

**PENGARUH WAKTU EKSTRAKSI KULIT BUAH KAKAO  
*Theobroma cacao* L . MENGGUNAKAN PELARUT NADES  
TERHADAP AKTIVITAS ANTIBAKTERI  
*Propionibacterium acnes***

**SKRIPSI**



**Oleh :  
Amil Nur Fatimah Purwoto  
NIM 18040009**

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

**PENGARUH WAKTU EKSTRAKSI KULIT BUAH KAKAO  
*Theobroma cacao* L . MENGGUNAKAN PELARUT NADES  
TERHADAP AKTIVITAS ANTIBAKTERI  
*Propionibacterium acnes***

**SKRIPSI**

Untuk memenuhi persyaratan  
memperoleh gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)



Oleh :  
**Amil Nur Fatimah Purwoto**  
**NIM 18040009**

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

## LEMBAR PERSETUJUAN

Hasil penelitian ini telah diperiksa oleh pembimbing  
Dan telah disetujui untuk mengikuti seminar hasil pada Program Studi  
Sarjana Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi

Jember, 8 November 2022

Pembimbing Utama



Dr. apt. Evi Umayah Ulfa, S.Si., M.Si  
NIDN 0028077804

Pembimbing Anggota



Alivah Purwanti, M.Si  
NIDN 0709129002

## LEMBAR PENGESAHAN

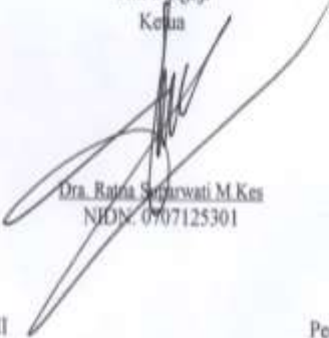
Skripsi yang berjudul “Pengaruh Waktu Ekstraksi Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L. ) Menggunakan Pelarut NADES Terhadap Aktivitas Antibakteri *Propionibacterium acnes*” telah diuji dan disahkan oleh tim penguji dan dekan Fakultas Ilmu Kesehatan pada:

Hari : Kamis

Tanggal : 24 November 2022

Tempat : Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi Jember

Tim Penguji  
Ketua

  
Dra. Ratna Setiawati M.Kes  
NIDN. 0707125301

Penguji II

  
Dr. aps. Evi Hayyah Ulfa, S.Si., M.Si  
NIDN. 0028077804

Penguji III

  
Aliyah Purwanti, M.Si  
NIDN. 0709129002

Mengesahkan,  
Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan  
Universitas dr. Soebandi

  
  
Helmi Rasyid, S.Kep., Ns., M.Kep.  
NIDN. 0706109

## PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Amil Nur Fatimah P

Nim : 18040009

Program Studi : Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi Jember

Menyatakan bahwa Skripsi saya yang berjudul “Pengaruh Waktu Ekstraksi Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.) Menggunakan Pelarut NADES Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes*” adalah karya saya sendiri dan belum pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan suatu perguruan tinggi manapun. Selain itu, sumber informasi yang dikutip penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam daftar pustaka.

Apabila kemudian hari ditemukan adanya kecurangan dalam penyusunan Skripsi ini, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Jember, 24 November 2022

Yang menyatakan



Amil Nur Fatimah P

NIM. 18040009

**SKRIPSI**  
**PENGARUH WAKTU EKSTRAKSI KULIT BUAH KAKAO**  
***Theobroma cacao* L . MENGGUNAKAN PELARUT NADES**  
**TERHADAP AKTIVITAS ANTIBAKTERI**  
***Propionibacterium acnes***

Oleh:

Amil Nur Fatimah P

NIM. 18040009

Pembimbing:

Dosen Pemping Utama : Dr. apt. Evi Umayah Ulfa, S.Si., M.Si

Dosen Pembimbing Anggota : Aliyah Purwanti, M.Si

## LEMBAR PERSEMBAHAN

Bismillahirrahmanirrahim...

Pertama-tama saya ucapkan terimakasih kepada Allah SWT yang telah melimpahkan segala rahmatnya dan senantiasa memberikan kemudahan, serta kelancaran kepada saya, sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi saya dengan baik dan tepat pada waktunya.

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Kedua orangtua saya (Purwoto dan Tumpuk Ernawati), Kakak saya (Adhim Hayu Purwoto dan Asril Trisnawati Purwanti) yang telah memberikan segenap kasih sayang, cinta, do'a, semangat, serta motivasi kepada saya sehingga saya mampu menyelesaikan studi dan tugas akhir ini dengan tepat waktu.
2. Ibu Dr. apt. Evi Umayah Ulfa, S.Si., M.Si, Ibu Aliyah Purwanti, M.Si, dan Ibu Dra. Ratna Suparwati, M.Kes yang telah memberikan bimbingan, nasihat, saran dan dukungan dalam penyusunan tugas akhir ini.
3. Terimakasih kepada semua Dosen dan keluarga Universitas dr. soebandi yang telah memberikan ilmu dan banyak motivasi selama saya berada dibangku perkuliahan, semoga Allah SWT membalas semua jasa-jasa ibu dan bapak dosen
4. Terimakasih juga kepada sahabat saya Vivi, Sintya, Siti, Rita, Santi, Lidya, Amina, Chantika, Dewi, teman seperbimbingan, dan juga angkatan 18 khususnya 18A farmasi teman seperjuanganku, yang telah memberikan semangat, motivasi, dukungan dan ide-ide kepada saya, sehingga saya mampu menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
5. Pada diri sendiri yang mampu bertahan dan kuat untuk menyemangati diri sendiri hingga detik ini.

## **MOTTO**

Jangan pergi mengikuti kemana jalan akan berujung. Buat jalanmu sendiri  
dan tinggalkan jejaknya

“ Tidak ada kesuksesan tanpa kerja keras. Tidak ada keberhasilan tanpa  
kebersamaan. Tidak ada kemudahan tanpa do’a ”

\_Ridwan kamil\_

“ Sesungguhnya Allah tidak akan mengubah keadaan suatu kaum, sebelum  
mereka mengubah keadaan diri mereka sendiri”

\_Qs Ar Rad 11\_

## ABSTRAK

Fatimah, Amil N\* Ulfa, Evi U\*\* Purwanti, Aliyah\*\*\* .2022. Pengaruh Waktu Ekstraksi Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.) Menggunakan Pelarut NADES Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes*. Skripsi. Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi.

**Latar Belakang :** Jerawat adalah radang pada kulit akibat pori-pori kulit tersumbat sehingga timbul bruntusan dan abses yang meradang pada kulit. Salah satu bakteri yang terlibat dalam proses terbentuknya jerawat adalah *Propionibacterium acnes*. Antibiotik merupakan pengobatan jerawat namun dapat menimbulkan iritasi dan resistensi. Kulit buah kakao mengandung senyawa fitokimia berupa katekin jenis flavonoid, theobromine, tanin, dan saponin yang efektif digunakan sebagai antimikroba. Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh waktu ekstraksi kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) menggunakan pelarut NADES terhadap bakteri *Propionibacterium acnes*.

**Metode :** Jenis penelitian yang digunakan adalah studi eksperimental laboratorium dengan metode ekstraksi *Ultrasonic Assisted extraction* (UAE) menggunakan pelarut asam sitrat:glukosa dari sampel kulit buah kakao. Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode sumuran dengan tiga macam variasi waktu ekstraksi yaitu 10, 20, 30 menit dan replikasi sebanyak 5 kali. Analisa statistik menggunakan *Kruskal Wallis* dan duncan.

**Hasil Penelitian :** Berdasarkan hasil yang diperoleh, didapatkan rata-rata zona hambat pada setiap variasi waktu ekstraksi kulit buah kakao. Pada variasi 10 menit memperoleh rata-rata 10,09 mm, variasi 20 menit dengan rata-rata 12,77 mm dan variasi 30 menit terdapat rata-rata 15, 80 mm kontrol positif 22,06 mm. Sedangkan sampel yang mempunyai zona hambat paling besar yaitu variasi waktu 30 menit. Pada hasil uji skrining fitokimia ekstrak kulit buah kakao mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin

**Kesimpulan :** Semakin tinggi variasi waktu ekstraksi kulit buah kakao maka semakin tinggi zona hambat pada bakteri *Propionibacterium acnes*.

**Kata Kunci :** Kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.), antibakteri, *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE), *Propionibacterium acne*

\*Peneliti

\*\*Pembimbing 1

\*\*\*Pembimbing 2

## ABSTRACT

Fatimah, Amil N\* Ulfa, Evi U\*\* Purwanti, Aliyah\*\*\* .2022. Effect of Cocoa (*Theobroma cacao* L.) Peel Extraction Time Using NADES Solvent Against *Propionibacterium acnes* Bacteria. Thesis. Bachelor of Pharmacy Study Program, Faculty of Health Sciences, University of dr. Soebandi.

**Background:** Acne is a condition in which the pores of the skin are clogged, resulting in pimples and inflamed abscesses on the skin. The bacteria involved in the formation of acne is *Propionibacterium acnes*. Antibiotics are an acne treatment but can cause irritation and resistance. Cocoa pods contain phytochemical compounds in the form of flavonoid catechins, theobromine, tannins, and saponins which are effectively used as antimicrobials. This study aimed to determine the effect of the extraction time of cocoa pods (*Theobroma cacao* L.) using NADES solvent on *Propionibacterium acnes* bacteria.

**Methods:** The type of research used is a laboratory experimental study with the *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) method using citric acid:glucose as a solvent from cocoa pod skin samples. The antibacterial activity was tested using the well method with three different variation times of 10, 20, 30 time and 5 times replication. Statistical analysis using *One Way ANOVA* and Duncan.

**Research Results:** Based on the results obtained, the average zone of inhibition in each ratio of the cocoa sump peel extract sample was obtained. At a time variation of 10 times, the average was obtained 10,09 mm the variation was 20 times with an average 12,77 mm while the variation of 30 times contained an average 15,80 mm positive control of 22, 06 mm. While the sample that has the largest inhibition zone is a ratio of 30 times. On the results of the phytochemical screening test, cocoa pod extract contains alkaloids, flavonoids, tannins and saponins.

**Conclusion:** the higher the time ratio of cocoa pod peel extract, the higher the inhibition zone for *Propionibacterium acnes* bacteria.

**Keywords:** Cocoa pod (*Theobroma cacao* L.), Antibacterial, *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE), *Propionibacterium acnes*

\*Researcher

\*\*Supervisor 1

\*\*\*Supervisor 2

## KATA PENGANTAR

Dengan panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa, yang telah limpahkan rahmat, taufik, dan hidayah-Nya yang tiada terkira sehingga penulis dapat menyelesaikan proposal penelitian untuk memenuhi persyaratan memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi yang berjudul “Pengaruh waktu ekstraksi kulit buah kakao *Theobroma cacao* L. menggunakan pelarut NADES terhadap aktivitas antibakteri *Propionibacterium acnes*” dengan tepat waktu.

Selama proses penyusunan proposal ini penulis dibantu dan dibimbing dari berbagai pihak, oleh karena itu penulis mengucapkan terimakasih 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. Ibu Dr. apt. Evi Umayah, M.Si selaku Dosen Pembimbing Utama dan Penguji II
5. Ibu Aliyah Purwanti, M.Si selaku Dosen Pembimbing Anggota dan Penguji III
6. Ibu Dra. Ratna Suparwati, M.Kes selaku Ketua Penguji

Penyusunan proposal penelitian ini tidak luput dari berbagai kekurangan dan penulis mengharapkan kritik dan saran untuk kesempurnaan proposal penelitian ini sehingga dapat melaksanakan penelitian dengan baik. Akhir kata penulis mengucapkan terima kasih.

Jember, 24 November 2022

## DAFTAR ISI

|                                                                    |              |
|--------------------------------------------------------------------|--------------|
| <b>SKRIPSI.....</b>                                                | <b>ii</b>    |
| <b>LEMBAR PERSETUJUAN .....</b>                                    | <b>iii</b>   |
| <b>LEMBAR PENGESAHAN .....</b>                                     | <b>iv</b>    |
| <b>PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI.....</b>                        | <b>v</b>     |
| <b>SKRIPSI.....</b>                                                | <b>vi</b>    |
| <b>LEMBAR PERSEMBAHAN .....</b>                                    | <b>vii</b>   |
| <b>MOTTO .....</b>                                                 | <b>viii</b>  |
| <b>ABSTRAK .....</b>                                               | <b>ix</b>    |
| <b>ABSTRACT .....</b>                                              | <b>x</b>     |
| <b>KATA PENGANTAR.....</b>                                         | <b>xi</b>    |
| <b>DAFTAR ISI.....</b>                                             | <b>xii</b>   |
| <b>DAFTAR TABEL .....</b>                                          | <b>xv</b>    |
| <b>DAFTAR GAMBAR.....</b>                                          | <b>xvi</b>   |
| <b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>                                       | <b>xvii</b>  |
| <b>DAFTAR SINGKATAN.....</b>                                       | <b>xviii</b> |
| <b>BAB 1 PENDAHULUAN .....</b>                                     | <b>1</b>     |
| 1.1 Latar Belakang.....                                            | 1            |
| 1.2 Rumusan Masalah.....                                           | 4            |
| 1.3 Tujuan Penelitian .....                                        | 5            |
| 1.3.1 Tujuan Umum .....                                            | 5            |
| 1.3.2 Tujuan Khusus .....                                          | 5            |
| 1.4 Manfaat Penelitian .....                                       | 5            |
| 1.4.1 Manfaat Bagi Peneliti .....                                  | 5            |
| 1.4.2 Manfaat bagi Masyarakat.....                                 | 5            |
| 1.4.3 Manfaat bagi Institusi .....                                 | 6            |
| 1.5 Keaslian Penelitian .....                                      | 6            |
| <b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....</b>                                 | <b>9</b>     |
| 2.1 Tanaman Kakao ( <i>Theobroma cacao</i> L.).....                | 9            |
| 2.1.1 Klasifikasi Kakao ( <i>Theobroma cacao</i> L.).....          | 9            |
| 2.1.2 Morfologi Tanaman Kakao ( <i>Theobroma cacao</i> L.).....    | 10           |
| 2.1.3 Kandungan Kulit Buah Kakao ( <i>Theobroma cacao</i> L.)..... | 11           |
| 2.2 Jerawat Dan Penyebab Terjadinya Jerawat .....                  | 13           |

