

**UJI EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI
EKSTRAK BIJI KAKAO (*Theobroma cacao*) TERHADAP
PERTUMBUHAN *Pseudomonas aeruginosa*
SECARA IN VITRO**

SKRIPSI



Oleh:
SARAH NURUL FUADAH
2108260173

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA
MEDAN
2025**

**UJI EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI
EKSTRAK BIJI KAKAO (*Theobroma cacao*) TERHADAP
PERTUMBUHAN *Pseudomonas aeruginosa*
SECARA IN VITRO**

**Skripsi ini Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh
Kelulusan Sarjana Kedokteran**



Oleh:

SARAH NURUL FUADAH

2108260173

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA
MEDAN
2025**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya yang bertandatangan dibawah ini menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : SARAH NURUL FUADAH

NPM : 2108260173

Judul Skripsi : UJI EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK BIJI KAKAO
(*Theobroma cacao*) TERHADAP PERTUMBUHAN
Pseudomonas aeruginosa SECARA IN VITRO

Demikianlah pernyataan ini saya perbuat, untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Medan, 14 Januari 2025

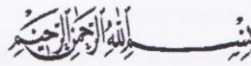


SEPULUH RIBU RUPIAH
10000
TGL. 20
METERAI
TEMPEL
EDC8CAMX181559360

(Sarah Nurul Fuadah)



MAJELIS PENDIDIKAN TINGGI, PENELITIAN & PENGEMBANGAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA
FAKULTAS KEDOKTERAN
Jalan Gedung Arca No. 53 Medan 20217 Telp. (061) 7350163 – 7333162 Ext.
20 Fax. (061) 7363488
Website : fk@umsu.ac.id



HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh

Nama : Sarah Nurul Fuadah
NPM : 2108260173
Judul : UJI EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK BIJI KAKAO
(*Theobroma cacao*) TERHADAP PERTUMBUHAN *Pseudomonas aeruginosa* SECARA IN VITRO

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara

DEWAN PENGUJI

Pembimbing,

(Assoc. Prof. Dr. dr. Nurfadly, MKT)

Penguji 1

(dr. Ance Roslina, M. Kes, Sp.KKLP)

Penguji 2

(dr. Annisa, MKT)

Mengetahui,



Dekan FK UMSU

(dr. Siti Mashiana Siregar, Sp.THT-KL, Subsp.Rino(K))
NIDN: 0106098201

Ketua Program Studi
Pendidikan Dokter
FK UMSU

(dr. Desi Isnayanti, M.Pd.Ked)
NIDN: 0112098605

Ditetapkan di : Medan,
Tanggal : 14 Januari 2025

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji syukur saya ucapkan kepada Allah *Subhanahu Wata'ala* karena hanya kepada-Nya memohon doa, saya dapat menyelesaikan skripsi ini untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Kedokteran pada Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara. Saya menyadari bahwa , tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, sangat sulit bagi saya dalam menyelesaikan skripsi ini. Maka dari itu, saya mengucapkan terima kasih kepada :

- 1.) dr. Siti Masliana Siregar, Sp.THT-KL.,Subsp.Rino(K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran
- 2.) dr. Desi Isnayanti, M.Pd. Ked selaku Ketua Program Studi Pendidikan Dokter
- 3.) Assoc. Prof. Dr. dr. Nurfadly, MKT selaku dosen pembimbing saya yang telah menyediakan waktu dan pikiran dalam membimbing dan mengarahkan saya dalam proses penyusunan skripsi ini.
- 4.) dr. Ance Roslina, M.Kes, Sp.KKLP selaku dosen penguji pertama saya yang telah menyediakan waktu dan pikiran dalam membimbing dan mengarahkan saya dalam proses penyusunan skripsi ini.
- 5.) dr. Annisa, MKT selaku dosen penguji kedua saya yang telah menyediakan waktu dan pikiran dalam membimbing dan mengarahkan saya dalam proses penyusunan skripsi ini.
- 6.) Orangtua saya tercinta bapak Hendra Budiman, SE dan ibu Ratsuhanni Lubis serta kedua adik saya Nada Hafitri dan Ghania Sheza Ramadhani yang telah memberikan dukungan dan semangat kepada saya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan lancar dan selesai tepat waktu.
- 7.) Teman penelitian saya Dinda afrinalis, Asty Amanda Br Surbakti, dan Vito Ricardo yang turut membantu saya dalam penelitian sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini.

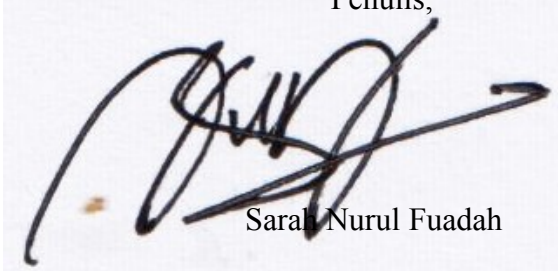
8.) Teman-teman terdekat saya yang saya sayangi anggota grup squadaff dan anggota grup WIB yang telah memberikan dukungan dan semangat sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini.

Terimakasih saya ucapkan kepada seluruh pihak yang turut membantu saya dalam menyelesaikan skripsi ini dan tidak bisa saya sebutkan satu persatu. Saya menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, untuk itu kritik dan saran demi kesempurnaan tulisan ini sangat saya harapkan.

Akhir kata, saya berharap Allah SWT berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga skripsi ini membawa manfaat bagi pengembangan ilmu.

Medan, 22 Desember 2024

Penulis,



Sarah Nurul Fuadah

**PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI SKRIPSI UNTUK
KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademika Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara, Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Sarah Nurul Fuadah

NPM : 2108260173

Fakultas : Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara

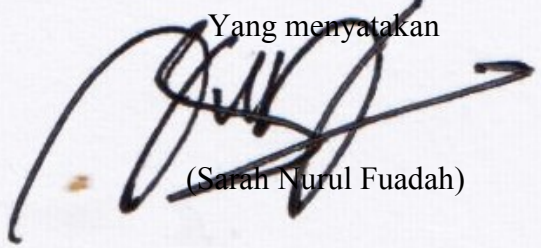
Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara Hak Bebas Royalti Noneksklusif atas karya tulis ilmiah saya yang berjudul :

“Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Biji (*Theobroma cacao*) Terhadap Pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* Secara In Vitro” beserta perangkat yang ada (jika diperlukan).

Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara berhak menyimpan, mengalih media atau formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta. Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Medan

Pada tanggal : 14 Januari 2025

Yang menyatakan

(Sarah Nurul Fuadah)

ABSTRAK

Pendahuluan: *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri patogen oportunistik penyebab infeksi nosokomial pada pasien septikemia, sistik fibrosis, Infeksi Saluran Kemih, dan infeksi luka yang dapat menyebabkan tingkat mortalitas tinggi. Biji kakao mengandung senyawa kimia antibakteri yaitu Flavonoida, Alkaloida, Tanin, dan Saponin. Tujuan penelitian ini untuk membuktikan aktivitas antibakteri ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao*) terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. **Metode:** Penelitian ini menggunakan metode *true experimental design*. Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Teknik yang digunakan untuk mengukur aktivitas antibakteri adalah metode difusi cakram dengan mengukur zona jernih dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% dan mengetahui konsentrasi yang paling efektif terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. **Hasil:** Ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao*) pada konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%, K (+) yaitu Ciprofloksasin dan K (-) yaitu aquadest diperoleh nilai ($p=0,000$) dimana ($p<0,05$) yang berarti terdapat perbedaan daya hambat dari masing-masing kelompok. Konsentrasi 100% dari ekstrak biji kakao paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dibandingkan dengan konsentrasi 25%, 50% dan 75%. **Kesimpulan:** Terdapat aktivitas antibakteri ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao*) terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

Kata kunci: Biji kakao, *Theobroma cacao*, *Pseudomonas aeruginosa*

ABSTRACT

Introduction: *Pseudomonas aeruginosa* is an opportunistic pathogenic bacteria that causes nosocomial infections in patients with septicemia, cystic fibrosis, urinary tract infections and wound infections which can cause high mortality rates. Cocoa beans contain antibacterial chemical compounds, namely Flavonoids, Alkaloids, Tannins and Saponins. The aim of this research was to prove the antibacterial activity of cocoa bean extract (*Theobroma cacao*) against the growth of *Pseudomonas aeruginosa* bacteria. **Methods:** This study used true experimental design method. Extraction was done by maceration using 96% ethanol solvent. The technique used to measure antibacterial activity is the disc diffusion method by measuring the clear zone with concentrations of 25%, 50%, 75%, and 100% and knowing the most effective concentration against the growth of *Pseudomonas aeruginosa* bacteria. **Results:** Cocoa bean extract (*Theobroma cacao*) at concentrations of 25%, 50%, 75%, and 100%, K (+) which is Ciprofloxacin and K (-) which is aquadest obtained a value of ($p=0.000$) where ($p<0.05$) which means there is a difference in inhibition from each group. The 100% concentration of cocoa bean extract was most effective in inhibiting the growth of *Pseudomonas aeruginosa* bacteria compared to the 25%, 50% and 75% concentrations. **Conclusion:** There is antibacterial activity of cocoa bean extract (*Theobroma cacao*) against the growth of *Pseudomonas aeruginosa* bacteria.

Keywords: Cocoa bean, *Theobroma cacao*, *Pseudomonas aeruginosa*

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI SKRIPSI UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS.....	vi
ABSTRAK.....	vii
<i>ABSTRACT</i>	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1 Tujuan Umum	3
1.3.2 Tujuan Khusus	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tanaman Kakao (<i>Theobroma cacao</i>)	4
2.1.1 Klasifikasi Tanaman Kakao	4
2.1.2 Morfologi Tanaman Kakao	4
2.1.3 Kandungan Senyawa Biji kakao	6
2.1.4 Manfaat Kakao	7
2.2 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7
2.2.1 Definisi <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7
2.2.2 Taksonomi <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7
2.2.3 Morfologi <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8
2.2.4 Faktor Virulensi <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8

2.2.5	Patogenesis <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9
2.2.6	Mekanisme Resistensi <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10
2.3	Antibiotik.....	10
2.3.1	Ciprofloksasin	10
2.3.2	Mekanisme Kerja	10
2.4	Pengukuran Aktivitas Antibiotik.....	11
2.4.1	Metode Difusi	11
2.4.2	Metode Dilusi.....	11
2.5	Ekstraksi	11
2.6	Kerangka Teori.....	13
2.7	Kerangka Konsep	14
2.8	Hipotesis.....	14
BAB 3	METODE PENELITIAN	15
3.1	Definisi Operasional.....	15
3.2	Jenis Penelitian	15
3.3	Waktu dan Tempat Penelitian	16
3.4	Sampel Penelitian	16
3.5	Teknik Pengumpulan Data	17
3.6	Alat dan Bahan	17
3.7	Cara kerja	18
3.7.1	Pembuatan Ekstrak Biji Kakao	18
3.7.2	Uji Fitokimia Biji Kakao.....	19
3.7.3	Pengenceran Ekstrak	20
3.7.4	Pembuatan Media Pembiakan Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ..	20
3.7.5	Pembuatan Suspensi Bakteri Uji.....	20
3.7.6	Penanaman Bakteri ke Media Agar.....	21
3.7.7	Uji Daya Hambat.....	21
3.8	Pengolahan Data dan Analisis Data	21
3.8.1	Pengolahan data	21
3.8.2	Analisis Data	22
3.9	Alur Penelitian.....	23
BAB 4	HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	24

