2016).

#### 4.7.10 Pembuatan Media Tumbuh

Sebanyak 9,75 gram media PDA (*Potato Dextrose Agar*) ditimbang kemudian dilarutkan dalam 250 mL *aquadest*. Keduanya diaduk hingga larut sempurna. Setelah larut dengan sempurna, disterilkan di dalam autoklaf pada suhu  $121^\circ C$  selama 15 menit (Fadli, 2017; Hartini, 2017).

#### **4.7.11 Peremajaan Jamur *Candida albicans***

Satu koloni jamur *Candida albicans* diambil menggunakan jarum ose steril, kemudian dioleskan secara merata pada media PDA, setelah itu dilakukan inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Hartini, 2017).

#### **4.7.12 Pembuatan Standar Kekeruhan 0,5 *McFarland***

*McFarland* merupakan penyetaraan dari konsentrasi mikroba dengan menggunakan larutan BaCl<sub>2</sub> 1% dan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1%. Hal ini dimaksudkan untuk menggantikan perhitungan bakteri satu per satu, selain itu standar kekeruhan *McFarland* digunakan untuk memperkirakan kepadatan sel yang akan digunakan pada proses pengujian antimikroba (Arniati *et al.*, 2015).

Standar kekeruhan yang paling umum digunakan di laboratorium mikrobiologi klinis adalah standar 0,5 *McFarland*, yang ditentukan untuk pengujian kerentanan antimikroba dan pengujian media kultur. Sebanyak 0,05 mL larutan BaCl<sub>2</sub> 1% dipipet dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril, kemudian ditambahkan larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1% sebanyak 9,95 mL lalu dihomogenkan (Simpson *et al.*, 2014).

#### **4.7.13 Pembuatan Suspensi *Candida albicans***

Kultur murni dari jamur *Candida albicans* yang sebelumnya telah dilakukan peremajaan diambil dengan menggunakan ose tumpul yang telah dipijarkan terlebih dahulu, kemudian disuspensikan ke dalam 10 mL larutan salin steril, kemudian dilakukan homogenisasi dengan menggunakan *vortex*. Suspensi *Candida albicans* kemudian dibandingkan nilai absorbansinya dengan standar kekeruhan 0,5 *McFarland* menggunakan spektrofotometer dengan Panjang

gelombang 625 nm untuk mendapatkan suspensi inokulum sesuai dengan standar (Jalianto, 2015).

#### **4.7.14 Penentuan Aktivitas Antijamur dengan Metode Difusi Cakram**

Media PDA dituangkan ke dalam cawan petri steril. Setelah media PDA memadat, kemudian 100  $\mu$ L inokulum fungi uji dipipet menggunakan mikropipet lalu dimasukkan ke dalam cawan petri. Secara perlahan inokulum jamur diratakan menggunakan batang L hingga rata pada permukaan media. Setelah itu, *blank disc* diletakkan di atas media PDA yang telah terdapat inokulum jamur lalu ditetaskan dengan larutan ekstrak etanol biji coklat dengan konsentrasi 50%; dan 25%; kontrol positif (nistatin); dan kontrol negatif (*aquadest* steril) sebanyak 20  $\mu$ L menggunakan mikropipet. Setelah itu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Kemudian diukur diameter daerah hambatan pertumbuhan di sekitar kertas cakram dengan menggunakan jangka sorong (Hartini, 2017; Sepriyani, 2020). Replikasi dilakukan sebanyak 3 kali.

#### **4.8 Teknik Analisa Data**

Data yang diperoleh dalam penelitian diolah menggunakan uji statistik SPSS yang digunakan untuk menganalisa nilai rendemen dan aktivitas antijamur *Candida albicans*, serta analisa statistik deskriptif yang digunakan untuk menganalisa kandungan senyawa kimia.

## BAB 5 HASIL PENELITIAN

### 5.1 Determinasi Tanaman

Hasil determinasi yang dilakukan di UPT Pengembangan Pertanian Terpadu, Politeknik Negeri Jember menunjukkan bahwa biji yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji coklat (*Theobroma cacao L.*). Hasil dari determinasi dapat dilihat pada lampiran 1.

### 5.2 Ekstraksi Maserasi dan Soxhletasi

Berdasarkan hasil ekstraksi biji coklat menggunakan metode maserasi dan *soxhletasi* dengan replikasi 4 kali didapatkan rata-rata ekstrak kental maserasi sebesar 4,68 gram dengan rata-rata rendemen sebesar 9,36%, sedangkan pada metode ekstraksi *soxhletasi* didapatkan rata-rata ekstrak kental sebesar 5,1075 gram dengan rata-rata rendemen sebesar 10,215%. Hasil dari ekstraksi biji coklat dengan menggunakan metode maserasi dan *soxhletasi* ditunjukkan pada tabel di bawah ini:

Tabel 5.1 Hasil Ekstraksi Biji Coklat

Replikasi	Ekstrak kental (gram)		Rendemen (%)	
	Maserasi	<i>Soxhletasi</i>	Maserasi	<i>Soxhletasi</i>
1	4,45	5,06	8,9	10,12
2	5,22	5,12	10,44	10,24
3	4,58	5,16	9,16	10,32
4	4,47	5,09	8,94	10,18
Rata-Rata±SD	4,68±0,366	5,1075±0,043	9,36±0,729	10,215±0,085

### 5.3 Skrining Fitokimia

Hasil skrining fitokimia yang diperoleh dari ekstraksi maserasi dan *soxhletasi* biji coklat dengan pelarut etanol 70% menunjukkan bahwa pada masing-masing metode ekstraksi yang digunakan mengandung senyawa kimia berupa fenol, tanin, flavonoid, alkaloid, dan terpenoid. Hasil dari identifikasi kandungan senyawa kimia yang terdapat pada ekstrak biji coklat dengan menggunakan metode maserasi dan *soxhletasi* dapat dilihat pada tabel di bawah ini:

Tabel 5.2 Hasil Skrining Fitokimia Biji Coklat Dengan Metode Maserasi

Senyawa	Pereaksi	Hasil Menurut Literatur	Hasil Pengamatan				Kesimpulan
			M1	M2	M3	M4	
Fenol	FeCl <sub>3</sub>	Perubahan warna menjadi hitam kebiruan hingga hitam pekat (Manongko <i>et al.</i> , 2020)	+	+	+	+	Hitam kebiruan
Tanin	<i>Aquadest</i> dan FeCl <sub>3</sub> 1%	Perubahan warna menjadi hijau kehitaman (Manongko <i>et al.</i> , 2020)	+	+	+	+	Hijau kehitaman
Flavonoid	HCl dan serbuk Mg	Perubahan warna menjadi hitam kemerahan, kuning, atau jingga (Septia <i>et al.</i> , 2020)	+	+	+	+	Jingga
Alkaloid	<i>Dragendorff</i>	Terbentuknya endapan berwarna merah atau jingga (Septia <i>et al.</i> , 2020)	+	+	+	+	Endapan merah
	<i>Wagner</i>	Terbentuknya endapan berwarna coklat (Septia <i>et al.</i> , 2020)	+	+	+	+	Endapan coklat
Terpenoid	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Perubahan warna menjadi merah kecoklatan sampai ungu (Septia <i>et al.</i> , 2020)	+	+	+	+	Merah kecoklatan

Keterangan: (+) mengandung senyawa kimia

Tabel 5.3 Hasil Skrining Fitokimia Biji Coklat Dengan Metode *Soxhletasi*

Senyawa	Pereaksi	Hasil Menurut Literatur	Hasil Pengamatan				Kesimpulan
			M1	M2	M3	M4	
Fenol	FeCl <sub>3</sub>	Perubahan warna menjadi hitam kebiruan hingga hitam pekat (Manongko <i>et al.</i> , 2020)	+	+	+	+	Hitam kebiruan
Tanin	<i>Aquadest</i> dan FeCl <sub>3</sub> 1%	Perubahan warna menjadi hijau kehitaman (Manongko <i>et al.</i> , 2020)	+	+	+	+	Hijau kehitaman

