

**UJI EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK BIJI KAKAO
(*Theobroma cacao*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI
Staphylococcus aureus SECARA IN VITRO**

SKRIPSI



Oleh:

Asty Amanda Br Surbakti

2108260170

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA
MEDAN 2024**

**UJI EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK BIJI KAKAO
(*Theobroma cacao*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI
Staphylococcus aureus SECARA IN VITRO**

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



Oleh:

Asty Amanda Br Surbakti

2108260170

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA
MEDAN 2024**

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 : ASTY AMANDA BR SURBAKTI

NPM : 2108260170

Judul Skripsi : UJI EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK BIJI KAKAO
(*Theobroma cacao*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Staphylococcus aureus* SECARA IN VITRO

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

Medan, 2 Januari 2025



(Asty Amanda Br Surbakti)



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 : Asty Amanda Br Surbakti
NPM : 2108260170
Judul : UJI EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK BIJI KAKAO
(*Theobroma cacao*) TERHADAP PERTUMBUHAN *Staphylococcus aureus* 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. Annisa, MKT)

Penguji 2

(dr. Nelli Murlina, MKT)

Mengetahui,



Dekan FK UMSU

(dr. Siti Masliana 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

HALAMAN PERSETUJUAN PEMBIMBING



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



LEMBAR PERSETUJUAN PEMBIMBING

Nama : Asty Amanda Br surbakti
NPM : 2108260170
Prodi/Bagian : Pendidikan Dokter
Judul Skripsi : UJI EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK BIJI
KAKAO (*Theobroma cacao*) TERHADAP PERTUMBUHAN
BAKTERI *Staphylococcus aureus* SECARA IN VITRO

Disetujui untuk disampaikan kepada panitia ujian

Medan, 31 Desember 2024

Pembimbing,

(Dr. dr. Nurfadly, MKT)

KATA PENGANTAR

Assalamua'alaikum Warohmatullathiwabarokatuh

Puji syukur saya ucapkan kepada Allah *Subhanahu Wata'ala* atas rahmat beserta nikmat-Nya, saya dapat menyelesaikan skripsi saya yang berjudul **“Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Biji Kakao (*Theobroma cacao*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro”** dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran pada Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara. Alhamdulillah, sepenuhnya penulis menyadari bahwa selama penyusunan dan penelitian skripsi ini, penulis banyak mendapat dukungan, bimbingan, arahan dan bantuan dari berbagai pihak, dari masa perkuliahan sampai pada penyusunan skripsi ini. Oleh karena 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 yang telah menyediakan waktu, tenaga, dan pikiran untuk mengarahkan saya dalam penyusunan skripsi ini
4. dr. Annisa, MKT selaku dosen penguji satu yang telah memberikan arahan dan masukannya dalam penyusunan skripsi ini
5. dr. Nelli Murlina, MKT selaku dosen penguji kedua saya yang telah memberikan arahan dan masukannya dalam penyusunan skripsi ini
6. dr. Debby Mirani Lubis, M.Biomed dan dr Rinna Azrida M.Kes selaku dosen pembimbing akademik penulis ketika menjalani studi di FK UMSU
7. Terutama dan teristimewa penulis ucapkan banyak terimakasih kepada orang tua saya tercinta. Almarhum ayah tercinta, Mulianta Surbakti yang semasa hidup sampai sekarang selalu menjadi motivasi penulis untuk

segera menyelesaikan skripsi agar cepat menamatkan studi ini. Mama tersayang Miranda Br Sembiring, yang selalu memberikan motivasi, doa yang tiada hentinya, kasih sayang yang luar biasa dan dukungan material dan moral.

8. Fredy Boy Sitepu sebagai teman seperjuangan yang selalu memberikan motivasi dan mendengarkan keluh kesah penulis.
9. Teman sepayung saya Sarah Nurul Fuadah dan Vito Ricardo dalam melakukan penelitian yang dilakukan pada skripsi ini.
10. Sahabat saya Nur Cantika Syafira, Khairunnisa, Mia Octavia, Nur Indriani, Daniel Yedija, Dirja Surbakti, Kiren Sembiring, Diva Tri Seria dan Vioren Sembiring yang telah memberikan dukungan dan kasih sayang beserta bantuan sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini dan melewati perkuliahan selama masa pre-klinik. Beserta teman teman sejawat Angkatan 2021 yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Saya menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, untuk itu kritik dan saran demi kesempurnaan tulisan ini sangat saya harapkan.

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

Medan, 22 Desember 2024

Penulis,

Asty Amanda Br Surbakti

**PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI SKRIPSI UNTUK
KEPENTINGAN AKADEMIS**

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

Nama : Asty Amanda Br Surbakti
NPM : 2108260170
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 :

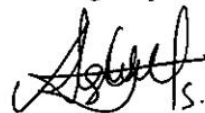
" Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Biji Kakao (*Theobroma cacao*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro" beserta perangkat yang ada (jika diperlukan).

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 : 6 Januari 2025

Yang menyatakan



(Asty Amanda Br Surbakti)

ABSTRAK

Pendahuluan: *Staphylococcus aureus* adalah bakteri gram positif yang menyebabkan berbagai macam penyakit klinis. Infeksi yang disebabkan oleh patogen ini umum terjadi baik di lingkungan masyarakat maupun di rumah sakit. Pengobatan infeksi ini menjadi tantangan karena resistensi antibiotik yang dihasilkan oleh bakteri tersebut. Di sisi lain, biji kakao yang mengandung polifenol, flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin, memiliki potensi sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk menilai efektivitas ekstrak biji kakao sebagai alternatif antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. **Metode:** Penelitian menggunakan *true experimental design* dengan rancangan *post-test only control group design*. Penelitian ini menguji pengaruh ekstrak biji kakao dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* serta 2 kelompok kontrol (kontrol positif menggunakan antibiotik vankomisin dan kontrol negatif menggunakan aquadest). Proses pembuatan ekstrak biji kakao melibatkan maserasi dengan etanol 97%, diikuti dengan penguapan untuk mendapatkan ekstrak kental. Uji antibakteri dilakukan dengan menggunakan cakram antibiotik yang dicelupkan ke dalam ekstrak biji kakao dan pengukuran diameter zona hambat. **Hasil:** Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao*) memiliki aktivitas antibakteri yang bervariasi tergantung pada konsentrasi yang digunakan. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak biji kakao, semakin besar diameter zona hambat yang terbentuk. **Kesimpulan:** Terdapat efek penghambatan ekstrak biji kakao terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* secara in vitro.

Kata kunci : *Staphylococcus aureus*, Biji kakao (*Theobroma cacao*)

ABSTRACT

Background: *Staphylococcus aureus* is a gram-positive bacterium that is the causative agent of a wide variety of clinical diseases. Infections caused by this pathogen are prevalent in both community and hospital. Treatment of these infections is challenging due to the antibiotic resistance produced by these bacteria. On the other hand, cocoa beans, which contain polyphenols, flavonoids, alkaloids, saponins, and tannins, have potential as antibacterials. This study aims to assess the effectiveness of cocoa bean extract as an antibacterial alternative against *Staphylococcus aureus*. **Methodology:** The study used true experimental design with post-test only control group design. This study tested the effect of cocoa bean extract with concentrations of 25%, 50%, 75%, and 100% on the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria as well as 2 control groups (positive control using vancomycin antibiotic and negative control using aquadest). The process of making cocoa bean extract involved maceration with 97% ethanol, followed by evaporation to obtain a thick extract. Antibacterial tests were performed using antibiotic disks dipped in cocoa bean extract and measurement of inhibition zone diameter. **Result:** This study shows that cocoa bean extract (*Theobroma cacao*) has antibacterial activity that varies depending on the concentration used. The higher the concentration of cocoa bean extract, the larger the diameter of the inhibition zone formed. **Conclusion:** There is an inhibitory effect of cocoa bean extract on the growth of *Staphylococcus aureus* in vitro.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, Cocoa beans (*Theobroma cacao*)

DAFTAR ISI

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	ii
HALAMAN PERSETUJUAN PEMBIMBING	iii
KATA PENGANTAR	v
PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI SKRIPSI UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS	vii
ABSTRAK	viii
<i>ABSTRACT</i>	<i>ix</i>
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
BAB I 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	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Tanaman Coklat.....	5
2.1.1 Taksonomi Tanaman Kakao.....	5
2.1.2 Morfologi Tanaman Kakao	6
2.1.3 Kandungan Biji kakao	6
2.1.4 Manfaat Biji Kakao.....	7
2.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	8
2.2.1 Taksonomi <i>Staphylococcus aureus</i>	8
2.2.2 Morfologi <i>Staphylococcus aureus</i>	8
2.2.3 Patogenesis <i>Staphylococcus aureus</i>	9
2.3 Antibiotik.....	10

2.3.1 Vankomisin	10
2.3.2 Mekanisme Kerja Vankomisin	11
2.4 Pengukuran Efektivitas Antibiotik	13
A. Metode Disc Diffusion (Tes Kirby & Bauer)	13
B. Metode Dilusi	13
2.5 Metode Ekstraksi	13
A. Maserasi.....	14
B. Perlokasi.....	14
2.6 Kerangka Teori	15
2.7 Kerangka Konsep Penelitian	15
2.7.1 Hipotesa	16
BAB III 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 Penelitian.....	17
3.7 Cara Kerja.....	18
3.7.1 Pembuatan Ekstrak Biji Kakao	18
3.7.3 Pembuatan Media Pembiakan Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	19
3.7.4 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji	20
3.7.5 Pembiakan <i>Staphylococcus aureus</i>	20
3.7.6 Identifikasi Biji Kakao menggunakan Uji Fitokimia.....	20
3.7.7 Pengenceran ekstrak	21
3.7.8 Uji Kepekaan Antimikroba.....	22
3.8 Alur Penelitian.....	23
3.9 Pengolahan dan Analisis Data	23
3.9.1 Pengolahan Data.....	24
3.9.2 Analisis Data	24

BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	25
4.1 Hasil Penelitian	25
4.1.1 Skrining fitokimia ekstrak biji kakao	25
4.1.2 Daya Hambat dan uji efektifitas ekstrak biji kakao (<i>Theobroma cacao</i>) terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	26
4.2 Pembahasan.....	31
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	36
5.1 Kesimpulan	36
5.2 Saran.....	36
DAFTAR PUSTAKA.....	37
LAMPIRAN.....	37

DAFTAR TABEL

Tabel 3. 1 Definisi Operasional	15
Tabel 3. 2 Pelaksanaan Penelitian.....	16
Tabel 3. 3 Kelompok Sampel Penelitian.....	17
Tabel 3. 4 Volume ekstrak biji kakao yang dibutuhkan.....	21
Tabel 3. 5 Volume control yang dibutuhkan	21
Tabel 4. 1 Hasil skrining fitokimia ekstrak biji kakao (Theobroma Cacao)	25
Tabel 4. 2 Hasil pengukuran daya hambat ekstrak biji kakao terhadap pertumbuhan bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	26
Tabel 4. 3 Nilai uji normalitas diameter daya hambat pertumbuhan bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	26
Tabel 4. 4 Uji Homogenitas diameter daya hambat pertumbuhan bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	27
Tabel 4. 5 Perbedaan diameter zona hambat berdasarkan kelompok	27
Tabel 4. 6 Perbedaan Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> Kelompok Konsentrasi 25% dan Konsentrasi 50%	28
Tabel 4. 7 Perbedaan Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> Kelompok Konsentrasi 25% dan Konsentrasi 75%	28
Tabel 4. 8 Perbedaan Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> Kelompok Konsentrasi 25% dan Konsentrasi 100%	28
Tabel 4. 9 Perbedaan Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> Konsentrasi 25% dan Kontrol positif.....	29
Tabel 4. 10 Perbedaan Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> Konsentrasi 50% dan Konsentrasi 75%.....	29
Tabel 4. 11 Perbedaan Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> Konsentrasi 50% dan Konsentrasi 100%.....	29
Tabel 4. 12 Perbedaan Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> Konsentrasi 50% dan Kontrol positif.....	30
Tabel 4. 13 Perbedaan Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> Konsentrasi 75% dan Konsentrasi 100%.....	30
Tabel 4. 14 Perbedaan Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> Konsentrasi 75% dan Kontrol positif.....	30
Tabel 4. 15 Perbedaan Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> Konsentrasi 100% dan Kontrol positif.....	31

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman Kakao.....	5
Gambar 2. 2 Peran α -toksin dalam infeksi <i>Staphylococcus aureus</i>	9
Gambar 2. 3 Gambar tahapan infeksi <i>Staphylococcus aureus</i>	10
Gambar 2. 4 Struktur Vankomisin.....	11
Gambar 2.5 Kerangka Teori	15
Gambar 2. 6 Kerangka konsep penelitian	15

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit infeksi merupakan salah satu masalah kesehatan terbesar tidak saja di Indonesia akan tetapi di seluruh dunia. Penyakit infeksi ini juga merupakan penyebab utama kematian di dunia.¹ Menurut laporan WHO (*World Health Organization*) penyakit infeksi merupakan penyebab kematian terbesar dengan jumlah kematian lebih dari 13 juta jiwa setiap tahun, serta menempati urutan kedua sebanyak 25% setelah kematian yang disebabkan oleh penyakit kardiovaskular dengan presentasi 31% dari 53,9 juta kasus penyebab kematian di dunia.² Penyebab infeksi disebabkan oleh berbagai mikroorganisme salah satunya adalah bakteri.³ Bakteri merupakan organisme prokariota yang merupakan sebagian besar flora normal pada tubuh tanpa menyebabkan infeksi.⁴ Adanya flora normal pada tubuh tidak selalu menghasilkan manfaat, karena dalam situasi tertentu flora normal ini dapat menyebabkan penyakit. Salah satu contoh flora normal dalam tubuh adalah bakteri *Staphylococcus aureus*.⁵

Staphylococcus aureus merupakan salah satu bakteri patogen yang terdapat pada manusia yang dapat menyebabkan infeksi. Bakteri *Staphylococcus aureus* dapat ditemukan di permukaan kulit sekitar 20% dan di mukosa hidung sekitar 30% pada orang dewasa yang sehat.^{6,7} *Staphylococcus aureus* adalah patogen yang sering menyebabkan berbagai jenis infeksi klinis pada manusia. Bakteri ini sering kali menjadi penyebab utama bakteremia, endokarditis infektif, infeksi pada tulang, sendi dan kulit.⁸ Diperkirakan presentasi infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* sebesar 21,7%.⁷ Studi di Amerika Serikat dan Eropa menunjukkan bahwa *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri tersering yang menyebabkan infeksi dengan prevalensi sebesar 18-30%.⁹ Menurut suatu penelitian bakteri yang paling dominan menjadi penyebab penyakit infeksi kulit adalah *Staphylococcus aureus* dengan presentasi 79%.¹⁰ Infeksi *Staphylococcus aureus* sering terjadi baik di rumah sakit dengan strain HA-MRSA (*Hospital Associated MRSA*) ataupun di lingkungan masyarakat yang dikenal sebagai CA-

MRSA (*Community Acquired MRSA*) serta terdapat juga strain MSSA (*Methicillin Susceptible Staphylococcus aureus*).¹¹ Pengobatan infeksi *Staphylococcus aureus* masih menjadi tantangan karena munculnya strain yang resistan terhadap beberapa obat seperti MRSA (*Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*).¹² Resistensi antibiotik berdampak kepada efektivitas terapi yang menyebabkan kurangnya sensitivitas suatu antibiotik terhadap bakteri sehingga dapat menyebabkan peningkatan morbiditas dan mortalitas serta pengeluaran perawatan kesehatan yang berlebih.¹³ Resistensi antibiotik yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* menghasilkan *Penicilin Binding Protein* (PBP2 α) yang dikode oleh gen *mecA* yang memiliki efek yang rendah terhadap metisilin.¹⁴ Penggunaan antibiotik yang tidak rasional juga dapat menyebabkan resistensi antibiotik yang dimana menurut Komite Pengendalian Resistensi Antimikroba tingkat resistensi bakteri di Indonesia terus meningkat dari 40%, 60 %, dan 60,4 % pada tahun 2019.¹⁵ Maka dari itu, dibutuhkan pengobatan secara alami untuk mengurangi terjadinya angka resistensi antibiotik.

