

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Skrining Fitokimia

Tujuan dilakukannya skrining fitokimia agar dapat mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak. Skrining fitokimia bertujuan untuk mengetahui metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak kulit buah coklat (*Theobroma cacao* L.). Pemeriksaan yang dilakukan meliputi golongan senyawa tanin, alkaloid, saponin, dan flavonoid. Hasil uji skrining fitokimia yang dilakukan pada ekstrak kulit coklat ditunjukkan pada tabel di bawah ini:

Tabel 4.1. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Kulit Buah Coklat

No.	Senyawa Metabolit Sekunder	Hasil	Keterangan
1	Saponin	+	Adanya buih/busa
2	Tanin	+	Terjadi perubahan warna hijau kehitaman
3	Alkaloid	+	Terjadi perubahan warna jingga
4	Flavonoid	+	Terjadi perubahan warna menjadi warna hitam

Keterangan:

(+) = Menunjukkan hasil positif

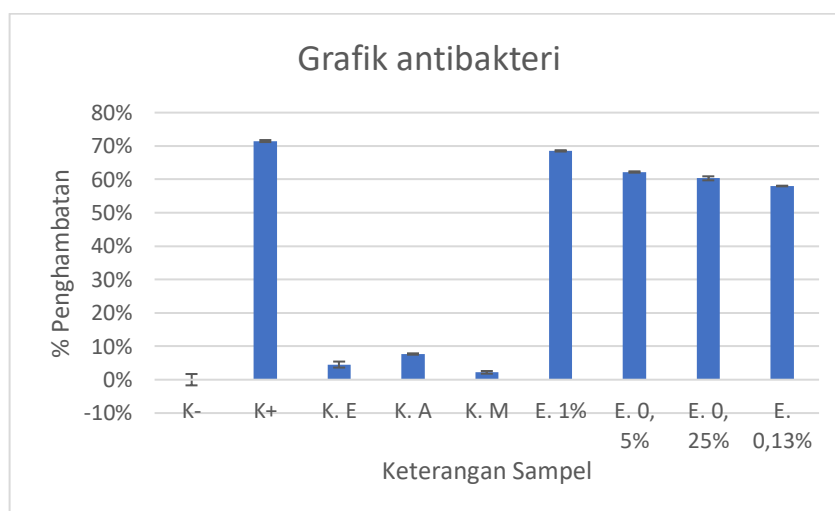
(-) = Menunjukkan hasil negative

2. Uji Aktivitas Antibakteri

Hasil dari uji aktivitas antibakteri dapat dilihat pada tabel berikut ini:

Tabel 4.2. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Coklat Terhadap Bakteri *Klebsiella pneumoniae*

Sampel	R1			Hasil Antibakteri % inhibisi	Standar Deviasi
	R1	R2	R3		
1 Kontrol negative (Bakteri Murni)	0.129	0.141	0.101	0%	0.017
2 Kontrol positif (ciprofloxacin)	0.039	0.0312	0.0356	71.48%	0.003
3 Kontrol Aquadest	0.1137	0.1164	0.1124	7.69%	0.002
4 Kontrol Etanol	0.1304	0.1089	0.1149	4.53%	0.009
5 Kontrol Media	0.124	0.1157	0.1234	2.2%	0.004
6 Ekstrak 1%	0.0413	0.0387	0.0367	68.54%	0.002
7 Ekstrak 0, 5%	0.0488	0.0467	0.0447	62.21%	0.002
8 Ekstrak 0, 25%	0.054	0.052	0.0412	60.32%	0.006
9 Ekstrak 0,13%	0.0536	0.051	0.0512	58.01%	0.001