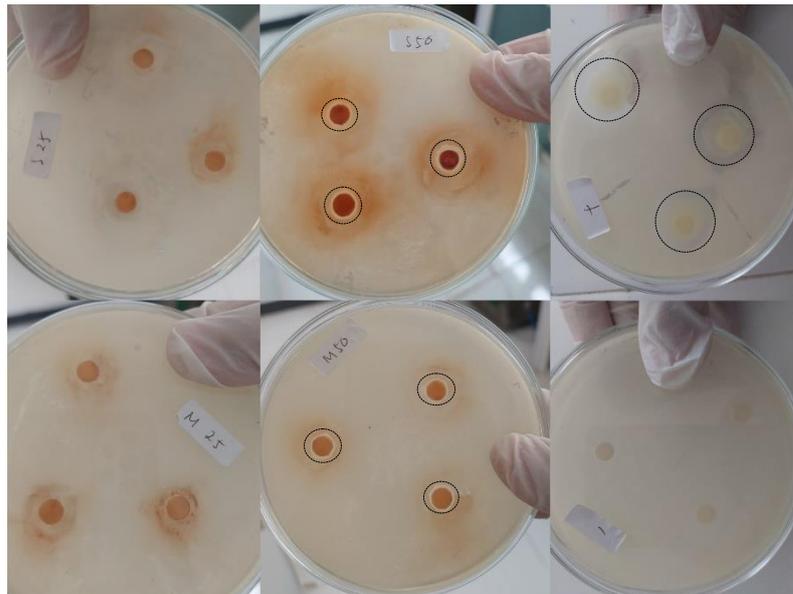
Flavonoid	HCl dan serbuk Mg	Perubahan warna menjadi hitam kemerahan, kuning, atau jingga (Septia <i>et al.</i> , 2020)	+	+	+	+	Jingga
Alkaloid	<i>Dragendorff</i>	Terbentuknya endapan berwarna merah atau jingga (Septia <i>et al.</i> , 2020)	+	+	+	+	Endapan merah
	<i>Wagner</i>	Terbentuknya endapan berwarna coklat (Septia <i>et al.</i> , 2020)	+	+	+	+	Endapan coklat
Terpenoid	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Perubahan warna menjadi merah kecoklatan sampai ungu (Septia <i>et al.</i> , 2020)	+	+	+	+	Merah kecoklatan

Keterangan: (+) mengandung senyawa kimia

#### 5.4 Uji Antijamur

Sebelum dilakukan uji antijamur pada media tumbuh, terlebih dahulu dilakukan uji kekeruhan suspensi *Candida albicans* menggunakan standar *McFarland* 0,5 dengan alat spektrofotometer. Hasil uji kekeruhan suspensi jamur *Candida albicans* dengan menggunakan standar *McFarland* 0,5 menghasilkan absorbansi 0,129 untuk standar *McFarland* 0,5 dan absorbansi 0,100 untuk suspensi jamur *Candida albicans*. Hasil dari uji kekeruhan dapat dilihat pada lampiran 2.

Hasil uji antijamur biji coklat terhadap jamur *Candida albicans* menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji coklat dapat menghambat pertumbuhan dari jamur *Candida albicans*. Hasil uji antijamur ekstrak etanol biji coklat dapat dilihat pada gambar 5.7.



Gambar 5.7 Hasil Uji Antijamur

Hasil uji antijamur pada metode ekstraksi *soxhletasi* dengan konsentrasi 50% menghasilkan daya hambat yang lebih luas dibandingkan dengan daya hambat pada metode ekstraksi maserasi dengan konsentrasi 50%. Zona hambat yang terbentuk pada metode ekstraksi *soxhletasi* memiliki nilai rata-rata sebesar 2,217 mm, sedangkan zona hambat yang terbentuk pada metode ekstraksi maserasi memiliki rata-rata sebesar 1,350 mm. Pada uji antijamur biji coklat menggunakan metode maserasi konsentrasi 25% dan *soxhletasi* 25% tidak menghasilkan zona hambat. Hasil pengukuran zona hambat yang terbentuk untuk masing-masing metode ekstraksi dapat dilihat pada tabel 5.4.

Tabel 5.4 Hasil Pengukuran Zona Hambat Jamur (mm)

Replikasi	Diameter Zona Hambat (mm)				K+	K-
	Maserasi		<i>Soxhletasi</i>			
	50%	25%	50%	25%		
1	1,75	0	2,79	0	16,7	0
2	1,23	0	2,03	0	15,8	0
3	1,07	0	1,83	0	13,63	0
Rata-rata±SD	1,350±0,356	0±0	2,217±0,506	0±0	15,377±1,578	0±0

Keterangan: K+ = Nistatin

K- = *Aquadest* Steril

## 5.5 Analisa Data

### 5.4.1 Analisa Data Nilai Rendemen Biji Coklat

Hasil uji normalitas dan homogenitas tidak memenuhi syarat uji t, sehingga selanjutnya dilakukan uji non parametrik *Mann Whitney*. Hasil dari uji normalitas dan homogenitas dapat dilihat pada tabel 5.5.

Tabel 5.5 Hasil Uji Normalitas dan Homogenitas

Variabel	Uji Normalitas ( <i>Shapiro Wilk</i> )	Kesimpulan	Uji Homogenitas ( <i>Levene</i> )	Kesimpulan
Rendemen Maserasi	0,04	Tidak normal	0,046	Tidak homogen
Rendemen <i>Soxhletasi</i>	0,97	Normal	0,046	Tidak homogen

Hasil dari uji non parametrik *Mann Whitney* didapatkan nilai sig. sebesar 0,248, hal ini memiliki arti bahwa tidak terdapat perbedaan nilai % rendemen yang signifikan antara metode maserasi dan *soxhletasi*. Hasil uji *Mann Whitney* dapat dilihat pada tabel 5.6.

Tabel 5.6 Hasil Uji *Mann Whitney*

Hasil Uji <i>Mann Whitney</i>	
sig	0,248

### 5.4.2 Analisa Data Hasil Uji Antijamur

Pada uji asumsi *one way* ANOVA, hasil dari uji normalitas (*Shapiro wilk*) menunjukkan bahwa data telah memenuhi asumsi *one way* ANOVA, akan tetapi pada uji homogenitas menunjukkan bahwa data tidak homogen sehingga tidak memenuhi syarat uji *one way* ANOVA. Maka dari itu, selanjutnya dilakukan uji non parametrik *Kruskall Wallis*. Hasil uji asumsi ANOVA dapat dilihat pada tabel 5.7.

Tabel 5.7 Hasil Uji Asumsi ANOVA

Variabel	Uji Normalitas (Shapiro Wilk)	Kesimpulan	Asumsi ANOVA	Uji Homogenitas	Kesimpulan	Asumsi ANOVA
Maserasi 50%	0,433	Normal	Memenuhi	0,003	Tidak homogen	Tidak memenuhi
Maserasi 25%	-	-	-	-	-	-
Soxhletasi 50%	0,380	Normal	Memenuhi	0,003	Tidak homogen	Tidak memenuhi
Soxhletasi 25%	-	-	-	-	-	-
Kontrol +	0,552	Normal	Memenuhi	0,003	Tidak homogen	Tidak memenuhi
Kontrol -	-	-	-	-	-	-

Hasil dari uji non parametrik *Kruskall Wallis* didapatkan nilai sig. sebesar 0,005, hal ini memiliki arti bahwa terdapat perbedaan secara signifikan pada tiap perlakuan. Hasil uji *Kruskall Wallis* dapat dilihat pada tabel di bawah ini.

Tabel 5.8 Hasil Uji *Kruskall Wallis*

Hasil Uji <i>Kruskall Wallis</i>	
sig	Uji signifikan
0,005	Berbeda secara signifikan

Selanjutnya dilakukan uji lanjut duncan untuk mengetahui lebih lanjut mengenai kelompok yang memiliki perbedaan secara signifikan. Hasil uji duncan dapat dilihat pada tabel di bawah ini.

Tabel 5.9 Hasil Uji Duncan

Perlakuan	N	Duncan <sup>a</sup>		
		Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Maserasi 25%	3	0,0000		
Soxhletasi 25%	3	0,0000		
Kontrol - ( <i>Aquadest Steril</i> )	3	0,0000		
Maserasi 50%	3		1,3500	
Soxhletasi 50%	3		2,2167	
Kontrol + ( <i>Nistatin</i> )	3			15,3767
Sig.		1,000	0,151	1,000

## BAB 6 PEMBAHASAN

### 6.1 Ekstraksi Maserasi dan *Soxhletasi*

Ekstraksi merupakan suatu metode pemisahan kimia yang bertujuan untuk menarik atau memisahkan satu atau lebih komponen atau senyawa dari suatu sampel dengan menggunakan pelarut tertentu (Leba, 2017). Pada penelitian kali ini metode ekstraksi yang dipilih yaitu maserasi dan *soxhletasi*. Metode ekstraksi maserasi memiliki beberapa keuntungan seperti tidak membutuhkan peralatan yang khusus dan senyawa yang mudah rusak terhadap pemanasan akan tetap terjaga, sedangkan kelebihan dari metode ekstraksi *soxhletasi* yaitu lebih ekonomis, dan pelarut yang digunakan cenderung lebih sedikit.