4.1 Hasil Penelitian.....	24
4.1.1 Skrining Fitokimia Senyawa Bahan Alam.....	24
4.1.2 Hasil pengukuran daya hambat dan uji efektifitas ekstrak biji kakao (<i>Theobroma cacao</i>) terhadap bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	25
4.2 Pembahasan.....	29
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN.....	32
5.1 Kesimpulan.....	32
5.2 Saran.....	32
DAFTAR PUSTAKA	33
LAMPIRAN.....	36

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Morfologi Tanaman Kakao.....	5
Gambar 2.2 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8
Gambar 2.3 Kerangka Teori.....	13
Gambar 2.4 Kerangka Konsep.....	14
Gambar 3.1 Alur penelitian.....	23

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Taksonomi Kakao.....	4
Tabel 2.2 Taksonomi <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7
Tabel 2.3 Faktor Virulensi <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9
Tabel 3.1 Variabel Operasional.....	15
Tabel 3.2 Waktu dan Tempat Penelitian.....	16
Tabel 3.3 Standard diameter zona hambat <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 menurut CLSI.....	17
Tabel 3.4 Volume ekstrak biji kakao yang dibutuhkan penelitian.....	20
Tabel 3.5 Volume kontrol yang dibutuhkan penelitian.....	20
Tabel 4.1 Skrining Fitokimia Ekstrak Biji Kakao.....	24
Tabel 4.2 Daya hambat ekstrak biji kakao terhadap pertumbuhan Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	24
Tabel 4.3 Nilai Uji Normalitas.....	25
Tabel 4.4 Nilai Uji Homogenitas.....	25
Tabel 4.5 Perbedaan diameter zona hambat berdasarkan kelompok.....	25
Tabel 4.6 Uji LSD antara konsentrasi 25% dengan 50%.....	26
Tabel 4.7 Uji LSD antara Konsentrasi 25% dengan 75%.....	26
Tabel 4.8 Uji LSD antara Konsentrasi 25% dengan 100%.....	27
Tabel 4.9 Uji LSD antara Konsentrasi 50% dengan 75%.....	27
Tabel 4.10 Uji LSD antara Konsentrasi 50% dengan 100%.....	28
Tabel 4.11 Uji LSD antara Konsentrasi 75% dengan 100%.....	28
Tabel 4.12 Uji LSD antara Konsentrasi 100% dengan kontrol positif.....	28

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Uji Normalitas	37
Lampiran 2. Uji Homogenitas.....	40
Lampiran 3. Uji One way ANOVA.....	41
Lampiran 4. Uji LSD.....	41
Lampiran 5. Dokumentasi	43
Lampiran 6 Surat Etik Penelitian.....	45
Lampiran 7 Identifikasi Tumbuhan.....	46
Lampiran 8 Skrining Fitokimia Ekstrak Biji Kakao.....	47

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Penyakit infeksi menjadi salah satu masalah kesehatan di dunia, termasuk Indonesia yang menyebabkan kenaikan angka kesakitan (*morbidity*) dan angka kematian (*mortality*). Infeksi merupakan penyakit yang disebabkan oleh mikroba yang bersifat patogen.¹ Mikroorganisme patogen terdiri dari kelompok bakteri, virus, fungi dan protozoa, namun yang paling banyak menginfeksi adalah bakteri. Mikroorganisme patogen dapat menyebabkan gangguan kesehatan atau penyakit termasuk pada manusia.²

Pseudomonas aeruginosa merupakan salah satu bakteri patogen yang dapat menginfeksi manusia. *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri patogen oportunistik dimana bakteri tersebut memiliki kemampuan sebagai patogen saat mekanisme pertahanan tubuh sedang melemah dan memulai suatu infeksi.³

Pseudomonas aeruginosa merupakan salah satu penyebab infeksi nosokomial pada pasien septikemia, sistik fibrosis, Infeksi Saluran Kemih, dan infeksi luka yang dapat menyebabkan tingkat mortalitas tinggi. Diperkirakan infeksi *Pseudomonas aeruginosa* memiliki prevalensi 7,1% - 7,3% diantara semua infeksi terkait fasilitas kesehatan.⁴ Angka kejadian infeksi *Pseudomonas aeruginosa* di dunia mencapai 10-15% dan pada unit perawatan intensif (ICU) sekitar 10-20%. *Pseudomonas aeruginosa* merupakan penyebab umum Infeksi Saluran Kemih (ISK), khususnya ISK yang terkait kateter atau yang disebut *Catheter Associated Urinary Tract Infection* (CAUTI). *Pseudomonas aeruginosa* merupakan penyebab 10% dari pasien CAUTI, dan hingga 16% dari pasien ISK yang dirawat di ICU.⁵ Sebuah penelitian pada sebuah rumah sakit di Surabaya pada tahun 2019, *Pseudomonas aeruginosa* termasuk dalam dua bakteri penyebab ISK terbanyak.⁶

Ciprofloksasin merupakan antibiotik golongan fluorokuinolon generasi ketiga yang banyak digunakan untuk mengobati berbagai jenis infeksi bakteri.⁷ Menurut Kementerian Kesehatan Republik Indonesia tahun 2021, Ciprofloksasin

merupakan terapi utama pada pasien CAUTI yang disebabkan oleh *Pseudomonas aeruginosa*.⁸

Pemberian antibiotik yang tidak rasional terhadap kondisi pasien dan penggunaan antibiotik yang tidak tepat dapat menyebabkan resisten antibiotik. Resistensi bakteri menyebabkan efektivitas terapi menjadi berkurang sehingga sensitivitas antibiotik terhadap bakteri menjadi resisten yang bisa berdampak meningkatnya angka kesakitan (*morbidity*) dan angka kematian (*mortality*).⁹ Oleh karena itu, diperlukan alternatif untuk mengurangi risiko resisten salah satunya dengan cara menggunakan bahan alami.

Tanaman kakao (*Theobroma cacao*) merupakan salah satu komoditas unggulan hasil perkebunan di Indonesia yang diketahui memiliki kandungan senyawa metabolit yang bermanfaat sebagai antibakteri. Di Indonesia, komoditas kakao merupakan komoditas penghasil devisa negara terbesar ketiga setelah kelapa sawit dan karet. Senyawa metabolit yang terkandung dalam biji kakao bersifat antibakteri yaitu alkaloid, flavonoid, tannin, dan saponin. Kakao memiliki efek fisiologis di berbagai sistem tubuh, seperti sistem pernapasan, sistem saraf pusat, sistem pencernaan dan sistem saluran kemih.¹⁰

Penelitian sebelumnya melaporkan ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao*) efektif menghambat pertumbuhan *Streptococcus pyogenes* mulai dari konsentrasi 20% hingga 100%. Pada konsentrasi 100% memiliki zona hambat paling besar yaitu 10,98 mm dan zona hambat terkecil terdapat pada konsentrasi 20% yaitu 8,07 mm.¹¹ Penelitian lain juga melaporkan bahwa ekstrak etanol biji kopi robusta memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* mulai dari konsentrasi 25% hingga 75%. Pada konsentrasi 75% memiliki zona hambat paling besar yaitu 10,88 mm dan zona hambat terkecil terdapat pada konsentrasi 25% yaitu 7,7 mm.¹²

Uraian tersebut menjadi acuan peneliti mengingat pengobatan menggunakan antibiotik menjadi semakin sulit karena resistensi obat. Oleh karena itu, peneliti tertarik untuk meneliti efektivitas antibakteri ekstrak etanol biji kakao terhadap *Pseudomonas aeruginosa* serta mengetahui konsentrasi yang optimal dalam menghambat aktivitas bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah terdapat efektivitas antibakteri ekstrak etanol biji kakao (*Theobroma cacao*) terhadap pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Untuk mengetahui efektivitas antibakteri ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao*) terhadap pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Untuk mengetahui efektivitas ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao*) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* pada konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100%.
2. Untuk mengetahui konsentrasi biji kakao (*Theobroma cacao*) yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Hasil penelitian dapat menambah pengetahuan peneliti dan pembaca mengenai efektivitas antibakteri biji kakao (*Theobroma cacao*) terhadap *Pseudomonas aeruginosa*
2. Penelitian ini dapat menjadi rujukan bagi masyarakat mengenai biji kakao (*Theobroma cacao*) sebagai terapi alternatif untuk infeksi yang diakibatkan oleh *Pseudomonas aeruginosa*.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Kakao (*Theobroma cacao*)

2.1.1 Klasifikasi Tanaman Kakao

Tanaman kakao (*Theobroma cacao*) merupakan salah satu komoditas unggulan hasil perkebunan di Indonesia yang diketahui memiliki kandungan senyawa bioaktif, terutama polifenol yang bermanfaat sebagai antioksidan alami dan antimikroba.¹⁰ Di Indonesia, komoditas kakao merupakan komoditas penghasil devisa negara terbesar ketiga setelah kelapa sawit dan karet. Tanaman kakao (*Theobroma cacao*) merupakan tanaman asli benua Amerika Selatan. Kakao masuk ke Indonesia pada tahun 1560 diperantai oleh orang Spanyol melalui Sulawesi (Minahasa). Klasifikasi kakao terdiri dari:¹³

Tabel 2.1 Taksonomi Kakao¹⁵

Kingdom	<i>Plantae</i>
Divisi	<i>Spermatophyta</i>
Kelas	<i>Dicotyledoneae</i>
Ordo	<i>Malvales</i>
Famili	<i>Sterculiaceae</i>
Genus	<i>Theobroma</i>
Spesies	<i>Theobroma cacao</i>

2.1.2 Morfologi Tanaman Kakao

Tanaman kakao dapat diidentifikasi berdasarkan karakteristik morfologinya:¹⁰

a. Biji

Biji kakao mengelilingi poros buah dan tersusun dalam lima baris. Jumlahnya bervariasi, yaitu sekitar 20 – 50 butir setiap buah. Apabila dipotong melintang, tampak susunan biji disusun oleh dua kotiledon yang saling melipat dan pada bagian pangkal menempel dengan poros lembaga (embryo axis).¹⁰

b. Buah

Berdasarkan bentuk buahnya, kakao dapat dikelompokkan dalam 3 jenis, yaitu kakao Criollo, dengan bentuk buah yang tumpul, tidak mempunyai

bottle neck. Kakao Forastero memiliki *bottle neck* dengan kulit buah berwarna hijau. Kakao Trinitario dengan bentuk bervariasi dan buah berwarna hijau dan merah.¹⁰

c. Daun

Daun kakao terdiri dari tangkai daun dan helai daun. Tangkai daun memiliki bentuk silinder dengan sisik yang halus. Helai daun berbentuk bulat memanjang dengan ujung daun meruncing dan pangkal daun runcing.¹⁰

d. Akar

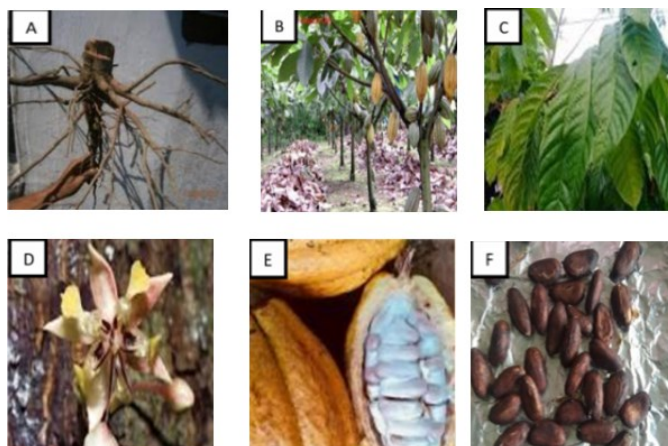
Secara umum akar kakao memiliki akar tunggang yang diperbanyak secara generatif, sedangkan secara vegetatif awalnya memiliki akar serabut lalu dapat berkembang menjadi akar tunggang.¹⁰

e. Batang dan cabang

Batang pada tanaman kakao dapat mencapai ketinggian 8-10 m. Cabang tanaman kakao bersifat dimorfisme artinya mempunyai dua bentuk tunas vegetatif yaitu tunas orthotrop pertumbuhannya mengarah ke atas dan plagiotrop pertumbuhannya mengarah ke samping.¹⁰

f. Bunga

Bunga kakao memiliki bunga sempurna yang terdiri dari 5 helai daun kelopak (calyx) dan 10 helai benang sari (androecium).¹⁰



