



**EFEK EKSTRAK ETANOL BIJI KAKAO (*Theobroma cacao*) SEBAGAI
ANTIBAKTERI TERHADAP *Propionibacterium acnes*
SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh

**Ariska Nur Aida
NIM 112010101009**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2015**



**EFEK EKSTRAK ETANOL BIJI KAKAO (*Theobroma cacao*) SEBAGAI
ANTIBAKTERI TERHADAP *Propionibacterium acnes*
SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan di Fakultas Kedokteran (S1) dan mencapai gelar sarjana kedokteran

Oleh

**Ariska Nur Aida
NIM 112010101009**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2015**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ayahanda Suparno, Ibunda Tutik Mardiaty, dan Kakak dr. Pradana Nur Oviyanti tercinta;
2. Guru-guruku sejak taman kanak-kanak hingga perguruan tinggi;
3. Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia di Kabupaten Jember;
4. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

MOTO

Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman di antara kamu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat.

(terjemahan Surat *Al-Mujadilah* ayat 11)

*⁾ Departemen Agama RI. 2005. Mushaf Al-Qur'an Terjemahan. Jakarta : Gema Insani

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Ariska Nur Aida

NIM : 112010101009

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul "Efek Ekstrak Etanol Biji Kakao (*Theobroma cacao*) sebagai Antibakteri terhadap *Propionibacterium acnes* secara *In vitro*" adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali dalam pengutipan substansi yang sudah disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 2 Maret 2015

Yang menyatakan,

Ariska Nur Aida

112010101009

SKRIPSI

**EFEK EKSTRAK ETANOL BIJI KAKAO (*Theobroma cacao*) SEBAGAI
ANTIBAKTERI TERHADAP *Propionibacterium acnes*
SECARA *IN VITRO***

Oleh

Ariska Nur Aida
NIM 112010101009

Pembimbing :

Dosen Pembimbing Utama : dr. Enny Suswati, M.Kes

Dosen Pembimbing Anggota : Dr. Ir. Misnawi

PENGESAHAN

Skripsi berjudul "Efek Ekstrak Etanol Biji Kakao (*Theobroma cacao*) sebagai Antibakteri terhadap *Propionibacterium acnes* secara *In vitro*" telah diuji dan disahkan pada :

hari, tanggal : Senin, 2 Maret 2015

tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Tim Penguji:

Penguji I,

dr. Dini Agustina, M. Biomed
NIP 19830801 200812 2 003

Penguji III,

dr. Enny Suswati, M.Kes
NIP 19700214 199903 2 001

Penguji II,

Dr. dr. Aris Prasetyo, M.Kes
NIP 19690203 19903 1 001

Penguji IV,

Dr. Ir. Misnawi
NIK 111000217

Mengesahkan
Dekan,

dr. Enny Suswati, M.Kes
NIP 19700214 199903 2 001

RINGKASAN

Efek Ekstrak Etanol Biji Kakao (*Theobroma kakao*) sebagai Antibakteri terhadap *Propionibacterium acnes* secara *In vitro*; Ariska Nur Aida, 112010101009; 2015; 68 halaman; Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Di Indonesia, jerawat dapat mempengaruhi 85-100% orang, sedangkan menurut catatan kelompok studi dermatologi kosmetika Indonesia, menunjukkan terdapat 60% penderita jerawat pada tahun 2006 dan 80% pada tahun 2007. *Propionibacterium acnes* merupakan organisme utama yang pada umumnya memberi kontribusi terhadap terjadinya jerawat. Antibiotik sudah secara luas digunakan sebagai salah satu cara efektif dalam pengobatan acne vulgaris selama 30 tahun terakhir. Salah satunya yang paling sering digunakan adalah clindamycin. Tetapi, penggunaannya yang secara luas, memunculkan strain *P. acnes* yang resisten terhadap clindamycin. Akibatnya penggunaan clindamycin sebagai anti acne jangka panjang mulai diragukan. Oleh karena itu diperlukan terapi alternatif yang salah satunya dengan memanfaatkan tanaman kakao (*Theobroma cacao*).

Pada penelitian sebelumnya telah dibuktikan bahwa senyawa polifenol yang terkandung dalam ekstrak etanol biji kakao dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Streptococcus pneumoniae* secara *in vitro*.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek dari ekstrak etanol biji kakao (*T. cacao*) sebagai antibakteri terhadap bakteri *P. acnes* secara *in vitro* dan untuk menentukan konsentrasi minimum ekstrak etanol biji kakao (*T. cacao*) yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *P. acnes* secara *in vitro*. Metode uji yang digunakan adalah metode *disk diffusion* (Kirby Bauer) dengan media agar *Muller Hinton*. Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental semu (*Quasi Experimental Design*). Sampel yang digunakan adalah koloni bakteri *P. acnes* yang disesuaikan dengan standar 0,5 Mc Farland. Konsentrasi larutan uji yang digunakan

adalah 7,81; 15,62; 31,25; 62,5; 125; 250; 500; 1000 mg/ml. Kontrol positif menggunakan suspensi clindamycin dan kontrol negatif menggunakan larutan aquadest steril. Data yang diperoleh berupa daerah zona hambat di sekitar kertas saring pada media agar *Muller Hinton* yang telah ditanami *P. acnes* dan diukur diameternya menggunakan jangka sorong.

Data kemudian dianalisis secara deskriptif dan statistik. Analisis statistik menggunakan uji normalitas *Shapiro Wilk*, selanjutnya diuji dengan uji korelasi sederhana bivariat untuk mengetahui hubungan antara variabel bebas terhadap variabel terikat dan dilanjutkan dengan uji regresi linier untuk mengetahui pengaruh variabel bebas terhadap variabel terikat. Setelah itu, jika data terdistribusi normal dan homogen, dilakukan uji statistik *one way Anova*.

Hasil dari penelitian ini menunjukkan terdapatnya efek antibakteri ekstrak etanol biji kakao (*T. cacao*) terhadap bakteri *P. acnes* secara *in vitro*. Efek antibakteri tersebut ditunjukkan dengan adanya zona hambat yang terbentuk di sekitar kertas saring. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol biji kakao (*T.cacao*) maka zona hambat yang terbentuk semakin lebar. Efek tersebut terjadi karena adanya kandungan beberapa senyawa yang bersifat antibakteri seperti katekin, flavonoid, dan tanin. Nilai KHM ekstrak etanol biji kakao (*T. cacao*) terhadap bakteri *P. acnes* adalah pada konsentrasi 31,25 mg/ml dan KHM secara kualitatif adalah 16,93 mg/ml.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat ALLAH SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "Efek Ekstrak Etanol Biji Kakao (*Theobroma cacao*) sebagai Antibakteri terhadap *Propionibacterium acnes* secara *In Vitro*". Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. dr. Enny Suswati, M. Kes selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember atas segala fasilitas dan kesempatan yang diberikan selama menempuh pendidikan kedokteran di Universitas Jember;
2. dr. Enny Suswati, M. Kes dan Dr. Ir. Misnawi selaku Dosen Pembimbing yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga, dan perhatiannya dalam penulisan tugas akhir ini;
3. dr. Dini Agustina, M. Biomed dan Dr. dr. Aris Prasetyo, M. Kes sebagai dosen penguji yang banyak memberikan kritik, saran, dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
4. dr. Sugiyanta, M. Ked, selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing penulis selama studi;
5. dr. Sugiyanta, M. Ked, selaku koordinator KTI yang telah menyetujui penyusunan skripsi ini;
6. Ayahanda Suparno, Ibunda Tutik Mardiati, Kakak tercinta dr. Pradana Nur Oviyanti, dan Adik tercinta Trianike Nor Aini yang senantiasa memberikan doa, dukungan, bimbingan, kasih sayang yang tiada henti, serta pengorbanan setiap waktu;

7. Guru-guruku tercinta, yang telah memberikan ilmu dan mendidiku dengan penuh kesabaran untuk menjadikanku manusia yang berilmu dan bertakwa;
8. Ivan Firmansyah, Devi Chintya Kumalasari, dan Billy Jordan Wrahatnala yang selalu memberikan dukungan dan bantuannya dalam penyusunan skripsi ini;
9. Muhammad Firdaus, yang selalu meluangkan waktunya, memberikan dukungan, motivasi, doa, dan bantuannya;
10. Sahabat-sahabatku Rr. Arienta Yusitasari, Anastasia Citra Purwani, Garinda Chaesaria Putri, Meyta Astuti, Yopi Ardhiaswari, yang selalu memberi dukungan dan bantuannya;
11. Fairuztya Naila Maris, Chikita Rizqi Hanifati, Dinda Ayu Theresa, Tri Aji Pujo yang selalu memberikan bantuannya;
12. Teknisi Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember, Mbak Lilis Lestari, A. Md; Teknisi Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember; dan Tim dari Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia terima kasih atas bantuan dan kerjasama, dukungan serta masukan selama penelitian skripsi ini;
13. Keluarga Beringin Fakultas Kedokteran Universitas Jember yang selalu memberikan dukungan dan kekuatan;
14. Teman-teman Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Jember Angkatan 2011 yang selalu memberi dukungan dan bantuannya;
15. Semua pihak yang telah memberikan bantuan dan dukungan dalam penyusunan skripsi ini, yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran yang membangun dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, 2 Maret 2015

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN BIMBINGAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 <i>Propionibacterium acnes</i>	5
2.1.1 Taksonomi.....	5
2.1.2 Morfologi dan Identifikasi Bakteri.....	6
2.1.3 Patogenesis.....	7

2.1.4 Manifestasi Klinik Acne	7
2.1.5 Diagnosis Laboratorium.....	8
2.1.6 Pengobatan	8
2.2 Tanaman Kakao (<i>Theobroma cacao</i>).....	9
2.2.1 Sejarah Kakao	10
2.2.2 Habitat dan Karakteristik T. Cacao.....	10
2.2.3 Biji Kakao	12
2.2.4 Manfaat dan Kandungan Biji Kakao.....	12
2.2.5 Polifenol Kakao.....	13
2.3 Ekstraksi	15
2.4 Antimikroba	16
2.4.1 Antimikroba yang Menghambat Metabolisme Sel Mikroba.....	17
2.4.2 Antimikroba yang Menghambat Sintesis Dinding Sel Mikroba.....	17
2.4.3 Antimikroba yang Mengganggu Keutuhan Membran Sel Mikroba	17
2.4.4 Antimikroba yang Menghambat Sintesis Protein Sel Mikroba	18
2.4.5 Antimikroba yang Menghambat Sintesis Asam Nukleat Sel Mikroba.....	18
2.5 Clindamycin.....	18
2.6 Uji Aktivitas Antibakteri.....	19
2.6.1 Metode Difusi.....	20
2.6.2 Metode Dilusi.....	20
2.7 Kerangka Konseptual Penelitian	22
2.8 Hipotesis	22
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	23
3.1 Jenis Penelitian	23

3.2 Rancangan penelitian	23
3.3 Uji KHM (Kadar Hambat Minimum)	24
3.4 Sampel Penelitian	25
3.5 Tempat dan Waktu Penelitian	25
3.5.1 Tempat Penelitian.....	25
3.5.2 Waktu Penelitian	25
3.6 Variabel Penelitian	26
3.6.1 Variabel Bebas	26
3.6.2 Variabel Terikat.....	26
3.6.3 Variabel Terkendali.....	26
3.7 Definisi Operasional	26
3.8 Alat dan Bahan	27
3.8.1 Alat	27
3.8.2 Bahan.....	28
3.9 Prosedur Penelitian	28
3.9.1 Persiapan Alat	28
3.9.2 Pembuatan Ekstrak Etanol Biji Kakao	28
3.9.3 Pembuatan Larutan 0,5 <i>Mc Farland</i>	29
3.9.4 Pembuatan Media.....	29
3.9.5 Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Etanol Biji Kakao	29
3.9.6 Pembuatan Suspensi Bakteri	29
3.9.7 Pembuatan Suspensi Antibiotik	30
3.9.8 Tahap Perlakuan.....	30
3.10 Analisis Data	30
3.11 Alur Penelitian	32
3.11.1 Pengenceran Ekstrak	32
3.11.2 Alur Uji Aktivitas Antibakteri.....	33
3.11.3 Alur Kontrol Positif dan Kontrol Negatif	34

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	35
4.1 Hasil Penelitian	35
4.2 Analisis Data	38
4.3 Pembahasan	41
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	46
5.1 Kesimpulan	46
5.2 Saran	46
DAFTAR PUSTAKA	47
LAMPIRAN	54

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Klasifikasi Ilmiah <i>Propionibacterium acnes</i>	5
Tabel 2.2 Klasifikasi Ilmiah Kakao	9
Tabel 2.3 Komposisi Kimia Biji Kakao	13
Tabel 4.1 Hasil interpretasi diameter zona bening daya penghambatan oleh berbagai konsentrasi ekstrak etanol biji kakao (<i>T. cacao</i>) terhadap pertumbuhan <i>P. acnes</i>	35
Tabel 4.2 Hasil Analisis LSD Konsentrasi Ekstrak Etanol Biji Kakao	40

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 <i>Propionibacterium acnes</i> dengan Pengecetan Gram	6
Gambar 2.2 Buah dan Biji Kakao (<i>T. cacao</i>).....	9
Gambar 2.3 Skema Kerangka Konseptual	22
Gambar 3.1 Skema Rancangan Penelitian	24
Gambar 3.2 Skema Pengenceran Ekstrak Etanol Biji Kakao	32
Gambar 3.3 Skema Alur Uji Aktivitas Antibakteri.....	33
Gambar 3.4 Skema Alur Kontrol Positif dan Kontrol Negatif	34
Gambar 4.1 Grafik Pengaruh Ekstrak Etanol Biji Kakao terhadap Diameter Zona Hambat Pertumbuhan <i>P. acnes</i>	36
Gambar 4.2 Zona Hambat Berbagai Tingkat Konsentrasi Ekstrak Etanol Biji Kakao (<i>T. cacao</i>) terhadap Pertumbuhan <i>P. acnes</i>	36
Gambar 4.3 Kontrol Negatif dengan aquadest steril dan Kontrol Positif dengan suspensi clindamycin 2 µg/ml.....	38
Gambar 1 Hasil Uji KHM <i>P. acnes</i> dengan konsentrasi 1000 mg/ml	62
Gambar 2 Hasil Uji KHM <i>P. acnes</i> dengan konsentrasi 500 mg/ml	62
Gambar 3 Hasil Uji KHM <i>P. acnes</i> dengan konsentrasi 250 mg/ml	63
Gambar 4 Hasil Uji KHM <i>P. acnes</i> dengan konsentrasi 125 mg/ml	63
Gambar 5 Hasil Uji KHM <i>P. acnes</i> dengan	

	konsentrasi 62,50 mg/ml	64
Gambar 6	Hasil Uji KHM <i>P. acnes</i> dengan konsentrasi 31,25 mg/ml	64
Gambar 7	Hasil Uji KHM <i>P. acnes</i> dengan konsentrasi 15,62 mg/ml	65
Gambar 8	Hasil Uji KHM <i>P. acnes</i> dengan konsentrasi 7,81 mg/ml	65
Gambar 9	Hasil Kontrol Positif dengan Larutan Clindamycin 2 µg/ml	66
Gambar 10	Hasil Kontrol Negatif dengan Aquadest Steril.....	66

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran A. Uji Normalitas <i>Shapiro Wilk</i>	54
Lampiran B. Uji Korelasi Bivariat Sederhana	56
Lampiran C. Uji Regresi Linear Sederhana	57
Lampiran D. Uji <i>One Way Anova</i>	58
Lampiran E. <i>Post Hoc Test</i>	59
Lampiran F. Gambar Hasil Uji Kadar Hambat Minimum Ekstrak Etanol Biji Kakao (<i>T. cacao</i>) terhadap Bakteri <i>P. acnes</i>	62
Lampiran G. Gambar Hasil Kontrol Positif dengan Clindamycin dan Kontrol Negatif dengan Aquadest Steril	66
Lampiran H. Persetujuan Etik.....	67

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Jerawat atau *acne vulgaris* adalah penyakit peradangan kronik folikel pilosebacea yang ditandai dengan munculnya komedo, papula, pustul, dan nodul (Kumar dan Sachidanand, 2001). Jerawat terjadi pada kulit yang banyak mengandung kelenjar sebacea seperti muka, dada, dan punggung (Nugroho, 2013). Walaupun jerawat tidak mengancam jiwa, namun dapat mempengaruhi kualitas hidup dengan memberikan efek psikologis yang buruk (Hafez *et al.*, 2009). Jerawat seringkali mengenai usia remaja dan dewasa muda (Movita, 2013). Masa tersebut merupakan masa transisi dari masa kanak-kanak ke masa dewasa yang ditandai dengan percepatan perkembangan fisik, mental, emosional, dan sosial (Utama *et al.*, 2013). *Acne* sering menjadi tanda pubertas pertama dan dapat terjadi satu tahun sebelum menarkhe atau haid pertama (Movita, 2013).

Pada usia remaja, jerawat lebih sering terkena pada pria dibandingkan wanita. Namun, dengan peningkatan usia, jerawat lebih sering terkena pada wanita (Shaw and White, 2001). Diketahui bahwa 12% pada wanita dan 5% pada pria berusia 25 tahun mengalami masalah jerawat, dan pada usia 45 tahun wanita dan pria masih mengalami jerawat (Kligman, 1991). Di Indonesia, jerawat mempengaruhi 85-100% orang, sedangkan menurut catatan kelompok studi dermatologi kosmetika Indonesia, menunjukkan terdapat 60% penderita jerawat pada tahun 2006 dan 80% pada tahun 2007 (Aziz, 2010)

Diagnosis klinis jerawat mudah dibuat, tetapi pengobatannya sering mengalami kesulitan. Hal ini karena penyebab jerawat bersifat multifaktorial, termasuk stress, faktor herediter, hormon, obat, dan bakteri, khususnya *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus albus*, dan *Staphylococcus epidermidis* (Dorland, 2010). *Propionibacterium acnes* merupakan organisme utama yang pada umumnya memberi

kontribusi terhadap terjadinya jerawat. *P. acnes* termasuk dalam kelompok bakteri gram positif yang berbentuk batang dan tidak berspora. (Jawetz *et al.*, 2012).