|                                     |                                                     |           |
|-------------------------------------|-----------------------------------------------------|-----------|
| 2.3                                 | <i>Propionibacterium acnes</i> .....                | 14        |
| 2.4.1                               | Klasifikasi <i>Propionibacterium acnes</i> .....    | 15        |
| 2.4.2                               | Morfologi <i>Propionibacterium acnes</i> .....      | 15        |
| 2.4.3                               | Karakteristik <i>Propionibacterium acnes</i> .....  | 16        |
| 2.4                                 | Ekstraksi.....                                      | 17        |
| 2.5                                 | Pelarut .....                                       | 20        |
| 2.6.1                               | <i>Natural Deep Eutectic Solvents</i> (NADES) ..... | 20        |
| 2.6.2                               | Asam Sitrat .....                                   | 22        |
| 2.6.3                               | Glukosa .....                                       | 22        |
| 2.6                                 | Antimikroba .....                                   | 23        |
| 2.7.1                               | Sifat Antimikroba .....                             | 23        |
| 2.7.2                               | Mekanisme Kerja Antimikroba .....                   | 24        |
| 2.7.4                               | Pengukuran Aktivitas Antimikroba .....              | 27        |
| <b>BAB 3 KERANGKA KONSEP.....</b>   |                                                     | <b>30</b> |
| 3.1                                 | Kerangka Konsep.....                                | 30        |
| 3.2                                 | Hipotesis Penelitian .....                          | 31        |
| <b>BAB 4 METODE PENELITIAN.....</b> |                                                     | <b>32</b> |
| 4.1                                 | Desain Penelitian .....                             | 32        |
| 4.2                                 | Populasi dan Sampel.....                            | 32        |
| 4.2.1                               | Populasi.....                                       | 32        |
| 4.2.2                               | Sampel .....                                        | 32        |
| 4.3                                 | Variabel Penelitian.....                            | 33        |
| 4.4                                 | Tempat Penelitian .....                             | 33        |
| 4.5                                 | Waktu Penelitian.....                               | 33        |
| 4.6                                 | Definisi Operasional .....                          | 34        |
| 4.7                                 | Teknik Pengumpulan Data.....                        | 34        |
| 4.7.1                               | Determinasi .....                                   | 34        |
| 4.7.2                               | Pengolahan Serbuk simplisia .....                   | 34        |
| 4.7.3                               | Pembuatan Pelarut NADES .....                       | 35        |
| 4.7.4                               | Pembuatan Ekstrak .....                             | 35        |
| 4.7.5                               | Skrining Fitokimia .....                            | 36        |
| 4.7.6                               | Preparasi Media .....                               | 37        |
| 4.7.7                               | Sterilisasi Alat dan Bahan.....                     | 38        |
| 4.7.8                               | Preparasi Antimikroba .....                         | 38        |

|                                                                              |           |
|------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 4.8 Teknik Analisis Data .....                                               | 40        |
| <b>BAB 5. HASIL PENELITIAN .....</b>                                         | <b>41</b> |
| 5.1 Identifikasi Tanaman Kulit Buah Kakao ( <i>Theobroma cacao</i> L.) ..... | 41        |
| 5.2 Ekstraksi Kulit Buah Kakao ( <i>Theobroma cacao</i> L.) .....            | 41        |
| 5.3 Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Kulit Buah Kakao.....                     | 41        |
| 5.4 Uji Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Kakao ( <i>Theobroma cacao</i> L.)... | 43        |
| 5.5 Analisis Data.....                                                       | 44        |
| <b>BAB 6 PEMBAHASAN .....</b>                                                | <b>46</b> |
| 6.1 Identifikasi Tanaman Kulit Buah Kakao ( <i>Theobroma cacao</i> L.) ..... | 46        |
| 6.2 Skrining Fitokimia .....                                                 | 46        |
| 6.3 Uji Antibakteri .....                                                    | 48        |
| <b>BAB 7 PENUTUP.....</b>                                                    | <b>54</b> |
| 7.1 Kesimpulan .....                                                         | 54        |
| 7.2 Saran .....                                                              | 54        |
| <b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>                                                  | <b>55</b> |

## DAFTAR TABEL

|                                                                        |    |
|------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabel 1. 1 Keaslian Penelitian.....                                    | 6  |
| Tabel 2. 1 Klasifikasi Zona Hambat .....                               | 29 |
| Tabel 4. 1 Definisi Operasional .....                                  | 34 |
| Tabel 5. 1 Hasil Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Kulit Buah Kakao ..... | 42 |
| Tabel 5. 2 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri .....                       | 44 |
| Tabel 5. 3 Hasil Uji Asumsi ANOVA .....                                | 44 |
| Tabel 5. 4 Hasil Uji <i>Kruskall Wallis</i> .....                      | 45 |
| Tabel 5. 5 Hasil Uji Duncan.....                                       | 45 |

## DAFTAR GAMBAR

|                                                                        |    |
|------------------------------------------------------------------------|----|
| Gambar 2. 1 Tanaman Kakao.....                                         | 9  |
| Gambar 2. 2 <i>Propionibacterium acnes</i> di Bawah Mikroskop.....     | 15 |
| Gambar 3. 1 Kerangka Konsep .....                                      | 30 |
| Gambar 5. 1 Hasil uji antibakteri <i>Propionibacterium acnes</i> ..... | 43 |

## DAFTAR LAMPIRAN

|                                                 |    |
|-------------------------------------------------|----|
| Lampiran 1 Determinasi Tanaman.....             | 61 |
| Lampiran 2 Perhitungan.....                     | 62 |
| Lampiran 3 MC. Farland.....                     | 64 |
| Lampiran 4 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri..... | 65 |
| Lampiran 5 Hasil Uji Statistik.....             | 66 |
| Lampiran 6 Dokumentasi.....                     | 68 |

## DAFTAR SINGKATAN

|       |                                         |
|-------|-----------------------------------------|
| UAE   | : <i>Ultrasonic Assisted Extraction</i> |
| MAE   | : <i>Microwave Assisted Extraction</i>  |
| NADES | : <i>Natural Deep Eutectic Solvents</i> |
| NA    | : <i>Nutrient Agar</i>                  |
| MHA   | : <i>Muller Hinton Agar</i>             |

## BAB 1 PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Jerawat (*Acne vulgaris*) adalah suatu keadaan dimana pori-pori kulit tersumbat sehingga timbul bruntusan (bintik merah) dan *abses* (kantong nanah) yang meradang dan terinfeksi pada kulit. Jerawat sering terjadi pada kulit wajah, leher dan punggung. Baik laki-laki maupun perempuan (Susanto, 2013). Menurut Kabau (2012) dalam penelitiannya menjelaskan bahwa faktor penyebab *Acne vulgaris* masih belum jelas, namun hasil dari beberapa penelitian bahwa stress, merokok, alkohol, diet tinggi lemak, minyak, dan infeksi bakteri menjadi faktor pencetus eksaserbasi terjadinya *Acne vulgaris*. Bakteri yang terlibat dalam proses terbentuknya jerawat adalah *Corynebacterium acnes*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Propionibacterium acnes* (Efendi, 2013).

*P. acnes* termasuk bakteri flora normal pada kulit yang merupakan bakteri gram positif yang memiliki bentuk sel batang, panjang berkisar antara 1-1,5  $\mu\text{m}$ , nonmotil, tidak membentuk spora dan dapat tumbuh di udara, pleomorfik, dan bersifat *anaerob aerotolerant*. Bakteri ini berperan dalam pembentukan jerawat, dengan menghasilkan lipase yang memecah asam lemak bebas dari lipid kulit sehingga menyebabkan peradangan. Peradangan tersebut menyebabkan bakteri ini berproliferasi dan memperparah lesi inflamasi dengan merangsang produksi sitokin proinflamasi (Fauzi, 2014).

Masyarakat Indonesia umumnya mengatasi jerawat menggunakan obat jerawat dan antibiotik. Antibiotik merupakan pilihan utama pengobatan jerawat

namun dapat menimbulkan efek samping yaitu iritasi dan resistensi sehingga perlu diperhatikan penggunaannya (Marbun & Situmorang, 2020). Salah satu antibiotik yang digunakan untuk mengobati jerawat adalah ampicilin, eritromisin, atau klindamisin dan tetrasiklin, penggunaan antibiotik secara terus-menerus dapat menyebabkan timbulnya resisten *p.acnes*. Karena itu butuh alternatif lain dalam mengobati *acne vulgaris* dari bahan alami yang diharapkan bisa meminimalkan efek samping dari penggunaan obat antibiotik yang tidak diinginkan (Restiana, Khotimah and Fitrianingrum, 2016).

Jenis tanaman yang dapat dimanfaatkan untuk mengatasi jerawat salah satunya adalah kakao. Kakao menjadi salah satu komoditas unggulan perkebunan Indonesia yang mempunyai jumlah produksi yang sangat besar yaitu mencapai 57.050 ton pada tahun 2017 (Badan pusat statistika, 2017). Produksi buah kakao mengalami peningkatan setiap tahunnya yang mengakibatkan semakin meningkatnya jumlah limbah kulit buah kakao karena bagian tanaman kakao yang sering dimanfaatkan yaitu biji buahnya dan untuk kulit buah kakao tidak dimanfaatkan dan terbuang sia-sia. Diketahui sepuluh ton kulit buah kakao basah berasal dari pengolahan satu ton biji buah kakao kering (Erika, 2013). Persentase terbesar dari satu buah kakao segar terdapat pada kulit nya yakni sekitar 67% (Oddoye *et al.*, 2013). Beberapa teknologi telah dikembangkan untuk mengolah kulit buah kakao menjadi pakan ternak, kompos, dan produk lain, tetapi masih diperlukan teknologi lain untuk dapat memanfaatkannya lebih optimal.

Menurut hasil penelitian Fapohunda dan Afolayan, (2012) kulit buah kakao mengandung fenolik seperti tanin, pirogalol, epikatekin-3-galat, kuersetin dan

resorsinol. Penelitian Adha *et al.*, (2021) dalam ekstrak kulit buah kakao mengandung metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, glikosida.. Wahyudi dan Pujiyanto (2015) menyatakan bahwa pada kulit buah kakao (*T. cacao* L.) mengandung senyawa fitokimia berupa katekin jenis flavonoid, theobromine, tanin, alkaloid dan saponin yang efektif digunakan sebagai penghambat pertumbuhan mikroba.

Metode ekstraksi yang biasa digunakan untuk mengekstraksi zat aktif polifenol seperti flavonoid, alkaloid dan tanin metode yaitu metode ekstraksi konvensional seperti maserasi, soxhlet, dan hidrodistilasi yang menggunakan volume pelarut dalam jumlah besar dan memerlukan waktu ekstraksi yang lama (Bonfigli *et al.* , 2017) Untuk mengatasi kelemahan metode tersebut berbagai teknik ekstraksi baru telah diusulkan untuk ekstraksi senyawa bioaktif dari tanaman, salah satunya metode *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) yaitu metode ekstraksi menggunakan metode ultrasonik yang memiliki sifat non-destruktif dan non-invasif sehingga dapat menjaga kualitas dari produk. Memiliki prinsip akustik kavitas yang dapat merusak dinding sel tanaman sehingga dapat membuat senyawa bioaktif lepas (Medina-torres *et al.*, 2017). Ekstraksi menggunakan UAE memiliki kelebihan yaitu menggunakan lebih sedikit volume pelarut, memperpendek waktu ekstraksi, dan UAE hemat energi biasanya digunakan dalam ekstraksi berbagai jenis produk alami (Jovanović *et al.*, 2017)

Pelarut seperti aseton, etanol, metanol dan pelarut NADES (*Deep Eutectic Solvents*) dapat digunakan untuk mengekstraksi senyawa polifenol yang terdapat pada kulit buah kakao. NADES didefinisikan sebagai campuran dari dua atau

lebih komponen alami yang pada rasio mol tertentu dapat terjadi penurunan pada titik lebur dan menjadi cairan pada suhu kamar (Aroso *et al.* , 2017). NADES memiliki beberapa keunggulan dibandingkan pelarut konvensional yaitu lebih murah, ramah lingkungan dan termasuk golongan *foodgrade* sehingga aman untuk dikonsumsi (Bi *et al.*, 2013). Menurut penelitian Meliyani, Duwi *et al.*, (2019) menunjukkan pelarut NADES asam sitrat – glukosa dengan rasio 1:3 dapat digunakan untuk menarik senyawa fenol pada herba suruhan (*Peperomia pellucida*). Dengan kadar tertinggi total fenol sebesar 214,405 mg GAE/g menggunakan ekstraksi MAE selama 5 menit.

Menurut penelitian Lestari *et al.* , (2015) Penetapan kadar polifenol dari ekstrak etanol daun sintrong sebesar 1,851 g GAE/100 g memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. Ecoli*.

Berdasarkan uraian diatas maka peneliti tertarik melakukan penelitian uji aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah kakao terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dengan menggunakan metode UAE dan pelarut NADES yaitu asam sitrat dan glukosa dengan rasio 3:1 g/g dan waktu 10,20,30 menit.

## 1.2 Rumusan Masalah

- 1 Apakah ada pengaruh waktu ekstraksi kulit buah kakao dengan metode UAE terhadap kandungan senyawa kimia ekstrak NADES kulit buah kakao ?
- 2 Apakah ada pengaruh waktu ekstraksi kulit buah kakao dengan metode UAE menggunakan pelarut NADES terhadap aktivitas antibakteri *Propionibacterium acnes* ?

### **1.3 Tujuan Penelitian**

#### **1.3.1 Tujuan Umum**

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh waktu ekstraksi kulit buah kakao *Theobroma cacao* L. menggunakan pelarut NADES terhadap aktivitas antibakteri *Propionibacterium acnes*.

#### **1.3.2 Tujuan Khusus**

- 1 Mendapatkan hasil data pengaruh waktu ekstraksi kulit buah kakao dengan metode UAE terhadap kandungan senyawa kimia ekstrak kulit buah kakao.
- 2 Mendapatkan hasil data pengaruh waktu ekstraksi kulit buah kakao dengan metode UAE terhadap aktivitas antibakteri *Propionibacterium acnes* dari ekstrak NADES kulit buah kakao.

### **1.4 Manfaat Penelitian**

#### **1.4.1 Manfaat Bagi Peneliti**

Dapat menambah ilmu pengetahuan, wawasan dan pengalaman tentang waktu ekstraksi yang efektif terhadap aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah kakao menggunakan pelarut NADES dengan metode UAE untuk menghambat pertumbuhan *Propionibacterium acnes*.

#### **1.4.2 Manfaat bagi Masyarakat**

Dapat memberikan informasi baru tentang manfaat ekstrak kulit buah kakao serta kandungan senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak kulit buah kakao.

### 1.4.3 Manfaat bagi Institusi

Hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan sebagai sumber informasi dan tambahan pengetahuan bagi mahasiswa yang akan melakukan penelitian lebih lanjut.

