



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

SKRIPSI

Oleh
Devi Chintya Kumalasari
NIM 112010101013

FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2014



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

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Pendidikan Dokter (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran

Oleh

Devi Chintya Kumalasari

NIM 112010101013

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER**

2014

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT dengan segala hidayah yang telah diberikan oleh-Nya, sehingga saya bisa merasakan kebesaran-Nya melalui akal dan hati;
2. Ayahanda Nanang Budi Hariwiyono, Ibunda Lilik Suryatini, dan Adik tercinta Aditya Bagas Maulana yang senantiasa memberikan doa, dukungan, bimbingan, kasih sayang yang tiada henti, serta pengorbanan setiap waktu;
3. Nenek dan segenap keluarga lain yang selalu memberikan doa dan dukungan;
4. dr. Enny Suswati, M. Kes dan Dr. Ir. Misnawi yang telah meluangkan waktunya untuk mengantarkan saya pada gerbang yang sesungguhnya;
5. Guru-guruku tercinta, yang telah memberikan ilmu dan mendidiku;
6. Ivan Firmansyah, Ariska Nur Aida, dan Billy Jordan Wrahatnala yang selalu memberikan dukungan dan bantuannya dalam penyusunan skripsi ini;
7. Sahabat-sahabatku RR Arienta Yusitasari, Anastasia Citra Purwani, Meita Astuti, Budiono, Anas Bahtiar Diansyah, Devani Bagus Aprinda yang selalu memberi dukungan dan bantuannya;
8. Teknisi Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Univeritas Jember, Mbak Lilis; Teknisi Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Univeritas Jember, Mas Bagus; dan Tim dari Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia, Ibu Fitriatin dan Ibu Ariza terima kasih atas bantuan dan kerjasama, dukungan serta masukan selama penelitian skripsi ini;
9. Saudara-saudaraku Amalia Martha Santosa, Inneke Hastuti, Muhammad Nouval Abdillah, Fajri Maulana, Reza Hartana, Iva Agustin, Sofya Umi Labiba, Wardatul Jannah, Dina Mustika, Dini Enggal, Astri Cholisatul, Fathkiyatur Rizki yang selalu memberikan doa dan kasih sayang;
10. Teman-teman Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Jember Angkatan 2011 yang selalu memberi dukungan dan bantuannya.

MOTTO

Dan bumi Allah itu luas. Hanya orang-orang yang bersabarlah yang disempurnakan pahalanya tanpa batas. (terjemahan Surat Az-Zumar ayat 10) *)

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

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Devi Chintya Kumalasari

NIM : 112010101013

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Efek Ekstrak Etanol Biji Kakao (*Theobroma cacao*) sebagai Antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* secara *In vitro*” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan 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 ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 15 Oktober 2014

Yang menyatakan,

Devi Chintya Kumalasari
NIM 112010101013

SKRIPSI

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

Oleh

Devi Chintya Kumalasari
NIM 112010101013

Pembimbing:

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

Dosen Pembimbing II : Dr. Ir. Misnawi

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Efek Ekstrak Etanol Biji Kakao (*Theobroma cacao*) sebagai Antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* secara *In vitro*” telah diuji dan disahkan pada :

hari, tanggal : Rabu, 15 Oktober 2014

tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Tim Penguji:

Penguji I,

Penguji II,

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

dr. Elly Nurus Sakinah, M. Si
NIP 19840916 200801 2 003

Penguji III,

Penguji IV,

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

Dr. Ir. Misnawi
NIK 111000217

Mengesahkan
Dekan,

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

RINGKASAN

Efek Ekstrak Etanol Biji Kakao (*Theobroma cacao*) sebagai Antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* secara *In vitro*; Devi Chintya Kumalasari, 112010101013; 2014: 72 halaman; Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Penyakit infeksi masih menjadi salah satu masalah kesehatan serius yang dihadapi oleh dunia. Salah satu jenis penyakit infeksi yang beberapa tahun terakhir menjadi topik pembicaraan adalah infeksi nosokomial. Di Indonesia, organisme utama yang menyebabkan infeksi nosokomial adalah *Pseudomonas aeruginosa* (13%) (Sulistiyarningsih, 2010). Angka kematian akibat infeksi oleh bakteri ini sendiri diduga mencapai 18% - 60%, tergantung dengan jenis infeksinya (Bauer, 2013). Bakteri ini termasuk bakteri yang memiliki MDR (*Multi Drug Resistance*) tinggi terhadap beberapa golongan antibiotika (Siregar, 2010). Oleh karena itu diperlukan alternatif pengobatan, salah satunya diketahui dengan menggunakan buah kakao. Biji kakao mengandung senyawa polifenol cukup besar meliputi katekin 33 - 42%, leukosianidin 23 - 25%, dan antosianin 5%. Senyawa polifenol biji kakao terbukti memiliki aktifitas antioksidan dan antibakteri yang bermanfaat bagi tubuh (Wulandari *et al.*, 2012). Selain itu menurut *National Geographic Indonesia*, Indonesia merupakan negara penghasil terbesar kakao ketiga di dunia dengan produksi yang terus tumbuh 3,5% setiap tahunnya.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek dari ekstrak etanol biji kakao (*T. cacao*) sebagai antibakteri terhadap bakteri *P. aeruginosa* secara *in vitro* dan untuk menentukan konsentrasi minimum ekstrak etanol biji kakao (*T. cacao*) yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa* 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. aeruginosa* yang disesuaikan dengan standar

0,5 Mc Farland. Konsentrasi larutan uji yang digunakan adalah 7,81; 15,62; 31,25; 62,50; 125; 250; 500; dan 1000 mg/ml. Kontrol positif menggunakan suspensi sefepime 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 bakteri *P. aeruginosa* dan diukur diameternya menggunakan jangka sorong. Data kemudian dianalisis secara diskriptif 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 linear untuk mengetahui pengaruh variabel bebas terhadap variabel terikat. Setelah itu, jika data terdistribusi normal dan homogen, dilakukan uji statistik *one way Anova*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat efek antibakteri ekstrak etanol biji kakao (*T. cacao*) terhadap bakteri *P. aeruginosa* 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 senyawa polifenol seperti flavonoid, katekin, dan tanin pada biji kakao (*T. cacao*). Penentuan KHM *breakpoint* ekstrak etanol biji kakao (*T. cacao*) secara kualitatif adalah pada konsentrasi 7,81 mg/ml dan KHM *breakpoint* secara kuantitatif adalah di atas konsentrasi 6,95 mg/ml.

Dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol biji kakao mempunyai efek sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan *P. aeruginosa* secara *in vitro*. Konsentrasi minimum ekstrak etanol biji kakao (*T. cacao*) yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa* secara *in vitro* adalah sebesar 6,95 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 *Pseudomonas aeruginosa* 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. Elly Nurus Sakinah, M. Si sebagai dosen penguji yang banyak memberikan kritik, saran, dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
4. Ayahanda Nanang Budi Hariwiyono, Ibunda Lilik Suryatini, dan Adik tercinta Aditya Bagas Maulana yang senantiasa memberikan doa, dukungan, bimbingan, kasih sayang yang tiada henti, serta pengorbanan setiap waktu. Senyum dan kebahagiaan mereka adalah harapan terbesarku;
5. Nenek dan segenap keluarga lain yang selalu memberikan doa dan dukungan;
6. Guru-guruku tercinta, yang telah memberikan ilmu dan mendidiku dengan penuh kesabaran untuk menjadikanku manusia yang berilmu dan bertakwa;
7. Ivan Firmansyah, Ariska Nur Aida, dan Billy Jordan Wrahatnala yang selalu memberikan dukungan dan bantuannya dalam penyusunan skripsi ini;