Gambar 2.1 Morfologi Tanaman Kakao. a). Akar, b). Batang, c). Daun, d). Bunga, e). Buah dan f) Biji.¹⁰

2.1.3 Kandungan Senyawa Biji Kakao

Biji kakao (*Theobroma cacao*) mengandung senyawa metabolit berdasarkan uji fitokimia. Biji kakao mengandung alkaloid, flavonoid, tannin, dan saponin.¹⁴

a. Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa metabolit yang bersifat basa dan tersusun dari nitrogen, karbon, hidrogen, dan oksigen. Kandungan senyawa alkaloid berperan sebagai antimikroba. Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri adalah dengan cara mengganggu proses terbentuknya peptidoglikan sel bakteri sehingga pembentukan lapisan dinding sel bakteri tidak terbentuk secara sempurna dan bakteri menjadi sulit untuk bertahan hidup.¹⁵

b. Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu golongan fenol alami terbesar yang ditemukan di semua tumbuhan. Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri adalah menghambat sintesis asam nukleat dengan cara menghambat pembentukan sintesis RNA dan DNA. Kemampuan flavonoid tersebut dapat melewati dinding sel bakteri sampai ke membran internal dan mengakibatkan metabolisme sel bakteri terganggu, sehingga sel bakteri menjadi lisis.¹⁵

c. Tanin

Tanin merupakan senyawa metabolik yang termasuk golongan senyawa polifenol. Secara alami, tanin dapat larut dalam air. Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri adalah dengan menginaktivasi enzim dan dapat mengerutkan dinding sel bakteri yang mengakibatkan permeabilitas sel terganggu. Akibatnya, sel tidak dapat melakukan aktifitas hidup dan pertumbuhan bakteri menjadi terhambat.¹⁵

d. Saponin

Saponin merupakan senyawa metabolik dan secara struktural terdiri dari steroid dan triterpenoid aglikon (sapogenin). Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah dengan menurunkan tegangan permukaan dinding sel sehingga permeabilitas meningkat atau terjadi kebocoran sel. Akibatnya,

zat antibakteri dapat mudah masuk kedalam sel dan dapat mengakibatkan kematian sel.¹⁵

2.1.4 Manfaat Kakao

Kakao memiliki manfaat sangat besar dalam kesehatan yaitu sebagai antioksidan, antidepresi, antikanker dan antimikroba. Kakao memiliki efek fisiologis di berbagai sistem tubuh, seperti sistem pernapasan, sistem saraf pusat, sistem pencernaan dan sistem saluran kemih.¹⁰

2.2 *Pseudomonas aeruginosa*

2.2.1 Definisi *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 merupakan bakteri patogen oportunistik penyebab infeksi nosokomial pada pasien septikemia, sistik fibrosis, Infeksi Saluran Kemih, dan infeksi luka terutama pada pasien yang mengalami penurunan sistem imun.³¹ *Pseudomonas* berasal dari dua kata Yunani, yaitu *Pseudo* yang artinya salah dan *monas* artinya satu kesatuan. *Aeruginosa* berasal dari kata latin, yaitu *aerugo* yang artinya tembaga berkarat.¹⁶ *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri gram negatif yang dapat bertahan hidup dalam keadaan oksigen dan nutrisi yang rendah.¹⁷

2.2.2 Taksonomi *Pseudomonas aeruginosa*

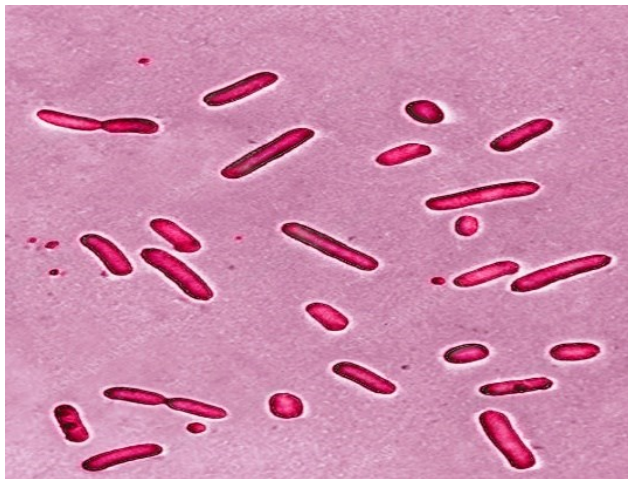
Menurut *Integrated Taxonomic Information System (ITIS) Report (2023)* taksonomi *Pseudomonas aeruginosa* adalah sebagai berikut :³

Tabel 2.2 Taksonomi *Pseudomonas aeruginosa*³

Kingdom	<i>Bacteria</i>
Subkingdom	<i>Negibacteria</i>
Filum	<i>Proteobacteria</i>
Kelas	<i>Gammaproteobacteria</i>
Ordo	<i>Pseudomonas</i>
Famili	<i>Pseudomonadaceae</i>
Genus	<i>Pseudomonas</i>
Spesies	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

2.2.3 Morfologi *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa adalah bakteri aerobik fakultatif yang berbentuk batang (lurus atau sedikit melengkung), susunan soliter dengan panjang sekitar 1-5 μm dan lebar 0,5-1,0 μm .¹⁶ *Pseudomonas aeruginosa* tidak membentuk spora, bersifat motil, dan memiliki flagel. Bakteri ini dapat tumbuh pada kisaran pH 5,6-8,0 dengan pH optimumnya yaitu pH 6,6-7,0. Selain itu, bakteri ini juga dapat tumbuh pada suhu berkisar antara 4-42°C dengan suhu optimumnya adalah 37-41°C.¹⁸



Gambar 2.2 *Pseudomonas aeruginosa*¹⁹

2.2.4 Faktor Virulensi

Pseudomonas aeruginosa mempunyai faktor virulensi yang berperan dalam menghindari sistem pertahanan tubuh host, membentuk koloni, serta menimbulkan penyakit infeksi. Berbagai faktor virulensi yang dimiliki oleh *Pseudomonas aeruginosa* seperti flagella dan pili (tipe IV), lipopolisakarida, alginate, enzim protease, pyoverdine, eksotoksin A.²⁰

Tabel 2.3 Faktor Virulensi *Pseudomonas aeruginosa*²⁰

Kategori	Faktor virulensi	Fungsi
Permukaan bakteri	Pili tipe IV	Perlekatan pada sel inang, motilitas bakteri
	Flagella	Adhesi bakteri, biofilm formation
Komponen membran luar	Lipopolisakarida	Menstimulasi respon inflamasi sel inang, fagositosis
Faktor sekresi	Alginate	Biofilm formation, immune evasion
	Pyoverdine	Chelating irons, mendorong pertumbuhan bakteri
	Alkaline protease	Regulasi quorum sensing, melindungi bakteri
	Exotoxin A	Menghambat sintesis protein sehingga menyebabkan kematian sel

2.2.5 Patogenesis *Pseudomonas aeruginosa*

Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dapat masuk melalui pemasangan kateter yang dapat menyebabkan terjadinya *Catheter Associated Urinary Tract Infection* (CAUTI). Pemasangan kateter yang steril dapat menyebabkan infeksi apabila teknik aseptik dilakukan secara tidak tepat. *Pseudomonas aeruginosa* bermigrasi sepanjang permukaan luar kateter di mukosa periuretra dan dapat naik melalui uretra kemudian menuju kandung kemih. Adanya pili tipe IV menyebabkan terjadinya perlekatan dan penetrasi ke sel epitel kandung kemih. Saat penetrasi, bakteri akan bereplikasi lebih lanjut dan membentuk biofilm. Setelah terjadinya kolonisasi bakteri di kandung kemih, bakteri dapat naik melalui ureter menuju ginjal. Adanya toksin bakteri akan membantu proses dalam menghambat peristaltik, sehingga menurunkan aliran urin dan dapat menyebabkan terjadinya infeksi saluran kemih.^{21 22}

2.2.6 Mekanisme Resistensi *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa memiliki berbagai mekanisme resisten antibiotik yang dapat terjadi secara alami (intrinsik), eksternal, dan adaptif. Faktor intrinsik seperti berkurangnya permeabilitas membran yang mengakibatkan infiltrasi antibiotik ke dalam sitoplasma akan menurun. Selain itu, adanya enzim AmpC yang dapat menonaktifkan antibiotik, serta memiliki sistem pompa (efflux pump) yang dapat bekerja dengan memompa antibiotik secara aktif ke luar membran sel. Faktor eksternal seperti pemberian antibiotik yang tidak rasional terhadap kondisi pasien dan penggunaan antibiotik yang tidak tepat dapat menyebabkan resisten antibiotik. Faktor adaptif terjadi ketika bakteri terpapar konsentrasi antibiotik non-lethal lalu mengalami peningkatan ekspresi (up-regulation) gen yang dapat mengakibatkan kepekaan terhadap antibiotik menjadi berkurang. Contoh resistensi adaptif adalah resistensi *Pseudomonas aeruginosa* terhadap peptida kationik (polimiksin).²³

2.3 Antibiotik

2.3.1 Ciprofloksasin

Ciprofloksasin adalah antibiotik golongan fluorokuinolon generasi ketiga yang banyak digunakan untuk mengobati berbagai jenis infeksi bakteri.⁷ Menurut Kementerian Kesehatan Republik Indonesia tahun 2021, Ciprofloksasin merupakan terapi utama pada penyakit *Catheter Associated Urinary Tract Infection* (CAUTI).⁸ Ciprofloksasin memiliki aktivitas antibakteri spektrum luas dan aktivitas bakterisidal yang baik dan dilaporkan 2-4 kali lebih kuat dibandingkan dengan norfloxacin dan enoxacin.²⁴

2.3.2 Mekanisme Kerja

Ciprofloksasin merupakan antibiotik bersifat bakterisida yang dapat membunuh bakteri. Ciprofloksasin adalah antibiotik spektrum luas yang bekerja dengan cara menghambat sintesis DNA gyrase selama proses pertumbuhan dan produksi bakteri, akibatnya dapat mencegah terjadinya proses transkripsi dan

replikasi normal pada bakteri dan dapat menyebabkan peningkatan stress oksidatif sehingga menyebabkan kematian bakteri.²⁵