### 1.5 Keaslian Penelitian

Tabel 1. 1 Keaslian Penelitian

| Nama Penulis           | Judul Penelitian                                                                                                                 | Hasil Penelitian                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| (Adha & Ibrahim, 2021) | Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Kakao ( <i>Theobroma cacao L.</i> ) terhadap Bakteri ( <i>Propionibacterium acnes</i> ) | Hasil dari penelitian ini menunjukkan ekstrak kulit buah kakao dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%, menggunakan pelarut etanol 96%, metode maserasi, menggunakan kontrol positif klindamisin 0,1% dan DMSO 10% sebagai kontrol negatif memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri <i>P.acnes</i> . Diameter zona hambat tertinggi didapatkan dari konsentrasi 100% yaitu rata-rata sebesar $3,25 \pm 0,33$ cm dan zona hambat paling kecil dihasilkan oleh konsentrasi 25% dengan rata-rata sebesar $1,38 \pm 0,41$ cm. |
| (Adha & Ibrahim, 2021) | Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Kakao ( <i>Theobroma cacao L.</i> ) Terhadap <i>Staphylococcus epidermidis</i>          | Tujuan penelitian yaitu untuk mendeskripsikan aktivitas antibakteri dan konsentrasi terbaik ekstrak kulit buah kakao dalam menghambat pertumbuhan <i>S. epidermidis</i> . Penelitian dilakukan menggunakan metode sumuran yang didesain menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan berbagai perlakuan antara lain konsentrasi ekstrak kulit buah                                                                                                                                                                               |

|                                |                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|--------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                |                                                                                                                  | <p>kakao 25%, 50%, 75%, 100%, kontrol positif (amoksilin), dan kontrol negatif (DMSO 10%). Hasil uji ANOVA yang dilanjutkan dengan uji Duncan menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah kakao diketahui memiliki aktivitas antibakteri yaitu dari penghambatan pertumbuhan bakteri <i>S. epidermidis</i>. Rerata <i>clear zone</i> yang dihasilkan konsentrasi 25%, dan 50% menunjukkan ada perbedaan nyata setiap perlakuan, sedangkan konsentrasi 75% dan 100% tidak menunjukkan perbedaan nyata. Konsentrasi terbaik yang didapatkan adalah 75% dan 100% dengan masing-masing rerata zona hambat, yaitu <math>2,85 \pm 0,42</math> cm dan <math>3,13 \pm 0,43</math> cm.</p>                                                                                                                                                                                                               |
| (Mashuni <i>et al.</i> , 2019) | <p>Pemanfaatan Kulit Buah Kakao sebagai Antibakteri <i>Escherichia coli</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i></p> | <p>Tujuan penelitian ini untuk mendapatkan zat antibakteri dari asap cair dengan metode pirolisis KBK. Metode penelitian ini meliputi: preparasi dengan pengeringan bahan baku KBK selama 5-7 hari kemudian dilakukan pencacahan sampel KBK kering. Selanjutnya, Proses pirolisis dilakukan pada suhu 385-500°C dengan kecepatan alir pemanasan 6°C/menit. Crude asap cair yang diperoleh di filtrasi dan destilasi fraksinasi untuk menghasilkan asap cair yang lebih jernih. Analisis Total Phenolic Content (TPC) asap cair dilakukan dengan metode Folin-Ciocalteu (FC) menggunakan standar asam galat dan instrumen spektrofotometer Ultraviolet-Visible pada panjang gelombang maksimum (<math>\lambda_{maks}</math>) 765 nm. Uji antibakteri asap cair KBK dilakukan menggunakan metode dilusi dengan variasi konsentrasi asap cair yaitu 5, 7, 10 dan 15%. TPC asap cair KBK</p> |

|  |  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|--|--|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  |  | sebesar 1,035 g/L. Analisis spectrogram Gas Chromatography-Mass spectroscopy (GC-MS) asap cair KBK menunjukkan adanya senyawa : asam asetat, metil glioksal, piridin, 4-metil-piridin, 4-[2 (metilamino) etil]-fenol. Hasil analisis konsentrasi hambat minimum (KHM) asap cair KBK terhadap bakteri <i>Escherichia coli</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i> didapatkan pada konsentrasi 15%. |
|--|--|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

Perbedaan penelitian ini dengan penelitian sebelumnya yaitu penggunaan metode ekstraksi UAE (*Ultrasound Assisted Extraction*) dan dengan pelarut NADES, sedangkan untuk persamaan penelitian ini dengan penelitian sebelumnya yaitu menggunakan ekstrak kulit buah kakao dan bakteri *Propionibacterium acnes*.

## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tanaman Kakao (*Theobroma cacao* L.)

Tanaman kakao berasal dari Amerika Selatan. Dengan tempat tumbuhnya di hutan hujan tropis, tanaman kakao telah menjadi bagian dari kebudayaan masyarakat selama 2000 tahun. Nama latin tanaman kakao adalah *Theobroma Cacao* yang berarti makanan untuk Tuhan. Masyarakat Aztec dan Mayans di Amerika Tengah telah membudidayakan tanaman kakao sejak lama, yaitu sebelum kedatangan orang-orang Eropa (Hariyadi *et al.*, 2017).

Tanaman kakao adalah tanaman yang ditanam secara garis besar tanaman kakao dibedakan menjadi tiga jenis yaitu *Forastero*, *Criollo* dan *Trinitario* yang merupakan hasil persilangan antara *Forastero* dan *Criollo*. Varietas kakao hibrida adalah varietas *Trinitario* yang memiliki kapasitas produksi lebih tinggi dibandingkan varietas *Criollo* dan *Forastero* (Surti, 2012).

#### 2.1.1 Klasifikasi Kakao (*Theobroma cacao* L.)



**Gambar 2.1 Tanaman Kakao**  
(Fitri.ratnasari, 2017)

Klasifikasi tanaman kakao menurut Medanense Herbarium, (2015) sebagai berikut:

Kingdom : Plantae  
 Divisi : Spermatophyta  
 Kelas : Dicotyledoneae  
 Ordo : Malvales  
 Family : Sterculiaceae  
 Genus : *Theobroma*  
 Species : *Theobroma cacao L.*

### 2.1.2 Morfologi Tanaman Kakao (*Theobroma cacao L.*)

Tanaman kakao tergolong dalam suku Sterculiaceae dari bangsa Malvales. Tanaman kakao memiliki daun berbentuk bulat memanjang, ujung daun meruncing, pangkal daun meruncing dan susunan pertulangan menyirip serta memiliki permukaan bawah menonjol. Pada tanaman tunas *orthotrop*, Tangkai daun bentuknya silinder dan bersisik halus, bergantung pada tipenya, panjang tangkai daun 7,5 – 10 cm dan tunas *plagiotrop* panjang tangkai daun 2,5 cm (Sunarto, 2013)

Batang tanaman kakao bersifat *dimorfisme* yang berarti memiliki dua bentuk tunas vegetatif. Tunas yang arah pertumbuhannya ke atas disebut dengan tunas *ortotrop* atau tunas air (wiwilan atau chupon), sedangkan tunas yang arah pertumbuhannya ke samping disebut dengan *plagiotrop* (cabang kipas). Tanaman kakao yang masih muda memiliki batang yang lurus, namun pada umur sekitar 10 bulan akan membentuk cabang *poligotrop* (Susanto, 2013).

Bunga kakao terdapat berwarna putih, ungu atau kemerahan. Warna bunga ini khas untuk setiap kultivar. Tangkai bunga kecil tetapi panjang (1-1,5 cm). Daun mahkota panjangnya 6-8 mm, terdiri atas dua bagian. Bagian pangkal berbentuk seperti kuku binatang (*claw*) dan biasanya terdapat dua garis merah. Bagian ujungnya berupa lembaran tipis, fleksibel, dan berwarna putih (Winda Sary, 2020).

Warna buah kakao sangat beragam, tetapi pada dasarnya hanya ada dua macam warna. Buah yang ketika muda berwarna hijau atau hijau agak putih jika sudah masak akan berwarna kuning. Sementara itu, buah yang ketika muda berwarna merah, setelah masak berwarna jingga (*orange*) (Pujiyanto, 2013).

### **2.1.3 Kandungan Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.)**

Penelitian Adha *et al.*, (2021) dalam ekstrak kulit buah kakao mengandung metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, glikosida. (Azizah *et al.*, 2014). Kulit buah kakao mengandung flavonoid, tanin Theobromine, pektin, dan lignin (Azizah *et al.*, 2014). Kulit buah kakao mengandung fenolik seperti tanin, pirogalol, epiketin-3-galat, kuersetin, dan resorsinol. (Sartini, *et al.*, 2012).

Menurut hasil penelitian Fapohunda dan Afolayan, (2012) kulit buah kakao mengandung senyawa kimia fenolik seperti tanin, pirogalol, epikatekin-3-galat, kuersetin, resorsinol dan alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, glikosida. Wahyudi dan Pujiyanto (2015) menyatakan bahwa pada kulit buah kakao (*T. cacao* L.) mengandung senyawa fitokimia berupa katekin jenis flavonoid, theobromine, tanin, dan saponin yang efektif digunakan sebagai penghambat pertumbuhan mikroba.

a. Alkaloid

Alkaloid adalah senyawa organik yang memiliki atom nitrogen dan mempunyai sifat basa sehingga dapat menyebabkan koagulasi protein pada sel bakteri yang bermolekul kecil, mempunyai kandungan nitrogen yang memiliki efek farmakologi kepada manusia dan hewan. Alkaloid juga digolongkan kedalam jenis senyawa yang tidak mudah homogen dari segi biokimia, kimia, maupun fisiologi. Alkaloid mempunyai ciri khas pada senyawa yaitu rasa pahit dan biasanya hanya mempunyai satu molekul N. Senyawa ini juga biasanya terdapat pada biji, buah, akar, batang, dan bagian tanaman lainnya (Lully Hanni, 2016).

b. Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa bagian dari metabolit sekunder terbanyak pada tanaman. Flavonoid memiliki struktur kimia C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> dan 2 cincin aromatik yang terikat sebagai penghubung tiga rantai karbon. Struktur flavonoid mempunyai ikatan terhadap aktivitas antibakteri, mekanisme flavonoid seperti quercetin disebabkan adanya hambatan DNA gyrase (Pater Suteja et al., 2016).

c. Tanin

Tanin adalah suatu senyawa fenolik yang memiliki ciri khas rasa pahit atau sepat, dapat bereaksi dan menggumpal jika bertemu dengan senyawa organik yang memiliki kandungan alkaloid dan asam amino (Julianto, 2019). Senyawa ini memiliki golongan senyawa fenol yang dapat ditemukan pada buah atau daun yang belum matang. Golongan tanin terbagi menjadi 2 golongan secara kimia yaitu: tanin katekin atau juga biasa disebut tanin terkondensasi dan tanin galat

atau tanin terhidrolisis, merupakan juga termasuk senyawa polifenol (Illing, Ilmiati, safitri, wulan, 2017).

d. Saponin

Saponin dapat membentuk suatu efek pembentukan busa yang susah hilang selama beberapa menit saat dilakukan penggojokkan dengan air (Julianto, 2019). Saponin terdapat pada seluruh tanaman yang berkonsentrasi besar pada bagian-bagian tertentu. Saponin merupakan senyawa metabolit sekunder dengan kelompok glikosida triterpenoid atau steroid aglikon, saponin memiliki rasa pahit maupun manis dan senyawa ini bisa larut dalam air tetapi tidak larut dalam eter (Illing, Ilmiati, safitri, wulan, 2017).

e. Polifenol

Polifenol berasal dari kata poli (banyak) dan fenol (senyawa fenol) sehingga polifenol dapat dikatakan sebagai suatu senyawa yang terdiri dari gugus-gugus fenol yang banyak. Polifenol merupakan suatu senyawa yang terjadi dari polimerisasi fenol yang begitu kompleks dan umumnya mempunyai rantai panjang. (Pratiwi, 2019).

## 2.2 Jerawat Dan Penyebab Terjadinya Jerawat

*Acne vulgaris* adalah suatu keadaan dimana pori-pori kulit tersumbat sehingga timbul bruntusan (bintik merah) dan *abses* (kantong nanah) yang meradang dan terinfeksi pada kulit. Jerawat sering terjadi pada kulit wajah, leher dan punggung. Baik laki-laki maupun perempuan (Susanto, 2013). Menurut penelitian Muliyan dan Suriana (2013) Jerawat adalah reaksi dari penyumbatan

pori-pori kulit disertai peradangan yang bermuara pada saluran kelenjar minyak kulit. Sekresi minyak kulit menjadi tersumbat, membesar dan akhirnya mengering menjadi jerawat

Menurut Kabau (2012) dalam penelitiannya menjelaskan bahwa faktor penyebab *Acne vulgaris* masih belum jelas, namun hasil dari beberapa penelitian bahwa stress, merokok, alkohol, diet tinggi lemak, minyak, dan infeksi bakteri menjadi faktor pencetus eksaserbasi terjadinya *Acne vulgaris*. Bakteri yang terlibat dalam proses terbentuknya jerawat adalah *Corynebacterium acnes*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Propionibacterium acnes*. Peran bakteri ini adalah membentuk enzim lipase yang dapat memecah trigliserida menjadi asam lemak bebas yang bersifat komedogenik (Efendi, 2013).

### 2.3 *Propionibacterium acnes*

*Propionibacterium acnes* merupakan, bakteri flora normal pada kulit, biasanya bakteri ini terdapat pada folikel sebacea. Tidak hanya itu, *Propionibacterium acnes* juga dapat ditemukan pada jaringan manusia, paru-paru, dan jaringan prostat. Kulit merupakan habitat utama dari *Propionibacterium acnes*, namun dapat juga diisolasi dari rongga mulut, saluran pernafasan bagian atas, saluran telinga eksternal, konjungtiva, usus besar, uretra, dan vagina. *Propionibacterium acnes* termasuk bakteri gram positif, pleomorfik, dan bersifat anaerob aerotolerant. *Propionibacterium acnes* memiliki lebar 0,5-0,8  $\mu\text{m}$  dan panjang 3-4  $\mu\text{m}$ , bakteri ini berbentuk batang dengan ujung meruncing atau *koloid* (bulat).

### 2.3.1 Klasifikasi *Propionibacterium acnes*



**Gambar 2.2 *Propionibacterium acnes* di Bawah Mikroskop**  
dengan Pembesaran 100x (Abate, 2013)

Adapun klasifikasi ilmiah *Propionibacterium acnes* Narulita *et al.*, (2017).

Kingdom : Bacteria  
Phylum : Actinobacteria  
Class : Actinomycetales  
Orede : Propionibacteriae  
Family : Propionibacteriaceae  
Genus : Propionibacterium  
Species : *Propionibacterium acnes*

### 2.3.2 Morfologi *Propionibacterium acnes*

*Propionibacterium acnes* adalah bakteri gram positif yang memiliki bentuk sel batang, panjang berkisar antara 1-1,5  $\mu\text{m}$ , nonmotil, tidak membentuk spora dan dapat tumbuh di udara dan memerlukan oksigen mulai dari aerob atau anaerob fakultatif sampai ke anaerob. Sehingga, bakteri ini mampu melakukan fermentasi glukosa yang menghasilkan asam propionat dan asetat dalam jumlah banyak (Harjadi, 2014).

### 2.3.3 Karakteristik *Propionibacterium acnes*

Bakteri *Propionibacterium acnes* memiliki karakteristik yang berkoloni kecil yang berwarna putih, permukaan halus dan konsistensi yang padat pada media *Blood Agar Plate* (BAP). Saat pewarnaan gram terlihat bakteri *Propionibacterium acnes* ini menunjukkan ciri-cirinya yaitu berbentuk batang yang tak beraturan dan terlihat pada pewarnaan gram menunjukkan bakteri tersebut berwarna ungu yang menandakan bakteri ini termasuk golongan gram positif. Sifat bakteri ditentukan melalui uji biokimia, uji biokimia bakteri digunakan untuk mengetahui sifat-sifat bakteri terhadap berbagai macam zat. Hasil uji biokimia dari bakteri *Propionibacterium acnes* menunjukkan bakteri ini positif pada uji TSIA, uji Indol, uji simon dan uji katalase (Harjadi, 2014).

Uji TSIA adalah media diferensial yang digunakan untuk menentukan fermentasi karbohidrat. Uji TSIA juga dapat mendeteksi adanya gas hasil dari metabolisme karbohidrat. Bakteri *Propionibacterium acnes* menunjukkan positif fermentasi karbohidrat yang ditandai dengan perubahan warna media menjadi kuning. Uji indol bertujuan untuk mengidentifikasi kemampuan bakteri menghasilkan indol dengan menggunakan enzim *tryptophanase*. Bakteri *Propionibacterium acnes* memiliki enzim *tryptophanase* menghidrolisis tryptophan menjadi indol, piruvat dan ammonia. Uji simon sitrat ini bertujuan untuk mendeteksi kemampuan suatu organisme untuk memanfaatkan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon dan energi. Bakteri *Propionibacterium acnes* memanfaatkan sitrat sebagai sumber karbon ditunjukkan dengan hasil positif pada uji simon sitrat (Lestari *et al.* , 2015).

## 2.4 Ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Simplisia yang akan diekstrak mengandung senyawa aktif yang dapat larut dan senyawa yang tidak dapat larut dan mempunyai struktur yang berbeda-beda (Ditjen POM, 2000).

Hasil dari ekstraksi disebut dengan ekstrak. Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Ditjen POM, 2000).

