

Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70% Biji Kakao (*theobroma cacao* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Antibacterial Effectiveness Test Of 70% Ethanol Extract Of Cocoa Seed (Theobroma Cacao L.) Against Staphylococcus aureus Bacteria

Dedy Ma'ruf¹⁾, Ria Febriani Shahihah Hasbi²⁾, Hijrawati Ayu Wardani³⁾, Abd. Karim⁴⁾

^{1,2,3,4)}Institut Ilmu Kesehatan Pelamonia Makassar

¹⁾E-mail: himadipo@gmail.com

ABSTRACT

Infectious diseases are still a major problem in the health sector. Infectious diseases are diseases that spread quite easily and can be caused by bacteria, viruses, fungi and parasites. One of the infectious diseases that is quite frequent and almost attacks all humans is infection caused by the bacteria *Staphylococcus aureus*. One of the plants that has pharmacological effects and has the potential to act as an antibacterial is cocoa fruit, fresh cocoa beans contain around 32-39% water, 30-32 % fat, 10-15% protein, 5-6% polyphenols, 4-6% pentosan, 2-3% cellulose, 2-3% sucrose, 1-2% theobromine, 1% acid, and less than 1% caffeine. This research aims to determine the inhibitory ability of 70% ethanol extract of cocoa beans (*Theobroma cacao* L.) against *Staphylococcus aureus* bacteria. The extraction methods used are divided into 2, namely: soxhletation using n-hexane solvent which aims to free up fat from the cocoa beans so that the desired compounds are completely attracted, maceration using 70% ethanol solvent and evaporation using a rotary vacuum evaporator. This research is experimental using the disc diffusion method. The concentration of cocoa bean extract used is 5%, 10%, 15%. The control used was amoxicillin as a positive control. The results of the antibacterial activity test showed that 70% ethanol extract of cocoa beans had antibacterial activity. Effectiveness test results at varying concentrations of 5%, 10% and 15% with an average diameter of the inhibition zone respectively of 10.71 mm; 10.85 mm; and 12.76 mm. A concentration variation of 15% has the strongest inhibitory activity category in inhibiting the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria.

Keywords : Antibacterial, Cocoa beans, *Staphylococcus aureus*, Inhibition zone diameter, MIC

ABSTRAK

Penyakit infeksi masih menjadi masalah utama dibidang kesehatan. Penyakit infeksi merupakan penyakit yang penyebarannya cukup mudah dan dapat disebabkan oleh bakteri, virus, jamur dan parasit. Salah satu penyakit infeksi yang cukup sering dan hampir menyerang semua manusia adalah infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus*, salah satu tanaman yang memiliki efek farmakologi dan berpotensi sebagai antibakteri adalah buah kakao, biji kakao segar mengandung sekitar 32-39% air, 30-32% lemak, 10-15% protein, 5-6% polifenol, 4-6% pentosan, 2-3% selulosa, 2-3% sukrosa, 1-2% theobromine, 1% asam, dan kurang dari 1% kafein. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan daya hambat ekstrak etanol 70% biji buah kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Metode ekstraksi yang digunakan terbagi menjadi 2 yaitu : soxhletasi dengan menggunakan pelarut n-heksan yang bertujuan untuk membebaskan lemak biji buah kakao agar senyawa yang diinginkan tertarik dengan sempurna, maserasi menggunakan pelarut etanol 70% dan diuapkan menggunakan rotary vacuum evaporator. Penelitian ini bersifat eksperimental menggunakan metode difusi cakram. Konsentrasi ekstrak biji buah kakao yang digunakan yaitu 5%, 10%, 15%. Kontrol yang digunakan adalah amoxicillin sebagai kontrol positif. Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% biji buah kakao memiliki aktivitas antibakteri. Hasil uji efektivitas pada variasi konsentrasi 5%, 10%, dan 15% dengan rata-rata diameter zona hambat berturut-turut yaitu dengan sebesar 10,71 mm; 10,85 mm; dan 12,76 mm. Variasi konsentrasi 15% memiliki kategori aktivitas daya hambat yang paling kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *staphylococcus aureus*..

Kata kunci : Antibakteri, Biji buah kakao, KHM, *Staphylococcus aureus*, Zona hambat.

