

Uji Efektivitas Ekstrak Biji Kakao (*Theobroma Cacao L.*) Sebagai Antibakteri Dalam Berbagai Konsentrasi pada *Streptococcus Pyogenes*

Dame J Pohan, Angela P Kakerissa, Evy S Arodes

¹Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Indonesia, Jakarta-Indonesia

ABSTRAK

Biji kakao adalah buah yang dikenal sejak dahulu sebagai buah yang memiliki peran penting dalam bidang kesehatan, salah satunya sebagai antibakteri. Biji kakao mengandung senyawa flavonoid, tanin, dan alkaloid yang memiliki efek antimikroba. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui efektivitas ekstrak biji kakao terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes*, yaitu dengan cara mengukur zona hambat menggunakan metode difusi Kirby-Bauer dengan konsentrasi ekstrak biji kakao 20%, 40%, 60%, 80% dan 100%. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak biji kakao dapat efektif memberikan efek antibakteri mulai dari konsentrasi terkecil 20% dengan rata-rata diameter zona hambat 8.07 mm sampai konsentrasi terbesar 100% dengan rata-rata diameter zona hambat 10.98 mm. Sedangkan rata-rata diameter zona hambat antibiotik Ampisilin sebagai kontrol (+) lebih besar dari konsentrasi ekstrak biji kakao. Berdasarkan data tersebut dapat disimpulkan ekstrak biji kakao dapat efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes*

Kata kunci: Kirby-Bauer, Zona Hambat, Antimikroba

Effectiveness Test of Cocoa Seed (*Theobroma Cacao L.*) Extract as an Antibacterial In Various Concentrations on *Streptococcus pyogenes*

ABSTRACT

Cocoa Seed is a fruit that has been known for a long time as a fruit that has an important role in health, which is as an antibacterial. Cocoa seeds contain a high composition of flavonoids, tannins, and alkaloids which have antimicrobial effects. The aim of this research was to study the effect of cocoa seed extracts against *Streptococcus pyogenes*, by measuring the inhibition zone using the Kirby-Bauer diffusion method using concentrations of cocoa seed extract 20%, 40%, 60%, 80% and 100%. The results showed that chocolate seed extract could effectively provide an antibacterial effect ranging from a concentration of 20% with an average diameter of inhibition zone of 8.07 mm to the largest concentration of 100% with an average zone diameter of inhibition of 10.98 mm. While the average diameter of the inhibitory zone of antibiotic ampicillin as a control (+) is greater than the concentration of cocoa seed extract. Based on these data, it can be concluded that cocoa seed extract can effectively inhibit the growth of *Streptococcus pyogenes*.

Keywords: Kirby-Bauer, Inhibitory zone, Antimicrobial

*ESA: Penulis Koresponden; E-mail: evy.ard88@gmail.com

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara kepulauan dengan seribu pulau, yang mempunyai keanekaragaman dan kekhasan ekosistem yang luar biasa. Indonesia juga merupakan negara yang memiliki keanekaragaman hayati karena merupakan gabungan dari dua benua, yaitu Asia dan Australia. Potensi luar biasa yang dimiliki Indonesia ini membutuhkan pemberdayaan yang lebih intensif untuk melakukan penelitian di bidang tanaman obat sebagai pengobatan alternatif lain di bidang kesehatan.^{1,2}

Masyarakat akhir-akhir ini lebih sering memilih produk-produk di pasaran yang berlabel herbal dengan alasan lebih aman untuk kesehatan, efek samping relatif sedikit, dan dianggap lebih murah dari segi ekonomi. Sudah banyak penelitian di Indonesia yang menganalisis tanaman-tanaman yang ada di sekitar kita untuk dijadikan sebagai obat herbal.³ salah satu diantaranya adalah kakao buah kakao (*Theobroma cacao*).⁴

Buah kakao merupakan salah satu komoditas unggulan di Indonesia yang telah dikenal sejak tahun 1560. Negara Indonesia merupakan penghasil kakao terbesar ketiga setelah Ghana dan Pantai Gading. Selain itu, komoditas kakao merupakan komoditas penghasil devisa negara nomor tiga setelah kelapa sawit dan karet.⁵