Gambar 4.1 Grafik Hasil Antibakteri

B. Pembahasan

Tujuan dilakukannya penelitian ini agar dapat mengetahui aktivitas antibakteri dari ekstrak kulit buah coklat (*Theobroma cacao* L.) terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae*. Pengujian yang digunakan untuk menguji aktivitas antibakteri adalah metode mikro dilusi dengan menentukan Kadar Hambat Minimum atau konsentrasi agen terkecil agen antimikroba untuk menghambat pertumbuhan mikroba atau *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC) (Yuli, 2013). Pengujian yang dilakukan dalam penelitian ini antara lain yaitu determinasi tumbuhan, pembuatan ekstrak kulit buah coklat, uji fitokimia, uji antibakteri. Penelitian dilakukan di Laboratorium Universitas Muhammadiyah Kalimantan Timur Samarinda dan penelitian dilakukan mulai dari bulan Januari-April 2022. Subjek pada penelitian ini adalah bakteri *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 yang sudah dikembangkan di Laboratorium UGM dan sudah memenuhi standar kriteria subjek penelitian.

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode mikro dilusi, dimana pada masing-masing larutan stok yang sudah dibuat untuk digunakan pada pengujian dengan beberapa konsentrasi diantaranya 1%, 0,5%, 0,25%, 0, 13% yang kemudian diujikan pada kontrol negatif dengan menggunakan kontrol media dan kontrol positif dengan menggunakan ciprofloxacin yang sudah dilarutkan terlebih dahulu. Hasil aktivitas dari antibakteri pada ekstrak kulit buah coklat (*Theobroma cacao* L.) dengan melihat *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC), dengan memberikan hasil yang sesuai dari ekstrak yang diujikan. Aktivitas antibakteri yang terbesar didapatkan dari konsentrasi ekstrak 1% dengan hasil aktivitas antibakteri $68,54\% \pm 0,002$, kemudian ekstrak dengan konsentrasi 0,5% didapatkan hasil aktivitas antibakteri sebesar $62,21\% \pm 0,002$, ekstrak dengan konsentrasi 0,25% didapatkan hasil aktivitas antibakteri sebesar $60,32\% \pm 0,006$, dan ekstrak dengan konsentrasi 0,13% didapatkan hasil antibakteri sebesar $58,01\% \pm 0,001$, sedangkan dari kontrol positif yaitu ciprofloxacin memberikan hasil aktivitas antibakteri sebesar $71,48\% \pm 0,003$. Ekstrak

dikatakan memiliki aktivitas antibakteri jika kadar MIC diatas 50, semakin tinggi konsentrasi dari ekstrak maka semakin tinggi pula aktivitas penghambatannya.

Tingginya aktivitas antibakteri dipengaruhi oleh kadar dari konsentrasi ekstrak yang diujikan, Semakin tinggi konsentrasi ekstrak, semakin tinggi aktivitas penghambatannya. Dikatakan memiliki aktivitas antibakteri jika kadar MIC diatas 50%. Kulit buah kakao memiliki komponen utama berupa lignin sebesar 27, 95%, selulosa sebesar 36, 23%, dan hemiselulosa sebesar 1, 14%, dari komponen yang terkandung didalamnya kulit buah kakao disebut sebagai lignoselulosa. Senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalam kulit buah coklat dapat dipengaruhi oleh kualitas dari tumbuhan diantaranya lokasi dan usia dari tanaman buah coklat, buah coklat yang digunakan pada penelitian ini diambil dari Kecamatan Bengalon dan buah coklat yang ambil pada penelitian ini yaitu buah coklat yang sudah berwarna kekuningan atau merah atau buah yang sudah berumur 5,5-6 bulan dan buah coklat yang sudah berwarna kuning atau merah tersebut merupakan buah yang siap panen, tempat tumbuh dari tanaman juga memiliki peran yang penting terhadap kandungan metabolit sekunder dari dari suatu tanaman. Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi kandungan metabolit sekunder pada tanaman diantaranya faktor eksternal dan internal, faktor-faktor eksternal diantaranya suhu, PH, kelembaban, cahaya, ketinggian tempat, unsur hara dari tanah dan faktor internal nya adalah gen dari tanaman tersebut. ketinggian tempat merupakan salah satu faktor yang berperan penting karena memiliki pengaruh terhadap pertumbuhan dari suatu tanaman serta ketinggian tempat yang berbeda dapat mengganggu pada serangkaian proses metabolisme dan menghasilkan senyawa yang dihasilkan pun akan berbeda (Katuuk *et al*, 2019).