PENDAHULUAN

Tanaman obat herbal adalah tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat, bagian yang sering digunakan yaitu daun, batang, dan akarnya. Beberapa tanaman obat tersebut dimanfaatkan masyarakat sebagai obat tradisional atau alternatif. Selain itu, obat herbal juga memiliki keunggulan karena tidak menimbulkan efek samping pada pasien yang melakukan pengobatan sendiri (Yulianto, 2017).

Penyakit infeksi masih menjadi masalah utama di bidang kesehatan. Penyakit infeksi merupakan penyakit yang penyebarannya cukup mudah dan dapat disebabkan oleh bakteri, virus, jamur dan parasit. Salah satu penyakit infeksi yang cukup sering dan hampir menyerang semua manusia adalah infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* (Diyantika *et al.*, 2014).

Staphylococcus aureus adalah coccus gram positif. *Staphylococcus aureus* juga dapat bertindak sebagai patogen oportunistik atau patogen yang memiliki peluang besar untuk dapat menginfeksi (Radji *et al.* 2011). Bakteri *Staphylococcus aureus* ditemukan terutama pada kulit, kelenjar kulit, selaput lendir, luka, dan umumnya menyebabkan radang tenggorokan, infeksi kulit (seperti bisul) serta infeksi sistem saraf pusat, rongga mulut dan paru-paru. Khusnan *et al.* 2008 di dalam jurnal (Diyantika *et al.*, 2014).

Terapi yang bisa diberikan pada penderita infeksi *Staphylococcus aureus* adalah antibiotik. Antibiotik adalah obat yang digunakan untuk melawan infeksi yang disebabkan oleh bakteri (Kemenkes RI, 2021). Akan tetapi pengaplikasian antibiotik yang tidak sesuai dapat menimbulkan terjadinya resistensi. Upaya yang dapat dilakukan untuk menangani resistensi tersebut adalah dengan menggunakan bahan herbal sebagai bahan dasar terapi (I Dewa Ayu Rayna Nareswari Wikananda *et al.*, 2019).

Oleh karena itu diperlukan pendekatan pengobatan alternatif, salah satunya dengan menggunakan buah kakao. Penelitian menemukan bahwa senyawa polifenol dalam biji kakao terbukti memiliki aktivitas antioksidan dan antibakteri yang bermanfaat bagi tubuh. Misnawi S, 2005 di dalam jurnal penelitian (Iflahah *et al.*, 2016).

Menurut penelitian uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol biji kakao (*Theobroma cacao* L.) yang dilakukan oleh (Rarung *et al.*, 2022) pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan berbagai kadar ekstrak yaitu konsentrasi 5%, 10% dan 15% dengan metode difusi sumuran. Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji kakao (*Theobroma cacao* L.) memberikan hambatan pertumbuhan bakteri gram positif yaitu bakteri *Streptococcus mutans* pada kadar konsentrasi terkecil yaitu 5%, 10% dan 15% dengan diameter zona hambat berturut-turut yaitu 8,16 mm yang dikategorikan memiliki daya hambat antibakteri sedang, 9,5 mm yang dikategorikan memiliki daya hambat antibakteri sedang, 11,58 mm yang dikategorikan memiliki daya hambat antibakteri kuat.

Jenis, tempat dan waktu

Penelitian ini merupakan jenis penelitian observasi dan eksperimental laboratorium, yaitu uji efektivitas ekstrak etanol 70% biji kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini telah dilakukan pada tanggal 01 Desember 2023 - 16 Januari 2024, dan dilaksanakan di Laboratorium Bahan Alam dan Mikrobiologi & Parasitologi Prodi DIII Farmasi Institut Ilmu Kesehatan Pelamonia Makassar, yang bertempat di Jl. Garuda No.3AD, Kota Makassar.

Alat dan Bahan

Adapun alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu : Autoklaf, batang pengaduk, *beaker glass*, cawan petri, cawan porselin, erlenmeyer, gelas, gelas ukur, inkubator, jangka sorong, kapas, kawat ose, labu ukur, lampu bunsen, mikropipet, oven, pinset, pipet tetes, rak tabung reaksi, *rotary vacuum evaporator*, seperangkat alat *soxhlet*, *spidol*, tabung *ependorf*, tabung reaksi, timbangan analitik dan toples. Bahan yang digunakan yaitu : Aquadest steril, biji kakao, n-heksan, etanol 70%, media *nutrient agar* (NA), dan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus*.