Etanol 70% dipilih sebagai pelarut dalam proses ekstraksi maserasi dan *soxhletasi*, hal ini dikarenakan menurut Syender (1997), etanol merupakan suatu pelarut universal yang dapat menarik senyawa-senyawa kimia yang dapat larut dalam pelarut polar hingga non polar. Selain itu, menurut penelitian yang dilakukan oleh Suhendra *et al* (2019) menunjukkan bahwa ekstraksi menggunakan pelarut etanol 70% menghasilkan rendemen dan kandungan senyawa kimia tertinggi seperti fenol, dan flavonoid dibandingkan pelarut etanol dengan konsentrasi 40%, 50%, 60%, 80%, dan 90%.

Hasil yang diperoleh dari ekstraksi biji coklat menggunakan metode maserasi dan *soxhletasi* menunjukkan adanya perbedaan pada hasil ekstrak kental dan rendemen. Pada ekstraksi biji coklat menggunakan metode maserasi menghasilkan rata-rata ekstrak kental sejumlah 4,68 gram dengan rata-rata rendemen 9,36%, sedangkan pada ekstraksi biji coklat menggunakan metode

*soxhletasi* menghasilkan rata-rata ekstrak kental sejumlah 5,1075 gram dengan rata-rata rendemen 10,215%. Nilai rendemen yang diperoleh sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Nahor *et al* (2020) dengan nilai rendemen dengan metode ekstraksi *soxhletasi* lebih tinggi dibandingkan dengan metode ekstraksi maserasi. Semakin tinggi nilai rendemen suatu ekstrak maka semakin tinggi pula kandungan senyawa kimia yang tertarik pada suatu bahan baku (Senduk *et al.*, 2020).

Menurut Kadji *et al* (2013), adanya pemanasan dapat meningkatkan kemampuan dari pelarut untuk mengekstraksi senyawa-senyawa kimia yang tidak larut dalam kondisi suhu kamar. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Mukhriani (2014) dalam Puspitasari (2017), kelebihan yang ada pada metode ekstraksi *soxhletasi* yaitu terjadinya proses ekstraksi yang kontinyu dan sampel terekstraksi oleh pelarut murni hasil sehingga nilai rendemen yang dihasilkan lebih tinggi dibandingkan dengan metode ekstraksi maserasi.

Faktor lain yang menyebabkan terjadinya peningkatan jumlah rendemen yang dihasilkan pada proses ekstraksi yaitu perbedaan suhu atau pemanasan pelarut pada proses ekstraksi yang mengakibatkan peningkatan perpindahan zat-zat metabolit ke dalam pelarut semakin cepat, dengan demikian kontak zat dengan pelarut yang digunakan semakin sering (Wijaya *et al*, 2022). Adanya senyawa tidak murni dan lemak yang ikut terekstrak pada saat proses ekstraksi biji coklat juga menjadi faktor dalam peningkatan jumlah rendemen ekstrak yang didapatkan (Pratiwi, 2013)

Data nilai rendemen yang diperoleh kemudian diolah menggunakan uji statistik SPSS. Pada uji normalitas (*Shapiro wilk*), dasar pengambilan keputusan jika nilai sig  $> 0,05$  maka data penelitian berdistribusi normal, sedangkan jika nilai sig  $< 0,05$  maka data penelitian tidak berdistribusi normal. Hasil uji normalitas menunjukkan menunjukkan bahwa data rendemen *soxhletasi* berdistribusi normal dengan nilai sig. 0,97, sedangkan pada data rendemen maserasi tidak berdistribusi normal dengan nilai sig 0,05.

Pada uji homogenitas (*Levene*), dasar pengambilan keputusan jika nilai sig  $> 0,05$  maka distribusi data homogen, sedangkan jika nilai sig  $< 0,05$  maka distribusi data tidak homogen. Hasil uji homogenitas menunjukkan hasil data rendemen maserasi dan *soxhletasi* tidak homogen dengan nilai sig 0.046. Maka dari itu dilakukan uji non parametrik *Mann Whitney*. Pedoman pengambilan keputusan pada uji *Mann Whitney* yaitu jika nilai sig  $< 0,05$ , terdapat perbedaan yang signifikan, maka  $H_0$  ditolak, sedangkan jika nilai sig  $> 0,05$ , tidak terdapat perbedaan yang signifikan, maka  $H_0$  diterima (Rahayu, 2019). Hasil uji *Mann Whitney* menunjukkan bahwa nilai sig 0,248 yang berarti bahwa sig  $> 0,05$ , maka dapat disimpulkan bahwa  $H_0$  diterima, dengan demikian dapat dikatakan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara nilai rendemen metode maserasi dan *soxhletasi*. Dari hasil uji statistik yang menyatakan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan, maka dapat dikatakan bahwa tidak ada pengaruh dari metode ekstraksi maserasi dan *soxhletasi* terhadap nilai rendemen ekstrak etanol biji coklat.

Pengaruh metode ekstraksi maserasi yang tidak berbeda signifikan dengan metode ekstraksi *soxhletasi* pada nilai rendemen diduga karena rasio campuran antara metode ekstraksi maserasi dan *soxhletasi* sama-sama sebesar 1:10, hal ini dapat menyebabkan nilai rendemen yang didapatkan tidak berbeda signifikan. Menurut List & Schmidt (1989) dalam Pratiwi (2013) menyatakan bahwa hasil ekstrak pada suatu proses ekstraksi akan meningkat dengan penambahan dari bagian materia obat dalam jumlah pelarut yang tetap.

## **6.2 Skrining Fitokimia**

Skrining fitokimia merupakan suatu cara identifikasi senyawa bioaktif melalui suatu tes yang dapat memisahkan kandungan senyawa fitokimia tertentu yang terkandung dalam tanaman yang sedang diteliti dengan cepat (Khotimah, 2016). Pada penelitian kali ini, dilakukan skrining fitokimia secara kualitatif dengan cara uji reaksi warna terhadap senyawa metabolit sekunder seperti fenol, tanin, flavonoid, alkaloid, dan terpenoid dengan menggunakan larutan uji spesifik untuk masing-masing metabolit yang akan diuji.

Hasil skrining fitokimia biji coklat dengan menggunakan metode ekstraksi maserasi dan *soxhletasi* menunjukkan bahwa keduanya memiliki kandungan senyawa kimia yang diuji seperti fenol, tanin, flavonoid, alkaloid, dan terpenoid. Hasil skrining fitokimia sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Othman *et al.*, (2007) dalam Yulianti (2013) menyatakan bahwa biji coklat mengandung senyawa-senyawa fenolik, tanin, dan flavonoid lainnya. Dari hasil skrining fitokimia, maka dapat disimpulkan bahwa  $H_0$  diterima, dengan demikian dapat

dikatakan bahwa tidak ada pengaruh dari metode ekstraksi maserasi dan *soxhletasi* terhadap kandungan senyawa kimia ekstrak etanol biji coklat karena tidak adanya perbedaan yang signifikan pada hasil skrining fitokimia.

Hasil skrining fitokimia biji coklat dengan metode maserasi dan *soxhletasi* yang tidak berbeda signifikan diduga karena adanya pengaruh pelarut yang dipakai pada kedua metode ini sama yaitu etanol 70%, sehingga menyebabkan senyawa kimia yang tersari pada proses ekstraksi memiliki kesamaan antara metode ekstraksi maserasi dan *soxhletasi*.

