

EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK BIJI COKELAT
(*Theobroma cacao* L.) DALAM MENGHAMBAT
PERTUMBUHAN BAKTERI
Shigella dysenteriae

SKRIPSI



UMSU

Unggul | Cerdas | Terpercaya

Oleh:

VITO RICARDO

(2108260171)

FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA
MEDAN

2025

EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK BIJI COKELAT
(*Theobroma cacao* L.) DALAM MENGHAMBAT
PERTUMBUHAN BAKTERI
Shigella dysenteriae

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



Oleh:

VITO RICARDO

(2108260171)

FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA
MEDAN
2025

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

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

Nama : Vito Ricardo

NPM : 2108260171

Judul Skripsi: EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK BIJI COKELAT (*Theobroma cacao* L.) DALAM MENGHAMBAT PERTUMBUHAN BAKTERI *Shigella dysenteriae*

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

Medan,



(Vito Ricardo)



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 : Vito Ricardo
NPM : 2108260171
Judul : EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK BIJI COKELAT
(*Theobroma cacao* L.) DALAM MENGHAMBAT PERTUMBUHAN
BAKTERI *Shigella dysenteriae*

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. Tegar Adriansyah Putra Siregar, M.Biomed, Ph.D)

Penguji 2

(dr. Annisa, MKT)

Mengetahui,



(dr. Siti Masriana 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 : 23 Januari 2025

KATA PENGHANTAR

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

- 1) dr. Siti Masliana Siregar, Sp. THT-KL(K), Subsp. Rino (K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran.
- 2) dr. Desi Isnayanti, M.Pd. Ked selaku Ketua Program Studi Pendidikan Dokter.
- 3) Assoc. Prof. Dr. dr. Nurfadly, MKT selaku dosen pembimbing saya yang telah menyediakan waktu dan pikiran dalam membimbing dan mengarahkan saya dalam proses penyusunan skripsi ini.
- 4) dr. Tegar Adriansyah Putra Siregar, M.Biomed, Ph.D selaku dosen penguji pertama saya yang telah menyediakan waktu dan pikiran dalam membimbing dan mengarahkan saya dalam proses penyusunan skripsi ini.
- 5) dr. Annisa, MKT selaku dosen penguji kedua saya yang telah menyediakan waktu dan pikiran dalam membimbing dan mengarahkan saya dalam proses penyusunan skripsi ini.
- 6) Seluruh staf pengajar di Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara yang telah membagi ilmunya kepada penulis, semoga ilmu yang diberikan menjadi ilmu yang bermanfaat hingga akhir hayat kelak.
- 7) Ayahanda Feriyadi, SE dan ibunda ibu Megawati yang telah memberikan dukungan material dan moral.
- 8) Kakakku villna chintya putri yang turut memberikan semangat pada saat pengerjaan skripsi dan seluruh keluarga besar yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu.

- 9) Sahabat saya Amanda Nabila Putri, Sabian Bintang Ramadhan, M. Fauzan Alfatin Herian, Aldo anugerah, M. Dian Islami, dan teman-teman sejawat angkatan 2021 yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah memberi dukungan dan semangat sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini.

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 SWT berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga skripsi ini membawa manfaat bagi pengembangan ilmu.

Medan, 22 desember 2024

Penulis,

Vito Ricardo

**PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI SKRIPSI UNTUK
KEPENTINGAN AKADEMIS**

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

Nama : Vito Ricardo

NPM : 2108260171

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 :

“Efektivitas Antibakteri Ekstrak Biji Cokelat (*Theobroma cacao* L.) Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Shigella dysenteriae*” 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 : 22 desember 2024

Yang menyatakan

(Vito Ricardo)

ABSTRAK

Pendahuluan: *Shigella dysenteriae* merupakan bakteri penyebab penyakit disentri basiler. Biji cokelat dapat menjadi salah satu pilihan terapi alternatif untuk kasus disentri yang kaya akan senyawa polifenol, termasuk katekin, leukosianidin dan, antosianin. Tujuan penelitian ini untuk membuktikan aktivitas antibakteri ekstrak biji cokelat (*Theobroma cacao* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*. **Metode:** Penelitian ini menggunakan metode *true experimental design*. Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Teknik yang digunakan untuk mengukur aktivitas antibakteri adalah metode difusi cakram dengan mengukur zona jernih dengan konsentrasi 30%, 60%, dan 100% dan mengetahui konsentrasi yang paling efektif terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*. **Hasil:** Ekstrak biji cokelat (*Theobroma cacao* L.) pada pada konsentrasi 30%, 60%, dan 100%, K (+) yaitu Ciprofloksasin dan K (-) yaitu aquades diperoleh nilai ($p=0,000$) yang berarti terdapat perbedaan daya pada setiap kelompok. Konsentrasi 100% dari ekstrak biji cokelat paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* dibandingkan dengan konsentrasi 30% dan 60%. **Kesimpulan:** terdapat aktivitas antibakteri ekstrak biji cokelat (*Theobroma cacao* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*.

Kata kunci: Biji cokelat, *Theobroma cacao* L, *Shigella dysenteriae*

ABSTRACT

Introduction: *Shigella dysenteriae* is the bacterium that causes bacillary dysentery. Cacao seeds can be one of the alternative therapeutic options for dysentery cases that are rich in polyphenolic compounds, including catechins, leucocyanidins and anthocyanins. The aim of this study was to prove the antibacterial activity of cacao seed extract (*Theobroma cacao* L.) against the growth of *Shigella dysenteriae* bacteria. **Methods:** This study used the true experimental design method. Extraction was done by maceration using 96% ethanol solvent. The technique used to measure antibacterial activity is the disc diffusion method by measuring the clear zone with a concentration of 30%, 60%, and 100% and knowing the most effective concentration against the growth of *Shigella dysenteriae* bacteria. **Results:** Cacao seed extract (*Theobroma cacao* L.) at concentrations of 30%, 60%, and 100%, K (+) which is Ciprofloxacin and K (-) which is aquadest obtained a value ($p = 0.000$) which means there is a difference in power in each group. The 100% concentration of cacao seed extract was most effective in inhibiting the growth of *Shigella dysenteriae* bacteria compared to the 30% and 60% concentrations. **Conclusion:** there is antibacterial activity of cacao seed extract (*Theobroma cacao* L.) against the growth of *Shigella dysenteriae* bacteria.

Keywords: Cocoa seed, *Theobroma cacao* L, *Shigella dysenteriae*

DAFTAR ISI

Halaman

KATA PENGHANTAR.....	iv
ABSTRAK	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	2
1.3.1 Tujuan umum	2
1.3.2 Tujuan Khusus.....	2
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tanaman Cokelat (<i>Theobroma cacao</i> L.)	4
2.1.1 Klasifikasi Tanaman Cokelat	4
2.1.2 Kandungan Senyawa Biji Cokelat	5
2.1.3 Aktivitas Antibakteri Biji Cokelat.....	7
2.2 <i>Shigella dysenteriae</i>	8
2.2.1 Taksonomi <i>Shigella dysenteriae</i>	8
2.2.2 Morfologi	8
2.2.3 Patogenesitas	9
2.2.4 Manifestasi Klinis Infeksi <i>Shigella dysenteriae</i>	10
2.3 Kerangka Teori	12
2.4 Kerangka Konsep	13
2.5 Hipotesis	13
BAB 3 METODE PENELITIAN	14
3.1 Definisi Operasional.....	14
3.2 Jenis Penelitian	15

3.3	Waktu dan Tempat Penelitian	15
3.4	Sampel Penelitian	15
3.5	Teknik Pengumpulan Data	17
3.6	Alat dan Bahan	17
3.6.1	Alat.....	17
3.6.2	Bahan.....	17
3.7	Cara Kerja.....	17
3.7.1	Preparasi Sampel, Esktraksi, dan Maserasi.....	17
3.7.2	Uji Fitokimia	18
3.7.3	Pengenceran Ekstrak	19
3.7.4	Pembuatan Media <i>Muller Hinton Agar</i>	19
3.7.5	Peremajaan Bakteri	20
3.7.6	Pembuatan Larutan <i>McFarland</i>	20
3.7.7	Pembuatan Suspensi Bakteri	20
3.7.8	Uji Aktivitas Antibakteri	20
3.8	Pengolahan Data dan Analisis Data.....	21
3.8.1	Pengolahan Data.....	21
3.8.2	Analisis Data	22
3.9	Alur penelitian	23
BAB 4	HASIL DAN PEMBAHASAN	24
4.1	Hasil Penelitian.....	24
4.1.1	Skrining Fitokimia Ekstrak Biji Cokelat (<i>Theobroma cacao</i> L.).....	24
4.1.2	Zona Hambat Ekstrak Biji Cokelat Terhadap Bakteri <i>Shigella dysenteriae</i> dan Efektivitas Biji Cokelat Terhadap <i>Shigella dysenteria</i>	25
4.2	Pembahasan	28
BAB 5	KESIMPULAN DAN SARAN	32
5.1	Kesimpulan.....	32
5.2	Saran	32
	DAFTAR PUSTAKA.....	34
	LAMPIRAN.....	38

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2. 1 Tanaman Cokelat (<i>Theobroma cacao</i> L.).....	4
Gambar 2. 2 Bakteri <i>Shigella dysenteriae</i>	9
Gambar 4. 1 Hasil pengukuran zona hambat bakteri <i>Shigella dysenteriae</i>	26

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 3. 1 Defenisi Operasional	14
Tabel 3. 2 Kelompok perlakuan	16
Tabel 3. 3 Volume ekstrak biji cokelat yang dibutuhkan penelitian.....	19
Tabel 3. 4 Volume kontrol yang dibutuhkan pada penelitian ^{19,20}	19
Tabel 4.1 Hasil skrining fitokimia ekstrak biji cokelat (<i>Theobroma cacao</i> L.)	24
Tabel 4.2 Hasil pengukuran zona hambat ekstrak biji cokelat terhadap bakteri <i>Shigella dysenteriae</i>	25
Tabel 4.3 Hasil Uji Normalitas zona hambat pertumbuhan terhadap bakteri <i>Shigella dysenteriae</i>	26
Tabel 4.4 Hasil Uji Homogenitas zona hambat pertumbuhan terhadap bakteri <i>Shigella dysenteriae</i>	26
Tabel 4.5 Perbedaan diameter zona hambat pertumbuhan bakteri <i>Shigella dysenteriae</i>	27
Tabel 4. 6 Perbedaan zona Hambat pertumbuhan bakteri <i>Shigella dysenteriae</i> antar kelompok.....	27

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil Analisis	38
Lampiran 2. Dokumentasi	44
Lampiran 3. Surat Etik Penelitian	46
Lampiran 4. Identifikasi Tumbuhan	46
Lampiran 5. Skrining Fitokimia Ekstrak Biji Cokelat	46

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Shigella adalah kelompok bakteri patogen yang menjadi penyebab utama penyakit disentri basiler.¹ Setiap tahun, infeksi *Shigella* tercatat mencapai 165 juta kasus, yang berkontribusi pada tingginya beban penyakit dan angka kematian. Di wilayah dengan tingkat kesehatan yang belum optimal, diperkirakan sekitar 1,1 juta kematian terjadi akibat infeksi ini, dengan sekitar 69% di antaranya menyerang anak-anak berusia di bawah lima tahun.² Pada tahun 2022, 30 negara EU (*European Union*) / EEA (*European Economic Area*) melaporkan 4.149 kasus infeksi *Shigella* yang terkonfirmasi. Tingkat pelaporan EU/EEA terhadap kasus infeksi *Shigella* pada tahun 2022 tercatat sebesar 1,5 per 100.000 penduduk.³ Di Indonesia, angka kematian balita akibat disentri dilaporkan sekitar 2,8 juta per tahun. Prevalensi disentri bervariasi di setiap daerah, dengan perkiraan 10% dari populasi dunia dapat terinfeksi penyakit ini. Meskipun jarang terjadi, disentri dilaporkan pada 5% dari 3.848 penderita disentri berat yang menderita disentri basiler. Faktor-faktor seperti iklim, letak geografis, dan demografi berperan dalam penyebaran penyakit ini.⁴

Pengobatan utama terhadap infeksi *Shigella dysenteriae* adalah dengan pemberian antibiotik.⁵ Pedoman WHO 2016 untuk pengobatan infeksi *Shigella dysenteriae* merekomendasikan Ciprofloxacin sebagai terapi utama.⁶ Pivmecillinam dan ceftriaxone efektif untuk strain *Shigella* yang resisten, namun mahal dan rumit dalam penggunaan. Kotrimoksazol dan metronidazole juga digunakan, meski metronidazole memiliki efek samping serius dan kurang efektif.⁷ Setiap tahun, resistensi antimikroba menyebabkan sekitar 700.000 kematian di seluruh dunia. Angka ini diperkirakan akan meningkat drastis menjadi 10 juta kematian per tahun pada 2050.⁸

Biji cokelat (*Theobroma cacao* L.) merupakan tanaman yang berpotensi sebagai terapi alternatif untuk kasus disentri. Biji cokelat kaya akan senyawa polifenol, termasuk katekin (33-42%), leukosianidin (23-25%), dan antosianin

(5%). Katekin telah terbukti memiliki aktivitas protektif seluler dan antimikroba yang berperan dalam mendukung kesehatan tubuh.⁹ Katekin telah terbukti menunjukkan aktivitas bakterisidal yang signifikan terhadap berbagai patogen bakteri, termasuk di antaranya strain-strain yang telah mengembangkan resistensi terhadap berbagai kelas antibiotik. Selain itu, molekul-molekul ini terbukti menghambat aktivitas faktor virulensi, khususnya racun, sehingga mengurangi patogenisitas bakteri tertentu.¹⁰

Penelitian sebelumnya melaporkan ekstrak biji cokelat (*Theobroma cacao* L.) mampu menghambat pertumbuhan *Enterococcus faecalis* secara signifikan pada rentang konsentrasi 6,25% hingga 100%.¹¹ Selanjutnya penelitian lain juga melaporkan bahwa fermentasi buah cokelat merah (*Theobroma cacao* L. *varietas criollo*) menunjukkan aktivitas antibakteri paling tinggi terhadap *Shigella dysenteriae*.¹² Oleh karena itu, peneliti tertarik melakukan penelitian tentang efektivitas ekstrak biji cokelat (*Theobroma cacao* L.) sebagai antibakteri dalam menghambat pertumbuhan *Shigella dysenteriae* melalui studi *in vitro*.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah apakah terdapat efektivitas ekstrak biji cokelat (*Theobroma cacao* L.) sebagai antibakteri dalam menghambat pertumbuhan *Shigella dysenteriae*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Tujuan umum pada penelitian ini adalah mengetahui efektivitas ekstrak biji cokelat (*Theobroma cacao* L.) sebagai antibakteri dalam menghambat pertumbuhan *Shigella dysenteriae*.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui diameter Zona hambat ekstrak biji biji cokelat (*Theobroma cacao* L.) dengan konsentrasi konsentrasi 30%, 60%, dan 100%.