Prosedur Penelitian

1. Pengambilan Sampel

Buah kakao (*Theobroma cacao* L.) diperoleh di daerah Desa Sepa, Kec. Pagimana, Kabupaten Luwuk Banggai, Sulawesi Tengah. Sampel Buah kakao (*Theobroma cacao* L.) diambil pada pagi hari, dan bagian yang diambil adalah biji buah kakao (*Theobroma cacao* L.)

2. Pengolahan Sampel

Sampel Buah kakao (*Theobroma cacao* L.) dikumpulkan, lalu dikupas bagian kulitnya dan bagian biji dari buah kakao dibersihkan dari pulpa kulit buah kakao kemudian dilakukan sortasi basah. Selanjutnya dikeringkan dengan cara dijemur dibawah paparan sinar matahari langsung selama 3 hari, kemudian biji kakao tersebut diserbukkan menggunakan blender dan sampel siap untuk diekstraksi.

3. Pembuatan Serbuk Simplisia Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.)

a. Ekstraksi Metode Soxhletasi

Disiapkan sebanyak 400 gram simplisia biji kakao, kemudian dibagi menjadi 8 bagian, masing-masing sebanyak 50 gram, serbuk biji kakao dibungkus dengan kertas saring. Setelah itu, serbuk yang telah terbungkus kertas saring dimasukkan ke dalam timbel pada soxhlet. Kemudian dimasukkan pelarut n-heksan sebanyak 500 mL. Soxhletasi dilakukan pada suhu 70° C sampai tetesan siklus tidak berwarna lagi. Ekstrak cair yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan menggunakan rotary evaporator sampai diperoleh ekstrak kental (Puspitasari & Prayogo, 2017) Dilakukan replikasi sebanyak 4 kali.

b. Ekstraksi Metode Maserasi

Hasil dari ekstraksi biji kakao dengan menggunakan metode soxhletasi Sebanyak 200 g serbuk biji kakao dimasukkan ke dalam maserator, kemudian ditambahkan 2000 mL pelarut etanol 70% (1:10). Perendaman dilakukan selama 6 jam pertama sambil sesekali diaduk, kemudian didiamkan kembali selama 18 jam. Setelah itu, hasil maserasi disaring, lalu dilakukan pemekatan filtrat dengan menggunakan mesin rotary evaporator untuk memisahkan pelarut dengan ekstrak biji coklat hingga diperoleh ekstrak kental.

4. Sterilisasi Alat

Seluruh peralatan yang digunakan selama penelitian harus dibersihkan dengan cara dicuci dan dikeringkan lalu dibungkus dengan kertas. Untuk alat yang tahan terhadap pemanasan tinggi seperti erlenmeyer, cawan petri, tabung reaksi dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 150°–170°C selama 1 jam. Untuk alat dan bahan yang tidak tahan terhadap proses pemanasan tinggi seperti media *Nutrient Agar* (NA), tip dan gelas kimia dimasukkan kedalam autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit. Untuk ose bulat dan pinset disterilkan dengan cara dipijarkan (Dzul Asfi & Wahyuni, 2023).

5. Pembuatan Media *Nutrient Agar* (NA)

Sebanyak 7 g serbuk media *Nutrient Agar* merck himedia ditimbang kemudian dimasukkan dalam Erlenmeyer dan dilarutkan dengan aquadest sebanyak 250 mL, lalu dipanaskan sampai mendidih dan larut sempurna. Kemudian disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C.

6. Pembuatan Larutan Standar *Mc Farland 0,5*

Larutan *Mc Farland 0,5* dibuat dengan mencampur larutan barium klorida BaCl₂ 1% sebanyak 0,05 mL dimasukkan kedalam tabung reaksi steril dan ditutup, lalu dipipet larutan H₂SO₄ 1% sebanyak 9,95 mL dan dicampurkan kedalam tabung reaksi yang telah berisi larutan BaCl₂ 1%, kemudian di vortex sampai larutan tercampur sempurna.

