

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN BIOAUTOGRAFI FRAKSI
METANOL-AIR EKSTRAK ETANOL KULIT BUAH KAKAO
(*Theobroma cacao* L.) TERHADAP *Streptococcus mutans*
DAN *Bacillus subtilis***

NASKAH PUBLIKASI



Oleh :

**LUSI HANDAYANI
K 100 090 108**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
SURAKARTA
2013**

PENGESAHAN NASKAH PUBLIKASI

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN BIOAUTOGRAFI FRAKSI
METANOL-AIR EKSTRAK ETANOL KULIT BUAH KAKAO
(*Theobroma cacao* L.) TERHADAP *Streptococcus mutans*
DAN *Bacillus subtilis***

Oleh :

LUSI HANDAYANI

K 100 090 108

Telah disetujui dan disahkan pada :

Hari : SENIN

Tanggal : 4 MARET 2013

Mengetahui,

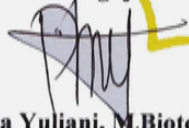
Fakultas Farmasi

Universitas Muhammadiyah Surakarta

Dekan,


Dr. Muhammad Da'i, M.Si., Apt.

Penguji I



Ratna Yuliani, M.Biotech., St.

Penguji II



Ika Trisharyanti DK, M.Farm., Apt

Pembimbing Utama



Peni Indrayudha, M.Biotech., Apt

Pembimbing Pendamping



Rima Munawaroh, M.Sc., Apt.

Mahasiswa



Lusi Handayani

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN BIOAUTOGRAFI FRAKSI
METANOL-AIR EKSTRAK ETANOL KULIT BUAH KAKAO
(*Theobroma cacao* L.) TERHADAP *Streptococcus mutans*
DAN *Bacillus subtilis***

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY AND BIOAUTOGRAPHY OF
METHANOL-WATER FRACTION OF ETHANOL EXTRACT OF
COCOA POD HUSK (*Theobroma cacao* L.) AGAINST *Streptococcus mutans*
DAN *Bacillus subtilis***

**Lusi Handayani, Peni Indrayudha, dan Rima Munawaroh
Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta
Jalan Ahmad Yani, Tromol Pos I, Pabelan Kartasura, Surakarta 57102**

ABSTRAK

Kakao (*Theobroma cacao* L.) memiliki kandungan fenolik seperti asam sinamat, tanin, pirogalol, epikatekin-3-galat, kuersetin dan resorsinol. Kakao kaya polifenol yang bermanfaat untuk antioksidan, antibakteri, antikarsinogenik, dan antiinflamasi. Polifenol bersifat polar sehingga dapat tersari oleh penyari polar seperti metanol : air. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri fraksi metanol-air ekstrak etanol kulit buah kakao dan golongan senyawa yang bertanggung jawab sebagai antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* dan *Bacillus subtilis*.

Kulit buah kakao diekstraksi dengan etanol 96% hingga diperoleh ekstrak kental etanol. Ekstrak dilarutkan dalam metanol : air (1:1 v/v) kemudian difraksinasi dengan partisi cair-cair menggunakan n-heksan, etil asetat, dan metanol-air. Fraksi metanol-air diuji aktivitas antibakteri dengan metode difusi Kirby Bauer dengan parameter diameter zona hambat. Kandungan senyawa diuji dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT), fase diam silika gel GF 254 dan fase gerak etil asetat : metanol : air (3:5:2 v/v/v). Uji bioautografi dilakukan dengan metode bioautografi kontak.

Hasil penelitian menunjukkan fraksi metanol-air ekstrak etanol kulit buah kakao memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* dan *Bacillus subtilis* dengan zona hambat terbesar berturut-turut $10 \pm 0,5$ mm dan $11,25 \pm 0,0$ mm pada konsentrasi 3 mg/disk. Berdasarkan hasil KLT dan bioautografi, golongan senyawa yang bertanggung jawab sebagai antibakteri adalah senyawa golongan fenolik yaitu tanin.