2. Mengetahui konsentrasi ekstrak biji coklat (*Theobroma cacao* L.) yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah :

1. Diharapkan penelitian ini dapat memberikan pemahaman yang lebih komprehensif kepada pembaca mengenai potensi biji kakao (*Theobroma cacao* L.) sebagai agen antibakteri, khususnya terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*..
2. Hasil penelitian ini berpotensi untuk memperkaya wawasan peneliti dalam konteks penulisan karya tulis ilmiah, serta memberikan kontribusi signifikan terhadap pemahaman ilmiah mengenai potensi ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao* L.) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*..
3. Menjadi kontribusi yang holistik bagi institusi serta sumber literatur dalam melaksanakan penelitian lanjutan..

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Cokelat (*Theobroma cacao* L.)

2.1.1 Klasifikasi Tanaman Cokelat

Tanaman cokelat (*Theobroma cacao* L.) dalam taksonomi tumbuhan memiliki klasifikasi sebagai berikut:¹³

Kerajaan	: Plantae
Ordo	: Malvales
Famili	: Malvaceace
Subfamili	: Sterculioideae
Genus	: <i>Theobroma</i>
Spesies	: <i>T. cacao</i>

Theobroma cacao merupakan satu-satunya spesies dalam genus *Theobroma* yang telah berhasil dikembangkan secara komersial dan menjadi spesies yang paling dominan dan berperan penting dalam industri global, khususnya dalam sektor agrikultur dan perdagangan kakao.¹⁴



Gambar 2. 1 Tanaman Cokelat (*Theobroma cacao* L.)

2.1.2 Kandungan Senyawa Biji Cokelat

1. Polifenol

a. Flavonoid

1) *Flavan-3-ols* dan Derivatifnya

Flavanol atau *Flavan-3-ols* dan derivatifnya adalah polifenol cokelat yang paling melimpah.¹⁵ *Epicatechin* merupakan monomer *flavan-3-ols* utama dalam biji cokelat (35%), sedangkan flavanol lain seperti *catechin*, *gallocatechin*, dan *epigallocatechin* terdapat dalam jumlah lebih kecil.¹⁶

2) *Anthocyanin*

Anthocyanin memberi warna biji cokelat. Total kandungan *anthocyanin* dalam biji cokelat bisa mencapai 4% dari total polifenol. Warna ungu gelap pada biji cokelat Forastero terkait dengan konsentrasi *anthocyanin* yang tinggi. *Cyanidin-3-galactoside* dan *cyanidin 3-arabinoside* adalah *anthocyanin* utama dalam biji cokelat.¹⁵

3) Flavonol

Flavanol dalam biji cokelat sebagian besar dalam bentuk flavonol glikosida.¹⁷ Flavonol berbasis *quercetin* seperti *quercetin-3-O-hexoside* (*hyperoside* dan *isoquercitrin*) dan *quercetin-3-O-arabinoside* adalah flavonol glikosida yang paling banyak ditemukan dalam biji cokelat. Flavonol lainnya seperti *kaempferol-3-O-hexoside* (dengan moiety glukosa dan *neohesperoside*) dan *kaempferol-3-O-rutinoside* juga ditemukan dalam biji cokelat.¹⁵

4) Flavon

Flavon dalam biji cokelat dapat ditemukan sebagai *apigenin* dan *luteolin* dalam bentuk aglikon atau glikosilasi (*apigenin-8-C-*

glukosida, apigenin-6-C-glukosida, luteolin-7-O-glukosida, luteolin-6-C-glukosida, luteolin-8-C-glukosida).¹⁶

5) Flavanon

Flavanon glikosida dengan moiety rhamnosid dan glukosa ditemukan dalam biji cokelat yang belum difermentasi dan telah difermentasi.¹⁵ Flavanon seperti naringenin dan naringenin-7-O-glukosida juga ditemukan.¹⁶

b. Asam Fenolik dan Derivatifnya

Asam fenolik dalam cokelat meliputi *hydroxybenzoic acids*, *hydroxycinnamic acids*, dan derivatif terkonjugasi asam amino (*N-phenylpropenoyl-L-amino acids*). Dalam biji cokelat, asam *hydroxybenzoic* dan *hydroxycinnamic* termasuk *gallic acid*, *protocatechuic acid*, *chlorogenic acid*, *ferulic acid*, *caffeic acid*, dan *coumaric acid*. Derivatif asam amino berbasis *caffeoyl*, *feruloyl*, dan *p-coumaroyl* adalah *N-phenylpropenoyl acids* (NPA) yang sering terdeteksi dalam biji cokelat.¹⁵

2. Metilxantin

Biji cokelat mengandung metilxantin, yaitu senyawa turunan xantin dan termasuk dalam golongan senyawa alkaloid. Biji cokelat mengandung alkaloid purin utama seperti teobromin (3,7-dimethylxanthine) dan kafein (1,3,7-trimethylxanthine), yang memberikan rasa pahit dan sepat pada cokelat dan produk olahannya. teobromin mendominasi dalam biji cokelat mentah, dengan kadar hampir 2,7% di almond dan 0,7% di cangkang, sedangkan kafein mencapai hampir 0,8% di almond dan 0,6% di cangkang. teofilin (1,3-dimethylxanthine) ada dalam jumlah kecil. Ketiga senyawa ini tersimpan dalam sel yang sama dengan polifenol, ditandai oleh vakuola tunggal yang besar.¹⁶

Kadar metilxantin dalam cokelat dipengaruhi oleh faktor genetik, geografis, dan tingkat kematangan. Varietas Forastero dan Trinitario

memiliki kadar teobromin yang mirip (sekitar 1%) namun kadar kafein berbeda (masing-masing 0,15% dan 0,30%). Varietas riollo mengandung teobromin lebih rendah (0,77%) dan kafein lebih tinggi (0,53%).¹⁶

3. Volatil

Senyawa volatil berperan penting dalam aroma dan rasa produk coklat. Senyawa volatil coklat terutama terdiri dari *carboxylic acids*, *alcohols*, *aldehydes*, *esters*, *ketones*, *ethers*, *hydrocarbons*, dan *pyrazines*. Senyawa volatil ini sudah ada secara alami dalam biji coklat dan berkembang selama proses pengolahan biji coklat. Selama fermentasi, senyawa volatil dapat dihasilkan melalui aktivitas mikroba dan biokimia, sedangkan selama pengeringan dan pemanggangan, senyawa ini terbentuk dari reaksi Maillard. Pulpa biji coklat mengandung banyak *alcohols*, *esters*, *ketones*, dan *terpenes*. Pada biji coklat yang belum difermentasi, senyawa volatil utama adalah *alcohols*, sedangkan pada biji coklat yang sudah difermentasi, *carboxylic acids*, *alcohols*, *esters*, dan *ketones* lebih dominan.¹⁵

2.1.3 Aktivitas Antibakteri Biji Coklat

Biji coklat mengandung senyawa polifenol, termasuk katekin dan antosianin, yang berfungsi sebagai antibakteri. Polifenol telah terbukti menunjukkan aktivitas antibakteri yang luas terhadap berbagai jenis bakteri patogen, serta memiliki efek antimikotik yang efektif dalam menghambat pertumbuhan sejumlah spesies jamur.¹⁸ Polifenol menghambat pembentukan biofilm bakteri melalui berbagai mekanisme yang kompleks. Salah satu cara utama adalah dengan mengurangi motilitas bakteri dan adhesi pada permukaan substrat yang menghambat kemampuan bakteri untuk menempel dan membentuk biofilm. Selain itu, polifenol dapat mengganggu deteksi oleh sistem sensor bakteri dan menghambat ekspresi faktor virulensi yang berkontribusi pada perilaku patogenik.¹⁹

Polifenol berinteraksi dengan membran sel bakteri dan mempengaruhi fosfolipid atau lapisan ganda lipid pada membran tersebut. Interaksi ini mengubah

fluiditas membran, meningkatkan permeabilitas, dan mengganggu sistem transportasi ion, yang berdampak pada keseimbangan sel. Polifenol juga dapat berikatan dengan protein bakteri secara non-kovalen maupun kovalen, mempengaruhi aktivitas antibakteri melalui denaturasi protein menjadi kompleks yang larut atau tidak larut. Polifenol dapat berikatan dengan protein seperti enzim, adhesin, dan protein transportasi membran. Dengan mengganggu fungsi-fungsi dari protein-protein ini, polifenol efektif dalam menghambat aktivitas bakteri dan menunjukkan potensi antibakteri yang signifikan.¹⁹

Metilxantin, seperti kafein dan teobromin, juga berperan dengan menghambat mekanisme perbaikan eksisi pada DNA bakteri. Senyawa ini berikatan dengan DNA untai tunggal dan mengganggu proses perbaikan DNA, yang menyebabkan akumulasi mutasi dan kematian sel bakteri. Gangguan ini menyebabkan kerusakan yang cukup untuk mengakibatkan kematian sel bakteri, karena proses perbaikan DNA tidak dapat berlangsung dengan baik.¹⁵

2.2 *Shigella dysenteriae*

2.2.1 Taksonomi *Shigella dysenteriae*

Taksonomi bakteri *Shigella dysenteriae* adalah sebagai berikut:

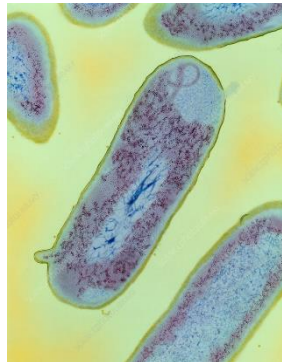
Kingdom	: Bacteria
Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gamma proteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Shigella</i>
Spesies	: <i>Shigella dysenteriae</i>

2.2.2 Morfologi

Shigella adalah bakteri patogen berbentuk batang dengan ukuran sekitar 0,5 x 1-3 mikrometer, yang tergolong dalam famili *Enterobacteriaceae*. Bakteri ini tidak memiliki kemampuan pergerakan dan tidak mampu membentuk spora, namun memiliki peran utama dalam infeksi pada saluran pencernaan manusia.

Bakteri ini bersifat anaerob fakultatif. Genotip dan fenotip *Shigella* sangat mirip dengan strain *Escherichia coli*, namun, *Shigella* kurang aktif dalam memanfaatkan karbohidrat. Hal ini memungkinkan identifikasi dan pembedaan biokimia dari strain *Escherichia coli*. Empat subkelompok spesies *Shigella* telah diidentifikasi, *Shigella dysenteriae* termasuk dalam subkelompok A dengan 15 serotipe, *Shigella flexneri* tergolong dalam (subkelompok B; 6 serotipe), *Shigella boydii* merupakan bagian dari (subkelompok C; 20 serotipe), dan *Shigella sonnei* termasuk dalam (subkelompok D; 1 serotipe).¹

Shigella dysenteriae adalah jenis bakteri yang tidak memiliki motilitas, tidak membentuk spora, dan tidak berkapsul. Namun, beberapa serotipe *Shigella* dilengkapi dengan struktur fimbriae. Bakteri ini adalah aerob dan anaerob fakultatif, mampu berkembang biak dalam rentang suhu 10-40°C, dengan suhu optimal pada 37°C dan tingkat keasaman (pH) 7,4.²⁰



Gambar 2. 2 Bakteri *Shigella dysenteriae*

2.2.3 Patogenesitas

Patogenesis *Shigella dysenteriae* melibatkan dua tahap utama. Tahap pertama dimulai ketika *Shigella dysenteriae* menempel pada sel inang, dengan perlekatan awal yang diperankan oleh pili, yang memiliki sifat anchoring. Setelah itu, perlekatan dilanjutkan oleh *outer membrane*, yang memiliki sifat *docking*. Sebagian besar komponen dari *outer membrane* ini adalah *outer membrane protein (OMP)*. Pada tahap kedua, *Shigella dysenteriae* bereplikasi pada sel epitel kolon hingga mencapai konsentrasi 10^8 bakteri/ml Selain bereplikasi, bakteri ini juga memproduksi bahan-bahan metabolisme yang merugikan sel inang.²¹

Shigella dysenteriae tipe 1, yang dikenal sebagai *Shiga bacillus*, menghasilkan eksotoksin termolabil dengan potensi patogenik yang luas, khususnya terhadap saluran pencernaan dan sistem saraf pusat. Eksotoksin ini merupakan molekul protein yang berfungsi sebagai antigen, yang dapat memicu respons imun tubuh melalui produksi antitoksin, serta menunjukkan efek toksik yang signifikan dalam model hewan percobaan. Sebagai enterotoksin, eksotoksin ini berkontribusi pada terjadinya diare, yang mekanismenya mirip dengan toksin *Shiga-like* pada *Escherichia coli*, dengan pola patofisiologi yang serupa. Pada manusia, eksotoksin ini mengganggu kemampuan usus halus untuk menyerap gula dan asam amino, yang menyebabkan gangguan pada proses pencernaan dan absorpsi nutrisi. Sebagai neurotoksin, eksotoksin ini memperburuk kondisi infeksi *Shigella dysenteriae* dengan memicu reaksi neurologis yang serius, termasuk meningismus dan koma, yang menunjukkan keterlibatan sistem saraf pusat dalam patogenesis penyakit ini.¹