Antibiotik sudah secara luas digunakan sebagai salah satu cara efektif dalam pengobatan acne vulgaris selama 30 tahun terakhir. Terapi antibiotik tidak hanya menurunkan jumlah *P. acnes* pada kulit, tetapi juga bekerja dengan menurunkan jumlah mediator inflamasi *P. acnes*. Saat ini, clindamycin adalah salah satu antibiotik yang paling sering digunakan dalam pengobatan acne vulgaris. Tetapi, penggunaannya yang secara luas, memunculkan strain *P. acnes* yang resisten terhadap clindamycin (Nugroho, 2013). Akibatnya penggunaan clindamycin sebagai anti acne jangka panjang mulai diragukan, oleh karena itu diperlukan terapi alternatif yang aman, efektif, dan efisien tetapi tetap berorientasi pada standar medis, terjangkau secara ekonomi masyarakat serta mudah didapatkan (Spillane dan James, 2008). Salah satu alternatif yang dapat ditempuh adalah dengan memanfaatkan zat aktif dari tumbuhan yang mempunyai potensi tinggi sebagai antibakteri. Beberapa tanaman diketahui memiliki senyawa-senyawa aktif seperti polifenol yang mempunyai khasiat sebagai antialergi, antiinflamasi, antimikroba, antitrombotik, dan antioksidan (D.O Huang dan B. R. Prior, 2005; N. Balasundram *et al.*, 2006; Reddy *et al.*, 2007). Salah satu tanaman yang memiliki kandungan polifenol adalah tanaman kakao.

Kakao (*Theobroma cacao*) merupakan salah satu komoditi perdagangan yang ikut memberi kontribusi untuk meningkatkan devisa negara. Menurut Kementerian Pertanian Indonesia, Indonesia merupakan negara penghasil kakao terbesar ketiga di dunia dengan produksi yang terus tumbuh 3,5 persen setiap tahunnya. Data dari badan PBB untuk pangan dan pertanian FAO (*Food and Agriculture Organization*) menyebutkan, Indonesia memproduksi 5,74 ribu ton kakao di tahun 2010. Biji kakao mengandung senyawa polifenol cukup besar yang meliputi flavonoid sebagai komponen dasar, katekin 33-42 %, tannin 24-40 %. Senyawa polifenol biji kakao terbukti memiliki aktifitas antioksidan dan antibakteri yang bermanfaat bagi tubuh (Wulandari *et al.*, 2012).

Pada penelitian sebelumnya telah dibuktikan bahwa senyawa polifenol dalam ekstrak etanol biji kakao dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan KHM sebesar 6,95 mg/ml dan *Streptococcus pneumoniae* dengan besar KHM 37,62 mg/ml yang dilakukan dengan metode *in vitro* (Kumalasari dan Wrahatnala, 2014), namun belum dibuktikan apakah polifenol biji kakao memiliki efek sebagai antibakteri pada bakteri *P. acnes* yang kemungkinan dapat mengaplikasikannya sebagai antibakteri alami pada pengobatan pasien berjerawat.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah ekstrak etanol biji kakao (*T. cacao*) mempunyai efek sebagai antibakteri terhadap bakteri *P. acnes* secara *in vitro*?
2. Berapakah konsentrasi minimum ekstrak etanol biji kakao (*T. cacao*) yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *P. acnes* secara *in vitro*?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek ekstrak etanol biji kakao (*T. cacao*) sebagai antibakteri terhadap bakteri *P. acnes* secara *in vitro*.
2. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan konsentrasi minimum ekstrak etanol biji kakao (*T. cacao*) yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *P. acnes* secara *in vitro*.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan memberikan manfaat kepada berbagai pihak, antara lain:

1. Memperluas wawasan mahasiswa mengenai at-zat antibakteri yang terdapat di alam.
2. Memberikan sumbangan pengembangan ilmu pengetahuan dan teknologi kedokteran terutama di bidang mikrobiologi.

3. Dapat dijadikan bahan acuan atau tinjauan pustaka untuk penelitian selanjutnya dalam bidang mikrobiologi.
4. Dapat memberikan informasi bahwa ekstrak etanol biji kakao (*Theobroma cacao*) dapat digunakan sebagai antibakteri terhadap *P. acnes*.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Propionibacterium acnes*

Propionibacterium acnes adalah organisme yang pada umumnya memberi kontribusi terhadap terjadinya jerawat (Jawetz *et al.*, 2012). *P. acnes* termasuk bakteri yang tumbuh relatif lambat. Genom dari bakteri ini telah dirangkai dan sebuah penelitian menunjukkan beberapa gen yang dapat menghasilkan enzim untuk meluruhkan kulit dan protein, yang mungkin *immunogenic* (mengaktifkan sistem kekebalan tubuh) (Pramasanti, 2008). Bakteri ini juga mempunyai kemampuan untuk menghasilkan katalase beserta indol, nitrat, atau kedua-duanya indol dan nitrat. *Propionibacterium* menyerupai *Corynebacterium* secara morfologi dan susunannya, tetapi tidak bersifat toksigenik (Brahman, 2007).

2.1.1 Taksonomi

Berdasarkan pada klasifikasi binomial nomenklatur, bakteri ini dapat diklasifikasikan sebagai berikut :

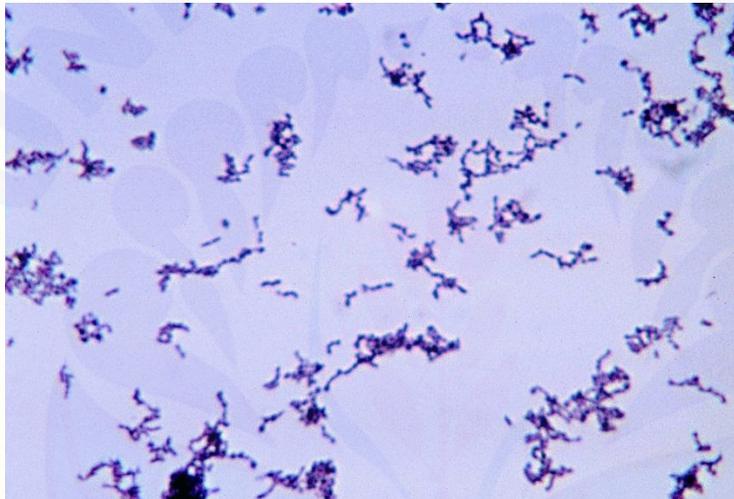
Tabel 2.1 Klasifikasi Ilmiah *P. Acnes*

Klasifikasi bakteri <i>Propionibacterium acnes</i>	
Kingdom	<i>Bacteria</i>
Phylum	<i>Actinobacteria</i>
Class	<i>Actinobacteridae</i>
Ordo	<i>Actinomycetales</i>
Famili	<i>Propionibacteriaceae</i>
Genus	<i>Propionibacterium</i>
Spesies	<i>Propionibacterium acnes</i>

Sumber: (Sugita *et al.*, 2010)

2.1.2 Morfologi dan Identifikasi bakteri

Propionibacterium acnes merupakan bakteri anaerob Gram positif yang toleran terhadap udara. Sel berbentuk batang yang tidak teratur, bercabang, atau campuran antara bentuk batang dengan bentuk kokoid. *P. acnes* dapat tumbuh di udara dan tidak menghasilkan endospora. Beberapa endospora bersifat patogen untuk hewan dan tanaman. Jumlah *P. acnes* pada kulit terkait dengan aktivitas kelenjar sebacea, atau dengan kata lain jumlahnya meningkat setelah adanya pematangan fungsi kelenjar sebacea yaitu seiring masa pubertas (Jawetz *et al.*, 2012).



Gambar 2.1 *P. acnes* dengan pengecatan gram (Sumber : Lengel, 2009)

Propionibacterium acnes ialah agen utama etiologi inflamasi jerawat. Ia merangsang pelepasan interleukin-1 (IL-1), IL-8, dan *tumor necrosis factor- α* (TNF- α) dan mengaktifkan sistem komplemen. Bakteri *P. acnes* menggunakan sebum yang diproduksi di folikel sebagai sumber utama makanan. Dengan menggunakan enzim khusus, bakteri ini menghasilkan asam lemak bebas melalui hidrolisis trigliserida kelenjar sebacea oleh lipasenya. Asam lemak ini dapat mengakibatkan inflamasi jaringan ketika berhubungan dengan sistem imun dan mendukung terjadinya jerawat (Khan, 2009)

2.1.3 Patogenesis

Patogenesis acne meliputi empat faktor, yaitu hiperproliferasi epidermis folikular sehingga terjadi sumbatan folikel, produksi sebum berlebihan, infl amasi, dan aktivitas *P. acnes*. Androgen berperan penting pada patogenesis acne tersebut. Acne mulai terjadi saat adrenaerke, yaitu saat kelenjar adrenal aktif menghasilkan dehidroepiandrosteron sulfat, prekursor testosteron. Penderita acne memiliki kadar androgen serum dan kadar sebum lebih tinggi dibandingkan dengan orang normal, meskipun kadar androgen serum penderita acne masih dalam batas normal. Androgen akan meningkatkan ukuran kelenjar sebacea dan merangsang produksi sebum. Epitel folikel rambut bagian atas, yaitu infundibulum, menjadi hiperkeratotik dan kohesi keratinosit bertambah, sehingga terjadi sumbatan pada muara folikel rambut. Selanjutnya di dalam folikel rambut tersebut terjadi akumulasi keratin, sebum, dan bakteri, dan menyebabkan dilatasi folikel rambut bagian atas, membentuk mikrokomedo. Mikrokomedo yang berisi keratin, sebum, dan bakteri, akan membesar dan ruptur. Selanjutnya, isi mikrokomedo yang keluar akan menimbulkan respons inflamasi. Akan tetapi, terdapat bukti bahwa inflamasi dermis telah terjadi mendahului pembentukan komedo (Movita, 2013).

Faktor keempat terjadinya acne adalah *P. acnes*, bakteri positif gram dan anaerob yang merupakan flora normal kelenjar pilosebacea. Remaja dengan acne memiliki konsentrasi *P. acnes* lebih tinggi dibandingkan remaja tanpa acne, tetapi tidak terdapat korelasi antara jumlah *P. acnes* dengan berat acne. Peranan *P. acnes* pada patogenesis acne adalah memecah trigliserida, salah satu komponen sebum, menjadi asam lemak bebas sehingga terjadi kolonisasi *P. acnes* yang memicu inflamasi. Selain itu, antibodi terhadap antigen dinding sel *P. acnes* meningkatkan respons inflamasi melalui aktivasi komplemen (Movita, 2013).

2.1.4 Manifestasi klinis acne

Acne paling banyak terjadi di wajah, tetapi dapat terjadi pada punggung, dada, dan bahu. Di badan, acne cenderung terkonsentrasi dekat garis tengah tubuh. Penyakit

ini ditandai oleh lesi yang bervariasi, meskipun satu jenis lesi biasanya lebih mendominasi. Lesi noninflamasi, yaitu komedo, dapat berupa komedo terbuka (*blackhead comedones*) yang terjadi akibat oksidasi melanin, atau komedo tertutup (*whitehead comedones*). Lesi inflamasi berupa papul, pustul, hingga nodus dan kista. Scar atau jaringan parut dapat menjadi komplikasi acne noninflamasi maupun acne inflamasi. Derajat acne berdasarkan tipe dan jumlah lesi dapat digolongkan menjadi ringan, sedang, berat, dan sangat berat (Movita, 2013)

2.1.5 Diagnosis laboratorium

Meskipun androgen berperan penting, sebagian besar penderita acne tanpa gejala hiperandrogenisme memiliki kadar androgen serum normal, dan derajat berat acne tidak berkorelasi dengan kadar androgen serum. Diduga, androgen hanya sebagai faktor pemicu acne. Klinis acne lebih ditentukan oleh produksi androgen lokal di kulit yang berlebihan dan/atau reseptor androgen yang banyak serta sangat responsif (Movita, 2013).

2.1.6 Pengobatan

Antibiotik sudah secara luas digunakan sebagai salah satu cara efektif dalam pengobatan acne vulgaris selama 30 tahun terakhir. Terapi antibiotik tidak hanya menurunkan jumlah *P. acnes* pada kulit, tetapi juga bekerja dengan menurunkan jumlah mediator inflamasi *P. acnes*. Saat ini, clindamycin adalah salah satu antibiotik yang paling sering digunakan dalam pengobatan acne vulgaris. Selain itu, tetrasiklin dan eritromisin juga banyak digunakan untuk acne inflamasi. Meskipun tidak mengurangi produksi sebum tetapi dapat menurunkan konsentrasi asam lemak bebas dan menekan pertumbuhan *P. acnes*. Akan tetapi tetrasiklin dan eritromisin tidak banyak digunakan lagi karena angka resistensi *P. acnes* yang cukup tinggi (Nugroho, 2013).

2.2 Tanaman kakao (*Theobroma cacao*)

Tanaman kakao merupakan keturunan genus *Theobroma*, salah satu kelompok kecil tanaman yang berasal dari hulu sungai Amazon dan daerah-daerah tropika lain di Amerika Tengah serta Amerika Selatan. Terdapat lebih dari 20 spesies dalam genus ini, tetapi hanya *T. cacao* yang dibudidayakan dan memberikan nilai ekonomis (Wood, 1975).

Sistematika tanaman kakao menurut klasifikasi botanis adalah sebagai berikut:

Tabel 2.2 Klasifikasi ilmiah kakao

Kakao (<i>Theobroma cacao</i>)	
Kingdom	<i>Plantae</i>
Divisi	<i>Spermatophyta</i>
Sub divisi	<i>Angiospermae</i>
Kelas	<i>Dicotyledoneae</i>
Sub Kelas	<i>Dialypetalae</i>
Ordo	<i>Malvales</i>
Famili	<i>Sterculiaceae</i>
Genus	<i>Theobroma</i>
Spesies	<i>Theobroma cacao</i>

Sumber: Siregar *et al.* (2002).



Gambar 2.2 Buah dan biji Kakao (*T. cacao*)

Sumber : agro.kemenperin.go.id

2.2.1 Sejarah Kakao

Kakao pertama kali ditemukan oleh bangsa Olmek di Amerika Selatan pada tiga ribu tahun yang lalu. Pada masa itu, penduduk Mesoamerika mengolah biji kakao menjadi minuman yang rasanya pahit. Setelah bangsa itu punah, cokelat tetap dapat dinikmati oleh bangsa Maya yang menempati Amerika Selatan setelahnya. Bangsa Maya percaya bahwa pohon kakao merupakan milik dewa dan buah kakao merupakan hadiah dari dewa. Gambar kakao dipahat pada dinding istana dan kuil yang dibangun bangsa Maya serta dilukiskan pada wadah yang digunakan untuk minum (Atkinson *et al.*, 2010). Selain itu, buku-buku yang mereka tulis menggunakan hieroglif menjelaskan tentang berbagai cara membuat minuman cokelat (Pech, 2010).

Bangsa Maya juga menggunakan kakao sebagai pengobatan untuk demam, batuk, bahkan untuk menghilangkan rasa tidak nyaman selama hamil. Setelah menghilangnya suku Maya, suku Aztec memperkuat daerah kekuasaannya di Meksiko. Bagi suku Aztec biji kakao merupakan makanan para dewa (*theobroma*, dari bahasa Yunani). Suku Aztec berpikir bahwa kakao berguna dalam memerangi kelelahan. Bahkan, itu diberikan kepada prajurit sebelum pertempuran. Setelah ditaklukkannya Amerika Tengah oleh Spanyol pada abad ke-16, Cortes memperkenalkan kakao ke wilayah Eropa, di mana kakao secara khusus dianggap sebagai bahan makanan sehat dan bergizi. Kemudian, di Eropa, Gereja Katolik memperbolehkan cokelat untuk dikonsumsi selama masa Prapaskah (Ruzaidi *et al.*, 2008). Dari kawasan Eropa lalu meluas hingga keseluruh penjuru dunia hingga cokelat menjadi salah satu sajian yang paling digemari saat ini (Morganelli, 2007).

2.2.2 Habitat dan Karakteristik *T. cacao*

Theobroma cacao adalah nama biologi yang diberikan pada pohon kakao oleh Linnaeus pada tahun 1753. Tempat alamiah dari genus *Theobroma* adalah di bagian hutan tropis dengan banyak curah hujan, tingkat kelembaban tinggi, dan

teduh (Spillane dan James, 1995). Berdasarkan daerah asalnya, tanaman kakao tumbuh di bawah naungan pohon-pohon yang tinggi. Habitat seperti itu masih dipertahankan dalam budi daya kakao dengan menanam pohon pelindung. Kakao mutlak membutuhkan naungan sejak tanam sampai umur 2-3 tahun. Tanaman muda yang kurang naungan pertumbuhannya akan terlambat. Tanaman ini juga tidak tahan angin kencang sehingga tanaman pelindung (penaung) dapat berfungsi sebagai penahan angin (Siregar *et al.*, 2002).

Buah kakao memiliki bagian-bagian antara lain kulit buah, pulp, plasenta, dan biji. Buah akan mencapai pertumbuhan maksimal dan mulai masak setelah 143 hari dan masak betul setelah 170 hari dengan ditandai dinding buah berwarna kekuningan/oranye.