Adanya kandungan senyawa fenol ditunjukkan dengan adanya perubahan warna menjadi hitam kebiruan. Perubahan warna yang terjadi diakibatkan oleh reaksi  $\text{FeCl}_3$  dengan sampel uji, ion  $\text{Fe}^{3+}$  mengalami hibridisasi sehingga terjadi pembentukan warna pada uji fenol (Manongko *et al.*, 2020). Kandungan senyawa tanin pada biji coklat menggunakan metode maserasi dan *soxhletasi* ditunjukkan dengan adanya perubahan warna sampel uji menjadi warna hijau kehitaman, hal ini terjadi akibat adanya pembentukan senyawa kompleks antara tanin dengan  $\text{FeCl}_3$  1% (Ikalinus *et al.*, 2015).

Pada uji flavonoid, hasil skrining pada kedua metode menunjukkan terjadinya perubahan warna menjadi jingga. Perubahan warna menjadi jingga disebabkan oleh penambahan HCl pekat yang dapat menghidrolisis senyawa flavonoid menjadi aglikonnya, yaitu dengan menghidrolisis O-glikosil. Kemudian glikosil akan tergantikan oleh  $\text{H}^+$  dari asam karena sifatnya yang elektrofilik. Adanya reduksi dengan Mg dan HCl pekat dapat menghasilkan senyawa kompleks

berwarna merah atau jingga pada flavanon, flavonol, flavanonol dan xanton (Robinson (1995) dalam Ikalinus *et al* (2015)).

Uji alkaloid dilakukan dengan menggunakan 2 pereaksi uji yaitu pereaksi wagner dan pereaksi *dragendorff*. Pada uji alkaloid menggunakan pereaksi wagner kedua metode ekstraksi menunjukkan adanya endapan coklat dan pada uji alkaloid menggunakan pereaksi *dragendorff* kedua metode ekstraksi menunjukkan adanya endapan kemerahan. Terbentuknya endapan coklat pada uji alkaloid menggunakan pereaksi wagner dikarenakan ion logam  $K^+$  akan membentuk ikatan kovalen koordinat dengan nitrogen pada alkaloid sehingga membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap (Ikalinus *et al.*, 2015). Pada uji alkaloid dengan pereaksi *dragendorff* terjadinya endapan kemerahan disebabkan oleh terjadinya interaksi senyawa alkaloid dengan ion tetraiodobismutat (III).

Uji terpenoid yang dilakukan pada ekstrak biji coklat menggunakan metode ekstraksi maserasi dan *soxhletasi* menunjukkan adanya perubahan warna sampel uji menjadi merah kecoklatan. Terjadinya perubahan warna disebabkan oleh terjadinya oksidasi pada senyawa terpenoid melalui pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi (Sulistyarini *et al*, 2020).

### **6.3 Uji Antijamur**

Uji antijamur merupakan suatu metode untuk mengetahui apakah suatu senyawa yang akan diuji dapat menghambat pertumbuhan jamur dengan cara mengukur respon pertumbuhan populasi jamur terhadap agen antijamur

(Mutammima, 2017). Jamur *Candida albicans* dipilih sebagai jamur uji karena menurut Hartini (2017), *Candida albicans* dapat menjadi pengaruh yang dapat menyebabkan keputihan dan merupakan jamur yang resisten terhadap beberapa antijamur.

Pada penelitian ini metode uji antijamur yang digunakan adalah metode difusi cakram kertas. Metode cakram kertas dilakukan dengan cara meletakkan kertas cakram yang sebelumnya telah direndam dengan larutan uji di atas media tumbuh padat yang telah diinokulasi dengan jamur (Mutammima, 2017). Metode cakram dipilih sebagai metode uji karena lebih praktis dan tidak memerlukan peralatan khusus. Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi besar kecilnya zona hambat yang terbentuk adalah pH lingkungan, kerapatan koloni, komponen media, suhu dan waktu inkubasi (Dali *et al.*, 2011 dalam Surjowardojo *et al.*, 2016).

Zona hambat bening yang terbentuk pada uji antijamur terjadi karena ekstrak uji mengandung senyawa-senyawa metabolit sekunder yang dapat berperan sebagai antijamur. Menurut penelitian Firmansyah (2014), ekstrak etanol biji coklat terbukti memiliki efek sebagai antijamur *Candida albicans* dengan konsentrasi hambat minimum ekstrak biji coklat secara kualitatif sebesar 7,81 mg/mL. Hal ini memperkuat bahwa ekstrak etanol biji coklat memiliki sifat antijamur.

Sebelum membuat konsentrasi sampel uji, terlebih dahulu ekstrak biji coklat dengan metode maserasi dan *soxhletasi* dilakukan proses *defatting* menggunakan pelarut n-heksana. Tujuan dilakukan proses *defatting* yaitu untuk mengurangi kadar lemak yang terdapat dalam biji coklat. Kandungan lemak yang ada pada biji

coklat dapat menghalangi senyawa polifenol masuk ke dalam sel jamur sehingga dapat menurunkan aktivitas antijamur (Pratiwi 2013).

Setelah dilakukan proses *defatting* lemak biji coklat, masing-masing dari ekstrak maserasi dan *soxhletasi* dilakukan pengenceran agar mencapai konsentrasi uji yaitu 50% dan 25% yang akan dilakukan uji aktivitas antijamur. Kontrol positif yang digunakan pada penelitian kali ini adalah nistatin, sedangkan kontrol negatif dalam penelitian ini adalah *aquadest* steril.

Sebelum dilakukan proses inokulasi jamur pada media, terlebih dahulu dilakukan uji kekeruhan suspensi *Candida albicans* dengan menggunakan standar kekeruhan *McFarland* 0,5. Tujuan dilakukan uji kekeruhan ini adalah untuk menggantikan perhitungan satu per satu dan untuk memperkirakan kepadatan sel yang akan digunakan pada prosedur pengujian antijamur (Arniati *et al.*, 2015). Hasil uji kekeruhan suspensi *Candida albicans* menggunakan standar kekeruhan *McFarland* 0,5 mendapatkan hasil absorbansi 0,129 untuk standar *McFarland* dan 0,100 untuk suspensi jamur *Candida albicans*. Menurut Simpson *et al* (2014), hasil absorbansi yang baik untuk standar kekeruhan *McFarland* yaitu 0,08-0,1 pada panjang gelombang 625 nm.

Hasil uji antijamur menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji coklat memiliki aktivitas antijamur *Candida albicans*, hal ini ditunjukkan dengan adanya zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram. Hasil uji antijamur pada metode ekstraksi *soxhletasi* dengan konsentrasi 50% memiliki rata-rata zona hambat yang lebih tinggi yaitu sebesar 2,217 mm  $\pm$ 0,506, sedangkan pada metode ekstraksi

maserasi dengan konsentrasi 50% memiliki rata-rata zona hambat sebesar 1,350 mm  $\pm$ 0,356.

Hasil zona bening yang terbentuk lebih rendah daripada hasil penelitian yang dilakukan oleh Pratiwi (2013), dengan hasil diameter zona hambat yang terbentuk untuk ekstrak etanol 70% *defatting* biji coklat pada konsentrasi 45% terhadap *Candida albicans* sebesar 6,58 mm. Hal ini diduga karena kurang maksimalnya proses *defatting* yang dilakukan yang disebabkan oleh kurangnya waktu perendaman dengan n-heksana, selain itu tidak dilakukannya proses pemisahan lemak biji coklat dengan alat *press* hidrolik sebelum proses ekstraksi juga dapat menjadi faktor penyebab rendahnya aktivitas antijamur yang terbentuk.

Pada metode *soxhletasi* terjadi pemanasan yang dapat membantu mengekstraksi senyawa-senyawa yang tidak larut dalam suhu kamar, sehingga aktivitas penarikan senyawa lebih maksimal dibandingkan dengan metode maserasi yang proses ekstraksi menggunakan suhu ruang sehingga senyawa yang tidak larut dalam suhu ruang kurang tersari secara sempurna (Rosita *et al.*, 2017). Hal ini dapat mempengaruhi daya hambat aktivitas antijamur yang terbentuk. Kemudian pada uji antijamur dengan metode maserasi 25% dan *soxhletasi* 25% tidak didapatkan aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans*, hal ini diduga karena konsentrasi uji yang digunakan terlalu rendah sehingga tidak terdapat adanya aktivitas antijamur.