Pemilihan metode ekstraksi sangat tergantung pada sifat bahan dan senyawa yang akan diisolasi. Sebelum memilih suatu metode, target ekstraksi perlu ditentukan terlebih dahulu (Stephenson, 2018).

Ekstraksi bahan aktif dari tumbuhan dapat dilakukan dengan berbagai teknik. Ada beberapa metode ekstraksi, yaitu :

### a. Cara dingin

#### 1. Maserasi

Maserasi merupakan proses penyarian simplisia dengan cara perendaman menggunakan pelarut dengan sesekali pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Metode ini dapat dilakukan dengan cara merendam bahan dengan sekali-sekali dilakukan pengadukan, pada umumnya perendaman dilakukan selama 24 jam. Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian

konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi yang dilakukan pengadukan secara terus menerus disebut maserasi kinetik sedangkan yang dilakukan penambahan ulang pelarut setelah dilakukan penyaringan terhadap maserat pertama dan seterusnya disebut remaserasi

## 2. Perkolasi

Perkolasi merupakan proses penyarian simplisia dengan pelarut yang selalu baru sampai terjadi penyarian sempurna ( *exhaustive extraction* ) yang umumnya dilakukan pada temperatur kamar. Proses terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan/penampungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak ( perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bertahan.

### b. Cara Panas

Metode menggunakan cara panas dapat dilakukan dengan beberapa metode berikut:

1. Refluks merupakan ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik.
2. Soxhlet merupakan ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi *kontinue* dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.
3. Digesti merupakan proses maserasi kinetik (dengan pengadukan *kontinue*) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan (kamar) yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50°C.

4. Infus merupakan 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).
5. Dekoktasi merupakan proses infus pada waktu yang lebih lama  $\geq 30$  menit dan temperatur sampai titik didih air

c. Metode non konvensional.

1. *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE)

*Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) juga disebut ekstraksi ultrasonik atau sonikasi, menggunakan energi gelombang ultrasonik dalam ekstraksi. Ultrasonografi dalam pelarut yang menghasilkan kavitasi mempercepat pelarutan dan difusi zat terlarut serta perpindahan panas, yang meningkatkan efisiensi ekstraksi. Keuntungan lain dari UAE termasuk konsumsi pelarut dan energi yang rendah, serta pengurangan suhu dan waktu ekstraksi. UAE berlaku untuk ekstraksi senyawa termolabil dan tidak stabil. UAE biasanya digunakan dalam ekstraksi berbagai jenis produk alami (Zhang *et al.*, 2018).

2. *Microwave Assisted Extraction* (MAE)

*Microwave Assisted Extraction* (MAE) merupakan gelombang mikro menghasilkan panas dengan berinteraksi dengan senyawa polar seperti air dan beberapa komponen organik dalam matriks tumbuhan mengikuti konduksi ionik dan mekanisme rotasi dipol. Perpindahan panas dan massa searah dengan MAE, yang menghasilkan efek sinergis untuk mempercepat ekstraksi dan meningkatkan hasil ekstraksi (Zhang *et al.*, 2018).

## 2.5 Pelarut

Pelarut pada umumnya adalah zat yang berada pada larutan dalam jumlah yang besar, sedangkan zat yang lainnya dianggap sebagai zat terlarut. Pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi haruslah merupakan pelarut terbaik untuk zat aktif yang terdapat dalam sampel atau simplisia, sehingga zat aktif dapat dipisahkan dari simplisia dan senyawa lainnya yang ada dalam simplisia tersebut (Marjoni, 2016).

### 2.5.1 *Natural Deep Eutectic Solvents (NADES)*

*Deep Eutectic Solvents* (DES) adalah pelarut baru seperti *Ionic liquids* (ILs), dengan karakteristik yang diinginkan seperti biaya rendah, kelarutan tinggi, potensi luas dan kompatibel dengan lingkungan. Disebut sebagai *Deep Eutectic Solvents* (DES) karena ketika dua komponen pembentuknya dicampur bersama dalam rasio yang tepat, maka titik eutektik akan terjadi. Pelarut DES termasuk ILs dengan mencampurkan garam amonium kuarterner tersubstitusi dan donor ikatan hidrogen, keduanya memiliki titik leleh yang tinggi, untuk membentuk campuran eutektik dengan titik peleburan yang jauh lebih rendah (Leron, *et al.*, 2012). DES yang paling umum didasarkan pada kolin klorida (ChCl), asam karboksilat, dan donor ikatan hidrogen lainnya, seperti urea, asam sitrat, asam suksinat, dan gliserol (Craveiro, *et al.*, 2016).

*Natural Deep Eutectic Solvents* (NADES) merupakan pelarut alternatif yang ramah lingkungan. Potensi penggunaan pelarut NADES dapat diaplikasikan dalam proses ekstraksi (misalnya perasa makanan, pewangi, pewarna, obat-obatan, kosmetik, dan bahan kimia pertanian), kimia organik sintesis, dan reaksi

enzimatis. NADES menyajikan sifat yang baik untuk digunakan sebagai pelarut ekstraksi alternatif, seperti cair pada suhu kamar (dan terkadang bahkan di bawah 0°C), memiliki viskositas yang dapat diatur dengan mudah, dan berkelanjutan serta aman (Paiva *et al.*, 2014).

Dari perspektif lingkungan dan ekonomi, NADES juga menawarkan banyak keuntungan yang mencolok termasuk kemampuan terurai secara hayati, keberlanjutan, biaya rendah dan persiapan yang sederhana. Semua sifat ini membuatnya menarik untuk aplikasi di bidang yang berhubungan dengan kesehatan seperti farmasi, makanan, dan kosmetik. Penggunaan pelarut NADES telah digunakan untuk melarutkan DNA, sebagai media reaksi enzim, biotransformasi dan ekstraksi fenolat (Dai *et al.*, 2015).

Menurut Dai *et al.*, (2013) menyatakan NADES dapat dikelompokkan berdasarkan senyawa-senyawa penyusunnya sebagai berikut :

1. Cairan ionik, terdiri dari asam-asam organik (asam sitrat, asam maleat, asam laktat) dan senyawa-senyawa basa (choline chloride, betaine chloride, dan betaine).
2. NADES netral, tidak ada konstituen ionik, seperti campuran *polyalcohols* (gliserol, glisin, 1-2-propanediol).
3. NADES yang bersifat asam, terdiri dari senyawa-senyawa netral (glukosa, fruktosa, sukrosa, maltosa, trehalose) dan senyawa-senyawa asam.
4. NADES yang bersifat basa, yang terdiri dari senyawa-senyawa netral dan senyawa-senyawa basa.

5. NADES yang bersifat amfoter, kombinasi dari asam amino ( $\alpha$ -Proline,  $\beta$ Alanine) dan gula, *polyalcohol*, atau senyawa-senyawa asam.

Secara umum, viskositas campuran eutektik terutama dipengaruhi oleh sifat kimiawi komponen DES (jenis garam amonium dan HBD, rasio molar garam organik/HBD), suhu, dan kadar air. Penggunaan kation kecil atau donor ikatan hidrogen berflourinasi dapat menyebabkan pembentukan DES dengan viskositas rendah. Viskositas DES yang tinggi sering dikaitkan dengan keberadaan jaringan ikatan hidrogen yang luas di antara setiap komponen menghasilkan mobilitas spesies bebas yang lebih rendah di dalam DES. Ukuran ion yang besar dan volume rongga yang sangat kecil pada sebagian besar DES, tetapi juga gaya lain seperti interaksi elektrostatis atau *Van der Waals* dapat berkontribusi pada viskositas DES yang tinggi (Zhang *et al.*, 2012).

### 2.5.2 Asam Sitrat

Asam sitrat merupakan asam organik lemah yang memiliki rumus kimia  $C_6H_8O_7$ . Pada keadaan temperatur kamar asam sitrat berbentuk serbuk kristal berwarna putih. Permintaan asam sitrat di pasar global cukup banyak. Karena asam sitrat memainkan peran penting dalam industri makanan, minuman, farmasi, kosmetik kimia, dan industri lainnya untuk aplikasi seperti asidulasi, antioksidan, rasa, peningkatan, pengawetan, dan plastisitas dan sebagai agen sinergis (Auta *et al.*, 2014)

### 2.5.3 Glukosa

Glukosa merupakan gula sederhana yang ditemukan secara alami di dalam jagung. Glukosa adalah sumber utama energi bagi tubuh dan digunakan oleh

sel-sel otak. Pati yang dicerna dalam tubuh menghasilkan glukosa, bahkan karbohidrat yang tidak tercerna seperti selulosa tersusun dari glukosa. Glukosa merupakan produk utama fotosintesis dan glukosa juga disebut dengan *dextrose*. Glukosa dapat diperoleh dari pati yang diperoleh dari bahan yang mengandung karbohidrat (Dewi *et al.* , 2018)

## **2.6 Antimikroba**

Antimikroba adalah bahan-bahan atau obat-obatan yang digunakan untuk membunuh infeksi mikroba pada manusia termasuk diantaranya antibiotik, antiseptik, desinfektan, dan preservative. Antimikroba merupakan suatu zat-zat kimia yang diperoleh atau dibentuk dan dihasilkan oleh mikroorganisme, zat tersebut mempunyai daya penghambatan mikroorganisme lain (Djide, 2008: 339).

Zat antimikroba adalah senyawa yang dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Zat antimikroba dapat bersifat membunuh mikroorganisme (*microbicidal*) atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme (*microbiostatic*) (Anonim, 2008: 62)

### **2.6.1 Sifat Antimikroba**

- a. Bakteriostatik, yaitu menghambat atau menghentikan pertumbuhan mikroorganisme seperti menghentikan pertumbuhan fungi, sitostatika terhadap kanker. Dalam keadaan seperti ini jumlah mikroorganisme menjadi stasioner, contoh sulfonamida, tetrasiklin, kloramfenikol, dan eritromisin.
- b. Bakterisid, bersifat membunuh mikroorganisme. Dalam hal ini jumlah mikroorganisme akan berkurang bahkan habis, tidak dapat melakukan

multiplikasi atau berkembang biak, contoh penisilin, sefalosporin, dan neomisin (Dwyana, 2006: 126).

### **2.6.2 Mekanisme Kerja Antimikroba**

#### **a. Mengganggu metabolisme sel mikroba**

Pada umumnya mikroba membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya yang disintesis dari asam amino para benzoat (PABA) (Ganiswarna, 1995: 572).

Antimikroba bersifat sebagai antimetabolit dimana antimikroba bekerja memblokir terhadap metabolit spesifik mikroba, seperti Sulfonamida. Sulfonamida menghambat pertumbuhan sel dengan menghambat sintesis asam folat oleh bakteri. Sulfonamida secara struktur mirip dengan asam folat, *Para Amino Benzoic Acid* (PABA), dan bekerja secara kompetitif untuk enzim-enzim yang langsung mempersatukan PABA dan sebagian pteridin menjadi asam dihidropteroat. Asam folat terganggu dan mengakibatkan nonfungsional dan metabolisme dalam sel mikroba akan terganggu (Djide, 2008: 341)

#### **b. Penghambatan terhadap sintesis dinding sel**

Dinding sel bakteri terdiri dari peptidoglikan yaitu suatu kompleks polimer mukopeptida (mukopeptida). Beberapa antibiotik seperti sikloserin menghambat reaksi paling dini dari proses sintesis dinding sel diikuti oleh basitrasin dan vankomisin dan diakhiri oleh penisilin dan sefalosporin yang menghambat reaksi terakhir (transpeptidasi) (Ganiswarna, 1995: 572).

c. Penghambatan sintesis protein sel bakteri

Hidupnya suatu sel tergantung pada terpeliharanya molekul-molekul dalam keadaan alamiah. Suatu kondisi atau substansi mengubah keadaan ini yaitu mendenaturasi protein dengan merusak sel tanpa dapat diperbaiki kembali. Suhu tinggi atau konsentrasi beberapa zat dapat mengakibatkan koagulasi irreversible komponen-komponen sel yang mendukung kehidupan suatu sel. Antimikroba mempunyai fungsi ribosom pada mikroorganisme yang menyebabkan sintesis protein terlambat. Dimana dapat berikatan dengan ribosom 30S yang dapat menyebabkan akumulasi sintesis protein awal yang kompleks, sehingga salah dalam menerjemahkan tanda mRNA dan menghasilkan polipeptida yang abnormal. Selain itu juga dapat berikatan dengan ribosom 50S yang dapat menghambat ikatan asam amino baru pada rantai peptida yang memanjang. Contohnya aminoglikosida, kloramfenikol, tetrasiklin, eritromisin dan linkomisin (Ganiswarna, 1995: 573)

### **2.6.3 Senyawa yang Bersifat Antimikroba**

Senyawa yang mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri banyak terkandung di dalam tumbuhan. Beberapa senyawa antimikroba antara lain yaitu, saponin, tannin, flavonoid, xantol, terpenoid, alkaloid dan sebagainya (Suerni, dkk, 2013). Selain senyawa antimikroba yang diperoleh dari tumbuhan ada pula senyawa antimikroba buatan, contohnya amoxilin. Pada dasarnya setiap senyawa antimikroba memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara melisiskan dinding sel bakteri. Berikut adalah beberapa senyawa antimikroba yang ada dalam tumbuhan.

a. Saponin

Merupakan salah satu senyawa yang mempunyai kemampuan untuk melisiskan dinding sel bakteri apabila berinteraksi dengan dinding bakteri (Pratiwi dalam Karlina, 2013). Saponin yang diujikan langsung pada bakteri dapat meningkatkan permeabilitas membrane sel bakteri, sehingga struktur dan fungsi membran sel berubah. Hal tersebut akan mengganggu kestabilan permukaan dinding sel, memudahkan zat antibakteri masuk ke dalam sel dan mengganggu metabolisme sel yang mengakibatkan terjadinya denaturasi protein bakteri.

b. Flavonoid

Merupakan senyawa fenol yang mempunyai sifat sebagai desinfektan. Karena flavonoid yang bersifat polar membuat flavonoid dapat dengan mudah menembus lapisan peptidoglikan yang juga bersifat polar, sehingga flavonoid sangat efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif. Flavonoid mempunyai cara kerja yang sama seperti saponin dalam hal menghambat pertumbuhan bakteri, yaitu dengan mendenaturasi protein bakteri yang menyebabkan terhentinya aktivitas metabolisme sel bakteri. Terhentinya aktivitas metabolisme mengakibatkan kematian pada sel.

c. Tanin

Tannin merupakan senyawa yang dapat merusak membran sel bakteri. Pernyataan yang diungkapkan oleh Pratiwi dan Karlina (2013), senyawa tanin mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara mengkoagulasi protoplasma bakteri.

d. Terpenoid

Senyawa antibakteri jenis terpenoid efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri, fungi, virus dan protozoa. Seperti pada umumnya mekanisme kerja terpenoid dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara mengiritasi dinding sel dan mengumpalkan protein bakteri. Sehingga menyebabkan terjadi hidrolisi dan difusi cairan sel karena adanya perbedaan tekanan osmosis (PratiwidalamKarlina,2013).

e. Xanthone

Senyawa xanthone memiliki fungsi antioksidan tinggi sehingga dapatmenetralkan dan menghancurkan radikal bebas yang memicu munculnya penyakit degeneratif.

f. Alkaloid

Alkaloid mencakup senyawa bersifat basa yang mengandung satu atau lebihatomnitrogen, umumnya berupa asam amino. Alkaloid mempunyai aktivitas antimikroba yang diketahui dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara menghambat sintesis dinding sel, mengubah permeabilitas membran melalui transportaktif dan menghambat sintesis protein (Mangunwardoyo, 2009).