2.4 Pengukuran Aktivitas Antibiotik

2.4.1 Metode Difusi

Metode difusi merupakan metode yang sering digunakan dalam menganalisis antibakteri. Metode ini dilakukan dengan menggunakan kertas cakram. Prinsip kerja metode difusi yaitu senyawa antibakteri akan terdifusi ke dalam media padat dimana bakteri uji telah diinokulasikan. Hasil pengamatan yang diperoleh pada metode difusi yaitu ada atau tidaknya daerah bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram yang menandakan terbentuknya zona hambat pada pertumbuhan bakteri.²⁶

2.4.2 Metode Dilusi

Metode dilusi dibedakan menjadi dua yaitu dilusi cair (*Broth dilution*) dan dilusi padat (*Solid dilution*).²⁶

a. Metode dilusi cair (*Broth dilution*)

Metode dilusi cair digunakan sebagai pengukuran kadar hambat minimum (KHM). Prinsip kerja yang digunakan pada metode dilusi cair yaitu dengan cara membuat seri pengenceran antimikroba pada medium cair yang telah ditambahkan dengan mikroba uji.²⁶

b. Metode dilusi padat (*Solid dilution*)

Metode dilusi padat dapat digunakan sebagai penentuan kadar hambat minimum (KHM). Prinsip kerja yang digunakan pada metode dilusi padat yaitu dengan cara menginokulasikan mikroba uji pada media agar yang telah ditambahkan dengan mikroba uji.²⁶

2.5 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan salah satu metode pemisahan suatu zat dari campurannya menggunakan pelarut tertentu. Beberapa ekstraksi yang sering digunakan antara lain sebagai berikut :²⁶

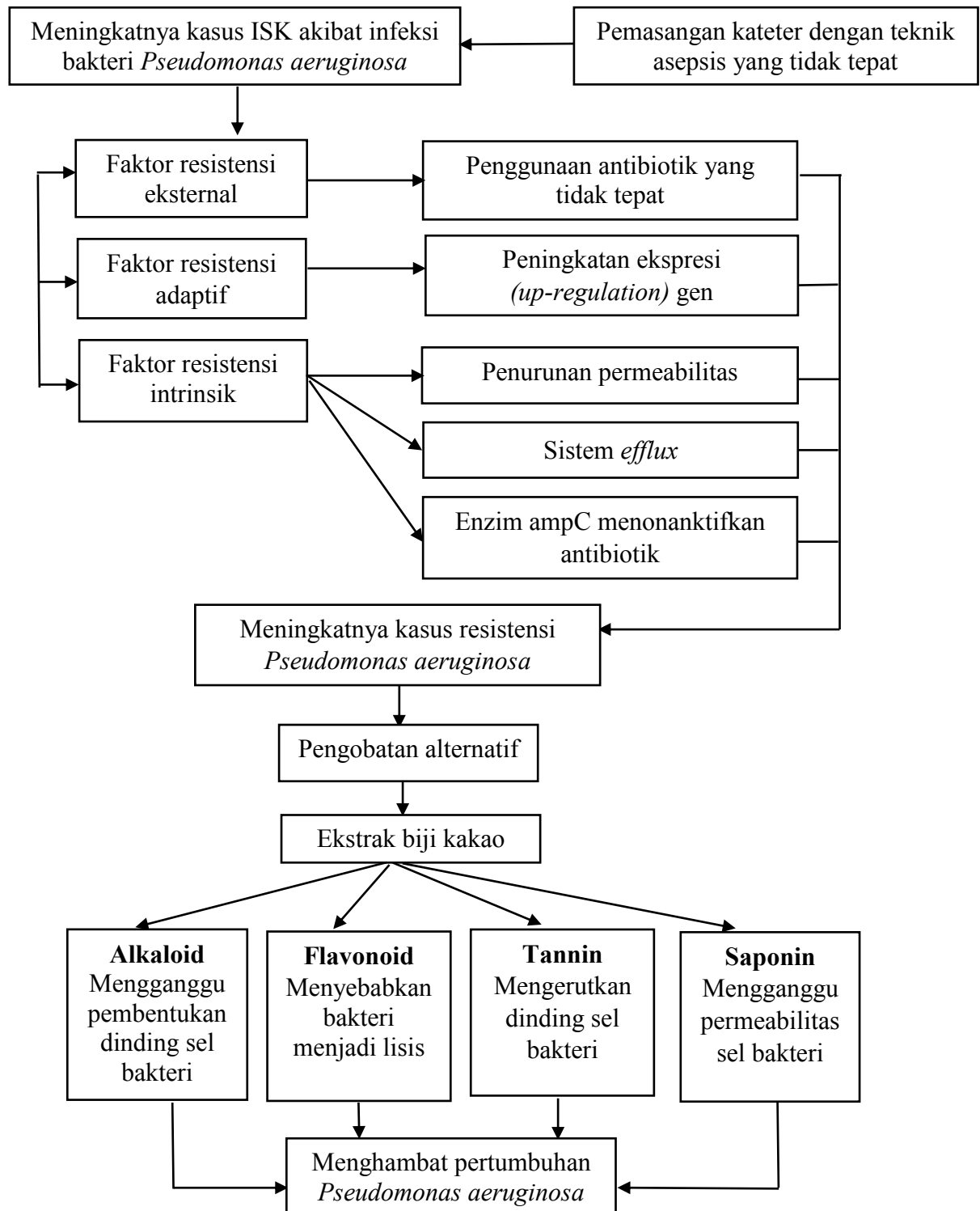
a. Cara dingin

1. Maserasi merupakan salah satu metode pemisahan senyawa yang dilakukan dengan cara perendaman menggunakan pelarut organik pada suhu dingin.²⁶
2. Perkolasi merupakan penyairan yang dilakukan dengan cara membasahi serbuk simplia dengan mengalirkan suatu cairan penyari dalam suatu perkolator²⁶

b. Cara panas

1. Reflux merupakan metode yang digunakan untuk mengekstrak sampel yang tahan terhadap panas.²⁶
2. Sokletasi merupakan metode pemisahan suatu komponen yang terdapat di zat padat dengan cara pemanasan dan melakukan penyaringan berulang kali menggunakan pelarut tertentu sehingga komponen akan terisolasi.²⁶
3. Infusdasi merupakan metode ekstraksi menggunakan pelarut air dengan cara memanaskan serbuk bahan bersama pelarut air dengan temperatur mencapai suhu 90°C selama 15 menit.²⁶

2.6 Kerangka Teori

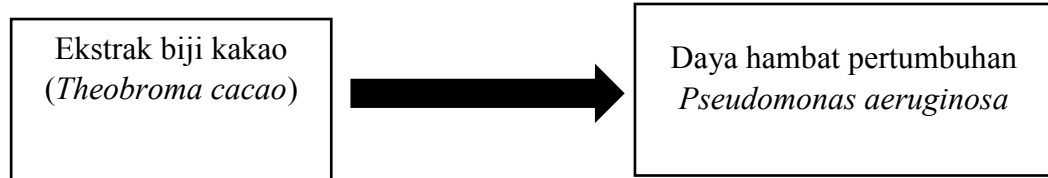


Gambar 2.3 Kerangka teori

2.7 Kerangka Konsep

Variabel Independen

Variabel Dependen



Gambar 2.4 Kerangka Konsep

2.8 Hipotesis

Ekstrak etanol biji kakao (*Theobroma cacao*) efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Definisi Operasional

Tabel 3.1 Variabel Operasional

Variabel	Definisi	Cara ukur	Hasil ukur	Skala ukur
Variabel bebas : Ekstrak biji kakao <i>(Theobroma cacao)</i>	Ekstrak biji kakao yang diperoleh melalui proses maserasi menggunakan etanol 96% dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%	Membuat ekstrak biji kakao (<i>Theobroma cacao</i>) dengan proses maserasi dan dilakukan perhitungan untuk mengatur konsentrasi yang dibutuhkan dengan rumus : $V_1M_1 = V_2M_2$	Didapatkan ekstrak biji kakao (<i>Theobroma cacao</i>) dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%	Ordinal
Variabel dependen : Daya hambat pertumbuhan <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Daya hambat pada pertumbuhan bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dilihat dengan mengukur diameter zona hambat	Menghitung diameter zona jernih pada media pertumbuhan bakteri menggunakan jangka sorong	Diameter zona hambat pada media bakteri (dalam satuan mm)	Rasio

3.2 Jenis penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental dengan 6 kelompok yang digunakan sebagai objek percobaan. Terdiri dari 4 kelompok perlakuan yang menerima berbagai konsentrasi ekstrak biji kakao 25%, 50%, 75%, dan 100% serta 2 kelompok kontrol Ciprofloksasin (kontrol positif) dan Aquades (kontrol negatif). Hasil pengukuran daya hambat pada kelompok perlakuan akan dibandingkan dengan kelompok kontrol.

3.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Agustus 2024 sampai November 2024 dan dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara, Laboratorium Biokimia Fakultas kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara, dan FMIPA Universitas Sumatera Utara.

Tabel 3.2 Pelaksanaan Penelitian

No	Kegiatan	Juli 2024	Agust 2024	Sept 2024	Okt 2024	Nov 2024	Des 2024	Jan 2024
1	Persiapan proposal							
2	Sidang seminar							
3	Penelitian							
4	Analisis data							
5	Sidang seminar hasil							

3.4 Sampel Penelitian

Sampel penelitian adalah biji kakao dan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Sampel bakteri diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Universitas Sumatera Utara. Dalam menghitung besar sampel penelitian digunakan rumus Federer, rumus besar sampel Federer, yaitu :

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

$$(n-1)(6-1) \geq 15$$

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

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

$$(5n) \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Keterangan :

n = Jumlah sampel

t = Besar kelompok

Terdapat 6 sampel dari setiap kelompok dan percobaan diulang sebanyak 4 kali.

Total 24 sampel yang digunakan dalam penelitian ini

Kelompok 1 : Ekstrak Etanol Biji Kakao 25% = 4 sampel

Kelompok 2 : Ekstrak Etanol Biji Kakao 50% = 4 sampel

- Kelompok 3 : Ekstrak Etanol Biji Kakao 75% = 4 sampel
 Kelompok 4 : Ekstrak Etanol Biji Kakao 100% = 4 sampel
 Kelompok 4 : Ciprofloksasin sebagai kontrol positif = 4 sampel
 Kelompok 6 : Aquades sebagai kontrol negatif = 4 sampel

3.5 Teknik Pengumpulan Data

Pengumpulan data diukur dengan cara menghitung zona jernih (zona hambat) dari pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* dengan menggunakan jangka sorong. Data yang dikumpulkan merupakan data primer.

