

# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Infeksi bakteri merupakan salah satu masalah kesehatan yang serius, terutama di era modern saat ini. Hal ini disebabkan oleh semakin banyaknya bakteri yang berkembang menjadi resisten terhadap antibiotik konvensional. Infeksi bakteri yang resisten terhadap obat menimbulkan ancaman nyata bagi kesehatan masyarakat karena dapat meningkatkan angka kesakitan dan kematian setiap tahunnya (Kemenkes RI, 2023). Salah satu bakteri patogen yang sering menjadi penyebab infeksi adalah *Staphylococcus aureus*. Bakteri ini dapat menimbulkan berbagai penyakit, mulai dari infeksi kulit ringan hingga infeksi berat yang mengancam jiwa, dengan angka kematian yang cukup tinggi (Cheung et al., 2021).

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri penyebab infeksi saluran napas yang relatif sering dijumpai pada manusia. Beberapa infeksi yang disebabkan oleh bakteri ini yaitu infeksi kulit (bisul, impetigo, furunkel, infeksi luka, *staphylococcal scalded skin syndrome*) dan infeksi saluran pernapasan (pneumonia, abses paru, eksaserbasi penyakit paru kronis). Mikroba ini ditemukan di hidung pada 30–50% orang dewasa sehat, di feses sekitar 20%, dan di kulit sekitar 5–10%, terutama di ketiak dan perineum (Handayani et al., 2020).

Antibiotik merupakan terapi utama dalam penanganan infeksi bakteri. Namun, penyalahgunaan dan penggunaan yang tidak tepat telah memicu munculnya resistensi antibiotik, seperti *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Resistensi antimikroba saat ini telah menjadi krisis kesehatan global karena menyebabkan tingginya angka kematian akibat infeksi bakteri resisten di berbagai wilayah (Murray et al., 2022). *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) merupakan penyebab utama infeksi nosokomial. Nosokomial dapat terjadi ketika sedang menjalani perawatan di Rumah Sakit, penularan infeksi ini bisa terjadi secara langsung maupun tidak langsung. Penularan secara langsung ditularkan melalui kontak dengan pasien yang dirawat, sedangkan tidak langsung dapat melalui peralatan medis dan lingkungan sekitar perawatan (Heriyati et al., 2020).

Di Indonesia, permasalahan resistensi antibiotik terus meningkat dari tahun ke tahun dan menjadi salah satu tantangan serius di bidang Kesehatan (Saidin et al, 2021). Prevalensi infeksi MRSA di Asia mencapai 70% (Pristianingrum et al., 2021). Di Indonesia Berdasarkan data tahun 2023 di rumah sakit kelas A yang mencakup seluruh spesimen dan seluruh ruangan, prevalensi MRSA tercatat sebesar 33% dengan total 3411 kasus (WHO, 2022). Resistensi antibiotik merupakan permasalahan global yang harus dikendalikan karena dapat menurunkan antibiotik menjadi tidak efektif untuk mengobati penyakit infeksi karena efektivitas penyakit infeksi, meningkatkan resiko penularan penyakit infeksi dan meningkatkan biaya kesehatan (Hestiyani et al., 2021). MRSA merupakan *Staphylococcus aureus* yang mampu melawan

berbagai antibiotik seperti methicillin, oxacillin, nafcillin, cephalosporins, imipenem, dan antibiotik beta-laktam lainnya (Mitiku et al., 2021). Mekanisme resistensi MRSA terjadi karena *Staphylococcus aureus* menghasilkan *Penicillin Binding Protein* (PBP2a) yang dikode oleh gen *mecA* yang memiliki afinitas rendah terhadap metisilin (Rahman et al., 2023).

Indonesia menjadi negara tropis dengan ekosistem bermacam macam dan berlimpah, yaitu berupa tumbuhan, jamur, hewan, dan mikroba. Sekitar 30.000 spesies tumbuhan diduga tumbuh di Indonesia. Sebesar 3000 jenis tumbuhan telah diwariskan dari generasi ke generasi oleh warga setempat di Indonesia guna menjaga kesehatan, memulihkan kesehatan dan merawat kecantikan tubuh. Penggunaan tanaman untuk pengobatan dikenal sebagai obat tradisional. Oleh karena itu, masyarakat lokal yang terdapat di Indonesia sudah memanfaatkan bahan tanaman menjadi obat secara nyata (Asma et al., 2022).

Salah satu tumbuhan yang dapat digunakan sebagai pengobatan yaitu tanaman kakao (*Theobroma cacao* L.). Tanaman kakao (*Theobroma cacao* L.) tidak hanya terkenal karena nilai ekonomisnya dalam produksi coklat, tetapi juga memiliki potensi terapeutik yang mencakup aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen seperti *Staphylococcus aureus*. Sebagai contoh, ekstrak daun kakao, khususnya fraksi etil asetat, menunjukkan zona hambat terhadap *S. aureus* (6,84 mm) pada konsentrasi 100 µg/mL (Dulfo et al., 2025). Bagian dari tanaman kakao, seperti biji dan daun, mengandung senyawa bioaktif yang memiliki sifat antimikroba. Senyawa tersebut meliputi flavonoid, saponin, tanin, dan alkaloid, yang berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri (Pohan et

al., 2021). Fenomena yang mendasari pemilihan daun kakao dalam penelitian ini adalah tingginya ketersediaan tanaman kakao di Indonesia yang belum diikuti dengan pemanfaatan optimal pada bagian daunnya.

Dalam praktik pengobatan tradisional, daun kakao (*Theobroma cacao* L.) telah digunakan secara langsung oleh masyarakat. Daun kakao (*Theobroma cacao* L.) sering digunakan secara langsung seperti direbus dan diminum sebagai teh/tonik untuk mengatasi kelemahan tubuh serta diare, atau daun segar ditempelkan pada luka untuk menghentikan perdarahan dan bertindak sebagai antiseptik lokal. Kajian etnobotani dan penelitian modern mendukung tradisi ini: beberapa studi lapangan dan uji laboratorium melaporkan penggunaan daun kakao sebagai obat antimalaria/tonik dan sebagai ramuan tradisional untuk keluhan pencernaan (Komlaga et al., 2021). Selain itu, menurut Duke (2016), daun kakao (*Theobroma cacao* L.) digunakan secara tradisional sebagai tonik untuk mengatasi kelemahan tubuh dan daun kakao digunakan secara topikal dengan cara ditempelkan pada bagian tubuh yang terluka sebagai antiseptik alami dan membantu proses penyembuhan luka, termasuk dalam menghentikan perdarahan ringan.

Hasil penelitian peneliti menemukan bahwa ekstrak daun kakao dapat menghambat pertumbuhan bakteri MRSA. Hasil ini sejalan dengan penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa daun kakao mengandung senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antibakteri, seperti flavonoid, saponin, tanin, fenolat, theobromine, kafein, antosianin, leucoantosianin, dan katekol (Mandhaki et al., 2021). Ekstrak daun kakao juga dilaporkan memiliki aktivitas

antibakteri yang signifikan terhadap beberapa mikroba patogen, seperti *Cutibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis* (Putri & Kaliu, 2022). Didukung oleh teori Salman et al (2024), menyebutkan bahwa proses ekstraksi etanol dari daun kakao diketahui menghasilkan senyawa aktif yang berpotensi sebagai antibakteri terhadap berbagai bakteri pathogen.

Berdasarkan latar belakang diatas, peneliti telah melakukan dan ini mengeksplorasi potensi antibakteri ekstrak daun kakao terhadap *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) sebagai upaya dalam pengembangan alternatif pengobatan berbasis bahan alam yang lebih aman dan efektif dalam menghadapi permasalahan resistensi antibiotik.

## **B. Rumusan Masalah**

Apakah ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao* L.) memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)?

## **C. Tujuan Penelitian**

Untuk mengetahui potensi antibakteri ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).

## **D. Manfaat Penelitian**

### **1. Manfaat Teoritis**

Penelitian ini diharapkan dapat memperkaya literatur ilmiah di bidang mikrobiologi dan farmasi bahan alam, khususnya mengenai potensi

antibakteri dari ekstrak daun kakao terhadap bakteri resisten *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).

## 2. Manfaat Praktis

Hasil penelitian ini dapat memberikan informasi ilmiah kepada masyarakat dan tenaga kesehatan tentang pemanfaatan daun kakao sebagai antibakteri alternatif yang mudah diperoleh, aman, dan ekonomis dalam pengendalian infeksi MRSA.

## 3. Manfaat Kebijakan

Penelitian ini dapat menjadi bahan pertimbangan bagi institusi kesehatan, akademisi, dan pemangku kebijakan dalam pengembangan fitofarmaka serta penguatan kebijakan pengendalian resistensi antibiotik berbasis sumber daya alam lokal.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Deskripsi Tanaman

Tanaman kakao (*Theobroma cacao* L.) adalah tanaman tropis yang memiliki peran penting baik secara ekonomi maupun ekologis. Tanaman ini termasuk dalam keluarga Malvaceae dan merupakan satu-satunya genus di dalamnya yang menghasilkan biji yang digunakan untuk membuat cokelat. Tanaman kakao berasal dari hutan hujan Amazon dan telah dibudidayakan selama lebih dari 3.000 tahun, terutama di wilayah Amerika Tengah dan Selatan. Saat ini, kakao telah menjadi komoditas penting dan ditanam di lebih dari 50 negara, termasuk di kawasan Afrika Barat, Asia, dan Pasifik (Subong-Espina et al., 2023).

Adapun klasifikasi tanaman kakao (*Theobroma cacao* L.) menurut (Kaffah, 2020), yaitu:

Kingdom : Plantae  
Divisi : Spermatophyta  
Kelas : Dicotyledoneae  
Ordo : Malvales  
Famili : Malvaceae  
Genus : Theobroma  
Spesies : *Theobroma cacao* L.



**Gambar 2. 1** Tanaman Daun Kakao (*Theobroma cacao* L.)

Sumber : Pribadi (2025)

### 1. Morfologi Tanaman Kakao

- a) Morfologi daun kakao dipengaruhi oleh jenis tunas. Tunas tegak (ortotrop) memiliki tangkai daun lebih panjang (7,5-10 cm), sedangkan tunas mendatar (plagiotrop) memiliki tangkai lebih pendek (sekitar 2,5 cm). Daun muda (*flush*) berwarna merah dan halus seperti sutra, kemudian berubah hijau dan lebih kasar seiring pertumbuhan. Tangkai daunnya berbentuk silinder dengan dua sendi yang memungkinkannya bergerak mengikuti cahaya. Helaian daun berbentuk oblong dengan ujung dan pangkal runcing, pola tulang menyirip, tekstur tipis namun kuat seperti perkamen, dan tepi rata. Warna daun dewasa biasanya hijau tua, dengan panjang rata-rata 30 cm dan lebar 10 cm. Daun di bawah naungan cenderung lebih besar dan hijau lebih pekat dibandingkan daun yang terkena sinar matahari langsung (Matatula et al., 2022).
- b) Kakao termasuk tanaman dengan sistem perakaran dangkal. Sebagian besar akar lateralnya tumbuh mendatar pada kedalaman tanah 0 hingga 30

cm. Sistem akar ini memiliki jangkauan yang luas, bahkan melebihi proyeksi tajuk tanaman. Ujung-ujung akar lateral bercabang dan membentuk jaringan yang rumit. Akar tunggang kakao tumbuh cepat pada tahap awal perkembangan. Dalam satu minggu, panjangnya mencapai 1 cm, kemudian bertambah menjadi 16-18 cm dalam satu bulan, dan mencapai 25 cm pada usia tiga bulan. Setelah periode pertumbuhan cepat ini, laju pertumbuhannya melambat. Untuk mencapai panjang 50 cm, akar tunggang membutuhkan waktu sekitar dua tahun. Kedalaman penetrasi akar tunggang sangat dipengaruhi oleh kondisi tanah, terutama ketersediaan air dan strukturnya. Pada tanah dalam dengan drainase baik, akar tunggang kakao dewasa bisa mencapai kedalaman 1 hingga 1,5 meter (Matatula et al., 2022).