2.2.4 Manifestasi Klinis Infeksi *Shigella dysenteriae*

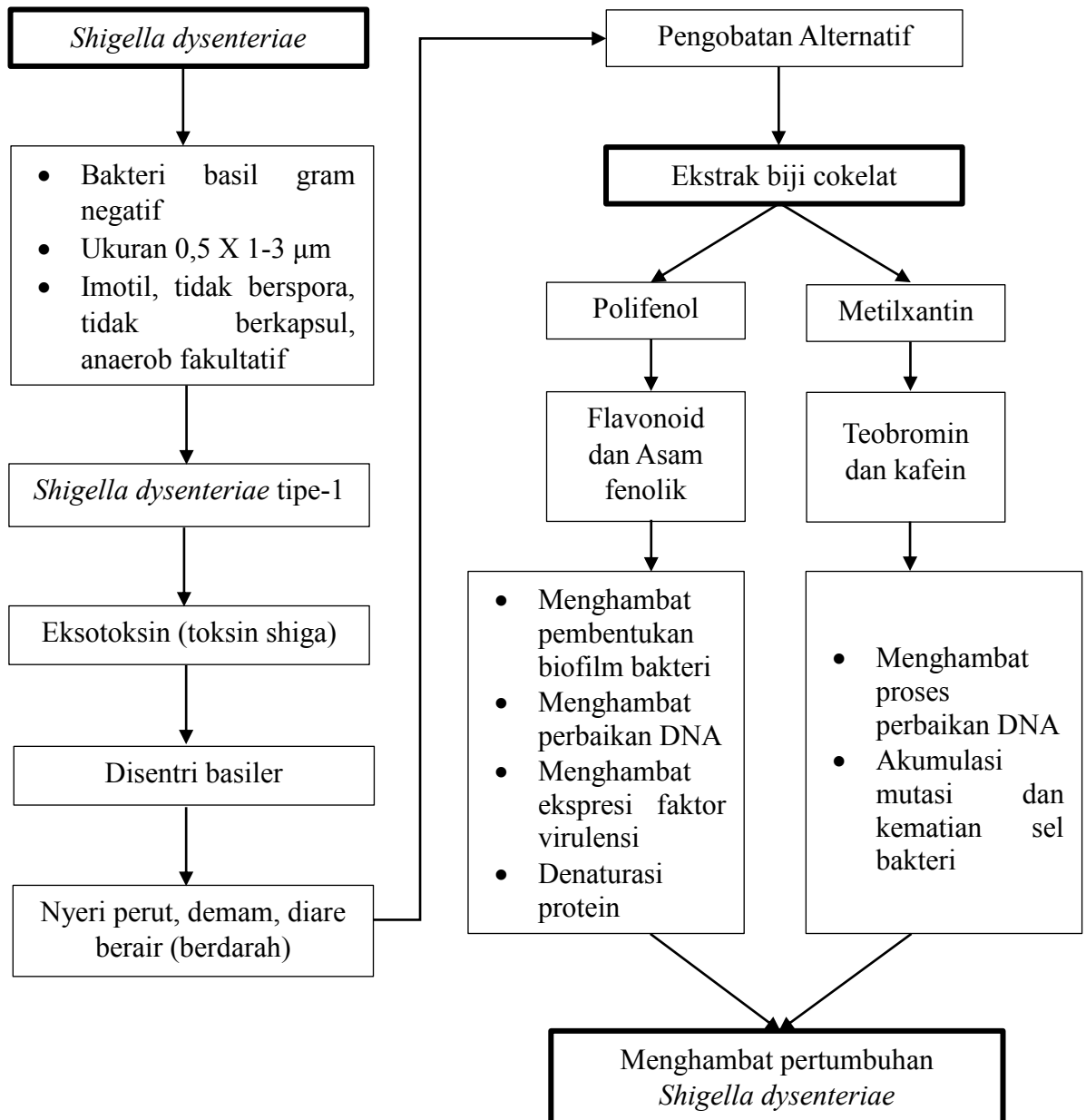
Shigella dysenteriae termasuk dalam kelompok serotipe utama yang ada dalam genus *Shigella*, yang terdiri dari empat serotipe yang berbeda, dengan tipe 1 sebagai satu-satunya strain yang memproduksi toksin Shiga (Stxs). Tipe 1 *Shigella dysenteriae* merupakan penyebab utama disentri basiler atau *shigellosis*, yang menyebar melalui air atau makanan yang terkontaminasi, serta melalui kontak langsung jalur feses-oral. Infeksi ini lebih umum terdapat pada negara yang berpendapatan rendah dan menengah ke bawah, terutama pada anak-anak, menyebabkan diare berkepanjangan dan malnutrisi akibat hilangnya protein usus.²²

Genus *Shigella* dapat menyebabkan diare berdarah maupun tidak berdarah. Masa inkubasi shigellosis oleh spesies *Shigella non-dysenteriae* berkisar antara 1 hingga 4 hari, sedangkan untuk tipe 1 *Shigella dysenteriae* bisa mencapai 8 hari. Setelah masa inkubasi singkat (1-4 hari), infeksi biasanya muncul secara tiba-tiba dengan gejala seperti nyeri perut, demam, dan diare berair. Beberapa hari setelah infeksi, bakteri *Shigella dysenteriae* dapat menyebar ke bagian ileum dan kolon,

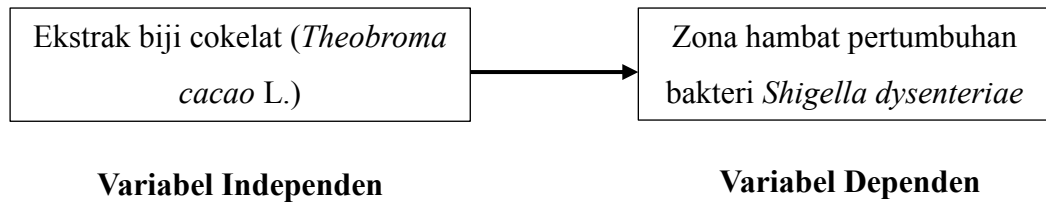
yang mengakibatkan peningkatan frekuensi buang air besar yang disertai rasa nyeri dan tenesmus, menimbulkan ketidaknyamanan pada perut bagian bawah. Pada orang dewasa, gejala demam dan diare biasanya akan berkurang dalam jangka waktu 2-5 hari. Namun, pada anak-anak dan lansia, kehilangan cairan dan elektrolit yang berlebihan dapat menyebabkan dehidrasi parah, asidosis metabolik, dan berisiko meningkatkan angka kematian. Infeksi yang disebabkan oleh *Shigella dysenteriae* berpotensi berkembang menjadi kondisi yang mengancam jiwa, dengan komplikasi yang serius dan memerlukan penanganan medis intensif.²³

Sebagai bakteri penghasil toksin Shiga, tipe 1 *Shigella dysenteriae* menjadi penyebab utama sindrom uremik hemolitik (HUS) pada pasien. Setiap tahunnya, toksin ini bertanggung jawab atas lebih dari 2.800.000 kasus penyakit akut, yang berujung pada sekitar 3.900 kasus HUS. Dari semua infeksi *Shigella dysenteriae*, sekitar 2–7% berkembang menjadi HUS pada manusia.¹

2.3 Kerangka Teori



2.4 Kerangka Konsep



2.5 Hipotesis

Ekstrak biji cokelat (*Theobroma cacao* L.) efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*.

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Definisi Operasional

Tabel 3. 1 Definisi Operasional

Variabel	Defenisi	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
Variabel Independen				
Ekstrak biji coklat (<i>Theobroma cacao</i> L.)	Suatu zat yang diperoleh dari ekstraksi biji coklat (<i>Theobroma cacao</i> L.) dengan metode maserasi yang dilakukan dengan mengeringkan biji coklat dan dihaluskan dengan blender. Simplisia kemudian direndam dengan larutan etanol 96%.	Menggunakan rumus $N1 \times V1 = N2 \times V2$ Keterangan: N1 = Konsentrasi awal V1 = Volume awal N2 = Konsentrasi akhir V2 = Volume akhir	Ekstrak biji coklat (<i>Theobroma cacao</i> L.) konsentrasi = 30%, 60%, dan 100%	Ordinal
Variabel Dependen				
Zona hambat pertumbuhan bakteri <i>Shigella dysenteriae</i>	Diameter zona hambat yang terbentuk setelah variabel independen dan kontrol positif serta negatif diberikan dengan menggunakan metode difusi	Mengukur diameter zona hambat menggunakan jangka sorong	Diameter zona hambat pada media bakteri (dalam satuan mm)	Rasio

3.2 Jenis Penelitian

Penelitian ini mengadopsi penelitian eksperimental dengan desain *post-test only control group* dengan pendekatan *Static Group Comparison*, di mana kelompok eksperimen yang diberi perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol yang menerima aquades (negatif) dan Ciprofloxacin (positif). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengevaluasi kemampuan ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao L.*) dalam menghambat pertumbuhan *Shigella dysenteriae*.

3.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Pelaksanaan penelitian dilakukan selama empat bulan dimulai pada bulan Agustus 2024 – November 2024. Identifikasi tanaman dan uji fitokimia biji coklat (*Theobroma cacao L.*) dilaksanakan di Laboratorium Sistematika Tumbuhan Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Sumatera Utara. Ekstraksi serta maserasi dilakukan di Laboratorium Biokimia FK UMSU, dan uji *in vitro* dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi FK UMSU. Penelitian dilakukan dengan protokol yang sesuai standar laboratorium.

3.4 Sampel Penelitian

Sampel dalam penelitian ini merupakan biji coklat (*Theobroma cacao L.*) yang didapatkan dari kabupaten Langkat kota Binjai dan bakteri *Shigella dysenteriae*. Ekstrak biji coklat diuji pengaruhnya terhadap bakteri uji dengan konsentrasi 30%, 60%, dan 100%, serta Ciprofloxacin sebagai kontrol positif dan aquades sebagai kontrol negatif sehingga diperlukan 5 kelompok. Dalam menghitung besar sampel penelitian menggunakan rumus Federer, yaitu:

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

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

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

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

$$(4n) \geq 20$$

$$n \geq 5$$

Keterangan :

n = jumlah sampel

t = besar kelompok

Berdasarkan penerapan rumus Federer, setiap perlakuan direncanakan untuk diulang sebanyak 5 kali. Hasil perhitungan ini menjadi pedoman dalam menentukan jumlah pengulangan perlakuan dalam penelitian ini. Dengan demikian, dalam penelitian ini, bakteri *Shigella dysenteriae* akan mendapatkan perlakuan hingga 25 kali.

Tabel 3. 2 Kelompok perlakuan

No	Kelompok	Perlakuan
1	Kontrol Positif (+)	Kelompok bakteri <i>Shigella dysenteriae</i> yang diberikan Ciprofloxacin
2	Kontrol Negatif (-)	Kelompok bakteri <i>Shigella dysenteriae</i> yang diberikan aquades steril
3	Perlakuan 1	Kelompok bakteri <i>Shigella dysenteriae</i> yang diberikan ekstrak biji cokelat dengan konsentrasi 30%
4	Perlakuan 2	Kelompok bakteri <i>Shigella dysenteriae</i> yang diberikan ekstrak biji cokelat dengan konsentrasi 60%
5	Perlakuan 3	Kelompok bakteri <i>Shigella dysenteriae</i> yang diberikan ekstrak biji cokelat dengan konsentrasi 100%

3.5 Teknik Pengumpulan Data

Pengumpulan data dilakukan dengan mengumpulkan diameter zona hambat dari pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* menggunakan jangka sorong. Data yang diperoleh merupakan data primer.

3.6 Alat dan Bahan

3.6.1 Alat

Alat yang digunakan adalah *magnetic stirrer*, *centrifuge*, *incubator*, *UV-vis spectroscopy*, *scanning electron microscopy (SEM)*, *oven*, *autoklaf*, *hotplate*, timbangan, toples, blender, rak, *erlenmeyer*, *rotary evaporator*, *pH meter*, *blade*, *skalpel*, pinset, pipet tetes, spatula, destilator, *shaker*, *object glass*, kaca penutup, cawan petri, *aluminium foil*, *vaccum filtration*, kertas saring *Whatman* no. 40, timbangan, gelas ukur, tabung reaksi

3.6.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi biji cokelat (*Theobroma cacao* L.), etanol 96% (Bratacem), butanol (Bratacem), n-heksan (Bratacem), etil asetat (Bratacem), air suling (Bratacem), media *Muller Hinton Agar*, Ciprofloxacin, pereaksi mayer LP, asam klorida 2 N, serbuk Mg (Merck), asam klorida pekat (Merck), larutan H₂SO₄ 0,36 N, larutan BaCl₂·2H₂O 1,175% dan bakteri *Shigella dysenteriae* yang diperoleh dari Universitas Sumatera Utara.

3.7 Cara Kerja

3.7.1 Preparasi Sampel, Ekstraksi, dan Maserasi

Biji cokelat sebanyak 3 kg dibersihkan dari pulp (lapisan tipis dan berlendir), dan kemudian dikeringkan pada suhu 40-50°C selama 1 jam menggunakan oven. Ekstraksi dilakukan menggunakan etanol, karena senyawa polifenol dalam biji cokelat larut dengan baik dan stabil dalam lingkungan asam. Setelah pengeringan, biji cokelat dihancurkan menjadi serbuk halus dan ditempatkan dalam bejana untuk maserasi. Etanol 96% kemudian ditambahkan, dan campuran dibiarkan meresap selama 3 hari dalam wadah tertutup yang dilindungi dari cahaya, dengan pengadukan sesekali. Setelah tahap maserasi selesai, larutan diekstraksi dengan proses penyaringan untuk memisahkan bagian

cair dari sisa padatan, menghasilkan filtrat berwarna coklat kemerahan yang jernih. Selanjutnya, filtrat tersebut dikonsentrasikan menggunakan rotary evaporator selama dua jam hingga diperoleh ekstrak pekat sebanyak 50,04 mL.¹¹

3.7.2 Uji Fitokimia

a. Uji alkaloid

Ekstrak yang diperoleh kemudian diaduk dan ditambahkan beberapa mililiter larutan asam klorida, setelah itu disaring. Filtrat yang dihasilkan dicampurkan dengan 1-2 mL pereaksi Dragendorff. Terbentuknya endapan berwarna kuning cerah menandakan adanya senyawa alkaloid dalam sampel.²⁴

b. Uji flavonoid

Ekstrak yang diperoleh ditambahkan 8-10 tetes larutan asam klorida dan sejumput serbuk magnesium. Campuran tersebut kemudian dipanaskan selama 10-15 menit, setelah itu didinginkan. Adanya perubahan warna menjadi merah menunjukkan keberadaan senyawa flavonoid dalam sampel.²⁴

c. Uji saponin

Ekstrak yang diperoleh dilarutkan dalam 10 mL air panas, kemudian dibiarkan mendingin hingga suhu kamar. Setelah itu, larutan dikocok dengan intensitas sedang selama 10 detik. Pembentukan busa yang bertahan lebih dari 10 menit dengan ketinggian 1-10 cm, yang tidak menghilang meskipun diberi tambahan satu tetes larutan asam klorida 2N, menunjukkan indikasi kuat adanya senyawa saponin dalam ekstrak tersebut.²⁴

d. Uji tanin

Sampel bubuk dilarutkan dalam 100 mL air, kemudian dipanaskan selama 30 menit. Setelah proses penyaringan, 5 mL larutan hasil saringan dicampur dengan 2 mL larutan gelatin 2%. Terbentuknya endapan berwarna putih menunjukkan adanya senyawa tanin.²⁴