#### **2.6.4 Pengukuran Aktivitas Antimikroba**

1. Difusi

a. Metode difusi cakram

Metode difusi cakram merupakan metode untuk menentukan aktivitas agen antimikroba menggunakan kertas cakram dengan diameter  $6 \pm \text{ mm}$  yang mengandung senyawa uji yang diletakkan pada permukaan agar yang telah

ditanami bakteri uji. Senyawa uji akan berdifusi membentuk zona hambat . Metode cakram ini mcemiliki kelebihan dan kekurangan. Kelebihannya adalah mudah dilakukan, tidak memerlukan peralatan khusus dan relative murah. Kelemehannya adalah ukuran zona bening yang terbentuk tergantung oleh kondisi inkubasi (Jayanti, 2018).

b. Cara Parit (*ditch*)

Metode ini dilakukan dengan menempatkan benda uji berupa zat antibakteri pada alur yang dibuat dengan memotong media agar dalam cawan petri pada bagian yang mengandung agen bakteri. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Area bening di sekitar parit menunjukkan bahwa agen antibakteri menekan (menghambat) pertumbuhan mikroba (Pratiwi, 2019).

c. Metode Sumuran

Metode sumuran merupakan metode yang dilakukan dengan membuat lubang tegak lurus pada agar yang telah diinokulasi dengan bakteri uji. Jumlah dan letak lubang disesuaikan, kemudian lubang diisi dengan sampel yang akan diuji. Setelah dilakukan inkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambat di sekeliling lubang (Nurhayati *et al.*, 2020).

2. Dilusi

a. Metode Dilusi Cair

Metode uji pengenceran cair (pengenceran serial) mengukur KHM (konsentrasi minimum atau kadar bunuh minimum, KBM). Metode yang digunakan terdiri dari membuat serangkaian pengenceran agen mikroba dalam media cair yang tambahkan ke organisme uji. Tingkat minimum larutan uji

sebagaimana ditentukan oleh KHM. Kemudian, KHM ditumbuhkan dalam media cair tanpa penambahan mikroorganisme uji atau agen antibakteri dan diinkubasi selama 18-24 jam. Medium cair yang terlihat jelas setelah diinkubasi disebut KBM (Mauliyanti, 2017).

b. Metode Dilusi Padat

Metode dilusi padat merupakan metode untuk menentukan konsentrasi minimum dari zat antibakteri. Kelebihan dari metode ini adalah dapat menguji beberapa bakteri uji dengan satu konsentrasi agen antibakteri (Pratiwi, 2019).

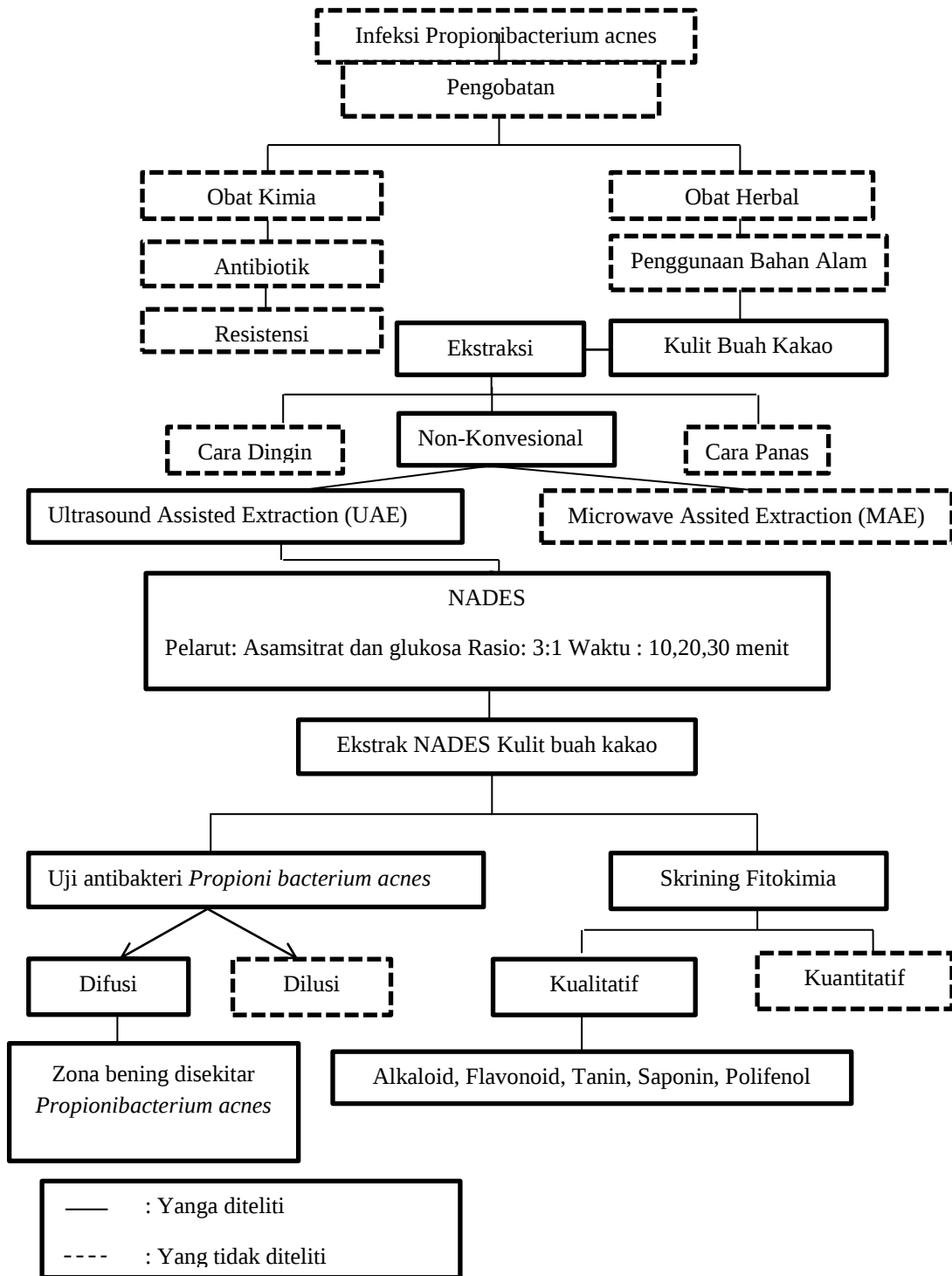
Adapun klasifikasi kategori zona hambat antibakteri menurut Davis dan Stout dalam Andayani *et al.*, (2016) dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 2. 1 Klasifikasi Zona Hambat

| Diameter zona bening | Respon hambatan pertumbuhan |
|----------------------|-----------------------------|
| >20 mm               | Sangat Kuat                 |
| 16-20 mm             | Kuat                        |
| 10-15 mm             | Sedang                      |
| <10 mm               | Lemah                       |

## BAB 3 KERANGKA KONSEP

### 3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3. 1 Kerangka konsep

### 3.2 Hipotesis Penelitian

$H_0$  : Waktu ekstraksi kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) menggunakan pelarut NADES mempengaruhi kandungan senyawa kimia dan aktivitas antibakteri *Propionibacterium acnes*.

$H_a$  : Waktu ekstraksi kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) menggunakan pelarut NADES mempengaruhi kandungan senyawa kimia dan aktivitas antibakteri *Propionibacterium acnes*.

## **BAB 4 METODE PENELITIAN**

### **4.1 Desain Penelitian**

Desain penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental laboratorium menggunakan proses ekstraksi UAE dengan pelarut NADES. Metode yang digunakan pada uji antibakteri adalah metode difusi sumuran. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh waktu ekstraksi kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L) menggunakan pelarut NADES dengan menggunakan metode difusi sumuran terhadap *Propionibacterium acnes*.

### **4.2 Populasi dan Sampel**

#### **4.2.1 Populasi**

Populasi adalah wilayah generalisasi yang terdiri atas objek atau subjek yang mempunyai kuantitas dan karakteristik tertentu yang ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari dan kemudian ditarik kesimpulannya (Sugiono, 2016) Populasi pada penelitian ini adalah kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L) yang diperoleh dari Pusat Penelitian Kopi dan Kakao yang berada di Desa Nogosari Kecamatan Rambipuji Kabupaten Jember.

#### **4.2.2 Sampel**

Sampel adalah bagian dari populasi. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.)

### 4.3 Variabel Penelitian

Variabel adalah segala sesuatu yang berbentuk apa saja yang ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari sehingga diperoleh informasi tentang hal tersebut, kemudian ditarik kesimpulannya. Variabel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu variabel *independent* dan variabel *dependent*, adapun penjelasannya sebagai berikut:

- 1 Variabel *independent*/variabel bebas adalah variabel yang berperan memberi pengaruh kepada variabel lain. Variabel *independent* pada penelitian ini adalah waktu ekstraksi kulit buah kakao
- 2 Variabel *dependent*/variabel terikat adalah variabel yang dijadikan sebagai faktor yang dipengaruhi oleh sebuah atau sejumlah variabel lain. Variabel *dependent* dari penelitian ini adalah kandungan senyawa kimia ekstrak kulit buah kakao dan aktivitas antibakteri *Propionibacterium acnes*.

### 4.4 Tempat Penelitian

Penelitian ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) dilakukan di Laboratorium Terpadu Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi

### 4.5 Waktu Penelitian

Waktu penelitian untuk uji aktivitas antibakteri yang dimulai dari penyiapan sampel sampai penentuan konsentrasi efektif dilakukan pada bulan Agustus-September 2022

## 4.6 Definisi Operasional

Tabel 4.1 Definisi operasional

| No | Variabel                                             | Definisi                                                                                                             | Cara ukur                                                                   | Alat ukur                     | Skala data | Hasil ukur                                                                                |
|----|------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1  | Skrining Fitokimia                                   | Pengujian warna menggunakan suatu pereaksi untuk mengetahui kandungan senyawa kimia ekstrak kulit buah kakao         | Dengan menambah beberapa reagen yang sesuai                                 | Tabung reaksi dan pipet tetes | Nominal    | Terbentuknya warna atau endapan pada uji kandungan senyawa kimia ekstrak kulit buah kakao |
| 2  | Aktivitas antibakteri <i>Propionibacterium acnes</i> | Zona bening yang berada di sekeliling sumuran yang tidak ditemukan adanya pertumbuhan <i>Propionibacterium acnes</i> | Mengukur diameter zona hambat pada area bening di sekitar piringan.         | Jangka sorong                 | Rasio      | Terbentuknya zona hambat di sekitar sumuran                                               |
| 3  | Waktu Ekstraksi Kulit Buah Kakao                     | Variasi waktu yang digunakan untuk proses ekstraksi kulit buah kakao yaitu selama 10 menit, 20 menit, 30 menit       | Menghitung waktu sesuai dengan yang ditentukan selama ekstraksi berlangsung | Stopwatch                     | Nominal    | Ekstrak dengan waktu 10 menit, 20 menit, 30menit.                                         |

## 4.7 Teknik Pengumpulan Data

### 4.7.1 Determinasi

Determinasi kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L) di lakukan di Politeknik Negeri Jember.

### 4.7.2 Pengolahan Serbuk simplisia

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

#### 4.7.1 Pengolahan Serbuk Simplisia

Kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) dipisahkan lalu dicuci bersih dari pengotoran dengan air sampai bersih dan ditiriskan. Dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 40-50°C. Kulit buah kakao dianggap kering apabila sudah rapuh (diremas menjadi hancur), kemudian simplisia kulit buah kakao yang telah kering diserbuk menggunakan blender, dan disimpan dalam wadah plastik yang tertutup rapat (Depkes RI., 1995).

#### 4.7.3 Pembuatan Pelarut NADES Terlampir Pada Lampiran 2

NADES yang digunakan adalah asam sitrat dan glukosa dengan rasio masing-masing 3:1 (g/g) dapat dilihat pada lampiran 2, pelarut ditimbang dengan perbandingan 5,25 gram asam sitrat, 18,75 gram glukosa dan ditambahkan akuades 75 mL kedalamnya, campuran tersebut diaduk menggunakan *hotplate stirrer* pada suhu 50°C dengan kecepatan 800 rpm hingga diperoleh larutan yang homogen. Setelah itu, Larutan dimasukkan ke dalam wadah tertutup rapat. (Datu *et al.*, 2019)

#### 4.7.4 Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak menggunakan metode UAE (*Ultrasound Assisted Extraction*) ditimbang masing-masing 7,5 gram serbuk simplisia kulit buah kakao kemudian dimasukkan ke dalam 3 erlenmeyer dan masing-masing ditambahkan 150 mL NADES. NADES yang digunakan adalah asam sitrat dan glukosa (3:1). Selanjutnya dimasukkan ke dalam *ultrasonic bath* dengan frekuensi 53 kHz selama (10, 20 dan 30 menit). Hasil ekstraksi kemudian disentrifus selama 20 menit dengan suhu 25°C pada 4500 rpm. Hasil sentrifus kemudian disaring

menggunakan kertas saring untuk memisahkan filtrat dan ampas dan dicatat volume hasil ekstraksi.

#### 4.7.5 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia pada penelitian ini terdiri dari uji kandungan senyawa kimia sebagai berikut :

a. Alkaloid

0,5 gram ekstrak sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi ditetesi dengan 5 mL HCl 2 N dipanaskan kemudian didinginkan lalu dibagi dalam 3 tabung reaksi, masing-masing 1 mL. Tiap tabung ditambahkan dengan masing-masing pereaksi. Pada penambahan pereaksi Mayer, positif mengandung alkaloid jika membentuk endapan putih atau kuning. Pada penambahan pereaksi Wagner, positif mengandung alkaloid jika terbentuk endapan coklat. Pada penambahan pereaksi *Dragendorff*, mengandung alkaloid jika terbentuk endapan jingga.(Mutmainah., 2017)

b. Flavonoid

Ditimbang 0,5 gram, ekstrak sampel ditambahkan 5 mL air, dididihkan kurang lebih 5 menit lalu disaring. Filtrat sebanyak 2 mL ditambahkan 0,05 mg serbuk Mg dan HCl pekat, kemudian dikocok hingga homogen. Hasil dinyatakan positif apabila terbentuk warna kuning hingga jingga berarti positif flavonoid (Hafiz *et al.*, 2020)

c. Tanin

0,5 gram ekstrak dimasukkan kedalam tabung reaksi ditambahkan 5 mL air panas kemudian di dididihkan selama 5 menit kemudian filtratnya ditambahkan

$\text{FeCl}_3$  3-4 tetes, jika berwarna hijau biru (hijau-hitam) berarti positif adanya tanin katekol sedangkan jika berwarna biru hitam berarti positif adanya tanin pirogalol. (Mutmainah., 2017)

d. Saponin

0,5 gram ekstrak dimasukkan kedalam tabung reaksi ditambahkan 5 mL air panas, didinginkan kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik positif mengandung saponin jika terbentuk buih setinggi 1-10 cm tidak kurang 10 menit dan pada penambahan 1 tetes HCl 2 N, buih tidak hilang. (Mutmainah., 2017)

e. Polifenol

Sebanyak 0,5 gram ekstrak ditambahkan 3-4 tetes  $\text{FeCl}_3$  terjadinya perubahan warna hitam kebiruan hingga hitam pekat menunjukkan adanya kandungan fenol (Fitriyanti *et al.*, 2020).

