

Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara *In Vitro*

Antibacterial Activity of Cocoa Leaf Fraction (*Theobroma cacao* L.) against *Staphylococcus aureus* Bacteria by *In Vitro*

Noviana Mandhaki*, Choirul Huda, Amalia Eka Putri

Program Studi S1 Farmasi, STIKes Karya Putra Bangsa, Tulungagung

*Email korespondensi: hudacoy85@gmail.com

Abstract

Cacao are a plantation commodity in Indonesia. Most of the cacao plant is cacao leaves. One of the utilization of cacao leaves by the community is as compost, but has not been utilized by the community as a raw material of traditional medicine. Based on research, cacao leaves contain secondary metabolite compounds that can be used as an antibacterial against *Staphylococcus aureus* bacteria that often cause infection in humans. The purpose of this study was to find out the activity of ethanol fraction, dichloromethane, and n-hexane from cacao leaf extract as an antibacterial against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. This study used extraction methods of maceration and fractionation using ethanol solvents, dichloromethane, and n-hexane. Test the antibacterial activity of cacao leaf fraction using disc diffusion method with a concentration series of 10%, 20%, and 30%. The results showed that ethanol and dichloromethane fractions had antibacterial activity.

Keywords: Cacao leaf; *Staphylococcus aureus*; fractionation; diffusion.

Abstrak

Tanaman kakao merupakan komoditas perkebunan di Indonesia. Bagian paling banyak pada tanaman kakao yaitu daun kakao. Salah satu pemanfaatan daun kakao oleh masyarakat yaitu sebagai pupuk kompos, namun belum dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai bahan baku obat tradisional. Berdasarkan penelitian, daun kakao mengandung senyawa metabolit sekunder yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yang sering menyebabkan infeksi pada manusia. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui aktivitas fraksi etanol, diklorometana, dan n-heksan dari ekstrak daun kakao sebagai antibakteri

terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Penelitian ini menggunakan metode ekstraksi yaitu maserasi dan fraksinasi menggunakan pelarut etanol, diklorometana, dan n-heksan. Uji aktivitas antibakteri fraksi daun kakao menggunakan metode difusi cakram dengan seri konsentrasi 10%, 20%, dan 30%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi etanol dan diklorometana memiliki aktivitas antibakteri.

Kata Kunci: Daun kakao; *Staphylococcus aureus*; Fraksinasi; Difusi

Submitted: 29 Agustus 2020

Accepted: 15 April 2021

DOI: <https://doi.org/10.25026/jsk.v3i2.269>

■ Pendahuluan

Keanekaragaman jenis flora di Indonesia dapat dimanfaatkan masyarakat dalam berbagai bidang, salah satunya yaitu dimanfaatkan oleh industri obat tradisional di Indonesia sebagai bahan baku obat tradisional [2]. Bahan baku obat tradisional tersebut berasal dari tumbuhan obat. Tumbuhan obat menjadi pilihan alternatif karena mudah dalam mendapatkannya di lingkungan sekitar, memiliki harga relatif murah, dan jarang menimbulkan efek samping jika dibandingkan dengan obat-obatan dari bahan sintetis. Salah satu tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional adalah kakao [4].

Kakao merupakan salah satu komoditas perkebunan di Indonesia. Bagian paling banyak pada tanaman kakao yaitu daun kakao. Salah satu pemanfaatan daun kakao oleh masyarakat yaitu sebagai pupuk kompos, namun belum dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai bahan baku obat tradisional [2].

Menurut penelitian sebelumnya, ekstrak daun kakao mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid, saponin dan tanin serta mengandung senyawa fenolat, *theobromine*, kafein, antosianin, *leucoantosianin* dan katekol. Kandungan senyawa metabolit sekunder pada kakao tersebut dapat digunakan sebagai antimikroba terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* [13].

Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri yang ditemukan pada flora normal kulit rongga hidung manusia yang sering menyebabkan

infeksi ketika imun tubuh melemah [1]. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun kakao memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, namun belum diketahui aktivitas fraksi daun kakao terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas fraksi etanol, diklorometana dan n-heksan dari ekstrak daun kakao sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

■ Metode Penelitian

Metode penelitian ini dilakukan di Laboratorium STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung secara eksperimental laboratorium. Tahapan penelitian ini yaitu preparasi sampel berupa daun kakao, ekstraksi daun kakao, fraksinasi ekstrak daun kakao, dan uji aktivitas antibakteri.