Tanaman kakao (*Theobroma cacao*) merupakan salah satu tanaman yang dibudidayakan di Indonesia yang paling banyak.¹⁶ Tanaman kakao (*Theobroma cacao*) adalah salah satu produk komoditas pertanian terpenting dikarenakan bahan baku utama untuk pembuatan coklat. Kakao adalah sumber senyawa polifenol alami. Selain dari senyawa polifenol, kakao juga memiliki senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, serta tanin.^{17,18} Senyawa senyawa tersebut memiliki efek farmakologis seperti anti kardiovaskular, antitumor, antiinflamasi, antineurodegeneratif dan antibakteri.^{19,20}

Penelitian sebelumnya membuktikan bahwa terdapat perubahan morfologi pada bakteri *Staphylococcus aureus* yang diberikan ekstrak etanol biji kakao (*Theobroma cacao*) dengan menggunakan konsentrasi 7,8; 15,6; dan 31,25 mg/ml. Hasil penelitian tersebut menunjukkan hasil ekstrak etanol biji kakao pada konsentrasi 7,8 mg/ml dan 15,6 mg/ml menyebabkan terjadinya perubahan morfologi pada bakteri *Staphylococcus aureus* dengan pembesaran ukuran

diameter sel serta septum pada bakteri tidak terpisah. Sedangkan pada konsentrasi 31,25

mg/ml hanya terdapat penonjolan pada dinding sel bakteri.²¹ Penelitian sebelumnya menyimpulkan bahwa terdapat aktivitas antibakteri pada saat diberikan ekstrak etanol biji kakao (*Theobroma cacao*) terhadap bakteri *Streptococcus pyogen* dengan menggunakan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100%. Hasil penelitian tersebut pada konsentrasi 100% didapatkan zona hambat dengan diameter terbesar.²²

Dari penjelasan diatas peneliti tertarik untuk membuktikan efektivitas ekstrak etanol biji kakao sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan menentukan konsentrasi yang paling optimal yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri tersebut.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas maka dirumuskan masalah ”Bagaimana efektifitas antibakteri ekstrak biji kakao (*Theobroma Cacao*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*”

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan umum penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitas antibakteri ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Untuk mengetahui efek daya hambat ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100%
2. Untuk mengetahui konsentrasi biji kakao (*Theobroma cacao*) yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*

1.4 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat dari penelitian ini adalah

1. Diharapkan penelitian ini dapat memberikan informasi ilmiah khususnya untuk para klinisi tentang efektivitas antibiotik ekstrak biji coklat (*Theobroma cacao*) terhadap *Staphylococcus aureus*.
2. Hasil penelitian ini dapat dimanfaatkan sebagai bahan panduan yang terkait pengobatan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.
3. Menambah pengetahuan serta menjadi panduan mahasiswa dalam melaksanakan penelitian tentang efektivitas ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao*) dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*
4. Menambah pengetahuan dalam melaksanakan penelitian ilmiah secara in vitro.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Coklat

Tanaman kakao (*Theobroma cacao*) merupakan salah satu produk komoditas pertanian yang penting dikarenakan bahan baku utama untuk pembuatan coklat. Tanaman kakao (*Theobroma cacao*) banyak memiliki manfaat salah satunya sebagai antioksidan karena mengandung flavonoid serta dapat juga sebagai antiinflamasi karena mengandung unsur polifenol.²³ Selain itu tanaman ini dapat berbunga dan berbuah sepanjang tahun sehingga menjadi sumber pendapatan setiap beberapa bulan sekali panen. Di Indonesia perkembangan dari tanaman kakao ini sangat pesat bahkan kapasitas produksi kakao di beberapa negara asia pasifik lain seperti vietnam dan filipina masih jauh di bawah indonesia.²⁴



Gambar 2.1 Tanaman Kakao.²⁵

2.1.1 Taksonomi Tanaman Kakao

Taksonomi tanaman kakao (*Theobroma cacao*) adalah.^{24,26}

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Subdivisi	: <i>Angiospermae</i>

Kelas	: <i>Dicotyledoneae</i>
Subkelas	: <i>Dialypetalae</i>
Ordo	: <i>Malvales</i>
Familia	: <i>Sterculiaceae</i>
Genus	: <i>Theobroma</i>
Spesies	: <i>Theobroma cacao</i>

2.1.2 Morfologi Tanaman Kakao

Tanaman kakao hidup di iklim tropis yang dinaungi oleh pohon-pohon yang lebih besar dari tanaman kakao. Apabila dibudidayakan di kebun, tinggi dari batang kakao pada saat umur tiga tahun mencapai 1,8-3,0 meter dan apabila sudah berumur 12 tahun akan mencapai 4,50-7,0 meter. Selain batang tanaman kakao juga memiliki bunga, bunga tanaman kakao ini memiliki 5 daun kelopak, 5 daun mahkota, serta 10 tangkai sari. Warna dari bunga tanaman kakao adalah warna putih, ungu serta kemerahan.²⁴ Tanaman kakao merupakan suatu tumbuhan yang digunakan sebagai bahan baku utama pembuatan coklat. Biji yang dihasilkan dari tanaman kakao inilah yang akan diolah menjadi bubuk coklat sehingga menggambarkan karakteristik rasa gurih dengan aroma yang khas. Selain itu tanaman kakao ini digunakan untuk penggunaan kosmetik, pangan dan kesehatan. Tanaman kakao ini sangat pesat tumbuh di daerah yang tropis maka dari itu di Indonesia sangat banyak didapati perkebunan dari tanaman kakao ini.^{24,27}

2.1.3 Kandungan Biji kakao

Biji kakao merupakan bagian dari tanaman kakao yang diolah sebagai makanan ataupun minuman penting yang secara komersial digunakan sebagai obat tradisional di seluruh dunia untuk melawan berbagai penyakit.²⁸ Kakao merupakan suatu sumber senyawa polifenol yang terdapat secara alami yang telah diteliti manfaatnya.²⁹ Biji dari tanaman kakao ini memiliki efek farmakologis yang sangat beraneka ragam karena didalamnya terkandung

berbagai metabolit sekunder yaitu adanya flavonoid, polifenol serta alkaloid.¹⁸ Selain itu biji kakao ini kaya akan sumber senyawa fenolik yaitu mencapai 10%-12% berat kering yang bertindak sebagai antioksidan.³⁰

2.1.4 Manfaat Biji Kakao

Biji kakao banyak memiliki manfaat dikarenakan kandungannya yang telah diteliti dapat melawan radikal bebas yang berbahaya bagi tubuh. Selain itu senyawa pada biji kakao ini dapat menjadi pelindung kardiovaskular, antitumor, antiradang, antineurodegeneratif, antibakteri, dan antikariogenik.²⁹ Pada biji kakao terkandung polifenol, flavonoid, alkaloid, saponin, serta tanin yang memiliki banyak manfaatnya bagi tubuh. Polifenol merupakan bagian dari senyawa yang aktif biologis yang tersebar dalam tanaman dan merupakan fitokimia yang paling umum dengan efek kesehatan yang bermanfaat yang terdiri atas flavonoid, saponin dan tanin.³¹ Polifenol pada antibakteri berguna sebagai sebagai toksin dalam protoplasma, merusak dan menembus dinding sel.³² Flavonoid juga diidentifikasi sebagai senyawa polifenol yang dapat memberikan aktivitas antibakteri melalui berbagai mekanisme aksi. Dalam beberapa penelitian, flavonoid dapat menekan sintesis asam nukleat, fungsi membran sitoplasma serta metabolisme energi.³³ Serta terdapat alkaloid yang merupakan senyawa heterosiklik yang didalamnya terkandung nitrogen, selain itu didalam struktur inti kimia alkaloid memiliki peran dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel.^{34,35} Selain itu terdapat saponin bekerja dengan cara meningkatkan permeabilitas membran pada sel bakteri sehingga akan hemolisis atau akan dapat menyebabkan bakteri pecah atau lisis. Serta pada tanin, unsur tersebut bekerja dengan cara menargetkan pada dinding polipeptida pada dinding sel bakteri sehingga terjadinya pembentukan pada dinding sel akan menjadi kurang sempurna dan kemudian sel pada bakteri akan mati.³⁶

2.2 *Staphylococcus aureus*

2.2.1 Taksonomi *Staphylococcus aureus*

Taksonomi dari bakteri *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut.³⁷

Kingdom : *Bacteria*
 Filum : *Firmicutes*
 Ordo : *Bacillales*
 Famili : *Staphylococcaceae*
 Genus : *Staphylococcus*
 Spesies : *Staphylococcus aureus*

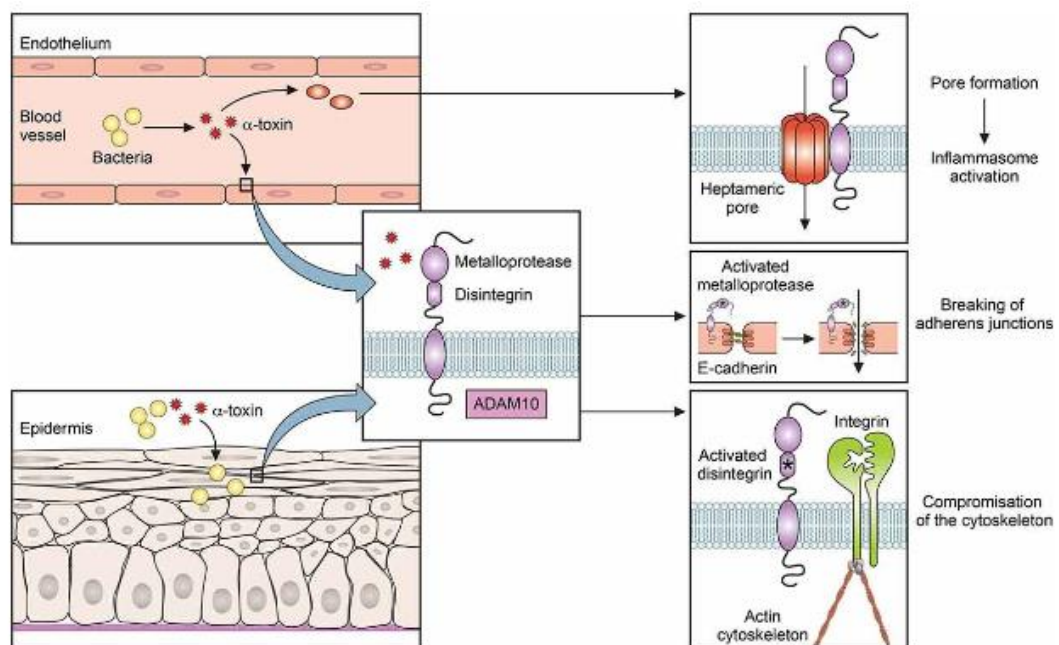
2.2.2 Morfologi *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif yang berbentuk bulat yang berdiameter 0,7-1,2 mikrometer yang tersusun dalam kelompok kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur. *Staphylococcus aureus* ini bersifat fakultatif anaerob, tidak memiliki spora dan tidak ada alat untuk bergerak. Karena bakteri *Staphylococcus aureus* tidak memiliki spora maka dari itu bakteri ini memiliki daya kuat tahan terhadap anti bakteri yang sangat tinggi. *Staphylococcus aureus* tumbuh pada suhu optimum 37 derajat celcius, tetapi dapat membentuk pigmen dalam suhu kamar 20-25 derajat celcius.³⁷ Selain itu *Staphylococcus aureus* memiliki strain yang dinamakan MRSA (*Methisilin-resistant Staphylococcus aureus*). Strain ini sangat berbahaya karena resisten terhadap beberapa antibiotik diantaranya golongan antibiotik metisilin dan golongan beta laktam.¹ Faktor resiko dari strain ini adalah ketika terkena penyakit degeneratif, paparan alat medis dan malnutrisi serta usia tua.³⁸ Ketika strain MRSA (*Methisilin-resistant Staphylococcus aureus*) tersebut masuk ke dalam tubuh dan memiliki faktor resiko tersebut maka akan dapat muncul berbagai penyakit diantaranya adalah penyakit infeksi berat, osteomielitis, endokarditis dan infeksi piogenik pada kulit dan jaringan lunak.³⁹ Pengobatan dari strain MRSA (*Methisilin-resistant Staphylococcus aureus*) berdasarkan