#### 4.7.6 Preparasi Media

a. Pembuatan *Nutrient Agar*

Media NA serbuk sebanyak 0,2 gram dimasukkan ke 20 mL akuades. Media tersebut dilarutkan dengan cara dipanaskan di *hot plate* dengan *magnetic stirrer* hingga larut sempurna. Media NA yang telah jadi dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu disumbat menggunakan kapas hingga seluruh bagian mulut tabung tertutup dilapisi dengan aluminium foil dan dibungkus plastik PP. Media agar miring digunakan untuk inokulum bakteri uji.

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

MHA sebanyak 10 gram dilarutkan kedalam 300 mL akuades lalu dipanaskan dan dihomogenkan dengan menggunakan alat pemanas dan *magnetic*

*stirrer*. Media MHA harus benar-benar homogen terlihat dari warna kuning bening yang menunjukkan bahwa MHA telah tercampur secara baik dengan akuades.

#### **4.7.7 Sterilisasi Alat dan Bahan**

Alat dan bahan yang akan digunakan dalam suatu uji aktivitas antibakteri harus bebas dari adanya mikroba maka disterilkan terlebih dahulu sebelum digunakan dalam percobaan. Media pertumbuhan dan alat-alat gelas yang digunakan disterilkan di autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Jarum ose disterilkan dengan cara dibakar dengan nyala Bunsen.

#### **4.7.8 Preparasi Antimikroba**

##### **a. Inokulasi Bakteri Uji**

Pembuatan Kultur Bakteri *Propionibacterium acnes*. Regenerasi bakteri dilakukan pada media NA dengan cara menginokulasikan 1-2 ose bakteri ke permukaan media NA miring, kemudian diinkubasi 24 jam di suhu ruang.

##### **b. Pembuatan Standar Kekeruhan Larutan (*Mc Farland* 0,5)**

Bakteri dari hasil pembiakan dilakukan pengujian kekeruhan yang distandarisasi dengan tabung reaksi yang berisi larutan standar *Mc Farland* 0,5. Cara pembuatan standar *Mc Farland* 0,5 dicampur 0,05 mL larutan BaCl<sub>2</sub> 1% dengan 9,95 mL larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1% dan dikocok homogen. Larutan Standar *Mc Farland* 0,5 ini setara dengan suspensi sel bakteri konsentrasi 10<sup>8</sup> CFU/mL (Difco dan BBL Manual, 2009).

c. Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Pembuatan suspensi bakteri *Propionibacterium acnes* yaitu dengan cara biakan *Propionibacterium acnes* diambil dengan kawat ose steril, kemudian disuspensikan ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 mL NaCl 0,9% hingga diperoleh kekeruhan sama dengan standar kekeruhan larutan *Mc. Farland* 0,5.

d. Pembuatan Kontrol Negatif dan Positif

Pada penelitian ini kontrol negatif yang digunakan adalah pelarut NADES asam sitrat dan glukosa 3:1 dan untuk kontrol positif yang digunakan pada penelitian ini klindamisin 0,01% dapat dilihat pada lampiran 2. Konsentrasi dan jenis antibiotik yang digunakan mengacu pada penelitian Sundu *et al.*, (2018).

e. Uji aktivitas antibakteri dengan metode sumuran

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah kakao menggunakan metode difusi agar dengan teknik sumur (*cup plate technique*). Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan cara membuat sumuran pada media MHA (diameter sumuran  $\pm$  6,7 mm) pada media *Muller Hinton Agar* yang sudah ditanam dengan bakteri uji. Setiap cawan dibuat 5 sumuran menggunakan tip mikropipet, kemudian pada setiap sumuran dimasukkan kontrol positif, kontrol negatif dan ekstrak kulit buah kakao dengan waktu yang berbeda sebanyak 20  $\mu$ L. Media yang sumurannya telah ditetesi dengan larutan uji kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah diinkubasi maka dilakukan pengukuran zona hambat dengan menggunakan jangka sorong.

#### **4.8 Teknik Analisis Data**

Data uji aktivitas antibakteri dianalisa normalitas dan homogenitas variasinya. Apabila data terdistribusi tidak normal dan data pengujian homogenitas variasi terdistribusi maka tidak dilakukan uji *One way ANOVA* dan dilanjut dengan uji *Kruskall Wallis* dan uji Duncan untuk melihat adanya perbedaan bermakna pada masing-masing kelompok uji dengan tingkat kepercayaan sebesar 95%.

## **BAB 5. HASIL PENELITIAN**

### **5.1 Determinasi Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.)**

Determinasi kulit buah kakao dilakukan di UPT. Pengembangan Pertanian Terpadu, Politeknik Negeri Jember. Hasil determinasi menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.). Hal tersebut terlampir pada surat keterangan identifikasi tanaman (lampiran 1).

### **5.2 Ekstraksi Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.)**

Berdasarkan hasil ekstraksi kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) menggunakan metode UAE dari 7,5 gram simplisia kulit buah kakao dengan menggunakan pelarut NADES (asam sitrat : glukosa) 150 mL pada masing-masing variasi waktu 10 menit, 20 menit, dan 30 menit didapatkan ekstrak cair sebanyak 40 mL untuk masing-masing variasi waktu.

### **5.3 Skrining Fitokimia Ekstrak Kulit Buah Kakao**

Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah kakao mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin dan polifenol. Hasil positif uji kandungan senyawa kimia dapat dilihat dari adanya endapan atau perubahan warna dari masing-masing pereaksi. Hasil uji kandungan senyawa kimia ekstrak kulit buah kakao dapat dilihat pada tabel 5.1.

Tabel 5. 1 Hasil Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Kulit Buah Kakao Variasi Waktu Ekstraksi

| Uji Senyawa | Pereaksi                                          | Teoritis                                                                                     | Hasil Ekstrak                                           | Kesimpulan     |                |                |
|-------------|---------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|----------------|----------------|----------------|
|             |                                                   |                                                                                              |                                                         | Waktu 10 menit | Waktu 20 menit | Waktu 30 menit |
| Alkaloid    | Ekstrak + HCl 2N + 3-4 tetes pereaksi mayer       | Apabila terbentuk endapan putih (Mutmainah., 2017)                                           | Tidak terbentuk endapan putih                           | -              | -              | -              |
|             | Ekstrak + HCl 2 N + 3-4 tetes pereaksi dragendrof | Apabila terbentuk endapan jingga (Mutmainah., 2017)                                          | Terbentuk endapan jingga                                | +              | +              | +              |
|             | Ekstrak + HCl 2 N + 3-4 tetes pereaksi wagner     | Apabila terbentuk endapan coklat (Mutmainah., 2017)                                          | Tidak terbentuk endapan coklat                          | -              | -              | -              |
| Flavonoid   | Ekstrak + Air + serbuk Mg + HCl pekat             | Apabila terbentuk warna kuning hingga jingga (Hafiz <i>et al.</i> , 2020)                    | Terbentuk warna kuning                                  | +              | +              | +              |
| Tanin       | Ekstrak + FeCl <sub>3</sub>                       | Apabila terbentuk warna hijau kehitaman (Hafiz <i>et al.</i> , 2020)                         | Terbentuk warna hijau kehitaman                         | +              | +              | +              |
| Saponin     | Ekstrak + Air panas                               | Apabila terbentuk busa yang stabil (Hafiz <i>et al.</i> , 2020)                              | Terbentuk busa yang stabil                              | +              | +              | +              |
| Polifenol   | Ekstrak + FeCl <sub>3</sub> 3-4 tetes             | Apabila terbentuk warna hitam kebiruan hingga hitam pekat (Fitriyanti <i>et al.</i> , 2020). | Tidak terbentuk warna hitam kebiruan hingga hitam pekat | -              | -              | -              |

Keterangan : (+) = Mengandung senyawa kimia

(-) = Tidak mengandung senyawa kimia

#### 5.4 Uji Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Kakao ( *Theobroma cacao* L.)

Penguji standar kekeruhan *Mc. Farland* 0,5 mendapatkan hasil absorbansi 0,112 dan untuk suspensi bakteri mendapatkan hasil absorbansi 0,114 Hasil uji kekeruhan dapat dilihat pada lampiran 3.

Hasil uji aktivitas antibakteri kulit buah kakao menggunakan pelarut NADES menunjukkan bahwa kakao memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Propionibacterium acnes*. Hasil uji antibakteri kulit buah kakao dapat dilihat pada gambar 5.1.



Gambar 5. 1 Hasil uji antibakteri *Propionibacterium acnes*

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah kakao terhadap *Propionibacterium acnes* menunjukkan semua variasi waktu dapat menghambat bakteri *Propionibacterium acnes* (Gambar 5.1). Hasil data aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah kakao dapat dilihat pada tabel 5.2 dan lampiran 4.

Tabel 5. 2 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak NADES Kulit Buah Kakao Terhadap *Propionibacterium acnes*

| Bahan Uji                                             | Rata-rata $\pm$ SD     |
|-------------------------------------------------------|------------------------|
| Ekstrak NADES kulit buah kakao variasi waktu 10 menit | 10,09 mm $\pm$ 2,22 mm |
| Ekstrak NADES kulit buah kakao variasi waktu 10 menit | 12,77 mm $\pm$ 1,78 mm |
| Ekstrak NADES kulit buah kakao variasi waktu 10 menit | 15,80 mm $\pm$ 1,29 mm |
| Kontrol positif klindamisin                           | 22,06 mm $\pm$ 0,86 mm |
| Kontrol negatif                                       | 0 mm $\pm$ 0 mm        |

### 5.5 Analisis Data

Hasil asumsi uji *one way* ANOVA pada uji normalitas tidak memenuhi asumsi *one way* ANOVA, tetapi pada uji homogenitas memenuhi syarat uji *one way* ANOVA dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5.3 Hasil Uji Asumsi ANOVA

| Variabel                 | Uji normalitas Shapiro-Wilk | Kesimpulan   | Asumsi ANOVA   | Uji homogenitas | Kesimpulan | Asumsi ANOVA |
|--------------------------|-----------------------------|--------------|----------------|-----------------|------------|--------------|
| Waktu ekstraksi 10 menit | 0,002                       | Tidak normal | Tidak memenuhi |                 |            |              |
| Waktu ekstraksi 20 menit | 0,480                       | Normal       | Memenuhi       |                 |            |              |
| Waktu ekstraksi 30 menit | 0,998                       | Normal       | Memenuhi       | 0,151           | Homogen    | Memenuhi     |
| Kontrol positif          | 0,576                       | Normal       | Memenuhi       |                 |            |              |
| Kontrol negatif          | -                           | -            | -              | -               | -          | -            |

Maka, dilanjutkan dengan uji non parametrik *Kruskall Wallis* yang menunjukkan  $p < 0,05$  yang artinya terdapat perbedaan nyata pada tiap perlakuan dapat dilihat pada Tabel 5.4

Tabel 5.4 Hasil Uji *Kruskall Wallis*

| Hasil Uji Kruskal Wallis |                           |
|--------------------------|---------------------------|
| Sig                      | Uji signifikan            |
| 0,001                    | Berbeda secara signifikan |

Dapat dilihat pada tabel 5.4 bahwasanya terdapat perbedaan secara signifikan pada setiap perlakuan, maka dilanjutkan uji *Post hoc* yaitu Duncan untuk mengetahui lebih lanjut kelompok mana yang berbeda signifikan. Hasil dari duncan menunjukkan bahwa zona hambat ekstrak NADES kulit buah kakao dengan waktu ekstraksi 30 menit berbeda dengan kelompok kontrol positif dan kelompok ekstraksi 10 maupun 20 menit. Aktivitas antibakteri ekstrak NADES kulit buah kakao waktu ekstraksi 10 menit dan 20 menit berbeda dengan kelompok kontrol positif dan ekstrak NADES waktu ekstraksi 30 menit

Tabel 5.5 Hasil Uji Duncan

| Perlakuan       | N | Subset for alpha = 0,05 |         |         |
|-----------------|---|-------------------------|---------|---------|
|                 |   | 1                       | 2       | 3       |
| Waktu 10 menit  | 5 | 10,9000                 |         |         |
| Waktu 20 menit  | 5 | 12,7620                 |         |         |
| Waktu 30 menit  | 5 |                         | 15,7960 |         |
| Kontrol positif | 5 |                         |         | 22,0580 |
| Sig.            |   | 0,089                   | 1,000   | 1,000   |

**Keterangan:**

1. Perbedaan letak kolom nilai subset menunjukkan tingkat perbedaan antar varian.
2. Nilai yang terletak pada kolom subset yang sama menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan antara varian.

## **BAB 6 PEMBAHASAN**

### **6.1 Determinasi Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.)**

Determinasi tanaman merupakan tahap awal yang dilakukan sebelum menuju tahap lebih lanjut pada proses penelitian. Kulit buah kakao termasuk dalam spesies *Theobroma cacao* L, kingdom Plantae, Divisi Spermatophyta, kelas Dicotyledoneae, ordo Malvales genus Theobroma dalam suku Sterculiace. Hasil serupa ditunjukkan oleh penelitian sebelumnya dimana Kulit buah kakao termasuk dalam spesies *Theobroma cacao* L, kingdom Plantae, Divisi Spermatophyta, kelas Dicotyledoneae, ordo Malvales genus Theobroma dalam suku Sterculiace (Fitri ., 2021)

### **6.2 Skrining Fitokimia**

Ekstrak cair kulit buah kakao dari metode UAE (*Ultrasound Assisted Extraction*) diuji skrining fitokimia secara kualitatif, untuk mengetahui kandungan yang terdapat dalam kulit buah kakao. Skrining fitokimia yang dilakukan meliputi uji alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan polifenol.

Pada penelitian ini ditemukan senyawa alkaloid dalam ekstrak NADES kulit buah kakao dengan metode UAE variasi waktu 10,20 dan 30 menit pada uji alkaloid menggunakan pereaksi *dragendorff* karena terbentuknya endapan berwarna jingga, tetapi pada penelitian ini pada pereaksi mayer tidak terdapat endapan warna putih dan pada pereaksi wagner tidak terbentuk endapan coklat. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Mutmainah., (2017) Pengujian

senyawa alkaloid yang diperoleh dari analisis senyawa *Dragendorff* yaitu terbentuk endapan jingga. Endapan berwarna jingga terbentuk karena senyawa alkaloid yang berinteraksi dengan ion tetraiodobismutat (III) yang terkandung dalam reagen *dragendorff*. Pada penelitian Nurjannah et al., (2022) skrining fitokimia ekstrak kombinasi daun jeruk ppurut ( *Cytrus hystrix* ) dan kelor ( *Moringa oleifera* L.) menunjukkan positif mengandung alkaloid pada uji reagen dragendroff dan negatif pada pengujian reagen mayer dan wagner.

Pada penelitian ini ditemukan senyawa flavonoid pada ekstrak NADES kulit buah kakao dengan metode UAE variasi waktu 10,20 dan 30 menit, karena terdapat perubahan warna kuning pada hasil uji skrining fitokimia. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Hafiz et al., (2020) Pengujian senyawa flavonoid yang diperoleh dari analisis senyawa yaitu terbentuknya warna jingga hingga kuning. Perubahan warna jingga hingga kuning karena senyawa flavonoid tereduksi dengan asam klorida pekat dan magnesium.

Pada penelitian ini juga ditemukan senyawa tanin pada ekstrak NADES kulit buah kakao dengan metode UAE variasi waktu 10, 20 dan 30 menit, karena terbentuknya warna hijau kehitaman pada hasil uji skrining fitokimia. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Hafiz et al., (2020) Penambahan  $\text{FeCl}_3$  1% bereaksi dengan salah satu gugus hidroksil yang ada pada senyawa tanin. Hasil itulah yang akhirnya menimbulkan warna hijau kehitaman.