7. Peremajaan Bakteri

Media *Nutrient Agar* yang telah disterilisasi kemudian dimasukkan ke dalam setengah tabung reaksi menggunakan spoit, tabung reaksi dimiringkan sampai 15°, ditunggu hingga memadat. Selanjutnya diambil satu ose bakteri *Staphylococcus aureus* murni digoreskan pada media *Nutrient Agar* yang telah memadat dengan cara zig-zag dari arah dalam tabung reaksi, lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

8. Pembuatan Suspensi Bakteri

Bakteri uji pada media agar miring diambil dengan menggunakan kawat ose steril lalu disuspensikan ke dalam tabung yang berisi 10 mL larutan NaCl 0,9 % dalam tabung reaksi kemudian dikocok hingga diperoleh larutan yang keruh. Kekeruhan ini dipakai sebagai standar kekeruhan suspensi bakteri uji (Afni *et al.*, 2015).

9. Pembuatan Kontrol Positif dan Kontrol Negatif

Larutan kontrol positif yang dibuat dengan menggunakan amoxicillin sebanyak 50 mg, kemudian dilarutkan dengan aquadest steril sebanyak 25 mL, kemudian dihomogenkan.

10. Pembuatan Variasi Konsentrasi

Dibuat variasi konsentrasi ekstrak biji kakao yaitu 5%, 10%, dan 15%. Untuk membuat larutan konsentrasi 5%, 10% dan 15% yaitu ditimbang berturut-turut 0,05 g; 0,1 g; 0,15 g, ekstrak aktif dan dicukupkan hingga 1 mL DMSO 10% di dalam eppendorf.

11. Uji Efektivitas Antibakteri

Ekstrak biji kakao yang memiliki aktivitas antibakteri selanjutnya di uji efektivitasnya dalam 3 variasi konsentrasi yaitu 5%, 10%, 15%. Sebanyak 20 µL suspensi bakteri dimasukkan kedalam cawan petri dan ditambahkan media NA sebanyak 20 mL, homogenkan dan didiamkan hingga memadat. Cawan petri dibagi menjadi 5 bagian kemudian diletakkan *paper disc* pada media yang sudah diinokulasi. Kemudian, cawan petri diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Diameter zona hambat diukur dengan menggunakan jangka sorong.

HASIL**1. Hasil Rendemen Ekstrak Etanol 70% Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.)**

Berat Sampel Simplisia (g)	Jumlah Pelarut (L)	Berat Ekstrak (g)	Rendemen (%)
200	4	21,89	10,94

2. Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol 70% Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.)

Bakteri Uji	Konsentrasi (%)	Diameter Zona Hambat (mm)			Reta-rata (mm)	Kategori Diameter Zona Hambat
		I	II	III		
<i>S. aureus</i>	5%	10,45	10,95	10,75	10,71	Kuat
	10%	11,3	10,67	10,6	10,85	Kuat
	15%	14	11,2	13,1	12,76	Kuat
	Kontrol +	10,15	10,15	12,1	10,8	Kuat
	Kontrol -	-	-	-	-	-

3. Uji Normalitas *Shapiro-Wilk* Efektivitas Ekstrak Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.)

Konsentrasi	<i>Shapiro-Wilk</i>		
	Statistic	Df	Sig
5%	0,983	3	0,747
10%	0,824	3	0,174
15%	0,959	3	0,612
Kontrol Positif	0,750	3	0,000
Kontrol Negatif	-	-	-

Keterangan : $p > 0.05$ (signifikan)

4. Uji *Kruskal-Wallis* Efektivitas Ekstrak Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.)

		Rata-rata Diameter Zona Hambat
Kruskal-Wallis H		4.143
Df		3
Asymp. Sig.		.246

Keterangan : $p < 0.05$ (signifikan)

PEMBAHASAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang bertujuan untuk mengetahui efektivitas ekstrak etanol 70% biji kakao (*Theobroma cacao* L.) dengan menggunakan metode difusi cakram. Buah kakao (*Theobroma cacao* L.) yang digunakan diperoleh dari Desa Sepa, Kecamatan Pagimana, Kabupaten Luwuk Banggai, Provinsi Sulawesi Tengah. Buah kakao diambil bagian biji nya kemudian diserbukkan menggunakan blender, agar senyawa kimia yang terkandung dalam biji buah kakao tersebut mudah terekstrak.