Theobroma cacao memiliki empat jenis varietas (Afoakwa, 2010), yaitu :

a. *Criollo*

Criollo adalah tanaman kakao yang memiliki mutu tinggi dan fermentasinya cepat, seperti kakao mulia atau edel kakao. Jenis ini memiliki buah yang berwarna merah atau hijau dan kulit buahnya tipis sehingga mudah diiris. Bijinya berbentuk bulat telur dan berukuran besar dengan kotiledon berwarna putih pada saat basah.

b. *Forastero*

Forastero memiliki buah berwarna hijau, bijinya tipis atau gepeng dengan kotiledon berwarna ungu pada waktu masih basah. Biji yang dihasilkan dari jenis ini mempunyai mutu sedang atau dikenal dengan bulk kakao.

c. *Trinitario*

Trinitario adalah tanaman kakao yang merupakan hasil persilangan alami antara *Criollo* dan *Forastero*. Jenis ini mempunyai buah berwarna hijau atau merah dengan bentuk biji yang bermacam-macam. Kotiledonnya berwarna ungu muda sampai ungu tua pada waktu basah. Biji yang dihasilkan dari jenis ini termasuk jenis edel kakao atau bulk kakao.

d. *Nacional*

Nacional tidak cukup umum bila dibandingkan dengan jenis coklat lainnya. *Nacional* memiliki cita rasa yang cukup baik dan sebagian besar tumbuh di Ekuador.

Jenis kakao yang menghasilkan cita rasa coklat yang lembut dengan warna yang cerah adalah *Criollo* sedangkan jenis *Forastero* memiliki cita rasa coklat kuat dan warna yang gelap karena banyak mengandung polifenol dan antosianin (Siregar *et al.*, 2002).

Varietas dari hasil persilangan secara alamiah *Criollo* dan *Trinitario* dijumpai di Jawa, Sumatera, Suriname, Costa Rica, Panama, Venezuela, Timur, dan Granada. Biji buah segar berwarna ungu, setelah mengalami proses fermentasi dan pengeringan biji berwarna coklat tua dan bila disangrai aromanya kurang kuat bila dibandingkan dengan kakao mulia (Siregar *et al.*, 2002).

2.2.3 Biji Kakao

Biji kakao terdiri atas tiga lapisan, yaitu lapisan terluar disebut pulp, kulit ari disebut juga testa, dan lapisan dalam disebut kotiledon. Prosentase biji kakao di dalam buahnya hanya sekitar 27 – 29%. Di dalam buah, biji kakao tersusun dalam lima baris dan jumlahnya beragam antara 20-50 biji per buah. Pada buah muda, biji menempel pada kulit bagian dalam, tetapi bila buah masak, maka biji akan terlepas dari kulit buah dan berbunyi bila digoncang (Siregar *et al.*, 2002).

2.2.4 Manfaat dan Kandungan biji Kakao

Biji kakao sangat diperlukan dalam berbagai macam industri karena sifatnya yang khas, yaitu : (1) biji kakao mengandung lemak yang cukup tinggi (55 %), di mana lemaknya mempunyai sifat yang unik yaitu membeku pada suhu kamar, akan tetapi mencair pada suhu tubuh, (2) bagian padatan biji kakao mengandung komponen flavor dan pewarna yang sangat dibutuhkan dalam industri makanan (Situmorang, 2010). Produk-produk industri coklat dibuat berdasarkan pemanfaatan kedua sifat biji kakao tersebut, yang umumnya berupa bubuk coklat (*cocoa powder*)

atau lemak cokelat (*cocoa butter*). Kedua produk ini terutama lemak cokelat adalah bahan yang sangat diperlukan pada industri makanan, farmasi, dan kosmetika (Situmorang, 2010).

Penggunaan biji kakao dalam industri makanan juga mempunyai keuntungan-keuntungan karena flavor khas kakao sangat digemari konsumen dan flavor kakao dapat dikombinasikan dengan flavor lain yang kurang enak (Situmorang, 2010). Cokelat mempunyai alkaloid seperti theobromin dan phenethylamin yang memiliki efek fisiologi tubuh manusia yaitu aphrodisial (rasa senang). Prosentase kulit biji antara 10 - 14% dari berat biji kering, sedangkan prosentase dari keping biji sekitar 86 - 90% dari berat kering biji kakao. Komposisi kimia biji kakao dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel 2.3 Komposisi kimia biji kakao

Komponen	Keping biji (%)	Kulit biji (%)
Kadar air	5.0	4.5
Lemak	54.0	1.5
Kafein	0.2	-
Theobromin	1.2	1.4
Polihidroksifenols	6.0	-
Protein kasar	11.5	10.9
Pati	6.0	-
Pentosa	1.5	7.0
Selulosa	9.0	26.5
Asam Karboksilat	1.5	-
Abu	2.6	8.0
Komponen lain	1.5	0.1

Sumber: Belitz dan Grosch. (1999).

2.2.5 Polifenol kakao

Polifenol juga dikenal dengan nama *soluble tannin*, merupakan metabolit sekunder yang terdapat dalam daun, biji, dan buah dari tumbuhan tingkat tinggi. Keberadaannya dalam bidang pangan menjadi penting setelah dijadikan diet manusia dan menyumbang terhadap cita rasa makanan (Misnawi, 2003:103-113). Polifenol dalam produk cokelat bertanggung jawab atas pembentukan rasa sepat melalui

mekanisme pengendapan protein-protein yang kaya prolin dalam air ludah dan menyumbang rasa pahit khas cokelat bersama alkaloid, beberapa amino, peptida, dan pirazin (Misnawi, 2003).

Biji kakao mengandung senyawa polifenol sebanyak 120–180g/kg (dalam bubuk bebas lemak) (Misnawi, 2003:103-113) yang meliputi flavonoid sebagai komponen dasar, katekin 33- 42 %, tannin 24-40 %. Senyawa polifenol biji kakao terbukti memiliki aktifitas antioksidan dan antibakteri yang bermanfaat bagi tubuh (Wulandari *et al.*, 2012). Kandungan polifenol dalam kakao, dalam hal ini bubuk kakao lebih tinggi dibandingkan dengan anggur merah maupun teh, baik teh hitam maupun teh hijau. Selain itu, buah kakao yang terdapat di Indonesia memiliki kandungan flavonoid yang paling tinggi bila dibandingkan dengan beberapa negara lainnya. Kandungan flavonoid kakao yang dihasilkan dari Sulawesi jauh lebih banyak daripada kakao yang dihasilkan oleh Malaysia (Othman *et al.*, 2010:1052-1059).

Penelitian secara *in vitro* dan *in vivo* menunjukkan bahwa polifenol biji kakao memiliki antioksidan yang mampu menekan hydrogen peroksida dan anion superoksida, melindungi lemak dari kerusakan oksidasi, bertindak sebagai antiulserik, antimikroba, antikarsinogenik, antimutagenik, menghambat pertumbuhan tumor dan kanker, serta mengurangi penyakit-penyakit karena oksidasi *low density lipoprotein* (Kattenberg, 2000:33-37; Osakabe *et al.*, 2000:1535-1538).

Flavonoid merupakan senyawa pereduksi yang baik, menghambat banyak reaksi oksidasi, baik secara enzim maupun non enzim. Flavonoid merupakan golongan terbesar senyawa fenol. Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Cowan, 1999 ; Nuria *et al.*, 2009 ; Bobbarala, 2012).

Katekin adalah senyawa polifenol alami, yang merupakan metabolit sekunder dan termasuk dalam penyusun golongan tannin (Hastuti, 2010). Menurut Wahluyo (dalam Setiadevi, 2010), katekin memiliki sifat sebagai antimikroba, memperkuat pembuluh darah, melancarkan air seni dan menghambat pertumbuhan kanker.

Katekin merupakan senyawa fenol. Fenol berikatan dengan protein melalui ikatan hydrogen sehingga mengakibatkan struktur protein menjadi rusak. Sebagian besar struktur dinding sel dan membran sitoplasma bakteri mengandung protein dan lemak. Ketidakstabilan pada dinding sel dan membran sitoplasma bakteri menyebabkan fungsi permeabilitas selektif, fungsi pengangkutan aktif, pengendalian susunan protein dari sel bakteri menjadi terganggu. Gangguan integrasi sitoplasma berakibat pada lolosnya makromolekul, dan ion dari sel. Sel bakteri menjadi kehilangan bentuknya, dan terjadilah lisis (Susanti, 2011).

Tanin dinamakan juga asam tanat, ada yang berwarna kuning atau coklat tapi ada juga yang tidak berwarna. Tanin merupakan senyawa aktif metabolit sekunder yang diketahui mempunyai beberapa khasiat yaitu astringen, antidiare, antibakteri, dan antioksidan. Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri menurut Jambang (2004) berhubungan dengan kemampuan tanin dalam menginaktivasi adhesi sel mikroba yang terdapat pada permukaan sel, yaitu melalui enzim yang terikat pada membran sel dan polipeptida dinding sel.

2.3 Ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau hewani dengan menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian rupa hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Haryati, 2005). Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat tradisional yang belum mengalami pengolahan apapun juga (Badan POM RI, 2005).

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan kandungan senyawa kimia dari jaringan tumbuhan maupun hewan. Sebelum ekstraksi dilakukan biasanya bahan-bahan dikeringkan terlebih dahulu kemudian dihaluskan pada derajat kehalusan tertentu (Sinaga, 2009).

Tujuan pembuatan ekstrak tumbuhan obat adalah untuk menstandarisasi kandungannya sehingga menjamin keseragaman mutu, keamanan dan khasiat produk

akhir. Keuntungan penggunaan ekstrak dibandingkan dengan simplisia asalnya adalah penggunaannya bisa lebih mudah dan dari segi bobot pemakaiannya lebih sedikit dibandingkan dengan bobot tumbuhan asalnya. Kesamaan khasiat dalam bentuk ekstrak dan simplisianya tidak jauh berbeda walaupun tidak sama persis, karena tidak semua zat yang berkhasiat dapat tersari dalam pelarutnya (Haryati, 2005).

Menurut Departemen Kesehatan RI (2009), terdapat beberapa metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Maserasi adalah proses penyaringan simplisia dengan cara perendaman menggunakan pelarut dengan sesekali pengadukan pada temperatur kamar (Sinaga, 2009).

Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana, yaitu dengan merendam serbuk simplisia dalam cairan pelarut. Cairan pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel, zat aktif yang terkandung dalam rongga sel akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan luar sel, maka larutan yang ada di dalam akan didesak keluar hingga terjadi keseimbangan konsentrasi antar larutan di dalam sel dan di luar sel. Cairan pelarut yang dapat digunakan berupa air, etanol, dan pelarut lain. Keuntungan cara penyarian dengan metode ini adalah pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah dilakukan. Sedangkan kerugiannya adalah pengerjaannya lama dan penyariannya kurang sempurna (Ningsih *et al.*, 2009).

2.4 Antimikroba

Antimikroba ialah obat pembasmi mikroba, khususnya mikroba yang merugikan manusia. Dalam hal ini yang dimaksudkan dengan mikroba terbatas pada jasad renik yang tidak termasuk kelompok parasit. Antimikroba harus memiliki sifat toksisitas selektif setinggi mungkin, artinya obat harus bersifat sangat toksik untuk mikroba, tetapi relatif tidak toksik untuk hospes. Berdasarkan sifat toksisitas selektif, antimikroba dibedakan menjadi 2, yaitu antimikroba yang bersifat menghambat pertumbuhan mikroba (bakteriostatik) dan antimikroba yang bersifat membunuh

mikroba (bakterisid). Sedangkan berdasarkan mekanisme kerjanya, antibakteri dibagi dalam lima kelompok (Setiabudy, 2011)

2.4.1 Menghambat Metabolisme Sel Mikroba

Antimikroba yang masuk dalam kelompok ini ialah sulfonamid, trimetoprim, asam p-aminosalisilat (PAS) dan sulfon. Dengan mekanisme kerja ini diperoleh efek bakteriostatik. Asam folat dibutuhkan mikroba untuk kelangsungan hidupnya. Dalam hal ini bakteri pathogen harus dapat mensintesis sendiri asam folat dari asam amino benzoat (PABA). Apabila antimikroba menang bersaing dengan PABA untuk diikutsertakan dalam pembentukan asam folat, maka terbentuk analog asam folat yang nonfungsional. Akibatnya kehidupan mikroba akan terganggu (Setiabudy, 2011).

2.4.2 Menghambat Sintesis Dinding Sel Mikroba

Obat yang termasuk dalam kelompok ini ialah penisilin, sefalosporin, basitrasin, vankomisin, dan sikloserin. Dinding sel bakteri, terdiri dari polipeptidoglikan yaitu suatu kompleks polimer mukopeptida (glikopeptida). Antimikroba akan menghambat reaksi yang paling dini dalam proses sintesis dinding sel. Oleh karena tekanan osmotik dalam sel bakteri lebih tinggi daripada di luar sel maka kerusakan dinding sel bakteri akan menyebabkan terjadinya lisis, yang merupakan dasar efek bakterisidal pada bakteri yang peka (Setiabudy, 2011).

2.4.3 Mengganggu Keutuhan Membran Sel Bakteri

Obat yang termasuk dalam kelompok ini ialah polimiksin, golongan polien serta berbagai antibakteri kemoterapeutik, umpamanya antiseptik *surface active agents*. Polimiksin sebagai senyawa ammonium-kuaterner dapat merusak membran sel setelah bereaksi dengan fosfat pada fosfolipid membran sel mikroba. Kerusakan membran sel menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dalam sel mikroba seperti protein, asam nukleat, dan nukleotida (Setiabudy, 2011).

2.4.4 Menghambat Sintesis Protein Sel Bakteri

Obat yang termasuk dalam kelompok ini ialah golongan aminoglikosida, makrolid, linkomisin, tetrasiklin dan kloramfenikol. Untuk kehidupannya, sel mikroba perlu mensintesis berbagai protein. Sintesis protein berlangsung di ribosom, dengan bantuan mRNA dan tRNA. Pada bakteri, ribosom terdiri atas dua sub unit, yang berdasarkan konstanta sedimentasi dinyatakan sebagai 30S dan 50S. Untuk berfungsi pada sintesis protein, kedua komponen ini akan bersatu pada pangkal rantai mRNA menjadi ribosom 70S. Penghambatan sintesis protein terjadi dengan cara terikatnya salah satu komponen ribosom dengan antimikroba. Akibatnya akan terbentuk protein yang abnormal dan nonfungsional bagi sel mikroba (Setiabudy, 2011).

2.4.5 Menghambat Sintesis Asam Nukleat Sel Mikroba

Antibakteri yang termasuk dalam kelompok ini adalah rifampisin, dan golongan kuinolon. Antimikroba akan berikatan dengan enzim polimerase-RNA sehingga menghambat sintesis RNA dan DNA oleh enzim tersebut (Setiabudy, 2011).

2.5 Clindamycin

Clindamycin merupakan antibiotik lincosamide. Clindamycin sering digunakan secara eksklusif karena efeknya yang besar dan farmakokinetiknya yang unggul. (Yagiela, 2004).

Bagian reseptor dari lincosamide serupa dengan macrolides, chloropenicol, dan streptogramins, yaitu subunit 23S dari 50S kromosom bakteri menghasilkan inhibisi bakteriostatik dari sintesis protein mikroba.

Clindamycin memiliki aktivitas yang signifikan melawan bermacam Gram positif dan Gram negatif anaerob serta mikroorganisme fakultatif ataupun aerob yaitu *Bacteriodes*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Veilonella*, *Peptostreptococcus*, *Microaerophilic streptococci*, *Actinomyces*, *Eubacteria*, *Clostridium* (except

Clostridium difficile), and *Propionibacteria*. Oleh karena itu clindamycin dipilih sebagai yang sering digunakan pada infeksi karen *P. Acnes* dengan kadar konsentrasi hambat minimum sebesar 2 µg/ml (Linuma *et al*, 2011)

Clindamycin terabsorpsi baik secara oral dengan bioavailability 90% tidak dipengaruhi oleh makanan. Waktu untuk level oral serum maksimum adalah 45-60 menit, dengan level serum maksimal 2.5µg/ml dan waktu paruh eliminasi 2.4-3 jam. Dengan kegagalan ginjal waktu paruh eliminasi meningkat menjadi 6 jam dengan penggandaan level serum. Obat ini berpenetrasi baik ke dalam tulang, tapi tidak ke cairan cerebrospinal, bermetabolisme sebagian besar dalam hati (lebih dari 90%), dan berkonsentrasi tinggi di dalam empedu, dimana ini dapat mengubah flora usus sampai 2 minggu setelah penggunaan dihentikan. Clindamycin mirip dengan macrolides yang memusatkan pada sel polymorphonuclear, alveolar macrophage, dan jaringan abses secara istimewa (Yagiela, 2004).

2.6 Uji Aktivitas Antibakteri

Potensi dari suatu antimikroba diperkirakan dengan membandingkan penghambatan pertumbuhan terhadap mikroorganisme yang sensitif dari hasil penghambatan suatu konsentrasi antibiotik uji dibandingkan dengan antibiotik referensi. Bahan referensi yang digunakan dalam pengujian adalah zat yang aktivitasnya telah diketahui dengan mengacu pada standar internasional yang sesuai.

Penentuan aktivitas antimikroba dapat dilakukan dengan dua metode, yaitu metode difusi dan metode dilusi. Pada metode difusi termasuk di dalamnya metode *disk diffusion* (tes Kirby & Bauer), *E-test*, *Ditch-plate technique*, *Cup-plate technique*. Sedangkan pada metode dilusi termasuk di dalamnya metode dilusi cair dan dilusi padat (Pratiwi, 2008).