Kata kunci: *Theobroma cacao* L., antibakteri, fraksi metanol-air, *Streptococcus mutans*, *Bacillus subtilis*, bioautografi

ABSTRACT

Cocoa (*Theobroma cacao* L.) contains phenolic such as cinnamic acid, tannins, pirogalol, epicatechin-3-gallate, quersetin and resorcinol. Polyphenol of

cocoa is beneficial for the antioxidant, antibacterial, anticarcinogenic, and anti-inflammatory. Polyphenols are polar so it can be extracted by polar solvents such as methanol : water. This study aims to determine the antibacterial activity of ethanol extract methanol-water fraction of cocoa pods husk and the compound that responsible for the antibacterial against *Streptococcus mutans* and *Bacillus subtilis*.

Cocoa pod husk extracted with 96% ethanol to obtain ethanol extract. Extracts was dillution in methanol : water (1:1 v/v) then fractionated by liquid-liquid partition using *n*-hexane, ethyl asetate, and methanol-water . Methanol-water fractions antibacterial activity assay done by Kirby Bauer disk diffusion method with the parameters of inhibition zone diameter. Compounds were assay by Thin-Layer Chromatography (TLC), the stationary phase silica gel GF 254 and ethyl acetate : methanol : water (3:5:2 v/v/v) as mobile phase. Then assay done by the method bioautography contact.

The results showed a methanol-water fraction of ethanol extract of cocoa pods husk have antibacterial activity against *Streptococcus mutans* and *Bacillus subtilis* with the largest inhibition zone successive $10 \pm 0,5$ mm and $11.25 \pm 0,0$ mm at a concentration of 3 mg/disc. Based on the results of TLC and bioautography, the compound which responsible for the antibacterial activity were phenolic compounds that are tannins.

Key word : *Theobroma cacao* L., antibacterial, methanol-water fraction, *Streptococcus mutans*, *Bacillus subtilis*, bioautography

PENDAHULUAN

Penggunaan antibiotik yang tinggi akan meningkatkan tekanan selektif proses evolusi dan proliferasi strain mikroorganisme yang bersifat resisten. Mikroorganisme patogen yang resisten terhadap antibiotik sangat sulit dieliminasi selama proses infeksi, dan infeksi oleh beberapa strain bakteri dapat berakibat kematian (Pratiwi, 2008). Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk mencari alternatif antibakteri baru yang berasal dari bahan alami dari tumbuhan, salah satunya adalah tumbuhan kakao. Kakao (*Theobroma cacao* L.) berasal dari hutan tropis di Amerika tengah dan di bagian utara Amerika Selatan. Kakao kaya kandungan polifenol. Menurut Ferrazzano (2009) polifenol utama kakao adalah katekin : (+)-katekin dan (+)-epigalokatekin, polimer sianidin, 3-a-L-arabinosida, 3-BD-galaktosida sianidin. Kulit buah kakao kaya fenolat seperti tanin, pirogalol, asam sinamat, epikatekin-3-galat, kuersetin, dan resorsinol (Fapohunda & Afolayan, 2012). Kandungan polifenol kakao bermanfaat sebagai antioksidan, antikarsinogenik, antiinflamasi, dan antimikroba (Hii *et al.*, 2009).

Aktivitas antibakteri ekstrak metanol kulit buah kakao dapat menghambat pertumbuhan *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumonia* ATCC 13047, dan *Bacillus subtilis* (Fapohunda dan Afolayan, 2012). Polifenol yang terkandung dalam kakao dapat mencegah proses pembentukan karies karena aksi antibakterinya, secara signifikan dapat mengurangi pembentukan biofilm dan produksi asam oleh *Streptococcus mutans* (Ferrazzano *et al.*, 2009).

Menurut penelitian Sartini dkk. (2011) ekstrak etanol kulit buah kakao kering memiliki aktivitas antibakteri pada konsentrasi ekstrak 0,25 mg/disk, 0,5 mg/disk, dan 1 mg/disk terhadap *Streptococcus mutans* dengan menunjukkan adanya zona hambat. Menurut Pasiga (2007) ekstrak etanol kulit buah kakao yang memiliki aktivitas antibakteri terbesar terhadap *Streptococcus mutans* dengan diameter zona hambat 14,89 mm. *Streptococcus mutans* menyebabkan karies gigi pada manusia (Srikanth *et al.*, 2008) sedangkan *Bacillus subtilis* menyebabkan bakteremia dan septikemia pada pasien dengan kekebalan tubuh rendah (Samiullah dan Bano, 2011).