Infectious Disease Society Of America (IDSA) lini pertama adalah antibiotik vankomisin. Selain itu, IDSA merekomendasikan terapi daptomisin dosis tinggi (8-10 mg/kg) untuk pengobatan sturin MRSA (*Methisilin-resistant Staphylococcus aureus*) agar lebih efektif dalam kasus-kasus dengan kerentanan yang berkurang akibat vankomisin.⁴⁰

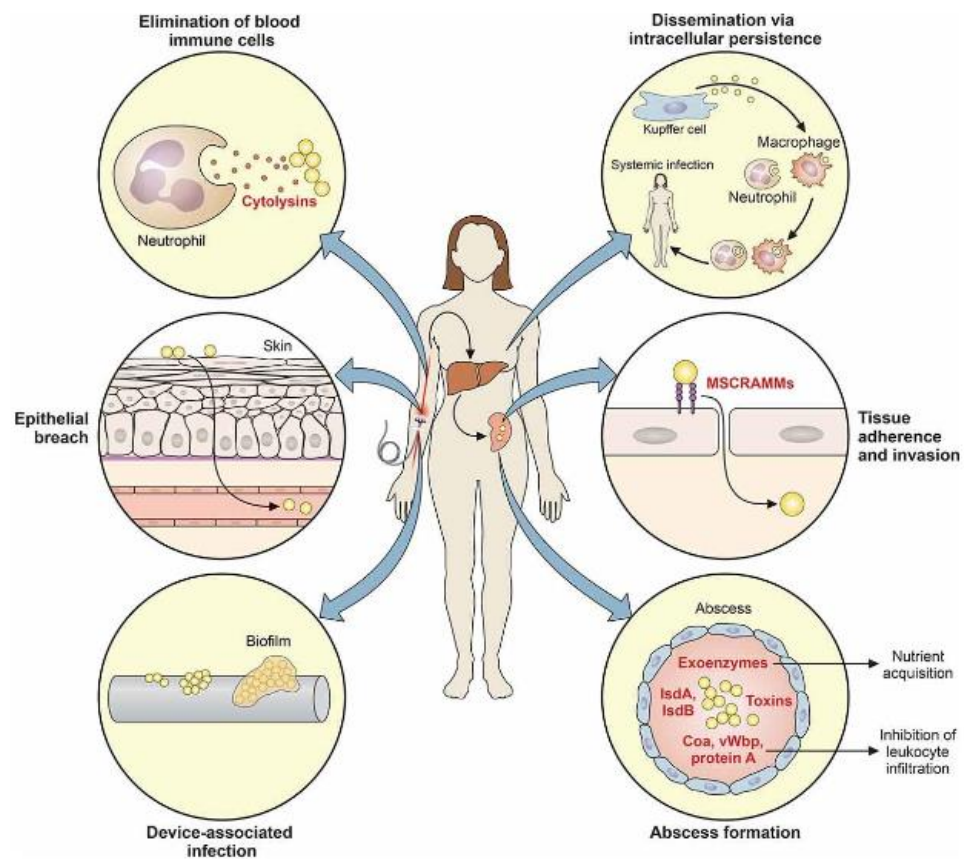
2.2.3 Patogenesis *Staphylococcus aureus*

Infeksi *Staphylococcus aureus* bermula dari penetrasi melalui lapisan pelindung epitel, contohnya pada saat kulit sedang mengalami luka baik luka terbuka ataupun luka goresan. Selain itu *Staphylococcus aureus* dapat mendorong kerusakan kulit dengan α -toksin yang mengaktifasi protein yang mengandung domain metaloproteinase untuk memecah molekul E-kadherin. Toksin pada *Staphylococcus aureus* akan bekerja melalui dua sistem. Pertama α -toksin akan membuat terbentuknya pori dan yang kedua akan menyebabkan kerusakan epitel dan endotel melalui pemutus sambungan adheren dan kerusakan sitoskeleton.



Gambar 2. 2 Peran α -toksin dalam infeksi *Staphylococcus aureus*.⁴¹

Saat setelah bakteri *Staphylococcus aureus* masuk ke dalam tubuh maka bakteri tersebut akan membentuk suatu mekanisme agar terhindar oleh sistem pertahanan tubuh seperti neutrofil melalui toksik sitolitik yang dimiliki oleh bakteri *Staphylococcus aureus* dan mengalir melalui aliran darah untuk menyerang organ serta jaringan yang ada di dalam tubuh.⁴¹

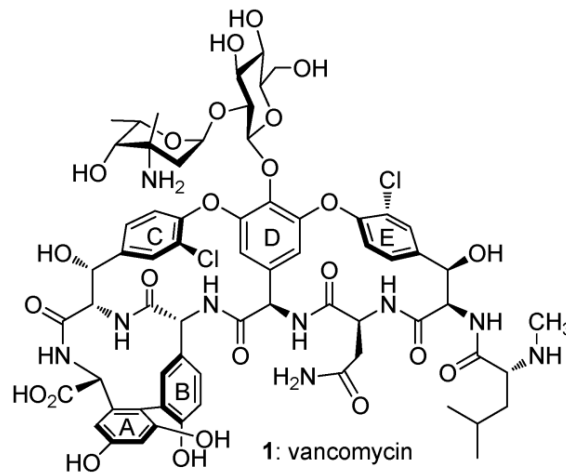


Gambar 2. 3 Gambar tahapan infeksi *Staphylococcus aureus*.⁴¹

2.3 Antibiotik

2.3.1 Vankomisin

Vankomisin merupakan suatu antibiotik yang sering digunakan sebagai pengobatan terapi penyembuhan. Vankomisin adalah antibiotik glikopeptida yang digunakan untuk mengobati infeksi serius yang disebabkan oleh bakteri gram positif, termasuk *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap metisilin (MRSA) dan infeksi *Enterococcus*.⁴²



Gambar 2. 4 Struktur Vankomisin.⁴³

2.3.2 Mekanisme Kerja Vankomisin

Vankomisin adalah antibiotik glikopeptida yang bekerja dengan menghambat sintesis dinding sel bakteri, khususnya pada bakteri gram positif. Mekanisme kerjanya dimulai dengan pengikatan vankomisin pada bagian terminal D-alanin-D-alanin dari peptidoglikan, komponen kunci dalam dinding sel bakteri. Dengan mengikat situs ini, vankomisin menghambat dua enzim penting, yaitu transpeptidase dan transglikosilase, yang terlibat dalam pembentukan ikatan silang peptidoglikan. Akibatnya, integritas dinding sel terganggu, menyebabkan kebocoran komponen seluler dan akhirnya kematian sel bakteri. Penggunaan vankomisin terutama ditujukan untuk mengatasi infeksi yang disebabkan oleh bakteri resisten, seperti *Staphylococcus aureus* resisten metisilin (MRSA) dan beberapa strain *Enterococcus*. Selain menghalangi sintesis dinding sel, mekanisme kerja vankomisin juga melibatkan perubahan permeabilitas membran sel, yang dapat memperkuat efek bakterisidalnya. Penelitian terbaru menunjukkan bahwa resistensi terhadap vankomisin dapat terjadi melalui modifikasi pada target pengikatan, sehingga memahami mekanisme ini sangat penting untuk pengembangan strategi terapeutik yang lebih efektif.^{43,44}

2.4 Pengukuran Efektivitas Antibiotik

Fungsi dari pengukuran efektivitas antibiotik ini adalah untuk mengukur hasil daya hambat bakteri terhadap antibiotik. Terdapat beberapa metode pengukuran pada uji efektivitas antibakteri ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu sebagai berikut:

A. Metode Disc Diffusion (Tes Kirby & Bauer)

Terdapat beberapa metode yang digunakan dalam aktivitas antibakteri yaitu metode dilusi, metode difusi serta metode difusi dilusi. Namun yang paling sering digunakan dalam menganalisis aktivitas bakteri adalah metode difusi yang juga akan digunakan pada penelitian ini. Ada beberapa cara penggunaan metode difusi yaitu metode sumuran, metode cakram dan metode silinder. Cara kerja metode difusi adalah terdifusinya senyawa antibakteri ke dalam media padat yang dimana mikroba uji telah diinokulasikan ⁴⁵.

B. Metode Dilusi

Metode dilusi banyak digunakan di fasilitas kesehatan masyarakat ataupun di rumah sakit yang berfungsi untuk mengidentifikasi mikrobiologi yang dapat tumbuh pada media bakteriologis dan berkembang menjadi suatu koloni. Tujuan penggunaan metode dilusi adalah memperkirakan konsentrasi suatu organisme, baik itu bakteri maupun virus serta untuk memperkecil jumlah bakteri yang terbentuk dalam larutan suspensi. Cara kerja dari metode dilusi ini adalah dengan adanya pengenceran terhadap sampel uji sehingga menghasilkan beberapa konsentrasi pengenceran. ⁴⁶

2.5 Metode Ekstraksi

Metode Ekstraksi atau pemisahan adalah suatu metode yang prinsip kerjanya menggunakan *like dissolve like* yaitu dimana suatu pelarut polar akan melarutkan senyawa polar serta suatu pelarut non polar akan melarutkan senyawa non polar. Dengan begitu akan terpisahnya zat zat yang berkhasiat bagi kesehatan. ⁴⁷

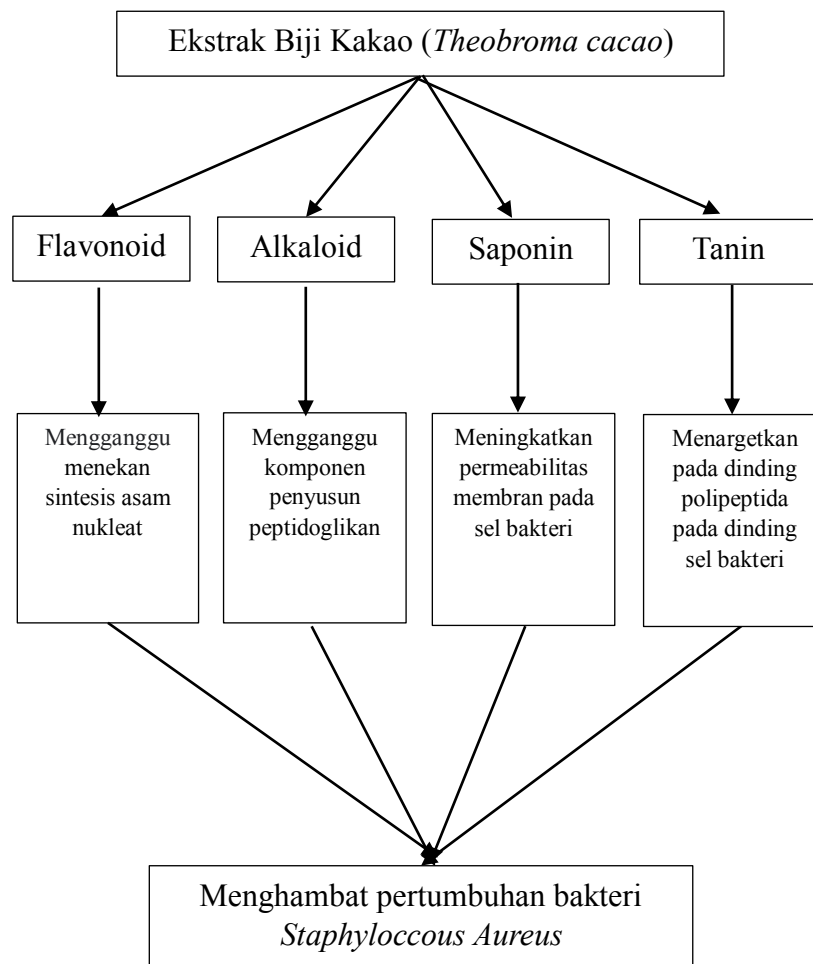
A. Maserasi

Maserasi merupakan suatu teknik pemisahan secara simplisia yang dilakukan untuk bahan yang tidak tahan akan panas yang dimana dilakukan dengan cara merendam di dalam pelarut dengan waktu yang tertentu. Saat melakukan maserasi diperlukan suhu ruang 20-30 derajat celcius untuk mencegah menguapnya pelarut secara berlebihan karena suatu faktor suhu yang ada dan melakukan pengadukan selama 15 menit agar bahan dan pelarut tercampur rata. Cara mengerjakan dari maserasi ini dengan merendam bahan serbuk simplisia didalam suatu cairan yang dinamakan cairan penyari. Cairan tersebut yang nantinya akan masuk ke dalam dinding sel dan menjadi bahan zat aktif.⁴⁸

B. Perlokasi

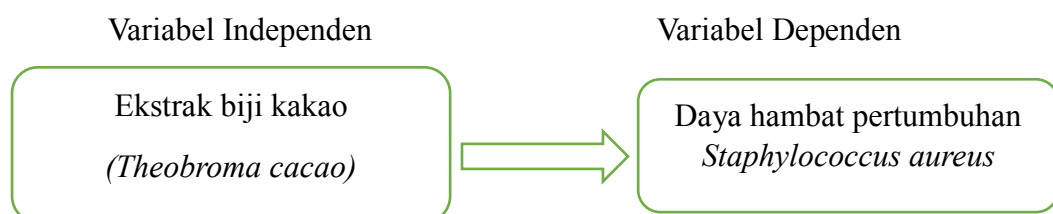
Perlokasi adalah proses dimana simplisia yang sudah dihaluskan, diekstraksikan dengan pelarut dengan cara dimasukkan secara perlahan lahan pada suatu kolom. Cara perlokasi ini memerlukan waktu yang lebih panjang dan pelarut yang lebih banyak.⁴⁸

2.6 Kerangka Teori



Gambar 2.5 Kerangka Teori

2.7 Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 2. 6 Kerangka konsep penelitian

2.7.1 Hipotesa

Ekstrak etanol biji kakao (*Theobroma cacao*) efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Definisi Operasional

Tabel 3. 1 Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
Variabel Independen : Ekstrak biji kakao	Ekstrak dari biji kakao yang diperoleh melalui proses maserasi	Membuat ekstrak biji kakao dengan cara maserasi lalu dilakukan perhitungan untuk mengatur konsentrasi yang dibutuhkan dengan menggunakan rumus $V1M1=V2M2$	Didapatkan ekstrak biji kakao (<i>Theobroma cacao</i>) dengan konsentrasi 25%, 50 %, 75%, dan 100%	Ordinal
Variabel Dependen: Pertumbuhan bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	Daya hambat pertumbuhan dari bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> adalah diameter zona jernih yang terlihat di sekitar pada media pertumbuhan bakteri	Menghitung diameter zona jernih di sekitar pada media pertumbuhan bakteri dengan menggunakan jangka sorong	Diameter zona jernih pada media pertumbuhan bakteri dalam satuan mm	Rasio

3.2 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang akan dilakukan menggunakan penelitian eksperimental *post test only control group design* dengan menggunakan 6 kelompok sebagai objek percobaan yang terdiri dari 4 kelompok yang menerima perlakuan berbagai konsentrasi ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao*) 25 %, 50 %, 75 %, dan 100 %.