Peneliti dari *National Institute of Public Health and Environment* di Bilthoven, Belanda, tahun 1999 telah melakukan penapisan fitokimia terhadap bahan alami buah kakao. Kandungan fitokimia yang terkandung pada kakao adalah katekin yang merupakan golongan flavonoid dan merupakan salah satu antioksidan terkuat.⁶

Pada tahun 2012, Mulyatni *et al.*⁷ membuktikan bahwa flavonoid yang terkandung dalam buah kakao memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, dan *Staphylococcus aureus*. Ekstrak biji kakao juga terbukti memiliki antibakteri dalam menghambat kuman *Streptococcus mutans* berdasarkan penelitian Medan Yumas (2017), yang merupakan salah satu penyebab utama karies gigi.⁸

Centers for Disease Control and Prevention menyatakan bahwa bakteri *Streptococcus pyogenes* (*S. pyogenes*) merupakan salah satu penyebab penyakit menular yang paling mengancam jiwa. Penyakit yang paling sering disebabkan oleh bakteri ini adalah faringitis akut dan dapat berkomplikasi menjadi *scarlet fever* seperti wabah yang terjadi pada Hong Kong 2011. Beberapa penelitian menunjukkan wabah tersebut yang disebabkan oleh bakteri *S. pyogenes* sudah memiliki resistensi terhadap antibiotik Makrolid dan Tetrasiklin.¹⁰⁻¹²

Kandungan fitokimia dari biji kakao sudah terbukti mempunyai efek antibakteri dan kemampuan *S. pyogenes* yang dapat resisten terhadap beberapa antibiotik membuat penulis tertarik untuk melakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri biji kakao terhadap bakteri *S. pyogenes* penyebab *scarlet fever*.

Bahan dan Cara

Penelitian ini bersifat deskriptif-eksperimental untuk menguji efek bakterisida ekstrak biji kakao terhadap *S. pyogenes* menggunakan metode Kirby-Bauer.⁹ Analisis dan pengolahan data menggunakan uji *One Way Anova*. Uji analisis ini bertujuan untuk menganalisis dua variabel, yaitu variabel terikat dan variabel bebas untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh pemberian ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao*) terhadap pertumbuhan bakteri *S. pyogenes*.

Prosedur penelitian

Persiapan Biji Kakao untuk Ekstraksi

Biji Kakao matang dicuci dan dikeringkan dengan suhu ruangan selama dua hari setelah itu dikeringkan dalam oven pada suhu 100°C selama tiga hari. Bahan yang sudah kering digiling menggunakan mesin penggiling atau *blender* hingga diperoleh serbuk yang homogen.

Ekstraksi Buah Biji Kakao dengan Pelarut Organik

Serbuk biji kakao diekstraksi dengan cara Maserasi menggunakan pelarut etanol proanalisis dengan perbandingan antara simplisia serbuk dan etanol adalah 1:4. Maserasi dilakukan selama tiga hari dengan pergantian etanol setiap hari.⁸

Sebanyak 100 g serbuk biji kakao direndam dengan 400 mL etanol di dalam Erlenmeyer. Perendaman dilakukan dalam suhu ruang pada *shaker* dengan kecepatan 120 rpm secara kontinu selama 24 jam. Penyaringan dilakukan dengan kertas saring Whatman berdiameter 90 mm, sehingga diperoleh maserat. Pelarut (etanol) dalam maserat diuapkan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak pekat berbentuk pasta. Ekstrak tersebut ditimbang dan disimpan dalam wadah eppendorf sebelum digunakan sebagai bahan uji.

Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi Kirby-Bauer. Sebanyak 5 mL suspensi bakteri uji *S. pyogenes* yang telah diukur kekeruhan sesuai standard 0,5 McFarland dimasukkan ke dalam cawan petri dan ditambahkan Agar Mueller Hinton (MHA). Dibuat 6 lubang pada media MHA dengan jarak ± 20 mm.

Sebanyak 50 μ L ekstrak dengan pengenceran 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% diteteskan ke masing-masing lubang. Kertas cakram kosong dicelupkan dalam akuades steril digunakan sebagai kontrol negatif dan cakram antibiotik Ampisilin digunakan sebagai kontrol positif. Isolat uji kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, setelah itu dilakukan pengamatan dan dihitung diameter zona bening yang terbentuk menggunakan jangka sorong.