8. Sahabat-sahabatku RR Arienta Yusitasari, Anastasia Citra Purwani, Meita Astuti, Budiono, Anas Bahtiar Diansyah, Devani Bagus Aprinda yang selalu memberi dukungan dan bantuannya;
9. Teknisi Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Univeritas Jember, Mbak Lilis; Teknisi Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Univeritas Jember, Mas Bagus; dan Tim dari Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia, Ibu Fitriatin dan Ibu Ariza terima kasih atas bantuan dan kerjasama, dukungan serta masukan selama penelitian skripsi ini;
10. Saudara-saudaraku Amalia Martha Santosa, Inneke Hastuti, Muhammad Nouval Abdillah, Fajri Maulana, Reza Hartana, Iva Agustin, Sofya Umi Labiba, Wardatul Jannah, Dina Mustika, Dini Enggal, Astri Cholisatul, Fathkiyatur Rizki yang selalu memberikan doa dan kasih sayang;
11. Keluarga Beringin Fakultas Kedokteran Universitas Jember yang selalu memberikan kekuatan;
12. Teman-teman Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Jember Angkatan 2011 yang selalu memberi dukungan dan bantuannya;
13. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

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, Oktober 2014

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN BIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xix
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.3.1 Tujuan Umum	3
1.3.2 Tujuan Khusus	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
1.4.1 Manfaat Umum	3
1.4.2 Manfaat Khusus	4

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5
2.1.1 Taksonomi.....	6
2.1.2 Morfologi dan Identifikasi Bakteri.....	6
2.1.3 Struktur Antigen dan Penentu Patogenitas.....	7
2.1.4 Patogenesis	9
2.1.5 Manifestasi Klinik Infeksi	10
2.1.6 Diagnosis Laboratorium.....	10
2.1.7 Epidemiologi	11
2.1.8 Pengobatan	11
2.1.9 Resistensi <i>P. aeruginosa</i>	12
2.2 Tanaman Kakao (<i>Theobroma cacao</i>)	13
2.2.1 Sejarah Kakao	15
2.2.2 Biji Kakao	15
2.2.3 Kandungan Biji Kakao.....	16
2.2.4 Polifenol dan Flavonoid Kakao.....	16
2.3 Antimikroba	19
2.3.1 Antimikroba yang Menghambat Metabolisme Sel Mikroba.....	19
2.3.2 Antimikroba yang Menghambat Sintesis Dinding Sel Mikroba.....	19
2.3.3 Antimikroba yang Mengganggu Keutuhan Membran Sel Mikroba	20
2.3.4 Antimikroba yang Menghambat Sintesis Protein Sel Mikroba	20
2.3.5 Antimikroba yang Menghambat Sintesis Asam Nukleat Sel Mikroba.....	21
2.4 Antibiotik Untuk <i>P. aeruginosa</i>	21
2.5 Sefepime	22
2.6 Ekstraksi	23

2.7 Uji Aktivitas Antibakteri	24
2.7.1 Metode Difusi.....	25
2.7.2 Metode Dilusi.....	25
2.8 Kerangka Konseptual Penelitian	27
2.9 Hipotesis	28
BAB 3. METODE PENELITIAN	29
3.1 Jenis Penelitian	29
3.2 Rancangan penelitian	29
3.3 Uji KHM (Kadar Hambat Minimum)	30
3.4 Sampel Penelitian	31
3.5 Tempat dan Waktu Penelitian	31
3.5.1 Tempat Penelitian.....	31
3.5.2 Waktu Penelitian	31
3.6 Variabel Penelitian	31
3.6.1 Variabel Bebas	31
3.6.2 Variabel Terikat.....	32
3.6.3 Variabel Terkendali.....	32
3.7 Definisi Operasional	32
3.8 Alat dan Bahan	33
3.8.1 Alat	33
3.8.2 Bahan.....	33
3.9 Prosedur Penelitian	34
3.9.1 Persiapan Alat	34
3.9.2 Pembuatan Ekstrak Etanol Biji Kakao	33
3.9.3 Pembuatan Larutan 0,5 <i>Mc Farland</i>	34
3.9.4 Pembuatan Media	35
3.9.5 Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Etanol	
Biji Kakao	35
3.9.6 Pembuatan Suspensi Bakteri	35
3.9.7 Pembuatan Suspensi Antibiotik	35
3.9.8 Tahap Perlakuan	36