Berdasarkan interpretasi standard diameter zona hambat untuk *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 menurut Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI) 2021 adalah sebagai berikut :²⁷

Tabel 3.3 Standard diameter zona hambat untuk *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 menurut CLSI.²⁷

Agen Antimikroba	Konten disk	Interpretasi kategori dan zona diameter breakpoint (mm)		
		Sensitif	Intermediet	Resisten
Ciprofloksasin	5 µg	≥ 25	19 – 24	≤ 18

3.6 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan:

1. Masker
2. Sarung tangan
3. Pinset
4. Timbangan analitik
5. Lidi kapas
6. *Rotary evaporator*
7. *Incubator*
8. Cawan petri
9. Tabung reaksi dan rak
10. Ayakan

11. *Oven*
12. Jangka sorong
13. Gelas ukur
14. Ose
15. Kertas saring
16. Ayakan
17. *Erlenmeyer*
18. *Autoklaf*
19. Spatula
20. *Hotplate stirrer*

Bahan- bahan yang digunakan:

1. Isolat *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853
2. Biji kakao
3. Nacl 0,9%
4. Blank disc
5. Mueller Hinton Agar
6. Etanol 96%
7. Ciprofloksasin disc
8. Aquades

3.7 Cara Kerja

3.7.1 Pembuatan Ekstrak Biji Kakao

Biji kakao sebanyak 3 kg dibersihkan dari pulp (lapisan tipis dan berlendir), lalu dikeringkan dan di oven dengan suhu 40-50°C selama 1 jam. Proses ekstraksi menggunakan etanol karena polifenol dalam biji coklat polar dan stabil dalam keadaan asam, sehingga lebih mudah larut dalam pelarut polar seperti etanol dan metanol. Biji kering dihaluskan dan dimasukkan kedalam bejana maserasi dan ditambahkan etanol 96% lalu dibiarkan selama 3x24 jam dalam bejana tertutup yang terlindung dari cahaya dan dilakukan pengadukan sesekali. Selanjutnya, disaring dengan kertas saring untuk memperoleh filtrat berwarna coklat kemerahan bebas

partikel kasar. Filtrat dipekatkan dengan mesin *rotary evaporator* selama 2 jam sehingga diperoleh ekstrak pekat sebanyak 50 mL.²⁸

3.7.2 Uji Fitokimia Biji Kakao

1. Uji Flavonoid

Ekstrak sampel ditambahkan 5 ml etanol lalu dipanaskan selama 5 menit. Kemudian menambahkan beberapa tetes HCl pekat dan ditambahkan magnesium. Positif jika menunjukkan perubahan warna merah tua.

2. Uji Saponin

Ekstrak sampel ditambahkan aquadest secukupnya lalu dididihkan selama 2-3 menit. Selanjutnya didinginkan dan dikocok. Positif jika terbentuknya buih yang stabil.

3. Uji Tanin

Ekstrak sampel dicampur dengan FeCl_3 lalu menambahkan 2-3 tetes larutan H_2SO_4 . Positif jika menunjukkan perubahan warna kuning kecoklatan.

4. Uji Alkaloid

Ekstrak sampel dimasukkan kedalam 3 tabung reaksi. Kemudian menambahkan HCl dan aquadest lalu dipanaskan selama 2 menit. Kemudian didinginkan dan disaring sampai mendapatkan filtrat. Selanjutnya , tambahkan pereaksi Dragendroff, Mayer, dan Wagner ke masing-masing tabung reaksi. Pereaksi Dragendroff akan menunjukkan endapan berwarna coklat atau jingga kecoklatan, pereaksi Mayer menunjukkan endapan putih dan pereaksi Wagner menunjukkan endapan coklat.

3.7.3 Pengenceran Ekstrak

Menentukan konsentrasi ekstrak biji kakao dengan menggunakan rumus berikut :

$$V_1M_1 = V_2M_2$$

Keterangan :

V_1 = Volume larutan yang akan diencerkan (ml)

M_1 = Konsentrasi ekstrak biji kakao yang tersedia (%)

V_2 = Volume larutan yang diinginkan (ml)

M_2 = Konsentrasi ekstrak biji kakao yang dibuat (%)

Tabel 3.4 Volume ekstrak biji kakao yang dibutuhkan penelitian

M_1	V_2	M_2	V_1	$V_1 \times 4$
100%	1 ml	25%	0,25 ml	1 ml
100%	1 ml	50%	0,5 ml	2 ml
100%	1 ml	75%	0,75 ml	3 ml
100%	1 ml	100%	1 ml	4 ml

Tabel 3.5 Volume kontrol yang dibutuhkan penelitian

Kelompok	Volume sekali uji	Total volume = $V \times 4$
Ciprofloksasin (Kontrol positif)	1 ml	4 ml
Aquades (Kontrol negatif)	1 ml	4 ml

3.7.4 Pembuatan Media Pembiakan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Menggunakan bubuk MHA (*Mueller Hinton Agar*) sebanyak 28 g lalu ditimbang menggunakan timbangan analitik. Kemudian masukkan bubuk MHA yang telah ditimbang ke dalam tabung Erlenmeyer dan tambahkan 100 ml Aquades, diaduk sampai homogen. Setelah itu, dipanaskan dalam suhu 100°C selama 2 jam dan setelah itu didinginkan. Kemudian disterilkan kedalam *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit.

3.7.5 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Pseudomonas aeruginosa diambil sebanyak 1-3 ose dan diinokulasikan ke dalam tabung reaksi yang berisi NaCl 0,9% sebanyak 5cc. Kemudian menyamakan kekeruhannya sesuai dengan larutan *McFarland* 0,5.

3.7.6 Penanaman Bakteri ke Media Agar

Tabung reaksi yang mengandung suspensi bakteri dibuka dan bakar leher tabung. Kemudian dicelupkan lidi kapas kedalam suspensi bakteri. Selanjutnya, lidi kapas digoreskan secara menyeluruh ke media agar padat dan memberikan tanda pada cawan petri.

3.7.7 Uji Daya Hambat

Uji daya hambat dilakukan dengan cara merendam *blank disc* yang sudah disterilkan dengan ekstrak biji kakao 25%, 50%, 75%, dan 100% secara terpisah selama 5 menit agar larutan dapat terserap dengan baik ke dalam *blank disc*. Kontrol positif pada penelitian ini yaitu Ciprofloksasin dengan aquades sebagai kontrol negatif. Kemudian, letakkan *blank disc* yang telah direndam dengan konsentrasi ke permukaan *Muller Hinton Agar* yang telah ditanami suspensi koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Lalu mengukur diameter zona jernih atau zona hambat yang ada disekitar *blank disc* dengan menggunakan jangka sorong.

3.8 Pengolahan Data dan Analisis data

3.8.1 Pengolahan Data

a. Pemeriksaan data

Digunakan untuk memastikan ketepatan data dan kelengkapan data, jika terdapat kesalahan akan diperbaiki

b. Pemberian kode

Data yang telah diperiksa ketepatan dan kelengkapannya selanjutnya diberi kode secara manual.

c. Memasukkan data

Data yang telah dibersihkan, kemudian data dimasukkan ke dalam program SPSS komputer

d. Pembersihan data

Memeriksa kembali semua data yang telah dimasukkan untuk mencegah kesalahan dalam memasukkan data

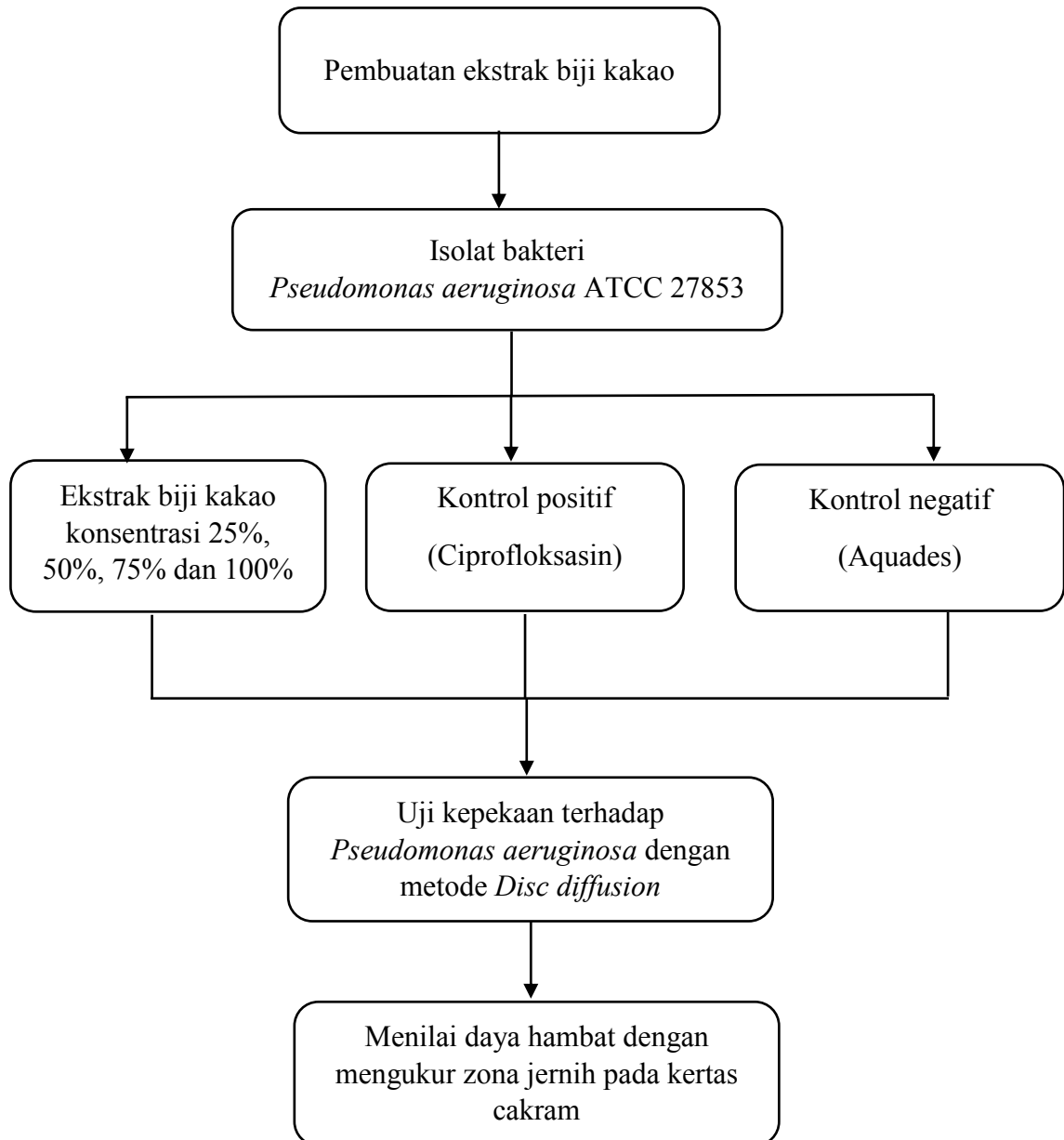
e. Menyimpan data

Menyimpan data untuk dianalisis

3.8.2 Analisis Data

Pada penelitian ini dengan menggunakan uji parametrik dengan syarat terdistribusi normal. Uji normalitas dilakukan dengan Shapiro-Wilk untuk melihat apakah data pada penelitian terdistribusi normal atau tidak. Data yang terdistribusi normal akan dilakukan dengan uji *One-Way* ANOVA untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan signifikan antarkelompok uji. Kemudian, dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Least Significant Difference (LSD)* untuk mengetahui kelompok mana saja yang memiliki perbedaan signifikan.