Nistatin sebagai kontrol positif menghasilkan diameter zona hambat yang paling tinggi yaitu dengan rata-rata zona hambat sebesar 15,377 mm  $\pm$ 1,578. Hasil kontrol positif yang didapatkan sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh

Maghfiroh *et al* (2021), dengan hasil rata-rata zona hambat nistatin sebagai kontrol positif yang terbentuk sebesar 15,11 mm. Nistatin dipilih sebagai kontrol positif karena menurut Permataningrum *et al* (2020), nistatin merupakan obat golongan poliene yang efektif untuk mengobati dan memberikan efek yang optimal dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans*. Mekanisme kerja nistatin sebagai antijamur yaitu dengan mengikat ergosterol yang merupakan bagian utama dari dinding sel jamur sehingga mengakibatkan terbentuknya pori pada membran sel jamur yang dapat menyebabkan kematian sel jamur (Maghfiroh *et al.*, 2021). *Aquadest* steril sebagai kontrol negatif tidak menghasilkan zona hambat pada uji antijamur terhadap *Candida albicans*. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Wahyuni dan Karim (2020), bahwa *aquadest* steril tidak menghasilkan zona hambat dikarenakan tidak memiliki aktivitas sebagai antimikroba.

Diameter zona hambat yang terbentuk pada sampel uji diduga karena adanya senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada biji coklat seperti fenol, tanin, flavonoid, alkaloid, dan terpenoid. Mekanisme kerja fenol sebagai antijamur yaitu dengan mendenaturasi ikatan protein yang ada pada membran sel, hal ini menyebabkan terjadinya lisis pada membran sel sehingga menyebabkan terjadinya kematian pada sel (Kurniawan, 2015). Tanin memiliki mekanisme kerja sebagai antijamur dengan menghambat terjadinya sintesis kitin yang berfungsi untuk membentuk dinding sel pada jamur dan merusak membran sel jamur sehingga pertumbuhan jamur terhambat (Arifin *et al*, 2018).

Mekanisme kerja flavonoid sebagai antijamur yaitu dengan membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang dapat mengganggu keutuhan membran dan dinding sel, serta dapat menyebabkan gangguan pada metabolisme sel dengan cara menghambat transport nutrisi (Kurniawan, 2015). Alkaloid memiliki mekanisme kerja dengan cara menyisip di antara dinding sel dan DNA, hal ini mencegah terjadinya replikasi DNA pada jamur sehingga menyebabkan pertumbuhan dari jamur akan terganggu (Komala *et al.*, 2020). Terpenoid memiliki aktivitas antijamur dengan cara menurunkan permeabilitas dari membran sel jamur, sehingga dapat mempengaruhi fungsi fisiologis dari protein membran sel dan protein enzim jamur (Komala *et al.*, 2020).

Data hasil uji aktivitas antijamur yang diperoleh kemudian diolah menggunakan uji statistik SPSS yaitu uji *One Way* ANOVA. ANOVA merupakan suatu analisis komparatif yang memiliki variabel lebih dari dua. Tujuan dari analisis ini yaitu untuk membandingkan lebih dari dua rata-rata yang digunakan untuk menguji kemampuan generalisasi, artinya data sampel dianggap mewakili populasi (Haryono, 2020). Asumsi uji ANOVA yaitu sampel berasal dari suatu kelompok yang independen, varian antar kelompok harus homogen, dan data dari masing-masing kelompok berdistribusi secara normal (Hidayat, 2013).

Pada uji asumsi ANOVA, uji normalitas dilakukan dengan uji *Shapiro Wilk*, sedangkan uji homogenitas menggunakan uji *Levene*. Uji *Shapiro Wilk* merupakan suatu pengujian yang dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui sebaran data telah berdistribusi normal atau tidak (Setianingsih *et al.*, 2020). Dasar pengambilan keputusan pada uji *Shapiro Wilk* yaitu jika nilai sig > 0,05,

maka data penelitian berdistribusi normal dan sebaliknya jika nilai  $\text{sig} < 0,05$ , maka data penelitian berdistribusi tidak normal. Pada hasil uji normalitas, nilai  $\text{sig} > 0,05$ , maka dapat disimpulkan bahwa data berdistribusi normal dan memenuhi asumsi ANOVA.

Uji *Levene* merupakan suatu pengujian yang dilakukan untuk menguji homogenitas kelompok data yang lebih dari dua. Dasar pengambilan keputusan pada uji *Levene* yaitu jika nilai  $\text{sig} > 0,05$ , maka distribusi data homogen, sebaliknya jika nilai  $\text{sig} < 0,05$  maka distribusi data tidak homogen. Hasil dari uji homogenitas menunjukkan nilai  $\text{sig} < 0,05$ , hal ini menunjukkan bahwa distribusi data tidak homogen dan tidak memenuhi asumsi ANOVA. Maka dari itu, dilanjutkan dengan uji *Kruskal Wallis*.

Uji *Kruskal Wallis* merupakan suatu uji non parametrik yang bertujuan untuk mengetahui perbedaan rata-rata data lebih dari dua kelompok independen. Syarat dilakukan uji ini adalah bila data tidak berdistribusi normal, dan skala data ordinal, interval, atau rasio. Pedoman pengambilan keputusan pada uji *Kruskal Wallis* yaitu jika nilai  $\text{sig} < 0,05$ , terdapat perbedaan rata-rata yang signifikan, sedangkan jika nilai  $\text{sig} > 0,05$ , tidak terdapat perbedaan rata-rata yang signifikan (Junaidi, 2010). Hasil uji menunjukkan bahwa nilai  $\text{sig} 0,005$  yang berarti bahwa  $\text{sig} < 0,05$ , maka dapat dikatakan bahwa terdapat perbedaan rata-rata yang signifikan pada masing-masing perlakuan. Selanjutnya dilakukan uji lanjut *duncan* untuk mengetahui lebih lanjut mengenai kelompok yang memiliki perbedaan secara signifikan.

Hasil dari uji Duncan menunjukkan bahwa zona hambat kontrol positif terhadap jamur *Candida albicans* berbeda secara nyata dengan kontrol negatif, maserasi 50%, maserasi 25%, *soxhletasi* 50%, dan *soxhletasi* 25%. Untuk zona hambat kontrol negatif menunjukkan persamaan secara signifikan dengan maserasi 25%, dan *soxhletasi* 25%. Untuk zona hambat maserasi 50% menunjukkan persamaan secara signifikan dengan *soxhletasi* 50%. Dengan demikian dari hasil uji Duncan menunjukkan bahwa  $H_0$  diterima yang berarti bahwa tidak terdapat pengaruh metode ekstraksi maserasi dan *soxhletasi* ekstrak etanol biji coklat terhadap aktivitas antijamur *Candida albicans*.

Pengaruh metode ekstraksi maserasi yang tidak berbeda signifikan dengan metode ekstraksi *soxhletasi* pada uji aktivitas antijamur *Candida albicans* diduga karena kurang maksimalnya proses *defatting* lemak biji coklat pada metode ekstraksi maserasi dan *soxhletasi* sehingga menyebabkan hasil uji antijamur tidak berbeda signifikan. Selain itu, penggunaan pelarut yang sama antara metode ekstraksi maserasi dan *soxhletasi* diduga menjadi salah satu penyebab hasil dari uji antijamur tidak berbeda signifikan karena kandungan senyawa kimia yang berperan sebagai antijamur sama.

## **BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN**

### **7.1 Kesimpulan**

Berdasarkan hasil dari penelitian, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Metode ekstraksi maserasi dan *soxhletasi* tidak mempengaruhi nilai rendemen ekstrak etanol biji coklat.
2. Metode ekstraksi maserasi dan *soxhletasi* tidak mempengaruhi kandungan senyawa kimia yang terdapat pada ekstrak etanol biji coklat.
3. Metode ekstraksi tidak mempengaruhi aktivitas antijamur ekstrak etanol biji coklat terhadap pertumbuhan *Candida albicans*.