Pada penelitian ini ditemukan senyawa saponin pada ekstrak NADES kulit buah kakao dengan metode UAE variasi waktu 10,20 dan 30 menit, karena terbentuknya busa stabil pada hasil uji skrining fitokimia. Berdasarkan penelitian

yang dilakukan oleh Hafiz *et al.*, (2020) Saponin merupakan senyawa yang mudah terdeteksi melalui kemampuannya dalam membentuk busa yang stabil. Busa yang timbul disebabkan karena senyawa saponin memiliki sifat fisik yang mudah terhidrolisis dalam air sehingga menimbulkan busa saat dikocok.

Pada penelitian ini tidak ditemukan senyawa polifenol pada ekstrak NADES kulit buah kakao dengan metode UAE, karena tidak terbentuknya warna hitam kebiruan hingga hitam pekat pada hasil uji skrining fitokimia. Berdasarkan penelitian Adha *et al.*, (2021) yang menunjukkan ekstrak kulit buah kakao mengandung metabolit sekunder flavonoid, alkaloid, tanin dan saponin. Pada penelitian Situmorang *et al.*, (2016) menyebutkan bahwa kulit buah kakao memiliki kandungan senyawa kimia alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, glikosida. Namun hasil dalam penelitian tersebut menyebutkan bahwa kulit buah kakao tidak mengandung polifenol.

### 6.3 Uji Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode *cup-plate technique* atau metode sumuran. Metode sumuran adalah metode yang dilakukan dengan cara membuat lubang sumuran sejumlah sampel yang akan diuji pada media padat yang telah diinokulasi dengan bakteri, kemudian dimasukkan kontrol negatif, kontrol positif dan ekstrak yang telah dibuat dengan masing-masing variasi waktu. Pemilihan metode difusi sumuran dengan memasukkan ekstrak ke dalam setiap lubang dapat menghambat pertumbuhan bakteri lebih kuat. Pada metode sumuran terjadi proses osmolaritas dari konsentrasi waktu yang lebih tinggi dari pada

metode difusi cakram. Setiap lubang diisi dengan konsentrasi waktu maka osmolaritas yang terjadi lebih menyeluruh dan lebih homogen serta konsentrasi ekstrak lebih kuat dan lebih tinggi untuk menghambat pertumbuhan bakteri (Misna *et al.*, 2016)

Pada penelitian ini menggunakan bakteri *Propionibacterium acnes*. *Propionibacterium acnes* adalah mikroba pembentuk nanah yang bertanggung jawab untuk pengembangan berbagai bentuk *acne vulgaris*. (Zahra *et al.*, 2018). Bakteri *Propionibacterium acnes* yang digunakan dilakukan peremajaan terlebih dahulu untuk meregenerasi bakteri agar diperoleh bakteri yang muda serta tidak terkontaminasi. Media yang digunakan dalam pengujian efektivitas antibakteri ada dua macam yaitu media *Nutrient agar* (NA) yang digunakan untuk peremajaan bakteri dan media *Mueller Hinton Agar* (MHA) yang digunakan untuk menguji efektivitas antibakteri. Peremajaan bakteri menggunakan media NA karena media NA mengandung komposisi *Beef Extract*, *Peptone*, agar dan *Aquadest* yang merupakan bahan-bahan yang dibutuhkan oleh mikroorganisme untuk tumbuh dan berkembang (Sari *et al.*, 2017). Pemilihan media MHA untuk uji aktivitas antibakteri karena media MHA mengandung *Strach* yang berfungsi untuk menyerap racun yang dikeluarkan bakteri sehingga tidak mengganggu antibiotik, media MHA merupakan rekomendasi *Clinical and Laboratory Standart Institute* (CLSI) sebagai media yang digunakan pada uji kepekaan bakteri terhadap antibiotik karena MHA menunjukkan hasil reproduksi yang baik, rendah sulfonamid, trimetoprim dan inhibitor tetrasiklin, mendukung pertumbuhan

bakteri yang sulit tumbuh sekalipun serta sudah banyak data penelitian yang telah dikumpulkan tentang uji kepekaan menggunakan media MHA (Sari *et al.*, 2017).

Menurut penelitian Nofita *et al.*., 2020 pada uji efektivitas antibakteri ekstrak etanolik *Allium cepa* L. Terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* in media mueller hinton agar dengan menggunakan media *nutrient agar* sebagai peremajaan bakteri dan *Mueller hinton agar* sebagai aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa media *nutrient agar* baik digunakan dalam peremajaan bakteri karena mengandung *Beef Extract, Peptone*.

Pada Tabel 5.2 menunjukkan diameter zona hambat *Propionibacterium acnes* memiliki perbedaan yang bermakna terhadap kontrol positif dan berbagai variasi waktu ekstrak kulit buah kakao, yaitu 10 menit, 20 menit dan 30 menit dan tidak terdapat zona hambat pada kontrol negatif, kontrol negatif yang digunakan adalah asam sitrat:glukosa yang menunjukkan tidak adanya zona hambat. Pelarut asam sitrat:glukosa merupakan pelarut organik dan tidak bersifat toksik (Assidqi *et al.*, 2012). Menurut penelitian Amalia *et al.*, (2016) asam sitrat:glukosa tidak memiliki aktivitas antibakteri, sehingga dapat dipastikan aktivitas antibakteri yang dihasilkan tidak dipengaruhi secara langsung oleh asam sitrat:glukosa.

Dari hasil pengukuran diameter zona hambat diperoleh rata-rata zona hambat untuk variasi waktu 10 menit sebesar 10,09 mm dan variasi waktu 20 menit rata-rata zona hambat 12,77 mm dan variasi waktu 30 menit rata-rata zona hambat 15,80 mm. Pada tabel 5.2 membuktikan bahwa semakin lama waktu ekstraksi kandungan yang didapatkan semakin meningkat pada ekstrak kulit buah kakao. Hal ini disebabkan semakin lama waktu ekstraksi maka semakin lama pelarut

kontak dengan bahan, yang mengakibatkan kandungan yang terikat pada pelarut semakin banyak (Sholihah *et al.*, 2021).

Zona bening pada uji antibakteri diduga karena aktivitas dari kandungan senyawa kimia dalam menghambat *Propionibacterium acnes*. Kandungan senyawa kimia memiliki mekanisme kerja yang berbeda dalam menghambat bakteri *Propionibacterium acnes*. Senyawa kimia yang terkandung didalam kulit buah kakao salah satunya yaitu flavonoid, flavonoid dapat menghambat bakteri dengan cara mengganggu fungsi membran sel bakteri sehingga pertumbuhan bakteri menjadi terhambat. Apabila fungsi dari membran sel terhambat, maka dapat menyebabkan sel bakteri lisis dan mengalami kematian (Rijayanti, 2014)

Kulit buah kakao juga mengandung senyawa kimia alkaloid, alkaloid bersifat alkali yang bereaksi dengan senyawa asam amino penyusun dinding sel dan DNA sel. Alkaloid dapat menghambat bakteri dengan cara mengganggu terbentuknya jembatan sebarang silang komponen penyusun peptidoglikan sel mengakibatkan perubahan struktur dan susunan asam amino, sehingga terjadi lisis bahkan kematian sel (Anita, 2014)

Senyawa kimia tanin pada kulit buah kakao berperan dalam penghambatan pertumbuhan bakteri. Tanin memiliki kemampuan dalam menghambat kerja enzim protease. Enzim protease merupakan enzim yang berperan dalam proses katalisis protein menjadi asam amino. Apabila enzim protease tidak dapat bekerja, maka asam amino tidak dapat terbentuk. Ketersediaan asam amino dalam sel sangat penting, sehingga apabila asam amino tidak tersedia, maka proses

metabolisme bakteri akan terhenti dan dapat menyebabkan kematian pada bakteri. (Pappa *et al.* , 2019)

Senyawa kimia saponin yang terkandung dalam kulit buah kakao juga berperan dalam penghambatan pertumbuhan bakteri. Saponin menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara menghidrolisis dinding sel. Kerusakan pada dinding sel dapat menyebabkan hilangnya sifat semipermeabilitas akibat dari kerusakan membran sel, sehingga tidak dapat menyelesaikan keluar – masuknya zat seperti air dan enzim. Hal tersebut mengakibatkan metabolisme sel terganggu, sehingga menghambat proses pembentukan ATP untuk pertumbuhan sel. Jika proses ini berlanjut maka akan menimbulkan kematian sel (Husna Fa *et al.*, 2016)

Berdasarkan uraian diatas, hasil penelitian yang didapat menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah kakao memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Propionibacterium acnes*. Hal ini terbukti dengan adanya zona bening di sekitar sumuran. Semakin tinggi waktu ekstraksi kulit buah kakao maka semakin luas zona bening yang didapatkan dari ekstrak kulit buah kakao terhadap *Propionibacterium acnes*.

Diameter zona bening yang telah diperoleh selanjutnya diolah menggunakan uji statistik SPSS dimulai dengan uji normalitas dan homogenitas untuk mengetahui adanya perbedaan zona hambat masing-masing variasi ekstrak kulit buah kakao, hasilnya signifikan atau tidak.

Berdasarkan tabel 5.3 hasil uji normalitas diperoleh data nilai signifikan kontrol positif  $p = 0,002$ , ekstrak kulit buah kakao variasi waktu 10 menit  $p = 0,480$  ekstrak kulit buah kakao variasi waktu 20 menit  $p = 0,998$  ekstrak kulit buah kakao

variasi waktu 30 menit  $p = 0,576$ . Nilai signifikan dari masing-masing sampel  $p > 0,05$ . Jadi dapat disimpulkan bahwa varian data tersebut tidak terdistribusi normal.

Selanjutnya dilakukan uji homogenitas didapatkan hasil nilai signifikan Leavene statistik  $p = 0,151$ . Jadi nilai signifikan  $p > 0,05$  dapat disimpulkan bahwa varian data tersebut homogen. Data di uji homogenitas dapat dilihat pada tabel 5.4

Setelah dilakukan uji normalitas dan homogenitas memperlihatkan bahwa data tidak terdistribusi normal dan uji homogenitas yang ditunjukkan nilai signifikan  $p > 0,05$ . Data tersebut tidak dapat dilanjutkan ke uji *one way ANOVA*.

Selanjutnya dilakukan uji non parametrik *kruskal wallis* didapatkan hasil nilai signifikan nilai  $p = 0,00$ . Jadi nilai signifikan  $p < 0,05$  dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan nyata pada setiap perlakuan. Data di *kruskal wallis* dapat dilihat pada tabel 5.5

Selanjutnya dilakukan uji *post hoc* yaitu uji duncan sebagai uji lanjutan untuk mengetahui variasi waktu mana yang berbeda signifikan. Dari hasil tabel 5.6 menunjukkan bahwa zona hambat ekstrak NADES kulit buah kakao dengan waktu ekstraksi 30 menit berbeda dengan kelompok kontrol positif dan kelompok ekstraksi 10 maupun 20 menit. Aktivitas antibakteri ekstrak NADES kulit buah kakao waktu ekstraksi 10 menit dan 20 menit berbeda dengan kelompok kontrol positif dan ekstrak NADES waktu ekstraksi 30 menit.

## **BAB 7 PENUTUP**

### **7.1 Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa:

- 1 Tidak adanya pengaruh waktu ekstraksi pada metode *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) terhadap kandungan senyawa kimia ekstrak kulit buah kakao.
- 2 Adanya pengaruh waktu ekstraksi pada metode *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) terhadap aktivitas antibakteri *Propionibacterium acnes*, semakin lama waktu ekstraksi yang dilakukan maka semakin besar zona hambat yang didapatkan di sekitar sumuran.

### **7.2 Saran**

Berdasarkan penelitian ini, peneliti selanjutnya disarankan untuk:

- 1 Melakukan uji kualitatif kandungan senyawa kimia dengan metode KLT
- 2 Melakukan uji secara kuantitatif terhadap kandungan senyawa kimia ekstrak NADES kulit buah kakao dengan metode *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) untuk mengetahui perbedaan yang lebih spesifik terhadap pengaruh metode ekstraksi.
- 3 Melakukan optimasi ekstraksi NADES kulit buah kakao terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dengan metode MAE (*Microwave Assisted Extraction*)

## DAFTAR PUSTAKA

- Adha, S. D., & Ibrahim, M. (2021). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Kakao ( *Theobroma cacao* L .) terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes* Antibacterial Activities of Cocoa Pod Husk Extract ( *Theobroma cacao* L .) Against *Propionibacterium acnes*. *Lentera Bio*, 10(2), 140–145.
- Andayani, R., Mubarak, Z., dan Rinanda, R. D. (2016). Aktivitas Antibakteri Tepung Cacing Tanah (*Lumbricus rubellus*) Terhadap *Enterococcus faecalis* Secara In Vitro. *Jurnal Syiah Kuala Dent Sor*. 1(2) : 201-210.
- Bakirtzi, C., Triantafyllidou, K., & Makris, D. P. (2016). Novel lactic acid-based natural deep eutectic solvents: Efficiency in the ultrasound-assisted extraction of antioxidant polyphenols from common native Greek medicinal plants. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 3(3), 120–127. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2016.03.003>
- Bonfigli, M., Godoy, E., Reinheimer, M. A., & Scenna, N. J. 2017. Comparison between conventional and ultrasound-assisted techniques for extraction of anthocyanins from grape pomace. Experimental results and mathematical modeling. *J. Food Eng.* Vol. 207, 56–72.
- Craveiro, R., Aroso, I., Flammia, V., Carvalho, T., Viciosa, M.T., Dionísio, M., dkk. 2016. Properties and Thermal Behavior of Natural Deep Eutectic Solvents. *Journal of Molecular Liquid*. 215: 534-540.
- Dai, Y. 2013. *Disertasi: Natural Deep Eutectic Solvents and Their Application in Natural Product Research and Development*. China: Universiteit Leiden.

Halaman 1-170.

- Datu, K. A. T., Fitriani, N., & Ahmad, I. (2019). Pengaruh Penggunaan Metode Lactic Acid-Sucrose dengan Microwave Assisted Extraction (MAE) terhadap Polifenol Total dari Herba Suruhan (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth). *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, 10, 114–117. <https://doi.org/10.25026/mpc.v10i1.373>
- Ditjen POM. 2000. *Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat*. Cetakan Pertama. Jakarta. Direktorat Obat Asli Indonesia, Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. Halaman 10-17.
- Erika, C. (2013). Ekstraksi Pektin dari Kulit Kakao (*Theobroma cacao* L.) 40 Menggunakan Amonium Oksalat. *Jurnal Teknologi & Industri Pertanian Indonesia*, 5(2), 2–7. <https://doi.org/10.17969/jtipi.v5i2.1001>
- Fapohunda dan Afolayan. 2012. Fermentation of Cocoa Beans and Antimicrobial Potentials of the Pod Husk Phytochemicals. *Journal of Physiology and Pharmacology Advances*. 2(3). 158-164.
- Hafiz Ramadhan, Muhammad Arsyad and Putri Indah Sayakti (2020),, Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70% Biji Kalangkala (*Litsea angulate* BI.) Terhadap Bakteri Penyebab Jerawat *Propionibacterium acnes*”, *Borneo Journal of Pharmascitech*, 4(1), pp. 60-70. Doi: 10.51817/bjp.v4i1.283.
- Hariyadi, B. W., Ali, M., & Nurlina, N. 2017. Damage Status Assessment Of Agricultural Land As A Result Of Biomass Production In Probolinggo Regency Eats Java. *Adri International Journal Of Agriculture*, 1(1) : 27-47

- Harjadi. (2014). Fisiologi Tumbuhan. Ikip Pgri. *Paper Knowledge . Toward a Media History of Documents*, 5–26.
- Herbarium Medanense Universitas Sumatera Utara. 2021. *Hasil Identifikasi*. No.5713/MEDA/2021
- Husna Fa, Sulasmi Es, Witjoro A, 2016, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Ental Muda *Diplazium Esculentum* (Retz.) Swartz Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichia Coli* Secara In Vitro, Malang; Jurnal Universitas Negeri Malang.
- Illing, Ilmiati, Safitri, Wulan, Erfiana. (2017). Uji Fitokimia Ekstrak Buah Dengen. *Jurnal Dinamika*, 8(1), 66–84.
- Jayanti, E. D.(2018) *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Fraksi Daun Benalu Mangga Gadung (Dendrophthoe pentandra (L.) Miq.) Terhadap Staphylococcus aureus ATCC 6538 dan Escherichia coli ATCC 25922*. Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Jember
- Jovanović, A. A., Đorđević, V. B., Zdunić, G. M., Pljevljakušić, D. S., Šavikin, K. P., Gođevac, D. M., & Bugarski, B. M. 2017. Optimization of the extraction process of polyphenols from *Thymus serpyllum* L. herb using maceration, heat- and ultrasound assisted techniques. *Sep. Purif. Technol.* Vol. 179, 369–380.
- Kabau, S., 2012. *Hubungan Antara Pemakaian Jenis Kosmetik dengan Kejadian Akne Vulgaris*. Semarang. Jurnal Media Medika Muda.Khusnul Khotimah, 2016. Skrining fitokimia dan identifikasi metabolit sekunder senyawa

karpain pada ekstrak methanol daun carica pubescen lennedan K.Kochdengan LC/MS.UIN Malang.