3.7.3 Pengenceran Ekstrak

Menggunakan rumus $N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$

Keterangan:

N_1 = Konsentrasi awal

V_1 = Volume awal

N_2 = Konsentrasi akhir

V_2 = Volume akhir

Tabel 3. 3 Volume ekstrak biji coklat yang dibutuhkan penelitian

N_1	V_2	N_2	V_1	$V_1 \times 5$
100%	1 ml	30%	0,3 ml	1,5 ml
100%	1 ml	60%	0,6 ml	3 ml
100%	1 ml	100%	1 ml	5 ml

Tabel 3. 4 Volume kontrol yang dibutuhkan pada penelitian^{25,26}

Kelompok	Volume sekali uji	Total volume = $V \times 5$
Ciprofloxacin	1 ml	5 ml
Aquades	1 ml	5 ml

3.7.4 Pembuatan Media *Muller Hinton Agar*

Media Muller Hinton Agar (MHA) disiapkan dengan melarutkan 38 g serbuk MHA dalam 1000 mL akuades menggunakan labu Erlenmeyer. Larutan tersebut kemudian dipanaskan di atas hot plate sambil diaduk hingga larut sepenuhnya dan tampak jernih. Proses sterilisasi dilakukan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit untuk memastikan kebersihan media. Setelah sterilisasi, media didistribusikan ke dalam cawan petri dalam kondisi aseptis, lalu dibiarkan hingga suhu menurun dan struktur media menjadi padat.²⁷

3.7.5 Peremajaan Bakteri

Proses peremajaan bakteri dilakukan dengan memindahkan satu koloni *Shigella dysenteriae* menggunakan ose yang telah disterilkan, kemudian dipindahkan ke media agar miring dengan cara digores. Setelah itu, media tersebut ditempatkan dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam agar bakteri dapat berkembang biak dengan baik.²⁸

3.7.6 Pembuatan Larutan *McFarland*.

Larutan *McFarland* disiapkan dengan mencampurkan 99,5 mL larutan asam sulfat (H_2SO_4) dengan konsentrasi 0,36 N dan 0,5 mL larutan barium klorida dihidrat ($\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 1,175% dalam erlenmeyer. Campuran tersebut kemudian diaduk hingga membentuk larutan homogen yang menunjukkan karakteristik kekeruhan tertentu. Larutan ini berperan sebagai standar referensi dalam pengukuran tingkat kekeruhan suspensi bakteri uji.²⁸

3.7.7 Pembuatan Suspensi Bakteri

Suspensi bakteri disiapkan dengan cara mengambil kultur bakteri yang telah diinkubasikan selama 24 jam pada media agar miring. Kultur yang diperoleh kemudian dipindahkan ke dalam 10 mL larutan NaCl 0,9% steril yang ada dalam tabung reaksi dalam keadaan steril untuk memastikan kondisi aseptis. Suspensi bakteri yang telah diperoleh diaduk secara homogen menggunakan vortex guna mencapai distribusi sel yang merata. Kekeruhan suspensi yang dihasilkan kemudian dibandingkan dengan standar *McFarland* sebagai acuan untuk menentukan densitas bakteri.²⁸

3.7.8 Uji Aktivitas Antibakteri

Uji antibakteri dimulai dengan menyiapkan cawan petri steril dan mengisinya dengan 15 mL media *Muller Hinton Agar* (MHA), kemudian suspensi bakteri sebanyak tiga tetes ditambahkan dan dicampur secara merata dengan cara menggoyangkan cawan petri. Setelah itu, media dibiarkan hingga mengeras. Setelah cakram steril direndam dalam larutan uji masing-masing fraksi, cakram tersebut diletakkan pada permukaan media agar. Sebagai kontrol negatif digunakan aquades, sementara kontrol positif menggunakan Ciprofloxacin. Proses

ini diulang lima kali untuk menjamin keakuratan hasil. Setelah itu, cawan petri diletakkan dalam inkubator pada suhu 24-27°C selama 24 jam. Evaluasi aktivitas antibakteri dilakukan dengan mengukur diameter zona hambat menggunakan alat pengukur seperti jangka sorong. Kriteria penilaian dibagi menjadi: zona hambat ≥ 20 mm (sangat kuat), 10-20 mm (kuat), dan 5-10 mm (sedang) dan < 5 mm (kurang atau tidak berpengaruh).²⁸ Sedangkan kekuatan zona hambat Ciprofloxacin terhadap *Shigella dysenteriae* sebesar 23,38 mm.²⁹

3.8 Pengolahan Data dan Analisis Data

3.8.1 Pengolahan Data

a. *Editing*

Proses peninjauan data secara menyeluruh untuk memastikan keakuratan dan konsistensi, dengan tujuan mengidentifikasi serta mengoreksi kesalahan yang mungkin terjadi selama pengumpulan atau pencatatan data.

b. *Coding*

Tahapan mengonversi informasi ke dalam simbol, angka, atau kategori tertentu agar dapat dianalisis secara sistematis, terutama dalam konteks pengolahan data kuantitatif.

c. *Entry*

Langkah menginput hasil *coding* ke dalam platform digital, seperti perangkat lunak statistik atau basis data, guna memudahkan pemrosesan lebih lanjut.

d. *Cleaning data*

Upaya penyaringan dan perbaikan dataset dengan mendeteksi serta mengatasi ketidaktepatan, seperti duplikasi, kesalahan input, atau data yang tidak lengkap, guna meningkatkan kualitas analisis.

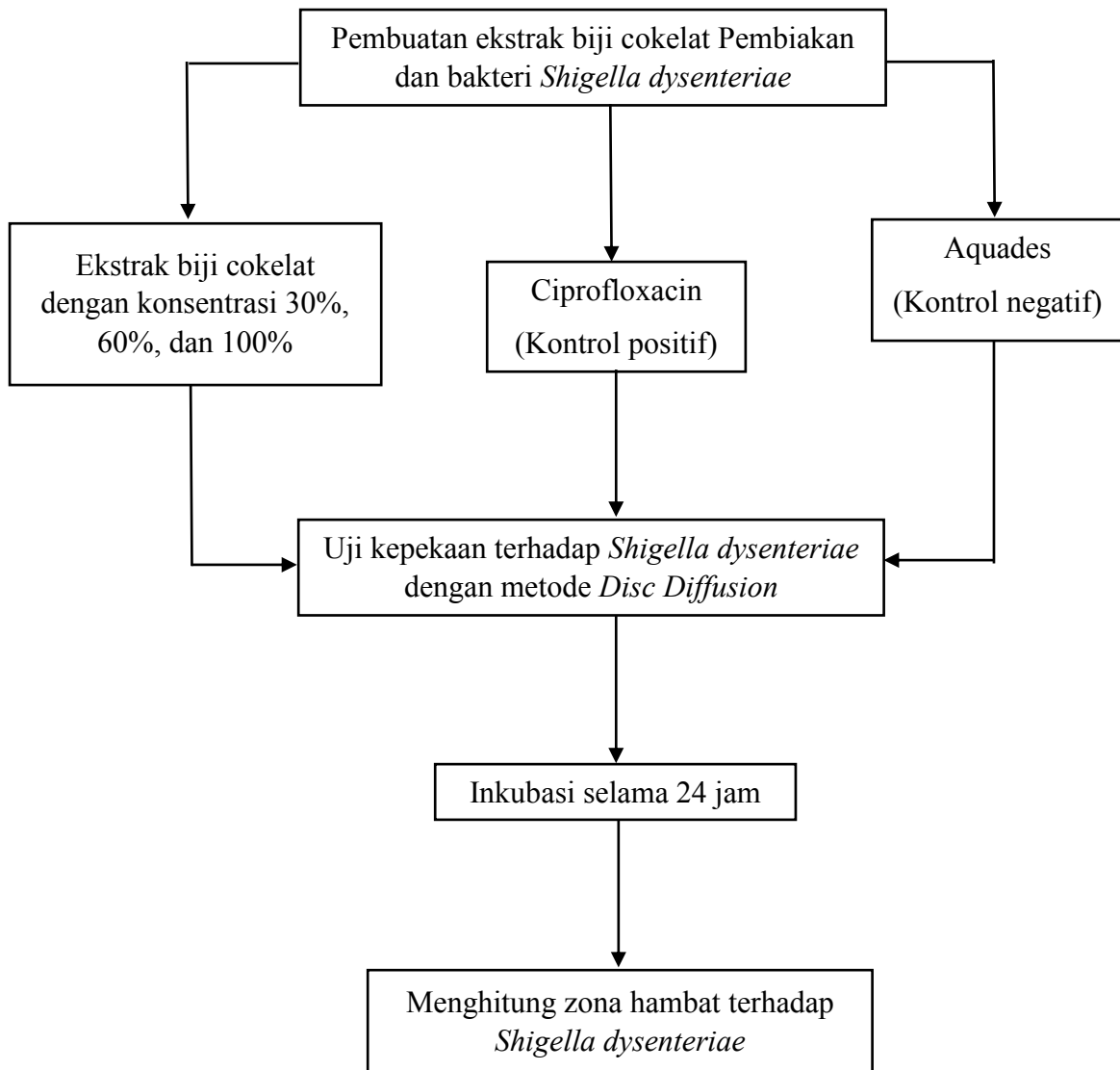
e. *Saving*

Saving adalah proses penyimpanan dataset yang telah melewati tahap pembersihan dalam format yang sesuai dengan kebutuhan analisis dan pengolahan data lebih lanjut.

3.8.2 Analisis Data

Penelitian ini menggunakan data dengan variabel kategorik-numerik yang tidak berpasangan. Sebelum melanjutkan ke analisis statistik, langkah pertama yang dilakukan adalah uji normalitas dan homogenitas untuk memastikan bahwa data memenuhi asumsi-asumsi yang diperlukan. Berdasarkan hasil pengujian, data terdistribusi normal dan variansnya homogen, sehingga dapat dilanjutkan dengan uji *One-Way ANOVA*. Untuk menggali lebih dalam perbedaan antar kelompok yang diuji, analisis dilanjutkan dengan menggunakan metode *Post Hoc Least Significant Difference (LSD)*.

3.9 Alur penelitian



BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini telah mendapat persetujuan Komite Etik Fakultas Kedokteran Muhammadiyah Sumatera Utara dengan Nomor 1267/KEPK/FKUMSU/2024. Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara, laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara, dan FMIPA Universitas Sumatera Utara. Adapun urutan dari hasil dan pembahasan penelitian ini adalah 1) Skrining fitokimia ekstrak biji cokelat (*Theobroma cacao* L.), 2) Hasil pengukuran zona hambat ekstrak biji cokelat terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*, 3) Pembahasan penelitian.

4.1.1 Skrining Fitokimia Ekstrak Biji Cokelat (*Theobroma cacao* L.)

Tabel 4.1 Hasil skrining fitokimia ekstrak biji cokelat (*Theobroma cacao* L.)

Uji Fitokimia	Hasil
Flavonoida	Positif
Alkaloida	Positif
Tanin	Positif
Saponin	Positif

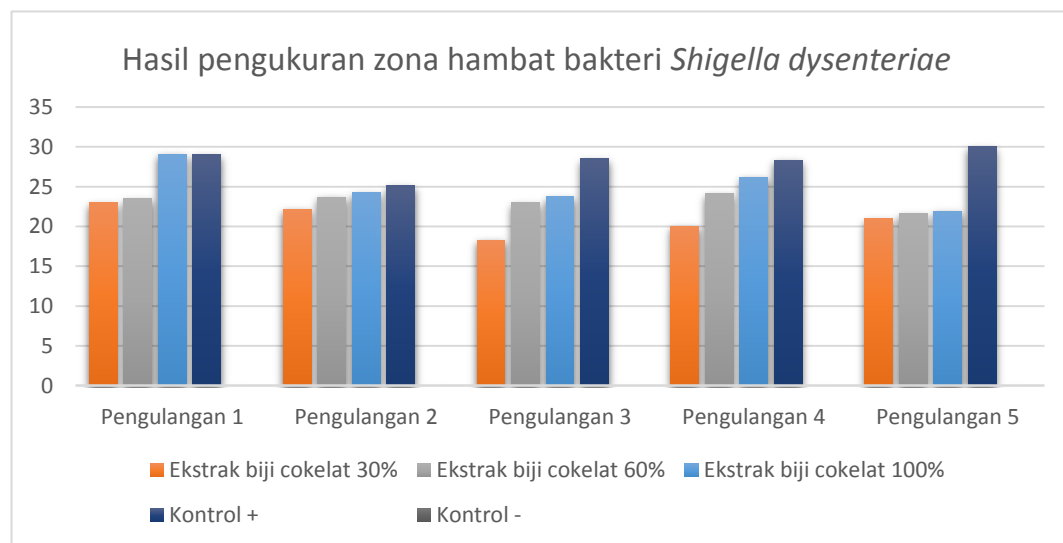
Hasil skrining fitokimia ekstrak biji cokelat menunjukkan bahwa terdapat senyawa flavonoida, alkaloida, tanin, saponin.

4.1.2 Zona Hambat Ekstrak Biji Cokelat Terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae* dan Efektivitas Biji Cokelat Terhadap *Shigella dysenteria*

Tabel 4.2 Hasil pengukuran zona hambat ekstrak biji cokelat terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*

Kelompok Perlakuan	Diameter zona hambat pertumbuhan bakteri <i>Shigella dysenteriae</i> (mm)				
	30%	60%	100%	Kontrol +	Kontrol -
Pengulangan 1	23,00	23,48	29,10	29,00	0
Pengulangan 2	22,15	23,70	24,22	25,10	0
Pengulangan 3	18,30	23,00	23,75	28,50	0
Pengulangan 4	20,05	24,10	26,20	28,30	0
Pengulangan 5	21,00	21,60	21,90	30,00	0
Rata-rata	20,9	23,176	25,034	28,18	0

Pada tabel 4.2 didapati konsentrasi 30% menunjukkan nilai rata-rata 20,9 mm, konsentrasi 60% memiliki nilai rata-rata 23,176 mm, konsentrasi 100% memiliki nilai rata-rata 25,034 mm, dan kontrol positif yaitu Ciprofloxacin memiliki nilai rata-rata 28,18 mm serta kontrol negatif yaitu aquades memiliki



Gambar 4. 1 Hasil pengukuran zona hambat bakteri *Shigella dysenteriae* nilai rata-rata 0 mm.