Simplisia biji kakao yang telah diserbukkan ditimbang sebanyak 400 gram, kemudian dilakukan ekstraksi menggunakan metode *soxhletasi* dengan menggunakan pelarut n-heksan sebanyak 8 kali replikasi atau sama dengan 200 siklus, hal ini bertujuan untuk menghilangkan lemak yang terkandung dalam biji buah kakao, Menurut (Diantika, 2014) biji buah kakao dengan kadar lemak yang tinggi perlu pemurnian dalam proses ekstraksi yang lebih agar dapat menghasilkan antioksidan dan senyawa lainnya yang lebih maksimal. Hasil serbuk simplisia dari metode *soxhletasi* tersebut kemudian diambil sebanyak 200 gram dan dilakukan ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan cara serbuk simplisia biji buah kakao direndam menggunakan pelarut etanol 70% sebanyak 2 L, kemudian dilakukan pengadukan. Alasan penggunaan pelarut etanol 70%, karena pelarut yang dapat mempengaruhi hasil metabolit sekunder salah satunya adalah pelarut etanol 70% yang dapat mengekstraksi berbagai senyawa polaritas yang berbeda, dari senyawa polar hingga non-polar, tidak toksik dibanding dengan pelarut organik lainnya, tidak mudah ditumbuhi mikroba, dan relatif murah dan mudah didapatkan (Afifah *et al.*, 2023). Tujuan pengadukan pada

proses maserasi karena maserasi memerlukan bantuan ekstraksi dengan cara pengocokan atau pengadukan agar dapat mempercepat waktu larutan penyari dalam mengekstraksi sampel (Handoyo, 2020).

Hasil maserasi kemudian disaring menggunakan kertas saring, kemudian hasil filtrat simplisia diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 70°C. Selanjutnya dipindahkan kecawan porselin untuk diuapkan di atas *water bath* agar didapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental yang dihasilkan ditimbang dan dibandingkan dengan berat serbuk simplisia yang dimaserasi untuk mengetahui rendemen ekstrak. Berat ekstrak kental yang didapatkan adalah 21,89 gram, dan rendemen sebesar 10,94%. Menurut penelitian yang dilakukan oleh (Purwanti *et al.*, 2023) nilai rendemen dari ekstrak etanol 70% kulit biji kakao dapat dikatakan baik yaitu 11,08% atau lebih dari 10%.

Selanjutnya dilakukan uji efektivitas antibakteri dengan menggunakan tiga konsentrasi yaitu 5%, 10%, dan 15%, untuk melihat kemampuan daya hambat dari konsentrasi tersebut yang ditandai dengan terbentuknya diameter zona hambat yang bening disekitar *paper disc*. Untuk pengujian efektivitas antibakteri ekstrak kental biji buah kakao ditimbang masing-masing sebanyak 0,05 gr, 0,1 gr, dan 0,15 gr dan dilarutkan menggunakan 1 mL *Dimetil Sulfoksida* (DMSO) 10%, untuk mendapatkan masing-masing konsentrasi. Pengujian dilakukan dengan menggunakan *disc diffusion method* atau metode difusi cakram.

Hasil penelitian didapatkan dengan cara mengukur diameter zona hambat menggunakan jangka sorong. Diameter zona hambat rata-rata pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan pemberian konsentrasi ekstrak biji buah kakao (*Theobroma cacao* L.) pada konsentrasi 5% sebesar 10,71 mm, konsentrasi 10% sebesar 10,85 mm, konsentrasi 15% sebesar 12,76 mm dan pada kontrol positif Amoxicillin sebesar 10,8 mm. Ekstrak biji buah kakao (*Theobroma cacao* L.) dengan berbagai variasi konsentrasi menunjukkan bahwa ekstrak dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dengan kategori kuat. Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, didapatkan hasil bahwa ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao* L.) yang diekstraksi menggunakan etanol 70% dan di uji pada bakteri *staphylococcus aureus*, menunjukkan adanya aktivitas daya hambat antibakteri yang terbentuk disekitar media, dan dikategorikan kuat.

Hasil uji normalitas merupakan cara yang digunakan untuk mengetahui apakah sebaran data pada uji efektivitas antibakteri ekstrak etanol 70% biji kakao terhadap bakteri *staphylococcus aureus* terdistribusi dengan normal atau tidak. Interpretasi hasil uji normalitas dengan melihat nilai signifikan, jika nilai signifikan $>0,05$ maka data dianggap terdistribusi dengan normal. Berdasarkan hasil uji normalitas menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% biji kakao pada konsentrasi 5% menunjukkan nilai signifikan 0,747 yang berarti bahwa data terdistribusi dengan normal, pada konsentrasi 10% menunjukkan nilai signifikan 0,174 yang berarti bahwa data terdistribusi dengan normal, dan pada konsentrasi 15% menunjukkan nilai signifikan 0,612 yang berarti data terdistribusi dengan normal, sedangkan pada kontrol positif amoxicillin menunjukkan hasil nilai tidak signifikan 0,000 yang berarti data terdistribusi tidak normal.