- c) Secara alami, kakao dapat tumbuh hingga 8-10 meter, tetapi dalam budidaya, tingginya biasanya dibatasi hingga 5 meter untuk memudahkan perawatan dan panen. Kakao memiliki dua jenis tunas: tunas ortotrop yang tumbuh vertikal dan tunas plagiotrop yang tumbuh horizontal. Setelah mencapai tinggi 0,9-1,5 meter, pertumbuhan batang utama berhenti dan membentuk jorket, tempat tumbuhnya cabang plagiotrop. Jorket menandai perubahan pertumbuhan dari vertikal ke horizontal. Tunas ortotrop juga bisa tumbuh kembali, terutama setelah pemangkasan berat, dan membentuk jorket sebelum menghasilkan cabang plagiotrop baru (Matatula et al., 2022).

- d) Bunga kakao tumbuh berkelompok pada bantalan bunga di batang atau cabang, fenomena yang disebut kauliflori. Bantalan bunga ini membesar seiring waktu. Warna bunga bervariasi, mulai dari putih, ungu, hingga kemerahan, tergantung kultivar. Bunga kakao memiliki tangkai panjang (1-1,5 cm) dan mahkota yang terbagi dua, dengan pangkal berbentuk seperti kuku dan ujung tipis berwarna putih. Penyerbukan kakao bersifat silang, dibantu oleh serangga seperti lalat kecil, semut bersayap, dan lebah, biasanya di malam hari. Bunga kakao memiliki masa reseptif singkat, hanya beberapa hari, dan pembungaannya dipengaruhi oleh faktor internal dan lingkungan. Di daerah dengan curah hujan merata dan suhu stabil, kakao dapat berbunga sepanjang tahun (Matatula et al., 2022).
- e) Warna buah kakao terbagi menjadi dua kelompok: buah muda berwarna hijau atau putih kekuningan yang berubah menjadi kuning saat matang, dan buah merah yang berubah menjadi jingga. Kulit buah kakao memiliki 10 alur, dengan varietas criollo dan trinitario berkulit tebal dan kasar, sedangkan forastero memiliki kulit tipis dan halus. Buah kakao matang dalam waktu enam bulan, dengan biji tersusun dalam lima baris, berjumlah 20-50 butir per buah. Biji memiliki kotiledon berwarna putih pada criollo dan ungu pada forastero, terbenam dalam daging buah putih yang asam manis. Buah muda, disebut cherelle, sering gugur sebelum matang. Buah matang disebut pod, dan proses pematangan berlangsung 5-6 bulan. Setelah dipanen, biji difermentasi dan dikeringkan. Pertumbuhan buah kakao terjadi dalam dua fase: fase lambat hingga 75

hari dan fase cepat hingga ukuran maksimal pada 143-170 hari (Matatula et al., 2022).

## 2. Kandungan Senyawa Kimia Tanaman Kako

Daun kakao mengandung golongan senyawa kimia alkaloid, flavonoid, tannin, saponin, steroid dan glikosida (Rani et al., 2022). Komponen tersebut memiliki efek menguntungkan pada kesehatan, dan sangat diperlukan dalam berbagai aplikasi nutraceutical, farmasi, obat dan kosmetik. Flavonoid merupakan golongan bahan alami dengan struktur penyusun utama fenolik variable. Senyawa flavonoid dapat mencegah pembentukan radikal bebas dan mengurangi kerusakan jaringan akibat peradangan (Husna et al., 2022).

### a) Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa organik yang umum terdapat di alam. Senyawa ini bekerja dengan cara menghambat pembentukan dinding sel jamur, sehingga jamur tersebut mati (Permataningrum et al., 2020). Aktivitas antibakteri alkaloid dengan cara merusak komponen peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel bakteri tidak terbentuk secara sempurna dan mengakibatkan kematian sel (Fitriyanti et al., 2020).

### b) Flavonoid

Flavonoid sebagai metabolit sekunder tumbuhan memiliki struktur dasar  $C^6-C^3-C^6$  yang terdiri dari dua cincin benzena yang terhubung oleh rantai tiga karbon. Variasi pada cincin tengah heterosiklik

inilah yang membedakan berbagai jenis flavonoid. Flavonoid berperan sebagai antioksidan dengan mendonasikan atom hidrogen atau mengkelat ion logam. Kemampuan antioksidan ini menjadikan flavonoid sebagai senyawa bioaktif yang penting dalam berbagai jenis makanan, termasuk sereal, sayuran, dan buah-buahan. Flavonoid merupakan kelompok senyawa yang sangat beragam, diklasifikasikan berdasarkan perbedaan struktur kimia, terutama pada tingkat kejenuhan dan oksidasi cincin karbonnya. Beberapa contoh kelas flavonoid adalah antosianidin, flavonol, dan isoflavon. Senyawa senyawa ini tersebar luas di alam dan banyak ditemukan pada buah buahan, sayuran, dan biji-bijian (Ullah et al., 2020).

c) Tanin

Daun kakao mengandung tanin, sekelompok senyawa polifenol kompleks yang dikenal karena kemampuannya mengikat protein dan menghasilkan rasa sepat. Analisis fitokimia telah mengonfirmasi keberadaan tanin dalam daun kakao, yang memiliki sifat antioksidan kuat dan berpotensi melindungi sel dari kerusakan radikal bebas. Selain itu, tanin dalam daun kakao juga menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap berbagai jenis mikroorganisme dan berpotensi memiliki efek anti-inflamasi. Kandungan tanin dalam daun kakao dapat bervariasi tergantung pada jenis tanaman dan kondisi pertumbuhan (Safitri et al., 2023).

d) Saponin

Saponin merupakan golongan senyawa kimia bersifat amfifilik. Saponin bermanfaat sebagai antimikroba, antifungi, dan menghambat pertumbuhan sel tumor. Mekanisme saponin sebagai antibakteri adalah dengan menghambat stabilitas membrane sel sehingga menyebabkan keluarnya komponen penting dalam sel bakteri seperti protein dan asam nukleat (Hafizha, 2020).

3. Manfaat Tanaman Kakao

a) Antibakteri dan Antijamur

Daun kakao mengandung berbagai senyawa bioaktif, termasuk kafein, flavonoid, dan alkaloid. Kafein memiliki aktivitas fungisidal dengan cara menghambat sintesis dinding sel jamur. Flavonoid berperan dalam menghambat proliferasi sel jamur, sedangkan alkaloid mengganggu pembentukan peptidoglikan pada dinding sel jamur (Permataningrum et al., 2020). Kandungan flavonoid dan saponin pada tanaman kakao dapat digunakan sebagai antibakteri, flavonoid memiliki aktivitas antibakteri dengan cara merusak integritas membran sitoplasma bakteri. Kerusakan membran ini menyebabkan kebocoran metabolit penting dan aktivasi enzim yang tidak diinginkan, sehingga mengganggu metabolisme sel dan menyebabkan kematian sel. Saponin bekerja dengan cara menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri, menyebabkan ketidakstabilan dan lisis sel. Tanin memiliki efek sitotoksik dengan cara

merusak dinding sel bakteri, menghambat pertumbuhan dan menyebabkan kematian sel (Mandhaki et al., 2021).

b) Antioksidan

Daun kakao (*Theobroma cacao* L.) memiliki kandungan antioksidan yang penting bagi kesehatan. Kandungan tersebut utamanya berasal dari senyawa fenolik, flavonoid, dan sejumlah metabolit sekunder lain. Senyawa-senyawa ini berkontribusi pada kemampuan daun kakao untuk menetralkan radikal bebas yang dapat merusak sel-sel tubuh, sehingga berpotensi mencegah berbagai penyakit degeneratif, termasuk kanker dan penyakit jantung. Fenolik dalam daun kakao, terutama flavonoid, dikenal memiliki aktivitas antioksidan yang kuat. Flavonoid dapat mencegah oksidasi lipid dan melindungi DNA dari kerusakan oksidatif (Maqfirah et al., 2023).

## **B. Simplisia**

### **1. Pengertian Simplisia**

Simplisia adalah bahan alam yang telah dikeringkan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan. Pengeringan dapat dilakukan dengan penjemuran dibawah sinar matahari diangin-angin, atau menggunakan oven kecuali dinyatakan lain suhu pengeringan dengan oven tidak lebih dari 60°C (Kemenkes RI, 2017). Simplisia harus memenuhi persyaratan untuk menjamin keseragaman senyawa aktif dan menjamin keamanan dalam penggunaannya. Faktor yang mempengaruhi persyaratan mutu yaitu bahan baku simplisia, proses pembuatan simplisia, cara

pegepakan dan penyimpanan simplisia. Simplisia dibedakan menjadi 3 jenis yaitu:

a) Simplisia Nabati

Berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan, eksudat tumbuhan atau gabungan antara ketiganya. Eksudat tumbuhan sendiri merupakan isi sel dari tanaman yang keluar secara spontan atau dengan suatu cara sengaja dilepaskan dari sel. Simplisia nabati biasa dikenal masyarakat awam dengan tanaman obat. Tanaman obat sendiri adalah tanaman yang memiliki khasiat menyembuhkan maupun pencegahan penyakit (Pertiwi & Wulandari, 2022).

b) Simplisia Hewani

Merupakan hewan utuh atau zat bermanfaat yang di produksinya dan masih berupa bahan kimia campuran (Pertiwi & Wulandari, 2022).

c) Simplisia Pelikan atau Mineral

Merupakan bahan mineral atau pelikan yang belum mengalami proses pengolahan sederhana dan masih berupa bahan kimia campuran (Pertiwi & Wulandari, 2022).

2. Syarat-Syarat Simplisia

- a) Kadar air rendah ( $\leq 10\%$ ). Bertujuan mencegah pertumbuhan mikroorganisme dan memperpanjang masa simpan (Kemenkes RI, 2017).
- b) Bebas dari kontaminasi fisik dan biologis. Tidak boleh mengandung serangga, kotoran hewan, jamur, pasir, logam berat, atau residu pestisida (BPOM, 2019).

- c) Identifikasi spesies yang akurat secara makroskopik/mikroskopik. Untuk memastikan simplisia berasal dari tanaman yang benar dan otentik (Kemenkes RI, 2017).
- d) Parameter cemaran mikroba harus aman (BPOM, 2019).