Menurut Sartini dkk. (2011) pelarut etanol : air (7:3) merupakan penyari yang optimal untuk mengekstraksi komponen antibakteri dari kulit buah kakao kering. Kandungan utama kakao adalah polifenol. Polifenol bersifat polar (Evans, 2002). Berdasarkan kelarutannya polifenol dapat larut dalam pelarut polar seperti metanol : air sehingga dimungkinkan aktivitas antibakteri kulit buah kakao paling besar pada fraksi metanol-air.

Berdasarkan penelitian tersebut tanaman kakao terbukti mengandung senyawa bioaktif yang dapat dimanfaatkan, akan tetapi fraksi yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antibakteri dalam ekstrak etanol kulit buah kakao belum diketahui. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui lebih lanjut tentang aktivitas antibakteri fraksi metanol-air ekstrak etanol kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap *Streptococcus mutans* dan *Bacillus subtilis*.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat gelas, bejana kaca untuk maserasi, penangas air, blender, ayakan, batang pengaduk, alat timbang (Precisa[®]), *vaccum rotary evaporator* (Heidolph E-HB[®]), *shaker incubator* (Excella 24[®]), cawan Petri, lampu spiritus, tabung reaksi, rak tabung reaksi, ose bulat steril, ose lurus steril, mikropipet, inkubator (MEMMERT[®]), LAF (Astari Niagara International[®]) *yellow tips*, *blue tips*, alat-alat gelas steril, *spreader glass*, oven (MEMMERT[®]), autoklaf, vortex (Thermolyne corporation[®]), pipa kapiler, plat silika gel GF 254, bejana kromatografi, lampu UV 254 nm dan UV 366 nm, alat penyemprot, dan pinset.

Bahan

Bahan yang digunakan yaitu kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) yang diambil dari daerah Kartasura, Kabupaten Sukoharjo. Bakteri *Streptococcus mutans* dan *Bacillus subtilis* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan UGM. Ekstraksi dengan etanol teknis 96%, fraksinasi dengan n-heksan, etil asetat, metanol, dan akuades, media Mueller Hilton (Oxoid[®]), media Nutrient Agar (Oxoid[®]), media *Brain Heart Infusion* (Oxoid[®]), akuades steril, DMSO (Merck[®]), NaCl (Merck[®]), disk kloramfenikol (Oxoid[®]), *disc blank* (Oxoid[®]), alkohol 70%, silika gel GF 254, etil asetat, metanol, air, pereaksi semprot FeCl₃, sitroborat, dan Liebermann Burchard.

Jalannya Penelitian

A. Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta. Buku acuan untuk determinasi adalah *Flora of Java* karangan Backer dan Van den Brink (1965).

B. Ekstraksi dan Fraksinasi

Serbuk simplisia kering kulit buah kakao 1 kg dimaserasi dengan 7,5 L etanol 96% dalam bejana maserator selama 3 hari sambil sesekali diaduk. Hasil maserasi kemudian disaring menggunakan kain flanel bersih hingga diperoleh

filtrat ekstrak etanol dan ampas. Filtrat dipekatkan dengan *vaccum rotary evaporator* dan penangas air sehingga diperoleh ekstrak kental.

Fraksinasi ekstrak etanol kulit buah kakao dengan partisi cair-cair. Tiap 5 gram ekstrak kental diencerkan dengan 25 mL metanol:air (1:1 v/v), diaduk sampai homogen, ditambahkan penyari n-heksan sama banyak (1:1 v/v) dalam corong pisah, dikocok kemudian didiamkan hingga terbentuk dua lapisan. Fraksi n-heksan dipisahkan sedangkan fraksi metanol-air difraksinasi kembali dengan etil asetat (1:1 v/v). Fraksi etil asetat dan fraksi metanol-air kemudian dipisahkan. Fraksinasi dilakukan hingga diperoleh fraksi jernih. Masing-masing fraksi dipekatkan dengan *vaccum rotary evaporator* sampai diperoleh fraksi yang kental. Pada penelitian ini digunakan fraksi metanol-air. Fraksi kental tersebut selanjutnya digunakan untuk uji aktivitas antibakteri.

