

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang Masalah**

Tanaman kakao berasal dari hutan–hutan tropis di Amerika Selatan dan bagian utara Amerika Selatan. Kakao di Indonesia diperkenalkan oleh bangsa Spanyol yakni pada tahun 1560 tepatnya di Minahasa. Indonesia merupakan pembudidaya tanaman kakao paling luas dan termasuk penghasil kakao terbesar ketiga setelah Ivory Coast dan Ghana (Wahyudi *et al.*, 2008). Biji kakao pertama kali digunakan pada masa peradaban kuno suku Maya dan Aztec di Amerika Selatan untuk mengobati beberapa penyakit yang melibatkan sistem kardiovaskuler, gastrointestinal, dan sistem saraf (Abbey *et al.*, 2008).

Menurut Panganiban *et al.* (2012) daun dan bunga kakao berkhasiat sebagai antiseptik, antidiuretik, ekbolik (meningkatkan rangsangan kontraksi uterus), dan *emmenagogue* (meningkatkan aliran darah haid). Biji kakao berpotensi sebagai bahan antioksidan alami, seperti: mempunyai kemampuan untuk memodulasi sistem imun, efek kemopreventif untuk pencegahan penyakit kanker dan jantung koroner (Sartini *et al.*, 2011). Buah kakao berkhasiat sebagai antikanker, antioksidan, dan antibakteri (Marsaban, 2007).

Biji kakao mengandung senyawa-senyawa fenolik, antara lain: katekin, epikatekin, protoantosianidin, asam fenolat, tanin, dan flavonoid lainnya (Othman *et al.*, 2007). Selain menghasilkan biji, tanaman ini juga menghasilkan produk ikutan berupa kulit buah kakao yang belum banyak dimanfaatkan hanya sebagai limbah (Sartini *et al.*, 2011). Kulit buah kakao kaya akan senyawa fenolik, seperti asam sinamat, tanin, pirogalol, epikatekin-3-galat, kuersetin, dan resinol (Fapohunda & Alofayan, 2012). Ada tiga komponen utama polifenol pada kakao, yakni katekin (37%), antosianin (4%), dan proantosianidin (58%) (Hii *et al.*, 2009). Kandungan polifenol yang terdapat dalam biji kakao kemungkinan sama kandungan polifenolnya pada kulit buah kakao, sehingga diperkirakan dapat memberikan khasiat yang sama.

Sartini *et al.* (2011) membuktikan bahwa ekstrak aseton 70% dari sampel kulit buah segar menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans*. Polifenol pada kakao dapat mengurangi pembentukan biofilm dan produksi asam pada *Streptococcus mutans* (Ferrazzano *et al.*, 2009). *Streptococcus mutans* merupakan flora normal mulut yang pada kondisi tertentu dapat bersifat patogenik dan dapat menyebabkan infeksi pada bagian mulut, jantung, sendi, kulit, otot, dan sistem saraf pusat (Forssten *et al.*, 2010). Fapohunda & Afolayan (2012) membuktikan bahwa ekstrak metanol kulit buah kakao mampu menghambat pertumbuhan *Bacillus subtilis*. Komponen terbesar pada kulit buah kakao adalah fenol. Menurut Tiwari *et al.* (2011) fenol dapat tersari pada pelarut metanol maupun aseton. *Bacillus subtilis* dapat menyebabkan keracunan pada makanan karena memproduksi enzim subtilisin yang biasanya ditandai dengan terbentuknya lendir pada makanan (Sundaram *et al.*, 2011).

Pada penelitian ini dilakukan ekstraksi dengan pelarut aseton untuk membandingkan aktivitas antibakteri pada ekstrak aseton dengan ekstrak aseton 70%. Fraksinasi dilakukan dengan menggunakan etil asetat untuk mengetahui golongan senyawa yang terlarut dalam pelarut etil asetat yang mempunyai aktivitas antibakteri. Penelitian Pasiga (2007) menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat kulit buah kakao memberikan zona daya hambat terhadap *Streptococcus mutans*.

Berdasarkan hasil penelitian-penelitian tersebut, menarik bila dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari fraksi etil asetat ekstrak aseton kulit buah kakao terhadap *Streptococcus mutans* dan *Bacillus subtilis* sehingga kulit buah kakao tidak hanya sebagai limbah.