### **7.2 Saran**

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka peneliti selanjutnya disarankan untuk:

1. Melakukan *defatting* lemak biji coklat sebelum melakukan proses ekstraksi.
2. Melakukan uji kandungan senyawa kimia secara kuantitatif terhadap kandungan senyawa kimia ekstrak etanol biji coklat untuk mengetahui perbedaan yang lebih spesifik pada metode ekstraksi terhadap kandungan senyawa kimia yang terekstraksi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abbey, M. J. *et al.* (2008) 'Repression Of Calcitonin Gene-Related Peptide Expression In Trigeminal Neurons By A Theobroma Cacao Extract', *Journal of Ethnopharmacology*, 115(2), pp. 238–248. doi: 10.1016/j.jep.2007.09.028.
- Ani, Falen Putri. (2018). Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Etanol Daun Puguh Tanah (*Picria fel-terrae* Lour.) Terhadap *Candida albicans*. *Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara*.
- Anggraito, Y. U. *et al.* (2018) Metabolit Sekunder Dari Tanaman, *Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang*.
- Arifin, Z., Khotimah, S. and Rahmayanti, S. (2018) 'Aktivitas Antijamur Ekstrak Etil Asetat Daun Mangga Bacang ( *Mangifera foetida* L.) terhadap *Candida albicans* secara In Vitro', *Jurnal Cerebellum*, 4(3), pp. 1106–1119.
- Arniati, Haris, A. and Werorilangi, S. (2015) 'Uji Antibakteri Patogen Ekstrak Sponge Menggunakan Metode *High Throughput Screening* (HTS) dengan Indikator MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide)', *Prosiding Simposium Nasional Kelautan dan Perikanan II*.
- Candrasari, Damiana Saptia. (2014) 'Kajian Molekuler Resistensi *Candida albicans* terhadap Antifungi', *Fakultas Farmasi Universitas Santa Dharma*. Yogyakarta.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia (Depkes RI). (2000) 'Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat', *Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan*. Jakarta.
- Desmiaty, Y. *et al.* (2019) 'Pengaruh Metode Ekstraksi terhadap Kandungan Senyawa Polifenol dan Aktivitas Antioksidan pada *Rubus fraxinifolius* ( *Effect of Extraction Method on Polyphenol Content and Antioxidant Activity of Rubus fraxinifolius* )', 17(2), pp. 227–231.
- Ditjenbun (2019) 'Cokelatku Budayaku Indonesiaku: Tumbuhkan Budaya Korporasi Perkebunan Kakao', *Pojok media*. Available at: <https://ditjenbun.pertanian.go.id/>.
- Fadli, A. (2017) 'Media Alami Untuk Pertumbuhan Jamur *Candida Albicans* Penyebab Kandidiasis Dari Tepung Biji Kluwih (*Artocarpus communis*)', *Jurnal Kesehatan Prima*, 11(2), pp. 158–170. Available at: <https://poltekkes-mataram.ac.id/wp-content/uploads/2018/01/10.-Yunan->

Jiwintarum.pdf.

- Febryanto, M. A. (2017) 'Studi Ekstraksi Dengan Metode *Soxhletasi* pada Bahan Organik Umbi Sarang Semut (*Myrmecodia pendans*) sebagai Inhibitor Organik', *Tugas Akhir. Fakultas Teknologi Industri Institut Teknologi Sepuluh Nopember*.
- Garaika., & Darmanah. (2019) 'Metodologi Penelitian', Lampung Selatan: CV HIRA TECH.
- Hartini (2017) 'Uji Aktivitas Antifungi Ekstrak Sarang Lebah dari Luwu Utara terhadap *Candida albicans*', *Skripsi. Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar*, 10(2), pp. 44–46. Available at: <http://repositori.uin-alauddin.ac.id/id/eprint/4125>.
- Haryadi., & Supriyanto. (2012) 'Teknologi Kakao', *In Teknologi coklat* (p. 56). Cetakan pertama. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Haryono, S. (2020) 'Statistika Penelitian Manajemen', *Pelayanan Kesehatan*, (2015), pp. 3–13.
- Idores, R., Khairan., Nurisma, N. W., Wawaddah N., Pradysta Rd. R. G., & Rofina. (2019) 'Skrining Aktivitas Tumbuhan Yang Berpotensi Sebagai Bahan Antimikroba Di Kawasan Ie Brok (Upflow Geothermal Zone) Aceh Besar', *Banda Aceh: Syiah Kuala University Press*.
- Ikalinus, R. *et al.* (2015) 'Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera*)', 4(1), pp. 71–79.
- Ilyas, A. (2013) 'Buku Kimia Organik Bahan Alam', pp. 1–189.
- INHERENT USU (2006) 'Buku Ajar Taksonomi Tumbuhan', p. 179 Halaman.
- Jalianto. (2015) 'Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Etanol Biji Buah Langsung (*Lansium domesticum* Corr.) terhadap Jamur *Candida albicans* secara *In Vitro*', *Naskah Publikasi. Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura Pontianak*.
- Julianto, T. S. (2019) Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia, *Journal of Chemical Information and Modeling*.
- Junaidi, J. (2010) 'Statistik Uji *Kruskal-Wallis*', *Fakultas Ekonomi Universitas Jambi*, (June), pp. 1–5.
- Kadji, M. H., Runtuwene, M. R. J. and Citraningtyas, G. (2013) 'Uji Fitokimia

- dan Aktivitas dari Ekstrak Etanol Daun Soyogik ( *Saurauia bracteosa DC* ), *Pharmacon*, 2(2), p. 13.
- Karmawati, E. *et al.* (2010) 'Budidaya dan Pasca Panen Kakao', *Book Budidaya dan Pasca Panen Kakao*, pp. 1–92.
- Khotimah, K. (2016) 'Skrining Fitokimia dan Identifikasi Metabolit Sekunder Senyawa Karpain Pada Ekstrak Metanol Daun *Carica pubescens* Lenne dan K. Koch Dengan LC/MS', *Uin Maulana Malik Ibrahim Malang*, (januari), pp. 1–69.
- Komala, O., . Y. and Siwi, F. R. (2020) 'Aktivitas Antijamur Ekstrak Etanol 50% Dan Etanol 96% Daun Pacar Kuku *Lawsonia inermis* L terhadap *Trichophyton mentagrophytes*', *Ekologia*, 19(1), pp. 12–19. doi: 10.33751/ekol.v19i1.1657.
- Komariah., & Sjam R. (2012) 'Kolonisasi *Candida* dalam Rongga Mulut', *Majalah Kedokteran FK UKI*, 27 (1).
- Kurniawan, D. (2015) 'Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Etanol Daun Kelor ( *Moringa oleifera* Lamk .) terhadap *Candida albicans* Secara In Vitro, *Program Studi Pendidikan Dokter*, pp. 1–16.
- Kusuma, Y. T. C., Suwasono, S. and Yuwanti, S. (2013) 'Pemanfaatan Biji Kakao Inferior Campuran Sebagai Sumber Antioksidan Dan Antibakteri', *Berkala Ilmiah Pertanian*, 1(2), pp. 33–37.
- Leba, Maria A. U. (2017) 'Ekstraksi dan *Real* Kromatografi', *Ed. 1, Cet. 1--Yogyakarta: Deepublish*.
- Liliany, N. F. (2018) Daya Hambat Ekstrak Buah Pepaya (*Carica papaya* L.) Varietas Thailand terhadap Pertumbuhan *Candida Albicans*, *Skripsi*.
- Maghfiroh, N. N. and Prihanti, A. M. (2021) 'Daya Hambat Ekstrak Kulit Semangka ( *Citrullus lanatus* ) terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* ( *Inhibitory Extract of Watermelon ( Citrullus lanatus* ) Rind on *Candida albicans Growth* )', 9(1), pp. 54–59.
- Manongko, P. S., Sangi, M. S. and Momuat, L. I. (2020) 'Uji Senyawa Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Tanaman Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli* L.)', *Jurnal MIPA*, 9(2), p. 64. doi: 10.35799/jmuo.9.2.2020.28725.
- Montana, F. D., Setyaningsih, Y., & Zulfa, F. (2020). *Effectiveness Cocoa Theobroma cacao L.) Seed Extraction on The Growth of In Vitro Malassezia furfur. Fakultas Kedokteran Universitas Pembangunan Nasional "Veteran" Jakarta*.