C. Uji Aktivitas Antibakteri

Fraksi metanol-air ekstrak etanol kulit buah kakao ditimbang masing-masing 100 mg, 150 mg, 200 mg, 250 mg, dan 300 mg kemudian ditambahkan DMSO hingga 1 mL sehingga diperoleh seri konsentrasi 10%, 15%, 20%, 25% dan 30%. Masing-masing larutan uji dipipet 10 μ L dan diteteskan ke *paper disc*. Kontrol yang digunakan adalah kloramfenikol sebagai kontrol positif dan DMSO sebagai kontrol negatif. Disk diletakkan pada 20 mL media MH yang telah ditanami bakteri sebanyak 200 μ L dengan jarak terpisah untuk meminimalkan terjadinya tumpang tindih zona hambat. Kemudian diinkubasi pada 37°C selama 18-24 jam.

D. Kromatografi Lapis Tipis

Fraksi metanol-air ekstrak etanol kulit buah kakao dilarutkan pada pelarut metanol : air (8:2 v/v). Larutan sampel ditotolkan 2 μ L pada silika gel GF 254 kemudian dielusi dengan fase gerak etil asetat : metanol : air (3:5:2 v/v/v). Setelah elusi lempeng dikeringkan dan diangin-anginkan kemudian diamati dibawah sinar UV 254 nm dan 366 nm. Deteksi dengan reagen semprot sitroborat untuk flavonoid, FeCl₃ untuk tanin, dan Liebermann Burchard untuk saponin (Wagner dan Bladt, 1996).

E. Bioautografi

Bioautografi digunakan untuk mendeteksi kandungan senyawa aktif yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Plat KLT yang telah dielusi dianginkan dan diletakkan selama 20 menit pada permukaan media MH yang telah diinokulasi dengan 200 μ L bakteri *Streptococcus mutans* dan *Bacillus subtilis*. Plat diangkat dan selanjutnya media diinkubasi pada 37⁰ C selama 18-24 jam.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Ekstraksi dan Fraksinasi

Kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) diambil dari daerah Kartasura, Kabupaten Sukoharjo. Hasil determinasi menunjukkan tanaman yang digunakan adalah *Theobroma cacao* L. (kakao). Ekstraksi kulit buah kakao dengan metode maserasi menggunakan penyari etanol 96% diperoleh ekstrak 48,3 g (rendemen 4,83%). Fraksinasi ekstrak etanol kulit buah kakao menggunakan partisi cair-cair diperoleh fraksi metanol-air sebanyak 2,43 gram (rendemen 1,173 %).

B. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dan *Bacillus subtilis* dengan metode Kirby Bauer menggunakan disk dengan parameter berdasarkan adanya diameter zona hambat di sekitar disk yang berisi antibakteri. Zona hambatan berupa area jernih yang menunjukkan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antibakteri pada permukaan media agar. Semakin luas diameter zona hambat makin besar efektivitas sebagai antibakteri. Uji aktivitas antibakteri menggunakan fraksi metanol-air ekstrak etanol kulit buah kakao dengan seri konsentrasi 1 mg/disk, 1,5 mg/disk, 2 mg/disk, 2,5 mg/disk, dan 3 mg/disk. Antibiotik kloramfenikol 30 μ g sebagai kontrol positif sedangkan DMSO sebagai kontrol negatif. Hasil uji pendahuluan menunjukkan DMSO 100% tidak memiliki aktivitas penghambatan terhadap bakteri uji. Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi metanol-air ekstrak etanol kulit buah kakao terhadap *S. mutans* dan *B. subtilis* mampu menghasilkan diameter zona hambat. Aktivitas antibakteri terbesar fraksi metanol-air terhadap *S. mutans*

dan *B. subtilis* dengan diameter zona hambat berturut-turut $10\pm0,5$ mm dan $11,25\pm0,0$ mm pada konsentrasi 3 mg/disk.