2.6.1 Metode difusi

Metode difusi diantaranya (Pratiwi, 2008), yaitu:

- a. Metode *disk diffusion (tes Kirby & Bauer)* menggunakan piringan yang berisi agen antimikroba, kemudian diletakan pada media agar yang sebelumnya telah ditanami mikroorganisme sehingga agen antimikroba dapat berdifusi pada media agar tersebut. Area jernih mengindikasikan oleh agen antimikroba pada permukaan media agar.
- b. Metode *E-test* digunakan untuk mengestimasi Kadar Hambat Minimum (KHM), yaitu konsentrasi minimal suatu agen antimikroba untuk dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Pada metode ini digunakan *strip plastic* yang mengandung agen antimikroba dari kadar terendah sampai tertinggi dan diletakkan pada permukaan media agar yang telah ditanami mikroorganisme sebelumnya. Pengamatan dilakukan pada area jernih yang ditimbulkannya yang menunjukkan kadar agen antimikroba yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme pada media agar.
- c. *Ditch-plate technique*. Pada metode ini sampel uji berupa agen antimikroba yang diletakkan pada parit yang dibuat dengan cara memotong media agar dalam cawan petri pada bagian tengah secara membujur dan mikroba uji (maksimum 6 macam) digoreskan kearah parit yang berisi agen antimikroba tersebut.
- d. *Cup-plate technique*. Metode ini serupa dengan *disk diffusion*, dimana dibuat sumuran pada media agar yang telah ditanami dengan mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi agen antimikroba yang akan diuji.

2.6.2 Metode Dilusi

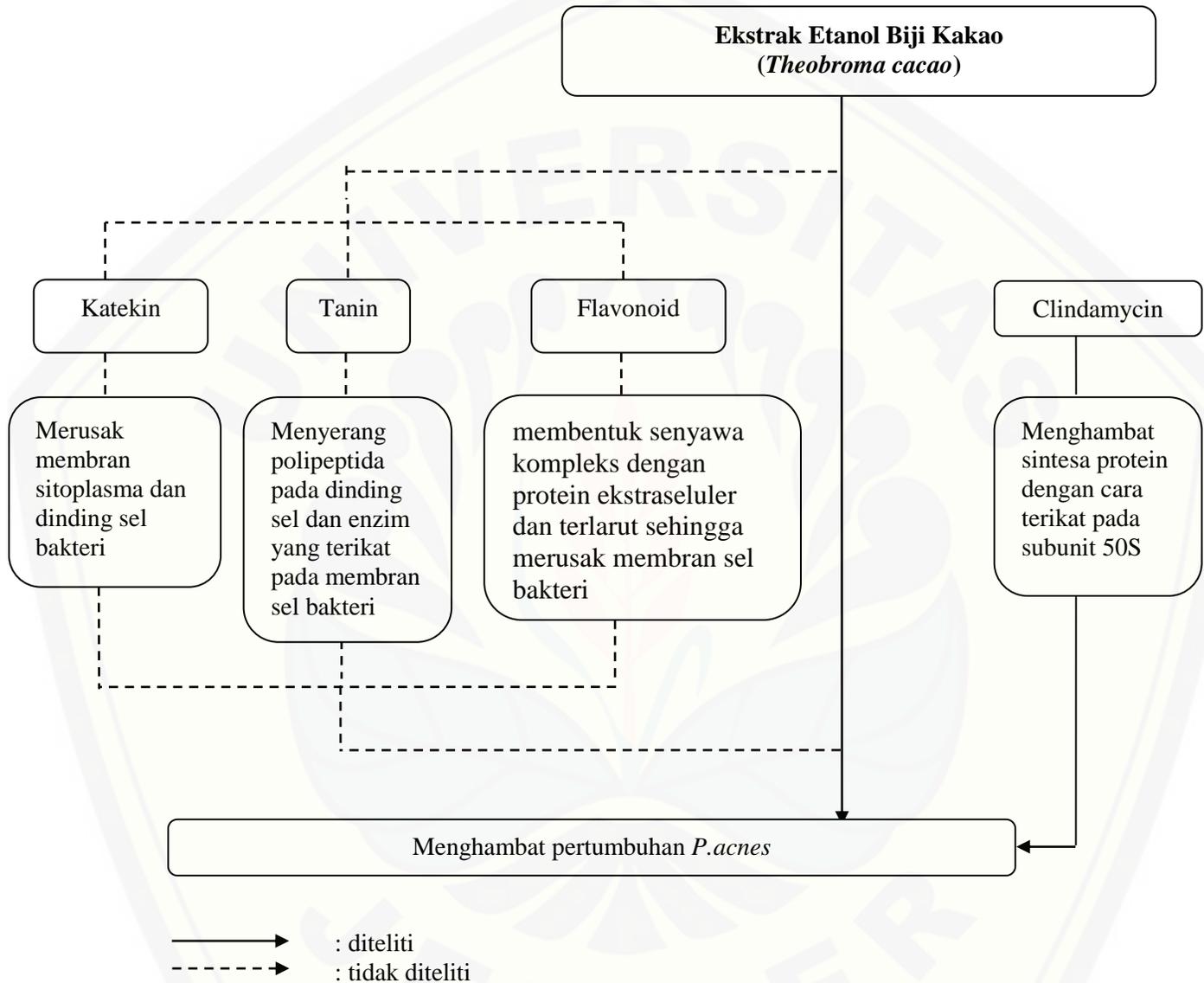
Metode dilusi diantaranya (Pratiwi, 2008), yaitu:

- a. Metode dilusi cair atau *broth dilution test (serial dilution)*. Metode ini digunakan untuk mengukur KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bunuh Minimum). Cara yang dilakukan adalah dengan membuat

seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji. Larutan uji agen antimikroba pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai KHM. Larutan yang ditetapkan sebagai KHM tersebut selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan mikroba uji ataupun agen antimikroba, dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media cair yang tetap terlihat jernih setelah diinkubasi ditetapkan sebagai KBM.

- b. Metode dilusi padat (*solid dilution test*). Metode ini serupa dengan metode dilusi cair namun menggunakan media padat (solid). Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji.

2.7 Kerangka Konseptual Penelitian



Gambar 2.3 Skema Kerangka Konseptual

2.8 Hipotesis

Ekstrak etanol biji kakao (*T. cacao*) memiliki efek sebagai antibakteri dan mampu menghambat pertumbuhan bakteri *P. acnes* secara *in vitro*.

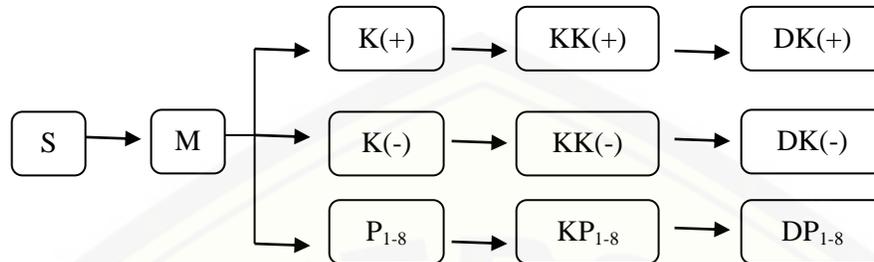
BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental semu (*Quasi Experimental Design*). Pada perlakuan ini tidak dilakukan randomisasi karena semua sampel telah homogen (Praktiknya, 2008).

3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan eksperimental sederhana (*Post test only Control Group Design*) yaitu tahap pengujian *disk diffusion* (*Kirby Bauer*) untuk menentukan KHM. Pada penelitian ini, sampel dibagi menjadi kelompok kontrol dan kelompok perlakuan (Praktiknya, 2008). Rancangan penelitian dapat dilihat pada gambar skema 3.1 di bawah ini.



- S : Sampel *P. acnes* yang disesuaikan dengan standar 0,5 Mc Farland
- M : Media Muller Hinton
- K(+): Kelompok kontrol positif
- K(-): Kelompok kontrol negatif
- P₁₋₈ : Kelompok perlakuan 1-8
- KK(+): Perlakuan berupa kontak dengan clindamycin konsentrasi 2 µg/ml
- KK(-): Perlakuan berupa kontak dengan aquadest steril
- KP₁₋₈ : Perlakuan berupa kontak dengan ekstrak etanol kakao konsentrasi 7,81; 15,62; 31,25; 62,50; 125; 250; 500; 1000 mg/ml
- DK(+): Data perlakuan dengan kontrol positif
- DK(-): Data perlakuan dengan kontrol negatif
- DP₁₋₈ : Data perlakuan dengan ekstrak etanol kakao konsentrasi 7,81; 15,62; 31,25; 62,50; 125; 250; 500; 1.000 mg/ml

Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian

3.3 Uji KHM (Kadar Hambat Minimum)

Metode yang digunakan untuk uji Kadar Hambat Minimum bakteri *P. acnes* adalah dengan metode *disk diffusion* (Kirby Bauer). Media agar Muller Hinton (MH) digunakan sebagai media bakteri *P. acnes* untuk uji KHM.

3.4 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah koloni bakteri *P. acnes* dari *stock culture* milik Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember yang disesuaikan dengan standar *0,5 Mc Farland* (10^8 CFU/ml).

Berdasarkan rumus Federer (1991), pengulangan sampel dalam penelitian ini adalah:

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

$$(n-1)(10-1) \geq 15$$

$$n-1 \geq 15/9$$

$$n \geq 2,6667 \approx n \geq 3$$

n = jumlah pengulangan

t = jumlah perlakuan, KP 1-8, KK(-), KK(+) = 10 perlakuan

Pengulangan sampel dalam penelitian ini dilakukan sebanyak 4 kali pengulangan.

3.5 Tempat dan Waktu Penelitian

3.5.1 Tempat Penelitian

Tempat uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol biji kakao dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Pembuatan ekstrak etanol biji kakao dilakukan di Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Jember.

3.5.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada tanggal 7-10 Oktober 2014.

3.6 Variabel Penelitian

3.6.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak etanol biji kakao (*T. cacao*). Konsentrasi ekstrak etanol biji kakao (*T. cacao*) yang diuji adalah 7,81; 15,62; 31,25; 62,50; 125; 250; 500; dan 1000 mg/ml.

3.6.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah diameter zona hambat ekstrak etanol biji kakao (*T. cacao*) terhadap pertumbuhan bakteri *P. acnes*.

3.6.3 Variabel Terkendali

- a. Pembuatan biakan bakteri, pembuatan ekstrak etanol biji kakao, media agar MH, autoklaf, inkubator, suspensi obat, dan aquades steril.
- b. Suhu pengeraman (inkubasi) bakteri 37⁰ C dan lama inkubasi 24 jam.
- c. Metode pengamatan pada Uji KHM.
- d. Prosedur penelitian.

3.7 Definisi Operasional

- a. Konsentrasi ekstrak etanol biji kakao (*T. cacao*) dengan konsentrasi 7,81; 15,62; 31,25; 62,50; 125; 250; 500; dan 1000 mg/ml. Konsentrasi ekstrak etanol biji kakao (*T. cacao*) 1000 mg/ml adalah konsentrasi ekstrak yang didapatkan dengan cara mencampur 4000 mg ekstrak dengan 4 ml aquadest steril, kemudian divortex selama 60 detik. Pengenceran dilakukan secara bertingkat dengan kelipatan setengahnya sampai didapatkan larutan konsentrasi 7,8 mg/ml.
- b. Daya hambat ekstrak etanol biji kakao (*T. cacao*) diukur berdasarkan terbentuknya diameter zona hambat ekstrak etanol biji kakao (*T. cacao*)

- terhadap pertumbuhan bakteri *P. acnes* di sekitar kertas saring dengan menggunakan jangka sorong.
- c. Ekstrak etanol biji kakao (*T. cacao*) hasil ekstraksi biji kakao dengan menggunakan pelarut etanol 90% dengan metode maserasi.
 - d. Bakteri *P. acnes* yang telah dikembangbiakkan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember dan disesuaikan dengan standart 0,5 Mc Farland saat akan ditanam pada media agar *Muller Hinton*.
 - e. Media agar *Muller Hinton* (MH) didapat dengan melarutkan 38 gram bubuk media agar MH dalam 1 L aquadest steril lalu dituangkan ke dalam cawan petri sampai ketebalan 9 mm.
 - f. Kontrol positif adalah clindamycin dalam sediaan tablet 150 mg , diambil sebanyak 2 µg yang dilarutkan dengan aquade steril 1 ml, kemudian divortex selama 60 detik sampai tercampur rata sehingga didapatkan konsentrasi 2 µg/ml. Sediaan tersebut ditempatkan pada vial.
 - g. Kontrol negatif adalah aquadest steril, tanpa penambahan ekstrak etanol biji kakao (*T. cacao*) maupun larutan antibiotik.
 - h. Uji KHM dengan metode *disk diffusion* (*Kirby Bauer*) adalah uji yang digunakan untuk menentukan kadar atau konsentrasi minimal larutan ekstrak etanol biji kakao (*T. cacao*) yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji (*P. acnes*), dengan meletakkan kertas saring (*disk*) yang telah menyerap ekstrak etanol biji kakao (*T. cacao*) ke media agar MH yang terlebih dulu ditanami bakteri uji.

3.8 Alat dan Bahan

3.8.1 Alat

Alat-alat yang yang digunakan pada penelitian ini adalah sterilisator, kertas saring, *beker glass*, *centrifuge*, vial, tabung reaksi, rak tabung reaksi, vortex,

autoklav, cawan petri, timbangan, ose bulat, lampu bunsen, inkubator, mikropipet, tabung elenmeyer, jangka sorong dan *hotplate stirrer* atau kompor listrik

3.8.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah media agar *Muller Hinton*, aquadest steril, suspensi *P. acnes*, ekstrak etanol biji kakao, suspensi clindamycin dan spirtus.

3.9 Prosedur Penelitian

3.9.1 Persiapan Alat

Semua alat yang akan dipakai dalam penelitian ini disterilkan dalam sterilisator panas kering selama 15 menit dengan suhu 110°C terlebih dahulu. Setelah itu bahan media disterilkan dalam autoklaf selama 20 menit dengan suhu 121°C (Suswati dan Mufida, 2009).

3.9.2 Pembuatan Ekstrak Etanol Biji Kakao

Biji kakao basah dicuci bersih lalu dijemur selama dua hari. Enam kg biji kakao dioven selama satu jam dengan suhu $60^{\circ}\text{C} - 100^{\circ}\text{C}$ untuk memudahkan proses pengepressan. Biji kakao dipisahkan dengan lemak kakao menggunakan press hidrolik dan menghasilkan bungkil kakao. Kemudian bungkil kakao direndam dengan n-hexana selama 24 jam dengan perbandingan 1:2. Larutan yang diperoleh disaring dan dipress menggunakan press hidrolik sehingga diperoleh bungkil kakao kembali. Bungkil ini direndam dengan etanol 90% selama 24 jam dengan perbandingan 1:3 sehingga dihasilkan larutan polifenol yang bercampur dengan etanol. Larutan yang diperoleh disaring dan dipress menggunakan press hidrolik. Kemudian larutan polifenol dievaporasi menggunakan evaporator selama 3,5 jam dengan suhu 60°C dan menghasilkan ekstrak etanol cair yang sesungguhnya. Ekstrak etanol ini kemudian divakum dengan vakum desikator selama 38 jam dan menghasilkan 123,37 g serbuk ekstrak etanol biji kakao (Wulandari, 2012).

3.9.3 Pembuatan Larutan 0,5 *Mc Farland*

Standar *Mc Farland* dibuat dengan cara mencampur 9,95 ml asam sulfur (H_2SO_4) 1% dengan 0,05 ml barium klorida ($BaCl_2$) 1%. Kemudian tabung disegel dan digunakan untuk perbandingan suspensi bakteri dengan standar. Larutan baku 0,5 *Mc Farland* ekuivalen dengan suspensi sel bakteri dengan konsentrasi 1×10^8 CFU/ml (Saeed dan Tariq, 2005:997-1001).

3.9.4 Pembuatan Media

Media agar *Muller Hinton* ditimbang sebanyak 38 gram dilarutkan dalam aquadest steril sebanyak 1 L dengan cara dididihkan. Setelah larut, disterilkan dengan autoklaf suhu $121^\circ C$ selama 15 menit. Larutan dituang ke dalam cawan petri steril sampai ketebalan 9 mm dan ditutup lalu dibiarkan sampai memadat di suhu ruangan (Kumalasari, 2014).

3.9.5 Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Etanol Biji Kakao

Ekstrak etanol biji kakao (serbuk) ditimbang sebanyak 4000 mg lalu ekstrak tersebut dimasukkan ke dalam vial I, ditambahkan dengan 4 ml aquadest steril lalu divortex selama 60 detik. Vial I setara dengan konsentrasi 1000 mg/ml. Dari vial I diambil sebanyak 2 ml dimasukkan ke dalam vial II yang sudah diisi dengan 2 ml aquadest steril kemudian divortex selama 60 detik. Dengan metode yang sama dilakukan pengenceran bertingkat dengan kelipatan setengahnya sampai konsentrasi 7,81 mg/ml. Setelah itu, memberi label pada tabung untuk setiap kali pengenceran sesuai dengan konsentrasinya (Suswati dan Mufida, 2009). Kertas cakram yang telah disiapkan dimasukkan dalam masing-masing pengenceran dan direndam selama minimal 10 menit (Kumalasari, 2014).

3.9.6 Pembuatan Suspensi Bakteri

Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *P. acnes* yang diperoleh dari Laboratorium Biologi Fakultas Farnasi Universitas Jember. Bakteri

yang dipergunakan dibuat dengan mengambil satu ose kuman dari kultur, kemudian dimasukkan ke dalam media *Nutrient Broth*, selanjutnya diinkubasi 37⁰C selama 24 jam. Setelah 24 jam suspensi kuman yang telah diinkubasi disesuaikan dengan standar larutan 0,5 *Mc Farland* (1×10^8 CFU/ml) dengan menambah aquadest steril (Suswati dan Mufida, 2009).

3.9.7 Pembuatan Suspensi Antibiotik

Kadar hambat minimal clindamycin untuk bakteri *P. acnes* adalah 2 µg/ml. Antibiotik diambil sebanyak 2 µg dari sediaan tablet 150 mg dan dilarutkan dengan 1 ml aquadest steril sehingga didapatkan konsentrasi 2 µg/ml (Suswati dan Mufida, 2009).