3.9 Alur Penelitian



Gambar 3.1 Alur penelitian

BAB 4

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan Komite Etik Fakultas Kedokteran Muhammadiyah Sumatera Utara dengan Nomor 1267/KEPK/FKUMSU/2024. Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara, laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara, dan FMIPA Universitas Sumatera Utara.

4.1.1 Skrining fitokimia ekstrak biji kakao

Tabel 4.1 Skrining fitokimia ekstrak biji kakao

Sampel : Biji Kakao (<i>Theobroma cacao</i>)	
Flavonoida	Positif
Alkaloida	Positif
Tanin	Positif
Saponin	Positif

Dari hasil skrining fitokimia pada ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao*) menunjukkan hasil positif senyawa Flavonoida, Alkaloida, Tanin dan Saponin.

4.1.2 Hasil pengukuran daya hambat dan uji efektifitas ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao*) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

Tabel 4.2 Daya hambat ekstrak biji kakao terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* (dalam satuan mm)

Kelompok	Pengulangan				Rata-rata
	1	2	3	4	
25%	9,40	11,60	10,70	10,20	10,47
50%	12,30	11,80	11,00	12,80	11,97
75%	12,70	12,00	11,50	13,20	12,35
100%	17,50	14,20	14,90	15,60	15,55
Kontrol (+)	29,70	30,00	29,20	28,60	29,37
Kontrol (-)	0	0	0	0	0

Pada tabel 4.2 diperoleh hasil bahwa kontrol (-) yaitu aquadest mempunyai nilai rata-rata 0 mm, kontrol (+) yaitu Ciprofloksasin mempunyai nilai rata-rata sebesar 29,37 mm, konsentrasi 25% mempunyai nilai rata-rata 10,47 mm, konsentrasi 50% mempunyai nilai rata-rata 11,97 mm, konsentrasi 75% mempunyai nilai rata-rata 12,35 mm dan konsentrasi 100% mempunyai nilai rata-rata 29,37 mm.

Tabel 4.3 Nilai Uji Normalitas

Kelompok	Sig*	Keterangan
Konsentrasi 25%	0,997	Berdistribusi Normal
Konsentrasi 50%	0,937	Berdistribusi Normal
Konsentrasi 75%	0,883	Berdistribusi Normal
Konsentrasi 100%	0,653	Berdistribusi Normal
Kontrol Positif	0,836	Berdistribusi Normal

**Shapiro Wilk*

Berdasarkan Tabel 4.3, keseluruhan kelompok data memiliki Sig. $> \alpha$ (0,05) sehingga berdistribusi normal. Oleh karena keseluruhan data berdistribusi normal, maka uji beda dilakukan dengan One Way ANOVA.

Tabel 4.4 Nilai Uji Homogenitas

Variabel	Sig*	Keterangan
Diameter zona hambat	0,634	Homogen

**Levene's test of variance*

Berdasarkan Tabel 4.4, didapatkan Sig. sebesar $0,634 > \alpha$ (0,05) sehingga dapat disimpulkan bahwa varians data antar kelompok homogen.

Tabel 4.5 Perbedaan diameter zona hambat berdasarkan kelompok

Kelompok	n	Rata-rata $\pm$ SD	P
Konsentrasi 25%	4	10,475 $\pm$ 0,921	0,000
Konsentrasi 50%	4	11,975 $\pm$ 0,768	
Konsentrasi 75%	4	12,35 $\pm$ 0,751	
Konsentrasi 100%	4	15,55 $\pm$ 1,42	
Kontrol Positif	4	29,375 $\pm$ 0,613	

**One Way ANOVA*

Berdasarkan Tabel 4.5, didapatkan rata-rata daya hambat pada perlakuan konsentrasi 25% sebesar 10,475 dengan standar deviasi sebesar 0,921. Rata-rata daya hambat pada perlakuan konsentrasi 50% sebesar 11,975 dengan standar deviasi sebesar 0,768. Rata-rata daya hambat pada perlakuan konsentrasi 75% sebesar 12,35 dengan standar deviasi sebesar 0,751. Sementara itu, rata-rata daya hambat pada konsentrasi 100% sebesar 15,55 dengan standar deviasi sebesar 1,42. Pada penggunaan kontrol positif, didapatkan nilai rata-rata daya hambat sebesar 29,375 dengan standar deviasi sebesar 0,613. Hasil uji One Way ANOVA mendapatkan nilai p sebesar $0,000 < 0,05$ sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan rata-rata daya hambat antar perlakuan. Untuk mengetahui perbedaan rata-rata pada tiap kelompok perlakuan, dilakukan uji post-hoc dengan menggunakan uji LSD.

Tabel 4.6 Uji LSD antara konsentrasi 25% dengan 50%

Kelompok	N	P	Keterangan
Konsentrasi 25%	4	0,039	Berbeda Signifikan
Konsentrasi 50%	4		

**Least Significant Difference*

Hasil uji LSD untuk membandingkan rata-rata antara konsentrasi 25% dan 50% menunjukkan nilai p sebesar $0,039 < \alpha (0,05)$ sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan rata-rata daya hambat yang signifikan antara konsentrasi 25% dan 50%. Berdasarkan Tabel 4.5 dapat diketahui bahwa rata-rata daya hambat pada konsentrasi 25% adalah sebesar 10,475 lebih kecil dibandingkan konsentrasi 50% sebesar 11,975. Artinya, konsentrasi 50% lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

Tabel 4.7 Uji LSD antara Konsentrasi 25% dengan 75%

Kelompok	N	P	Keterangan
Konsentrasi 25%	4	0,013	Berbeda Signifikan
Konsentrasi 75%	4		

**Least Significant Difference*

Hasil uji LSD untuk membandingkan rata-rata antara konsentrasi 25% dan 75% menunjukkan nilai p sebesar $0,013 < \alpha (0,05)$ sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan rata-rata daya hambat yang signifikan antara konsentrasi 25% dan 75%. Berdasarkan Tabel 4.5, dapat diketahui bahwa rata-rata daya hambat pada konsentrasi 25% adalah sebesar 10,475 lebih kecil dibandingkan konsentrasi 75% sebesar 12,35. Artinya, konsentrasi 75% lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

Tabel 4.8 Uji LSD antara Konsentrasi 25% dengan 100%

Kelompok	N	P	Keterangan
Konsentrasi 25%	4	0,000	Berbeda Signifikan
Konsentrasi 100%	4		

**Least Significant Difference*

Hasil uji LSD untuk membandingkan rata-rata antara konsentrasi 25% dan 100% menunjukkan nilai p sebesar $0,000 < \alpha (0,05)$ sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan rata-rata daya hambat yang signifikan antara konsentrasi 25% dan 100%. Berdasarkan Tabel 4.5, dapat diketahui bahwa rata-rata daya hambat pada konsentrasi 25% adalah sebesar 10,475 lebih kecil dibandingkan konsentrasi 100% sebesar 15,55. Artinya, konsentrasi 100% lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

Tabel 4.9 Uji LSD antara Konsentrasi 50% dengan 75%

Kelompok	N	P	Keterangan
Konsentrasi 50%	4	0,580	Tidak Berbeda Signifikan
Konsentrasi 75%	4		

**Least Significant Difference*

Hasil uji LSD untuk membandingkan rata-rata antara konsentrasi 50% dan 75% menunjukkan nilai p sebesar $0,580 > \alpha (0,05)$ sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan rata-rata daya hambat yang signifikan antara konsentrasi 50% dan 75%. Hal ini dikarenakan perbedaan rata-rata keduanya kecil seperti yang disajikan pada Tabel 4.5 Dalam hal ini, efektivitas keduanya cenderung sama.

Tabel 4.10 Uji LSD antara Konsentrasi 50% dengan 100%

Kelompok	N	P	Keterangan
Konsentrasi 50%	4	0,000	Berbeda Signifikan
Konsentrasi 100%	4		

**Least Significant Difference*

Hasil uji LSD untuk membandingkan rata-rata antara konsentrasi 50% dan 100% menunjukkan nilai p sebesar $0,000 < \alpha (0,05)$ sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan rata-rata daya hambat yang signifikan antara konsentrasi 50% dan 100%. Berdasarkan Tabel 4.5, dapat diketahui bahwa rata-rata daya hambat pada konsentrasi 50% adalah sebesar 11,975 lebih kecil dibandingkan konsentrasi 100% sebesar 15,55. Artinya, konsentrasi 100% lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

Tabel 4.11 Uji LSD antara Konsentrasi 75% dengan 100%

Kelompok	N	P	Keterangan
Konsentrasi 75%	4	0,000	Berbeda Signifikan
Konsentrasi 100%	4		

**Least Significant Difference*

Hasil uji LSD untuk membandingkan rata-rata antara konsentrasi 75% dan 100% menunjukkan nilai p sebesar $0,000 < \alpha (0,05)$ sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan rata-rata daya hambat yang signifikan antara konsentrasi 75% dan 100%. Berdasarkan Tabel 4.5, dapat diketahui bahwa rata-rata daya hambat pada konsentrasi 75% adalah sebesar 12,35 lebih kecil dibandingkan konsentrasi 100% sebesar 15,55. Artinya, konsentrasi 100% lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

Tabel 4.12 Uji LSD antara Konsentrasi 100% dengan kontrol positif

Kelompok	N	P	Keterangan
Konsentrasi 100%	4	0,000	Berbeda Signifikan
Kontrol positif	4		

**Least Significant Difference*

Hasil uji LSD untuk membandingkan rata-rata antara konsentrasi 100% dan kontrol positif menunjukkan nilai p sebesar $0,000 < \alpha$ (0,05) sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan rata-rata daya hambat yang signifikan antara konsentrasi 100% dan kontrol positif. Berdasarkan Tabel 4.5, dapat diketahui bahwa rata-rata daya hambat pada konsentrasi 100% adalah sebesar 15,55 lebih kecil dibandingkan kontrol positif sebesar 29,37.

4.2 Pembahasan

Penelitian yang telah dilakukan merupakan uji efektivitas antibakteri ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao*) terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Terdapatnya zona hambat pada pengujian menandakan adanya daerah hambat pertumbuhan bakteri disekitar lokasi media penanaman bakteri. Dari hasil akhir pada penelitian ini didapatkan bahwa terdapat efektivitas antibakteri pada ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* berdasarkan diameter zona hambat yang didapatkan. Pada ekstrak etanol biji kakao dengan konsentrasi 25% didapatkan rata-rata diameter zona hambat terkecil, yaitu 10,47 mm. Pada konsentrasi 50% didapatkan rata-rata diameter zona hambat sebesar 11,97 mm. Pada konsentrasi 75% didapatkan rata-rata diameter zona hambat sebesar 12,35 mm. Pada konsentrasi 100% didapatkan rata-rata diameter zona hambat sebesar 15,55 mm. Aktivitas antibakteri ekstrak biji kakao terdapat pada semua kelompok uji dan daya hambat yang paling besar adalah pada konsentrasi terbesar yaitu konsentrasi 100%.

Penelitian sebelumnya tentang efektivitas ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao*) sebagai antibakteri terhadap *Streptococcus pyogenes* bahwa biji kakao optimal baik dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus pyogenes* pada konsentrasi paling besar yaitu konsentrasi 100% sebesar 10,98 mm.¹¹ Jika dibandingkan dengan penelitian kali ini bahwa konsentrasi terendah pada penelitian ini yaitu konsentrasi 25% sebanding dengan

konsentrasi 100% pada penelitian terhadap bakteri gram positif *Streptococcus Pyogenes*.