## **B. Perumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang yang telah dikemukakan, maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

1. Apakah fraksi etil asetat ekstrak aseton kulit buah kakao memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* dan *Bacillus subtilis*?

2. Golongan senyawa apa yang terkandung dalam fraksi etil asetat ekstrak aseton kulit buah kakao yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* dan *Bacillus subtilis*?

### C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Menentukan aktivitas antibakteri dari fraksi etil asetat ekstrak aseton kulit buah kakao terhadap *Streptococcus mutans* dan *Bacillus subtilis* dengan metode difusi.
2. Menentukan golongan senyawa yang terkandung dalam fraksi etil asetat ekstrak aseton kulit buah kakao yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* dan *Bacillus subtilis* dengan metode bioautografi.

### D. Tinjauan Pustaka

#### 1. Tanaman Kakao (*Theobroma cacao* L.)



<http://eol.org/pages/484592/overview>

**Gambar 1. *Theobroma cacao* L.**

##### a. Klasifikasi tanaman kakao

Klasifikasi tanaman kakao yang digunakan dalam penelitian ini sebagai berikut :

Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Anak kelas	: Dilleniidae
Bangsa	: Malvales

Suku : Sterculiaceae  
Jenis : *Theobroma cacao* L. (Despal, 2005)

b. Khasiat

Daun berkhasiat sebagai antioksidan (Osman *et al.*, 2004). Daun dan bunga kakao berkhasiat sebagai antiseptik, antidiuretik, ekbolik (meningkatkan rangsangan kontraksi uterus), dan *emmenagogue* (meningkatkan aliran darah haid) (Panganiban *et al.*, 2012). Biji kakao berpotensi sebagai bahan antioksidan alami (Othman *et al.*, 2007). Buah sebagai antikanker dan mengurangi pembentukan plak gigi (Marshaban, 2007). Kulit buah sebagai antioksidan dan antimikroba (Sartini *et al.*, 2011).

c. Kandungan kimia

Biji kakao mengandung senyawa-senyawa fenolik, antara lain: katekin, epikatekin, protoantosianidin, asam fenolat, tanin dan flavonoid lainnya (Othman *et al.*, 2007). Kulit buah kakao kaya akan senyawa fenolik, seperti asam sinamat, tanin, pirogalol, epikatekin-3-galat, kuersetin, dan resinol (Fapohunda & Alofayan, 2012).

## 2. Maserasi dan Fraksinasi

Maserasi merupakan metode ekstraksi dengan cara merendam bahan di dalam pelarut tanpa melibatkan panas. Cara penyarian dengan maserasi sangat sederhana, namun membutuhkan waktu yang lama (Astuti, 2012). Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyarian maserat yang pertama, dan seterusnya (Simanjuntak, 2008).

Fraksinasi dilakukan dengan menggunakan partisi cair- cair. Dasar dari pemisahan dengan cara partisi adalah perbedaan kelarutan. Syarat yang harus dipenuhi untuk melakukan partisi yaitu digunakan dua pelarut yang tidak saling bercampur. Komponen dalam ekstrak akan terdistribusi dalam pelarut yang digunakan berdasarkan koefisien partisinya (Sarker *et al.*, 2005).

### 3. *Streptococcus mutans*

Klasifikasi *Streptococcus mutans* adalah sebagai berikut:

- Famili : Sterptococcaceae  
 Genus : Streptococcus  
 Spesies : *Streptococcus mutans* (Bergey and Boone, 2009).

*Streptococcus* merupakan bakteri Gram-positif berbentuk bulat, yang mempunyai karakteristik dapat membentuk pasangan atau rantai selama pertumbuhannya (Brooks *et al.*, 2005). *Streptococcus mutans* merupakan mikroba mulut yang membantu eksogen yang bersifat patogen tetapi dalam kondisi tertentu dapat menyebabkan infeksi (Forssten *et al.*, 2010). Infeksi yang disebabkan oleh *Streptococcus mutans* adalah karies gigi (Srikanth *et al.*, 2008).