Semakin besar konsentrasi fraksi metanol-air, maka makin besar aktivitas antibakterinya (Tabel 1). Hal ini disebabkan karena kuantitas senyawa aktif makin besar sehingga kemampuan fraksi metanol-air dalam menghambat bakteri juga semakin besar.

Tabel 1. Hasil uji aktivitas terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dan *Bacillus subtilis*

Konsentrasi	Diameter Zona Hambat (mm)	
	<i>Streptococcus mutans</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
1 mg/disk	$9\pm1,73^*$	$9\pm0,0$
1,5 mg/disk	$8,3\pm0,80$	$10\pm0,0$
2 mg/disk	$8,58\pm0,38$	$10,58\pm0,38$
2,5 mg/disk	$9,5\pm0,5$	$11\pm0,0$
3 mg/disk	$10\pm0,5$	$11,25\pm0,0$
Kloramfenikol 30 μ g (K+)	$13,08\pm2,09$	$16,42\pm0,80$
DMSO 100% (K-)	$6\pm0,0$	$6\pm0,0$

*zona irradikal

**diameter zona hambat termasuk diameter disk 6 mm

Diameter zona hambat fraksi metanol-air dibandingkan zona hambat kontrol positif (kloramfenikol) dan kontrol negatif (DMSO). Diameter zona hambat kloramfenikol terhadap *Streptococcus mutans* adalah $13,08\pm2,09$ mm dan terhadap *Bacillus subtilis* yaitu $16,42\pm0,8$ mm. Bila dibandingkan dengan kontrol positif, maka zona hambat fraksi metanol-air ekstrak etanol kulit buah kakao terhadap *S. mutans* dan *B. subtilis* lebih kecil. Akan tetapi fraksi metanol-air memiliki potensi sebagai antibakteri karena mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. mutans* dan *B. subtilis* yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat radikal di sekitar disk.

Hasil penelitian aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70% kulit buah kakao lebih poten bila dibandingkan dengan fraksi metanol-air pada konsentrasi yang sama yaitu 1 mg/disk. Penelitian Sartini dkk. (2011) menyebutkan ekstrak etanol kulit buah kakao kering mampu menghambat pertumbuhan *S. mutans* pada konsentrasi 1 mg/disk dengan diameter zona hambat 8,95 mm. Sedangkan fraksi metanol-air pada konsentrasi 1 mg/disk menghasilkan diameter zona hambat lebih besar yaitu $9\pm1,73$ mm akan tetapi bersifat irradikal. Bila dibandingkan dengan penelitian Burhanudin (2013) pada konsentrasi 1 mg/disk ekstrak etanol 96%

lebih poten dibandingkan fraksi metanol-air kulit buah kakao. Fraksi metanol-air menghasilkan zona hambat irradikal dengan diameter $9, \pm 173$ mm. Sedangkan ekstrak etanol 96% kulit buah kakao menghasilkan diameter zona hambat radikal $7,42 \pm 0,38$ mm. Menurut Fapohunda dan Afolayan (2012) ekstrak metanol kulit buah kakao mampu menghambat pertumbuhan *Bacillus subtilis* pada konsentrasi 5 mg/mL dengan diameter zona hambat 5 mm. Hasil penelitian tersebut menunjukkan efektivitas antibakteri yang berbeda-beda. Hal tersebut karena adanya faktor-faktor yang mempengaruhi aktivitas antibakteri antara lain asal tanaman, penyari yang digunakan, stabilitas zat aktif, besarnya inokulum, masa inkubasi, dan aktivitas metabolik bakteri.

C. Uji Identifikasi Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi Lapis Tipis digunakan untuk mengetahui kandungan senyawa dalam fraksi metanol-air ekstrak etanol kulit buah kakao. Hasil KLT dilihat dengan sinar UV 254 nm dan UV 366 nm. Hasil deteksi dengan reagen semprot sitroborat tidak menghasilkan fluoresensi hijau kekuningan pada UV 366 nm menunjukkan tidak mengandung flavonoid. Deteksi dengan reagen semprot Liebermann Burchard tidak menunjukkan warna merah pada sinar tampak. Hasil deteksi dengan FeCl_3 terbentuk warna hijau kehitaman yang kuat. Hal tersebut menunjukkan fraksi metanol-air mengandung senyawa fenolik yaitu tanin. Terbentuknya warna hijau kehitaman setelah ditambahkan dengan FeCl_3 karena tanin akan membentuk senyawa kompleks dengan ion Fe^{3+} (Sa'adah, 2010).