### C. Ekstraksi

Ekstrak merupakan sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang cocok. Cara untuk mendapatkan ekstrak adalah dengan melakukan ekstraksi (Rahmawati et al., 2021). Ekstraksi merupakan metode pengambilan senyawa kimia yang bisa larut dalam pelarut tertentu hingga terpisah dari zat yang tidak dapat larut disebut ekstraksi. Prinsip dari metode ekstraksi yaitu menggunakan pelarut yang sesuai dengan kelarutan senyawa yang ingin diekstraksi. Metode ekstraksi ditentukan berdasarkan sejumlah aspek, seperti karakteristik simplisia, kemudahan dalam pelaksanaannya, serta kepentingan dalam mendapatkan ekstrak yang sempurna. Metode ekstraksi yang dipakai dalam penelitian ini yaitu maserasi (Anggraini & Khabibi, 2022). Macam-macam metode ekstraksi yang bisa dipakai ialah:

#### 1. Cara Dingin

##### a) Maserasi

Metode ekstraksi yang dikerjakan pada suhu ruang tanpa pemanasan disebut maserasi. Metode maserasi memanfaatkan pengadukan atau pengocokan berulang untuk mempercepat proses ekstraksi. Hal tersebut dilakukan untuk mengekstraksi simplisia yang mudah rusak karena panas. Pemilihan pelarut berdasarkan kelarutan dan

polaritasnya membantu memisahkan komponen zat aktif dalam simplisia. Semakin lama waktu perendaman simplisia, semakin banyak senyawa yang dapat diekstraksi. Prinsip kerja metode maserasi adalah difusi larutan penyari ke dalam sel tumbuhan. Difusi mengakibatkan perbedaan konsentrasi larutan antara dalam dan luar sel. Zat yang mempunyai kesamaan polaritas dengan pelarut akan terdorong keluar sel. Pemilihan pelarut berdasarkan kesesuaian sifat kelarutan dan polaritasnya memudahkan pemisahan komponen zat aktif dalam simplisia. Jumlah zat yang bisa diekstraksi meningkat seiring dengan bertambahnya waktu perendaman sampel (Asma et al., 2022).

b) Perkolasi

Perkolasi merupakan teknik ekstraksi menggunakan simplisia yang telah dihaluskan, diekstraksi dengan cara mengalirkannya secara perlahan-lahan melalui suatu kolom menggunakan pelarut yang sesuai dan selalu baru. Umumnya, perkolasi dikerjakan pada suhu kamar. Prinsip perkolasi yaitu proses dimana serbuk simplisia dimasukkan dalam tabung silinder dengan sekat berpori di bagian bawahnya (Hujjatusnaini et al., 2021).

2. Cara Panas

a) Refluks

Refluks adalah metode ekstraksi yang melibatkan distilasi siklik, di mana pelarut diuapkan, kemudian dikondensasikan Kembali dan dialirkan kembali ke dalam labu ekstraksi. Teknik ini sangat sesuai untuk

ekstraksi senyawa fitokimia yang stabil terhadap panas seperti umbi-umbian dan kacang-kacangan (Mierza et al., 2023).

b) Soxhlet

Metode soxhlet, yang dikembangkan oleh Franz von Soxhlet pada tahun 1879, adalah teknik ekstraksi kontinu di mana pelarut berulang kali disirkulasikan melalui simplisia. Teknik ini digunakan untuk mengekstraksi senyawa fitokimia yang stabil secara termal seperti alkaloid dan piperin (Pradito et al., 2022). Perbedaan utama antara Soxhlet dan refluks adalah adanya komponen ekstraktor yang disebut sifon pada soxhlet (Goti & Dasgupta, 2023).

c) Infusa

Infusa adalah metode ekstraksi berupa pengambilan senyawa senyawa dari tanaman yang mempunyai khasiat menggunakan prosedur dengan mendidihkan di temperatur 95°C dalam waktu 15 menit dengan menggunakan pelarut air (Kurniawati et al., 2020). Metode infusa memiliki keunggulan dalam hal kesederhanaan peralatan dan biaya operasional yang rendah. Namun, kelemahannya adalah kemungkinan terjadinya pengendapan kembali senyawa terlarut ketika suhu larutan menurun akibat penurunan kelarutan (Dewi et al., 2021).

d) Dekoktaksi

Dekoktaksi yaitu proses ekstraksi dengan cara merebus bahan dengan menggunakan air sebagai pelarut dengan suhu antara 90°C (Purnomo, 2023) selama 30 menit (Herlina et al., 2023). Hasil dekoktaksi

dapat disimpan dengan suhu rendah agar bisa dipakai untuk jangka waktu yang panjang, asalkan terhindar dari kontaminasi (Hujjatusnaini et al., 2021).

e) Destilasi (Penyulingan)

Destilasi adalah teknik memisahkan campuran cairan yang melibatkan pemanasan campuran hingga mencapai titik didih dari zat-zat penyusunnya. Senyawa yang lebih mudah menguap memiliki titik didih yang lebih rendah. Selama proses pendinginan, uap senyawa air akan terkondensasi, kemudian dipisahkan menjadi destilat air dan senyawa yang telah diekstraksi. Teknik ekstraksi ini sering dipergunakan untuk mengekstraksi minyak atsiri dari tumbuhan (Hujjatusnaini et al., 2021).

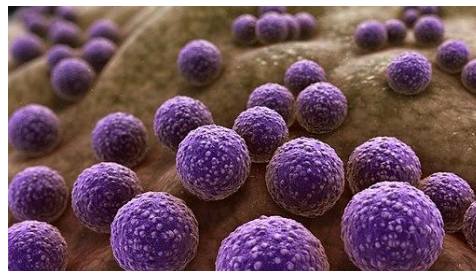
**D. *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)**

*Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) adalah bakteri kokus Gram positif yang resisten terhadap berbagai macam antibiotik, dan merupakan masalah serius baik di negara maju maupun di negara berkembang seperti Indonesia (Erlin et al., 2020). MRSA merupakan strain dari *Staphylococcus aureus* yang kebal terhadap antibiotik jenis methicillin dan beberapa antibiotik  $\beta$  laktam, sehingga pengobatannya menjadi lebih sulit dan memerlukan terapi alternatif yang efektif. Infeksi MRSA dapat menyebabkan berbagai penyakit, mulai dari infeksi kulit hingga penyakit yang lebih serius seperti penyakit yang menyerang badan secara sistemik (Rudd et al., 2020). Infeksi akibat MRSA secara sistemik dapat menyebabkan kondisi medis serius dikarenakan pelepasan zat kimia oleh sistem kekebalan badan untuk memerangi patogen menyebabkan

reaksi inflamasi yang meluas di seluruh badan. Kondisi ini dapat mengganggu aliran darah yang mengakibatkan kegagalan fungsi organ seperti ginjal, paru-paru, hati, jantung hingga kematian (Kurniawati et al., 2020).

### 1. Klasifikasi

- Domain : Bacteria  
Filum : Firmicutes  
Kelas : Bacillia  
Ordo : Bacillales  
Famili : Staphylococcaceae  
Marga : Staphylococcus  
Spesies : *Staphylococcus aureus* (Mutia, 2022).



**Gambar 2. 2** Bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*

Sumber : (Santosaningsih et al., 2019)

### 2. Morfologi

*Staphylococcus* adalah bakteri gram positif berbentuk bulat dengan ukuran diameter sekitar 0,8 - 1,0 mikron. Bakteri ini tidak memiliki kemampuan bergerak dan tidak membentuk spora. Secara mikroskopis, koloni *Staphylococcus* terlihat seperti kumpulan buah anggur. Bakteri ini menunjukkan hasil positif pada uji enzim katalase. *Staphylococcus aureus*

membentuk koloni besar berwarna kekuningan di media yang sesuai dan biasanya bersifat hemolitik pada agar darah. Bakteri ini merupakan anaerob fakultatif, yang artinya dapat tumbuh baik melalui respirasi aerob maupun fermentasi asam laktat. *Staphylococcus aureus* dapat bertahan pada rentang suhu 15-45°C. Genus *Staphylococcus* terdiri dari sedikitnya 45 spesies. Empat spesies yang paling sering ditemukan dengan kepentingan klinis adalah *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus lugdunensis*, dan *aureus* bersifat koagulase positif, yang membedakannya dari spesies lain. Bakteri ini adalah patogen utama bagi manusia, dan hampir setiap orang akan mengalami infeksi *Staphylococcus aureus* setidaknya sekali seumur hidup. Infeksinya bisa bervariasi dari yang ringan, seperti keracunan makanan atau infeksi kulit, hingga infeksi berat yang mengancam nyawa (Jawetz et al, 2017).

*Staphylococcus aureus* bersifat non-motil, nonspora, anaerob fakultatif, katalase positif dan oksidase negatif yang mampu tumbuh pada suhu 6,5-46 °C dan pada pH 4,2-9,3. Koloni tumbuh dalam waktu 24 jam dengan diameter mencapai 4 mm, berbentuk bundar, halus, menonjol dan berkilau., berwarna abu-abu sampai (*pigmen lipochrome*) yang kuning emas tua menyebabkan koloni tampak berwarna kuning keemasan dan kuning jeruk. Pigmen kuning tersebut membedakannya dengan bakteri *Staphylococcus epidermidis* yang menghasilkan pigmen putih. Pigmen kuning keemasan muncul pada kultur bakteri *Staphylococcus aureus* yang berumur 18-24 jam dan suhu 37° C dengan suhu optimal adalah suhu kamar

(20-25° C) (Riset et al., 2023). Stafilococcus menghasilkan enzim katalase, yang membedakannya dari streptokokus. Bakteri ini memfermentasi berbagai karbohidrat dengan lambat, menghasilkan asam laktat tanpa menghasilkan gas. Aktivitas proteolitiknya bervariasi antara satu galur dengan yang lainnya. Stafilococcus patogen menghasilkan berbagai zat ekstraseluler. Selain itu, stafilococcus relatif tahan terhadap kondisi pengeringan dan pemanasan, bahkan dapat bertahan pada suhu 50°C selama 30 menit (Jawetz et al., 2017).

### 3. Patogenesis

Infeksi *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu penyebab meningkatnya jumlah penyakit dan kematian, Pada hidung dan kulit manusia, terdapat bakteri yang berkolonisasi sehingga dapat menyebabkan beberapa penyakit seperti infeksi kulit, endokarditis, bakteremia, pneumonia, meningitis, osteomyelitis, sepsis dan toxic shock (Rianti et al., 2022).

## E. Metode Uji Antibakteri

Pengukuran aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode dilusi (pengenceran) atau dengan metode difusi (Jawetz et al., 2017).

### 1. Metode Difusi

Prinsip kerja dari metode difusi yaitu penyebaran zat antibakteri ke dalam medium padat tempat mikroba uji yang sebelumnya sudah diinokulasikan. Hasil pengamatan yang didapatkan berupa keberadaan atau ketiadaan wilayah bening yang terbentuk di disekitar kertas cakram yang menandakan adanya zona penghambatan pertumbuhan bakteri (Nurhayati et al., 2020). Pada metode ini dapat dilakukan dengan 2 cara, yaitu

a) Difusi Cakram (*Disc*)

Metode difusi dilakukan menggunakan cakram dengan cara merendam kertas cakram yang berfungsi sebagai sarana untuk meresap bahan antimikroba kemudian ditempatkan dalam bahan uji. Kemudian kertas cakram ditempatkan di atas permukaan media agar yang sudah diinokulasi menggunakan mikroba uji, lalu diinokulasi dengan suhu 35°C selama 18-24 jam. Daerah atau zona bening disekitar kertas cakram diamati untuk melihat keberadaan atau ketiadaan pertumbuhan mikroba. Diameter zona bening berhubungan langsung dengan jumlah mikroba yang diletakkan pada kertas cakram. Keuntungan dari metode cakram adalah pengujian bisa dilakukan dengan waktu yang lebih singkat karena proses penyiapan cakram. Yang lebih efisien (Nurhayati et al., 2020).

b) Difusi Sumuran (*Hole/Cup*)

Metode sumuran yang dilakukan dengan cara membuat lubang yang secara vertikal pada media agar padat yang sudah dilakukan inokulasi menggunakan bakteri uji. Jumlah dan penyesuaian lubang dilakukan sesuai tujuan penelitian, setelah itu lubang-lubang tersebut dimasukkan sampel uji yang akan diuji. Setelah proses inkubasi selesai, pengamatan dilakukan pada pertumbuhan bakteri untuk menentukan ada atau tidaknya zona penghambatan di sekitar lubang. Metode sumuran memiliki beberapa keunggulan karena mempermudah proses pengukuran luas zona hambat yang dihasilkan karena bakteri berkembang tidak hanya dipermukaan atas nutrient agar namun juga hingga bagian bawah. Dalam

pembuatan sumuran mempunyai beberapa hambatan seperti adanya sisa agar yang tertinggal pada media untuk pembuatan sumuran, selain itu media agar juga berisiko retak atau pecah di sekitar daerah sumuran yang berpotensi menghambat penyerapan antibiotik yang masuk ke dalam media dan akan mempengaruhi pembentukan diameter zona bening saat uji sensitivitas dilakukan (Nurhayati et al., 2020).