50%, 75%, 100%, serta terdapat 2 kelompok kontrol yaitu Vankomisin sebagai kontrol

positif dan aquadest sebagai kontrol negatif. Hasil dari pengujian daya hambat pada kelompok perlakuan akan dibandingkan dengan kelompok kontrol.

3.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus 2024 sampai dengan November 2024 dengan lokasi penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan 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 pada biji kakao serta bakteri *Staphylococcus aureus*. Untuk menghitung pengulangan sampel penelitian, rumus yang akan digunakan adalah rumus Federer : $(n-1)(t-1) > 15$.

Keterangan : n: jumlah sampel, t: jumlah kelompok

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

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

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

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

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Jumlah sampel penelitian adalah 24 plate yang terdiri dari 6 kelompok perlakuan yang dilakukan dengan banyaknya pengulangan sebanyak 4 kali. Kelompok perlakuan yaitu 4 konsentrasi ekstrak biji kakao, yaitu konsentrasi pada konsentrasi 25%, 50 %, 75%, 100%, kelompok kontrol positif (Vankomisin) dan kelompok kontrol negatif (aquadest).

Tabel 3. 3 Kelompok Sampel Penelitian

kelompok	Perlakuan	Jumlah Sampel
Kelompok 1	Aquadest sebagai kontrol negatif	4 sampel
Kelompok 2	Ekstrak biji kakao (<i>Theobroma cacao</i>) konsentrasi 25 %	4 sampel
Kelompok 3	Ekstrak biji kakao (<i>Theobroma cacao</i>) konsentrasi 50 %	4 sampel
Kelompok 4	Ekstrak biji kakao (<i>Theobroma cacao</i>) konsentrasi 75 %	4 sampel
Kelompok 5	Ekstrak biji kakao (<i>Theobroma cacao</i>) konsentrasi 100 %	4 sampel
Kelompok 6	Vankomisin sebagai kontrol positif	4 sampel

3.5 Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data yaitu berdasarkan hasil ukur diameter zona hambat pada pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan jangka sorong.

3.6 Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian:

- Autoklaf
- Cawan petri
- Gelas ukuran
- Inkubator
- Jangka sorong
- Kertas cakram
- Ose/ lidi pengaduk
- Pipet tetes mikro
- Spritus

- j. Timbangan analitik
- k. Masker
- l. Sarung tangan
- m. Pinset
- n. Lidi Kapas
- o. Rotatory evaporator
- p. Tabung reaksi dan rak
- q. Ayakan
- r. Vortex
- s. Kertas saring
- t. Erlenmeyer
- u. Spatula
- v. Hotplate stirrer

Bahan yang digunakan dalam penelitian:

- a. Mueller Hinton Agar
- b. Ekstrak biji kakao
- c. Aquadest
- d. Larutan etanol 90 %
- e. Nacl 0,9 %
- f. DMSO
- g. Isolat *Staphylococcus aureus* (ATCC® 2593™)
- h. Vankomisin

3.7 Cara Kerja

3.7.1 Pembuatan Ekstrak Biji Kakao

Bersihkan biji kakao sebanyak 3 kg yang sudah dipisahkan dari lapisan tipis dan berlendir atau yang disebut sebagai pulp serta dikeringkan dalam suhu 40-50°C di dalam oven dengan waktu 1 jam. Haluskan dan rendam biji kakao selama 24 jam biji kakao yang telah didapat dengan menggunakan etanol 96%. Penggunaan etanol dalam proses ekstraksi dipakai karena polifenol yang

terdapat dalam biji kakao stabil dan polar dalam keadaan asam sehingga lebih mudah larut dalam pelarut polar seperti metanol maupun etanol. Haluskan biji kakao yang kering dan masukkan ke dalam bejana maserasi serta tambahkan etanol 96% lalu biarkan hingga 3x24 jam dalam bejana tertutup yang terlindung dari cahaya serta aduk sesekali. Selanjutnya, saring hingga diperoleh filtrat yang berwarna coklat kemerahan yang bebas dari partikel kasar. Filtrat dipekatkan dengan menggunakan alat *rotatory evaporator* selama 2 jam sehingga diperoleh ekstrak yang pekat.⁴⁹

3.7.2 Identifikasi *Staphylococcus aureus*

a. Secara Mikroskopis

Mengidentifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* akan dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara dengan cara diambil biakan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan ose yang sebelumnya sudah dibakar terlebih dahulu menggunakan api bunsen dan letakkan di atas objek glass. Setelah itu diamkan sebentar hingga mengering dan fiksasi diatas api Bunsen. Kemudian tuangkan larutan gentian violet di atas objek glass yang telah berisi bakteri *Staphylococcus aureus* dan biarkan selama 5 menit dan kemudian dibuang dan diberi lugol selama 1 menit kemudian dibuang setelah itu berikan alcohol 70%. Setelah itu berikan atau basahi objek glass tersebut dengan menggunakan larutan safranin dan diamkan selama 30 detik. Selanjutnya dibilas dengan menggunakan larutan aquadest lalu keringkan setelah kering lihat di bawah mikroskop. Bakteri gram positif (*Staphylococcus aureus*) akan menggambarkan warna biru violet sehingga terlihat warna ungu di bawah mikroskop dan berbentuk bulat bulat (kokus) yang tersusun seperti buah anggur.

3.7.3 Pembuatan Media Pembiakan Bakteri *Staphylococcus aureus*

Agar bubuk MHA (*Mueller Hinton Agar*) diambil dan ditimbang menggunakan timbangan analitik sebanyak 28 gram. Agar bubuk MHA yang telah dipersiapkan tadi masukkan ke dalam tabung Erlenmeyer dan tambahkan

100 ml aquadest serta diaduk hingga tercampur rata (homogen). Setelah homogen panaskan dalam waktu 2 jam dengan suhu 100°C dan dinginkan. Selanjutnya sterilkan kedalam autoclave dengan waktu 15 menit dengan suhu 121°C.

3.7.4 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* dibuat dengan cara mengambil 1-3 ose bakteri tersebut, dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 ml media cair NaCl, dikocok sampai homogen. Kekeruhannya dibandingkan dengan standar *Mc Farland* 0,5.

3.7.5 Pembiakan *Staphylococcus aureus*

Satu koloni *Staphylococcus aureus* diambil dengan menggunakan ose yang telah di sterilkan menggunakan api bunsen dengan cara dibakar terlebih dahulu. Setelah steril masukkan koloni bakteri *Staphylococcus aureus* ke dalam cawan petri yang telah berisi nutrient. Kemudian inkubasi cawan petri yang telah berisi koloni bakteri *Staphylococcus aureus* selama 24 jam pada suhu 37°C.

3.7.6 Identifikasi Biji Kakao menggunakan Uji Fitokimia

1. Uji Flavonoid

Etanol 5 ml ditambahkan kedalam ekstrak biji kakao lalu dipanaskan hingga 5 menit, setelah itu tambahkan beberapa tetes HCL yang pekat serta tambahkan magnesium. Dikatakan positif apabila terjadi perubahan warna merah tua.

2. Uji Alkaloid

Ekstrak biji kakao dimasukkan ke dalam 3 tabung reaksi, setelah itu tambahkan HCL serta aquadest dan dipanaskan hingga waktu 2 menit. Lalu dinginkan dan disaring hingga dapat filtrat. Setelah itu tambahkan pereaksi Dragendroff, Wagner serta Mayer ke dalam masing masing tabung reaksi. Reaksi dragendroff akan menunjukkan endapan dengan warna coklat hingga jingga kecoklatan, reaksi dari Wagner akan menunjukkan endapan dengan warna coklat serta Mayer yang akan menunjukkan endapan dengan warna putih.

3. Uji Tanin

Ambil FeCl_3 lalu campur dengan ekstrak biji kakao dan tambahkan 2-3 tetes larutan H_2SO_4 . Dikatakan positif apabila menunjukkan warna kuning kecoklatan.

4. Uji Saponin

Ambil aquadest dan dicampurkan dengan ekstrak biji kakao secukupnya lalu panaskan selama 2-3 menit. Lalu dinginkan dan dikocok. Dikatakan positif apabila terbentuk buih.

3.7.7 Pengenceran ekstrak

Pengenceran ekstrak biji kakao dalam penelitian ini menggunakan DMSO (Dimetil Sulfoksida) dan selanjutnya dibagi dalam 4 konsentrasi yaitu 25%, 50 %, 75%, 100%

$$\text{Rumus : } V_1.M_1 = V_2.M_2$$

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 daun Surian yang dibuat (%)

Tabel 3. 4 Volume ekstrak biji kakao yang dibutuhkan

M1	V2	M2	V1	V1 x 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

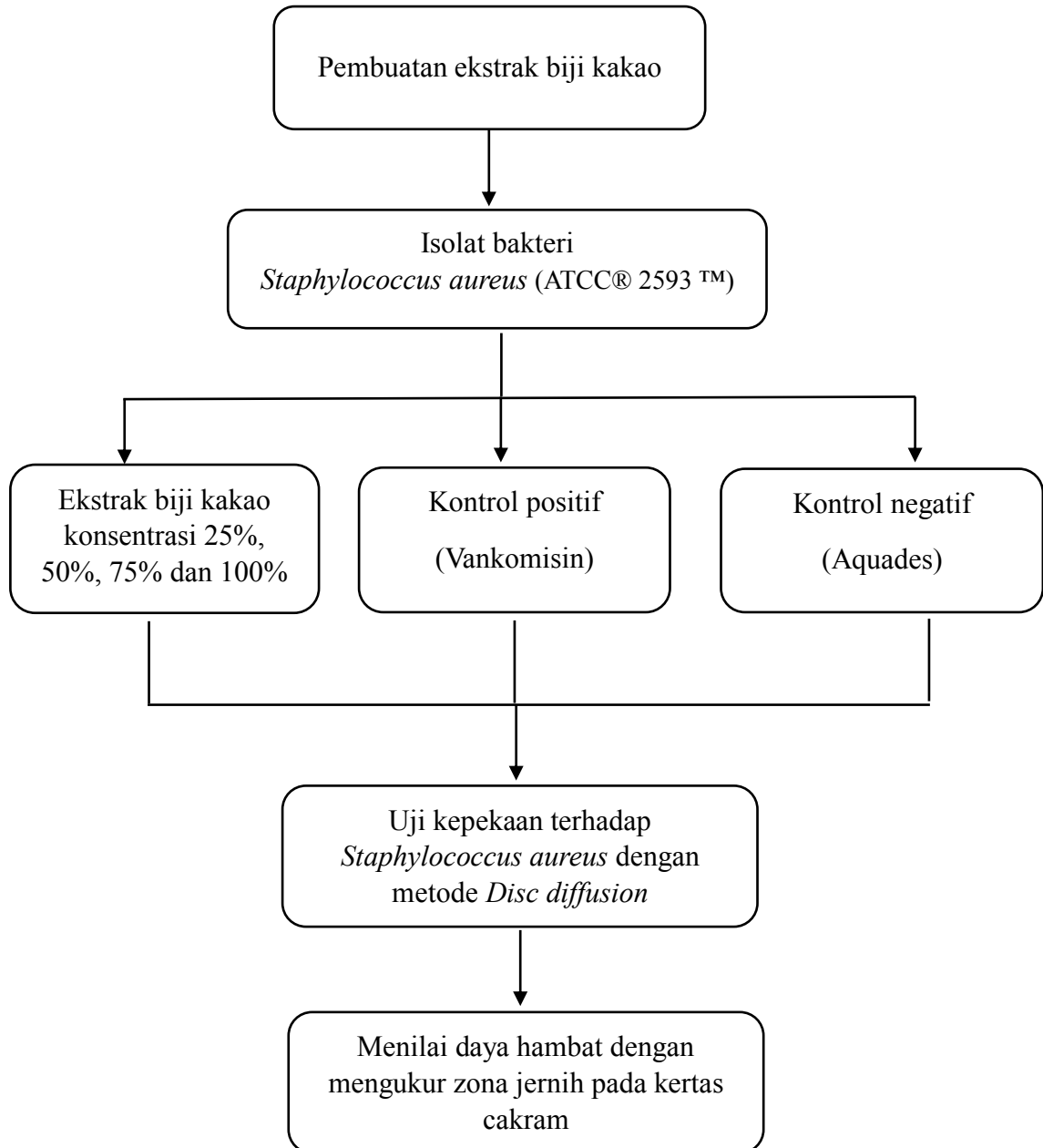
Tabel 3. 5 Volume control yang dibutuhkan

Kelompok	Volume sekali uji (V)	Total Volume : V X 4
Vankomisin (Kontrol Positif)	1 ml	4 ml
Aquadest (Kontrol Negatif)	1 ml	4 ml

3.7.8 Uji Kepekaan Antimikroba

Uji kepekaan antimikroba dilakukan dengan menggunakan cara menyediakan dan menyiapkan peralatan. Pertama rendam *blank disc* yang sebelumnya sudah di sterilkan terlebih dahulu bersama dengan ekstrak biji kakao 25%, 50 %, 75%, 100%, secara terpisah dan diamkan hingga 5 menit agar larutannya tadi terserap ke dalam *blank disc*. Vankomisin sebagai control positif serta aquadest sebagai control negative. Ambil *blank disc* yang telah direndam dengan berbagai konsentrasi tadi dan letakkan ke dalam permukaan Muller Hinton Agar yang telah terdapat koloni bakteri *Staphylococcus aureus*. Lalu inkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Setelah itu ukur diameter zona hambat/zona jernih yang terdapat di sekitar *blank disc* dengan alat jangka sorong.