Leron, R.B., Soriano, A.N., Li, M.H. 2012. Densities and Refractive Indices of The Deep Eutectic Solvents (Choline Chloride + Ethylene Glycol or Glycerol) and Their Aqueous Mixtures at the Temperature Ranging From 298,15 to 333,15 K. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers.* 43: 551- 557.

Lully Hanni, E. (2016). Farmakognosi Dan Fitokimia. In A. Suryana & A. Sutisna (Eds.), *Farmakognosi Dan Fitokimia* (1st Ed.).

Marbun, R. T., & Situmorang, N. B. (2020). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Pepaya California (Carica Papaya L) Terhadap Bakteri Escherichia Coli. *Jurnal Penelitian Farmasi & Herbal*, 3(1), 130–134. <https://doi.org/10.36656/Jpfh.V3i1.368>

Mauliyanti, R. 2017. *Uji Aktivitas Gel Ekstrak Etanol Daun Cempedak (Artocarpus champeden) Terhadap Bakteri Penyebab Jerawat*. Skripsi. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin.

Mutmainah., (2017). Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Etanol Buah Delima (*Punica Granatum L.*) Dengan Metode Uji Warna. *Media farmasi*, 13(3)

Narulita, W. (2018). Uji Efektivitas Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Propionibacterium acnes* Secara *In Vitro* (Sebagai Alternatif Bahan Pengayaan Pada Sub Konsep

- Archaeobacteria dan Eubacteria SMA Kelas X Semester Ganjil) (Doctoral dissertation, UIN Raden Intan Lampung).
- Nugroho, S. W., Rukmo, M., Prasetyo, E. A., & Yuanita, T. (2019). Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao*) 6,25% dan NaOCl 2,5% Terhadap Bakteri *Streptococcus sanguinis*. *Conservative Dentistry Journal*, 9(1), 19. <https://doi.org/10.20473/cdj.v9i1.2019.19-21>
- Oddoye, E. O. ., Badu, C. K. A., & Akoto, E. G. (2013). Cocoa and Its ByProducts: Identification and Utilization BT - Chocolate in Health and Nutrition. Chocolate in Health and Nutrition. [https://doi.org/10.1007/978-1-61779-803-0\\_3](https://doi.org/10.1007/978-1-61779-803-0_3).
- Paiva, A., Craveiro, R., Aroso, I., Martins, M., Reis, R.L., Duarte, R.C. 2014. Natural Deep Eutectic Solvents – Solvents for the 21st Century. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*. 2(5): 1063-1071.
- Restiana, E., Khotimah, S. and Fitrianingrum, I. (2016) ‘Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Pelepah Pisang Ambon (*Musa paradisiaca*, Linn) terhadap *Propionibacterium acnes* PENDAHULUAN *Acne* suatu proses *vulgaris* merupakan kronik meningkat pada beberapa tahun Persentase resistensi dan klindamisin , di’, 2, pp. 422–433.
- Rijayanti RP, 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (*Mangifera indica* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* secara In Vitro. *Jurnal Mahasiswa PSPD FK Universitas Tanjungpura*. 1 (1): 1-18.
- Sartini, Djide, M.N., dan Alam. G. 2012. Pemanfaatan limbah kulit buah kakao sebagai sumber bahan aktif untuk sediaan farmasi. *Jurnal Industry Hasil*

*Perkebunan*.7(2): Hal 40-80.

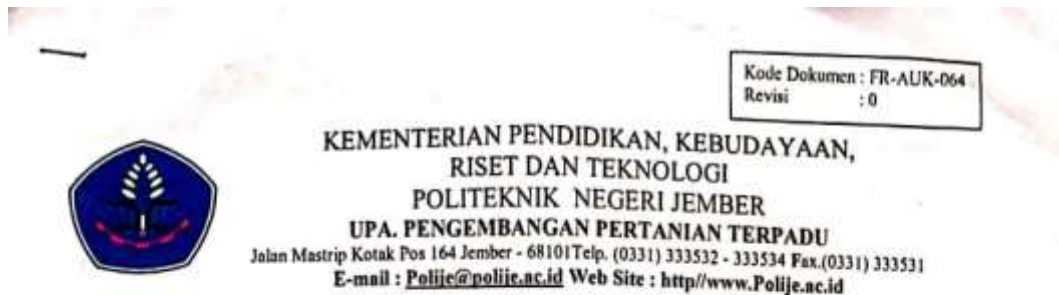
Sunarto. 2013. Budidaya Kakao. Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia. Jakarta. 298 hal.

Susanto, R, C. & G A Made Ari M. (2013).*Penyakit Kulit Dan Kelamin*. Yogyakarta : Nuha Medika

Wahyudi, T. dan Pujianto. 2015. Kakao: Sejarah, Botani, Proses Produksi, Pengolahan dan Perdagangan. Yogyakarta: UGM Press.

Zhang, Q.,Vigier K.D.O., Royer, S., Jerome, F. 2012. Deep Eutectic Solvents: Syntheses, Properties and Applications. *Chem. Soc. Rev.* 41: 7108–7146

## Lampiran 1 Determinasi Tanaman



### SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TANAMAN

No: 188/PL17.8/PG/2022

Menindaklanjuti surat dari Dekan Universitas dr. Soebandi Program Studi S1 Farmasi No: 3310/FIKES.UDS/U/IX/2022 perihal Permohonan Identifikasi Tanaman dan berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirimkan ke UPA. Pengembangan Pertanian Terpadu, Politeknik Negeri Jember oleh:

Nama : Amil Nur Fatimah P  
NIM : 18040009  
Jur/Fak/PT : Prodi S1 Farmasi/ Universitas dr. Soebandi

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

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Jember, 03 Oktober 2022  
Ka. UPA Pengembangan Pertanian Terpadu  
  
H. Budi Prasetyo, S.Pt, MP, IPM  
NIP. 197106212001121001

## Lampiran 2 Perhitungan

1. Asam:Glukosa (g/g) ~ dibuat sebanyak 150mL. Dengan ketentuan *Aquadest* 100%

Rasio 3:1

Asam sitrat:Glukosa:Aquadest (3:1:4)

$$\text{Asam sitrat} : \frac{3}{8} \times 150 \text{ mL} = 5,25 \text{ gram}$$

$$\text{Glukosa} : \frac{1}{8} \times 150 \text{ mL} = 18,75 \text{ gram}$$

$$\text{Aquadest} : \frac{4}{8} \times 150 \text{ mL} = 75 \text{ gram}$$

2. Perhitungan *MC Farland*

BaCl<sub>2</sub> 1% : 0,05 mL

H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1% : 9,95 mL

3. Perhitungan Kontrol Positif

Klindamisin 300 mg : 1 kapsul ~ 100 mL akuades

Kadar klindamisin 3 mg/mL

$$1 \text{ mL} \sim 100 \text{ mL} = 300\mu$$

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

4. Perhitungan Pembuatan Media

- a. Media *Nutrient Agar* (NA) : 20 gram ~ 1000 mL akuades  
X gram ~ 10 mL akuades  
0,2 gram dalam 10 mL akuades

- b. Media *Mueller Hinton Agar* (MHA) : 34 gram ~ 1000 mL akuades  
X gram ~ 300 mL akuades  
10,2 gram dalam 300 mL akuades

## 5. Pengulangan Uji Aktivitas Antibakteri

$$(n - 1) \times (t - 1) \geq 15$$

$$(n - 1) \times (5 - 1) \geq 15$$

$$(n - 1) \times (4) \geq 15$$

$$(4n - 4) \geq 15$$

$$(4n) \geq 19$$

$$(n) \geq 4,75 \rightarrow 5$$

**Lampiran 3 MC. Farland****Photometry Test Report**

|                             |            |
|-----------------------------|------------|
| File Name:Photometry 2      | Test Time: |
| Software Version:UV V1.92.0 |            |
| Operator:Lab Kimia Farmasi  | Company:   |
|                             |            |

**Test Record List**

| No. | WL(nm) | Abs   | Trans(%) | Test Time           | Sample Name |
|-----|--------|-------|----------|---------------------|-------------|
| 1   | 625.0  | 0,112 | 77,3     | 27/09/2022 10:27:03 | Mc.Farland  |
| 2   | 625.0  | 0,114 | 76,9     | 27/09/2022 10:35:48 | Pacnes      |

#### Lampiran 4 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

| Bahan Uji                                     | Replikasi | Zona Hambat (mm) | Rata-rata zona hambat<br>$\bar{X} = SD$ |
|-----------------------------------------------|-----------|------------------|-----------------------------------------|
| Kontrol Negatif                               | 1         | 0                | 0 mm $\pm$ 0 mm                         |
|                                               | 2         | 0                |                                         |
|                                               | 3         | 0                |                                         |
|                                               | 4         | 0                |                                         |
|                                               | 5         | 0                |                                         |
| Kontrol Positif (Klindamisin)                 | 1         | 23,59 mm         | 22,06 mm $\pm$ 0,86 mm                  |
|                                               | 2         | 21,77 mm         |                                         |
|                                               | 3         | 21,71 mm         |                                         |
|                                               | 4         | 21,66 mm         |                                         |
|                                               | 5         | 21,56 mm         |                                         |
| Ekstrak NADES kulit buah kakao waktu 10 menit | 1         | 13,05 mm         | 10,09 mm $\pm$ 2,22 mm                  |
|                                               | 2         | 12,32 mm         |                                         |
|                                               | 3         | 11,84 mm         |                                         |
|                                               | 4         | 9,66 mm          |                                         |
|                                               | 5         | 7,63 mm          |                                         |
| Ekstrak NADES kulit buah kakao waktu 20 menit | 1         | 15,08 mm         | 12,77 mm $\pm$ 1,78 mm                  |
|                                               | 2         | 13,63 mm         |                                         |
|                                               | 3         | 12,93 mm         |                                         |
|                                               | 4         | 11,87 mm         |                                         |
|                                               | 5         | 10,36 mm         |                                         |
| Ekstrak NADES kulit buah kakao waktu 30 menit | 1         | 17,40 mm         | 15,80 mm $\pm$ 1,29 mm                  |
|                                               | 2         | 16,74 mm         |                                         |
|                                               | 3         | 15,76 mm         |                                         |
|                                               | 4         | 14,66 mm         |                                         |
|                                               | 5         | 14,42 mm         |                                         |

## Lampiran 5 Hasil Uji Statistik

### Uji Normality

#### Tests of Normality

|          | kandungan       | Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup> |    |       | Shapiro-Wilk |    |      |
|----------|-----------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
|          |                 | Statistic                       | df | Sig.  | Statistic    | Df | Sig. |
| diameter | Kontrol positif | .431                            | 5  | .003  | .640         | 5  | .002 |
|          | 10 menit        | .264                            | 5  | .200* | .912         | 5  | .480 |
|          | 20 menit        | .135                            | 5  | .200* | .997         | 5  | .998 |
|          | 30 menit        | .211                            | 5  | .200* | .927         | 5  | .576 |

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

a. Lilliefors Significance Correction

### Uji Homogeneity

#### Test of Homogeneity of Variances

Diameter\_zona\_hambat

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 2.027            | 3   | 16  | .151 |

### Uji Anova

#### ANOVA

Diameter\_zona\_hambat

|                | Sum of Squares | df | Mean Square | F      | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|--------|------|
| Between Groups | 358.465        | 3  | 119.488     | 45.120 | .000 |
| Within Groups  | 42.371         | 16 | 2.648       |        |      |
| Total          | 400.837        | 19 |             |        |      |

Uji Duncan

**Diameter\_zona\_hambat**

Duncan<sup>a</sup>

| Perlakuan       | N | Subset for alpha = 0.05 |         |         |
|-----------------|---|-------------------------|---------|---------|
|                 |   | 1                       | 2       | 3       |
| waktu 10 menit  | 5 | 10.9000                 |         |         |
| waktu 20 menit  | 5 | 12.7620                 |         |         |
| waktu 30 menit  | 5 |                         | 15.7960 |         |
| Kontrol positif | 5 |                         |         | 22.0580 |
| Sig.            |   | .089                    | 1.000   | 1.000   |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

## Lampiran 6 Dokumentasi

### a. Preparasi pelarut NADES



### b. Proses Ekstraksi



## c. Uji Kandungan Senyawa Kimia

| Waktu ekstraksi 10 menit |             |                                                                                       |
|--------------------------|-------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| Alkaloid                 | Mayer       |    |
|                          | Wagner      |    |
|                          | Dragendroff |   |
| Flavonoid                |             |  |
| Tanin                    |             |  |
| Saponin                  |             |  |

|           |  |                                                                                     |  |
|-----------|--|-------------------------------------------------------------------------------------|--|
| Polifenol |  |  |  |
|-----------|--|-------------------------------------------------------------------------------------|--|

| Waktu ekstraksi 20 menit |             |                                                                                       |  |
|--------------------------|-------------|---------------------------------------------------------------------------------------|--|
| Alkaloid                 | Mayer       |    |  |
|                          | Wagner      |   |  |
|                          | Dragendroff |  |  |
| Flavonoid                |             |  |  |
| Tanin                    |             |  |  |

|           |  |                                                                                     |  |
|-----------|--|-------------------------------------------------------------------------------------|--|
| Saponin   |  |  |  |
| Polifenol |  |  |  |

| Waktu ekstraksi 30 menit |             |                                                                                       |  |
|--------------------------|-------------|---------------------------------------------------------------------------------------|--|
| Alkaloid                 | Mayer       |   |  |
|                          | Wagner      |  |  |
|                          | Dragendroff |  |  |
| Flavonoid                |             |  |  |
| Tanin                    |             |  |  |

|           |  |                                                                                     |  |
|-----------|--|-------------------------------------------------------------------------------------|--|
| Saponin   |  |  |  |
| Polifenol |  |  |  |

d. Peremajaan bakteri *Propionibacterium acnes*



e. Pembuatan kontrol positif



f. Pembuatan Mc Farland



g. Uji antibakteri



h. Hasil uji antibakteri