## 2. Metode Dilusi

### a) Dilusi Cair

Kadar Hambat Minimum (KHM) menggunakan metode dilusi cair yang ditentukan dengan cara pengamatan pada tingkat kekeruhan dalam tabung uji. Keuntungan dari metode dilusi cair adalah bahan uji dapat lebih mudah berinteraksi dengan bakteri disebabkan suspensi bakteri tersebar merata, menjadikannya lebih peka. Keuntungan lainnya adalah metode ini memungkinkan diperolehnya hasil pengukuran kuantitatif yang mengindikasikan jumlah obat tertentu yang dibutuhkan untuk mencegah atau membunuh mikroorganisme yang sedang diuji (Hasriyani et al., 2021).

### b) Dilusi Padat

Metode dilusi padat digunakan untuk mengukur Kadar Bakterisidal Minimum (KBM). Dilusi padat merupakan metode yang dilakukan dengan cara menanam mikroba uji ditempatkan pada media agar yang sudah mengandung agen antimikroba. Keunggulan dari metode dilusi ini terletak pada konsentrasi tunggal dari agen antimikroba yang

diuji dapat diaplikasikan untuk pengujian terhadap berbagai mikroba uji (Fitriana et al., 2020).

#### **F. Pengukuran Zona Hambat**

Pengukuran zona bening yang terbentuk di sekitar paper disk diukur menggunakan jangka sorong setiap variasi konsentrasinya:

**Tabel 2. 1** Klasifikasi Respon Daya Hambatan Pertumbuhan Bakteri

Diameter Zona Hambat	Kategori Zona Hambat
>20-30mm	Sangat kuat
>10-20mm	Kuat
6 -10mm	Sedang
<5mm	Lemah

(Ernawati & Jannah, 2021)

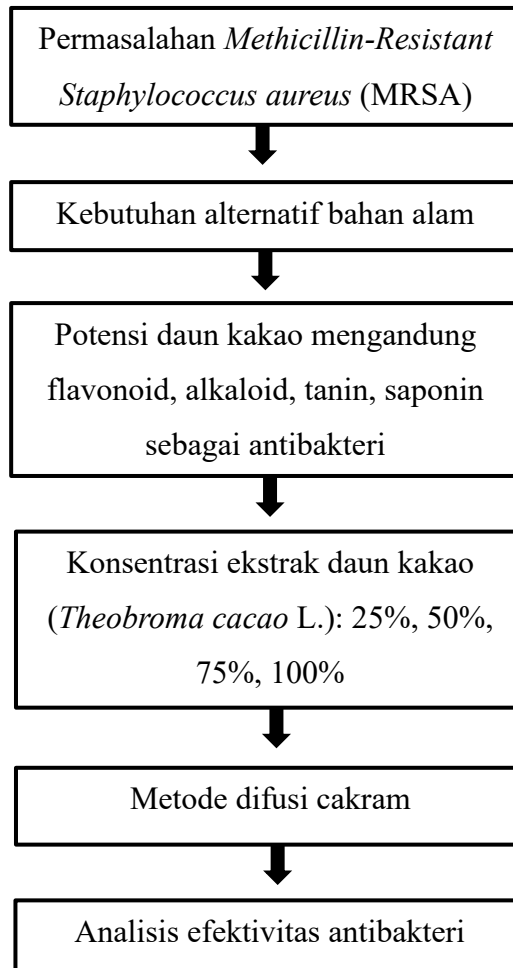
## G. Penelitian Terdahulu

**Tabel 2. 2** Penelitian Terdahulu

No.	Judul Penelitian, Nama Peneliti dan Tahun	Metode Analisis	Hasil Penelitian	Persamaan	Perbedaan
1.	Aktivitas antibakteri fraksi daun kakao ( <i>Theobroma cacao</i> L.) terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>  (Mandhaki et al., 2021)	Ekstraksi maserasi/fraksinasi, uji difusi cakram pada konsentrasi 10-30%	Fraksi etanol & diklorometana menunjukkan aktivitas signifikan terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	Sama-sama menggunakan tanaman kakao dan uji antibakteri metode difusi cakram	Menggunakan fraksi (bukan ekstrak etanol), bakteri uji bukan MRSA
2.	Aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah kakao terhadap <i>Staphylococcus epidermis</i>  (Lestari & Asri, 2021)	Ekstrak etanol dari kulit buah kakao diuji dengan rancangan acak lengkap (RAL): konsentrasi 25%, 50%, 75%, 100%; control positif (amoksilin) & negative (DMSO 10%). Uji sumuran.	Konsentrasi optimal 75% menghasilkan zona hambat $\pm 2,85$ cm terhadap <i>Staphylococcus epidermis</i>	Sama-sama menggunakan tanaman kakao dan uji antibakteri	Bagian tanaman berbeda (kulit buah), metode sumuran, bakteri berbeda ( <i>S. epidermidis</i> )
3.	Uji aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah kakao ( <i>Theobroma cacao</i> L.) terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>  (Putri et al, 2023)	UAE & Soxhletasi ekstrak etanol 96%, uji difusi sumuran	Zona hambat: 11,30 mm (UAE), 13,41 mm (Soxhletasi)	Sama-sama menguji aktivitas antibakteri tanaman kakao	Metode ekstraksi berbeda (UAE & Soxhlet), bagian tanaman berbeda, dan tidak menggunakan MRSA

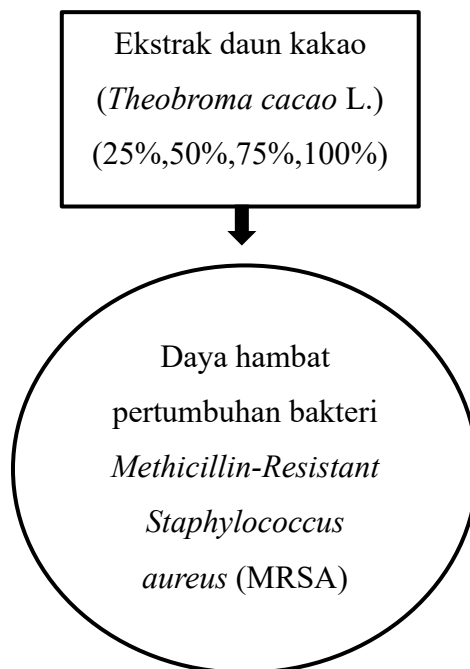
4.	Aktivitas antibakteri ekstrak etanol biji kakao kering (tidak difermentasi) terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>  (Maqsudi, 2022)	Ekstraksi etanol biji kakao kering; uji difusi cakram (konsentrasi 1-40 mg/mL); rancangan eksperimen RAL; juga menentukan KHM & KBM	Zona hambat terbesar pada konsentrasi 40 mg/mL: $\pm 4,58$ mm untuk <i>Staphylococcus aureus</i> . KHM = 10 mg/mL	Sama-sama menggunakan metode difusi cakram	Bagian tanaman berbeda (biji), aktivitas antibakteri lebih rendah
5.	Uji efektivitas antibakteri ekstrak etanol 70% biji ( <i>Theobroma cacao</i> L.) terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>  (Ma'ruf et al., 2024)	Difusi cakram ekstrak konsentrasi 5%, 10%, 15%	Zona hambat berturut-turut: 10,71 mm; 10,85 mm; 12,76 mm. Konsentrasi paling efektif	Sama-sama menggunakan metode difusi dan bakteri genus <i>Staphylococcus</i>	Menggunakan biji kakao dan bukan bakteri MRSA

## H. Kerangka Berpikir



**Gambar 2. 3** Kerangka Berpikir

## I. Kerangka Konseptual



**Gambar 2. 4** Kerangka Konseptual

Keterangan :

Variabel Bebas:

Variabel Terikat:

## J. Definisi Operasional dan Kriteria Objektif

**Tabel 2. 3** Definisi Operasional dan Kriteria Objektif

No.	Variabel	Definisi Operasional	Cara dan Alat Ukur	Kriteria Objektif	Skala
1.	Konsentrasi Ekstrak Daun Kakao (Variabel Bebas)	Kadar ekstrak daun kakao ( <i>Theobroma cacao</i> L.) dalam aquadest steril pada berbagai konsentrasi.	Timbang ekstrak dengan timbangan analitik, larutkan dalam gelas ukur, teteskan dengan pipet untuk	Konsentrasi bertingkat (25%, 50%, 75%, 100%) Untuk mengetahui pengaruhnya	Kuantitatif

			mencapai konsentrasi.	terhadap daya hambat.	
2.	Daya Hambat Bakteri MRSA (Variabel Terikat)	Kemampuan ekstrak menghambat MRSA yang ditunjukkan zona bening di sekitar cakram.	Ukur diameter zona hambat dengan jangka sorong setelah inkubasi 24 jam.	Berdasarkan klasifikasi efektivitas antibakteri yaitu : <6 mm = lemah; 6–10 mm = sedang; >10–20 mm = kuat; >20 mm = sangat kuat.	Kuantitatif

## K. Hipotesis

### 1. $H_a$ (Hipotesis Alternatif)

Ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao* L.) pada konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).

### 2. $H_1$ (Hipotesis Nol)

Ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao* L.) pada konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% tidak memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Desain Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental di laboratorium yang bertujuan untuk mengetahui daya hambat ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Desain penelitian yang digunakan adalah *post-test only control group design*, yaitu rancangan di mana pengukuran hanya dilakukan setelah perlakuan diberikan, tanpa pengukuran awal.

#### **B. Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan mulai Bulan Juli 2025 hingga Maret 2026, dilakukan di Laboratorium Kimia dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Palopo.

#### **C. Populasi dan Sampel**

##### 1. Populasi

Populasi yang digunakan pada penelitian ini yaitu tanaman daun kakao (*Theobroma cacao* L.) yang diperoleh dari Desa Masamba, Kec.Masamba, Kab.Luwu Utara, Provinsi Sulawesi Selatan.

##### 2. Sampel

Ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao* L.) yang diperoleh melalui metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% kemudian diformulasikan dalam 4 konsentrasi berbeda, yaitu 25%, 50%, 75%, dan 100%.