Tabel 4.3 Hasil Uji Normalitas zona hambat pertumbuhan terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*

Perlakuan	n	Sig.
Ekstraks biji cokelat 30%	5	0,929
Ekstraks biji cokelat 60%	5	0,394
Ekstraks biji cokelat 100%	5	0,828
Kontrol Positif	5	0,242

*Shapiro Wilk

Berdasarkan tabel 4.3 keseluruhan kelompok data memiliki Signifikansi ($p > 0,05$) sehingga data berdistribusi normal.

Tabel 4.4 Hasil Uji Homogenitas zona hambat pertumbuhan terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*

Variabel	Sig.	Keterangan
Diameter Zona Hambat	0,290	Homogen

**Levene's test of variance*

Hasil uji homogenitas menunjukkan nilai signifikansi (p) lebih besar dari 0,05, yang mengindikasikan bahwa varians data antar kelompok bersifat homogen. Hal ini menunjukkan bahwa asumsi homogenitas terpenuhi dan data dari setiap kelompok perlakuan dapat dibandingkan secara valid.

Selanjutnya, berdasarkan hasil uji normalitas yang menunjukkan distribusi data yang normal, analisis dilanjutkan dengan menggunakan uji One-Way ANOVA untuk mengevaluasi perbedaan diameter zona hambat pertumbuhan *Shigella dysenteriae* antar kelompok perlakuan yang berbeda.

Tabel 4.5 Perbedaan diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*

Perlakuan	Mean±SD	Sig.
Kontrol Positif	28,18 ± 1,843	0,000
Ekstrak biji cokelat 30%	20,9 ± 1,834	
Ekstrak biji cokelat 60%	23,176 ± 0,966	
Ekstrak biji cokelat 100%	25,03 ± 2,739	

Hasil pengujian *one-way ANOVA* pada tabel di atas didapati bahwa signifikansi (p) < 0,05, artinya data didapati bahwa ekstrak biji cokelat (*Theobroma cacao* L.) terdapat perbedaan yang nyata antar kelompok. Berdasarkan hasil uji *one-way ANOVA* menunjukkan hasil terdapat perbedaan yang signifikan diameter zona hambat di antara kelompok perlakuan, maka penelitian ini dapat dilanjutkan dengan uji *post hoc* berupa uji LSD (*Least Significant Difference*).

Tabel 4. 6 Perbedaan zona Hambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* antar kelompok

Variabel	Perlakuan	Sig.
Bakteri <i>Shigella</i> K (+)	K 30%	0,000

<i>dysenteriae</i>		K 60%	0,001
		K 100%	0,021
	K 30%	K (+)	0,000
		K 60%	0,083*
		K 100%	0,004
	K 60%	K (+)	0,001
		K 30%	0,083*
		K 100%	0,151*
	K 100%	K (+)	0,021
		K 30%	0,004
		K 60%	0,151*

*Tidak berbeda bermakna

Pada hasil pengujian Post Hoc di atas didapati kelompok kontrol positif memiliki perbedaan yang nyata antara kelompok 30%, 60%, dan 100%. Hal ini ditandai dengan nilai $p < 0,05$. Kelompok konsentrasi 30% tidak memiliki perbedaan yang nyata dengan konsentrasi 60% karena nilai $p > 0,05$. Akan tetapi konsentrasi 30% memiliki perbedaan yang nyata dengan kelompok kontrol positif dan konsentrasi 100% karena $p < 0,05$. Kelompok konsentrasi 60% tidak memiliki perbedaan nyata dengan konsentrasi 100% karena nilai $p > 0,05$.

4.2 Pembahasan

Hasil skrining fitokimia terhadap ekstrak biji cokelat (*Theobroma cacao L.*) menunjukkan bahwa ekstrak ini mengandung senyawa bioaktif, yaitu flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin. Temuan ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang juga melaporkan bahwa biji cokelat mengandung berbagai senyawa aktif, termasuk flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin.³⁰ Pada biji cokelat juga mengandung bubuk bebas lemak, kandungan senyawa polifenol seperti katekin dan antosianin berkisar 5-18% yang merupakan senyawa bioaktif yang memiliki aktivitas antimikroba. Senyawa polifenol, termasuk katekin, berperan dalam merusak struktur protein seluler serta mengubah permeabilitas membran sel. Hal ini mengakibatkan kerusakan pada membran sitoplasma yang memicu kebocoran

metabolit esensial dan aktivasi enzim-enzim penting dalam bakteri. Antosianin, yang juga merupakan flavonoid, berfungsi sebagai antioksidan dan antimikroba dengan merusak membran sel bakteri, menyebabkan kebocoran sitoplasma, lisis sel, dan kematian bakteri.³¹

Penelitian ini menguji potensi ekstrak biji cokelat (*Theobroma cacao* L.) dalam menghambat pertumbuhan *Shigella dysenteriae* melalui uji zona hambat secara in vitro. Hasilnya menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada diameter zona hambat berdasarkan konsentrasi ekstrak. Pada konsentrasi 30%, diameter rata-rata zona hambat tercatat 20,9 mm, yang tergolong dalam kategori penghambatan kuat. Di konsentrasi 60%, zona hambat meningkat menjadi 23,176 mm, masuk dalam kategori sangat kuat. Pada konsentrasi 100%, zona hambat rata-rata mencapai 25,034 mm, yang juga termasuk dalam kategori sangat kuat. Sebagai perbandingan, kontrol positif dengan Ciprofloxacin menghasilkan zona hambat terbesar sebesar 28,18 mm. Menariknya, pada konsentrasi 60% dan 100%, ekstrak biji cokelat menunjukkan zona hambat yang melebihi rata-rata zona hambat Ciprofloxacin (23,38 mm). Penelitian ini menegaskan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak biji cokelat, semakin besar zona hambat yang terbentuk, konsisten dengan temuan dalam penelitian sebelumnya tentang aktivitas antibakteri ekstrak biji cokelat terhadap *Streptococcus mutans*.³²

Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak biji cokelat (*Theobroma cacao* L.) efektif menghambat pertumbuhan *Shigella dysenteriae* melalui diameter zona hambat yang terbentuk. Aktivitas antibakteri biji cokelat terhadap semua kelompok uji menunjukkan hambatan pada semua konsentrasi, dengan konsentrasi tertinggi pada 100%. Sejalan dengan penelitian sebelumnya tentang potensi biji cokelat (*Theobroma cacao* L.) sebagai antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus Pyogenes*, disebutkan bahwa biji cokelat paling efektif dalam menghambat dan membunuh *Streptococcus Pyogenes* pada konsentrasi 100%.³³ Penelitian sebelumnya juga menunjukkan bahwa senyawa bioaktif biji cokelat (*Theobroma cacao* L.) memiliki aktivitas antimikroba yang signifikan. Pada pemeriksaan *Scanning Electron Microscope* (SEM) menunjukkan pembentukan filamen pada

sel *Shigella dysenteriae*, yang mengindikasikan stres seluler akibat ekstrak coklat.³⁴ Selain itu, ekstrak etanolik coklat juga mengurangi jumlah koloni *Shigella dysenteriae* di usus tikus.³⁴ Penelitian sebelumnya juga tentang potensi ekstrak biji coklat (*Theobroma cacao* L.) sebagai antibakteri *Shigella dysenteriae* konsentrasi 30% menunjukkan aktivitas antibakteri pada spektrum luas isolat bakteri gram negatif dan gram positif.³⁵ Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa ekstrak biji coklat, dengan konsentrasi antara 6,25% hingga 100%, dapat menghambat pertumbuhan *Enterococcus faecalis*. Efektivitas ini dapat dijelaskan oleh kandungan polifenol yang terdapat dalam biji coklat, yang diketahui memiliki aktivitas antibakteri dan antioksidan. Polifenol ini bekerja dengan mengintervensi proses biologis dalam sel bakteri, yang berkontribusi terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri tersebut.¹¹

Kontrol positif dalam penelitian ini adalah Ciprofloxacin. Pada hasil penelitian, kontrol positif menunjukkan efek hambatan yang paling signifikan. Hal ini sejalan dengan temuan pada penelitian sebelumnya yang menunjukkan aktivitas antimikroba Ciprofloxacin, antibiotik golongan fluoroquinolone generasi kedua, yang memiliki aktivitas antimikroba dan sifat farmakokinetik yang sangat baik serta sedikit efek samping, yang diperkenalkan dalam praktik klinis untuk pengobatan berbagai infeksi bakteri selama sekitar 3 dekade.³⁶ Berdasarkan pengolahan dan interpretasi data yang diperoleh, teridentifikasi adanya perbedaan signifikan dalam aktivitas antibakteri ekstrak biji coklat terhadap *Shigella dysenteriae* pada konsentrasi 30%, 60%, dan 100%. Meskipun ekstrak biji coklat dapat menghambat pertumbuhan *Shigella dysenteriae*, efektivitasnya tidak lebih baik dibandingkan dengan Ciprofloxacin. Kemungkinan penurunan aktivitas antibakteri ekstrak biji coklat dibandingkan dengan Ciprofloxacin disebabkan oleh keterbatasan penyerapan senyawa aktif pada cakram uji dan konsentrasi antibakteri yang relatif rendah dalam ekstrak, yang berpengaruh pada ukuran zona hambat yang terbentuk.³⁷

Penelitian ini mengindikasikan bahwa ekstrak biji kakao memiliki aktivitas antimikroba terhadap *Shigella dysenteriae*, dengan zona hambat terbesar diamati

pada konsentrasi 100%. Temuan ini menunjukkan potensi ekstrak biji kakao sebagai agen antibakteri, namun mekanisme molekuler yang mendasari aktivitas tersebut masih perlu dikaji lebih lanjut. Selain itu, penelitian lanjutan diperlukan untuk mengevaluasi efektivitasnya dalam berbagai parameter lingkungan dan kondisi fisiologis yang lebih kompleks. Dengan demikian, hasil penelitian ini dapat berkontribusi pada pengembangan senyawa bioaktif berbasis bahan alam sebagai alternatif dalam strategi pengendalian bakteri patogen.

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan maka dapat diambil beberapa kesimpulan yaitu:

1. Ekstrak biji cokelat (*Theobroma cacao* L.) dengan konsentrasi 30%, 60%, dan 100% memiliki efek antibiotik terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*.
2. Konsentrasi minimal ekstrak biji cokelat (*Theobroma cacao* L.) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* adalah 30%.
3. Konsentrasi 100% ekstrak biji cokelat (*Theobroma cacao* L.) memiliki zona hambat yang paling tinggi dalam pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*.
4. Efektivitas ekstrak biji cokelat (*Theobroma cacao* L.) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* berbanding lurus dengan besarnya konsentrasi ekstrak biji cokelat (*Theobroma cacao* L.).

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian tentang uji efektivitas ekstrak biji cokelat (*Theobroma cacao* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* secara in vitro, maka dapat dikemukakan beberapa saran sebagai berikut:

1. Penelitian lebih lanjut dapat dilakukan menggunakan efek antibiotik ekstrak biji cokelat menggunakan konsentrasi, bakteri, dan metode yang berbeda seperti in vivo.

2. Menggunakan hewan coba, penelitian dapat dilanjutkan untuk menemukan manfaat tambahan lain dari biji coklat.

DAFTAR PUSTAKA

1. Pakbin B, Brück WM, Brück TB. Molecular Mechanisms of Shigella Pathogenesis; Recent Advances. *Int J Mol Sci.* 2023;24(3). doi:10.3390/ijms24032448
2. Prabhurajeshwar C, Chandrakanth Kelmani R. Shigellosis: A conformity review of the microbiology, pathogenesis and epidemiology with consequence for prevention and management issues. *J Pure Appl Microbiol.* 2018;12(2):405-417. doi:10.22207/JPAM.12.1.48
3. European Centre for Disease Prevention and Control. Shigellosis. Published online 2024:1-9.
4. Kantona E, Mufti L, Isnaeni A, Safitri Y. Faktor Penyebab Kejadian Anak Disentri. *Plenary Heal J Kesehat Paripurna.* 2024;1(1):1-9.
5. Kim YJ, Park KH, Park DA, et al. Guideline for the antibiotic use in acute gastroenteritis. *Infect Chemother.* 2019;51(2):217-243. doi:10.3947/ic.2019.51.2.217
6. Salleh MZ, Nik Zuraina NMN, Hajissa K, Ilias MI, Banga Singh KK, Deris ZZ. Prevalence of Multidrug-Resistant and Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing Shigella Species in Asia: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Antibiotics.* 2022;11(11). doi:10.3390/antibiotics11111653
7. Jelita SF, Wardhana yoga windhu, Chaerunisaa anis yohana. Aktivitas Antibakteri Herbal Terhadap Shigellosis (Shigella dysenteriae). *Farmaka.* 2020;18(1):33-45.
8. Tang KWK, Millar BC, Moore JE. Antimicrobial Resistance (AMR). *Br J Biomed Sci.* 2023;80(June):1-11. doi:10.3389/bjbs.2023.11387
9. Kumalasari DC, Suswati E. Efek Ekstrak Etanol Biji Kakao (Theobroma cacao) sebagai Antibakteri terhadap Pseudomonas aeruginosa secara In Vitro (The Effect of Ethanolic Extract of Cocoa Beans (Theobroma cacao) as an Antibacterial against Pseudomonas aeruginosa In Vitro). 2015;3(1):29-33.
10. Wu M, Brown AC. Applications of catechins in the treatment of bacterial infections. *Pathogens.* 2021;10(5). doi:10.3390/pathogens10050546
11. Hafidhah N, Hakim RF, Fakhrurrazi F. Pengaruh Ekstrak Biji Kakao (Theobroma cacao L.) terhadap Pertumbuhan Enterococcus faecalis pada Berbagai Konsentrasi. *J Caninus Denstistry.* 2017;2(2):92-96.
12. Yuniarti F, Hidayati W, Fitriani F, Sarah A. Skrining Antibakteri dan