Hasil

Pengujian efektivitas antibakteri dari ekstrak biji kakao terhadap *S. pyogenes* dilakukan pada media MHA dengan uji difusi cakram (Tabel 1). Percobaan ini dilakukan 5× pengulangan

Tabel 1. Hasil Pengukuran Zona Hambat Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dalam satuan mm

Pengulangan	Konsentrasi Ekstrak Biji Kakao						K (+)
	K(-)	20%	40%	60%	80%	100%	
I	0	7,50	9,60	10,35	8,60	10,50	15,40
II	0	7,50	9,30	9,80	7,75	11,10	15,50
III	0	7,65	9,10	8,70	7,85	9,40	15,50
IV	0	8,85	9,40	11,20	9,30	12,65	15,65
V	0	8,85	9,25	10,0	8,50	11,25	15,15
Rata-rata	0	8,07	9,33	10,05	8,4	10,98	15,44

Keterangan :

K (-) : Kontrol negatif menggunakan Aquades steril

K (+) : Kontrol positif menggunakan Antibiotik Ampisilin

Konsentrasi ekstrak biji kakao : perbandingan pengenceran antara ekstrak biji kakao dengan aquades steril

Hasil penelitian (Tabel 1) menunjukkan bahwa ekstrak biji kakao mempunyai efektivitas

sebagai antibakteri terhadap *S. pyogenes*, diameter zona hambat terendah terdapat pada konsentrasi 20% dan diameter zona hambat tertinggi terdapat pada konsentrasi ekstrak 100%, namun tidak melampaui kontrol positif. Terlihat peningkatan diameter zona hambat seiring bertambahnya konsentrasi, namun terlihat penurunan diameter zona hambat saat masuk ke ekstrak dengan konsentrasi 80%. Pada konsentrasi ekstrak 80%, terlihat rata-rata diameter zona hambat yang lebih kecil pada konsentrasi 40% (diagram 1).

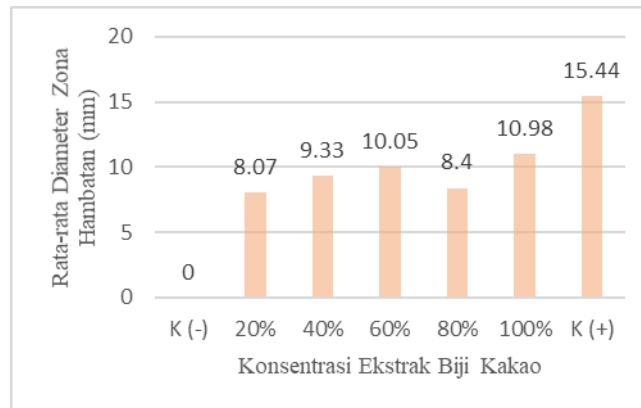
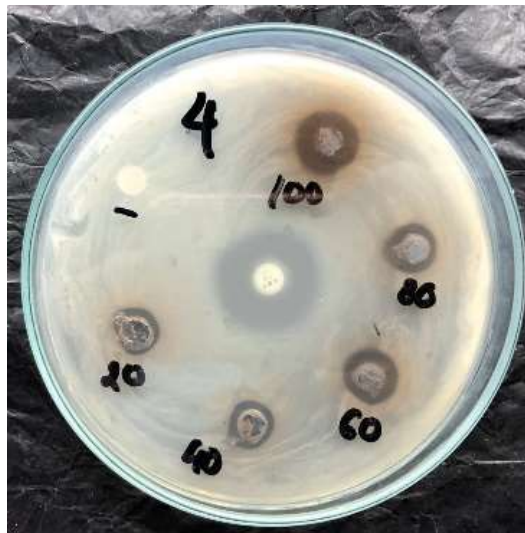


Diagram 1. Hasil Rata-rata Zona Hambat pada Uji Efektivitas Ekstrak Biji Kakao terhadap Pertumbuhan *S. pyogenes*

Zona hambat terkecil dari semua konsentrasi dan pengulangan, didapatkan diameter sebesar 7,50 mm yang muncul pada konsentrasi 20% pada pengulangan I dan II. Zona terbesar dari semua konsentrasi dan pengulangan, didapatkan 12,65 mm yang muncul pada konsentrasi 100% pada pengulangan ke IV.