## **D. Jenis dan Sumber Data**

### 1. Jenis Data

Data yang digunakan dalam penelitian ini adalah data kuantitatif, yaitu data numerik yang diperoleh dari hasil pengukuran diameter zona hambat (dalam satuan milimeter) yang terbentuk di sekitar cakram kertas setelah pemberian ekstrak daun kakao pada media kultur bakteri MRSA. Data ini digunakan untuk menilai sejauh mana ekstrak dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

### 2. Sumber Data

Sumber data dalam penelitian ini adalah data primer, yaitu data yang diperoleh langsung dari hasil pengujian di laboratorium mikrobiologi. Data dikumpulkan melalui pengukuran zona hambat dan pengamatan setelah masa inkubasi bakteri dengan perlakuan ekstrak daun kakao.

## **E. Instrumen Penelitian**

### 1. Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu gunting, pisau, kain hitam, talenan, blender, saringan, toples kaca, timbangan digital, timbangan analitik, beaker glass, gelas ukur, sendok tanduk, vacuum, rotary evaporator, piring kaca, sendok tanduk, sudip, cawan porselin, batang pengaduk, tabung reaksi, rak tabung, pemanas, labu ukur, pipet volume, sinar UV, erlenmeyer, cawan petri, pinset, jarum ose, api bunsen, oven, autoklaf, *Laminar Air Flow* (LAF), kaca arloji, jangka sorong, inkubator, magnetic stirrer, vortex.

## 2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu simplisia daun kakao, *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) sebagai bakteri uji, koran, *Nutrient Broth* (NB) (SMARTLAB), *Mueller Hinton Agar* (MHA) (MERCK), label, lakban, etanol 96%, kertas saring, aluminium foil, plastik wrab, tisu, es batu, air galon, aqudest, asam klorida (HCl), pereaksi meyer, pereaksi dragendroff, aseton, asam oksalat, eter, ferri klorida ( $\text{FeCl}_3$ ), handsoon, kertas cakram, disk vankomisin, kapas, alkohol, plastik wrab, karet.

## F. Prosedur Penelitian

### 1. Preparasi Sampel

Daun kakao yang diambil adalah daun segar yang berwarna hijau. Daun kakao disortasi basah, ditimbang, dicuci bersih dan kemudian dirajang menggunakan pisau, kemudian dikeringkan. Proses pengeringan dilakukan dengan cara diangin anginkan dalam suhu ruang hingga rapuh. Simplisia lalu dilakukan sortasi kering lalu ditimbang kembali dan kemudian dihaluskan menggunakan blender hingga membentuk serbuk halus dan diayak, simpan dalam wadah tertutup rapat (Hayati et al., 2022).

### 2. Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kakao

Ekstraksi dilakukan secara maserasi. Serbuk simplisia daun kakao sebanyak 200 gram direndam dengan pelarut etanol 96% sebanyak 2000 ml. Maserasi dilakukan 3 x 24 jam dengan pengadukan beberapa kali dan hasil maserat disaring. Residu dari penyaringan dimaserasi kembali dengan

menggunakan etanol 96% sebanyak 1400 ml selama 2 x 24 jam dan disaring. Filtrat yang diperoleh dikumpulkan menjadi satu dan dipekatkan dengan rotary evaporator pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kental (Lindawati & Ma'ruf, 2020).

Etanol 96% merupakan pelarut yang memiliki kemampuan ekstraksi paling baik untuk senyawa fenolik dan flavonoid. Etanol 96% juga merupakan pelarut paling ideal untuk flavonoid, tanin, dan saponin. Pelarut ini akan menyebabkan sel daun pecah dan zat yang terkandung di dalamnya dapat keluar, sehingga diperoleh zat metabolit sekunder daun secara utuh (Hayati, 2022).

### 3. Skrining Fitokimia

Pembuatan larutan uji untuk skrining fitokimia dilakukan dengan melarutkan 5 mg ekstrak kental daun kakao dalam 50 ml etanol 96% (Katja, 2020).

#### a) Alkaloid

Untuk pengujian Alkaloid dengan menguapkan 2 ml larutan uji diatas cawan porselin sampai dihasilkan residu, lalu ditambahkan 5 ml HCl, kemudian dibagi tiga, tabung satu sebagai kontrol, tabung kedua ditambahkan 3 tetes pereaksi meyer, dan untuk tabung ketiga ditambahkan preaksi dragendorff. Kemudian amati perubahan warna yang terjadi pada tabung kedua berwarna kuning dan tabung ketiga berwarna jingga.

b) Flavonoid

Untuk uji flavonoid yaitu dengan mencampurkan 1 ml larutan uji dengan aseton dan asam oksalat lalu dipanaskan, kemudian dicampur eter dan diamati hasilnya pada UV, hasil positif ditandai dengan warna kuning.

c) Saponin

Untuk uji saponin yaitu dengan mengambil 2 ml larutan uji lalu menambahkan 10 ml aquades panas pada tabung reaksi lalu dikocok selama 10 detik kemudian didiamkan selama 10 detik, apabila terbentuk busa 1-10 cm selama 10 detik maka mengandung saponin.

d) Tanin

Untuk uji tanin dengan memasukkan larutan uji 2 ml pada tabung reaksi, tabung satu sebagai blangko dan tabung dua di tambahkan larutan FeCl 10%. Apabila mengandung tanin maka akan terbentuk warna biru atau hitam kehijauan.

4. Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Daun Kakao

Konsentrasi ekstrak yang akan digunakan pada penelitian ini adalah konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100%. Berat ekstrak yang digunakan, dihitung dengan rumus konsentrasi larutan, yaitu massa zat terlarut dibagi dengan volume pelarut. Setelah diketahui massa ekstrak yang diperlukan untuk membuat konsentrasi, maka ekstrak dilarutkan dengan aquadest steril. Pembuatan konsentrasi yang berbeda ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri

*Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Konsentrasi 100% tidak dilakukan pengenceran karena merupakan ekstrak murni (larutan stok) yang digunakan sebagai pembanding dengan kadar senyawa aktif tertinggi, sehingga dapat menunjukkan daya hambat maksimal tanpa penambahan pelarut (Hayati et al., 2022).

## 5. Pembuatan Media

### a) Media *Nutrient Broth* (NB) (SMARTLAB)

Media NB sebanyak 0,2 gr dilarutkan dalam 25 ml aquadest di dalam Erlenmeyer. Sterilkan media dengan menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C (Vania et al., 2020).

### b) Media *Muller Hinton Agar* (MHA) (MERCK)

Media MHA ditimbang sebanyak 1,52 gr kemudian ditambahkan dengan 40 ml aquadest, di panaskan hingga larut. Autoklaf digunakan untuk mensterilkan media MHA selama 15 menit pada suhu 121°C. Kemudian, media dimasukkan ke cawan petri dan didiamkan hingga memadat (Riano et al., 2023).

Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Mueller-Hinton Agar* (MHA), karena media ini merupakan standar yang direkomendasikan oleh *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) untuk uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi, baik disk difusi maupun sumuran. MHA memiliki komposisi nutrisi yang seimbang dan pH yang stabil (6,8–7,2), sehingga mendukung pertumbuhan bakteri secara optimal tanpa mengganggu proses difusi

senyawa antibakteri dari ekstrak. Penggunaan MHA juga memungkinkan hasil uji daya hambat dapat dibandingkan secara ilmiah dengan penelitian lain serta meningkatkan validitas hasil uji, terutama terhadap bakteri yang memiliki resistensi tinggi seperti *Staphylococcus aureus* resisten metisilin (MRSA) (CLSI, 2020).

#### 6. Peremajaan Bakteri MRSA

Peremajaan bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dilakukan dengan cara diambil sebanyak 1 ose kemudian diinokulasikan dengan cara digores pada medium *nutrient agar* (NA) miring kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (CLSI, 2020).

#### 7. Pembuatan Suspensi Bakteri

Suspensi bakteri dibuat dengan menginokulasikan MRSA ke dalam media *Nutrient Broth* (NB) steril, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C hingga diperoleh suspensi homogen. NB (*Nutrient Broth*) adalah media untuk menumbuhkan kultur dari sumber karbon dan nitrogen yang sesuai dengan kebutuhan nutrisi bakteri (Wahyuningsih & Zulaika, 2019).

#### 8. Penanaman Bakteri Pada Media

Pengujian daya hambat ekstrak daun kakao terhadap MRSA dilakukan dengan metode difusi cakram (*Kirby-Bauer*). Media MHA yang telah dipanaskan didinginkan hingga mencapai suhu, kemudian suspensi bakteri MRSA dicampurkan dengan media MHA cair. Campuran tersebut dituangkan ke dalam cawan petri steril dan dibiarkan hingga memadat. Kertas cakram direndam dalam masing-masing konsentrasi ekstrak daun

kakao, kontrol negatif (aquadest steril) selama 30 menit–1 jam. Selanjutnya, cakram diambil dengan pinset steril, diletakkan pada permukaan media MHA, dan ditekan perlahan agar menempel sempurna. Setiap cawan petri diberi label sesuai perlakuan, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Zona hambat yang terbentuk diamati dan diukur (Kurniasari et al., 2022).

#### 9. Pengamatan dan Pengukuran Zona Hambat

Setelah inkubasi, dilakukan pengamatan terhadap zona bening (zona hambat) yang terbentuk di sekitar cakram. Pengukuran diameter zona hambat dilakukan menggunakan jangka sorong, dalam satuan milimeter (mm). Hasil pengukuran ini dicatat pada lembar observasi untuk setiap perlakuan.

### G. Teknik Analisis Data

Teknik pengumpulan data dalam penelitian ini dilakukan melalui pengamatan langsung di laboratorium dengan pendekatan kuantitatif. Data diperoleh dari hasil pengukuran diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) pada media agar setelah pemberian perlakuan ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao* L.) pada berbagai konsentrasi. Pengukuran diameter zona hambat dilakukan menggunakan jangka sorong, kemudian data yang diperoleh dianalisis secara statistik menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) satu arah menggunakan program SPSS 27.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### A. Hasil

##### 1. Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Kakao (*Theobroma cacao* L.)

**Tabel 4. 1** Hasil Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Kakao

Pengamatan	Pereaksi	Hasil Pengamatan	Hasil Uji	Standar
Alkaloid	Meyer	Warna kuning	(+)	Positif mengandung alkaloid, ditandai dengan adanya perubahan warna menjadi kuning pada pereaksi meyer, dan warna jingga pada pereaksi dragendorff (Katja, 2020).
	Dragendorff	Warna jingga	(+)	
Flavonoid	Aseton, Asam oksalat dan eter	Warna kuning	(+)	Positif mengandung flavonoid, ditandai dengan adanya perubahan warna menjadi kuning (Katja, 2020).
Saponin	Aquadest panas	Berbuih	(+)	Positif mengandung saponin, ditandai dengan adanya buih setelah digojok (Katja, 2020)
Tanin	FeCl 10%	Hitam kehijauan	(+)	Positif mengandung tanin, ditandai dengan adanya perubahan warna menjadi hitam kehijauan (Katja, 2020).