Uji *kruskal-wallis* adalah salah satu uji statistik non-parametrik yang dapat digunakan untuk menguji apakah terdapat perbedaan yang signifikan secara statistik antara dua atau lebih kelompok variabel independen dan variabel dependen, adapun hipotesis pada uji *kruskalwallis* yaitu : jika nilai *p-value* $< 0,05$ maka H_0 ditolak, artinya terdapat perbedaan antara kedua sampel, jika nilai *p-value* $> 0,05$ maka H_0 diterima, artinya terdapat kesamaan antara kedua sampel. Adapun hasil uji *kruskal-wallis* digunakan untuk mengetahui adanya pengaruh berbagai konsentrasi ekstrak etanol 70% biji kakao terhadap bakteri *staphylococcus aureus*. Hasil analisis dari uji *kruskal-wallis* didapatkan nilai signifikansi $p = 0,246$ ($p > 0,05$), dari uji ini dapat disimpulkan bahwa pada tiap pemberian konsentrasi ekstrak etanol 70% biji buah kakao terdapat kesamaan terhadap diameter zona hambat yang terbentuk disekitar *paper disc*.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Ekstrak etanol 70% biji buah kakao (*Theobroma cacao* L.) menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*.
2. Konsentrasi ekstrak biji buah kakao (*Theobroma cacao* L.) yang efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu konsentrasi 5% dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 10,71 mm, dan konsentrasi yang memiliki kategori zona hambat paling kuat adalah konsentrasi 15% dengan diameter zona hambat rata-rata 12,76 mm.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait senyawa yang terkandung dalam biji buah kakao (*Theobroma cacao* L.) yang berasal dari Desa Sepa, Kec. Pagimana, Kab. Luwuk Banggai, Provinsi Sulawesi Tengah, dan perlu dilakukan pengujian lebih lanjut dengan jenis bakteri yang berbeda salah

satunya bakteri gram negatif.