### 4. *Bacillus subtilis*

Klasifikasi *Bacillus subtilis* adalah sebagai berikut :

- Famili : Basillaceae  
 Genus : Bacillus  
 Spesies : *Bacillus subtilis* (Bergey and Boone, 2009)

Bakteri *Bacillus subtilis* merupakan kelompok bakteri Gram positif yang membentuk endospora (Hatmanti, 2000). *B. subtilis* dapat menyebabkan keracunan pada makanan karena memproduksi enzim subtilisin yang biasanya ditandai dengan terbentuknya lendir pada makanan (Sundaram *et al.*, 2011).

### 5. Antibakteri

Antibakteri adalah senyawa pembasmi bakteri, khususnya bakteri yang merugikan manusia (Setiabudy, 2007). Antibakteri yang ideal menunjukkan toksisitas selektif (Jawetz *et al.*, 2001). Berdasarkan sifat toksisitas selektif, ada antibakteri yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri, dikenal sebagai aktivitas bakteriostatik, dan ada yang bersifat membunuh bakteri, dikenal sebagai aktivitas bakterisid (Setiabudy, 2007).

Mekanisme aksi antibakteri dikelompokkan dalam 4 kelompok utama :

- a. Penghambatan terhadap sintesis dinding sel
- b. Penghambatan terhadap fungsi membrane sel
- c. Penghambatan terhadap sintesis protein

d. Penghambatan terhadap sintesis asam nukleat (Jawetz *et al.*, 2001).

## **6. Metode Difusi Agar**

Metode uji antibakteri yang sering digunakan adalah metode difusi agar (Jawetz *et al.*, 2001). Metode ini menentukan aktivitas agen antimikroba. Piringan yang berisi agen antibakteri diletakkan pada media agar yang telah ditanami bakteri yang akan berdifusi pada media agar tersebut. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antibakteri pada permukaan media agar.

## **7. Bioautografi**

Uji bioautografi merupakan metode spesifik untuk mendeteksi bercak pada kromatogram hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) yang memiliki aktivitas antibakteri, antifungi, dan antivirus, sehingga mendekati metode separasi dengan uji biologis. Keuntungan metode ini adalah sifatnya yang efisien untuk mendeteksi adanya senyawa anti mikroba karena letak bercak dapat ditentukan walaupun berada dalam campuran yang kompleks sehingga memungkinkan untuk mengisolasi senyawa aktif tersebut. Kerugiannya adalah metode ini tidak dapat digunakan untuk menentukan KHM dan KBM. Bioautografi langsung dilakukan dengan menyemprot plat KLT dengan suspensi mikroorganisme ataupun dengan menyentuh plat KLT pada permukaan media agar yang telah ditanami mikroorganisme. Setelah inkubasi pada waktu tertentu, letak senyawa aktif tampak sebagai area jernih dengan latar belakang keruh (Pratiwi, 2008).

## **E. Landasan Teori**

Kulit buah kakao telah dipublikasi berkhasiat sebagai antibakteri (Sartini *et al.*, 2011). Kulit buah kakao mengandung campuran flavonoid yaitu poliflavon glukosid yaitu antosianidin, katekin, leukoantosianidin (Pasiga, 2007). Kulit buah kakao kaya akan senyawa fenolik, seperti asam sinamat, tanin, pirogalol, epikatekin-3-galate, kuersetin, dan resinol (Fapohunda & Alofayan, 2012). Ada tiga komponen utama polifenol pada kakao, yakni katekin (37%), antosianin (4%), dan proantosianidin (58%) (Hii *et al.*, 2009).

Pasiga (2007) membuktikan bahwa konsentrasi hambat minimum ekstrak etil asetat kulit buah kakao sebesar 0,5% terhadap *Streptococcus mutans*. Fapohunda & Afolayan (2012) membuktikan bahwa ekstrak metanol kulit buah kakao mampu menghambat pertumbuhan *Bacillus subtilis* sebesar 5 mm pada konsentrasi 5 mg/mL.

#### **F. Hipotesis**

Fraksi etil asetat ekstrak aseton kulit buah kakao memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* dan *Bacillus subtilis* serta senyawa polifenol yang terkandung dalam fraksi etil asetat ekstrak aseton kulit buah kakao yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* dan *Bacillus subtilis*.