- Identifikasi Molekular Bakteri Asam Laktat dari Fermentasi Buah Kakao Merah (*Theobroma cacao* L. Varietas Criollo) Terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae*. *Al-Kauniah J Biol.* 2023;16(1):21-29. doi:10.15408/kauniah.v16i1.17817
13. Lukito, A. M., Mulyono, Tetty, Y., Iswanto H. *Budidaya Tanaman Perkebunan Kakao.*; 2022.
 14. Cora GS, Rukmana D, Amrullah A. Persepsi Petani Kakao Terhadap Teknik Sambung Samping Di Desa Batu Lappa, Sulawesi Selatan. *J Sos Ekon Pertan.* 2018;14(1):15. doi:10.20956/jsep.v14i1.3642
 15. Febrianto NA, Wang S, Zhu F. Chemical and biological properties of cocoa beans affected by processing: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2022;62(30):8403-8434. doi:10.1080/10408398.2021.1928597
 16. Jean-Marie E, Bereau D, Robinson JC. Benefits of polyphenols and methylxanthines from cocoa beans on dietary metabolic disorders. *Foods.* 2021;10(9). doi:10.3390/foods10092049
 17. Mutha RE, Tatiya AU, Surana SJ. Flavonoids as natural phenolic compounds and their role in therapeutics: an overview. *Futur J Pharm Sci.* 2021;7(1). doi:10.1186/s43094-020-00161-8
 18. Manso T, Lores M, de Miguel T. Antimicrobial Activity of Polyphenols and Natural Polyphenolic Extracts on Clinical Isolates. *Antibiotics.* 2022;11(1):1-18. doi:10.3390/antibiotics11010046
 19. Bae JY, Seo YH, Oh SW. Antibacterial activities of polyphenols against foodborne pathogens and their application as antibacterial agents. *Food Sci Biotechnol.* 2022;31(8):985-997. doi:10.1007/s10068-022-01058-3
 20. Sari N, Erina, Abrar M, Wardani E, Fakhurrazi, Daud R. Isolasi dan Identifikasi *Salmonella* Sp dan *Shigella* Sp Pada Feses Kuda Bendi. *J Chem Inf Model.* 2018;2(3):401-410.
 21. Suswati E, Purnamasari DH, Wisudanti DD, C D, Mufida M. Indeks adhesi *Shigella dysenteriae* pada enterosit mencit galur BALB/ pasca pemaparan protein pili 42 kDa. *J Kedokt Syiah Kuala.* 2020;20(3):131-137. doi:10.24815/jks.v20i3.18690
 22. Irawan J, Hidayah Putri M, Himayani R, Dewi Puspita Sari R. Disentri Basiler. *Disen Basiler Medula.* 2021;11(2):278-280.
 23. Jawetz, Melnick & A. *Medical Microbiology 18th Edition.* Vol 155.; 2019. doi:10.1093/milmed/155.7.a26
 24. Kayaputri IL, Sumanti DM, Djali M, Indarto R, Dewi DL. KAJIAN FITOKIMIA EKSTRAK KULIT BIJI KAKAO (*Theobroma cacao* L.). *Chim Nat Acta.* 2014;2(1):83-90. doi:10.24198/cna.v2.n1.9140
 25. Arbi TA, Afrina A, Guntara DJ. KONSENTRASI HAMBAT DAN

- BUNUH MINIMUM FORMULA HIDROGEL EKSTRAK DAUN TIN (Ficus carica) TERHADAP PERTUMBUHAN Staphylococcus aureus. *Cakradonya Dent J.* 2023;13(1):22-31. doi:10.24815/cdj.v13i1.20915
26. Sasongko H, Sugiyarto S, Efendi NR, Pratiwi D, Setyawan AD, Widiyani T. Analgesic Activity of Ethanolic Extracts of Karika Leaves (Carica pubescens) In Vivo. *JPSCR J Pharm Sci Clin Res.* 2016;1(2):83. doi:10.20961/jpscr.v1i2.1938
 27. Primadhamanti A, Elsyana V, Savita CR. Aktivitas Antibakteri Pelepah Pisang Mas (Musa acuminata Colla), Pisang Kepok (Musa x paradisiaca L) dan Pisang Kluthuk (Musa balbisiana Colla) terhadap Staphylococcus aureus dan Staphylococcus epidermidis. *J Ilmu Kedokt dan Kesehat.* 2022;9(1):539-548. doi:10.33024/jikk.v9i1.6238
 28. Bakhtra DDJ. Uji Aktivitas Fraksi Dari Ekstrak Daun Sambung Nyawa (Gynura procumbens (Lour) Merr.) Terhadap Bakteri Shigella dysenteriae. *J Farm Higea.* 2018;10(1):10-18.
 29. Annisa Primadhamanti, Agustina Retnaningsih ASN. Antimicrobial Activity Of Combination Of Mengkudu Leaves (Morinda Citrifolia L.) And Papaya Leaves (Carica Papaya L.) Water Juice Against Escherichia Coli And Shigella Dysenteriae Bacteria. *J Anal Farm.* 2019;1(1):73-83.
 30. Rachmawaty A, Mu'nisa, Hasri. Analisis Fitokimia Ekstrak Kulit Buah Kakao (Theobroma cacao L.) sebagai Kandidat Antimikroba. Proceedings of National Seminar. *Seminar.* Published online 2017:667-670.
 31. Syaflida R, Dohude GA, Isnandar I, Sepriyani R. Influence of Theobroma cacao L on the adhesion of Streptococcus mutans. *J Syiah Kuala Dent Soc.* 2024;8(2):162-166. doi:10.24815/jds.v8i2.29878
 32. Rohmatin IA, Suparno S. Effect of Cocoa Bean Extract Concentration on the Diameter of the Clear Zone Preparing Streptococcus Mutans Bacteria. *J Penelit Pendidik IPA.* 2023;9(SpecialIssue):1277-1283. doi:10.29303/jppipa.v9ispecialissue.4703
 33. 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
 34. pipiet wulandari. ANTIBACTERIAL EFFECT OF ETHANOL EXTRACT COCOA BEANS (Theobroma cacao) ON GROWTH IN VITRO BY Shigella dysentriae. *J Med planta.* 2012;vol 1 no 5.
 35. Al-Shalah LAM, Hadi BH, Abood FM, et al. Antibacterial Effect of Aqueous Extract of Theobroma Cacao against Gram-Negative and Gram-Positive Bacteria: An in Vitro Study. *J Med Chem Sci.* 2023;6(3):464-471. doi:10.26655/JMCHMSCI.2023.3.2

36. Zhang GF, Liu X, Zhang S, Pan B, Liu ML. Ciprofloxacin derivatives and their antibacterial activities. *Eur J Med Chem.* 2018;146:599-612. doi:10.1016/j.ejmech.2018.01.078
37. Adha SD, Ibrahim M. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes*. *LenteraBio Berk Ilm Biol.* 2021;10(2):140-145. doi:10.26740/lenterabio.v10n2.p140-145

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Analisis

Case Processing Summary

		Cases					
		Valid		Missing		Total	
perlakuan		N	Percent	N	Percent	N	Percent
daya hambat	Kontrol Positif	5	100.0%	0	0.0%	5	100.0%
	30%	5	100.0%	0	0.0%	5	100.0%
	60%	5	100.0%	0	0.0%	5	100.0%
	100%	5	100.0%	0	0.0%	5	100.0%

Descriptives

perlakuan		Statistic	Std. Error
daya hambat	Kontrol Positif Mean	28.1800	.82426
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	25.8915
		Upper Bound	30.4685
	5% Trimmed Mean	28.2500	
	Median	28.5000	
	Variance	3.397	
	Std. Deviation	1.84310	
	Minimum	25.10	
	Maximum	30.00	
	Range	4.90	
	Interquartile Range	2.80	
	Skewness	-1.504	.913

		Kurtosis		2.987	2.000
	30%	Mean		20.9000	.82052
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	18.6219	
			Upper Bound	23.1781	
		5% Trimmed Mean		20.9278	
		Median		21.0000	
		Variance		3.366	
		Std. Deviation		1.83473	
		Minimum		18.30	
		Maximum		23.00	
		Range		4.70	
		Interquartile Range		3.40	
		Skewness		-.471	.913
		Kurtosis		-.487	2.000
	60%	Mean		23.1760	.43218
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	21.9761	
			Upper Bound	24.3759	
		5% Trimmed Mean		23.2122	
		Median		23.4800	
		Variance		.934	
		Std. Deviation		.96637	
		Minimum		21.60	
		Maximum		24.10	
		Range		2.50	
		Interquartile Range		1.60	

100%	Skewness		-1.366	.913
	Kurtosis		2.008	2.000
	Mean		25.0340	1.22526
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	21.6321	
		Upper Bound	28.4359	
	5% Trimmed Mean		24.9822	
	Median		24.2200	
	Variance		7.506	
	Std. Deviation		2.73976	
	Minimum		21.90	
	Maximum		29.10	
	Range		7.20	
	Interquartile Range		4.82	
	Skewness		.717	.913
	Kurtosis		.315	2.000

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
perlakuan		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
daya hambat	Kontrol Positif	.326	5	.089	.864	5	.242
	30%	.152	5	.200*	.979	5	.929
	60%	.228	5	.200*	.897	5	.394
	100%	.217	5	.200*	.963	5	.828

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
daya hambat	Based on Mean	1.362	3	16	.290
	Based on Median	.795	3	16	.515
	Based on Median and with adjusted df	.795	3	11.159	.522
	Based on trimmed mean	1.307	3	16	.306

Uji One-way ANOVA

Oneway

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol Positif	5	28.1800	1.84310	.82426	25.8915	30.4685
30%	5	20.9000	1.83473	.82052	18.6219	23.1781
60%	5	23.1760	.96637	.43218	21.9761	24.3759
100%	5	25.0340	2.73976	1.22526	21.6321	28.4359
Total	20	24.3225	3.26775	.73069	22.7931	25.8519

ANOVA

daya hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	142.073	3	47.358	12.460	.000
Within Groups	60.814	16	3.801		
Total	202.886	19			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: daya hambat

LSD

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol Positif	30%	7.28000*	1.23302	.000	4.6661	9.8939
	60%	5.00400*	1.23302	.001	2.3901	7.6179
	100%	3.14600*	1.23302	.021	.5321	5.7599
30%	Kontrol Positif	-7.28000*	1.23302	.000	-9.8939	-4.6661
	60%	-2.27600	1.23302	.083	-4.8899	.3379
	100%	-4.13400*	1.23302	.004	-6.7479	-1.5201
60%	Kontrol Positif	-5.00400*	1.23302	.001	-7.6179	-2.3901
	30%	2.27600	1.23302	.083	-.3379	4.8899

	100%	-1.85800	1.23302	.151	-4.4719	.7559
100%	Kontrol	-3.14600*	1.23302	.021	-5.7599	-.5321
	Positif					
	30%	4.13400*	1.23302	.004	1.5201	6.7479
	60%	1.85800	1.23302	.151	-.7559	4.4719

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 2. Dokumentasi

Biji cokelat dipisah dari kulitnya



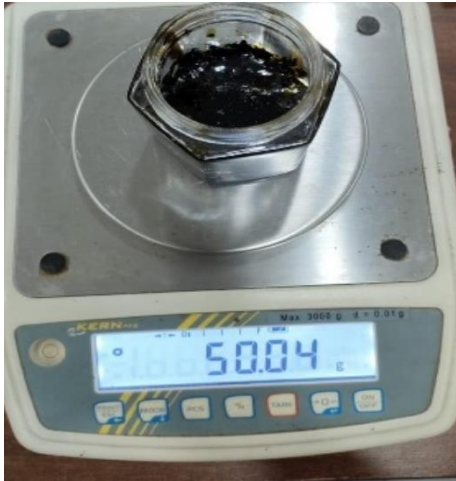
proses pengeringan biji cokelat di oven



Pengayakan serbuk biji cokelat



Pengentalan ekstrak biji cokelat menggunakan rotary evaporator



Pengenceran ekstrak dengan berbagai konsentrasi



Hasil ekstrak kental rotary evaporator



Pengujian ekstrak biji cokelat terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*



Hasil daya hambat ekstrak biji cokelat dan kelompok kontrol terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*

Lampiran 3. Surat Etik Penelitian



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

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK
DESCRIPTION OF ETHICAL APPROVAL
"ETHICAL APPROVAL"
 No : 1276/KEPK/FKUMSU/2024

Protokol penelitian yang diusulkan oleh :
The Research protocol proposed by

Peneliti Utama : Vito Ricardo
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

"EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAKS BIJI COKELAT (*Theobroma cacao* L.) DALAM MENGHAMBAT PERTUMBUHAN BAKTERI *Shigella dysenteriae*"

"EFFECTIVENESS ANTIBACTERIAL OF CHOCOLATE BEAN EXTRACT (*Theobroma cacao* L.) IN INHIBITING THE GROWTH OF *Shigella dysenteriae* BACTERIA"

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 06 September 2024 sampai dengan tanggal 06 September 2025
The declaration of ethics applies during the periode September 06, 2024 until Septembert 06, 2025



Medan, 06 September 2024
 Ketua
 Assoc. Prof. Dr. dr. Nurfady, MKT

Lampiran 4. 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 : 3386/MEDA/2024
Lamp : -
Hal : Hasil Identifikasi

Kepada YTH ,

Sdr/i : Vito Ricardo
NPM : 2108260171
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. 193-01-23-1990-05-2001

Lampiran 5. Skrining Fitokimia Ekstrak Biji Cokelat



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.270/XIX/SKF/USU/2024

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

VITO RICARDO

Dengan hasil uji Skrining sebagai berikut :

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

Demikian surat ini diperbuat untuk dipergunakan seperlunya.

Medan, 20 September 2024

Kepala Laboratorium


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

Lampiran 7. Artikel Penelitian

**EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK BIJI COKELAT (*Theobroma cacao* L.)
DALAM MENGHAMBAT PERTUMBUHAN BAKTERI *Shigella dysenteriae***

Vito Ricardo¹, Nurfadhly²,

¹*Faculty Medicine, University Muhammadiyah Sumatera Utara*

²*Microbiology Departement, University Muhammadiyah Sumatera Utara*

Email : ricardovito03@gmail.com

Abstract

Pendahuluan: *Shigella dysenteriae* merupakan bakteri penyebab penyakit disentri basiler. Biji cokelat dapat menjadi salah satu pilihan terapi alternatif untuk kasus disentri yang kaya akan senyawa polifenol, termasuk katekin, leukosianidin dan, antosianin. Tujuan penelitian ini untuk membuktikan aktivitas antibakteri ekstrak biji cokelat (*Theobroma cacao* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*. **Metode:** Penelitian ini menggunakan metode *true experimental design*. Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Teknik yang digunakan untuk mengukur aktivitas antibakteri adalah metode difusi cakram dengan mengukur zona jernih dengan konsentrasi 30%, 60%, dan 100% dan mengetahui konsentrasi yang paling efektif terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*. **Hasil:** Ekstrak biji cokelat (*Theobroma cacao* L.) pada konsentrasi 30%, 60%, dan 100%, K (+) yaitu Ciprofloksasin dan K (-) yaitu aquades diperoleh nilai ($p=0,000$) yang berarti terdapat perbedaan daya pada setiap kelompok. Konsentrasi 100% dari ekstrak biji cokelat paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* dibandingkan dengan konsentrasi 30% dan 60%. **Kesimpulan:** terdapat aktivitas antibakteri ekstrak biji cokelat (*Theobroma cacao* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*.