- Munawwaroh, Risalatul. (2016). Uji Aktivitas Antijamur Jamur Madura "Empot Super" terhadap Jamur *Candida albicans*. *Skripsi. Fakultas Sains dan Teknologi UIN Malang*.
- Mutammima, N. (2017) Uji Aktivitas Antijamur, Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) Serta Klt-Bioautografi Ekstrak Etanol Daun Plethekan (*Ruellia tuberosa L.*) terhadap *Candida albicans*.
- Mustofa, E., & Handono, K. (2012) 'Pengaruh Stres terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*', *Malang: Universitas Brawijaya Press*.
- Nahor, E. M. et al. (2020) 'Comparison of the Yield of Andong Leaf Ethanol Extract (*Cordyline fruticosa L.*) Using Maceration and Sokhletation Extraction Methods', *Journal Poltekkes Manado*, 1(1), pp. 40–44.'
- Najib, Ahmad. (2018) 'Ekstraksi Senyawa Baham Alam', *Ed. 1, Cet 1 Yogyakarta*, 58 Hal.
- Ngazizah, F. N., Ekowati, N. and Septiana, A. T. (2017) 'Potensi Daun Trembilungan (*Begonia hirtella Link*) sebagai Antibakteri dan Antifungi', *Biosfera*, 33(3), p. 126. doi: 10.20884/1.mib.2016.33.3.309.
- Permataningrum, N. I., Dewi, L. R. and Prihanti, A. M. (2020) 'Daya Hambat Ekstrak Daun Kakao (*Theobroma Cacao L.*) terhadap Pertumbuhan *Candida Albicans*', *Pustaka Kesehatan*, 7(3), p. 142. doi: 10.19184/pk.v7i3.10824.
- Pracaya., Kahono, P.C. (2016) 'Budi Daya Kakao', *Jakarta: PT Sunda Kelapa Pustaka*.
- Pratiwi, M. I. (2013) 'Uji Aktivitas Antimikrobaekstrak Biji Kakao (*Theobroma cacao L.*) Kaya Polifenol Terserang *Phytophthora palmivora* terhadap *Streptococcus mutans* dan *Candida albicans*', 1, pp. 81–109.
- Puspitasari, Anita Dwi L. S. P. (2017) 'Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi Dan Sokletasi Terhadap Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura*)', *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta*, 1(2), pp. 1–8.
- Putri, A. U. (2013) 'Uji Potensi Antifungi Ekstrak Berbagai Jenis Lamun Terhadap Fungi *Candida albicans* Lamun Terhadap Fungi *Candida albicans*'., *Skripsi Universitas Hasanuddin*, p. 39.
- Putri, A. Y. (2018). Uji Aktivitas Antifungi dan Fitokimia Metabolit Sekunder Kapang Endofit *Trichoderma* sp. Terhadap Kapang Patogen

*Colletotrichum* sp. dan *Fusarium oxysporum* pada Tanaman Cabai. *Skripsi. Uin Maulana Malik Ibrahim Malang.*

- Rahayu Ningsih, P. (2019) 'Terapi Shalawat untuk Mengurangi Tingkat Agresivitas Remaja di Dusun Krajan Desa Rejosari Kecamatan Kalidawir Kabupaten', pp. 99–111. Available at: <http://repo.iain-tulungagung.ac.id/10021/>.
- Rosita, J. M., Taufiqurrahman, I. and Edyson (2017) 'Perbedaan Total Flavonoid antara Metode Maserasi dengan Sokletasi pada Ekstrak Daun Binjai (*Mangifera caesia*)', *Dentino Jurnal Kedokteran Gigi*, I(1), pp. 100–105.
- Saidi, N., Ginting, B., Murniana., Mustanir. (2018) 'Analisis Metabolit Sekunder', *Banda Aceh: Syiah Kuala University Press.*
- Senduk, T. W., Montolalu, L. A. D. Y. and Dotulong, V. (2020) 'The Rendement Of Boiled Water Extract Of Mature Leaves Of Mangrove *Sonneratia alba*', *Jurnal Perikanan Dan Kelautan Tropis*, 11(1), p. 9. doi: 10.35800/jpkt.11.1.2020.28659.
- Sepriyani, R. (2020) 'Efektivitas Ekstrak Biji Kakao ( *Theobroma cacao* L .) Sebagai Antimikroba Terhadap *Streptococcus mutans*', pp. 13–16.
- Septia Ningsih, D. *et al.* (2020) 'Skrining Fitokimia dan Penetapan Kandungan Total Fenolik Ekstrak Daun Tumbuhan Sapu-Sapu (*Baekkea frutescens* L.)', *Biotropika: Journal of Tropical Biology*, 8(3), pp. 178–185. doi: 10.21776/ub.biotropika.2020.008.03.06.
- Setianingsih, S. T. *et al.* (2020) 'Media Informasi Dinas Kominfo Kota Batam', 4(1), pp. 1–9.
- Simpson, C. A. *et al.* (2014) 'McFarland Standard', *Journal of Food Protection*, 71(3), p. 2. Available at: [http://www.dalynn.com/dyn/ck\\_assets/files/tech/TM53.pdf](http://www.dalynn.com/dyn/ck_assets/files/tech/TM53.pdf).
- Sudiby, Agus. (2012) 'Peranan Coklat Sebagai Produk Pangan Derivat Kakao Yang Menyehatkan', *Jurnal Riset Industri*, 4(1), 23-40.
- Sugiyono. (2013). *Metode Penelitian Kuantitatif, Kualitatif, dan R&D*. Bandung: Alfabeta.
- Sugiharti, Endang. (2016) 'Budidaya Kakao', *Nuansa Cendikia*.
- Suhendra, C. P., Widarta, I. W. R. and Wiadnyani, A. A. I. S. (2019) 'Pengaruh Konsentrasi Etanol Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rimpang Ilalang (*Imperata cylindrica* (L) Beauv.) pada Ekstraksi Menggunakan

- Gelombang Ultrasonik', *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 8(1), p. 27. doi: 10.24843/itepa.2019.v08.i01.p04.
- Sulistyarini, I., Sari, D. A. and Wicaksono, T. A. (2020) 'Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Batang Buah Naga', *Ilmiah Cendekia Eksakta*, pp. 56–62.
- Surjowardojo, P., Susilorini, T. E. and Benarivo, V. (2016) 'Daya Hambat Dekok Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill) terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Streptococcus agalactiae* Penyebab Mastitis Pada Sapi Perah', *Ternak Tropika*, 17(1), pp. 11–21.
- Wahyuni and Karim, S. F. (2020) 'Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kacapiring (*Gardenia jasminoides* Ellis) terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*', *Jurnal Sains dan Informatika*, 4(4), pp. 399–404. doi: 10.22216/jsi.v4.
- Wulandari, E. (2013) 'Uji Aktivitas Ekstrak Kasar Etanol dan Fraksi n-Heksana Tanaman Rumput Bambu (*Lophaterum gracile* B.) sebagai Anti Malaria Pada Parasit *Plasmodium falcifarum* Strain 3D7', *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), pp. 1689–1699.
- Yulianti, Nur Fatdliyah E. (2013) 'Aktivitas Antibakteri dan Bioautografi Fraksi Etil Asetat Ekstrak Aseton Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap *Streptococcus mutans* dan *Bacillus subtilis*', *Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta*.

## LAMPIRAN

### Lampiran 1



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

Kode Dokumen : FR-AUK-064  
Revisi : 0

#### SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TANAMAN

No: 067/PL17.8/PG/2022

Menindaklanjuti surat dari Dekan Universitas dr. Soebandi Program Studi Sarjana Farmasi No: 1004/FIKES.UIS/U/IV/2022 perihal Permohonan Identifikasi Tanaman dan berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirimkan ke UPT. Pengembangan Pertanian Terpadu, Politeknik Negeri Jember oleh:

Nama : Aprilia Permata Sanny  
NIM : 18040014  
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.