3.8 Alur Penelitian



Gambar 2.7 Alur penelitian

3.9 Pengolahan dan Analisis Data

3.9.1 Pengolahan Data

a. Pemeriksaan data

Kegunaan dari pemeriksaan data yang akan dilakukan untuk memeriksa kelengkapan dari data serta ketepatan dalam data yang telah diambil.

b. Pemberian kode

Data yang telah diperiksa kelengkapan dan ketepatan datanya selanjutnya akan diberikan kode secara manual sebelum memasuki program spss komputer

c. Memasukkan data

Masukkan data yang telah dibersihkan ke dalam program spss komputer.

d. Pembersihan data

Data yang telah dimasukkan ke dalam program komputer akan diperiksa kembali agar menghindari kesalahan dalam menginput data.

e. Menyiapkan data

Data akan disiapkan secara sebaik baiknya untuk dianalisis.

3.9.2 Analisis Data

Pada penelitian ini analisis data menggunakan uji parametrik yang sebelumnya sudah terkonfirmasi distribusi normal. Dilakukannya uji normalitas dengan Shapiro-Wilk berdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji *One-Way ANOVA* untuk mengetahui terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok yang sedang diuji. Setelah itu dilanjutkan dengan uji *Post-Hoc LSD* agar mengetahui yang mana kelompok yang memiliki perbedaan yang signifikan.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan Komite Etik Kedokteran Universitas Muhammdiyah Sumatera Utara dengan nomor 1272/KEPK/FKUMSU/2024. Penelitian ini dilakukan di laboratorium Biokimia dan laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara serta FMIPA Universitas Sumatera Utara. Pada bab ini ditunjukkan beberapa gambar, tabel dan grafik histogram dari hasil analisis penelitian yang dilakukan oleh peneliti. Hasil analisis penelitian yang dilakukan oleh peneliti akan disajikan secara berurutan yang dimana (1) skrining fitokimia ekstrak biji kakao (2) hasil pengukuran daya hambat ekstrak biji kakao terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan hasil efektivitas ekstrak biji kakao terhadap *Staphylococcus aureus* serta (3) pembahasan penelitian.

4.1.1 Skrining fitokimia ekstrak biji kakao

Tabel 4. 1 Hasil skrining fitokimia ekstrak biji kakao (*Theobroma Cacao*)

No	Parameter Uji	Hasil Pengujian
1	Flavonoida	Positif
2	Alkaloida	Positif
3	Tanin	Positif
4	Saponin	Positif

Dari hasil uji skrining fitokimia senyawa bahan alam yang terdapat dalam ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao*) didapatkan senyawa flavonoida, alkaloida, tanin dan saponin dengan hasil yang positif.

4.1.2 Daya Hambat dan uji efektifitas ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Tabel 4.2 Hasil pengukuran daya hambat ekstrak biji kakao terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*

Kelompok	Pengulangan				Rata-rata
	1	2	3	4	
25%	8,35	9,05	6,40	5,35	7,29
50%	8,3	9,85	10,4	11,5	10,01
75%	8,95	12,6	10,95	10,6	10,88
100%	12,45	13,65	11,35	15,80	13,31
Kontrol (+)	22,35	24,15	23,21	22,40	23,02
Kontrol (-)	0	0	0	0	0

Pada tabel 4.2 dapat dilihat bahwa diameter daya hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada kelompok kontrol negatif (-) yaitu aquadest memiliki rata rata 0 mm, Kontrol positif (+) yaitu vankomisin memiliki rata rata 23,025 mm, konsentrasi 25% memiliki rata rata 7,29 mm, konsentrasi 50% memiliki rata rata 10,01 mm, konsentrasi 75% memiliki rata rata 10,88 mm dan konsentrasi 100% memiliki rata rata 13,31 mm.

Tabel 4. 2 Nilai uji normalitas diameter daya hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*

Kelompok	Sig*	Keputusan
K (+)	0,323	Normal
25%	0.634	Normal
50%	0.936	Normal
75%	0.973	Normal
100%	0.866	Normal

*Shapiro Wilk

Berdasarkan uji normalitas data diameter daya hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* didapatkan nilai signifikansi lebih besar dari nilai α (0,05) sehingga disimpulkan data berdistribusi normal.

Tabel 4. 3 Uji Homogenitas diameter daya hambat pertumbuhan bakteri
Staphylococcus aureus

Variabel	Sig*	Keterangan
Diameter zona hambat	0,553	Homogen

*Lavene's test of variance

Uji homogenitas data diameter daya hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* (Tabel 4.4) didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,553 ($>0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa varians data antar kelompok homogen.

Berdasarkan nilai uji normalitas dan homogenitas diatas maka untuk mengetahui perbedaan data diameter daya hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada semua kelompok perlakuan dilakukan uji One way ANOVA

Tabel 4. 4 Perbedaan diameter zona hambat berdasarkan kelompok perlakuan

Kelompok	n	Rata-rata $\pm$ SD	p
Konsentrasi 25%	4	7,29 $\pm$ 1,71	0,000
Konsentrasi 50%	4	10,01 $\pm$ 1,33	
Konsentrasi 75%	4	10,88 $\pm$ 1,53	
Konsentrasi 100%	4	13,31 $\pm$ 1,91	
Kontrol Positif	4	23,03 $\pm$ 0,85	

*One Way ANOVA

Berdasarkan uji One Way ANOVA (Tabel 4.5) didapatkan signifikansi (p) sebesar 0,000 ($< 0,05$) sehingga dapat disimpulkan terdapat perbedaan diameter daya hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang signifikan antar kelompok. Selanjutnya untuk memastikan perbedaan diameter daya hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* antar kelompok, dilakukan uji Post-Hoc dengan uji Least Significant Difference (LSD)

Tabel 4. 5 Perbedaan Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Kelompok Konsentrasi 25% dan Konsentrasi 50%

Kelompok	N	P	Keterangan
Konsentrasi 25%	4	0,022	Berbeda Signifikan
Konsentrasi 50%	4		

**Least Significant Difference*

Berdasarkan Tabel 4.6 dapat dilihat didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,022 ($<0,05$), menunjukkan terdapat perbedaan rata-rata daya hambat yang signifikan antara pemberian konsentrasi 25% dan 50%.

Tabel 4. 6 Perbedaan Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Kelompok Konsentrasi 25% dan Konsentrasi 75%

Kelompok	N	P	Keterangan
Konsentrasi 25%	4	0,004	Berbeda Signifikan
Konsentrasi 75%	4		

**Least Significant Difference*

Berdasarkan Tabel 4.7 dapat dilihat didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,004 ($<0,05$) menunjukkan bahwa terdapat perbedaan rata-rata daya hambat yang signifikan antara kelompok konsentrasi 25% dan 75%.

Tabel 4. 7 Perbedaan Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Kelompok Konsentrasi 25% dan Konsentrasi 100%

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

**Least Significant Difference*

Berdasarkan Tabel 4.8 dapat dilihat didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,000 ($<0,05$) yang mana menunjukkan bahwa terdapat perbedaan rata-rata daya hambat yang signifikan antara kelompok konsentrasi 25% dan 100%.

Tabel 4. 8 Perbedaan Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Konsentrasi 25% dan Kontrol positif

Kelompok	n	p	Keterangan
Konsentrasi 25%	4	0,000	Berbeda Signifikan
Kontrol positif	4		

**Least Significant Difference*

Berdasarkan Tabel 4.9 dapat dilihat didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,000 ($<0,05$) yang mana menunjukkan bahwa terdapat perbedaan rata-rata daya hambat yang signifikan antara kelompok konsentrasi 25% dan kontrol positif.

Tabel 4. 9 Perbedaan Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Konsentrasi 50% dan Konsentrasi 75%

Kelompok	n	p	Keterangan
Konsentrasi 50%	4	0,431	Berbeda Signifikan
Konsentrasi 75%	4		

**Least Significant Difference*

Berdasarkan Tabel 4.10 dapat dilihat didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,431 ($>0,05$) yang mana menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan rata-rata daya hambat yang signifikan antara kelompok konsentrasi 50% dan 75%.

Tabel 4. 10 Perbedaan Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Konsentrasi 50% dan Konsentrasi 100%

Kelompok	n	p	Keterangan
Konsentrasi 50%	4	0,007	Berbeda Signifikan
Konsentrasi 100%	4		

**Least Significant Difference*

Berdasarkan Tabel 4.11 dapat dilihat didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,007 ($<0,05$) yang mana menunjukkan bahwa terdapat perbedaan rata-rata daya hambat yang signifikan antara kelompok konsentrasi 50% dan 100%.

Tabel 4. 11 Perbedaan Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Konsentrasi 50% dan Kontrol positif

Kelompok	n	p	Keterangan
Konsentrasi 50%	4	0,000	Berbeda Signifikan
Kontrol positif	4		

**Least Significant Difference*

Berdasarkan Tabel 4.12 dapat dilihat didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,000 ($<0,05$) yang mana menunjukkan bahwa terdapat perbedaan rata-rata daya hambat yang signifikan antara kelompok konsentrasi 50% dan kontrol positif.

Tabel 4. 12 Perbedaan Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Konsentrasi 75% dan Konsentrasi 100%

Kelompok	n	p	Keterangan
Konsentrasi 75%	4	0,037	Berbeda Signifikan
Konsentrasi 100%	4		

**Least Significant Difference*

Berdasarkan Tabel 4.13 dapat dilihat didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,037 ($<0,05$) yang mana menunjukkan bahwa terdapat perbedaan rata-rata daya hambat yang signifikan antara pemberian konsentrasi 75% dan 100%.

Tabel 4. 13 Perbedaan Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Konsentrasi 75% dan Kontrol positif

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

Kontrol positif 4

**Least Significant Difference*

Berdasarkan Tabel 4.14 dapat dilihat didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,000 ($<0,05$) yang mana menunjukkan bahwa terdapat perbedaan rata-rata daya hambat yang signifikan antara kelompok konsentrasi 75% dan kontrol positif.

Tabel 4. 14 Perbedaan Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Konsentrasi 100% dan Kontrol positif

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

**Least Significant Difference*

Berdasarkan Tabel 4.14 dapat dilihat didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,000 ($<0,05$) yang mana menunjukkan bahwa terdapat perbedaan rata-rata daya hambat yang signifikan antara kelompok konsentrasi 100% dan kontrol positif.

4.2 Pembahasan

Berdasarkan skrining fitokimia ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao*) yang telah dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao*) positif mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, saponin dan tanin. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian sebelumnya tentang skrining fitokimia ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao*) bahwa ekstrak biji kakao positif mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, saponin dan tanin.^{17,18} Flavonoid juga diidentifikasi sebagai senyawa polifenol yang dapat memberikan aktivitas antibakteri melalui berbagai mekanisme aksi. Dalam beberapa penelitian, flavonoid dapat menekan sintesis asam nukleat, fungsi membran sitoplasma serta metabolisme energi.³³ Alkaloid yang merupakan senyawa heterosiklik yang didalamnya terkandung nitrogen, selain itu didalam struktur inti kimia alkaloid memiliki peran dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian

sel.^{34,35} Saponin bekerja dengan cara meningkatkan permeabilitas membran pada sel bakteri sehingga akan hemolisis atau akan dapat menyebabkan bakteri pecah atau lisis. Serta pada tanin, unsur tersebut bekerja dengan cara menargetkan pada dinding polipeptida pada dinding sel bakteri sehingga terjadinya pembentukan pada dinding sel akan menjadi kurang sempurna dan kemudian sel pada bakteri akan mati.³⁶ Selain itu hasil pada penelitian ini juga didapatkan bahwa ekstrak etanol biji kakao (*Theobroma cacao*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* berdasarkan diameter zona hambat yang telah didapatkan.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa terdapat perbedaan daya hambat antara ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao*) dengan beberapa konsentrasi yang telah diberikan. Pada konsentrasi 25% didapatkan zona daya hambat terkecil, yaitu 7,29 mm. Pada konsentrasi 50% didapatkan zona hambat sebesar 10,01 mm. Pada konsentrasi 75% didapatkan zona hambat sebesar 10,88 mm. Serta pada konsentrasi 100% didapatkan zona hambat terbesar yaitu sebesar 13,31mm. Perbedaan antara daya hambat terjadi karena terdapat hubungan antara perbedaan konsentrasi bahan aktif dalam ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao*) dan kemampuan senyawa di dalamnya untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Dapat dilihat pada penelitian sebelumnya tentang uji efektivitas ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao*) sebagai antibakteri pada *Streptococcus pyogens* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan antara konsentrasi 20% hasilnya 8,07 mm, 40% hasilnya 9,33 mm, 60% hasilnya 10,05 mm, 80% hasilnya 8,4 mm dan 100% hasilnya 15,44 mm. Adapun hal tersebut, diameter zona hambat yang terbentuk tidak selalu sebanding dengan konsentrasi ekstrak, karena kecepatan difusi senyawa antibakteri pada media agar dapat bervariasi. Beberapa faktor yang memengaruhi kecepatan difusi tersebut antara lain suhu, waktu inkubasi dan komposisi media.²²

Aktivitas antibakteri biji kakao terdapat pada semua kelompok uji dan daya hambat yang paling besar adalah konsentrasi 100%. Hal ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan dengan judul uji efektivitas ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao*) sebagai antibakteri pada *Enterococcus faecalis* yang

dimana paling efektif memberikan efek antibakteri adalah konsentrasi 100%.⁵⁰ Selain itu pada penelitian sebelumnya mengenai perubahan morfologi *Staphylococcus aureus* akibat paparan ekstrak etanol biji kakao menyebutkan ekstrak etanol biji kakao pada konsentrasi 15,6 mg/ml dapat menyebabkan terjadinya perubahan morfologi pada *Staphylococcus aureus*.²¹ Berdasarkan penelitian lainnya tentang aktivitas antibakteri ekstrak biji kakao terhadap *Staphylococcus epidermidis* menyebutkan bahwa konsentrasi yang terbaik adalah konsentrasi 100% dan semakin besar konsentrasi, maka semakin baik efek yang diberikannya.⁵¹ Hal tersebut dikarenakan semakin besar konsentrasi yang diberikan maka semakin besar pula senyawa aktif yang terkandung didalamnya.