Gambar IV. 1 Hasil Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Biji Kakao Terhadap Pertumbuhan *S. pyogenes*

Tabel 2. Hasil Uji One-Way Anova Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Biji Kakao Terhadap Pertumbuhan *S. pyogenes*

Diameter	Jumlah Kuadrat	df	Rata-rata Kuadrat	F	Sig.
Diantara Grup	28.435	4	7.109	11.204	.000
Dalam Grup	12.689	20	.634		
Total	41.124	24			

Berdasarkan uji statistik *One-Way ANOVA*, didapatkan perbedaan yang bermakna dari hasil peningkatan persentase kadar ekstrak kakao yang dapat menghambat pertumbuhan *S. pyogenes* ($p < 0.005$).

Pembahasan

Hasil uji ekstrak biji kakao terhadap pertumbuhan *S. pyogenes* menunjukkan ekstrak biji kakao efektif menghambat pertumbuhan *S. pyogenes* pada berbagai konsentrasi (Tabel 1). Hal ini berdasarkan aturan Depkes RI (1989) bahwa suatu bahan aktif dapat dikatakan efektif jika bahan aktif tersebut memiliki diameter penghambatan terhadap sebesar 6 mm atau 0,6 cm. Jika dilihat dari aturan Depkes RI (1989), maka konsentrasi ekstrak biji kakao dalam penelitian ini yang memenuhi syarat dimulai pada konsentrasi 20% dengan diameter hambatan yang paling kecil 7,50 mm.¹³

Efektivitas biji kakao sebagai antibakteri terhadap kuman *S. pyogenes* dikarenakan senyawa aktif alkaloid yang merupakan senyawa organik dengan atom nitrogen dan bersifat basa (alkali). Senyawa ini dapat menyebabkan koagulasi protein yang mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh, dan menyebabkan kematian sel bakteri.^{14, 15}

Selain senyawa alkaloid, biji kakao juga mempunyai senyawa Flavonoid yang dapat berinteraksi dengan protein membran sel bakteri melalui proses absorpsi dengan cara terikat pada bagian hidrofilik membran sel. Senyawa fenolik masuk ke dalam membran sel menyebabkan presipitasi protein sel yang menyebabkan permeabilitas membran sel terganggu, sehingga membran sel akan mengalami lisis.^{16,17}

Penelitian sebelumnya dalam pengujian aktivitas antioksidan dan antimikroba ekstrak kulit konsentrat buah kakao varietas Forastero, menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah kakao mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* dan *S. aureus*. Bakteri *E. coli* mempunyai sifat lebih peka terhadap senyawa aktif ekstrak. Pada penelitian tersebut, konsentrasi ekstrak yang diujikan adalah 5%, 10%, dan 20% dengan menggunakan Dimetil sulfoksida (DMSO) sebagai pengencer ekstrak. Penghambatan bakteri terjadi pada semua konsentrasi ekstrak tersebut. Pelarut DMSO merupakan pelarut polar berspektrum luas, sehingga dapat melarutkan senyawa alkaloid dan flavonoid yang terkandung dalam kulit buah kakao.¹⁸

Senyawa aktif lain yang memiliki efek antibakteri yaitu tanin. Tanin menginaktifkan adhesin sel bakteri sehingga mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel. Tanin juga berikatan dengan polipeptida dinding sel bakteri sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna dan menyebabkan bakteri menjadi lisis.¹⁹