Alat dan bahan

Alat yang digunakan adalah wadah maserasi, corong pisah (*Pyrex*), oven, autoklaf, dan inkubator. Bahan yang digunakan adalah daun kakao yang diperoleh dari Tulungagung, etanol 96%, *aquadestilata*, n-heksan, diklorometana, media *Nutrient Agar* (NA), media *Nutrient Broth* (NB), kloramfenikol sebagai kontrol positif, dan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diperoleh dari Laboratorium UESBE.

Preparasi sampel

Daun kakao sebanyak 5 kg diperoleh dari Desa Samir, Kecamatan Ngunut, Kabupaten Tulungagung, Jawa Timur. Daun kakao yang telah dipetik dilakukan sortasi basah dan dicuci menggunakan air mengalir. Daun kakao yang telah dicuci dilakukan pengeringan, kemudian dilakukan sortasi kering. Simplisia yang telah kering kemudian dilakukan penghalusan menjadi serbuk halus dan dilakukan pengayakan menggunakan ayakan no. Mesh 80.

Ekstraksi daun kakao

Ekstraksi daun kakao menggunakan metode ekstraksi maserasi. Serbuk simplisia daun kakao sebanyak 500 gram dimasukkan ke bejana maserasi, lalu ditambahkan pelarut etanol 96%. Maserasi dilakukan selama 5 hari. Maserat yang didapatkan selanjutnya dilakukan pemekatan hingga didapatkan ekstrak kental.

Fraksinasi ekstrak daun kakao

Ekstrak kental daun kakao sebanyak 5 gram dilarutkan menggunakan etanol sebanyak 75 ml dan difraksinasi menggunakan n-heksan sebanyak 25 ml. Campuran dilakukan penggojogan hingga tampak terjadi pemisahan. Hasil fraksinasi diperoleh fraksi n-heksan dan fraksi etanol, kemudian memisahkan fraksi n-heksan yang telah diperoleh. Fraksi etanol dilakukan fraksinasi kembali dengan menambahkan diklorometana sebanyak 25 ml. Fraksi diklorometana dan fraksi etanol tersebut kemudian dipisahkan. Hasil fraksinasi diperoleh fraksi diklorometana. Masing-masing perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali.

Uji aktivitas antibakteri

Pembuatan suspensi bakteri

Satu ose biakan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 disuspensikan ke dalam tabung berisi 5 ml media NB kemudian suspensi tersebut diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Selanjutnya suspensi bakteri tersebut diencerkan menggunakan NaCl 0,9% hingga diperoleh

kekeruhan yang sama dengan standar kekeruhan larutan 0,5 Mc. Farland (biakan cair yang mempunyai populasi 1×10^7 CFU/ml sampai 1×10^8 CFU/ml) [8].

Pengukuran aktivitas antibakteri

Fraksi etanol, n-heksan dan diklorometana daun kakao dengan berbagai konsentrasi yaitu konsentrasi 10%, 20% dan 30% ditambahkan pada masing-masing cakram dengan diameter 6 mm sejumlah 20 mikroliter. Kertas cakram steril yang telah ditetesi dengan fraksi daun kakao kemudian ditempatkan pada permukaan media dengan pinset steril dengan cara menekan ke bawah untuk memastikan kontak antara kertas cakram dengan permukaan media. Kontrol positif disiapkan dengan meneteskan kertas cakram dengan larutan kloramfenikol sebanyak 20 mikroliter. Kontrol negatif disiapkan dengan meneteskan kertas cakram dengan masing-masing pelarut fraksi sebanyak 20 mikroliter. Langkah selanjutnya yaitu cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam kemudian mengukur diameter zona hambatnya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menggunakan jangka sorong [9].

■ Hasil dan Pembahasan

Tahap pertama pada penelitian ini yaitu determinasi tanaman. Determinasi tanaman dilakukan untuk mengetahui identitas suatu tanaman berdasarkan klasifikasi ilmiahnya [7]. Tanaman yang digunakan yaitu tanaman kakao yang telah diidentifikasi di UPT Materia Medica Kota Batu, Malang, Jawa Timur. Hasil determinasi menunjukkan bahwa tanaman kakao memiliki nama latin yaitu *Theobroma cacao* L.

Ekstraksi

Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Metode maserasi dipilih karena cara pengerjaannya sederhana dan tidak memerlukan pemanasan sehingga senyawa aktif dari tanaman tidak mengalami kerusakan [14]. Berdasarkan hasil

ekstraksi terhadap 5 gram simplisia daun kakao didapatkan ekstrak kental sebesar 34 gram dan persen rendemen ekstrak yang didapatkan yaitu 6,8%. Organoleptis ekstrak daun kakao pada penelitian ini yaitu ekstrak berwarna coklat pekat, berbentuk kental dan memiliki bau khas daun kakao.