Penelitian sebelumnya juga tentang efektivitas ekstrak biji kakao sebagai antibakteri pada *Streptococcus mutans* menyebutkan bahwa biji kakao dapat menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* sebesar 19,35 mm pada konsentrasi terbesar yaitu konsentrasi 50%.²⁹ Hal ini menunjukkan adanya aktivitas antibakteri ekstrak biji kakao, yaitu memiliki efek daya hambat.

Penelitian sebelumnya juga menyebutkan bahwa ekstrak etanol biji kopi robusta dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* sebesar 10,88 mm pada konsentrasi terbesar yaitu konsentrasi 75%.¹² Jika dibandingkan dengan penelitian kali ini bahwa konsentrasi terendah pada penelitian ini yaitu konsentrasi 25% sebanding dengan konsentrasi 75% pada penelitian ekstrak biji kopi robusta terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

Pada penelitian ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang menyebutkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan, maka semakin besar diameter zona hambat yang terbentuk. Hal ini terjadi akibat senyawa aktif yang terkandung pada ekstrak biji kakao disetiap konsentrasi semakin besar sehingga daya kerja antibakteri menjadi lebih baik. Meskipun begitu, besarnya diameter zona hambat yang dihasilkan tidak selalu sebanding dengan besarnya konsentrasi ekstrak karena adanya perbedaan kecepatan difusi senyawa antibakteri pada media agar. Beberapa faktor yang mempengaruhi kecepatan difusi pada media agar, seperti komposisi media, suhu, dan waktu inkubasi.³⁰

Kontrol positif pada penelitian ini adalah Ciprofloksasin. Dari hasil penelitian, kontrol positif mempunyai efek daya hambat paling tinggi dengan rata-rata zona hambat sebesar 29,37 mm. Berdasarkan penggolongan menurut Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI) 2021, antibiotik Ciprofloksasin tergolong sensitif terhadap *Pseudomonas aeruginosa* jika diameter zona hambat ≥ 25 mm, tergolong intermediate jika diameter zona hambat 19-24 mm, dan tergolong resisten jika diameter zona hambat ≤ 18 mm.²⁷ Pada penelitian ini, rata-rata diameter zona hambat kontrol positif

(Ciprofloksasin) tergolong sensitif terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

Pada hasil skrining fitokimia, kandungan senyawa biji kakao adalah Flavonoid, Alkaloid, Saponin, Tannin. Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri adalah dengan cara mengganggu proses terbentuknya peptidoglikan sel bakteri sehingga pembentukan lapisan dinding sel bakteri tidak terbentuk secara sempurna dan bakteri menjadi sulit untuk bertahan hidup.¹⁵ Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri adalah menghambat sintesis asam nukleat dengan cara menghambat pembentukan sintesis RNA dan DNA. Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri adalah dengan menginaktivasi enzim dan dapat mengerutkan dinding sel bakteri yang mengakibatkan permeabilitas sel terganggu. Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah dengan menurunkan tegangan permukaan dinding sel sehingga permeabilitas meningkat atau terjadi kebocoran sel.¹⁵ Oleh karena itu, ekstrak biji kakao memiliki efektivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian dan pembahasan maka dapat diambil suatu kesimpulan yaitu:

1. Ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao*) dengan konsentrasi 25%,50%, 75% dan 100% memiliki efek dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.
2. Ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao*) dengan konsentrasi 100% paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

5.2 Saran

Setelah dilakukan penelitian tentang uji daya hambat ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao*) terhadap pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* secara in vitro, maka peneliti memberikan beberapa saran sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang efek antibakteri ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao*) dengan metode yang berbeda seperti dengan cara in vivo.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menguji daya antibakteri bagian-bagian lain dari tanaman kakao, misalnya: akar, daun dan buah.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ibrahim H. Pengendalian Infeksi Nosokomial Dengan Kewaspadaan Umum Di Rumah Sakit. Vol 53.; 2019.
2. Dao TL, Hoang VT, Ly TDA, et al. Infectious disease symptoms and microbial carriage among French medical students travelling abroad: A prospective study. *Travel Med Infect Dis*. 2020;34(December 2019):19-21. doi:10.1016/j.tmaid.2019.101548
3. Scania AE, Ningsih I. *Pseudomonas Aeruginosa*: Pemeriksaan Mikrobiologi, Permasalahan, dan Resistensi Antibiotik. *Pratista Patol*. 2023;8(3):139-147.
<http://www.majalahpratistapatologi.com/p/index.php/journal/article/view/131>
- 31Agustina D, Indreswari L, Trisianti FN, et al. Modulasi Aktivitas Ciprofloxacin Terhadap *Pseudomonas aeruginosa*.2020;11(1).
4. Reynolds D, Kollef M. The Epidemiology and Pathogenesis and Treatment of *Pseudomonas aeruginosa* Infections: An Update. *Drugs*. 2021;81(18):2117-2131. doi:10.1007/s40265-021-01635-6
5. Seftiwan Pratami Djasfar, Pradika Y. Identifikasi Bakteri Penyebab Infeksi Nosokomial (*Pseudomonas aeruginosa*) Pada Lantai Intensive Care Unit (ICU). *J Med Lab*. 2023;2(1):9-19. doi:10.57213/medlab.v2i1.135
6. Widiyanti, Prihartini. Indonesian Journal Of Tropical And Infectious Disease. Universitas Airlangga. 2022.7. Widiyanti, Prihartini. Indonesian Journal Of Tropical And Infectious Disease. Universitas Airlangga. 2022.
7. Tofanello A, Belleti E, Brito AMM, Nantes-cardoso IL. Photodegradation of Ciprofloxacin- 2021;24(6):24-30.
8. Permenkes RI. Pedoman Penggunaan Antibiotik. *Permenkes RI*. Published online 2021:1-97.
9. Sukertiasiih NK, Megawati F, Meriyani H, Sanjaya DA. Retrospective Study of Antibiotic Resistance Profile. *J Ilm Medicam*. 2021;7(2):108-111. <https://doi.org/10.36733/medicamento.v7i2.2177>
10. Matatula,A.Jolanda(dkk). Budidaya Tanaman Perkebunan Kakao. 2022
11. Pohan DJ, Kakerissa AP, Arodes ES. Uji Efektivitas Ekstrak Biji Kakao (*Theobroma Cacao* L.) Sebagai Antibakteri Dalam Berbagai Konsentrasi pada *Streptococcus Pyogenes*. *Majalah Kedokteran UKI*. 2021;36(1):8-13. doi:10.33541/mk.v36i1.2986
12. Kedokteran F, Universitas H, Kuala S. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Terhadap *Pseudomonas*

aeruginosa. 2022;6(1):30-35.

13. Langkong J. Pasca Panen Kakao Dan Produk Olahan Coklat. Eureka Media Aksara. 2023
14. Melo TS, Pires TC, Engelmann JVP, Monteiro ALO, Maciel LF, Bispo E da S. Evaluation of the content of bioactive compounds in cocoa beans during the fermentation process. *J Food Sci Technol*. 2021;58(5):1947-1957. doi:10.1007/s13197-020-04706-wLangkong J. Pasca Panen Kakao Dan Produk Olahan Coklat. Eureka Media Aksara. 2023
15. Kurniawan, Ilham. Review: Gallotannins; Biosynthesis, Structure Activity Relationship, Anti-inflammatory and Antibacterial Activity. 2021;8(1):1-16.
16. Diggle SP, Whiteley M. Microbe Profile: *Pseudomonas aeruginosa*: opportunistic pathogen and lab rat. Published online 2020:30-33. doi:10.1099/mic.0.000860
17. Ayu IG, Putri M, Dewa D, Sukrama M. Karakteristik Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Dan Pola Kepekaannya Terhadap Antibiotik Di Intensive Care Unit (ICU) RSUP Sanglah Pada bulan November 2014-Januari 2015. Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Udayana Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana. 2019;8(4).
18. Urganci NN, Yilmaz N, Alaşalvar GK, Yildirim Z. Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology *Pseudomonas aeruginosa* and Its Pathogenicity *Pseudomonas aeruginosa*. 2022;10(4):726-738.
19. Cavallini, James. *Pseudomonas aeruginosa* bacteria. Science Photo Library. 2024.
20. Liao C, Huang X, Wang Q, Yao D, Lu W. Virulence Factors of *Pseudomonas Aeruginosa* and Antivirulence Strategies to Combat Its Drug Resistance. 2022;12(July):1-17. doi:10.3389/fcimb.2022.926758
21. Flores-Mireles A, Hreha TN, Hunstad DA. Pathophysiology, treatment, and prevention of catheter-associated urinary tract infection. *Top Spinal Cord Inj Rehabil*. 2019;25(3):228-240. doi:10.1310/sci2503-228
22. Rinawati W, Aulia D. Update Pemeriksaan Laboratorium Infeksi Saluran Kemih. *J Penyakit Dalam Indonesia*. 2022;9(2):124. doi:10.7454/jpdi.v9i2.319
23. Robertus T. Mekanisme Resistensi *Pseudomonas Aeruginosa* Terhadap Antibiotik. *J Penelitian Dan Karya Ilmu Lembaga Penelitian Univ Trisakti*. 2024;9:214-221. doi:10.25105/pdk.v9i1.18185
24. Miao H, Wang P, Cong Y, Dong W. Preparation of Ciprofloxacin-Based Carbon Dots with High Antibacterial Activity. Published online 2023.

25. Agustina D, Indreswari L, Trisianti FN, et al. Modulasi Aktivitas Ciprofloxacin Terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. 2020;11(1).
26. Nurul A, Setiawan I, Yusa D, et al. Tinjauan artikel: Uji mikrobiologi article review: Mikrobiological test. *J Pharm*. 2023;12(2):31-36.
27. CLSI (2021) CLSI M100-ED29: 2021 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 30th Edition, Clsi.
28. Haq S, Noer SF, Amri ayu wandira a baso. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Biji Kakao (*Theobroma cacao L.*) Asal Kabupaten Bulukumba Terhadap Penurunan Kadar Gula Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). *J Novem Med Farm*. 2023;02(02):1-10.
29. Syaflida R, Dohude GA, Isnandar I, Sepriyani R. Influence of *Theobroma cacao L* on the adhesion of *Streptococcus mutans*. *J Syiah Kuala Dent Soc*. 2024;8(2):162-166. doi:10.24815/jds.v8i2.29878
30. Mario, Arya Ramadhan. Daya Hambat Ekstrak Etanol Biji Petai (*Parkia speciosa Hassk.*) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Diploma thesis, Universitas Andalas. 2024.
31. Purwaningsih D, Wulandari D. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Suruhan (*Peperomia pellucida L. Kunth*) Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. *Biota J Ilm Ilmu-Ilmu Hayati*. 2020;5(1):1-7. doi:10.24002/biota.v5i1.3077