Kata kunci: Biji cokelat, *Theobroma cacao* L, *Shigella dysenteriae*

Introduction: *Shigella dysenteriae* is the bacterium that causes bacillary dysentery. Cacao seeds can be one of the alternative therapeutic options for dysentery cases that are rich in polyphenolic compounds, including catechins, leucocyanidins and anthocyanins. The aim of this study was to prove the antibacterial activity of cacao seed extract (*Theobroma cacao* L.) against the growth of *Shigella dysenteriae* bacteria. **Methods:** This study used the true experimental design method. Extraction was done by maceration using 96% ethanol solvent. The technique used to measure antibacterial activity is the disc diffusion method by measuring the clear zone with a concentration of 30%, 60%, and 100% and knowing the most effective concentration against the growth of *Shigella dysenteriae* bacteria. **Results:** Cacao seed extract (*Theobroma cacao* L.) at concentrations of 30%, 60%, and 100%, K (+) which is Ciprofloxacin and K (-) which is aquadest obtained a value ($p = 0.000$) which means there is a difference in power in each group. The 100% concentration of cacao seed extract was most effective in inhibiting the growth of *Shigella dysenteriae* bacteria compared to the 30% and 60% concentrations. **Conclusion:** there is antibacterial activity of cacao seed extract (*Theobroma cacao* L.) against the growth of *Shigella dysenteriae* bacteria.

Keywords: Cocoa seed, *Theobroma cacao* L, *Shigella dysenteriae*

Pendahuluan

Shigella adalah sekelompok bakteri patogen usus yang dikenal sebagai penyebab utama penyakit disentri basiler.¹ Setiap tahun tercatat 165 juta kasus infeksi *Shigella* yang menyebabkan 1,1 juta kematian di negara-negara berkembang, dengan tingkat morbiditas dan mortalitas yang sangat tinggi (99%). Dari jumlah tersebut, 69% kematian terjadi pada anak-anak berusia di bawah lima tahun.² Pada tahun 2022, 30 negara EU (*European Union*) / EEA (*European Economic Area*) melaporkan 4.149 kasus infeksi *Shigella* yang terkonfirmasi. Tingkat pemberitahuan EU/EEA secara keseluruhan untuk kasus infeksi *Shigella* adalah 1,5 kasus per 100.000 penduduk pada tahun 2022.³ Di Indonesia, angka kematian balita akibat disentri dilaporkan sekitar 2,8 juta per tahun. Prevalensi disentri bervariasi di setiap daerah, dengan perkiraan 10% dari populasi dunia dapat terinfeksi penyakit ini. Meskipun jarang terjadi, disentri dilaporkan pada 5% dari 3.848 penderita disentri berat yang menderita disentri basiler. Faktor-faktor seperti iklim, letak geografis, dan demografi berperan dalam penyebaran penyakit ini.⁴

Pengobatan utama terhadap infeksi *Shigella dysenteriae* adalah dengan pemberian antibiotik.⁵ Pedoman WHO

2016 untuk pengobatan infeksi *Shigella dysenteriae* merekomendasikan Ciprofloxacin sebagai terapi utama.⁶ Pivmecillinam dan ceftriaxone efektif untuk strain *Shigella* yang resisten, namun mahal dan rumit dalam penggunaan. Kotrimoksazol dan metronidazole juga digunakan, meski metronidazole memiliki efek samping serius dan kurang efektif.⁷ Setiap tahun, resistensi antimikroba menyebabkan sekitar 700.000 kematian di seluruh dunia. Angka ini diperkirakan akan meningkat drastis menjadi 10 juta kematian per tahun pada 2050.⁸

Biji cokelat (*Theobroma cacao* L.) merupakan salah satu bahan alam yang dapat menjadi salah satu pilihan terapi alternatif untuk kasus disentri. Biji cokelat kaya akan senyawa polifenol, termasuk katekin (33-42%), leukosianidin (23-25%), dan antosianin (5%). Katekin dalam biji cokelat telah terbukti memiliki aktivitas antioksidan dan antibakteri yang bermanfaat bagi kesehatan tubuh.⁹ Katekin terbukti memiliki sejumlah efek bakterisidal untuk bakteri gram positif dan gram negatif, termasuk strain yang resisten terhadap berbagai obat. Selain itu, molekul-molekul ini terbukti menghambat aktivitas faktor virulensi, khususnya racun, sehingga mengurangi patogenisitas bakteri tertentu.¹⁰

Penelitian sebelumnya melaporkan ekstrak biji cokelat (*Theobroma cacao* L.) memiliki pengaruh signifikan terhadap pertumbuhan *Enterococcus faecalis* mulai dari konsentrasi 6,25% hingga 100%.¹¹ Selanjutnya penelitian lain juga melaporkan bahwa fermentasi buah cokelat merah (*Theobroma cacao* L. *varietas criollo*) menunjukkan aktivitas antibakteri paling tinggi terhadap *Shigella dysenteriae*.¹² Oleh karena itu, peneliti tertarik melakukan penelitian tentang efektivitas ekstrak biji cokelat (*Theobroma cacao* L.) sebagai antibakteri dalam menghambat pertumbuhan *Shigella dysenteriae* melalui studi *in vitro*.

Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan desain *post-test only control group*. Metode yang digunakan adalah perbandingan kelompok statis (*Static Group Comparison*), di mana pengukuran (observasi) dilakukan setelah kelompok perlakuan menerima intervensi. Hasil pengukuran pada kelompok perlakuan kemudian dibandingkan dengan hasil pengukuran pada kelompok kontrol yang tidak menerima intervensi (kontrol negatif dengan aquades) dan kelompok kontrol yang menerima Ciprofloxacin (kontrol positif). Penelitian ini bertujuan untuk menguji zona hambat ekstrak biji cokelat (*Theobroma cacao* L.) terhadap

pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*. Sampel penelitian ini bakteri *Shigella dysenteriae* akan diberikan perlakuan sebanyak 25 kali

Hasil Penelitian

Skrining Fitokimia

4.1.1 Skrining Fitokimia Ekstrak Biji Cokelat (*Theobroma cacao* L.)

Tabel 4.7 Hasil skrining fitokimia ekstrak biji cokelat (*Theobroma cacao* L.)

Uji Fitokimia	Hasil
Flavonoida	Positif
Alkaloida	Positif
Tanin	Positif
Saponin	Positif

Dari hasil uji skrining fitokimia senyawa bahan alam yang terdapat pada ekstrak biji cokelat didapati senyawa flavonoida, alkaloida, tanin, saponin.

Tabel 4.8 Hasil pengukuran zona hambat ekstrak biji cokelat terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*

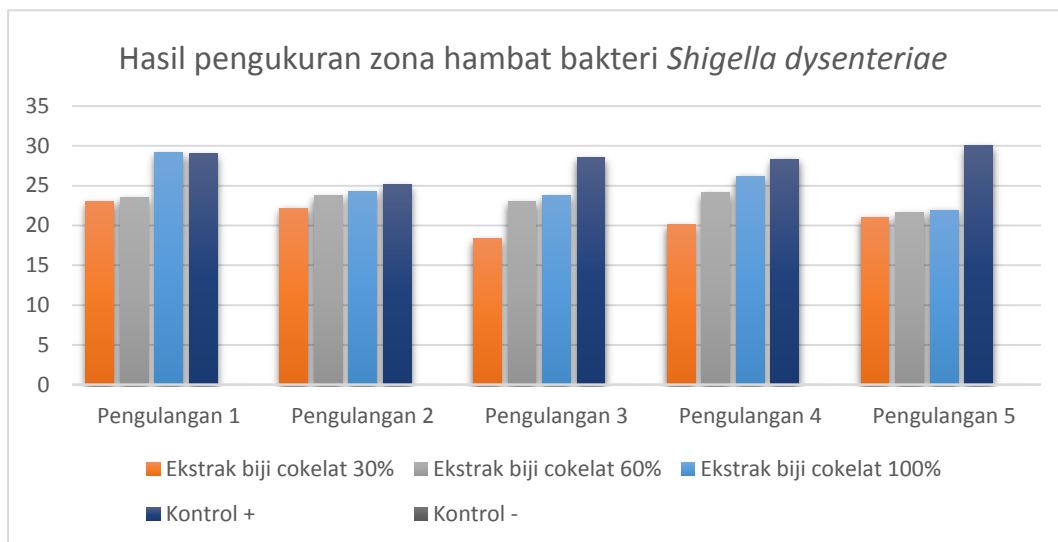
Diameter zona hambat pertumbuhan bakteri					
Kelompok Perlakuan	<i>Shigella dysenteriae</i> (mm)				Kontrol
	30%	60%	100%		
				Kontrol	
				ol	
				+	-
1	23,00	23,48	29,10	29,00	0

2	22,15	23,70	24,22	25,10	0	Ekstraks 100%	5	0,828
3	18,30	23,00	23,75	28,50	0	Kontrol Positif	5	0,242
4	20,05	24,10	26,20	28,30	0			
5	21,00	21,60	21,90	30,00	0			
Rata-rata	20,9	23,17	25,034	28,18	0			
		6						

Berdasarkan tabel 4.3 keseluruhan kelompok data memiliki Signifikansi (p) > 0,05 sehingga data berdistribusi normal.

Pada tabel 4.2 didapati bahwa konsentrasi 30% memiliki nilai rata-rata 20,9 mm, konsentrasi 60% memiliki nilai rata-rata 23,176 mm, konsentrasi 100%

Tabel 4.10 Hasil Uji Homogenitas zona hambat pertumbuhan terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*



Gambar 4. 2 Hasil pengukuran zona hambat bakteri *Shigella dysenteriae*

memiliki nilai rata-rata 25,034 mm, dan kontrol positif yaitu Ciprofloxacin memiliki nilai rata-rata 28,18 mm serta kontrol negatif yaitu aquades memiliki nilai rata-rata 0 mm.

Tabel 4.9 Hasil Uji Normalitas zona hambat pertumbuhan terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*

Perlakuan	n	Sig.
Ekstraks 30%	5	0,929
Ekstraks 60%	5	0,394

Variabel	Sig.	Keterangan
Diameter	0,290	Homogen
Zona		
Hambat		

*Levene's test of variance

Pada hasil uji homogenitas tabel diatas menunjukkan bahwa nilai signifikansi (p) >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 *Shigella dysenteriae* pada semua kelompok perlakuan dilakukan uji *One way ANOVA*.

Tabel 4.11 Perbedaan diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*

Perlakuan	Mean±SD	Sig.
Kontrol Positif	28,18 ± 1,843	
Ekstrak biji cokelat 30%	20,9 ± 1,834	0,000
Ekstrak biji cokelat 60%	23,176 ± 0,966	
Ekstrak biji cokelat 100%	25,03 ± 2,739	

Hasil pengujian *one-way ANOVA* pada tabel di atas didapati bahwa signifikansi (p) < 0,05, artinya data menunjukkan bahwa ekstrak biji cokelat (*Theobroma cacao* L.) terdapat perbedaan yang nyata antar kelompok. Berdasarkan hasil uji *one-way ANOVA* menunjukkan hasil terdapat perbedaan yang signifikan diameter zona hambat di antara kelompok perlakuan, maka penelitian ini dapat dilanjutkan dengan uji *post hoc* berupa uji LSD (*Least Significant Difference*).

Tabel 4. 12 Perbedaan zona Hambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* antar kelompok

Variabel	Perlakuan	Sig.
Bakteri <i>Shigella dysenteriae</i>	K (+) K 30%	0,000*
	K 60%	0,001*
	K 100%	0,021*
	K 30% K (+)	0,000
	K 60%	0,083*
	K 100%	0,004
	K 60% K (+)	0,001
	K 30%	0,083*
	K 100%	0,151*
	K 100% K (+)	0,021
	K 30%	0,004
	K 60%	0,151*

*Tidak berbeda bermakna

Pembahasan

Pada hasil pengujian Post Hoc di atas menunjukkan bahwa kelompok kontrol positif memiliki perbedaan yang nyata dengan kelompok 30%, 60%, dan 100%. Hal ini di tandai dengan nilai p < 0,05. Kelompok konsentrasi 30% tidak memiliki perbedaan yang nyata dengan konsentrasi 60% karena nilai p > 0,05. Akan tetapi konsentrasi 30% memiliki perbedaan yang nyata dengan kelompok kontrol positif dan konsentrasi 100% karena p < 0,05. Kelompok konsentrasi 60% tidak memiliki perbedaan nyata dengan konsentrasi 100% karena nilai p > 0,05.

Berdasarkan skrining fitokimia ekstrak biji cokelat (*Theobroma cacao* L.)

yang telah dilakukan, menunjukkan bahwa ekstrak biji cokelat (*Theobroma cacao* L.) positif mengandung flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian sebelumnya tentang skrining fitokimia biji cokelat mengandung senyawa aktif seperti flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin³⁰. Pada biji cokelat juga mengandung bubuk bebas lemak, kandungan senyawa polifenol seperti katekin dan antosianin berkisar 5-18% yang merupakan senyawa bioaktif yang memiliki aktivitas antimikroba. Senyawa polifenol, seperti katekin, bekerja dengan merusak protein sel dan mengubah permeabilitas dinding sel, serta merusak membran sitoplasma yang menyebabkan kebocoran metabolit penting dan aktivasi enzim bakteri. Antosianin, yang juga merupakan flavonoid, berfungsi sebagai antioksidan dan antimikroba dengan merusak membran sel bakteri, menyebabkan kebocoran sitoplasma, lisis sel, dan kematian bakteri.³¹

Dari hasil penelitian uji zona hambat ekstrak biji cokelat (*Theobroma cacao* L.) terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* secara in vitro, didapati zona hambat yang memiliki perbedaan nilai masing-masing konsentrasi: pada konsentrasi 30% diperoleh rata-rata diameter zona hambat terkecil 20,9 mm yaitu zona hambat kuat,

pada konsentrasi 60% diperoleh rata-rata diameter zona hambat 23,176 mm yaitu zona hambat sangat kuat, dan pada konsentrasi 100% memiliki rata-rata diameter zona hambat 25,034 mm yaitu zona hambat sangat kuat. Kelompok kontrol positif, yaitu Ciprofloxacin, memiliki diameter zona hambat terbesar 28,18 mm, terlihat pada konsentrasi 60% dan 100% zona hambat yang dihasilkan > 20 mm yang berarti sangat kuat melebihi zona hambat rata-rata antibiotik Ciprofloxacin yaitu sebesar 23,38 mm. Penelitian ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak biji cokelat, semakin besar diameter zona hambatnya. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya tentang aktivitas antibakteri ekstrak biji cokelat terhadap bakteri *Streptococcus mutans*, menyebutkan bahwa semakin tinggi konsentrasi suatu ekstrak maka akan semakin besar pula zona hambat yang diperoleh³².