3.9.8 Tahap Perlakuan

Membuat seri pengenceran ekstrak etanol biji kakao, kemudian rendam kertas saring pada masing- masing pengenceran sampai terserap. Kemudian diletakkan pada media agar *Muller Hinton* sesuai konsentrasi yang sudah terlebih dulu diberi label. Inkubasi selama 18 - 24 jam dalam suhu 37⁰C. Setelah diinkubasi, amati dan hitung zona hambat dengan jangka sorong untuk menentukan nilai KHM. Timbang antibiotik sesuai kadar hambatnya kemudian dilarutkan dengan aquadest steril 1 ml, kemudian rendam kertas saring pada larutan antibiotik tersebut, lalu setelah menyerap letakkan pada media agar sebagai kontrol positif dari pengamatan. Sebagai kontrol negatifnya menggunakan aquadest steril dengan metode yang sama. Amati dan hitung zona hambat dengan jangka sorong setelah diinkubasi selama 18 - 24 jam dalam suhu 37⁰C (Suswati dan Mufida, 2009).

3.10 Analisis Data

Data dianalisis secara diskriptif dan statistik. Analisis statistik menggunakan uji normalitas *Shapiro Wilk* dengan $p > 0,05$ selanjutnya diuji dengan uji korelasi sederhana bivariat untuk mengetahui hubungan antara variabel bebas terhadap

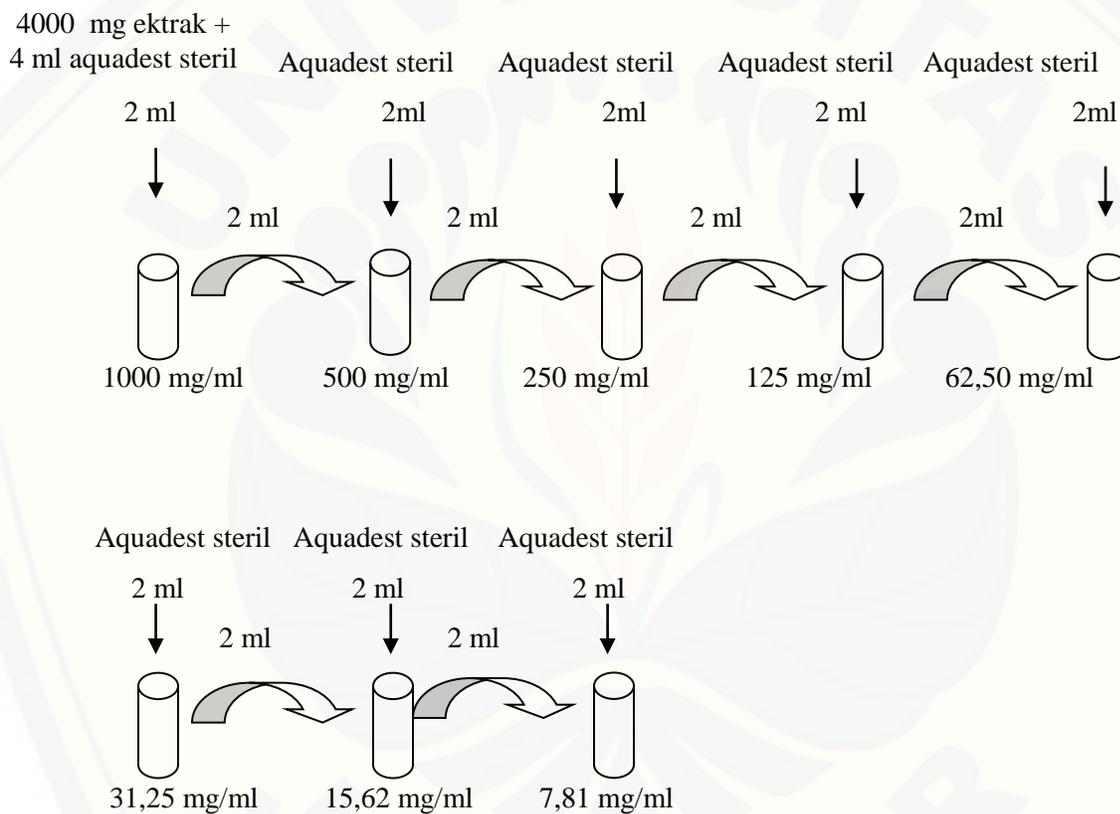
variabel terikat. Selanjutnya data dianalisis menggunakan uji regresi linear untuk mengetahui pengaruh variabel bebas terhadap variabel terikat. Setelah itu dilakukan uji homogenitas untuk mengetahui apakah sampel yang diambil variannya sama. Jika nilai signifikansi $> 0,05$ berarti data homogen dan sebaliknya jika nilai signifikansi $< 0,05$ berarti data tidak homogen. Jika populasi terdistribusi normal dan homogen dilakukan uji statistik *one way* Anova (Wulandari, 2012).

Jika data tidak terdistribusi normal dan tidak homogen maka dilakukan transformasi data. Apabila setelah transformasi, data terdistribusi normal dan homogen dilakukan uji statistika *one way* Anova. Namun apabila setelah dilakukan transformasi, data tetap tidak memenuhi syarat tersebut maka dilakukan uji statistika non parametrik, yaitu uji hipotesis *Kruskal-wallis* yang dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* (Wulandari, 2012).

3.11 Alur Penelitian

3.11.1 Pengenceran Ekstrak

Pengenceran ekstrak etanol biji kakao dilakukan dengan melarutkan ekstrak etanol biji kakao ke dalam aquadest steril lalu dilakukan pengenceran ekstrak etanol biji kakao dengan kelipatan setengahnya.



Gambar 3.2 Skema Pengenceran Ekstrak Etanol Biji Kakao

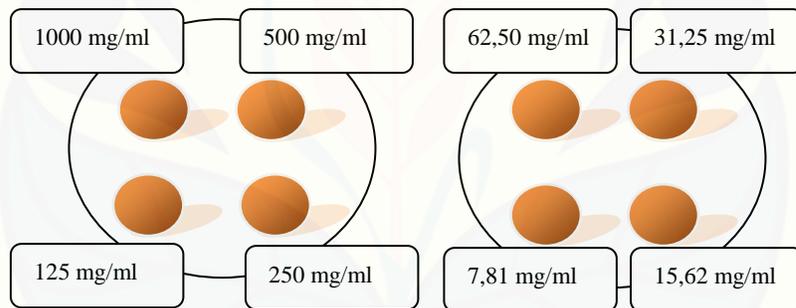
3.11.2 Alur Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan meletakkan kertas saring yang sudah direndam pada ekstrak etanol biji kakao ke media agar MH.

Pengenceran ekstrak etanol biji kakao 7,81; 15,62; 31,25; 62,50; 125; 250; 500; dan 1000 mg/ml

Letakkan kertas saring pada masing-masing pengenceran hingga meresap

Letakkan kertas saring pada media agar *Muller Hinton* sesuai konsentrasi (mg/ml)



Tentukan nilai KHM dengan mengukur zona hambat di sekitar kertas saring setelah inkubasi 24 jam dengan suhu 37° C

Gambar 3.3 Skema Alur Uji Aktivitas Antibakteri

3.11.3 Alur Kontrol Positif dan Kontrol Negatif

Kontrol positif menggunakan larutan clindamycin dan kontrol negatif menggunakan aquadest steril, dengan metode yang sama seperti pada uji aktivitas antibakteri.

Timbang bubuk antibiotik sesuai data KHM standart ($2 \mu\text{g/ml}$)



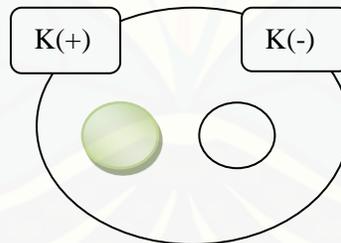
Campur dengan 1 ml aquadest steril



Letakkan kertas saring pada larutan antibiotik sampai meresap



Letakkan kertas saring yang menyerap larutan antibiotik pada media agar MH sebagai kontrol positif dan kertas saring yang menyerap aquadest steril sebagai kontrol negatif



Amati zona hambatnya dengan jangka sorong setelah inkubasi 24 jam dengan suhu 37°C

Gambar 3.4 Skema Alur Kontrol Positif dan Kontrol Negatif

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

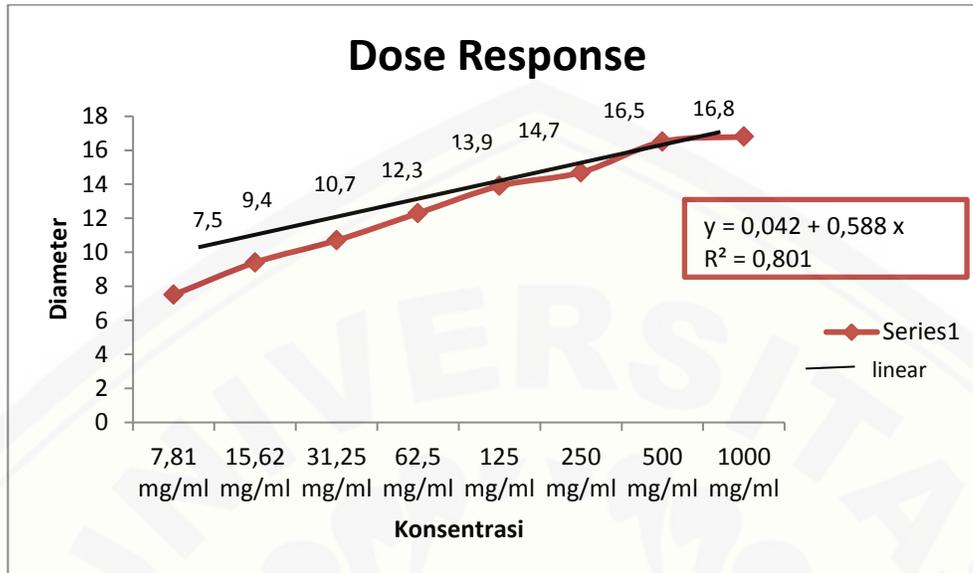
4.1 Hasil Penelitian

Setelah dilakukan penelitian dan pengamatan dari aktivitas antibakteri ekstrak etanol biji kakao (*T. cacao*) terhadap pertumbuhan *P. acnes*, diperoleh data dan gambaran hasil sebagai berikut.

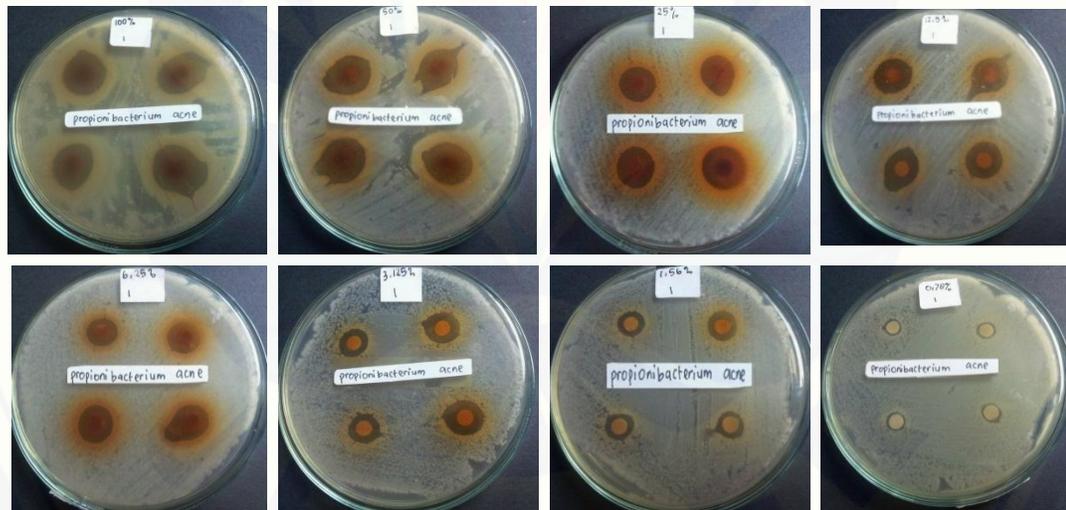
Tabel 4.1 Hasil interpretasi diameter zona bening daya penghambatan oleh berbagai konsentrasi ekstrak etanol biji kakao (*T. cacao*) terhadap pertumbuhan *P. acnes*.

Serial Konsentrasi (mg/ml)	Diameter Zona Hambat (mm) Pengulangan				Rata-rata (mm)	Interpretasi
	I	II	III	IV		
K (-)	5*	5*	5*	5*	5*	Resisten
7,81	7,50	7,50	8,00	6,80	7,50	Resisten
15,26	9,50	9,60	9,10	9,20	9,40	Resisten
31,25	9,80	10,70	10,10	12,00	10,70	Sensitif
62,50	11,50	13,40	12,40	11,90	12,30	Sensitif
125	13,30	13,40	12,50	16,20	13,90	Sensitif
250	12,70	13,00	13,60	19,50	14,70	Sensitif
500	17,50	17,80	15,60	15,00	16,50	Sensitif
1000	17,20	15,70	17,70	16,70	16,80	Sensitif
K (+)	21,80	19,90	23,40	22,80	21,90	Sensitif

*tidak terdapat zona bening, karena kertas saring berdiameter 5 mm.



Gambar 4.1 Grafik Pengaruh Ekstrak Etanol Biji Kakao terhadap Diameter Zona Hambat Pertumbuhan *P. acnes*



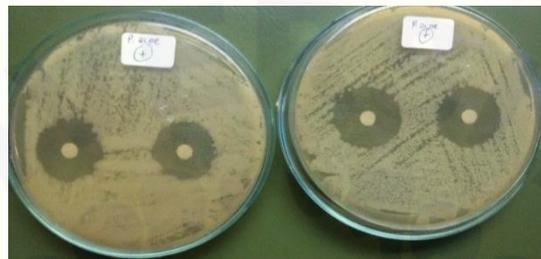
Gambar 4.2 Zona Hambat Berbagai Tingkat Konsentrasi Ekstrak Etanol Biji Kakao (*T. cacao*) terhadap Pertumbuhan *P. acnes*

Kertas saring yang digunakan pada penelitian ini memiliki diameter sebesar 5,00 mm. Suatu konsentrasi ditetapkan mempunyai zona hambat terhadap pertumbuhan *P.*

acnes apabila terbentuk zona bening di sekitar kertas saring pada pertumbuhan *P. acnes* dengan diameter lebih dari 5,00 mm di media agar MH.

Berdasarkan tabel 4.1 dan gambar hasil penelitian di atas, diketahui bahwa zona hambat mulai terbentuk pada konsentrasi 7,81 mg/ml hingga konsentrasi 1000 mg/ml dan semakin meningkat konsentrasi ekstrak etanol, semakin lebar zona hambat yang dihasilkan. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji kakao (*T. cacao*) mempunyai efek sebagai antibakteri terhadap *P.acnes*.

Daya antibakteri ekstrak etanol biji kakao dapat ditentukan dengan menetapkan nilai *breakpoint*. Nilai *breakpoint* merupakan nilai batas dimana suatu bakteri dinyatakan sensitif atau resisten. Pada penelitian ini nilai *breakpoint* yang ditetapkan adalah 10 mm. Secara umum, apabila diameter zona hambat ≥ 10 mm, maka bakteri dinyatakan sensitif terhadap ekstrak, dan apabila diameter zona hambat < 10 mm, maka bakteri dinyatakan resisten terhadap ekstrak (Bell *et al*, 2012). Berdasarkan tabel 4.1, diketahui bahwa *P. acnes* sensitif terhadap ekstrak etanol biji kakao pada konsentrasi 31,25 mg/ml karena diameter zona hambat yang dihasilkan lebih dari 10 mm, dan resisten terhadap ekstrak etanol biji kakao pada konsentrasi 15,26 mg/ml dan 7,8 mg/ml karena diameter zona hambat yang dihasilkan kurang dari 10 mm. Oleh karena itu, Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) *breakpoint* ekstrak etanol biji kakao terhadap pertumbuhan *P. acnes* secara kualitatif adalah pada konsentrasi 31,25 mg/ml.



Gambar 4.3 Kontrol Negatif dengan aquadest steril dan Kontrol Positif dengan suspensi clindamycin 2 $\mu\text{g/ml}$

Berdasarkan tabel 4.1 dan gambar 4.3, dapat diketahui bahwa pada kontrol negatif dengan menggunakan aquadest steril tidak terbentuk zona hambat, tetapi pada kontrol positif dengan larutan clindamycin terbentuk zona hambat. Hal ini menandakan bahwa bakteri *P. acnes* sensitif terhadap clindamycin.

4.2 Analisis Data

Analisis data yang pertama dilakukan adalah uji normalitas data menggunakan uji *Shapiro Wilk*. Uji ini bertujuan untuk mengetahui apakah data yang diperoleh terdistribusi normal atau tidak pada jumlah sampel ≤ 50 (Dahlan, 2009). Dari uji *Shapiro Wilk* (lampiran A) didapatkan nilai $p = 0,119$ dan nilai $\alpha = 0,05$. Nilai $p > \alpha$ ($p > 0,05$) menunjukkan data tersebut terdistribusi normal.

Selanjutnya, data diuji dengan uji korelasi bivariat sederhana untuk mengetahui apakah ada hubungan antara variabel bebas (konsentrasi ekstrak etanol biji kakao) dengan variabel terikat (diameter zona hambat pertumbuhan *P. acnes*). Dari uji korelasi bivariat sederhana (lampiran B) didapatkan nilai $p = 0,000$ dan nilai $\alpha = 0,05$ dengan koefisien korelasi 0,931. Nilai $p < \alpha$ ($p < 0,05$) menunjukkan bahwa ada

hubungan yang signifikan antara variabel bebas dengan variabel terikat. Besar korelasi 0,931 berada di rentang 0,75-0,99, hal ini menunjukkan bahwa arah korelasi bersifat positif dan keeratan hubungan yang sangat kuat. Artinya, semakin tinggi konsentrasi (X) maka diameter zona hambat yang terbentuk pada pertumbuhan *P. acnes* (Y) cenderung semakin lebar.