Tabel 2. Hasil identifikasi kromatografi lapis tipis fraksi metanol-air ekstrak etanol kulit buah kakao.

UV 254	UV366	Sitroborat	LB	FeCl_3	Senyawa
		UV 366	Vis	Vis	
Pemadaman	Fluoresensi biru	Fluoresensi biru	Coklat	Hitam	Tanin

Keterangan:

LB : Liebermann Burcard

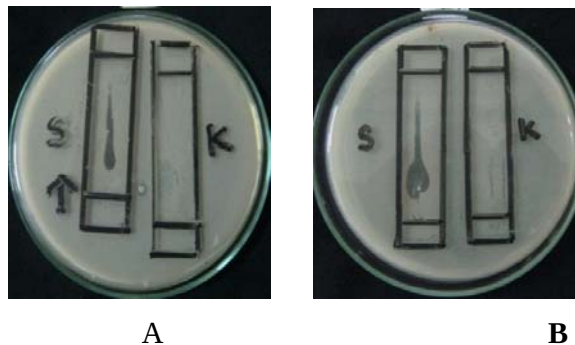
Senyawa-senyawa yang telah dilaporkan terkandung dalam kakao adalah polifenol utama yaitu katekin : (+)-katekin dan (+)-epigallocatekin, polimer sianidin, 3-a-L-arabinosida, 3-BD-galaktosida sianidin (Ferrazzano, 2009) yang merupakan senyawa penyusun tanin. Kulit buah kakao kaya fenolat seperti tanin,

pirogalol, asam sinamat, epikatekin-3-galat, kuersetin, dan resorsinol (Fapohunda & Afolayan, 2012).

D. Hasil Bioautografi

Bioautografi adalah metode spesifik untuk menentukan senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri dengan deteksi menggunakan plat KLT (Pratiwi, 2008). Metode bioautografi yang digunakan adalah bioatografi kontak dimana senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri dipindahkan dari lempeng KLT ke medium melalui difusi.

Hasil uji bioautografi terhadap *Streptococcus mutans* dan *Bacillus subtilis* didapatkan zona jernih. Berdasarkan hasil analisis KLT bercak senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri adalah fenolik tanin. Tanin memiliki aktivitas antibakteri (Tiwari *et al.*, 2011). Tanin merupakan salah satu senyawa golongan polifenol. Mekanisme antibakteri tanin antara lain melalui reaksi dengan membran sel, menginhibisi enzim, destruksi membran, dan membentuk kompleks dengan dinding sel (Cowan, 1999). Menurut Akiyama *et. al.*, (2001) tanin mampu merusak membran sel bakteri, tanin bersifat astringent yang dapat menginduksi pembentukan senyawa ikatan terhadap enzim atau substrat mikroba.



Gambar 1. Hasil Bioautografi Fraksi Polar Ekstrak Etanol Kulit Buah Kakao terhadap *Streptococcus mutans* (A) dan *Bacillus subtilis* (B).

Penelitian Pasiga (2007) menunjukkan hasil bioautografi menghasilkan 3 zona jernih pada hRf 21, 27 dan 30. Hasil identifikasi memperlihatkan senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri adalah flavanol. Flavanol merupakan komponen penyusun tanin (Hangerman, 1998). Berdasarkan penelitian tersebut menunjukkan adanya kesamaan senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri yaitu kelompok senyawa fenolik.