Fraksinasi

Hasil ekstrak kental daun kakao selanjutnya dilakukan pemisahan berdasarkan kepolarannya menggunakan metode fraksinasi. Fraksinasi pada penelitian ini menggunakan pelarut etanol, diklorometana, dan n-heksan. Fraksinasi bertujuan untuk mendapatkan fraksi yang lebih murni untuk mendapatkan aktivitas yang lebih tinggi [5]. Hasil fraksinasi daun kakao dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Fraksinasi Daun Kakao

Sampel	Bobot Ekstrak	Bobot Fraksi	Rendemen
Fraksi Etanol	25 gr	3,13 gr	12,52 %
Fraksi Diklorometana	25 gr	2,31 gr	9,24 %
Fraksi N- Heksan	25 gr	1,30 gr	5,2 %

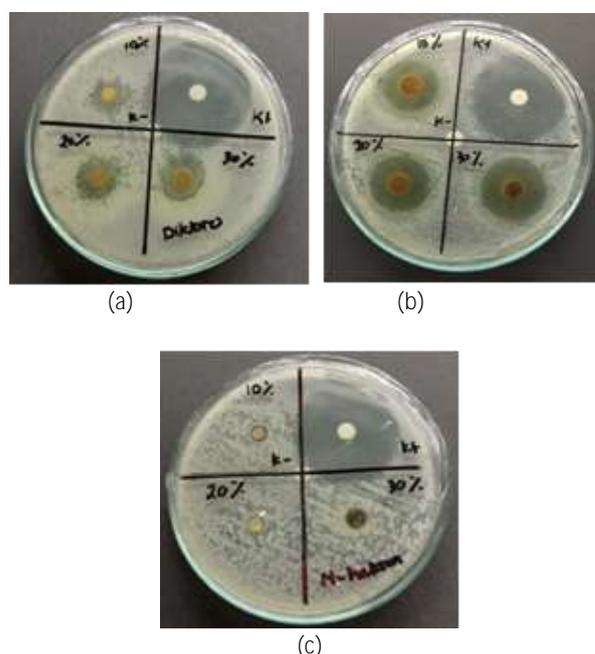
Berdasarkan Tabel 1 rendemen yang diperoleh dari masing-masing fraksi berbeda karena adanya perbedaan kemampuan pelarut dalam proses penyarian. Nilai rendemen tertinggi terdapat pada fraksi etanol sebesar 12,52 % karena daun kakao lebih banyak mengandung senyawa yang bersifat polar yaitu flavonoid dalam bentuk glikonnya, saponin dan tanin sehingga senyawa aktif pada daun kakao relatif larut dalam pelarut polar. Nilai rendemen fraksi diklorometana dan fraksi n-heksan lebih rendah jika dibandingkan dengan fraksi etanol karena senyawa aktif yang bersifat semi polar dan non polar terdapat dalam jumlah yang lebih kecil pada daun kakao.

Aktivitas antibakteri

Uji aktivitas antibakteri fraksi daun kakao terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC

25923 menggunakan metode difusi cakram. Hasil pengujian ditunjukkan pada Gambar 1.

Berdasarkan Gambar 1 menunjukkan bahwa fraksi etanol dan diklorometana memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, hal ini ditandai dengan adanya zona bening di sekitar kertas cakram pada konsentrasi 10%, 20% dan 30%, sedangkan pada fraksi n-heksan tidak memiliki aktivitas antibakteri karena tidak terdapat zona bening di sekitar kertas cakram.



Gambar 1. Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi (a) etanol, (b) diklorometana dan (c) n-heksan

Kontrol negatif pada penelitian ini berupa etanol, diklorometana dan n-heksan tidak memiliki aktivitas antibakteri sehingga tidak mempengaruhi hasil uji aktivitas antibakteri pada fraksi daun kakao. Kontrol positif pada penelitian ini yaitu kloramfenikol. Hasil zona hambat kontrol positif pada fraksi etanol, diklorometana dan n-heksan memiliki nilai rata-rata 27, 33 ± 0,577, 30, 67 ± 0,577 dan 30, 33 ± 0,577. Hal ini menunjukkan bahwa kontrol positif memiliki aktivitas antibakteri kategori sangat kuat, sehingga mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus*

aureus ATCC 25923 dengan baik. Diameter zona hambat fraksi daun kakao ditunjukkan Tabel 2.