LAMPIRAN

Lampiran 1. Uji Normalitas

Case Processing Summary							
Perlakuan		Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
Daya Hambat	Konsentrasi 25%	4	100.0%	0	0.0%	4	100.0%
	Konsentrasi 50%	4	100.0%	0	0.0%	4	100.0%
	Konsentrasi 75%	4	100.0%	0	0.0%	4	100.0%
	Konsentrasi 100%	4	100.0%	0	0.0%	4	100.0%
	Kontrol Positif	4	100.0%	0	0.0%	4	100.0%
	Kontrol Negatif	4	100.0%	0	0.0%	4	100.0%
Descriptives							
Perlakuan		Statistic			Std. Error		
Daya Hambat	Konsentrasi 25%	Mean		10.4750		.46075	
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	9.0087			
			Upper Bound	11.9413			
		5% Trimmed Mean		10.4722			
		Median		10.4500			
		Variance		.849			
		Std. Deviation		.92150			
		Minimum		9.40			
		Maximum		11.60			
		Range		2.20			
		Interquartile Range		1.78			
		Skewness		.147		1.014	
		Kurtosis		.116		2.619	
	Konsentrasi 50%	Mean		11.9750		.38379	
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	10.7536			
			Upper Bound	13.1964			
		5% Trimmed Mean		11.9833			
		Median		12.0500			
		Variance		.589			

Konsentrasi 75%	Std. Deviation		.76757	
	Minimum		11.00	
	Maximum		12.80	
	Range		1.80	
	Interquartile Range		1.48	
	Skewness		-.496	1.014
	Kurtosis		-.257	2.619
	Mean		12.3500	.37528
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	11.1557	
		Upper Bound	13.5443	
	5% Trimmed Mean		12.3500	
	Median		12.3500	
	Variance		.563	
	Std. Deviation		.75056	
	Minimum		11.50	
	Maximum		13.20	
	Range		1.70	
	Interquartile Range		1.45	
	Skewness		.000	1.014
	Kurtosis		-2.219	2.619
Konsentrasi 100%	Mean		15.5500	.71005
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	13.2903	
		Upper Bound	17.8097	
	5% Trimmed Mean		15.5167	
	Median		15.2500	
	Variance		2.017	
	Std. Deviation		1.42009	
	Minimum		14.20	
	Maximum		17.50	
	Range		3.30	
	Interquartile Range		2.65	
	Skewness		1.089	1.014
	Kurtosis		1.220	2.619
Kontrol Positif	Mean		29.3750	.30653
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	28.3995	
		Upper Bound	30.3505	
	5% Trimmed Mean		29.3833	
	Median		29.4500	
	Variance		.376	
	Std. Deviation		.61305	
	Minimum		28.60	
	Maximum		30.00	

Kontrol Negatif	Range		1.40	
	Interquartile Range		1.18	
	Skewness		-.557	1.014
	Kurtosis		-1.100	2.619
	Mean		.0000	.00000
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	.0000	
		Upper Bound	.0000	
	5% Trimmed Mean		.0000	
	Median		.0000	
	Variance		.000	
	Std. Deviation		.00000	
	Minimum		.00	
	Maximum		.00	
	Range		.00	
	Interquartile Range		.00	
	Skewness		.	.
	Kurtosis		.	.

Test of Normality

	Perlakuan	Shapiro-Wilk
		Sig.
Daya Hambat	Konsentrasi 25%	.997
	Konsentrasi 50%	.937
	Konsentrasi 75%	.883
	Konsentrasi 100%	.653
	Kontrol Positif	.836
	Kontrol Negatif	.

Lampiran 2 : Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances					
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Daya Hambat	Based on Mean	.653	4	15	.634
	Based on Median	.588	4	15	.677
	Based on Median and with adjusted df	.588	4	7.559	.682
	Based on trimmed mean	.652	4	15	.635

Lampiran 3 : Uji one way ANOVA

ANOVA					
Daya Hambat					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	956.507	4	239.127	272.096	.000
Within Groups	13.183	15	.879		
Total	969.690	19			

Lampiran 4 : Uji LSD

Multiple Comparisons					
Dependent Variable: Daya Hambat					
LSD					
(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Differenc e (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confiden ce Interval Lower Bound
Konsentrasi 25%	Konsentrasi 50%	-1.50000*	.66289	.039	-2.9129
	Konsentrasi 75%	-1.87500*	.66289	.013	-3.2879
	Konsentrasi	-5.07500*	.66289	.000	-6.4879

		100%			
		Kontrol Positif	-	.66289	.000
			18.90000*		-20.3129
Konsentrasi 50%	Konsentrasi	1.50000*	.66289	.039	.0871
	25%				
	Konsentrasi	-.37500	.66289	.580	-1.7879
	75%				
	Konsentrasi	-3.57500*	.66289	.000	-4.9879
		100%			
		Kontrol Positif	-	.66289	.000
			17.40000*		-18.8129
Konsentrasi 75%	Konsentrasi	1.87500*	.66289	.013	.4621
	25%				
	Konsentrasi	.37500	.66289	.580	-1.0379
	50%				
	Konsentrasi	-3.20000*	.66289	.000	-4.6129
		100%			
		Kontrol Positif	-	.66289	.000
			17.02500*		-18.4379
Konsentrasi 100%	Konsentrasi	5.07500*	.66289	.000	3.6621
	25%				
	Konsentrasi	3.57500*	.66289	.000	2.1621
	50%				
	Konsentrasi	3.20000*	.66289	.000	1.7871
		75%			
		Kontrol Positif	-	.66289	.000
			13.82500*		-15.2379
Kontrol Positif	Konsentrasi	18.90000*	.66289	.000	17.4871
	25%				
	Konsentrasi	17.40000*	.66289	.000	15.9871
	50%				
	Konsentrasi	17.02500*	.66289	.000	15.6121
		75%			
		Konsentrasi	13.82500*	.66289	.000
		100%			12.4121

Lampiran 5. Dokumentasi



Pemisahan biji kakao dari kulitnya



Proses pengeringan biji kakao dengan menggunakan oven



Hasil Biji kakao yang telah menjadi serbuk



Pengayakan serbuk biji kakao



Pengentalan ekstrak biji kakao menggunakan rotary evaporator



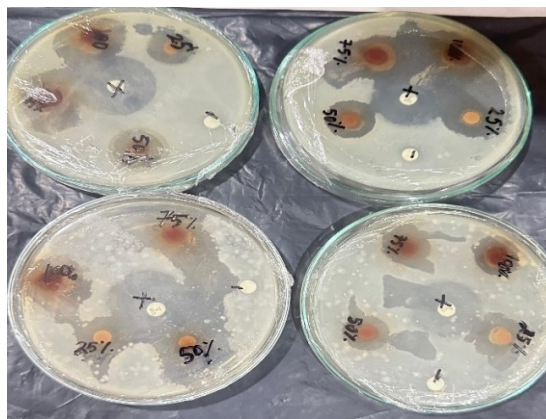
Hasil ekstrak kental



Pengenceran ekstrak dengan berbagai konsentrasi



Pengujian ekstrak biji kakao terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*



Hasil daya hambat ekstrak biji kakao dan kelompok kontrol terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

Lampiran 6. Surat Etik Penelitian



KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
HEALTH RESEARCH ETHICS COMMITTEE
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA
FACULTY OF MEDICINE UNIVERSITY OF MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK
DESCRIPTION OF ETHICAL APPROVAL
"ETHICAL APPROVAL"
No : 1267/KEPK/FKUMSU/2024

Protokol penelitian yang diusulkan oleh :
The Research protocol proposed by

Peneliti Utama : Sarah Nurul Fuadah
Principal in investigator

Nama Institusi : Fakultas kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara
Name of the Institution Faculty of Medicine University of Muhammadiyah of Sumatera Utara

Dengan Judul
Title

"UJI EFEKTIFITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK BIJI KAKAO (*Theobroma cacao*) TERHADAP PERTUMBUHAN *Pseudomonas aeruginosa* SECARA IN VITRO"

"TESTING THE ANTIBACTERIAL EFFECTIVENESS OF COCOA BEAN (*Theobroma cacao*) EXTRACT AGAINST THE GROWTH OF *Pseudomonas aeruginosa* IN VITRO"

Dinyatakan layak etik sesuai 7 (tujuh) Standar WHO 2011, yaitu 1) Nilai Sosial, 2) Nilai Ilmiah
3) Pemerataan Beban dan Manfaat, 4) Resiko, 5) Bujukan / Eksploitasi, 6) Kerahasiaan dan Privacy, dan
7) Persetujuan Setelah Penjelasan, yang merujuk pada Pedoman CIOMS 2016. Hal ini seperti yang ditunjukkan oleh terpenuhinya indikator setiap standar.

Declared to be ethically appropriate in accordance to 7 (seven) WHO 2011 Standards, 1) Social Values, 2) Scientific Values, 3) Equitable Assessment and Benefits, 4) Risks, 5) Persuasion / Exploitation, 6) Confidentiality and Privacy, and 7) Informed Consent, referring to the 2016 CIOMS Guidelines. This is as indicated by the fulfillment of the indicator of each standard

Pernyataan Laik Etik ini berlaku selama kurun waktu tanggal 30 Agustus 2024 sampai dengan tanggal 30 Agustus 2025
The declaration of ethics applies during the periode August 30, 2024 until August 30, 2025


 Medan, 30 Agustus 2024
 Ketua
 Assoc. Prof. Dr. dr. Nurfadly, MKT

Lampiran 7. Identifikasi Tumbuhan



**HERBARIUM MEDANENSE
(MEDA)
UNIVERSITAS SUMATERA UTARA**

Jl. Bioteknologi No.1 Kampus USU, Medan - 20155

Telp. 061 - 8223564 Fax. 061 - 8214290 E-mail. nursaharapasaribu@yahoo.com

Medan, 20 September 2024

No : 3385/MEDA/2024

Lamp : -

Hal : Hasil Identifikasi

Kepada YTH ,

Sdr/i : Sarah Nurul Fuadah

NPM : 2108260173

Instansi : Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara

Dengan hormat ,

Bersama ini disampaikan hasil identifikasi tumbuhan yang saudara kirimkan ke Herbarium Medanense, Universitas Sumatera Utara, sebagai berikut :

Kingdom : Plantae

Divisi : Spermatophyta

Class : Dicotyledone

Ordo : Malvales

Family : Sterculiaceae

Genus : Theobroma

Spesies : *Theobroma cacao*

Nama lokal : Biji Kakao (*Theobroma cacao*)

Demikian, semoga berguna bagi saudara.

Kepala Herbarium Medanense,



Dr. Nursahara Pasaribu, M.Sc
NIP. 193 01 25 1990 03 2001

Lampiran 8. Skrining Fitokimia Ekstrak Biji Kakao



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS SUMATERA UTARA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
DEPARTEMEN KIMIA
LABORATORIUM KIMIA BAHAN ALAM
Jl. Bioteknologi No.1 Kampus USU, Medan 2015
Telp.061-8211050 Fax.061-821490

SURAT KETERANGAN No.269/XIX/SKF/USU/2024

Dengan ini Kepala Laboratorium Kimia Bahan Alam FMIPA USU Menerangkan
Bahwa Sampel yang diserahkan kepada mahasiswa :

SARAH NURUL FUADAH

Dengan hasil uji Skrining sebagai berikut :

SAMPEL : BIJI KAKAO	
Flavonoida	Positif
Alkaloida	Positif
Tanin	Positif
Saponin	Positif

Demikian surat ini diperbuat untuk dipergunakan seperlunya.

Medan, 20 September 2024
- Kepala Laboratorium


Dr. Maulida, S.T.M.Sc
NIP. 197006111997022001