Selanjutnya, data diuji menggunakan uji regresi linear sederhana (lampiran C) untuk mengetahui pengaruh variabel bebas terhadap variabel terikat. Dari uji regresi linear didapatkan $p = 0,000$. Nilai signifikan ($p < 0,005$) sehingga terbukti terdapat pengaruh antara variabel bebas terhadap variabel terikat. Pada uji regresi juga didapatkan koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,801 yang artinya sebesar 80% keragaman pertumbuhan *P. acnes* ditentukan oleh besarnya konsentrasi ekstrak etanol biji kakao, sedangkan 20% sisanya disebabkan oleh faktor lain. Bentuk umum garis regresi linear dinyatakan dengan $Y = a + bX$; Y adalah variabel terikat (diameter zona hambat pertumbuhan *P. acnes*) dan X adalah variabel bebas (konsentrasi ekstrak etanol biji kakao). Dari uji regresi didapatkan, nilai a dan b sebesar 0,042 dan 0,588 sehingga persamaan garis regresi menjadi $Y = 0,042 + 0,588X$.

Untuk menentukan KHM *breakpoint* secara kuantitatif, dimasukkan nilai $Y = 10$ sehingga didapatkan nilai $X = 16,93$. Hal ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi 16,93 mg/ml ekstrak etanol biji kakao mulai mampu menghambat pertumbuhan bakteri *P. acnes* secara efektif.

Selanjutnya, data diuji menggunakan uji *One Way* ANOVA (lampiran D). Uji kesamaan ragam (homogenitas) dilakukan untuk melihat apakah ragam dari seluruh variabel independen (konsentrasi ekstrak etanol biji kakao) tidak berbeda secara nyata. Hasil menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,131 ($p > 0,05$) yang berarti data bersifat homogen, sehingga dapat dilakukan pengujian data lebih lanjut menggunakan Uji ANOVA. Uji ANOVA dilakukan untuk menguji apakah rata-rata lebih dari dua sampel berbeda secara signifikan (nyata) ataukah tidak. Hasil uji menunjukkan angka signifikansi sebesar 0,000 ($p < 0,05$), hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan pengaruh dari pemberian ekstrak etanol biji kakao secara bermakna (signifikan)

terhadap pertumbuhan bakteri *P. acnes*. Pengujian lebih lanjut menggunakan *Post Hoc Test*, dilakukan untuk menginterpretasikan perbedaan antar perlakuan, sehingga dapat diketahui kelompok mana yang mengalami perbedaan bermakna.

Tabel 4.2 Hasil Analisis LSD Konsentrasi Ekstrak Etanol Biji Kakao

Kelompok	P ₁	P ₂	P ₃	P ₄	P ₅	P ₆	P ₇	P ₈	K (+)
P ₁		,16704*	-,22289*	-,27551*	-,30788*	-,31752*	-,35047*	,36696*	,40361*
P ₂	,16704*		-,05585*	-,10848*	-,14084*	-,15048*	-,18344*	,19992*	,23657*
P ₃	,22289*	,05585*		-,05262*	-,08499*	-,09463*	-,12758*	,14407*	,18072*
P ₄	,27551*	,10848*	,05262*		-,03237	-,04201	-,07496*	,09144*	,12809*
P ₅	,30788*	,14084*	,08499*	,03237		-,00964	-,04259	,05908*	,09573*
P ₆	,31752*	,15048*	,09463*	,04201	,00964		-,03295	-,04944	,08609*
P ₇	,35047*	,18344*	,12758*	,07496*	,04259	,03295		-,01648	,05313*
P ₈	,36696*	,19992*	,14407*	,09144*	,05908*	,04944	,01648		,03665*
K (+)	,40361*	,23657*	,18072*	,12809*	,09573*	,08609*	,05313*	,03665*	

P₁ : Konsentrasi 7,81 mg/ml
 P₂ : Konsentrasi 15,62 mg/ml
 P₃ : Konsentrasi 31,25 mg/ml
 P₄ : Konsentrasi 62,50 mg/ml
 P₅ : Konsentrasi 125 mg/ml
 P₆ : Konsentrasi 250 mg/ml
 P₇ : Konsentrasi 500 mg/ml
 P₈ : Konsentrasi 1000 mg/ml
 K (+) : Kontrol positif
 * : *Significant*, berbeda secara bermakna

Berdasarkan hasil dari tabel 4.2, didapatkan data bahwa seluruh konsentrasi ekstrak etanol biji kakao berbeda signifikan dengan kontrol positif. Kelompok P₁ berbeda secara signifikan dengan kelompok P₂, P₃, P₄, P₅, P₆, P₇, P₈, dan kelompok K (+). Kelompok P₂ berbeda secara signifikan dengan kelompok P₁, P₃, P₄, P₅, P₆, P₇, P₈, dan kelompok K (+). Kelompok P₃ berbeda secara signifikan dengan kelompok P₁, P₂, P₄, P₅, P₆, P₇, P₈, dan kelompok K (+). Kelompok P₄ berbeda secara signifikan dengan kelompok P₁, P₂, P₃, P₇, P₈, dan kelompok K (+) tetapi tidak berbeda secara signifikan dengan kelompok P₅ dan P₆. Kelompok P₅ berbeda secara signifikan

dengan kelompok P₁, P₂, P₃, P₈, dan kelompok K (+) tetapi tidak berbeda secara signifikan dengan kelompok P₄, P₆, dan P₇. Kelompok P₆ berbeda secara signifikan dengan kelompok P₁, P₂, P₃, dan kelompok K (+) tetapi tidak berbeda secara signifikan dengan kelompok P₄, P₅, P₇, dan P₈. Kelompok P₇ berbeda secara signifikan dengan kelompok P₁, P₂, P₃, P₄, dan kelompok K (+) tetapi tidak berbeda secara signifikan dengan kelompok P₅, P₆, dan P₈. Kelompok P₈ berbeda secara signifikan dengan kelompok P₁, P₂, P₃, P₄, P₅, dan kelompok K (+) tetapi tidak berbeda secara signifikan dengan kelompok P₆ dan P₇. Hasil analisis data konsentrasi berdasarkan uji LSD yang dapat dilihat pada lampiran D.

4.3 Pembahasan

Pada penelitian ini didapatkan hasil bahwa ekstrak etanol biji kakao (*T. cacao*) terbukti memiliki efek sebagai antibakteri terhadap *P. acnes* secara *in vitro*. Hal ini dapat dibuktikan dengan terbentuknya zona hambat pada pertumbuhan *P. acnes* di sekitar kertas saring setelah kontak dengan berbagai konsentrasi ekstrak etanol biji kakao. Pada kertas saring yang menyerap aquadest sebagai kontrol negatif tidak terbentuk zona hambat pada sekitar kertas saring karena aquadest steril tidak memiliki kemampuan antibakteri. Pada kertas saring yang menyerap larutan clindamycin sebagai kontrol positif terdapat zona hambat. Hal ini mengindikasikan bahwa sampel bakteri yang digunakan adalah bakteri yang masih hidup dan sensitif terhadap clindamycin.

Berdasarkan tabel 4.1 dapat diketahui bahwa *P. acnes* sensitif terhadap ekstrak etanol biji kakao pada konsentrasi 31,25 mg/ml; 62,50 mg/ml; 125 mg/ml; 250 mg/ml; 500 mg/ml; dan 1000 mg/ml dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 10,70 mm; 12,30 mm; 13,90 mm; 14,70 mm; 16,50 mm; dan 16,80 mm. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji kakao memiliki efek antibakteri terhadap pertumbuhan *P. acnes*.

Berdasarkan grafik pengaruh ekstrak etanol biji kakao terhadap zona hambat pertumbuhan *P. acnes* pada gambar 4.1, menunjukkan bahwa semakin tinggi

konsentrasi ekstrak etanol biji kakao maka semakin besar efek antibakteri. Hal ini dibuktikan dengan semakin lebarnya ukuran zona hambat yang terbentuk. Pada pengenceran bertingkat ekstrak etanol biji kakao dari konsentrasi 1000 mg/ml; 500 mg/ml; 250 mg/ml; 125 mg/ml; 62,50 mg/ml; 31,25 mg/ml; 15,62 mg/ml, dan 7,81 ml terjadi pengurangan zat aktif dari ekstrak etanol biji kakao sehingga efek antibakterinya pun berkurang. Hal ini ditunjukkan dengan penurunan diameter zona hambat pertumbuhan *P. acnes* seiring dengan penurunan konsentrasi ekstrak etanol biji kakao.

Kontrol negatif tidak didapatkan zona hambat. Kontrol positif menunjukkan zona hambat dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 21,90 mm. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji kakao memiliki potensi daya hambat yang berbeda dengan kontrol positif yaitu clindamycin. Berdasarkan zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak etanol biji kakao dengan berbagai konsentrasi dan zona hambat yang dihasilkan oleh clindamycin terlihat bahwa clindamycin masih jauh lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan *P. acnes* dibandingkan dengan ekstrak etanol biji kakao. Hal ini bisa disebabkan oleh karena ekstrak yang digunakan adalah ekstrak kasar, yaitu ekstrak etanol biji kakao dimana kandungan senyawa antibakteri yang terdapat pada ekstrak belum dipisahkan secara tersendiri sehingga masih banyak kandungan senyawa lain pada ekstrak yang menyebabkan efek antibakteri yang ditimbulkan oleh ekstrak tidak maksimal bila dibandingkan dengan antibiotik standar.

KHM *breakpoint* ekstrak etanol biji kakao terhadap pertumbuhan *P. acnes* secara kualitatif adalah pada konsentrasi 31,25 mg/ml karena pada konsentrasi tersebut adalah konsentrasi terkecil dengan diameter di atas ketetapan *breakpoint* (10 mm). Ekstrak etanol biji kakao mulai resisten terhadap pertumbuhan *P. acnes* pada konsentrasi 15,26 mg/ml dan 0,78 mg/ml.

Hasil uji normalitas *Shapiro Wilk* menunjukkan data terdistribusi normal (lampiran A). Dari uji korelasi didapatkan nilai sig. = 0,000 ($p < \alpha$) menunjukkan adanya pengaruh yang signifikan antara variabel bebas (konsentrasi ekstrak etanol biji kakao) terhadap variabel terikat (diameter zona hambat pertumbuhan *P. acnes*)

dengan nilai koefisien korelasi sebesar 0,931 yang menunjukkan bahwa arah korelasi bersifat positif dan keeratan hubungan sangat kuat. Artinya, semakin tinggi konsentrasi (X) maka diameter zona hambat yang terbentuk pada pertumbuhan *P. acnes* (Y) cenderung semakin lebar. Uji regresi linear menunjukkan adanya pengaruh variabel terikat terhadap variabel bebas. Persamaan garis regresi yang terbentuk adalah $Y = 0,042 + 0,588X$. Dari persamaan regresi ini diketahui KHM *breakpoint* secara kuantitatif, yaitu dengan memasukkan nilai $Y = 10$ sehingga didapatkan nilai $X = 16,93$. Hal ini berarti pada konsentrasi 16,93 mg/ml ekstrak etanol biji kakao mulai mampu menghambat pertumbuhan *P. acnes* secara efektif. Ekstrak etanol biji kakao mulai resisten terhadap pertumbuhan *P. acnes* pada konsentrasi 15,26 mg/ml dan 7,81 mg/ml. Pada uji hipotesis *One Way Anova*, didapatkan perbedaan yang bermakna pada masing-masing kelompok.

Dalam penelitian sebelumnya telah dibuktikan bahwa ekstrak etanol biji kakao mempunyai efek antibakteri secara *in vitro* pada bakteri *Streptococcus pneumoniae* dengan besar KHM 37,62 mg/ml dan *Pseudomonas aeruginosa* dengan KHM sebesar 6,95 mg/ml. Terdapatnya efek antibakteri tersebut karena adanya kandungan flavonoid, katekin, dan tanin yang terdapat pada ekstrak etanol biji kakao (Kumalasari dan Wrahatnala, 2014).

Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Cowan, 1999 ; Nuria *et al.*, 2009 ; Bobbarala, 2012). Flavonoid memiliki aktivitas antibakteri melalui hambatan fungsi DNA *gyrase* sehingga kemampuan replikasi bakteri dihambat. Senyawa ini akan melakukan kontak dengan DNA pada inti sel bakteri. Adanya perbedaan kepolaran antara lipid penyusun DNA dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid menyebabkan kerusakan struktur lipid DNA bakteri sehingga bakteri akan lisis dan mati (Gunawan, 2009).

Menurut Cushnie dan Lamb (2005), selain berperan dalam inhibisi pada sintesis DNA – RNA dengan interkalasi atau ikatan hidrogen dengan penumpukan

basa asam nukleat, flavonoid juga berperan dalam menghambat metabolisme energi. Senyawa ini akan mengganggu metabolisme energi dengan cara yang mirip dengan menghambat sistem respirasi, karena dibutuhkan energi yang cukup untuk penyerapan aktif berbagai metabolit dan untuk biosintesis makromolekul.

Flavonoid dapat merusak membran sitoplasma bakteri yang terdiri atas lipid dan asam amino dengan mereaksikannya dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid. Proses ini akan menyebabkan dinding sel rusak sehingga senyawa tersebut dapat masuk ke dalam inti sel bakteri (Gunawan, 2009). Flavonoid juga memiliki aktivitas antibakteri melalui hambatan fungsi DNA *gyrase* bakteri sehingga kemampuan replikasi dan translasi bakteri dihambat (Wulandari *et al.*, 2012).

Katekin adalah senyawa polifenol alami, yang merupakan metabolit sekunder dan termasuk dalam penyusun golongan tanin (Hastuti, 2010). Menurut Wahluyo (dalam Setiadevi, 2010), katekin memiliki sifat sebagai antimikroba, memperkuat pembuluh darah, melancarkan air seni dan menghambat pertumbuhan kanker. Katekin merupakan senyawa fenol. Fenol berikatan dengan protein melalui ikatan hydrogen sehingga mengakibatkan struktur protein menjadi rusak. Sebagian besar struktur dinding sel dan membran sitoplasma bakteri mengandung protein dan lemak. Ketidakstabilan pada dinding sel dan membran sitoplasma bakteri menyebabkan fungsi permeabilitas selektif, fungsi pengangkutan aktif, pengendalian susunan protein dari sel bakteri menjadi terganggu. Gangguan integrasi sitoplasma berakibat pada lolosnya makromolekul, dan ion dari sel. Sel bakteri menjadi kehilangan bentuknya, dan terjadilah lisis (Susanti, 2011).

Tanin merupakan senyawa polifenol dengan bobot molekul tinggi yang mengandung gugus hidroksil dan gugus lainnya untuk membentuk kompleks yang kuat dengan protein dan molekul lain, seperti karbohidrat. Tanin akan menginaktivasi adhesi sel mikroba yang terdapat pada permukaan sel dan enzim yang terikat pada membran sel dan polipeptida dinding sel sehingga akan menyebabkan kerusakan pada dinding sel (Wulandari *et al.*, 2012). Mekanisme kerja dari tanin tersebut yang menyebabkan hilangnya sifat permeabilitas membran sel, sehingga keluar masuknya

zat-zat seperti air, nutrisi, enzim tidak terseleksi. Apabila enzim keluar dari dalam sel, maka akan terjadi hambatan metabolisme sel dan selanjutnya akan mengakibatkan terhambatnya pembentukan ATP yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan sel. Pada dasarnya tanin mengganggu permeabilitas sel dengan mengerutkan dinding sel atau membran sel. Akibat terganggunya permeabilitas, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati (Ajizah, 2004).

Clindamycin dipilih sebagai kontrol positif karena clindamycin merupakan suatu pilihan terapi sistemik yang efektif pada jerawat dibandingkan dengan tetrasiklin dan eritromisin. Mekanisme kerja clindamycin yaitu dengan cara menghambat sintesis protein dari mikroba dengan cara terikat pada subunit 50S (Katzung, 2009).

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Ekstrak etanol biji kakao (*T. cacao*) mempunyai efek sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan *P. acnes* secara *in vitro*.
2. Konsentrasi minimum ekstrak etanol biji kakao (*T. cacao*) yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *P. acnes* secara *in vitro* adalah 31,25 mg/ml secara kualitatif dan 16,93 mg/ml secara kuantitatif.

5.2 Saran

Dari hasil penelitian yang diperoleh, penulis menyarankan sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui KBM (Kadar Bunuh Minimal) ekstrak etanol biji kakao (*T. cacao*) terhadap *P. acnes*.
2. Perlu dilakukan uji lanjutan seperti uji secara *in vivo*, uji toksisitas, dan uji klinis agar biji kakao (*T. cacao*) dapat dimanfaatkan secara maksimal.
3. Perlu penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kandungan, jumlah, dan proporsi bahan aktif dari ekstrak etanol biji kakao (*T. cacao*), terutama yang berefek antibakteri.
4. Diperlukan penelitian lain untuk menguji efektivitas ekstrak etanol biji kakao (*T. cacao*) tidak hanya terhadap bakteri gram positif, tetapi juga bakteri gram negatif, jamur maupun parasit.