3.10 Analisis Data	36
3.11 Alur Penelitian	37
3.11.1 Pengenceran Ekstrak	37
3.11.2 Alur Uji Aktivitas Antibakteri.....	38
3.11.3 Alur Kontrol Positif dan Kontrol Negatif	39
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	40
4.1 Hasil Penelitian	40
4.2 Analisis Data	42
4.3 Pembahasan	45
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	50
5.1 Kesimpulan	50
5.2 Saran	50
DAFTAR PUSTAKA	51
LAMPIRAN	58

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Klasifikasi Ilmiah <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6
Tabel 2.2 Klasifikasi Ilmiah Kakao	13
Tabel 2.3 Komposisi Kimia Biji Kakao	16
Tabel 2.4 Komposisi Polifenol dalam Biji Kakao	17
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. aeruginosa</i>	41
Tabel 4.2 Hasil Analisis LSD Konsentrasi Ekstrak Etanol Biji Kakao	44

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dengan Pengecetan Gram.....	6
Gambar 2.2 Buah Kakao (<i>T. cacao</i>).....	13
Gambar 2.3 Struktur Kimia Sefepime.....	22
Gambar 2.4 Skema Kerangka Konseptual	27
Gambar 3.1 Skema Rancangan Penelitian	30
Gambar 3.2 Skema Pengenceran Ekstrak Etanol Biji Kakao	37
Gambar 3.3 Skema Alur Uji Aktivitas Antibakteri.....	38
Gambar 3.4 Skema Alur Kontrol Positif dan Kontrol Negatif	39
Gambar 4.1 Zona Hambat Berbagai Tingkat Konsentrasi Ekstrak Etanol Biji Kakao (<i>T. cacao</i>) terhadap Pertumbuhan <i>P. aeruginosa</i>	40
Gambar 4.2 Kontrol Negatif dengan aquadest steril dan Kontrol Positif dengan suspensi sefepime 8 µg/ml	42
Gambar 4.3 Grafik Pengaruh Ekstrak Etanol Biji Kakao terhadap Diameter Zona Hambat Pertumbuhan <i>P. aeruginosa</i>	46
Gambar 1 Hasil Uji KHM <i>P. aeruginosa</i> dengan konsentrasi 1000 mg/ml	66
Gambar 2 Hasil Uji KHM <i>P. aeruginosa</i> dengan konsentrasi 500 mg/ml	66
Gambar 3 Hasil Uji KHM <i>P. aeruginosa</i> dengan konsentrasi 250 mg/ml	67
Gambar 4 Hasil Uji KHM <i>P. aeruginosa</i> dengan konsentrasi 125 mg/ml	67
Gambar 5 Hasil Uji KHM <i>P. aeruginosa</i> dengan konsentrasi 62,50 mg/ml	68

Gambar 6 Hasil Uji KHM <i>P. aeruginosa</i> dengan konsentrasi 31,25 mg/ml	68
Gambar 7 Hasil Uji KHM <i>P. aeruginosa</i> dengan konsentrasi 15,62 mg/ml	69
Gambar 8 Hasil Uji KHM <i>P. aeruginosa</i> dengan konsentrasi 7,81 mg/ml	69
Gambar 9 Hasil Kontrol Positif dengan Larutan Sefepime 8 µg/ml	70
Gambar 10 Hasil Kontrol Negatif dengan Aquadest Steril.....	70

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran A. Uji Normalitas <i>Shapiro Wilk</i>	58
Lampiran B. Uji Korelasi Bivariat Sederhana	59
Lampiran C. Uji Regresi Linear Sederhana	60
Lampiran D. Uji <i>One Way Anova</i>	61
Lampiran E. <i>Post Hoc Test</i>	62
Lampiran F. Gambar Hasil Uji Kadar Hambat Minimum Ekstrak Etanol Biji Kakao (<i>T. cacao</i>) terhadap Bakteri <i>P. aeruginosa</i>	66
Lampiran G. Gambar Hasil Kontrol Positif dengan Sefepime dan Kontrol Negatif dengan Aquadest Steril	70
Lampiran H. Persetujuan Etik	71