KESIMPULAN

Fraksi metanol-air ekstrak etanol kulit buah kakao memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* dan *Bacillus subtilis*. Diameter zona hambat rata-rata yang dihasilkan terhadap *Streptococcus mutans* pada konsentrasi 1 mg/disk ($9\pm1,73$ mm), 1,5 mg/disk ($8,3\pm0,80$ mm), 2 mg/disk ($8,58\pm0,38$ mm), 2,5 mg/disk ($9,5\pm0,5$ mm) dan 3 mg/disk ($10\pm0,5$ mm). Sedangkan diameter zona hambat terhadap *Bacillus subtilis* pada konsentrasi 1 mg/disk (9 ± 0 mm), 1,5 mg/disk (10 ± 0 mm), 2 mg/disk ($10,58\pm0,38$ mm), 2,5 mg/disk (11 ± 0 mm) dan 3 mg/disk ($11,25\pm0$ mm).

Golongan senyawa dari fraksi metanol-air ekstrak etanol kulit buah kakao yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* dan *Bacillus subtilis* adalah senyawa golongan fenolik yaitu tanin.

SARAN

Perlu dilakukan pemilihan fase gerak dan fase diam yang sesuai untuk memisahkan senyawa yang terdapat pada fraksi metanol-air ekstrak etanol kulit buah kakao untuk memisahkan senyawa yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antibakteri sehingga dapat diidentifikasi lebih lanjut.

DAFTAR PUSTAKA

- Akiyama, Hisanori, Fujii, K., Yamasaki, O., Oono, T., & Iwatsuki, K., 2001, Antibacterial Action of Several Tannins Against *Staphylococcus aureus*, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48, 487-491.
- Cowan, M. M., 1999, Plant Products as Antimicrobial Agents, *Clinical Microbiology Reviews*, 12 (4), 564-582.
- Evans, W. C., 2002, *Pharmacognosy* 15th edition, 50, London , W.B. Saunders.
- Fapohunda, S.O. & Afolayan, I., 2012, Fermentation of Cocoa Beans and Antimicrobial Potentials of The Pod Husk Phytochemicals, *J Phys Pharm Adv*, 2 (3), 158-262.
- Ferrazzano, G.F., Amato, I., Ingenito, A., De Natale, A., & Pollio, A., 2009, Anti-Cariogenic Effect of Polyphenols From Plant Stimulant Beverages (Cocoa, Coffe, Tea), *Fitoterapia*, 80, 255-262.

- Hii, C.L., Law, C.L., Suzannah, S., Misnawi & M. Cloke, 2009, Polyphenol in Cacao (*Theobroma cacao* L.), *Asian Journal of Food And Agro-Industry*, 2 (04), 702-722.
- Pasiga, 2007, Efikasi Klinik Obat Kumur Yang Mengandung Limbah Kulit buah Kakao, *Laporan penelitian*, (<http://pustaka2.ristek.go.id/katalog/indeks.php/searchkatalog/byId/52139>, diakses tanggal 28 Maret 2012).
- Pratiwi, S.T., 2008, *Mikrobiologi Farmasi*, 191-192, Erlangga, Jakarta.
- Sa'adah, L., 2010, Isolasi dan Identifikasi Senyawa Tanin dari Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.), *Skripsi*, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN, Malang.
- Samiullah & Bano A., 2011, In Vitro Inhibition Potential of Four Chenopod Halophytes Against Microbial Growth, *Pak. J. Bot.*, 43, 123-127.
- Sartini, Djide, M.N., & Alam, G., 2011, Ekstraksi Komponen Bioaktif Dari Limbah Kulit Buah Kakao dan Pengaruhnya terhadap Aktivitas Antioksidan Dan Antimikroba (online), *MOT*, 16, (diakses tanggal 13 Januari 2012).
- Srikanth, R.K., Shashikinan, N.D., & Subba, R.V.V., 2008, Chocolate mouth rinse : Effect on plaque accumulation abd mutans Streptococci When Used by Children, *Journal Indian Soc Pedod Prevent Dent*, 26 (2), 67-70.
- Tiwari, Prashant, Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., & Kaur, H., 2011, Phytochemical Screening and Extraction : A Review, *Internationale Pharmaceutica Siencia*, 1 (1), 98-106.
- Wagner, H. & Bladt, S., 1996, *Plant Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas*, Second Ed., 350, Springer, New York.