Tabel 2. Zona Hambat Fraksi Daun Kakao

Sampel	Konsentrasi	Diameter zona hambat (mm)
Fraksi etanol	10%	12,67 ± 0,577
	20%	15,00 ± 1,000
	30%	17,33 ± 0,577
Fraksi diklorometana	10%	6,67 ± 0,577
	20%	8,67 ± 0,577
	30%	9,67 ± 0,577
Fraksi n-heksan	10%	0,00 ± 0,000
	20%	0,00 ± 0,000
	30%	0,00 ± 0,000

Berdasarkan Tabel 2 dapat diketahui bahwa fraksi etanol dan fraksi diklorometana memiliki zona hambat terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 jika dibandingkan dengan fraksi n-heksan. Hal ini disebabkan karena fraksi etanol dan diklorometana mengandung senyawa flavonoid, saponin dan tanin.

Mekanisme senyawa flavonoid sebagai antibakteri yaitu dengan merusak membran sitoplasma karena senyawa tersebut dapat menyebabkan bocornya metabolit penting dan mengaktifkan sistem enzim bakteri. Kerusakan membran dapat menyebabkan nukleotida dan asam amino keluar dan mencegah bahan-bahan aktif masuk ke dalam sel sehingga menyebabkan kematian bakteri [12].

Saponin dapat digunakan sebagai antibakteri dengan cara menurunkan tegangan permukaan dinding sel pada bakteri [6]. Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri yaitu tanin menyebabkan dinding sel bakteri menjadi lisis, sehingga pembentukan dinding sel bakteri menjadi terhambat dan menyebabkan sel bakteri mati [11].

■ Kesimpulan

Penelitian ini menunjukkan bahwa fraksi etanol dan fraksi diklorometana memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan adanya zona hambat di sekitar kertas cakram, sedangkan untuk fraksi n-

heksan tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

■ Daftar Pustaka

- [1] Afifurrahman A, Samadin K, Aziz S. Pola Kepekaan Bakteri *Staphylococcus Aureus* terhadap Antibiotik Vancomycin di RSUP Dr. Mohammad Hoesin Palembang. *Majalah Kedokteran Sriwijaya*. 2014;46(4):266–70.
- [2] Direktorat Jenderal Perkebunan. *Statistik Perkebunan Indonesia-Kakao*. 2007;(2007)
- [3] Depkes RI. *Materi Medika Indonesia*. Jilid V. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 1989.
- [4] Fauzi AD. *Panduan Lengkap Manfaat Tanaman Obat*. Jakarta: Edsa Mahkota; 2008.
- [5] Harborne JB. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Kedua. Bandung: ITB; 2006.
- [6] Hassan SM. *Antimicrobial Activities of Saponin-Rich Guae Meal Extract Poultry Science*. A & M University; 2008.
- [7] Insanu M, Ruslan K, Fidrianny I, Wijaya S. Isolasi Flavonoid dari Daun Durian (*Durio Zibethinus Murr., Bombacaceae*). *Acta Pharml Indonesia*. 2011;36(1 & 2):6–10.
- [8] Jawetz, E. Melnick, J.L dan Adelberg E. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: EGC; 2005.
- [9] Kusumowati ITD, Melannisa R, Prasetyawan A. Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Senggani (*Melastoma affine* D. Don). *Biomedika*. 2014;6(2):22–5.
- [10] Latifah. *Identifikasi Golongan Senyawa Flavonoid dan Uji Aktivitas Antioksidan pada Ekstrak Rimpang Kencur (*Kaempferia galanga* L.) dengan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil)*. UIN Maulana Malik Ibrahim Malang; 2015.
- [11] Ngajow M, Abidjulu J, Kamu VS. Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara *In vitro*. *Jurnal MIPA*. 2013;2(2):128.
- [12] Prajitno A. Uji Sensitifitas Flavonoid Rumput Laut (*Eucheuma Cottoni*) sebagai Bioaktif Alami terhadap Bakteri *Vibrio Harveyi*. *Jurnal Protein*. 2007;15(2):66–71.

- [13] Singh N, Datta S, Dey A, Chowdhury AR, Abraham J. Antimicrobial activity and cytotoxicity of *Theobroma cacao* extracts. *Der Pharmacia Lettre*. 2015;7(7):287–94.
- [14] Susanty, Bachdim F. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Refluks terhadap Kadar Fenolik dari Ekstrak Tongkol Jagung (*Zea mays* L.) (Susanty, Fairus Bachmid). *Konversi*. 2012;5(2):87–93.