Metabolit sekunder seperti saponin, tanin, alkaloid dan flavonoid merupakan hasil dari skrining fitokimia pada Kulit buah coklat (*Theobroma cacao* L.). Dalam penelitian ini, cara memperoleh metabolit

sekunder yang terkandung dalam kulit buah coklat menggunakan cara maserasi. Proses maserasi dipilih karena memiliki kelebihan dibandingkan dengan metode yang lain, kelebihan dari cara maserasi diantaranya yaitu proses nya mudah, biayanya murah, tidak memerlukan proses pemanasan dan kelemahan dari proses ini sendiri membutuhkan waktu yang cukup lama. Senyawa fenol memiliki aktivitas antibakteri yang bekerja dengan cara berinteraksi dengan sel bakteri melalui proses penyerapan ikatan hidrogen yang mengganggu kerja membran sitoplasma, seperti transpor aktif dan mempengaruhi kekuatan proton. Pada saat pengujian tanin ekstrak ditambahkan FeCl_3 , penambahan FeCl_3 akan memberikan perubahan warna menjadi merah, ungu, hijau, atau hitam kuat. Warna hijau kehitaman pada tanin terbentuk setelah ditambahkan FeCl_3 karena tanin akan bereaksi dengan Ion Fe^{3+} sehingga membentuk senyawa kompleks trisianoferitri kalium Ferri(III) (Setyowati *et al*, 2014). hal ini juga sejalan dengan pernyataan dari sri wahyuni (2010), dimana senyawa tanin banyak mengandung gugus OH sehingga memiliki sifat polar seperti metanol.

Pada saat pengujian alkaloid ekstrak kulit buah coklat ditambahkan HCl 2 N penambahan ini dilakukan karena alkaloid bersifat basa dan mengandung atom nitrogen sehingga perlu ditambahkan dengan HCl 2 N, dan pereaksi yang digunakan yaitu pereaksi *dragendorff* dan mendapatkan hasil perubahan warna menjadi warna jingga, hal ini sejalan dengan pernyataan Sangi *et al*, (2013) yang menyatakan senyawa yang mengandung alkaloid akan membentuk warna orange, jingga, atau berwarna coklat karena senyawa alkaloid bereaksi dengan ion tetraiodobismutat (III). Pada saat pengujian flavonoid ekstrak ditambahkan dengan serbuk mg dan HCl pekat. Tujuan dari penambahan serbuk mg serta HCl pekat karena akan senyawa flavonoid akan berkurang dengan penambahan dari HCl pekat dan serbuk Mg.

Penelitian ini menggunakan metode mikrodilusi, dimana metode ini merupakan metode dengan menggunakan media cair, prinsip dari

metode mikrodilusi sendiri yaitu beberapa sampel dibuat menjadi beberapa konsentrasi yang kemudian dimasukkan kedalam *microplate* yang sudah berisi dengan media yang sudah diinokulasikan, dan diinkubasi selama 1x24 jam. Penentuan MIC dengan menggunakan metode mikrodilusi cair hanya membutuhkan sedikit sampel dan memberikan hasil sensitivitas yang tinggi. Hasil MIC didapatkan dengan cara pembacaan absorbansi dengan menggunakan alat *micro reader*.

Metode mikrodilusi dipilih karena memiliki keuntungan antara lain yaitu memberikan efektivitas dari bahan dan tempat dan juga mudah dilakukan, dan kerugian dari metode mikrodilusi diantaranya adalah melelahkan dan resiko kesalahan dalam pembuatan larutan uji (Balouri *et al*, 2015). Tablet ciprofloxacin digunakan sebagai kontrol positif karena antibiotik yang digunakan dalam penanganan terhadap *Klebsiella pneumoniae* adalah antibiotik yang mengandung cincin beta-laktam (Tarina & Kusuma, 2017). Mekanisme kerja dari ciprofloxacin adalah dengan cara menghambat enzim DNA girase, dimana enzim ini memiliki peran dalam pembelahan sel bakteri (Muslim *et al.*, 2020). Penelitian ini juga dilakukan sebanyak 5 duplikasi dan 3 kali replikasi.