DAFTAR PUSTAKA

- Afoakwa, E. O. 2010. *Chocolate Science and Technology*. West Sussex : John Wiley & Sons Ltd.
- Ajizah, 2004. Sensitivitas *Salmonella typhirium* terhadap Ekstrak Daun Psidium guajava L. *Bioscientiae*. Vol. 1(1): 31-38.
- Atkinson, C., Banks, France, M., & Mc Fadden. 2010. *The Chocolate and Coffee Bible*. London : Anness Publishing Ltd.
- Aziz, N. A. 2010. "Pengaruh Cara dan Kebiasaan Membersihkan Wajah terhadap Pertumbuhan Jerawat di Kalangan Siswa Siswi SMA Harapan 1 Medan." Tidak Diterbitkan. Skripsi. Medan: Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara.
- Badan POM RI. 2005. *Pedoman Cara Pembuatan Obat Tradisional yang Baik*. Lampiran Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan RI, Nomor: HK.00.05.4.1380. Jakarta : Badan POM RI.
- Balasundram, K. Sundram and S. Samman. 2006. Phenolic Compounds in Plants and Agri-Industrial By Products: Antioxidant Activity, Occurrence, and Potential Uses. *Food Chemistry*, Vol. 99 (1): pp. 191203
- Bell, S. M., Pham, J. N., & Nguyen, T. T. 2012. *Antibiotic Susceptibility Testing By The Cds Method*. Sixth Edition. Australia : Department of Microbiology, South Eastern Area Laboratory Services.
- Belitz, H. D. & Groch, W. 1999. *Food Chemistry*. New York : Springer-Verlag Berlin.
- Bobbarala, V. 2012. *Antimicrobial Agents*. Intech, Croatia
- Brahman. 2005. Infections caused by Propionibacterium species. *Rev Infect Dis*. 13:819-822.
- Cowan, M.M. 1999. Plants Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 12, (4), 564-581

- Depkes RI. 2009. *Profil Kesehatan Indonesia 2008*. Jakarta: Departemen Kesehatan R.I.
- D. O. Huang and B. R. Prior. 2005. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of agriculture and Food Chemistry*, Vol. 53, No. 6 pp. 1841-1856. doi: 10.1021/jf030723c
- Dorland. *Kamus Kedokteran Dorland*. (Edisi 31). Alih bahasa oleh Poppy K., D. Nuswantari. 2010. Jakarta: EGC.
- Federer W. 1991. *Statistics and society: data collection and interpretation*. Vol. 2, New York: Marcel Dekker
- Gilbert. 2000. *The Sanford Guide to Antimicrobial Therapy*. page 71ff.
- Hafez, K. A., Mahran, A. M., Hofny, E. R. M., Mohammed, K. A., Darweesh, A. M., Aal A.A. 2009. *The Impact of Acne Vulgaris on The Quality of Life and Psychologic Status in Patients From Upper Egypt*. *Int. J. Dermatology*. 48: Hal. 280-5.
- Hammerstone, J.F., Lazarus, S.A., & Schmitz, H.H. 2000. Procyanidin Content and Variation in some Commonly Consumed Foods. *Journal Nutrition*. 130: 2086-2092.
- Hastuti & Nina. 2010. "Pemanfaatan Ekstrak Polifenol Kulit Buah dan Kulit Biji Kakao Sebagai Senyawa Penghambat Pertumbuhan Bakteri (*Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*)". Tidak Diterbitkan. Skripsi. Jember: Jurusan Teknik Hasil Pertanian Fakultas, Teknologi Pertanian Universitas Jember.
- Haryati & Sri. 2005. "Standarisasi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia, Salah Satu Tahapan Penting dalam Pengembangan Obat Asli Indonesia". Dalam Badan POM RI. *Info Pom Badan Pengawas Obat dan Makanan Indonesia*. Vol. 6(4), Juli 2005.
- Imam, M. N. 2009. "Aktifitas Antibakteri Ekstrak Metanol Bunga Pepaya Jantan (*Carica papaya*) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* Multiresisten Antibiotik. " Tidak Diterbitkan. Skripsi. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Jambang, N. 2004. "Study Aktivitas Antibakteri dan Antioksidan pada 10 Merk Teh Hitam yang Beredar di Pasaran Kota Malang". Tidak Diterbitkan. Skripsi.

Jurusan Teknologi Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya Malang.

Jawetz, E., Melnick, J. L., & Adelberg, E. A. *Mikrobiologi Kedokteran*. (Edisi 25). Alih bahasa oleh Aryandhito Widhi Nugroho, dkk. 2012. Jakarta : EGC.

Kattenberg, H. R. 2000. "Nutritional Function of Cocoa and Chocolate". *The Manufacturing Confectioner*. Vol. 80(2): 33-37.

Katzung, B. G. & Trevor, A. J. (Eds.). 2009. *Buku Bantu Farmakologi*. Jakarta : EGC.

Khaan, Z. Z., Assi, M. & Moore, T. A. 2009. Recurrent Epiduran Abscess Caused by *Propionibacterium acnes*. *Kansas Journal of Medicine*: 92-95.

Kligman. 1991. Dalam: Kurniawati, A., R. 2014. "Pengaruh Kebersihan Kulit Wajah Terhadap Kejadian Acne Vulgaris." Tidak Diterbitkan. Jurnal Media Medika Muda. Semarang: Program Studi Pendidikan Sarjana Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.

Kumalasari, D. C. 2014. "Efek Ekstrak Etanol Biji Kakao (*Theobroma cacao*) sebagai Antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* secara *In Vitro*." Tidak Diterbitkan. Skripsi. Jember: Program Pendidikan Dokter Universitas Jember.

Kumar, B. H. A. dan Y. N. Sachidanand. 2001. Treatment of Acne Vulgaris with New Polyherbal Formulations, Clarina Cream and Purim Tablets. *Indian Journal of Dermatology*. 46(3): 138-141.

Kusuma, Y. T. C., Suwasono, S., & Yuwanti, S. 2013. "Pemanfaatan Biji Kakao Inferior Campuran Sebagai Sumber Antioksidan Dan Antibakteri". *Berkala Ilmiah Pertanian*. Vol. 1(2): 33-37.

Lengel, B. 2009. *Center for Disease Control and Prevention*.

Linuma, K., Noguchi, N., Nakaminami, H., Sasatsu, M., Nishijima, S., Tsuboi, I. 2011. Susceptibility of *Propionibacterium acnes* isolated from patients with acne vulgaris to zinc ascorbate and antibiotics. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*, 4: 161–165.

Menkes RI. 2011. *Peraturan Menteri Kesehatan Nomor 2406 / Menkes / Per / Xii / 2011 tentang Pedoman Umum Penggunaan Antibiotik*. Jakarta : Menti Kesehatan Republik Indonesia.

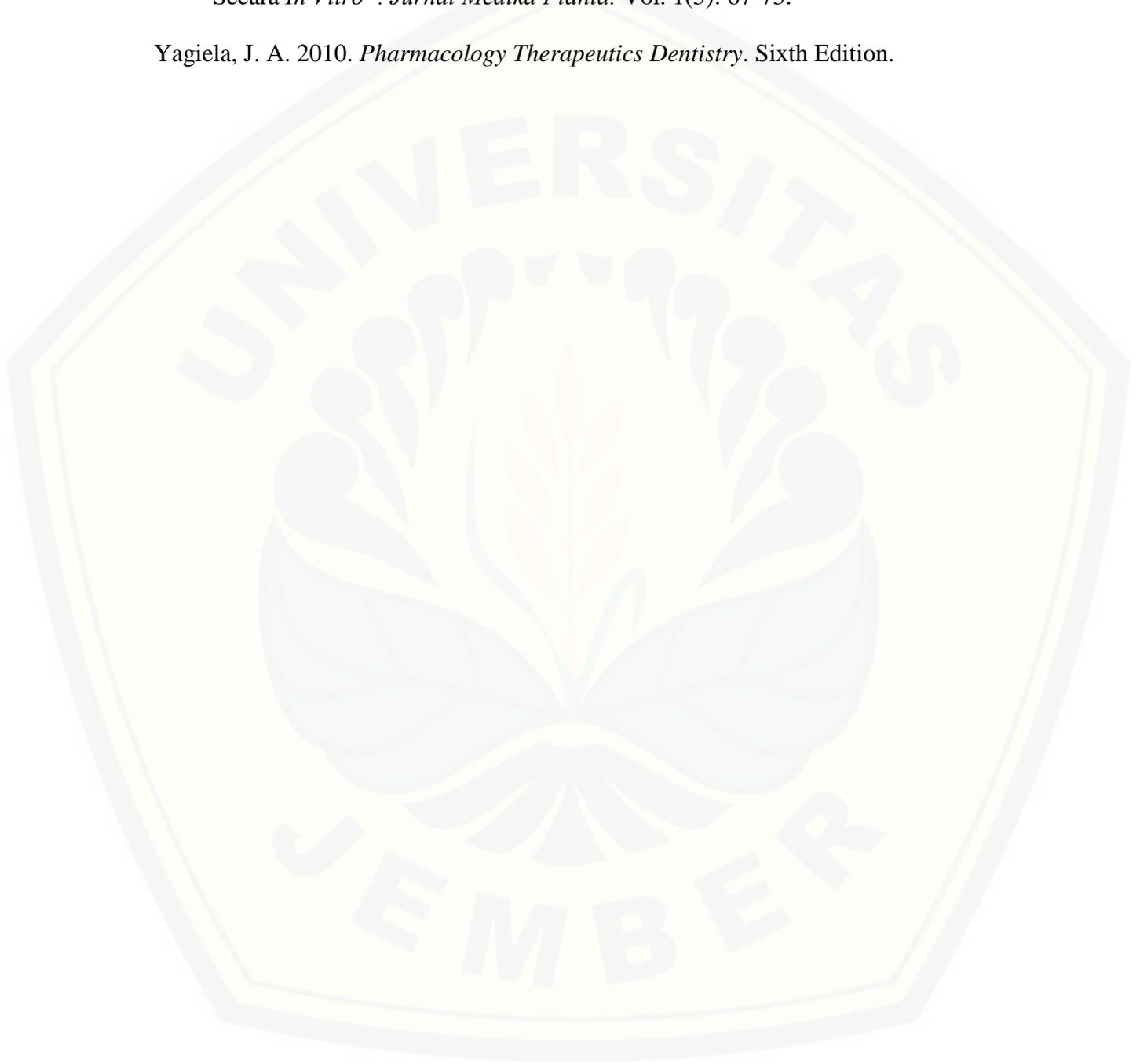
- Mertaniasih, N. M., Mudihardi, E. K., Eko, B., Wiqoyah, N., dan Debora, K. 1996. Kepekaan Mikroba dari Akne Vulgaris Terhadap Beberapa Antibiotika. *Media IDI*, 21 (2): 9-11.
- Misnawi. 2003. "Influence of Cocoa Polyphenols and Enzym Reactivation on The Flavor Development of Unfermented and Undefemented Cocoa Beans". Thesis. Malaysia: Putra Malaysia University.
- Morganelli, A. 2007. *The Biography of Coffee*. Canada : Crabtree Publishing Company.
- Movita, T. 2013. *Acne Vulgaris*. Continuing Medical Education. Vol; 40(4): 269-271.
- Ningsih, I. Y., Nuri, P. E., & Arum, M. 2009. *Buku Petunjuk Praktikum Fitokimia*. Edisi Revisi IV. Jember: Bagian Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Indonesia.
- Nugroho, R. N. 2013. "Terapi Topikal Clindamycin Dibandingkan dengan Niacinamide dan Zinc pada Acne Vulgaris." Tidak Diterbitkan. Skripsi. Semarang: Program Studi Pendidikan Sarjana Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Nuria, M. C., Rosyid, A., Sumantri. 2009. "Uji Kandungan Bakteri *Escherichia coli* Pada Air Minum Isi Ulang dari Depot Air Minum Isi Ulang di Kabupaten Rembang." Tidak Diterbitkan. Skripsi. Jogjakarta: Program Studi farmasi Universitas Gajah Mada.
- Osakabe, N. M., Yamagishi. C., & Sanboghi. 1998a. "Effects of Polyphenol Substances Derived from *T. cacao* on Gastric Mucosal Lesion Induced by Methanol". *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*. Vol. 62(1): 1535-1538.
- Osakabe, N. M., Yamagishi, C., & Sanboghi. 1998b. "The Antioxidative Substances in Cacao liquor". *Journal of Nutrition Science and and Vitaminology*. Vol. 44(2): 313-321.
- Osakabe, N. M., Yamagishi, C., & Natsume. 2000. "Antioxidative Polyphenolic Substances in Cacao Liquor". pp. 88-101. In: T.H.Parliament; Chi-tang Ho and P. Schieberle, Caffeinated Beverages; Health Benefits, Phsiological Effects and Chemistry, ACS Symposium Series 754.

- Othman, A., Jalil, A. M., Weng, K. K., Ismail, A., Ghani, N. A., & Adenan, I. 2010. "Epicatechin Content and Antioxidant Capacity of Cocoa Beans From Four Different Countries". *African Journal of Biotechnology*. Vol. 9(7): 1052-1059.
- Pech, J. 2010. *The Chocolate Therapist : A Users's Guide to the Extraordinary Health Benefits of Chocolate*. John Wiley & Sons, Inc.
- Praktiknya, A. W. 2008. *Dasar - Dasar Metodologi Penelitian Kedokteran dan Kesehatan*. Jakarta: PT. Raja Grafindo Persada.
- Pratiwi, S. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta : Gelora Aksara Pratama.
- Reddy, S. Gupta, M. Jacob, S. Khan and D. Ferreira. 2007. Antioxidant, Antimalarial and Antimicrobial Activities of Tannin-Rich Fractions, Ellagitannins and Phenolic Acids from *Punica granatum L.* *Planta Medica*, Vol. 73, No. 5, pp. 461-467. doi: 10.1055/s-2007-967167
- Ruzaidi, A., Maleyki, A., Amin, I., Nawalyah, A. G., Muhajir, H., Pauliena, M. B. S. M. J., & Muskinah, M. S. 2008. "Hypoglycaemic Properties of Malaysian Cocoa (*Theobroma cacao*) Polyphenols - Rich Extract". *J. Food Sci.* Vol. 15(3): 1-8.
- Saeed, S. & Tariq, P. 2005. "Antibacterial Activities of *Mentha piperita*, *Pisum sativum*, and *Momordica charantia*". *Pak. J. Bot.* Vol. 37(4): 997-1001.
- Setiabudy, Rianto, dkk. 2011. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi 5. Jakarta: Departemen Farmakologi dan Terapeutik, FKUI.
- Setiadevi, S. 2010. "Karakterisasi Ekstrak Polifenol Biji Kakao Non Fermented dari Berbagai Macam Metode Ekstraksi". Tidak diterbitkan. Skripsi. Jember: Jurusan Teknik Hasil Pertanian, Fakultas Teknik Pertanian Universitas Jember.
- Shaw & White. 2001. Dalam: Kurniawati, A., R. 2014. "Pengaruh Kebersihan Kulit Wajah Terhadap Kejadian Acne Vulgaris." Tidak Diterbitkan. Jurnal Media Medika Muda. Semarang: Program Studi Pendidikan Sarjana Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Sinaga, I. L. H. 2009. "Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol Buah Terong Belanda (*Solanum betaceum Cav.*).". Tidak Diterbitkan. Skripsi. Medan: Fakultas Farmasi, Universitas Sumatra Utara.

- Siregar, T., Riyadi, S., & Nuraeni, L. 2002. *Pembudidayaan, Pengolahan, Pemasaran Coklat*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Situmorang, J.P. 2010. *Chapter 2: Sekilas Tanaman Kakao*. [Online]. <http://repository.usu.ac.id/bitstream/123456789/19461/4/Chapter%20II.pdf>. [23 Juli 2014].
- Spillane, S.J. dan James, J. 2008. *Ekonomi Farmasi*. Jakarta: Grasindo.
- Sugita, T., Miyamoto, M., Tsuboi, R., Takatori, K., Ikeda, R. & Nisikawa, A. 2010. *In vitro Activities of Azole Antifungal Agents against Propionibacterium acnes Isolated from Patients with Acne Vulgaris*. *Biol Pharm Bull.* 33(1): 125-127. Dalam: Aziz, S. 2010. "Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun dan Umbi Bakung Putih (*Crinum asiaticum L.*) terhadap Bakteri Penyebab Jerawat." Tidak Diterbitkan. Skripsi. Jakarta: Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Supriyono, T. 2008. "Kandungan Beta Karoten, Polifenol Total, dan Aktivitas Merantas Radikal Bebas Kefir Susu Kacang Hijau (*Vigna radiate*) Oleh Pengaruh Jumlah Starter (*Lactobacillus vulgaris* dan *Candida kefir*) Dan Konsentrasi Glukosa". Tesis. Semarang: Program Pasca Sarjana Universitas Diponegoro Semarang.
- Susanti, A. R. Y. 2011. "Daya Antibakteri Ekstrak Etanol daun Beluntas (*Pluchea indica less*) terhadap *Escherichia coli* secara in vitro". Tidak Diterbitkan. Skripsi. Surabaya: Universitas Airlangga Surabaya.
- Suswati, E., & Mufida, D. 2009. *Petunjuk Praktikum Mikrobiologi*. Jember: Fakultas Farmasi Universitas Jember.
- Utama, et al. 2013. *Perawatan Kulit dan Kelamin: Sejak Bayi hingga Remaja*. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Virganita, J. 2009. "Uji Antibakteri Komponen Bioaktif Daun Lobak (*Raphanus Sativus L.*) Terhadap *Escherichia Coli* dan Profil Kromatografi Lapis Tipisnya." Tidak Diterbitkan. Skripsi. Surakarta: Jurusan Biologi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret.
- Wood, G. A. R. 1975. *Cocoa Third Edition*. New York: Longman
- Wrahatnala, B. J. 2014. "Efek Ekstrak Etanol Biji Kakao (*Theobroma cacao*) sebagai Antibakteri terhadap *Streptococcus pneumoniae* secara *In Vitro*." Tidak Diterbitkan. Skripsi. Jember: Program Pendidikan Dokter Universitas Jember.

Wulandari, P., Suswati, E., Misnawi, & Rianul, A. 2012. “Efek Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Kakao (*T. cacao*) Terhadap Pertumbuhan *Shigella Dysentriae* Secara *In Vitro*”. *Jurnal Medika Planta*. Vol. 1(5): 67-75.

Yagiela, J. A. 2010. *Pharmacology Therapeutics Dentistry*. Sixth Edition.