Sumber: Data primer, 2026

Keterangan: (+) mengandung senyawa yang diuji

(-) senyawa yang diuji tidak terdeteksi

2. Hasil Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Kakao (*Theobroma cacao* L.)**Tabel 4. 2** Hasil Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Kakao

Konsentrasi	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata±Standar Deviasi	Kekuatan Hambat
	Replikasi	Replikasi	Replikasi		
	I	II	III		
25%	0	0	0	0	-
50%	14	11	13	12,66±1,53	Kuat
75%	16	14,5	14	14,83±1,04	Kuat
100%	18	18,5	17,5	18±0,50	Kuat
K+	21	22	21	21,33±0,58	Sangat Kuat
K-	0	0	0	0	-

Sumber: Data primer, 2026

Keterangan:K(+)= Kontrol positif (*Disk Vancomycin*)

K(-)= Kontrol negatif (aquadest steril)

3. Hasil Uji *One Way Anova***Tabel 4. 3** Hasil Uji *One Way Anova*

ANOVA					
Zona Hambat	<i>Sum Of Squares</i>	Df	<i>Mean Square</i>	F	Sig.
Between Groups	1229.111	5	245.822	276.550	<.001
Within Groups	10.667	12	.889		
Total	1239.778	17			

Sumber: Data primer, 2026

4. Hasil Uji *Duncan***Tabel 4. 4** Hasil Uji *Duncan*

		<b>Zona Hambat</b>				
<b>Duncan<sup>a</sup></b>		<i>Subset for alpha = 0.05</i>				
Konsentrasi	N	1	2	3	4	5
K-	3	.0000				
25%	3	.0000				
50%	3		12.6667			
75%	3			15.0000		
100%	3				18.0000	
K+	3					21.0000
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Sumber: Data primer, 2026

a. *Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000*

**B. Pembahasan**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang bertujuan untuk mengetahui efektivitas ekstrak etanol 96% daun kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Identifikasi senyawa metabolit sekunder pada ekstrak etanol daun kakao dilakukan secara kualitatif dengan metode skrining fitokimia. Skrining fitokimia bertujuan untuk mengetahui senyawa kimia yang terkandung dalam daun kakao dengan cara penambahan suatu reagen tertentu sehingga akan dihasilkan suatu perubahan warna pada sampel.

Hasil uji skrining fitokimia ekstrak etanol daun kakao (*Theobroma cacao* L.) dapat dilihat pada Tabel 4.1. Hasil tersebut menunjukkan adanya beberapa golongan senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid, flavonoid, saponin, dan

tanin yang berpotensi berperan dalam aktivitas biologis, khususnya sebagai antibakteri. Hasil tersebut sejalan dengan beberapa penelitian yaitu, Mandhaki (2020), yang menyatakan ekstrak etanol daun kakao (*Theobroma cacao* L) mempunyai kandungan senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid, saponin, dan tanin. Pada penelitian Abanit et al (2024), juga menyatakan bahwa pada ekstrak etanol daun kakao (*Theobroma cacao* L) memiliki kandungan senyawa berupa alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin. Kemudian pada penelitian Lestari et al (2024), juga menyatakan bahwa pada ekstrak etanol daun kakao (*Theobroma cacao* L.) mempunyai kandungan senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin, Persamaan ini menunjukkan bahwa kandungan senyawa aktif dalam daun kakao relatif konsisten dan berperan dalam aktivitas antibakteri. Dalam dunia kesehatan, senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada daun kakao, yaitu flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin, memiliki peran penting dalam menunjang aktivitas biologis. Senyawa-senyawa tersebut berfungsi sebagai antioksidan, antibakteri, antimikroba, dan antiinflamasi, serta berkontribusi dalam mempercepat proses penyembuhan luka, meningkatkan sistem imun, memberikan aroma khas, dan memperpanjang daya simpan produk (Ibrahim & Hidayah, 2023).

Uji aktivitas antibakteri ini dilakukan untuk mengetahui apakah sampel yang digunakan dapat menghambat bakteri yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat. Hasil uji daya hambat antibakteri ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap bakteri MRSA dapat dilihat pada Tabel 4.2 yang diperoleh dengan cara mengukur diameter zona hambat menggunakan jangka sorong.

Hasil yang didapatkan pada uji antibakteri ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao* L.) dapat menghambat pertumbuhan bakteri MRSA. Pada pengujian yang dilakukan memiliki diameter zona hambat rata-rata konsentrasi 50% sebesar  $12,66 \pm 1,53$  mm, konsentrasi 75% sebesar  $14,83 \pm 1,04$  mm, konsentrasi 100% sebesar  $18 \pm 0,50$  mm, dan pada kontrol positif vankomisin sebesar  $21,33 \pm 0,58$  mm. Konsentrasi 50%, 75%, dan 100% termasuk dalam kategori zona hambat kuat. Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, diketahui bahwa ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao* L.) yang diekstraksi menggunakan etanol 96% dan diuji pada bakteri MRSA memiliki aktivitas antibakteri yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat di sekitar media dan dikategorikan kuat. Hasil ini sejalan dengan penelitian Silvia et al (2023), yang menyatakan bahwa tanaman kakao memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri dari genus *Staphylococcus*, yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat. Persamaan tersebut menunjukkan bahwa tanaman kakao secara konsisten memiliki potensi sebagai antibakteri. Selain itu, penelitian Maqsudi (2022), menunjukkan zona hambat yang lebih kecil, yang mengindikasikan bahwa efektivitas antibakteri dapat dipengaruhi oleh perbedaan konsentrasi, bagian tanaman, dan kandungan senyawa aktif.

Pada konsentrasi 25%, ekstrak tidak menunjukkan daya hambat yang diduga disebabkan oleh rendahnya konsentrasi senyawa aktif serta rendahnya rendemen ekstrak, sehingga senyawa antibakteri yang tersari menjadi sedikit dan belum mencapai kadar efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Akibatnya, kandungan senyawa seperti flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid

belum cukup kuat untuk menghambat pertumbuhan bakteri MRSA yang bersifat resisten. Selain itu, pada metode difusi cakram, kemampuan senyawa antibakteri untuk berdifusi ke dalam media agar dipengaruhi oleh konsentrasi, dimana konsentrasi rendah menghasilkan difusi yang terbatas sehingga zona hambat tidak terbentuk. Hal ini berkaitan dengan adanya nilai Konsentrasi Hambat Minimum (*Minimum Inhibitory Concentration/MIC*), yaitu konsentrasi terendah yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri (Madigan et al., 2018). Di sisi lain, bakteri MRSA diketahui memiliki tingkat resistensi yang tinggi sehingga memerlukan konsentrasi ekstrak yang lebih besar agar dapat memberikan efek penghambatan.

Kontrol positif pada penelitian ini adalah vankomisin. Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, vankomisin memberikan efek daya hambat yang paling tinggi dibandingkan ekstrak etanol daun kakao dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%. Hal ini sejalan dengan penelitian Suryantari et al (2021), yang menyatakan bahwa zona hambat vankomisin terhadap MRSA didapatkan hasil zona hambat 19,67 mm. Vankomisin dipilih sebagai kontrol positif karena vancomycin merupakan antibiotik yang termasuk golongan glycopeptide dengan mekanisme kerja berkaitan dengan modifikasi tempat ikatan D-alanin-Dalanin pada peptidoglikan yang menyebabkan penebalan dinding sel dari *Staphylococcus aureus* (Kurniawan et al., 2021). Pada kontrol negatif menggunakan aquadest steril karena aquades merupakan senyawa netral dan tidak memiliki pengaruh terhadap pertumbuhan bakteri (Henaulu & Kaihena, 2020).

Berdasarkan hasil pengujian, diameter zona hambat pada konsentrasi 50%, 75%, dan 100% termasuk dalam kategori kuat, sehingga mampu menghambat pertumbuhan bakteri MRSA. Aktivitas antibakteri tersebut dipengaruhi oleh kandungan senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak daun kakao, yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin. Senyawa-senyawa tersebut bekerja melalui berbagai mekanisme dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Flavonoid berperan dengan merusak dinding sel dan meningkatkan permeabilitas membran sel bakteri sehingga mengganggu proses metabolisme. Alkaloid bekerja dengan mengganggu pembentukan peptidoglikan pada dinding sel bakteri sehingga sel tidak terbentuk secara sempurna. Saponin menurunkan tegangan permukaan membran sel yang menyebabkan kerusakan dan kebocoran sel bakteri. Sementara itu, tanin menghambat pertumbuhan bakteri dengan menonaktifkan adhesin sel mikroba, menginaktivasi enzim, serta mengganggu proses transport protein pada membran sel (Mewengkang et al., 2022).

Data hasil penelitian aktivitas antibakteri dari beberapa konsentrasi ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao* L.) dilakukan analisis data secara statistik menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) satu arah menggunakan program SPSS 27 yang bertujuan untuk melihat apakah ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao* L.) mampu menghambat pertumbuhan bakteri MRSA. Hasil Uji *One Way Anova* dapat dilihat pada Tabel 4.3 yang menunjukkan hasil signifikan diperoleh sebesar  $<,001$ . Uji *One Way Anova* merupakan uji *statistic* yang dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan secara nyata atau signifikan pada zona hambat yang terbentuk dari bakteri MRSA pada kelima

perlakuan. Dasar pengambilan keputusan dalam analisis *One Way Anova* dilihat dari nilai signifikansinya, jika nilai sig.  $>0.05$  maka tidak ada perbedaan dan jika nilai sig.  $<0.05$  maka ada perbedaan (Susilowati, 2022).

Uji lanjutan Duncan pada Tabel 4.4 menunjukkan bahwa kontrol negatif (K-) dan konsentrasi 25% berada pada subset yang sama dengan rata-rata zona hambat 0.0000 mm, sehingga menunjukkan tidak adanya aktivitas antibakteri dan tidak berbeda nyata. Konsentrasi 50%, 75%, dan 100% berada pada subset yang berbeda dengan rata-rata zona hambat masing-masing 12.6667 mm, 15.0000 mm, dan 18.0000 mm, yang menunjukkan adanya peningkatan daya hambat seiring meningkatnya konsentrasi ekstrak. Kontrol positif (K+) memiliki zona hambat tertinggi sebesar 21.0000 mm. Tidak adanya daya hambat pada konsentrasi 25% diduga karena jumlah senyawa aktif belum mencapai konsentrasi hambat minimum. Peningkatan aktivitas antibakteri pada konsentrasi yang lebih tinggi berkaitan dengan kandungan flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin yang diketahui memiliki aktivitas antibakteri dengan cara merusak dinding sel, mengganggu membran, dan menghambat kerja enzim bakteri. Dengan demikian, semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol daun kakao (*Theobroma cacao* L.), maka semakin besar daya hambat terhadap bakteri MRSA, dengan daya hambat terendah terdapat pada kontrol negatif (K-) dan konsentrasi 25%.

## BAB V

### PENUTUP

#### A. Kesimpulan

Pada pengujian antibakteri yang menunjukkan nilai rata-rata diameter zona hambat terhadap bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) pada konsentrasi 25% tidak memiliki zona hambat disebabkan oleh rendahnya konsentrasi senyawa aktif sehingga belum mencapai kadar efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri serta bakteri MRSA diketahui memiliki tingkat resistensi yang tinggi sehingga memerlukan konsentrasi ekstrak yang lebih besar untuk dapat memberikan efek penghambatan. Sedangkan pada konsentrasi 50%, 75%, dan 100% termasuk kategori kuat. Sehingga dapat disimpulkan bahwa pada konsentrasi 50%, 75%, dan 100% mempunyai potensi sebagai antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dan konsentrasi paling efektif terdapat pada konsentrasi 100% yaitu 18 mm.