Kontrol positif pada penelitian ini adalah vankomisin. Dari hasil penelitian yang telah dilakukan bahwa antibiotik vankomisin memberikan efek daya hambat yang paling tinggi dibandingkan dengan ekstrak etanol biji kakao dengan konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100 %. Hal ini sejalan dengan penelitian mengenai efektifitas teh kulit buah manggis sebagai antimikroba terhadap pertumbuhan bakteri *methicillin resistant staphylococcus aureus (MRSA)* menunjukkan bahwa antibiotik vankomisin sensitif terhadap *MRSA* dengan hasil rata rata 22,2 mm.⁵² Berdasarkan guideline yang direkomendasikan oleh Infectious Disease Society Of America (IDSA) sebagai pengobatan *MRSA (Methicillin-resistant Staphylococcus aureus)* juga menyebutkan bahwa pengobatan untuk infeksi *MRSA (Methicillin-resistant Staphylococcus aureus)* adalah antibiotik vankomisin.⁵³

Berdasarkan hasil penelitian ini, ditemukan bahwa ekstrak biji kakao dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* namun dibandingkan dengan antibiotik vankomisin maka antibiotik tersebut menunjukkan efek yang lebih baik. Dengan demikian, hipotesis dalam penelitian ini diterima, karena ekstrak biji kakao pada berbagai konsentrasi (25%, 50%, 75%, dan 100%) menunjukkan kemampuan untuk menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, di mana semakin tinggi konsentrasi ekstrak biji kakao, semakin baik pula daya hambatnya terhadap bakteri tersebut.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

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

1. Terdapat aktivitas antibakteri ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi 25%,50%,75% dan 100%.
2. Konsentrasi 100% dari ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao*) menghasilkan zona hambat yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

5.2 Saran

Setelah dilakukan penelitian tentang uji efektivitas ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* secara in vitro, maka peneliti memberikan beberapa saran sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek antibiotik ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao*) dengan menggunakan metode jenis lainnya seperti in vivo.
2. Dilakukan penelitian lanjutan ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dari sumber infeksi yang berbeda.
3. Penelitian ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao*) ini perlu diperluas lagi dengan menguji ke mikroorganisme seperti jamur, virus dan parasite.

DAFTAR PUSTAKA

1. Rahman Iw, Arfani N, Tadoda Jv. Deteksi Bakteri Mrsa *Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus* Pada Sampel Darah Pasien Rawat Inap. *J Ilmu Alam Dan Lingkung*. 2023;14(1):48-54.
2. Ramadhani A, Saadah S. Efek Antibakteri Ekstrak Daun Cengkeh (*Syzygium Aromaticum*) Terhadap *Escherichia Coli* Dan *Staphylococcus Aureus* Antibacterial Effect Of Clove Leaf Extract (*Syzygium Aromaticum*) Against *Escherichia Coli* And *Staphylococcus Aureus*. *J Bioteknol Biosains Indones*. 2020;7(2):203-214. [Http://Ejurnal.Bppt.Go.Id/Index.Php/Jbbi](http://ejurnal.bppt.go.id/index.php/jbbi)
3. Pratiwi Rh. Mekanisme Pertahanan Bakteri Patogen Terhadap Antibiotik. *J Pro-Life*. 2019;4(3):418-429.
4. Doron, S; Gorbach S. Bacterial Infections: Overview. *Bacteriol Amsterdam, Amsterdam, Netherlands*. 2020;3(January).
5. Nanggita Pp, Mu'arofah B, Imasari T, Santoso K. Deteksi Bakteri *Staphylococcus Sp.* Pada Swab Rongga Mulut Mahasiswa D3 Tlm Iik Bhakti Wiyata Kediri Yang Memakai Kawat Gigi. *J Sint Penelit Sains, Terap Dan Anal*. 2023;4(1):9-15.
6. Hanina H, Humaryanto H, Gading Pw, Aurora Wid, Harahap H. Peningkatan Pengetahuan Siswa Pondok Pesantren Nurul Iman Tentang Infeksi *Staphylococcus Aureus* Di Kulit Dengan Metode Penyuluhan. *Med Dedication J Pengabd Kpd Masy Fkik Unja*. 2022;5(2):426-430. Doi:10.22437/Medicaldedication.V5i2.21000
7. Suyasa Ibo. Gambaran *Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus* (Mrsa) Pada Petugas Kesehatan Rsud Wangaya Kota Denpasar. *Meditory J Med Lab*. 2020;8(1):46-52. Doi:10.33992/M.V8i1.1074
8. Tong Syc, Davis Js, Eichenberger E, Holland Tl, Fowler Vg. *Staphylococcus Aureus* Infections: Epidemiology, Pathophysiology, Clinical Manifestations, And Management. *Clin Microbiol Rev*.

2019;28(3):603-661. Doi:10.1128/Cmr.00134-14

9. Wideas Puji, Arif Yusuf Wicaksana, Dhiah Novalina. Literature Review: Efektivitas Madu Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus*. *J Mandalika Lit.* 2022;3(1):102-105. Doi:10.36312/Jml.V3i1.989
10. Rosalina D, Martodihardjo S, Listiawan My. *Staphylococcus Aureus* Sebagai Penyebab Tersering Infeksi Sekunder Pada Semua Erosi Kulit Dermatosis Vesikobulosa. *Berk Ilmu Kesehat Kulit Dan Kelamin.* 2020;22(2):102-108.
11. David Mz, Boyle-Vavra S, Zychowski Dl, Daum Rs. Methicillin-Susceptible *Staphylococcus Aureus* As A Predominantly Healthcare-Associated Pathogen: A Possible Reversal Of Roles? *Plos One.* 2021;6(4). Doi:10.1371/Journal.Pone.0018217
12. Erlin E, Sri Ar, Purwianingsih Rw. Deteksi Methicilin Resistant *Staphylococcus Aureus* (*Mrsa*) Sebagai Penyebab Infeksi Nosokomial Pada Alat-Alat Di Ruang Perawatan Bedah. 2020;12:137-144. Doi:10.25134/Quagga.V12i2.2671
13. Sukertiasih Nk, Megawati F, Meriyani H, Sanjaya Da. Studi Retrospektif Gambaran Resistensi Bakteri Terhadap Antibiotik Retrospective Study Of Antibiotic Resistance Profile. 2021;7(2):2019-2022.
14. Sugireng, Rosdarni. Deteksi *Mrsa* (Methicilin Resistant *Staphylococcus Aureus*) Dengan Metode Pcr Pada Pasien Ulkus Diabetikum. *Jur Biol Fak Sains Dan Teknol Uin Alauddin Makassar.* 2020;(September):31-35.
15. Marsudi A. Tingkat Pengetahuan Dan Perilaku Masyarakat Terhadap Penggunaan Antibiotik Di Beberapa Apotek Di Kota Ternate. *J Farm Medica/Pharmacy Med J.* 2022;4(2):54. Doi:10.35799/Pmj.V4i2.34766
16. Kadju T, Pare Koj, Sanbein Masl, Et Al. Pemanfaatan Biji Kakao Dalam Pembuatan Olahan Cokelat Di Desa Kotowuji Barat. *J Pengabdian Pada Masyarakat Indones.* 2022;1(5):11-15. Doi:10.55542/Jppmi.V1i5.356

17. Kayaputri Il, Sumanti Dm, Djali M, Indianto R, Dewi Dl. Kajian Fitokimia Ekstrak Kulit Biji Kakao (*Theobroma Cacao* L.). *Chim Nat Acta*. 2020;2(1):83-90. Doi:10.24198/Cna.V2.N1.9140
18. Patil Pp, Khanal P, Patil Vs, Et Al. Effect Of *Theobroma Cacao* L . On The Efficacy And Toxicity Of Doxorubicin In Mice Bearing Ehrlich Ascites Carcinoma. Published Online 2022.
19. 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-W
20. Darmawan Da, Darusman F, Priani Se. Literature Review : Fitosom Sebagai Sistem Penghantaran Senyawa Polifenol Dari Bahan Alam.2019
21. Diyantika D, Mufida Dc, Misnawi. Perubahan Morfologi *Staphylococcus Aureus* Akibat Paparan Ekstrak Etanol Biji Kakao (*Theobroma Cacao*) Secara In Vitro The. *J Agromedicine Med Sci*. 2019;3(1):25-33.
22. Pohan Dj, Kakerissa Ap, Arodes Es. Uji Efektivitas Ekstrak Biji Kakao (*Theobroma Cacao* L.) Sebagai Antibakteri Dalam Berbagai Konsentrasi Pada *Streptococcus Pyogenes*. *Maj Kedokt Uki*. 2021;36(1):8-13. Doi:10.33541/Mk.V36i1.2986
23. Katz Dl, Doughty K, Ali A. Cocoa And Chocolate In Human Health And Disease. 2021;15(10). Doi:10.1089/Ars.2010.3697
24. Novita A, Basri Ahh. Budidaya Tanaman Kakao. Published Online 2023.
25. Life T. *Theobroma Cacao* Review Of The Extraction, Isolation, And Bioassay Of Its Potential Anti-Cancer Compounds. 2023;27(1):21-42.
26. Martono B. Karakteristik Morfologi Dan Kegiatan Plasma Nutfah Tanaman Kakao. *Inov Teknol Bioind Kakao*. Published Online 2019:15-28.
27. Farhanandi Bw, Indah Nk. Karakteristik Morfologi Dan Anatomi

- Tanaman Kakao (*Theobroma Cacao* L.) Yang Tumbuh Pada Ketinggian Berbeda. *Lenterabio Berk Ilm Biol.* 2022;11(2):310-325. Doi:10.26740/Lenterabio.V11n2.P310-325
28. Patil Pp, Patil Vs, Khanal P, Darasaguppe Hr. Network Pharmacology And In Vitro Testing Of *Theobroma Cacao* Extract ' S Antioxidative Activity And Its Effects On Cancer Cell Survival. Published Online 2022;1-24. Doi:10.1371/Journal.Pone.0259757
 29. Joa P, Leonardo M, Maciel F, Bispo S, Lu A. Evaluation Of The Content Of Bioactive Compounds In Cocoa Beans During The Fermentation Process. 2021;58(May):1947-1957. Doi:10.1007/S13197-020-04706-W
 30. Isaías M, Areche C, Vasquez-Espinal A, Jo M. Since January 2020 Elsevier Has Created a cacao In English And Mandarin On The Novel Cacao beans Public News And Information . 2020;(January).
 31. Teliban G Ciprian. Future Antimicrobials : Natural And Functionalized Phenolics. Published Online 2023.
 32. Anggraini W, Nisa Sc, Da Rr, Ma B. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 96 % Buah Blewah (*Cucumis Melo* L . Var . Antibacterial Activity Of 96 % Ethanol Extract Cantaloupe Fruit (*Cucumis Melo* L . Var . *Cantalupensis*) Against *Escherichia Coli* Bacteria. 2019;5(1):61-66.
 33. Shamsudin Nf, Ahmed Qu, Mahmood S, Et Al. Antibacterial Effects Of Flavonoids And Their Structure-Activity Relationship Study : A Comparative Interpretation. 2022;(Cdc).
 34. Yan Y, Li X, Zhang C, Lv L, Gao B, Li M. Research Progress On Antibacterial Activities And Mechanisms Of Natural Alkaloids : A Review. Published Online 2021.
 35. Nurhasanah Esg. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Daun Kirinyuh (*Chromolaena Odorata*) Terhadap Bakteri Mdr (Multi Drug Resistant) Dengan Metode Klt Bioautografi. 2020;6(2):45-52.

36. Saptowo A, Supriningrum R. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Sekilang (Embeliaborneensis Scheff) Terhadap Bakteri Propionibacterium Acnes Dan Staphylococcus Epidermidis. Published Online 2021:93-97.
37. Pingkan W, Kaunang J, Sihombing M. Staphylococcus Aureus. 2022;(December).
38. Hasmukharay K, Ngoi St, Saedon Ni, Et Al. Evaluation Of Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus (Mrsa) Bacteremia : Epidemiology , Clinical Characteristics , And Outcomes In The Older Patients In A Tertiary Teaching Hospital In Malaysia. Published Online 2023:1-11.
39. Algamal Am, Hetta Hf, Elkelish A, Et Al. Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus (Mrsa): One Health Perspective Approach To The Bacterium Epidemiology, Virulence Factors, Antibiotic-Resistance, And Zoonotic Impact. *Infect Drug Resist.* 2020;13:3255-3265. Doi:10.2147/Idr.S272733
40. Mahjabeen F, Saha U, Mostafa Mn, Et Al. An Update On Treatment Options For Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus (Mrsa) Bacteremia: A Systematic Review. *Cureus.* 2022;2022(11):1-9. Doi:10.7759/Cureus.31486
41. Cheung Gyc, Bae Js, Otto M, Et Al. Pathogenicity And Virulence Of Staphylococcus Aureus Pathogenicity And Virulence Of Staphylococcus Aureus Abstract. *Virulence.* 2021;12(1):547-569. Doi:10.1080/21505594.2021.1878688
42. Rybak Mj, Lomaestro Bm, Rotschafer Jc, Et Al. Vancomycin Therapeutic Guidelines: A Summary Of Consensus Recommendations From The Infectious Diseases Society Of America, The American Society Of Health-System Pharmacists, And The Society Of Infectious Diseases Pharmacists. *Clin Infect Dis.* 2009;49(3):325-327. Doi:10.1086/600877
43. Stogios Pj, Savchenko A. Molecular Mechanisms Of Vancomycin

- Resistance. *Protein Sci.* 2020;29(3):654-669. Doi:10.1002/Pro.3819
44. Li G, Walker Mj, De Oliveira Dmp. Vancomycin Resistance In Enterococcus And Staphylococcus Aureus. *Microorganisms.* 2023;11(1). Doi:10.3390/Microorganisms11010024
 45. Nurhayati L, Yahdiyani N Ha. Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt Dengan Metode Difusi Sumuran Dan Metode Difusi Cakram. 2020;1(September):41-46. Doi:10.24198/Jthp.V1i2.27537
 46. Nurul A, Setiawan I, Yusa D, Et Al. Tinjauan Artikel : Uji Mikrobiologi Article Review : Microbiological Test. 2023;12(2):31-36.
 47. Heri Wijaya , Siti Jubaidah R. Indonesian Journal Of Pharmacy And Natural Product. 2022;05:1-11.
 48. Allium L, Ayu G, Saputri R. Perbandingan Metode Maserasi, Perkolasi Dan Ultrasonik Terhadap Aktivitas Antioksidan Kulit Bawang Merah (. 2022;9(3):913-923.
 49. 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.
 50. Hafidhah N, Hakim Rf, Studi P, Et Al. Pengaruh Ekstrak Biji Kakao (Theobroma Cacao L.) Terhadap Pertumbuhan Enterococcus Faecalis Pada Berbagai Konsentrasi. 2017;2(Mei):92-96.
 51. Lestari Hd, Asri Mt. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Kakao (Theobroma Cacao L.) Terhadap Staphylococcus Epidermidis. *Lenterabio Berk Ilm Biol.* 2021;10(3):302-308. Doi:10.26740/Lenterabio.V10n3.P302-308
 52. Ariami P, Igan D, B Ar. Efektifitas Teh Kulit Buah Manggis (Garcinia Mangostana L) Sebagai Antimikroba Terhadap Pertumbuhan Bakteri Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus (Mrsa). *J Teknol Lab.*

2017;3(6):3-8.