DAFTAR PUSTAKA

- Afifah N, Budi Riyanta A, Amananti W. Pengaruh Waktu Maserasi Terhadap Hasil Skrining Fitokimia Pada Ekstrak Daun Mangga Harum Manis (*Mangifera indica* L.). *J Cryst Publ Penelit Kim dan Ter.* 2023;5(1):54-61. doi:10.36526/jc.v5i1.2634
- Afni, N., Said, N., & Yuliet, Y. (2015). "Uji Aktivitas Antibakteri Pasta Gigi Ekstrak Biji Pinang (*Areca Catechu* L.) Terhadap *Streptococcus Mutans* dan *Staphylococcus Aureus*". *Jurnal Farmasi Galenika* (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal), 1(1), 48-58.
- Chusniasih D, Tutik T, Syakira N. Uji aktivitas ekstrak etanol kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) Terhadap pertumbuhan jamur *candida albicans* dan bakteri *Staphylococcus aureus*. *J Farm Malahayati.* 2021;3(2):192-201. doi:10.33024/jfm.v3i2.3427
- Desy Rachmatullah, Putri DN, Fiki Herianto, Harini N. Karakteristik biji kakao (*theobroma cacao* l.) Hasil fermentasi dengan ukuran wadah berbeda. *Viabel J Ilm Ilmu-Ilmu Pertan.* 2021;15(1):32-44. doi:10.35457/viabel.v15i1.1409
- Diantika F. Effect of Long Extraction and Concentration and Concentration of Ethanol Solvent Extraction Antioxidant Cocoa Beans (*Theobroma cacao* L.). *J Teknol Pertan.* 2014;15(3):159-165. doi:10.21776/ub.jtp.2014.015.03.02
- Diyantika D, Chusna Mufida D, Kedokteran F, Jember U, Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia Jln Kalimantan P. Perubahan Morfologi *Staphylococcus aureus* Akibat Paparan Ekstrak Etanol Biji Kakao (*Theobroma cacao*) secara In Vitro (The Morphology Change of *Staphylococcus Aureus* Caused by Ethanol extracts of Cocoa Beans (*Theobroma Cacao*) in Vitro). *J Pustaka Kesehat.* 2014;2(2):337-345
- Dzul Asfi, Wahyuni S. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Sambiloto (*Andrographis Paniculata*, Nees) Terhadap *Staphylococcus Aureus*. *Berk Penelit Teknol Kulit, Sepatu, dan Prod Kulit.* 2023;22(1):1. doi:10.58533/bptkspk.v22i1.191
- Frans U. Datta , Angela Novita Daki , Imanuel Benu , Annytha I .R. Detha , Nancy D. F. K. Foeh, Nemay A. Ndaong. 2019. "Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat Cairan Rumen Terhadap Pertumbuhan *Salmonella Enteritidis*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* Menggunakan Metode Difusi Sumur Agar". *Prosiding Seminar Nasional VII FKH Undana Swiss Bel-inn Kristal Kupang*, 17 Oktober 2019.
- Handoyo DLY. The Influence Of Maseration Time (Immeration) On The Vocity Of Birthleaf Extract (Piper Betle). *J Farm Tinctura.* 2020;2(1):34-41. doi:10.35316/tinctura.v2i1.1546
- I Dewa Ayu Rayna Nareswari Wikananda, Made Agus Hendrayana, Komang Januartha Putra Pinatih. Efek antibakteri ekstrak ethanol kulit batang tanaman cempaka kuning (*M. Champaca* L.) Terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *J Med.* 2019;8(5):2597-8012. <https://ojs.unud.ac.id/index.php/eum>
- Iflahah MA, Puspawati NM, Suaniti NM, et al. Aktivitas antioksidan biji kakao (*theobroma cacao* l .) Dalam menurunkan kadar 8-hidroksi- 2 ' -deoksiguanosin dalam. 2016;4:113-119.
- Katrin D, Idiawati N, Sitorus B, Hadari Nawawi JH. Uji Aktivitas Antibakteri Dari Ekstrak Daun Malek (*Litsea Graciae* Vidal) Terhadap Bakteri *Stapylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*. *J Kim Khatulistiwa.* 2015;4(1):7-12. <https://jurnal.untan.ac.id/index.php/jkkmpa/article/view/11720>
- Kemenkes RI. Pedoman Penggunaan Antibiotik. *Pedoman Pengguna Antibiot.* Published online 2021:1-97.
- Purwanti A, Agustin DB, Nuri N. Uji Potensi Antibakteri *Streptococcus mutans* Ekstrak Kulit Biji Kakao (*Theobroma cacao* L) dengan Metode Ekstraksi Sonikasi. *J Farm Higea.* 2023;15(1):64. doi:10.52689/higea.v15i1.506
- Puspitasari AD, Prayogo LS. Perbandingan metode ekstraksi maserasi dan sokletasi terhadap kadar fenolik total ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura*). *J Ilm Cendekia Eksakta.* 2017;1(2):1-8.
- Radji, M., 2011, "Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran". Buku

Kedokteran EGC, Jakarta.

- Rarung A, Yamlean P, Mansauda K. Formulation and antibacterial activity test of cocoa bean extract toothpaste (theobroma cacao L.) Against streptococcus mutans *Pharmacon*. 2022;11(November):1793-1804.
- Singh, J.P., Kaur, A., Shevkani, K., and Singh, N. 2015. "Influence of jambolan (Syzygium cumini) and xanthan gum incorporation on the physicochemical, antioxidant and sensory properties of gluten-free eggless rice muffins". *International Journal of Food Science and Technology*, 50 (5): 1190-1197.
- Sri Dewi Haryati, Darmawati S, Wilson W. Implementasi Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Untuk Peningkatan Kekayaan Intelektual Perbandingan Efek Ekstrak Buah Alpukat (Persea Americana Mill) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Pseudomonas aeruginosa. *Pros Semin Nas Publ Hasil-Hasil Penelit dan Pengabdi Masy*. 2017;(September):348-352.
- Supriyanto, P. Darmadji, dan Iik Susanti,. 2014. "Studi Pembuatan Teh Daun Kakao (Theobroma cacao, L) Sebagai Minuman Penyegar". *Jurnal Agritech*, Vol 34 No.4. November 2014.
- Yulianto S. Penggunaan Tanaman Herbal Untuk Kesehatan. *J Kebidanan dan Kesehat Tradis*. 2017;2(1):1-7. doi:10.37341/jkkt.v2i1.37