#### B. Saran

Perlu dilakukan pengembangan penelitian lebih lanjut dengan memformulasikan ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao* L.) ke dalam suatu sediaan tertentu untuk kemudian diuji aktivitasnya terhadap bakteri MRSA.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abanit, Y.M., Tjitda, P.J.P., & Donuata, F. . (2024). Penapisan Fitokimia dan Uji Tabir Surya Ekstrak Etanol Daun Kakao (*Theobroma cacao* L.) Secara Spektrofotometri UV-Vis. *Journal of Innovation Research and Knowledge*, 4(2), 733–742.
- Anggraini, R & Khabibi, J. (2022). Karakteristik Ekstrak Serbuk Gergajian Kayu Tembesu (*Fagraea fragrans*), Rengas (*Gluta renghas*) dan Medang (*Litsea* Sp) sebagai Larvasida Lalat Rumah (*Musca demostica*). *Jurnal Ilmiah Universitas Batanghari Jambi*, 22(2). <https://doi.org/10.33087/jiubj.v22i2.2177>
- Asma, A., Rohman, A., Santosa, D., Rafi, M., Aminah, N. S., Insanu, M., & Irnawati, I. (2022). Uji Aktivitas Antioksidan dan Penetapan Kadar Flavonoid Total dan Fenolik Total Ekstrak Sidaguri (*Sida rhombifolia* L.). *Journal of Food and Pharmaceutical Sciences*, 10(2), 634–643.
- BPOM. (2019). Persyaratan Keamanan dan Mutu Obat Tradisional. In *Bpom Ri* (Vol. 11, Issue 1294, pp. 1–16).
- Cheung, G. Y. C., Bae, J. S., & Otto, M. (2021). Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus*. *Virulence*, 12(1), 547–569. <https://doi.org/10.1080/21505594.2021.1878688>
- CLSI. (2020). Performance Standards For Antimicrobial Susceptibility Testing. 30th ed. CLSI Supplement. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. *American journal of veterinary research*,60(09)
- Dewi, B.A. Wardani, T.S., & Nurhayati, N. (2021). *Fitokimia*. Yogyakarta: Pustaka Baru Press.
- Dulfo, J. R. P., Gamutan, M. O., Ibarra, J. R. C., Magpayo, E. J. A., Sabuga, K. J. A., Sabijon, S. M. B. S., Manantan, J. D. M., Ecalne, J. K. T., & Lagamayo, M. W. D. (2025). Determination of Total Flavonoid Content and Antibacterial Activity of Solvent Fractions From ‘Cacao’ (*Theobroma cacao* L.) Leaves. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 31(2), 040–047. <https://doi.org/10.30574/gscbps.2025.31.2.0167>
- Duke, J. A. (2016). Dr. Duke’s Phytochemical and Ethnobotanical Databases. United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service. Diakses pada [Tanggal Bulan 2022], dari <https://phytochem.nal.usda.gov/>.
- Erlin, E., Rahmat, A., Redjeki, S., & Purwianingsih, W. (2020). Deteksi *Methicilin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) Sebagai Penyebab Infeksi Nosokomial Pada Alat-Alat di Ruang Perawatan Bedah. *Quagga: Jurnal Pendidikan Dan Biologi*, 12(2), 137. <https://doi.org/10.25134/quagga.v12i2.2671>

- Ernawati, E., & Jannah, N. (2021). Aktivitas Antimikroba Perasan Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) terhadap *Candida albicans* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan*, 17(2), 137. <https://doi.org/10.24853/jkk.17.2.137-144>
- Fitriana, Y. A. N., Fatimah, V. A. N., & Fitri, A. S. (2020). Aktivitas Anti Bakteri Daun Sirih: Uji Ekstrak KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bakterisidal Minimum). *Sainteks*, 16(2), 101–108. <https://doi.org/10.30595/st.v16i2.7126>
- Fitriyanti, F., Abdurrazaq, A., & Nazarudin, M. (2020). Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* Merr) Terhadap *Staphylococcus aureus* Dengan Metode Sumuran. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 5(2), 174–182. <https://doi.org/10.51352/jim.v5i2.278>
- Goti, D., & Dasgupta, D. S. (2023). A Comprehensive Review of Conventional and Non-Conventional Solvent Extraction Techniques. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 12(3), 202–211. <https://doi.org/10.22271/phyto.2023.v12.i3c.14682>
- Hafizha, Z. (2020). Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Bawang Dayak (*Eleutherine americana* (Aubl.) Merr.) Asal Kota Batu Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Repository.Unej.Ac.Id*, 1–72.
- Handayani, W., Dwi Aristyawan, A., & Ega Safitri, O. (2020). Artikel Penelitian Uji In Vitro Interaksi Cefadroxil dengan Pisang dan Susu terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dengan Metode Difusi Cakram In Vitro Test of Cefadroxil Interaction with Banana and Milk Against *Staphylococcus aureus* using Disc Difusion M. *Journal of Pharmacy and Science*, 5(2), 87–91.
- Hasriyani, H., Zulfa, A., Anggun, L., & Murhayati, R. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70% Biji Lada Hitam (*Piper nigrum* L) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Indonesia Jurnal Farmasi*, 5(2), 14. <https://doi.org/10.26751/ijf.v5i2.1172>
- Hayati, A. R., Singkam, A. R., & Jumiarni, D. (2022). Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun *Theobroma cacao* L. terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* dengan Metode Difusi Cakram. *BIOEDUSAINS: Jurnal Pendidikan Biologi Dan Sains*, 5(1), 31–40. <https://doi.org/10.31539/bioedusains.v5i1.3160>
- Henaulu, A. H., & Kaihena, M. (2020). Potensi Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kecipir (*Psophocarpus tetragonolobus* (L.) DC) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* In Vitro. *Biofaal Journal*, 1 (1), 44-54.

- Heriyati, Hatisah, & Astuti, A. (2020). Hubungan Pengetahuan Dengan Pencegahan Dan Pengendalian Infeksi Nosokomial di Rumah Sakit. *Jurnal Pendidikan Kesehatan*, 9(1), 87–92. <https://doi.org/10.31290/jpk.v9i1.1465>.
- Herlina, N., Wahyuningrum, C., Nheistricia, N., Aryudha, T., Ananda Safira, D., & Herlina, E. (2023). Aktivitas Penghambatan Radikal Bebas Jamu Modifikasi Beras Kencur dan Pengaruhnya terhadap Ketahanan Fisik Mencit Free Radical Scavenging Activity of Jamu Beras Kencur Modification and Its Effect on Endurance Exercise in Mice. *PHARMACY: Jurnal Farmasi Indonesia*, 20(02), 1–7.
- Hestiyani, R. A. N., Krisnawati, N., Peramiarti, I. D. S. A. P., Handini, T. O., Nitihapsari, G. Y., Widi, A. P. K. N., & Anjarwati, D. U. (2021). Dekolonisasi Multidrug-Resistant Organisms (MDRO's) Dengan Cuci Tangan Sebagai Upaya Pengendalian Resistensi Antibiotik Pada Kelompok Masyarakat Di Kabupaten Banyumas. *Jurnal ABDI: Media Pengabdian Kepada Masyarakat*, 6(2), 94. <https://doi.org/10.26740/ja.v6n2.p94-98>
- Hujjatusnaini, N., Indah, B., Afitri, E., Widyastuti, R., & Ardiansyah. (2021). *Buku Referensi Ekstraksi*. Palangkaraya: Institut Agama Islam Negeri.
- Husna, P. A. U., Kairupan, C. F., & Lintong, P. M. (2022). Tinjauan Mengenai Manfaat Flavonoid pada Tumbuhan Obat Sebagai Antioksidan dan Antiinflamasi. *EBiomedik*, 10(1), 76–83.
- Ibrahim & Hidayah, I. (2023). Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Lidah Buaya (Aloe vera). *Poltekkes Kemenkes Makassar*, 16(2), 67–71.
- Jawetz, E., Melnick, J. L., & A. (2017). *Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology (27th ed.)*. New York: McGraw-Hill Education.
- Kaffah, W. A. S. (2020). 109Pengaruh Cokelat (*Theobroma cacao* L.) Terhadap Kesehatan Kulit. *Jurnal Medika Utama*, 1(3), 109–116.
- Katja, D. G. (2020). Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Batang *Chisocheton* sp. (C.DC) Harms (Meliaceae). *Jurusan Kimia Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sam Ratulangi Manado*, 13(2), 117–122.
- Kementerian Kesehatan RI. (2017). *Farmakope Herbal Indonesia Edisi II. In Pocket Handbook of Nonhuman Primate Clinical Medicine*. <https://doi.org/10.1201/b12934-13>
- Kemntrian Kesehatan. (2023). *Profil Kesehatan Indonesia*. Kemenkes RI.

- Khairunnisa, N., Lisa Yuniati, L., Arsal, A. S. F., Hermiaty, & Syamsu, R. F. (2023). Fakumi Medical Journal Efektifitas Ekstrak Daun Kemangi & Ekstrak Daun Sirih Merah Sebagai Anti Mikroba *Staphylococcus aureus* Penyebab Furunkle. *Fakumi Medical Journal: Jurnal Mahasiswa Kedokteran*, 3(2), 106–111.
- Komlaga, G., Forkuo, A.D., Suleman, N., Nkrumah, D., Nketia, R., & Bekoe, S. . (2021). Antimalarial Property and Acute Toxicity of the Leaves of *Theobroma cacao*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8292058/>
- Kurniasari, P. N. I., Wibisono, F. J., & Kurnianto, A. (2022). Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sisik Naga (*Drymoglossum piloselloides*) Terhadap Bakteri MRSA (*Methicilin-Resistant Staphylococcus aureus*) dan *Eschericia coli*. *VITEK : Bidang Kedokteran Hewan*, 12(2), 26–35. <https://doi.org/10.30742/jv.v12i2.112>
- Kurniawan, Tyas, E. A., & Supriyadi. (2021). Prevalensi Bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) Pada Peralatan Laboratorium. *The Journal of Muhamadiyah Medical Laboratory Technologist*. Vol: 4, No.2
- Kurniawati, Darini, & Nastiti, K. (2020). Potentials of Betel Leaf Infusion (*Piper betle* L), Lime Peel Extract (*Citrus aurantifolia*) and Bundung Extract (*Actinoscirpus grossus*) as Candidiasis Therapy. *Berkala Kedokteran*, 16(2), 95.
- Lestari, S.M., Camelia, L., Rizki, W.T., Pratama, S., Khutami, C., Amelia, C.K.A., Rahmadevi, & Andriani, Y. (2024). Analisis Fitokimia dan Penentuan KHM, serta KBM Ekstrak Daun Cokelat (*Theobroma cacao* L.) terhadap *Malassezia furfur*. 9, 55–66.
- Lestari, H. D., & Asri, M. T. (2021). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.) Terhadap *Staphylococcus epidermidis*. *LenteraBio : Berkala Ilmiah Biologi*, 10(3), 302–308. <https://doi.org/10.26740/lenterabio.v10n3.p302-308>
- Lindawati, N. Y., & Ma'ruf, S. H. (2020). Penetapan Kadar Total Flavonoid Ekstrak Etanol Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris* L.) Dengan Metode Kompleks Kolorimetri Secara Spektrofotometri Visibel. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 6(1), 83–91.
- Ma'ruf, D., Hasbi, R.F.S., Wardani, H.A., & Karim, A. (2024). Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70% Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Farmasi Pelamonia*, 04(2), 109–115.
- Madigan, M. T., Bender, K. S., Buckley, D. H., Sattley, W. M., & Stahl, D. A. (2018). *Brock Biology of Microorganisms (15th ed.)*. Pearson Education Limited, New York.