Kesimpulan

Ekstrak biji kakao memiliki aktivitas antimikroba terhadap pertumbuhan bakteri Gram positif *S. pyogenes*. Sehingga dapat menjadi alternatif sumber antibiotik baru yang pada saat ini menjadi kekhawatiran jenis antibiotik lama atau baru tidak dapat menandingi tingkat kecepatan resistensi bakteri-bakteri penyebab penyakit.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kementrian Perencanaan Pembangunan Nasional. *Indonesian biodiversity strategy and action plan 2015-2020*. Jakarta: Bappenas, 2016.23
2. Bahtera E. Terbesar kedua di dunia, keanekaragaman hayati Indonesia baru tergarap 5%. Unpad News. sitasi <http://news.unpad.ac.id/?p=36173> diakses tanggal 05 Oktober 2019
3. Yunitasari, N. Pemanfaatan daun pandan wangi, jahe, dan biji kapulaga sebagai minuman teh untuk obat herbal antidiabetes. *UNES J Sciencetech Res.* 2018; 3(2):197-203
4. Azizah DN, Kumolowati E, Fahrauk F. Penetapan kadar flavonoid metode AlCl₃ pada ekstrak metanol kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.). *Kartika: Jurnal Ilmiah Farmasi.* 2014; 2(2): 45-9

5. Ariati SN, Waeniati, Muslimin, Swastika IN. Induksi kalus tanaman kakao (*Theobroma cacao* L.) pada media MS dengan penambahan 2,4-D, BAP dan air kelapa. *J Sci Tech*. Desember; 1(1):74-84
6. Arts ICW, Hollman PCH, Kromhout D. *Chocolate as a source of tea flavonoids*. *Lancet J*. 1999; 354 (9177): 488
7. Mulyatni AS, Budiani A, Taniwiryono D. Aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma Cacao* L.) Terhadap *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, dan *Staphylococcus aureus*. *E-Journal Menara Perkebunan*. 2012; 80(2), 77-84
8. Yumas M. Pemanfaatan limbah kulit ari biji kakao (*Theobroma cacao* l) sebagai sumber antibakteri *streptococcus mutans*. *Jurnal Industri Hasil Perkebunan*. 2017;12(2), 7-12
9. Purnamasari DA, Munadzirah E, Yogiartono RM. Konsentrasi ekstrak biji kakao sebagai material alam dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *Jurnal PDGI*. 2010; 59(1), 14-8
10. Lamagni TL, Neal S, Keshishian C, Powell D, N Potz, Pebody R, *et al*. Predictors of death after severe *Streptococcus pyogenes* infection. *Emerg Infect Dis*. 2009;15(8):1304-7.
11. Wessels MR, Ferretti JJ, Stevens DL, Fischetti VA. *Streptococcus pyogenes: Basic biology to clinical manifestations*. University of Oklahoma Health Sciences Center. 2016
12. Davies MR, Holden MT, Coupland P, Chen JHK, Venturini C, Barnett TC, *et al*. Emergence of scarlet fever *Streptococcus pyogenes* emm12 clones in Hong Kong is associated with toxin acquisition and multidrug resistance. *Nat Genet*. 2014; (47): 84–7
13. Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. *Farmakologi dan terapi*. Edisi 5. Jakarta: Balai Penerbit FK UI. 2007.
14. Aniszewski T. *Alkaloids- secrets of life alkaloids chemistry, biological significance application and ecological role*. 1st Ed. Amsterdam: Elsevier; 2007
15. Mawan AR, Indriwati SE, Suhadi. Aktivitas antibakteri ekstrak metanol buah *Syzygium polyanthum* terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Bioeksperimen*. 2018; 4(1): 66
16. Ramlah S. Karakteristik mutu dan citarasa coklat kaya polifenol. *Jurnal Industri Hasil Perkebunan*. 2016; 11(1): 23-32
17. Kayaputri IL, Sumanti DM, Djali M, Indiarto R, Dewi DL. Kajian fitokimia ekstrak kulit biji kakao (*Theobroma cacao* L.). *J Chimica et Natura Acta*. 2014; 2(1): 83-90
18. Sartini, Djide MN, Alam G. Ekstraksi komponen bioaktif dari limbah kulit buah kakao dan pengaruhnya terhadap aktivitas antioksidan dan antimikroba. Diunduh dari: [http://mot.farmasi.ugm.ac.id/files/18kulitaacao_PakAlam.pdf], 5 Oktober 2019
19. Ngajowa M, Abidjulua J, Kamu V. Pengaruh antibakteri ekstrak kulit batang matoa (*Pometia pinnata*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara *In vitro*. *Jurnal Mipa Unsrat*. 2013; 2(2): 128-32