53. Rybak Mj, Le J, Lodise Tp, Et Al. Therapeutic Monitoring Of Vancomycin For Serious Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus Infections: A Revised Consensus Guideline And Review By The American Society Of Health-System Pharmacists, The Infectious Diseases Society Of America, The Pediatr. *Am J Heal Pharm.* 2020;77(11):835-863.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Uji Normalitas

Case Processing Summary

		Valid		Cases Missing		Total	
Kelompok		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 (Vankomisin)	4	100.0%	0	0.0%	4	100.0%
	Kontrol Negatif (Aquades)	4	100.0%	0	0.0%	4	100.0%

Descriptives

Kelompok		Statistic		Std. Error
Daya Hambat	Konsentrasi 25%	Mean	7.2875	.85522
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	4.5658
			Upper Bound	10.0092
		5% Trimmed Mean	7.2972	
		Median	7.3750	
		Variance	2.926	
		Std. Deviation	1.71045	
		Minimum	5.35	
		Maximum	9.05	
		Range	3.70	
		Interquartile Range	3.26	
		Skewness	-.173	1.014
		Kurtosis	-3.516	2.619

Konsentrasi 50%	Mean		10.0125	.66595
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	7.8931	
		Upper Bound	12.1319	
	5% Trimmed Mean		10.0250	
	Median		10.1250	
	Variance		1.774	
	Std. Deviation		1.33190	
	Minimum		8.30	
	Maximum		11.50	
	Range		3.20	
	Interquartile Range		2.54	
	Skewness		-.473	1.014
	Kurtosis		.820	2.619
Konsentrasi 75%	Mean		10.8750	.76281
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	8.4474	
		Upper Bound	13.3026	
	5% Trimmed Mean		10.8861	
	Median		10.9750	
	Variance		2.328	
	Std. Deviation		1.52561	
	Minimum		8.95	
	Maximum		12.60	
	Range		3.65	
	Interquartile Range		2.93	
	Skewness		-.359	1.014
	Kurtosis		.432	2.619
Konsentrasi 100%	Mean		13.3125	.95293
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	10.2799	
		Upper Bound	16.3451	
	5% Trimmed Mean		13.2833	
	Median		13.0500	
	Variance		3.632	
	Std. Deviation		1.90586	
	Minimum		11.35	
	Maximum		15.80	
	Range		4.45	
	Interquartile Range		3.64	
	Skewness		.696	1.014
	Kurtosis		.064	2.619

Kontrol Positif (Vankomisin)	Mean		23.0250	.42254
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	21.6803	
		Upper Bound	24.3697	
	5% Trimmed Mean		23.0000	
	Median		22.8000	
	Variance		.714	
	Std. Deviation		.84508	
	Minimum		22.35	
	Maximum		24.15	
	Range		1.80	
	Interquartile Range		1.55	
	Skewness		.969	1.014
	Kurtosis		-.671	2.619
Kontrol Negatif (Aquades)	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	

Tests of Normality							
Kelompok		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Daya Hambat	Konsentrasi 25%	.233	4	.	.937	4	.634
	Konsentrasi 50%	.201	4	.	.986	4	.936
	Konsentrasi 75%	.178	4	.	.993	4	.973
	Konsentrasi 100%	.180	4	.	.974	4	.866
	Kontrol Positif (Vankomisin)	.270	4	.	.876	4	.323

Lampiran 2 : Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Daya Hambat	Based on Mean	.784	4	15	.553
	Based on Median	.730	4	15	.585
	Based on Median and with adjusted df	.730	4	11.673	.589
	Based on trimmed mean	.783	4	15	.553

Lampiran 3 : Uji One Way ANOVA

ANOVA

Daya Hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	586.497	4	146.624	64.458	<,.001
Within Groups	34.121	15	2.275		
Total	620.617	19			

Lampiran 4 : Uji LSD

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Daya Hambat
LSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Konsentrasi 25%	Konsentrasi 50%	-2.72500*	1.06647	.022	-4.9981	-.4519
	Konsentrasi 75%	-3.58750*	1.06647	.004	-5.8606	-1.3144
	Konsentrasi 100%	-6.02500*	1.06647	<.001	-8.2981	-3.7519
	Kontrol Positif (Vankomisin)	-15.73750*	1.06647	<.001	-18.0106	-13.4644
Konsentrasi 50%	Konsentrasi 25%	2.72500*	1.06647	.022	.4519	4.9981
	Konsentrasi 75%	-.86250	1.06647	.431	-3.1356	1.4106
	Konsentrasi 100%	-3.30000*	1.06647	.007	-5.5731	-1.0269
	Kontrol Positif (Vankomisin)	-13.01250*	1.06647	<.001	-15.2856	-10.7394
Konsentrasi 75%	Konsentrasi 25%	3.58750*	1.06647	.004	1.3144	5.8606
	Konsentrasi 50%	.86250	1.06647	.431	-1.4106	3.1356
	Konsentrasi 100%	-2.43750*	1.06647	.037	-4.7106	-.1644
	Kontrol Positif (Vankomisin)	-12.15000*	1.06647	<.001	-14.4231	-9.8769

Konsentrasi 100%	Konsentrasi 25%	6.02500*	1.06647	<,001	3.7519	8.2981
	Konsentrasi 50%	3.30000*	1.06647	.007	1.0269	5.5731
	Konsentrasi 75%	2.43750*	1.06647	.037	.1644	4.7106
	Kontrol Positif (Vankomisin)	-9.71250*	1.06647	<,001	-11.9856	-7.4394
Kontrol Positif (Vankomisin)	Konsentrasi 25%	15.73750*	1.06647	<,001	13.4644	18.0106
	Konsentrasi 50%	13.01250*	1.06647	<,001	10.7394	15.2856
	Konsentrasi 75%	12.15000*	1.06647	<,001	9.8769	14.4231
	Konsentrasi 100%	9.71250*	1.06647	<,001	7.4394	11.9856

Lampiran 5 : Dokumentasi



Pemisahan biji kakao dari kulitnya



Proses pengeringan biji kakao
d



11

Hasil biji kakao yang telah menjadi
serbuk



Pengayakan serbuk biji kakao



Pengentalan ekstrak biji kakao dengan rotatory evaportaor

Hasil ekstrak kental



Pengenceran ekstrak dengan berbagai konsentrasi

Pengujian ekstrak biji kakao terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*



Hasil daya hambat ekstrak biji kakao dan kelompok kontrol terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*

Lampiran 6. Surat Etik Penelitian


UMSU
 Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara

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 : 1272/KEPK/FKUMSU/2024

Protokol penelitian yang diusulkan oleh :
 The Research protocol proposed by

Peneliti Utama : Asty Amanda Br Surbakti
 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 *Staphylococcus aureus* Secara IN VITRO"

"TESTING THE ANTIBACTERIAL EFFECTIVENESS OF COCOA BEAN (*Theobroma cacao*) EXTRACT AGAINST THE GROWTH OF *Staphylococcus aureus* 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 02 September 2024 sampai dengan tanggal 02 September 2025
 The declaration of ethics applies during the periode September 02, 2024 until Septembert 02, 2025

Medan, 02 September 2024
 Ketua

 Assoc. Prof. Dr. dr. Nurfadly, MKT

Lampiran 7. Skrining Fitokimia F



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.271/XIX/SKF/I/USU/2024

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

ASTY AMANDA BR SURBAKTI

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
 NID. 197006111997022001

Lampiran 5. 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 : 3387/MEDA/2024
Lamp : -
Hal : Hasil Identifikasi

Kepada YTH ,

Sdr/i : Asty Amanda Br Surbakti
NPM : 2108260170
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 23 1990 03 2001

Lampiran 7. Daftar Riwayat Diri

DAFTAR RIWAYAT HIDUP

Asty Amanda Br Surbakti¹.,Nurfadly².,Annisa³.,Nelli Murlina

¹Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara

²Departemen Mikrobiologi Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara

Email : astysurbakti@icloud.com

ABSTRAK

Pendahuluan: *Staphylococcus aureus* adalah bakteri gram positif yang menyebabkan berbagai macam penyakit klinis. Infeksi yang disebabkan oleh patogen ini umum terjadi baik di lingkungan masyarakat maupun di rumah sakit. Pengobatan infeksi ini menjadi tantangan karena resistensi antibiotik yang dihasilkan oleh bakteri tersebut. Di sisi lain, biji kakao yang mengandung polifenol, flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin, memiliki potensi sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk menilai efektivitas ekstrak biji kakao sebagai alternatif antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. **Metode:** Penelitian menggunakan *true experimental design* dengan rancangan *post-test only control group design*. Penelitian ini menguji pengaruh ekstrak biji kakao dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* serta 2 kelompok kontrol (kontrol positif menggunakan antibiotik vankomisin dan kontrol negatif menggunakan aquadest). Proses pembuatan ekstrak biji kakao melibatkan maserasi dengan etanol 97%, diikuti dengan penguapan untuk mendapatkan ekstrak kental. Uji antibakteri dilakukan dengan menggunakan cakram antibiotik yang dicelupkan ke dalam ekstrak biji kakao dan pengukuran diameter zona hambat. **Hasil:** Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao*) memiliki aktivitas antibakteri yang bervariasi tergantung pada konsentrasi yang digunakan. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak biji kakao, semakin besar diameter zona hambat yang terbentuk. **Kesimpulan:** Terdapat efek penghambatan ekstrak biji kakao terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* secara in vitro.

Kata kunci : *Staphylococcus aureus*, Biji kakao (*Theobroma cacao*)

ABSTRACT

Background: *Staphylococcus aureus* is a gram-positive bacterium that is the causative agent of a wide variety of clinical diseases. Infections caused by this pathogen are prevalent in both community and hospital. Treatment of these infections is challenging due to the antibiotic resistance produced by these bacteria. On the other hand, cocoa beans, which contain polyphenols, flavonoids, alkaloids, saponins, and tannins, have potential as antibacterials. This study aims to assess the effectiveness of cocoa bean extract as an antibacterial alternative against *Staphylococcus aureus*. **Methodology:** The study used true experimental design with post-test only control group design. This study tested the effect of cocoa bean extract with concentrations of 25%, 50%, 75%, and 100% on the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria as well as 2 control groups (positive control using vancomycin antibiotic and negative control using aquadest). The process of making cocoa bean extract involved maceration with 97% ethanol, followed by evaporation to obtain a thick extract. Antibacterial tests were performed using antibiotic disks dipped in cocoa bean extract and measurement of inhibition zone diameter. **Result:** This study shows that cocoa bean extract (*Theobroma cacao*) has antibacterial activity that varies depending on the concentration used. The higher the concentration of cocoa bean extract, the larger the diameter of the inhibition zone formed. **Conclusion:** There is an inhibitory effect of cocoa bean extract on the growth of *Staphylococcus aureus* in vitro.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, Cocoa beans (*Theobroma cacao*)

PENDAHULUAN

Staphylococcus aureus adalah bakteri gram positif yang menyebabkan berbagai macam penyakit klinis. Infeksi yang disebabkan oleh patogen ini umum terjadi baik di lingkungan masyarakat maupun di rumah sakit. Pengobatan infeksi ini menjadi tantangan karena resistensi antibiotik yang dihasilkan oleh bakteri tersebut. Salah satu penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri tersebut adalah bakteremia. Bakteremia adalah suatu kondisi didalam darah terdapat bakteri yang hidup. Bakteri dibagi menjadi 2 bagian yang dapat menjadi penyebab tersering terjadinya bakteremia. Pertama terdapat bakteri gram positif yaitu *Staphylococcus aureus* dan yang kedua adalah bakteri gram negatif yaitu *Escherichia coli*.¹ Bakteri merupakan organisme prokariota yang merupakan sebagian besar flora normal pada tubuh tanpa menyebabkan infeksi.² Adanya flora normal pada tubuh tidak selalu menghasilkan manfaat, karena dalam situasi tertentu flora normal ini dapat menyebabkan penyakit. Salah satu

contoh flora normal dalam tubuh adalah bakteri *Staphylococcus aureus*. Bakteri *Staphylococcus aureus* dapat ditemukan di permukaan kulit sekitar 20% dan di mukosa hidung sekitar 30% pada orang dewasa yang sehat.^{3,4} Namun apabila *Staphylococcus aureus* tersebut masuk kedalam darah akan menyebabkan penyakit infeksi salah satunya bakteremia yang muncul akibat perawatan dari rumah sakit yang tidak steril. Sumber yang umum pada pasien yang dirawat di rumah sakit meliputi saluran pernapasan dan kateter yang terpasang, khususnya kateter vena sentral. Infeksi saluran kemih yang tidak diobati juga paling sering menyebabkan bakteremia yang didapat dari komunitas.⁵ Pengobatan dari *Staphylococcus aureus* masih menjadi tantangan dikarenakan resistensi antibiotik yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* menghasilkan *Penicilin Binding Protein* (PBP2a) yang dikode oleh gen *mecA* yang memiliki efek yang rendah terhadap metisilin. Biji kakao memiliki nama ilmiah *Theobroma cacao*. Biji kakao sangat banyak digunakan karena