- Mandhaki, N., Huda, C., & Putri, A. E. (2021). Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 3(2), 188–193. <https://doi.org/10.25026/jsk.v3i2.269>
- Maqfirah, Z., Nasution, M. A., Nasution, M. P., & Nasution, H. M. (2023). Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol, Fraksi Etil Asetat dan n-heksan Pada Daun Kakao (*Theobroma cacao* L.) Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Journal of Pharmaceutical and Sciences*, 6(4), 1534–1543. <https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v6i4.43>
- Maqsudi, S. . (2022). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.) Kering Yang Tidak Difermentasi Terhadap Bakteri *Escheria coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Skripsi Industri Pertanian Universitas Padjajaran*.
- Matatula, A. J., Mahulette A.S, dan T. V. L. (2022). Budidaya Tanaman Perkebunan. *Science and Technology Index*.
- Mewengkang, T. T., Lintang, R. A. J., Losung, F., Sumilat, D. A., & Lumingas, L. J. L. (2022). *Identifikasi Senyawa Bioaktif Dan Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daging Teripang Holothuria (Halodeima) atra Jaeger 1833 Asal Perairan Pantai Kalasey, Minahasa*. 10(December), 355–363.
- Mierza, V., Fauziah, A., Riani, R., Sulastri, S., Farikha, S., & Rivianto, F. A. (2023). Standarisasi Senyawa Diosgenin Pada Tumbuhan : Review Artikel. *Journal of Pharmaceutical and Sciences*, 6(1), 132–138.
- Mitiku, A., Aklilu, A., Biresaw, G., & Gize, A. (2021). Prevalence and Associated Factors of *Methicillin-Resistance Staphylococcus aureus* (MRSA) Among Urinary Tract Infection Suspected Patients Attending at Arba Minch General Hospital, Southern Ethiopia. *Infection and Drug Resistance*, 14, 2133–2142. <https://doi.org/10.2147/IDR.S306648>
- Murray, C. J., Ikuta, K. S., Sharara, F., Swetschinski, L., Robles Aguilar, G., Gray, A., Han, C., Bisignano, C., Rao, P., Wool, E., Johnson, S. C., Browne, A. J., Chipeta, M. G., Fell, F., Hackett, S., Haines-Woodhouse, G., Kashef Hamadani, B. H., Kumaran, E. A. P., McManigal, B., & Naghavi, M. (2022). Global Burden of Bacterial Antimicrobial Resistance in 2019: A Systematic Analysis. *The Lancet*, 399(10325), 629–655. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724-0)
- Mutia, A. H. (2022). *Uji Antibakteri Ekstrak Biji Mangga Limus (Mangifera Foetida L.) Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus*. *Karya Tulis Ilmiah Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Amd . AK*.

- Nurhayati, L. S., Yahdiyani, N., & Hidayatulloh, A. (2020). Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt dengan Metode Difusi Sumuran dan Metode Difusi Cakram. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, 1(2), 41. <https://doi.org/10.24198/jthp.v1i2.27537>
- Permataningrum, N. I., Dewi, L. R., & Prihanti, A. M. (2020). Daya Hambat Ekstrak Daun Kakao (*Theobroma Cacao L.*) terhadap Pertumbuhan *Candida Albicans*. *Pustaka Kesehatan*, 7(3), 142.
- Pertiwi, R., & Wulandari, S. (2022). *Buku Ajar Farmakognosi Simplisia Minyak Atsiri dan Gula*. Penerbit Lakeisha.
- Pohan, D. J., Kakerissa, A. P., & Arodes, E. S. (2021). Uji efektivitas ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao l.*) sebagai antibakteri dalam berbagai konsentrasi pada *Streptococcus pyogenes*. *Majalah Kedokteran UKI*, 36(1), 8–13. <https://doi.org/10.33541/mk.v36i1.2986>
- Pradito, S. A., Muthmainah, N., & Biworo, A. (2022). Perbandingan Aktivitas Antibakteri Sediaan Infus dan Sediaan Ekstrak Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Homeostasis*, 5(1), 135. <https://doi.org/10.20527/ht.v5i1.5212>
- Pristianingrum, S., Zainiati, B. L., Muttaqin, Z., Puspita, F. D., & Arman, R. (2021). Deteksi *Methicillin Resistance Staphylococcus aureus* (MRSA) Pada Peralatan Medis Yang Digunakan Di Ruang Rawat Inap RSUD Provinsi NTB. *Jurnal Analis Medika Biosains (JAMBS)*, 8(1), 7.
- Purnomo, O. (2023). Review Tanaman Bayam Berduri (*Amaranthus spinosus L.*): Skrining Fitokimia Dan Pemanfaatannya. *Binawan Student Journal*, 5(1), 77–83. <https://doi.org/10.54771/bsj.v5i1.878>
- Putri, N.P.D., Setyaningrum, Fauziah, L., & Trianggaluh, D. (2023). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao L.*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Stikes Soebandi*.
- Putri S. G & Kaliu S. (2022). Antibacterial Activity of Cocoa Leaf Extract *Theobroma cacao L.* Against Acne-Causing Bacteria *Cutibacterium Acnes* and *Staphylococcus epidermidis*. *Bioeduscience*, 6(3), 288–293. <https://doi.org/10.22236/jbes/6310267>
- Rahman, I. W., Arfani, N., Rafika, & Tadoda, J. V. (2023). Deteksi Bakteri MRSA *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* pada Sampel Darah Pasien Rawat Inap. *Jurnal Ilmu Alam dan Lingkungan*, 14(1), 48-54.
- Rahmawati, R. P., Retnowati, E., & Devi, R. K. (2021). Pengaruh Ekstrak Etanolik Kulit Terong Belanda (*Solanum betaceum Cav.*) Terhadap Aktivitas

- Antioksidan Secara in Vitro. *Indonesia Jurnal Farmasi*, 5(2), 7. <https://doi.org/10.26751/ijf.v5i2.1171>
- Rani, Z., Ridwanto, R., Miswanda, D., Yuniarti, R., Sutiani, A., Syahputra, R. A., & Irma, R. (2022). Cytotoxicity Test of Cocoa Leaf Ethanol Extract (*Theobroma cacao* L.) With Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) Method. *Indonesian Journal of Chemical Science and Technology (IJCST)*, 5(2), 80. <https://doi.org/10.24114/ijcst.v5i2.37452>
- Riano, M.D., Amalia, A.R., & Sari, Y. D. P. (2023). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) Terhadap Bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*. *FARMASINDO Politeknik Indonusa Surakarta*, 7, 5–8.
- Rianti, E. D. D., Tania, P. O. A., & Listyawati, A. F. (2022). Kuat Medan Listrik AC Dalam Menghambat Pertumbuhan Koloni *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*. *Bioma : Jurnal Ilmiah Biolog*, 11(1), 79–88.
- Rudd, K.E., Johnson, S.C., Agesa, K.M., Shackelford, K.A., Tsoi, D., Kievlan, D.R., Colombara, D.V., Ikuta, K.S., Kissoon, N., Finfer, S., Fleischmann-Struzek, C., Machado, F.R., Reinhart, K.K., Rowan, K., Seymour, C.W., Watson, R.S., West, T.E., Marinho, N. M. (2020). Global, Regional, and National Sepsis Incidence and Mortality, 1990–2017: Analysis For the Global Burden of Disease Study. *Lancet. PMID*, 18(395), 200–211. [10.1016/S0140-6736\(19\)32989-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)32989-7)
- Safitri, L., Nofita, N., & Tutik, T. (2023). Hubungan Kadar Tanin Dengan Aktivitas Antioksidan Pada Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.) Yang Tumbuh Di Dataran Rendah Dan Dataran Tinggi. *Jurnal Farmasi Malahayati*, 6(1), 52–62. <https://doi.org/10.33024/jfm.v6i1.8238>
- Saidin Marsudi, A., Wiyono, W. I., & Mpila, D. A. (2021). Tingkat Pengetahuan Dan Perilaku Masyarakat Terhadap Penggunaan Antibiotik Di Beberapa Apotek Di Kota Ternate. *Jurnal Farmasi Medica/Pharmacy Medical Journal (PMJ)*, 4(2), 54. <https://doi.org/10.35799/pmj.v4i2.34766>
- Salman, N. R., Matar, M., Lotfy, W., & Darwish, S. (2024). A Comparative Study Of the Antimicrobial Activity Of Cacao Ethanol Extract and Chlorhexidine Digluconate On Salivary *Streptococcus mutans*. *Egyptian Dental Journal*, 70(3), 2175–2180. <https://doi.org/10.21608/edj.2024.274000.2970>
- Santosaningsih, D., Erikawati, D., Hakim, I. A., Santoso, S., Hidayat, M., Suwenda, A. H., Puspitasari, V., Irhamni, I., Kuntaman, K., van Arkel, A. L. E., Terlouw, L. G., Oudenes, N., Willemsse-Erix, D., Snijders, S. V., Erler, N. S., Verbrugh, H. A., & Severin, J. A. (2019). Reducing Transmission Of *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* In A Surgical Ward Of A Resource-Limited

- Hospital In Indonesia: An Intervention Study. *Infection Prevention in Practice*, 1(3–4). <https://doi.org/10.1016/j.infpip.2019.100028>
- Silvia, R.M., Fiandita, C.V., Prihanti, A.M., Wahyukundari, M.A., dan Arina, Y. M. (2023). Efektivitas Ekstrak Daun Kakao Varietas Edel Sebagai Anantibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Porphyromonas gingivalis* : Sebuah Studi Eksperimental. *Padjajaran Journal Of Dentistry*, 35, 106–110. <https://doi.org/10.24198/pjd.vol35no2.4>
- Subong-Espina, R. J., Tan, R. D., & Hernando, C. M. D. (2023). The Use of Open Data Kit (ODK) in Characterizing the Cacao Industry Sites in Panay Island. *Philippine Agricultural Scientist*, 106(1), 15–25.
- Suryantari, S.A.A., Satyarsa, A.B. S., Prasista, N.N.S., Darmawan, I.P.G.P., & Jawi, D. (2021). Uji Aktivitas Anti-Bakteri Ekstrak Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) Terhadap Bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*. *Jurnal Poltekkes Jaya Putra*, 13, 80–89.
- Susilowati, F. (2022). *Pengujian Statistik Dengan SPSS*. Pustaka: Rumah Cinta.
- Ullah, A., Munir, S., Badshah, S. L., Khan, N., Ghani, L., Poulson, B. G., Emwas, A., & Jaremko, M. (2020). Therapeutic Agent. . . *Important Flavonoids and Their Role as a Therapeutic Agent*. In *Molecules*, 25(22), 1–39.
- Vania V. Liling, Yessie K. Lengkey , Sambou, C. N., Reky, R., & Palandi. (2020). Biofarmasetikal Tropis Biofarmasetikal Tropis. *The Tropical Journal of Biopharmaceutical*, 3(1), 112–121.
- Wahyuningsih, N., & Zulaika, E. 2019. Perbandingan Pertumbuhan Bakteri Selulolitik pada Media Nutrient Broth dan Carboxy Methyl Cellulose. *Jurnal Sains Dan Seni ITS*, 7(2), 7–9. <https://doi.org/10.12962/j23373520.v7i2.36283>
- World Health Organization (WHO). (2022). Global Antimicrobial Resistance and Use Surveillance System (GLASS) Report 2022. In *Braz Dent J*. (Vol. 33, Issue 1). World Health Organization.