Pada penelitian ini ditemukan hasil bahwa terdapat aktivitas antibakteri biji cokelat (*Theobroma cacao* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*, berdasarkan diameter zona hambat yang dihasilkan. Aktivitas antibakteri biji cokelat terhadap semua kelompok uji menunjukkan hambatan pada semua konsentrasi, dengan konsentrasi tertinggi

pada 100%. Sejalan dengan penelitian sebelumnya tentang potensi biji cokelat (*Theobroma cacao* L.) sebagai antibakteri terhadap *Streptococcus Pyogenes*, disebutkan bahwa biji cokelat paling efektif dalam menghambat dan membunuh *Streptococcus Pyogenes* pada konsentrasi 100%³³. Penelitian sebelumnya juga menunjukkan bahwa senyawa bioaktif biji cokelat (*Theobroma cacao* L.) memiliki aktivitas antimikroba yang signifikan. Pada pemeriksaan *Scanning Electron Microscope* (SEM) menunjukkan pembentukan filamen pada sel *Shigella dysenteriae*, yang mengindikasikan stres seluler akibat ekstrak cokelat³⁴. Selain itu, ekstrak etanolik cokelat juga mengurangi jumlah koloni *Shigella dysenteriae* di usus tikus³⁴. Penelitian sebelumnya juga tentang potensi ekstrak biji cokelat (*Theobroma cacao* L.) sebagai antibakteri *Shigella dysenteriae* konsentrasi 30% menunjukkan aktivitas antibakteri pada spektrum luas isolat bakteri gram negatif dan gram positif³⁵. Hasil penelitian sebelumnya juga menunjukkan bahwa ekstrak biji cokelat pada konsentrasi 6,25% hingga 100% dan dapat menghambat pertumbuhan *Enterococcus faecalis*. Kemampuan biji cokelat dalam menghambat pertumbuhan *Enterococcus faecalis* dipengaruhi oleh kandungan polifenol yang diketahui memiliki aktivitas antioksidan dan antibakteri¹¹.

Kontrol positif dalam penelitian ini adalah Ciprofloxacin. Pada hasil penelitian, kontrol positif menunjukkan efek hambatan yang paling tinggi. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menunjukkan aktivitas antimikroba Ciprofloxacin, antibiotik golongan fluoroquinolone generasi kedua, yang memiliki aktivitas antimikroba dan sifat farmakokinetik yang sangat baik serta sedikit efek samping, yang diperkenalkan dalam praktik klinis untuk pengobatan berbagai infeksi bakteri selama sekitar 3 dekade³⁶. Berdasarkan pengolahan dan analisis data yang dilakukan, menunjukkan adanya perbedaan aktivitas antibakteri ekstrak biji cokelat terhadap *Shigella dysenteriae* pada konsentrasi 30%, 60%, dan 100%. Meskipun ekstrak biji cokelat dapat menghambat pertumbuhan *Shigella dysenteriae*, efektivitasnya tidak lebih baik dibandingkan dengan Ciprofloxacin. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh efek antibakteri yang lebih rendah dibandingkan dengan antibiotik Ciprofloxacin, selain itu dapat disebabkan karena kurangnya penyerapan pada rendaman ekstrak biji cokelat dalam blank disk uji, atau kurangnya bahan antibakteri dari sampel ekstrak biji cokelat dapat menyebabkan penurunan efek zona hambat yang dihasilkan³⁷.

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan bahwa aktivitas ekstrak biji cokelat memiliki potensi sebagai agen antimikroba terhadap *Shigella dysenteriae*, Dengan konsentrasi zona hambat terbesar pada konsentrasi 100% meskipun demikian, penelitian lebih lanjut diperlukan untuk memahami mekanisme kerja yang mendasari efek ini dan untuk menguji efektivitasnya dalam kondisi yang lebih bervariasi, sehingga dapat memberikan kontribusi yang lebih besar dalam pengembangan produk alami sebagai alternatif pengendalian bakteri.

Kesimpulan

Efektivitas ekstrak biji cokelat (*Theobroma cacao* L.) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* berbanding lurus dengan besarnya konsentrasi ekstrak biji cokelat (*Theobroma cacao* L.).

DAFTAR PUSTAKA

1. Pakbin B, Brück WM, Brück TB. Molecular Mechanisms of Shigella Pathogenesis; Recent Advances. *Int J Mol Sci.* 2023;24(3). doi:10.3390/ijms24032448
2. Prabhurajeshwar C, Chandrakanth Kelmani R. Shigellosis: A conformity review of the microbiology, pathogenesis and epidemiology with consequence for prevention and management issues. *J Pure Appl Microbiol.* 2018;12(2):405-417. doi:10.22207/JPAM.12.1.48
3. European Centre for Disease Prevention and Control. Shigellosis. Published online 2024:1-9.
4. Kantona E, Mufti L, Isnaeni A, Safitri Y. Faktor Penyebab Kejadian Anak Disentri. *Plenary Heal J Kesehat Paripurna.* 2024;1(1):1-9.
5. Kim YJ, Park KH, Park DA, et al. Guideline for the antibiotic use in acute gastroenteritis. *Infect Chemother.* 2019;51(2):217-243. doi:10.3947/ic.2019.51.2.217
6. Salleh MZ, Nik Zuraina NMN, Hajissa K, Ilias MI, Banga Singh KK, Deris ZZ. Prevalence of Multidrug-Resistant and Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing Shigella Species in Asia: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Antibiotics.* 2022;11(11). doi:10.3390/antibiotics11111653
7. Jelita SF, Wardhana yoga windhu, Chaerunisaa anis yohana. Aktivitas Antibakteri Herbal Terhadap Shigellosis (*Shigella dysentriae*). *Farmaka.* 2020;18(1):33-45.
8. Tang KWK, Millar BC, Moore JE. Antimicrobial Resistance (AMR). *Br J Biomed Sci.* 2023;80(June):1-11. doi:10.3389/bjbs.2023.11387
9. Kumalasari DC, Suswati E. Efek Ekstrak Etanol Biji Kakao (*Theobroma cacao*) sebagai Antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* secara In Vitro (The Effect of Ethanolic Extract of Cocoa Beans (*Theobroma cacao*) as an Antibacterial against *Pseudomonas aeruginosa* In Vitro). 2015;3(1):29-33.
10. Wu M, Brown AC. Applications of catechins in the treatment of bacterial infections. *Pathogens.* 2021;10(5). doi:10.3390/pathogens10050546

11. Hafidhah N, Hakim RF, Fakhurrrazi F. Pengaruh Ekstrak Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap Pertumbuhan *Enterococcus faecalis* pada Berbagai Konsentrasi. *J Caninus Denstistry*. 2017;2(2):92-96.
12. Yuniarti F, Hidayati W, Fitriani F, Sarah A. Skrining Antibakteri dan Identifikasi Molekular Bakteri Asam Laktat dari Fermentasi Buah Kakao Merah (*Theobroma cacao* L. Varietas Criollo) Terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae*. *Al-Kauniyah J Biol*. 2023;16(1):21-29. doi:10.15408/kauniyah.v16i1.17817
13. Lukito, A. M., Mulyono, Tetty, Y., Iswanto H. *Budidaya Tanaman Perkebunan Kakao*.; 2022.
14. Cora GS, Rukmana D, Amrullah A. Persepsi Petani Kakao Terhadap Teknik Sambung Samping Di Desa Batu Lappa, Sulawesi Selatan. *J Sos Ekon Pertan*. 2018;14(1):15. doi:10.20956/jsep.v14i1.3642
15. Febrianto NA, Wang S, Zhu F. Chemical and biological properties of cocoa beans affected by processing: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2022;62(30):8403-8434. doi:10.1080/10408398.2021.1928597
16. Jean-Marie E, Bereau D, Robinson JC. Benefits of polyphenols and methylxanthines from cocoa beans on dietary metabolic disorders. *Foods*. 2021;10(9). doi:10.3390/foods10092049
17. Mutha RE, Tatiya AU, Surana SJ. Flavonoids as natural phenolic compounds and their role in therapeutics: an overview. *Futur J Pharm Sci*. 2021;7(1). doi:10.1186/s43094-020-00161-8
18. Manso T, Lores M, de Miguel T. Antimicrobial Activity of Polyphenols and Natural Polyphenolic Extracts on Clinical Isolates. *Antibiotics*. 2022;11(1):1-18. doi:10.3390/antibiotics11010046
19. Bae JY, Seo YH, Oh SW. Antibacterial activities of polyphenols against foodborne pathogens and their application as antibacterial agents. *Food Sci Biotechnol*. 2022;31(8):985-997. doi:10.1007/s10068-022-01058-3
20. Sari N, Erina, Abrar M, Wardani E, Fakhurrrazi, Daud R. Isolasi dan Identifikasi *Salmonella* Sp dan *Shigella* Sp Pada Feses Kuda Bendi. *J Chem Inf Model*. 2018;2(3):401-410.
21. Suswati E, Purnamasari DH, Wisudanti DD, C D, Mufida M. Indeks adhesi *Shigella dysenteriae* pada enterosit mencit galur BALB/pasca pemaparan protein pili 42 kDa. *J Kedokt Syiah Kuala*. 2020;20(3):131-137. doi:10.24815/jks.v20i3.18690
22. Irawan J, Hidayah Putri M, Himayani R, Dewi Puspita Sari R. Disentri Basiler. *Disen Basiler Medula*. 2021;11(2):278-280.
23. Jawetz, Melnick & A. *Medical Microbiology 18th Edition*. Vol 155.; 2019. doi:10.1093/milmed/155.7.a26
24. Kayaputri IL, Sumanti DM, Djali M, Indarto R, Dewi DL. KAJIAN FITOKIMIA EKSTRAK KULIT BIJI KAKAO (*Theobroma cacao* L.). *Chim Nat Acta*. 2014;2(1):83-90. doi:10.24198/cna.v2.n1.9140
25. Arbi TA, Afrina A, Guntara DJ. KONSENTRASI HAMBAT DAN BUNUH MINIMUM FORMULA HIDROGEL EKSTRAK DAUN TIN (*Ficus carica*) TERHADAP PERTUMBUHAN *Staphylococcus*

- aureus. *Cakradonya Dent J*. 2023;13(1):22-31. doi:10.24815/cdj.v13i1.20915
26. Sasongko H, Sugiyarto S, Efendi NR, Pratiwi D, Setyawan AD, Widiyani T. Analgesic Activity of Ethanolic Extracts of Karika Leaves (*Carica pubescens*) In Vivo. *JPSCR J Pharm Sci Clin Res*. 2016;1(2):83. doi:10.20961/jpscr.v1i2.1938
 27. Primadhamanti A, Elsyana V, Savita CR. Aktivitas Antibakteri Pelepah Pisang Mas (*Musa acuminata* Colla), Pisang Kepok (*Musa x paradisiaca* L) dan Pisang Kluthuk (*Musa balbisiana* Colla) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*. *J Ilmu Kedokt dan Kesehatan*. 2022;9(1):539-548. doi:10.33024/jikk.v9i1.6238
 28. Bakhtra DDJ. Uji Aktivitas Fraksi Dari Ekstrak Daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* (Lour) Merr.) Terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae*. *J Farm Higea*. 2018;10(1):10-18.
 29. Annisa Primadhamanti, Agustina Retnaningsih ASN. Antimicrobial Activity Of Combination Of Mengkudu Leaves (*Morinda Citrifolia* L.) And Papaya Leaves (*Carica Papaya* L.) Water Juice Against *Escherichia Coli* And *Shigella Dysenteriae* Bacteria. *J Anal Farm*. 2019;1(1):73-83.
 30. Rachmawaty A, Mu'nisa, Hasri. Analisis Fitokimia Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.) sebagai Kandidat Antimikroba. Proceedings of National Seminar. Published online 2017:667-670.
 31. Syaflida R, Dohude GA, Isnandar I, Sepriyani R. Influence of *Theobroma cacao* L on the adhesion of *Streptococcus mutans*. *J Syiah Kuala Dent Soc*. 2024;8(2):162-166. doi:10.24815/jds.v8i2.29878
 32. Rohmatin IA, Suparno S. Effect of Cocoa Bean Extract Concentration on the Diameter of the Clear Zone Preparing *Streptococcus Mutans* Bacteria. *J Penelit Pendidik IPA*. 2023;9(SpecialIssue):1277-1283. doi:10.29303/jppipa.v9ispecialissue.4703
 33. 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
 34. pipiet wulandari. ANTIBACTERIAL EFFECT OF ETHANOL EXTRACT COCOA BEANS (*Theobroma cacao*) ON GROWTH IN VITRO BY *Shigella dysenteriae*. *J Med planta*. 2012;vol 1 no 5.
 35. Al-Shalah LAM, Hadi BH, Abood FM, et al. Antibacterial Effect of Aqueous Extract of *Theobroma Cacao* against Gram-Negative and Gram-Positive Bacteria: An in Vitro Study. *J Med Chem Sci*. 2023;6(3):464-471. doi:10.26655/JMCHEMSCI.2023.3.2
 36. Zhang GF, Liu X, Zhang S, Pan B, Liu ML. Ciprofloxacin derivatives and their antibacterial activities. *Eur J Med Chem*. 2018;146:599-612. doi:10.1016/j.ejmech.2018.01.078
 37. Adha SD, Ibrahim M. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes*. *LenteraBio Berk Ilm Biol*. 2021;10(2):140-145. doi:10.26740/lenterabio.v10n2.p140-145