merupakan bahan baku pembuatan coklat. Selain menjadi bahan pembuatan coklat biji kakao memiliki unsur flavonoid serta dapat juga menjadi antiinflamasi karena mengandung unsur polifenol. Pada biji kakao terkandung polifenol, flavonoid, alkaloid, saponin, serta tanin yang memiliki banyak manfaatnya bagi tubuh. Polifenol merupakan bagian dari senyawa yang aktif biologis yang tersebar dalam tanaman dan merupakan fitokimia yang paling umum dengan efek kesehatan yang bermanfaat yang terdiri atas flavonoid, saponin dan tanin.⁶ Polifenol pada antibakteri berguna sebagai sebagai toksin dalam protoplasma, merusak dan menembus dinding sel.⁷ Flavonoid juga diidentifikasi sebagai senyawa polifenol yang dapat memberikan aktivitas antibakteri melalui berbagai mekanisme aksi. Dalam beberapa penelitian, flavonoid dapat menekan sintesis asam nukleat, fungsi membran sitoplasma serta metabolisme energi.⁸ Serta terdapat alkaloid yang merupakan senyawa heterosiklik yang didalamnya terkandung nitrogen, selain itu

didalam struktur inti kimia alkaloid memiliki peran dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel.^{9,10} Selain itu terdapat saponin bekerja dengan cara meningkatkan permeabilitas membran pada sel bakteri sehingga akan hemolisis atau akan dapat menyebabkan bakteri pecah atau lisis. Serta pada tanin, unsur tersebut bekerja dengan cara menargetkan pada dinding polipeptida pada dinding sel bakteri sehingga terjadinya pembentukan pada dinding sel akan menjadi kurang sempurna dan kemudian sel pada bakteri akan mati.¹¹ Berdasarkan latar belakang ini penggunaan antibiotik dalam jangka panjang serta penggunaan yang tidak rasional dapat menyebabkan resistensi serta biji kakao (*Theobroma cacao*) mempunyai kandungan sebagai antibakteri, kemungkinan dapat menggantikan antibiotik sehingga saya tertarik untuk meneliti efektivitas ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao*) sebagai

antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*.

METODE PENELITIAN

Metode penelitian yang digunakan adalah *true experimental design* (rancangan penelitian eksperimen sungguhan) dengan memakai rancangan penelitian *post test only control group design* yang dimana peneliti hanya melihat hasil setelah diberikan perlakuan ataupun intervensi. Penelitian *experimental* dilakukan dengan suatu perlakuan, yaitu pemberian ekstrak biji kakao konsentrasi 25%, 50 %, 75%, dan 100% yang kemudian liat pengaruhnya terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Setelah itu akan diobservasi dan dilakukan pengukuran pada kelompok perlakuan setelah menerima intervensi yang dimana terdiri dari 6 kelompok, yakni 4 kelompok perlakuan dan 2 kelompok kontrol yaitu kontrol positif yang menggunakan cakram disk antibiotik vankomisin serta kontrol negatif dengan aquadest. Kelompok perlakuan adalah P1,P2,P3, dan P4 yang masing masing adalah ekstrak

biji kakao dengan konsentrasi 25%, 50 %, 75%, dan 100%. Penelitian ini dilakukan pada bulan Agustus hingga Oktober 2024. Pada pembuatan ekstrak biji kakao dilaksanakan di Laboratorium Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara. Identifikasi jenis bakteri *Staphylococcus aureus*, dan pengujian zat antibakteri biji kakao dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara serta Laboratorium FMIPA Universitas Sumatera Utara. Proses pembuatan ekstrak biji kakao awalnya menyiapkan biji kakao sebanyak 1,5 kg. Biji kakao tersebut dicuci hingga kering dan dibuang pulp nya serta dikeringkan dengan menggunakan oven selama 2 hari dengan suhu 60 derajat celcius. Setelah itu dihaluskan dengan menggunakan grinder ataupun blender hingga halus lalu disaring hingga menjadi serbuk (*simplisia*). Serbuk biji kakao selanjutnya akan dimaserasi dengan cara merendam dengan menggunakan etanol 97% sebagai pelarut sebanyak 1,3 L dengan 3 hari lamanya diselingi

dilakukannya pengadukan setiap hari. Setelah itu, saring biji kakao yang telah dimaserasi untuk memperoleh ekstrak cair biji kakao. Selanjutnya ekstrak cair tersebut di evaporasi dengan menggunakan *rotatory evaporator* sampai menjadi ekstrak kental 20 mL. Tahapan perlakuan uji antibakteri dimana tersedia 16 sampel dan 4 sampel cadangan cawan petri yang telah mengandung *Staphylococcus aureus*. Didalam cawan petri sebelumnya telah diletakkan bahan *Muller Hilton Agar (MHA)* yang fungsinya sebagai media pembiakan bakteri. Kemudian, dengan menggunakan ose ambil sedikit koloni *Staphylococcus aureus* dan campurkan dengan NaCl sebanyak 1 mL dengan kekeruhan dibandingkan dengan *Mc Farland*. Setelah itu semai bakteri tersebut ke dalam cawan petri yang telah terisi *Muller Hilton Agar (MHA)* tadi dan letakkan masing masing 1 buah kertas cakram yang sebelumnya sudah dicelupkan kedalam ekstrak yang telah dicampurkan dengan DMSO (*Dimetil Sulfoksida*) dengan konsentrasi 25%, 50 %, 75%, dan 100%. Sedangkan untuk vankomisin

digunakan cakram disk antibiotik. Kemudian seluruh media diinkubasi ddialam inkubator dengan suhu 37 derajat celcius dalam kurun waktu 24 jam. Pada tahap akhir yaitu melakukan perhitungan terhadap diameter dari zona hambat dengan menggunakan alat jangka sorong automatic (dalam hitungan mm).

JUMLAH PENGULANGAN

Jumlah seluruh sampel pada penelitian ini adalah 16 sampel yang terdiri dari 4 kelompok perlakuan dan dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali. Kelompok perlakuan yaitu 4 kelompok dengan konsentrasi 25%, 50 %, 75%, dan 100%. Serta menggunakan kelompok kontrol positif (disk cakram antibiotik vankomisin) dan kelompok kontrol negatif (aquades)

ANALISIS DATA

Pada penelitian ini menggunakan uji parametrik yang sebelumnya sudah terkonfirmasi distribusi normal. Dilakukannya uji normalitas dengan Shapiro-Wilk agar melihat data pada penelitian berdistribusi normal atau tidak. Apabila data sudah terkonfirmasi

normal selanjutnya akan dilakukan uji *One-Way ANOVA* untuk mengetahui terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok yang sedang diuji. Setelah itu akan dilanjutkan dengan uji *Post-Hoc LSD* agar mengetahui yang mana kelompok yang memiliki perbedaan yang signifikan. Jika data tidak terdistribusi normal, uji parametrik tidak dapat dilakukan dengan menggunakan uji non parametrik Kruskal-Wallis untuk mengetahui perbedaan signifikan antarkelompok serta dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney untuk mengetahui kelompok yang memiliki perbedaan yang signifikan dari setiap konsentrasi ekstrak biji kakao.

HASIL PENELITIAN

Pada hasil dari penelitian kali ini, diperoleh dari zona jernih (mm) pada ekstrak biji kakao serta diukur menggunakan jangka sorong automatic. Diameter dari zona jernih ekstrak biji kakao dan kelompok kontrol terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan beberapa konsentrasi (dalam satuan mm)

Daya Hambat Ekstrak Biji Kakao (*Theobroma Cacao*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan Efektivitas Biji Kakao terhadap *Staphylococcus aureus*

Kelompok	Pengulangan				Rata-rata
	1	2	3	4	
25%	8,35	9,05	6,40	5,35	7,29
50%	8,3	9,85	10,4	11,5	10,01
75%	8,95	12,6	10,95	10,6	10,88
100%	12,45	13,65	11,35	15,80	13,31
Kontrol (+)	22,35	24,15	23,21	22,40	23,02
Kontrol (-)	0	0	0	0	0

Hasil pada pemberian beberapa konsentrasi ekstrak biji kakao memperlihatkan perbedaan dari zona jernih yang didapatkan. Konsentrasi 25% ekstrak biji di pengulangan ke 2 adalah yang paling tinggi dengan nilai 9,05 mm. Konsentrasi 50% didapatkan zona yang jernih paling tinggi di pengulangan ke 4 dengan nilai 11,5 mm. Konsentrasi 75% didapatkan zona jernih yang paling tinggi di pengulangan ke 2 dengan nilai 12,6 mm. Sedangkan konsentrasi 100% didapatkan zona jernih yang paling tinggi di pengulangan ke 2 dengan nilai 13,65 mm. Kelompok yang kontrol positif yakni dengan memakai vankomisin di pengulangan ke 2 didapatkan zona jernih yang paling tinggi dengan nilai 24,15 mm sedangkan kelompok

kontrol negatif dengan aquadest tidak didapatkan zona jernih.

PEMBAHASAN

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Dame J Pohan dengan judul uji efektivitas ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao*) sebagai antibakteri pada *Streptococcus pyogens* yang dimana paling efektif memberikan efek antibakteri adalah konsentrasi 100%.¹² Selain itu pada sebelumnya yang dilakukan oleh Dafista Diyantika mengenai perubahan morfologi *Staphylococcus aureus* akibat paparan ekstrak etanol biji kakao menyebutkan ekstrak etanol biji kakao pada konsentrasi 15,6 mg/ml dapat menyebabkan terjadinya perubahan morfologi pada *Staphylococcus aureus*.¹² Berdasarkan penelitian lainnya yang dilakukan oleh Helda Dwiya Lestari dengan judul aktivitas antibakteri ekstrak biji kakao terhadap *Staphylococcus epidermidis* menyebutkan bahwa konsentrasi yang terbaik adalah konsentrasi 100% dan semakin besar konsentrasi, maka semakin baik efek yang diberikannya.¹³ Jika dibandingkan dengan penelitian kali ini

efek daya hambat yang paling kuat yaitu pada konsentrasi 100%.

KESIMPULAN

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

1. Terdapat aktivitas antibakteri ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100%
2. Konsentrasi 100% dari ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao*) menghasilkan zona hambat yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

SARAN

Setelah dilakukan penelitian tentang uji efektivitas ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* secara in vitro, maka peneliti memberikan beberapa saran sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek antibiotik

ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao*) dengan menggunakan metode jenis lainnya seperti in vivo.

2. Dilakukan penelitian lanjutan ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dari sumber infeksi yang berbeda.
3. Penelitian ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao*) ini perlu diperluas lagi dengan menguji ke mikroorganisme seperti jamur, virus dan parasite.

DAFTAR PUSTAKA

1. Premandari Igaaws, Abadi Mf, Arwidiana Dp. Bakteri Penyebab Bakteremia Dan Pola Resistensi Terhadap Antibiotik Pada Kultur Darah. *J Insa Cendekia*. 2023;10(3):189-200.
Doi:10.35874/Jic.V10i3.1239
2. Doron, S; Gorbach S. Bacterial Infections : Overview. *Bacteriol Amsterdam, Amsterdam, Netherlands*. 2020;3(January).
3. Hanina H, Humaryanto H, Gading Pw, Aurora Wid, Harahap H. Peningkatan Pengetahuan Siswa Pondok Pesantren Nurul Iman Tentang Infeksi *Staphylococcus Aureus* Di Kulit Dengan Metode Penyuluhan. *Med Dedication J Pengabdi Kpd Masy Fkik Unja*. 2022;5(2):426-430.
Doi:10.22437/Medicaldedication.V5i2.21000
4. Suyasa Ibo. Gambaran Methicillin Resistant *Staphylococcus Aureus* (Mrsa) Pada Petugas Kesehatan Rsud Wangaya Kota Denpasar. *Meditory J Med Lab*. 2020;8(1):46-52.
Doi:10.33992/M.V8i1.1074
5. Lam Jc, Stokes W. The Golden Grapes Of Wrath – *Staphylococcus Aureus* Bacteremia: A Clinical Review. *Am J Med*. 2023;136(1):19-26.
Doi:10.1016/J.Amjmed.2022.09.017
6. Teliban G Ciprian. Future Antimicrobials : Natural And Functionalized Phenolics. Published Online 2023.
7. Anggraini W, Nisa Sc, Da Rr, Ma B. Aktivitas Antibakteri Ekstrak

- Etanol 96 % Buah Blewah (*Cucumis Melo L . Var .* Antibacterial Activity Of 96 % Ethanol Extract Cantaloupe Fruit (*Cucumis Melo L . Var . Cantalupensis*) Against *Escherichia Coli* Bacteria. 2019;5(1):61-66.
8. Shamsudin Nf, Ahmed Qu, Mahmood S, Et Al. Antibacterial Effects Of Flavonoids And Their Structure-Activity Relationship Study : A Comparative Interpretation. 2022;(Cdc).
 9. Yan Y, Li X, Zhang C, Lv L, Gao B, Li M. Research Progress On Antibacterial Activities And Mechanisms Of Natural Alkaloids : A Review. Published Online 2021.
 10. Nurhasanah Esg. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Daun Kirinyuh (*Chromolaena Odorata*) Terhadap Bakteri Mdr (Multi Drug Resistant) Dengan Metode Klt Bioautografi. 2020;6(2):45-52.
 11. Saptowo A, Supriningrum R. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Sekilang (*Embeliaborneensis Scheff*) Terhadap Bakteri *Propionibacterium Acnes* Dan *Staphylococcus Epidermidis*. Published Online 2021:93-97.
 12. Pohan Dj, Kakerissa Ap, Arodes Es. Uji Efektivitas Ekstrak Biji Kakao (*Theobroma Cacao L.*) Sebagai Antibakteri Dalam Berbagai Konsentrasi Pada *Streptococcus Pyogenes*. *Maj Kedokt Uki*. 2021;36(1):8-13.
Doi:10.33541/Mk.V36i1.2986
 13. Lestari Hd, Asri Mt. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma Cacao L.*) Terhadap *Staphylococcus Epidermidis*. *Lenterabio Berk Ilm Biol*. 2021;10(3):302-308.
Doi:10.26740/Lenterabio.V10n3.P302-308