Lampiran A. Uji Normalitas *Shapiro Wilk*

Serial Konsentrasi (mg/ml)	Diameter ZonaHambat (mm)				Rata-rata
	Pengulangan				
	I	II	III	IV	
K (-)	5	5	5	5	5
7,81	7,50	7,50	8,00	6,80	7,50
15,26	9,50	9,60	9,10	9,20	9,40
31,25	9,80	10,70	10,10	12,00	10,70
62,50	11,50	13,40	12,40	11,90	12,30
125	13,30	13,40	12,50	16,20	13,90
250	12,70	13,00	13,60	19,50	14,70
500	17,50	17,80	15,60	15,00	16,50
1000	17,20	15,70	17,70	16,70	16,80
K (+)	21,80	19,90	23,40	22,80	21,90

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
diameter	36	100,0%	0	0,0%	36	100,0%

Descriptives

		Statistic	Std. Error	
diameter	Mean	8,8694	,76820	
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	7,3099	
		Upper Bound	10,4290	
	5% Trimmed Mean	8,7302		
	Median	8,1500		
	Variance	21,244		
	Std. Deviation	4,60917		
	Minimum	1,80		
	Maximum	18,40		
	Range	16,60		
	Interquartile Range	7,43		
	Skewness	,505	,393	
	Kurtosis	-,587	,768	

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
diameter	,134	36	,098	,952	36	,119

a. Lilliefors Significance Correction

Lampiran B. Uji Korelasi Bivariat Sederhana

		konsentrasi	diameter
konsentrasi	Pearson Correlation	1	,931**
	Sig. (2-tailed)		,000
	N	36	36
diameter	Pearson Correlation	,931**	1
	Sig. (2-tailed)	,000	
	N	36	36

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Lampiran C. Uji Regresi Linear Sederhana

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	,895 ^a	,801	,795	,05546

a. Predictors: (Constant), konsentrasi

ANOVA^a

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	,420	1	,420	136,723	,000 ^b
	Residual	,105	34	,003		
	Total	,525	35			

a. Dependent Variable: trn_diameter

b. Predictors: (Constant), konsentrasi

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	,588	,020		29,200	,000
	konsentrasi	,042	,004	,895	11,693	,000

a. Dependent Variable: trn_diameter

Lampiran D. Uji *One Way* Anova**Test of Homogeneity of Variances**

trn_diameter

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,754	8	27	,131

ANOVA

trn_diameter

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,493	8	,062	51,177	,000
Within Groups	,032	27	,001		
Total	,525	35			

Lampiran E. *Post Hoc Test*

Multiple Comparisons

Dependent Variable: trn_diameter

LSD

(I) konsentrasi	(J) konsentrasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
konsentrasi 7,81 mg/ml	konsentrasi 15,62 mg/ml	,16704*	,02453	,000	,1167	,2174
	konsentrasi 31,25 mg/ml	,22289*	,02453	,000	,1726	,2732
	konsentrasi 62,50 mg/ml	,27551*	,02453	,000	,2252	,3258
	konsentrasi 125 mg/ml	,30788*	,02453	,000	,2576	,3582
	konsentrasi 250 mg/ml	,31752*	,02453	,000	,2672	,3678
	konsentrasi 500 mg/ml	,35047*	,02453	,000	,3001	,4008
	konsentrasi 1000 mg/ml	,36696*	,02453	,000	,3166	,4173
	kontrol positif	,40361*	,02453	,000	,3533	,4539
	konsentrasi 7,81 mg/ml	-,16704*	,02453	,000	-,2174	-,1167
konsentrasi 15,62 mg/ml	konsentrasi 31,25 mg/ml	,05585*	,02453	,031	,0055	,1062
	konsentrasi 62,50 mg/ml	,10848*	,02453	,000	,0582	,1588
	konsentrasi 125 mg/ml	,14084*	,02453	,000	,0905	,1912
	konsentrasi 250 mg/ml	,15048*	,02453	,000	,1002	,2008
	konsentrasi 500 mg/ml	,18344*	,02453	,000	,1331	,2338
	konsentrasi 1000 mg/ml	,19992*	,02453	,000	,1496	,2502
	kontrol positif	,23657*	,02453	,000	,1862	,2869
	konsentrasi 7,81 mg/ml	-,22289*	,02453	,000	-,2732	-,1726
	konsentrasi 15,62 mg/ml	-,05585*	,02453	,031	-,1062	-,0055
konsentrasi 31,25 mg/ml	konsentrasi 62,50 mg/ml	,05262*	,02453	,041	,0023	,1029
	konsentrasi 125 mg/ml	,08499*	,02453	,002	,0347	,1353
	konsentrasi 250 mg/ml	,09463*	,02453	,001	,0443	,1450
	konsentrasi 500 mg/ml	,12758*	,02453	,000	,0773	,1779
	konsentrasi 1000 mg/ml	,14407*	,02453	,000	,0937	,1944
	kontrol positif	,18072*	,02453	,000	,1304	,2310

	konsentrasi 7,81 mg/ml	-,27551*	,02453	,000	-,3258	-,2252
	konsentrasi 15,62 mg/ml	-,10848*	,02453	,000	-,1588	-,0582
	konsentrasi 31,25 mg/ml	-,05262*	,02453	,041	-,1029	-,0023
konsentrasi	konsentrasi 125 mg/ml	,03237	,02453	,198	-,0180	,0827
62,50 mg/ml	konsentrasi 250 mg/ml	,04201	,02453	,098	-,0083	,0923
	konsentrasi 500 mg/ml	,07496*	,02453	,005	,0246	,1253
	konsentrasi 1000 mg/ml	,09144*	,02453	,001	,0411	,1418
	kontrol positif	,12809*	,02453	,000	,0778	,1784
	konsentrasi 7,81 mg/ml	-,30788*	,02453	,000	-,3582	-,2576
	konsentrasi 15,62 mg/ml	-,14084*	,02453	,000	-,1912	-,0905
	konsentrasi 31,25 mg/ml	-,08499*	,02453	,002	-,1353	-,0347
konsentrasi	konsentrasi 62,50 mg/ml	-,03237	,02453	,198	-,0827	,0180
125 mg/ml	konsentrasi 250 mg/ml	,00964	,02453	,697	-,0407	,0600
	konsentrasi 500 mg/ml	,04259	,02453	,094	-,0077	,0929
	konsentrasi 1000 mg/ml	,05908*	,02453	,023	,0088	,1094
	kontrol positif	,09573*	,02453	,001	,0454	,1460
	konsentrasi 7,81 mg/ml	-,31752*	,02453	,000	-,3678	-,2672
	konsentrasi 15,62 mg/ml	-,15048*	,02453	,000	-,2008	-,1002
	konsentrasi 31,25 mg/ml	-,09463*	,02453	,001	-,1450	-,0443
konsentrasi	konsentrasi 62,50 mg/ml	-,04201	,02453	,098	-,0923	,0083
250 mg/ml	konsentrasi 125 mg/ml	-,00964	,02453	,697	-,0600	,0407
	konsentrasi 500 mg/ml	,03295	,02453	,190	-,0174	,0833
	konsentrasi 1000 mg/ml	,04944	,02453	,054	-,0009	,0998
	kontrol positif	,08609*	,02453	,002	,0358	,1364
	konsentrasi 7,81 mg/ml	-,35047*	,02453	,000	-,4008	-,3001
	konsentrasi 15,62 mg/ml	-,18344*	,02453	,000	-,2338	-,1331
	konsentrasi 31,25 mg/ml	-,12758*	,02453	,000	-,1779	-,0773
konsentrasi	konsentrasi 62,50 mg/ml	-,07496*	,02453	,005	-,1253	-,0246
500 mg/ml	konsentrasi 125 mg/ml	-,04259	,02453	,094	-,0929	,0077
	konsentrasi 250 mg/ml	-,03295	,02453	,190	-,0833	,0174
	konsentrasi 1000 mg/ml	,01648	,02453	,507	-,0338	,0668
	kontrol positif	,05313*	,02453	,039	,0028	,1035
	konsentrasi 7,81 mg/ml	-,36696*	,02453	,000	-,4173	-,3166
konsentrasi	konsentrasi 15,62 mg/ml	-,19992*	,02453	,000	-,2502	-,1496
1000 mg/ml	konsentrasi 31,25 mg/ml	-,14407*	,02453	,000	-,1944	-,0937
	konsentrasi 62,50 mg/ml	-,09144*	,02453	,001	-,1418	-,0411
	konsentrasi 125 mg/ml	-,05908*	,02453	,023	-,1094	-,0088

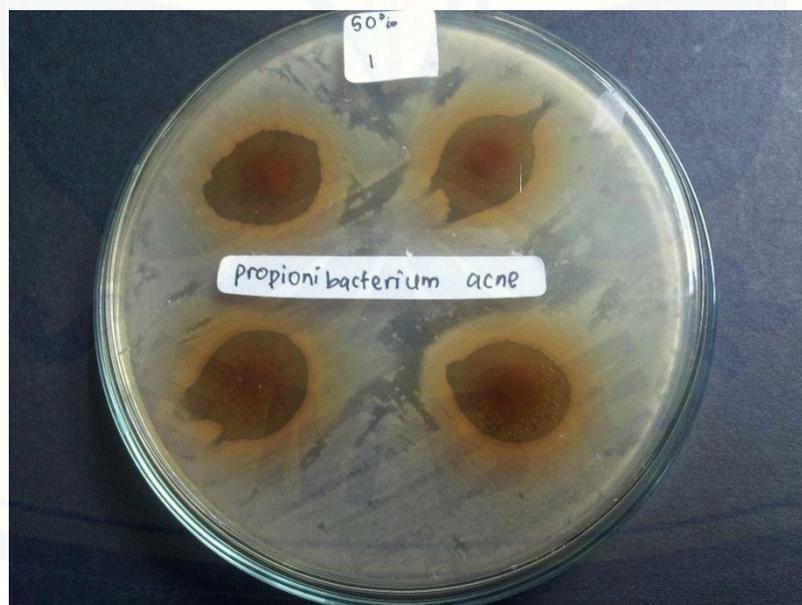
	konsentrasi 250 mg/ml	-,04944	,02453	,054	-,0998	,0009
	konsentrasi 500 mg/ml	-,01648	,02453	,507	-,0668	,0338
	kontrol positif	,03665*	,02453	,147	-,0137	,0870
	konsentrasi 7,81 mg/ml	-,40361*	,02453	,000	-,4539	-,3533
	konsentrasi 15,62 mg/ml	-,23657*	,02453	,000	-,2869	-,1862
	konsentrasi 31,25 mg/ml	-,18072*	,02453	,000	-,2310	-,1304
	konsentrasi 62,50 mg/ml	-,12809*	,02453	,000	-,1784	-,0778
kontrol positif	konsentrasi 125 mg/ml	-,09573*	,02453	,001	-,1460	-,0454
	konsentrasi 250 mg/ml	-,08609*	,02453	,002	-,1364	-,0358
	konsentrasi 500 mg/ml	-,05313*	,02453	,039	-,1035	-,0028
	konsentrasi 1000 mg/ml	-,03665*	,02453	,147	-,0870	,0137

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

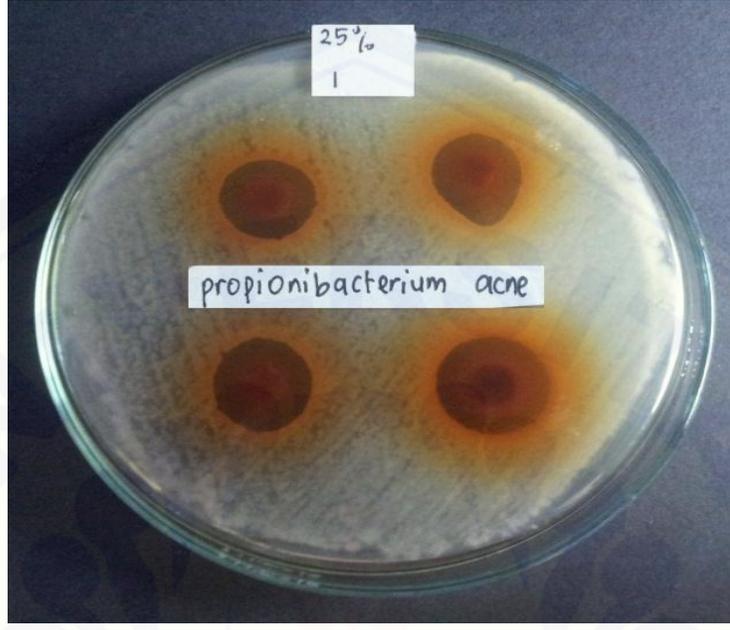
Lampiran F. Gambar Hasil Uji Kadar Hambat Minimum Ekstrak Etanol Biji Kakao (*T. cacao*) terhadap Bakteri *P. acnes*



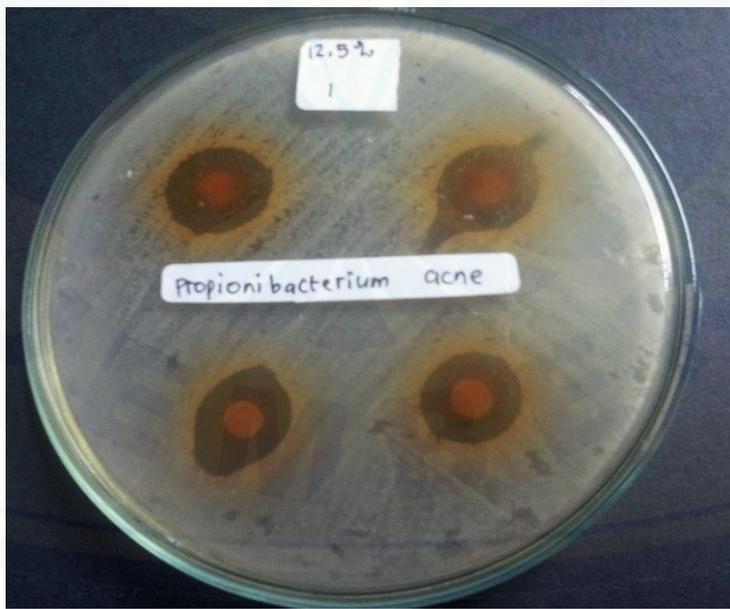
Gambar 1. Hasil Uji KHM *P. acnes* dengan konsentrasi 1000 mg/ml



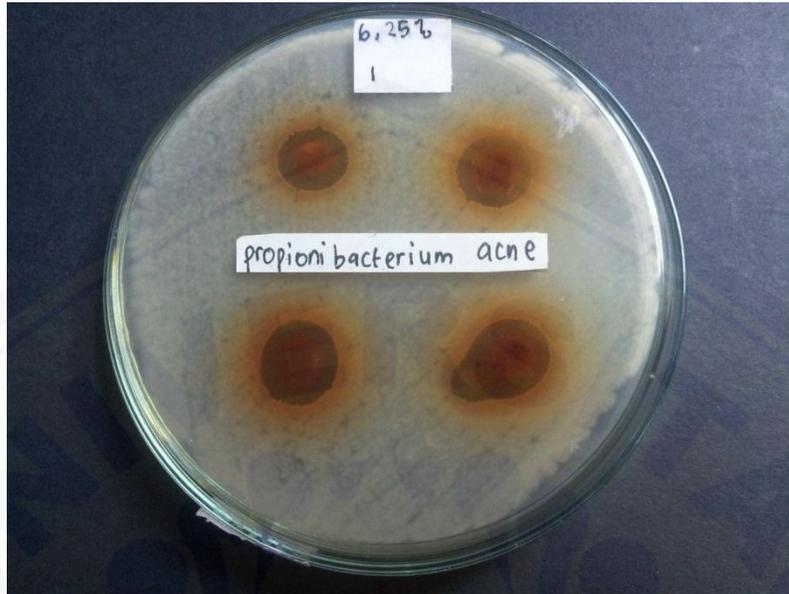
Gambar 2. Hasil Uji KHM *P. acnes* dengan konsentrasi 500 mg/ml



Gambar 3. Hasil Uji KHM *P.acnes* dengan konsentrasi 250 mg/ml



Gambar 4. Hasil Uji KHM *P.acnes* dengan konsentrasi 125 mg/ml



Gambar 5. Hasil Uji KHM *P.acnes* dengan konsentrasi 62,50 mg/ml



Gambar 6. Hasil Uji KHM *P.acnes* dengan konsentrasi 31,25 mg/ml



Gambar 7. Hasil Uji KHM *P.acnes* dengan konsentrasi 15,62 mg/ml



Gambar 8. Hasil Uji KHM *P.acnes* dengan konsentrasi 7,81 mg/ml

Lampiran G. Gambar Hasil Kontrol Positif dengan Clindamycin dan Kontrol Negatif dengan Aquadest Steril



Gambar 9. Hasil Kontrol Positif dengan Larutan Clindamycin 2 μ g/ml



Gambar 10. Hasil Kontrol Negatif dengan Aquadest Steril

Lampiran H. Persetujuan Etik



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS JEMBER

KOMISI ETIK PENELITIAN

Jl. Kalimantan, 37 Kampus Bumi Tegal Boto Telp/Fax (0331) 337877 Jember 68121 – Email :
fk_unej@telkom.net

KETERANGAN PERSETUJUAN ETIK
ETHICAL APPROVA

Nomor : ~~492~~ /H25.1.11/KE/2014

Komisi Etik, Fakultas Kedokteran Universitas Jember dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul :

The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, Jember University, With regards of the protection of human rights and welfare in medical research, has carefully reviewed the proposal entitled :

EFEK EKSTRAK ETANOL BIJI KAKAO (*Theobroma cacao*) SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP *Propionibacterium acnes* SECARA IN VITRO

Nama Peneliti Utama : Ariska Nur Aida (NIM : 112010101009)
Name of the principal investigator

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Jember
Name of institution

Dan telah menyetujui protokol tersebut diatas.
And approved the above mentioned proposal.



2014

Tanggapan Anggota Komisi Etik

(Diisi oleh Anggota Komisi Etik, berisi tanggapan sesuai dengan butir-butir isian diatas dan telaah terhadap Protokol maupun dokumen kelengkapan lainnya)

- Penelitian dapat dilanjutkan
- Mohon diperhatikan pembuangan limbah mikrobaologi, agar tidak mencemari lingkungan.