April 2022  
Kas. UPT. Pengembangan Pertanian Terpadu  
UPT. PPPT  
H. Budi Prasetyo, S.Pt, MP, IPM  
NIP. 197106212001121001

**Lampiran 2****Photometry Test Report**

File Name:Photometry 1	Test Time:
Software Version:UV V1.92.0	
Operator:Lab Kimia Farmasi	Company:

**Test Record List.**

No.	WL(nm)	Abs	Trans(%T)	Test Time	Sample Name
1	625,0	0,129	74,3	12/08/2022 9:22:02	Blanko Mc Farland
2	625,0	0,100	79,5	12/08/2022 9:25:11	Suspensi Candida albicans

## Lampiran 3

## EKSTRAKSI MASERASI

Penimbangan Simplisia Biji Coklat			
			

Proses Ekstraksi	Proses Penyaringan	Proses Pengentalan Ekstrak
		

Ekstrak Kental			
M1	M2	M3	M4
			

## Lampiran 4

**EKSTRAKSI SOXHLETASI**

Penimbangan Simplisia Biji Coklat			
			

Proses Ekstraksi <i>Soxhletasi</i>	Ekstrak Cair	Pengentalan ekstrak
		

Ekstrak Kental			
S1	S2	S3	S4
			

## Lampiran 5

## SKRINING FITOKIMIA METODE MASERASI

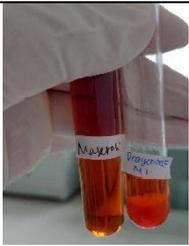
Fenol (Terbentuknya Warna Hitam Kebiruan)			
M1	M2	M3	M4
			

Tanin (Terbentuknya Warna Hijau Kehitaman)			
M1	M2	M3	M4
			

Flavonoid (Terbentuknya Warna Jingga)			
M1	M2	M3	M4
			

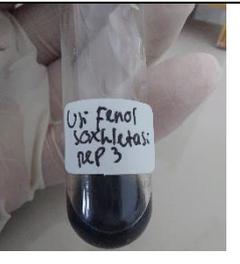
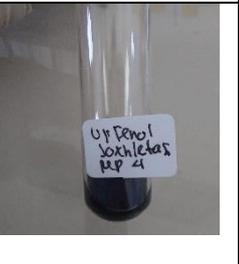
Terpenoid (Terbentuknya Warna Merah Kecoklatan)			
M1	M2	M3	M4
			

Alkaloid			
Wagner (Terbentuknya Endapan Coklat)			
M1	M2	M3	M4
			

Dragendorf (Endapan Kemerahan)			
M1	M2	M3	M4
			

## Lampiran 6

SKRINING FITOKIMIA METODE *SOXHLETASI*

Fenol (Terbentuknya Warna Hitam Kebiruan)			
S1	S2	S3	S4
			

Tanin (Terbentuknya Warna Hijau Kehitaman)			
S1	S2	S3	S4
			

Flavonoid (Terbentuknya Warna Jingga)			
S1	S2	S3	S4
			

Terpenoid (Terbentuknya Warna Merah Kecoklatan)			
S1	S2	S3	S4
			

Alkaloid			
Wagner (Terbentuknya Endapan Coklat)			
S1	S2	S3	S4
			

Dragendorf (Endapan Kemerahan)			
S1	S2	S3	S4
			

## Lampiran 7

## UJI ANTIJAMUR

Sterilisasi	Media PDA	Uji Aktivitas Antijamur
		

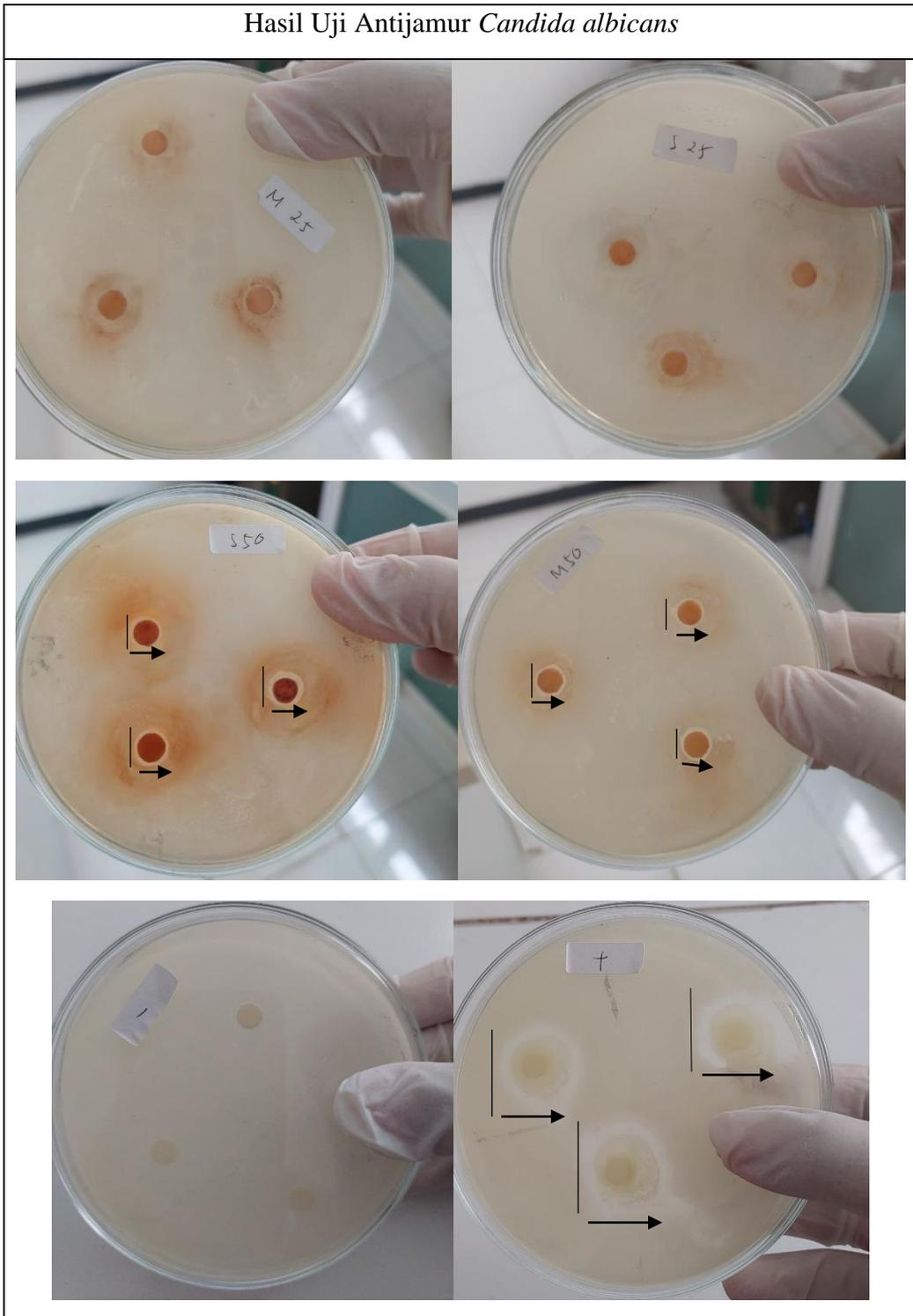
Hasil peremajaan jamur *Candida albicans*

## Defatting Biji Coklat



Kontrol + (Nistatin)

Kontrol – (*aquadest*)

Hasil Uji Antijamur *Candida albicans*

## Lampiran 8

### Uji Statistika Nilai rendemen

#### Tests of Normality

	Metode Ekstraksi	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Nilai rendemen	Maserasi	,358	4	.	,752	4	,040
	<i>Soxhletasi</i>	,159	4	.	,993	4	,970

a. Lilliefors Significance Correction

#### Test of Homogeneity of Variances

Nilai rendemen			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
6,253	1	6	,046

#### Test Statistics<sup>a</sup>

	Nilai rendemen
Mann-Whitney U	4,000
Wilcoxon W	14,000
Z	-1,155
Asymp. Sig. (2-tailed)	,248
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,343 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Metode Ekstraksi

b. Not corrected for ties.

## Lampiran 9

## Uji Statistika Hasil Uji Antijamur

Tests of Normality						
	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Maserasi 50%	.299	3	.	.915	3	.433
Maserasi 25%	.	3	.	.	3	.
Soxhletasi 50%	.310	3	.	.898	3	.380
Soxhletasi 25%	.	3	.	.	3	.
Kontrol + (Nistatin)	.272	3	.	.946	3	.552
Kontrol - (Aquadest Steril)	.	3	.	.	3	.

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances						
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.	
Hasil Uji	Based on Mean	7.182	5	12	.003	
	Based on Median	2.011	5	12	.149	
	Based on Median and with adjusted df	2.011	5	2.776	.312	
	Based on trimmed mean	6.644	5	12	.003	

Test Statistics <sup>a,b</sup>	
	Hasil Uji
Kruskal-Wallis H	16.760
df	5
Asymp. Sig.	.005

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Kode

<b>Hasil Uji Duncan</b>				
Duncan <sup>a</sup>				
Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Maserasi 25%	3	.0000		
<i>Soxhletasi</i> 25%	3	.0000		
Kontrol - ( <i>Aquadest</i> Steril)	3	.0000		
Maserasi 50%	3		1.3500	
<i>Soxhletasi</i> 50%	3		2.2167	
Kontrol + (Nistatin)	3			15.3767
Sig.		1.000	.151	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

