

UJI EFEK ANTIBAKTERI EKSTRAK KULIT BIJI KAKAO (*Theobroma cacao L*) TERHADAP BAKTERI *Streptococcus mutans*

Armiati¹⁾, Michael A. Leman¹⁾, Olivia Amelia Waworuntu¹⁾

¹⁾Program Studi Pendidikan Dokter Gigi Fakultas Kedokteran UNSTRAT

ABSTRACT

Dental caries is an oral disease that has a large enough of incidents in the society and one of the dental and oral healthy problems are most prominent in Indonesia. The main bacterial cause of dental caries is Streptococcus mutans. The skin is part of the cocoa beans cocoa fruit cocoa bean wraps and is a waste of the chocolate industry. Skin cocoa beans contains antibacterial compounds such as polyphenols, flavonoid. The objectives of this research is to determine the effect of antibacterial skin extract cocoa (Theobroma cacao L) against Streptococcus mutans. This research is experimental research with modified Kirby-bauer method using filter paper. Skin samples of cocoa (Theobroma cacao L) were taken from the city of Manado then ethanol 96%. Streptococcus mutans bacteria taken from a pure stock Microbiology Laboratory, Faculty of Medicine Sam Ratulangi university. The result of this research say that the total diameter of inhibition zone bark extract of cocoa beans against Streptococcus mutans of 97,27 mm with a mean value of 19, 46 mm. That skin extract cocoa beans have an antibacterial effect in inhibiting the growth of Streptococcus mutans bacteria. Inhibition zone bark extract of cocoa beans against the bacteria Streptococcus mutans 19, 46 mm.

Key words : Skin cocoa (*Theobroma cacao L*), *Streptococcus mutans*, Inhibition zone

ABSTRAK

Karies gigi merupakan penyakit gigi dan mulut yang memiliki angka kejadian cukup besar di masyarakat dan salah satu masalah kesehatan gigi dan mulut yang paling menonjol di Indonesia. Bakteri utama penyebab karies gigi adalah bakteri *Streptococcus mutans*. Kulit biji kakao adalah bagian dari buah kakao yang membungkus biji kakao dan merupakan limbah dari industri coklat. Kulit biji kakao mengandung senyawa yang bersifat antibakteri seperti polifenol, dan flavonoid. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui efek antibakteri ekstrak kulit biji kakao (*Theobroma cacao L*) terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan metode modifikasi Kirby-bauer menggunakan kertas saring. Sampel Kulit biji kakao (*Theobroma cacao L*) diambil dari Kota Manado kemudian diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Bakteri *Streptococcus mutans* diambil dari stok bakteri murni Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi Manado. Hasil penelitian ini didapatkan total diameter zona hambat ekstrak kulit biji kakao terhadap *streptococcus mutans* sebesar 97,27 mm dengan nilai rerata sebesar 19,46 mm. Dari penelitian ini disimpulkan bahwa ekstrak kulit biji kakao memiliki efek antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri *streptococcus mutans*. Zona hambat ekstrak kulit biji kakao terhadap bakteri *streptococcus mutans* 19,46 mm.

Kata kunci: kulit biji kakao (*Theobroma cacao L*), *Streptococcus mutans*, zona hambat.

PENDAHULUAN

Kesehatan gigi dan mulut telah berkembang menjadi masalah yang serius. Hal ini disebabkan karena tingkat pengetahuan masyarakat akan pentingnya menjaga kesehatan gigi dan mulut masih kurang. Dampak dari rendahnya pengetahuan tersebut yaitu masalah penyakit gigi dan mulut di masyarakat meningkat. Karies gigi dan penyakit periodontal merupakan penyakit gigi dan mulut yang memiliki angka kejadian cukup besar di masyarakat (Zaenab dkk, 2004). Berdasarkan Riset Kesehatan Dasar (Riskesmas) Nasional tahun 2013, prevalensi nasional masalah kesehatan gigi dan mulut mencapai 25, 9% dan sebanyak 14 provinsi di Indonesia memiliki prevalensi masalah kesehatan gigi dan mulut diatas prevalensi nasional dan index DMF-T mencapai 4,6% yang artinya kerusakan gigi penduduk Indonesia mencapai 460 buah gigi per 100 orang (Anonim, 2013).

Salah satu faktor penyebab terjadinya karies gigi ialah *Streptococcus mutans*. *Streptococcus mutans* merupakan bakteri patogen yang pertama kali berkolonisasi pada awal erupsi gigi, hidup, dan beradaptasi dalam suasana lingkungan yang asam. *Streptococcus mutans* menghasilkan asam, sehingga dengan mudah membentuk plak dan menyebabkan terjadinya karies gigi. Saat ini, prosedur pemeliharaan kebersihan rongga mulut dengan menyikat gigi saja tidak cukup, sehingga penambahan zat antimikroba pada produk kesehatan gigi dan mulut juga dinilai penting (Roeslan, 2002).

Indonesia merupakan produsen kakao terbesar dan mencapai urutan ketiga di dunia. Hasil panen kakao

mengalami kemajuan yang sangat pesat dalam 25 tahun terakhir dan Sulawesi merupakan daerah yang paling banyak menghasilkan kakao di Indonesia. Namun, masyarakat umumnya seringkali menganggap bahwa hanya biji kakao yang memiliki manfaat dan kulit biji kakao hanya sebagai limbah dan bahan pakan ternak. Beberapa tahun terakhir ini terjadi peningkatan ketertarikan pada kakao, dimana telah ditunjukkan adanya efek antikariogenik dari percobaan in vivo dan in vitro dari tanaman tersebut. Sebelumnya telah dilakukan penelitian biji kakao sebagai antibakteri dalam menghambat *Streptococcus mutans*, dan penelitian yang dilakukan Agustin Sri Mulyatni pada tahun 2012 didapatkan bahwa flavonoid yang terkandung dalam kulit buah kakao memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus* (Mulyatni, 2012). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas antibakteri ekstrak kulit biji kakao dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium, menggunakan rancangan eksperimental murni (*true experimental design*) dengan rancangan penelitian *post test only control design*. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran dan Laboratorium Farmasi Fakultas M-IPA Universitas Sam Ratulangi Manado pada bulan April - November 2015.

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian yaitu:

Tabung reaksi, jarum ose, cawan petri, pinset, kapas lidi steril, pipet, oven, autoklaf, inkubator, tabung reaksi, spidol, kamera, batang pengaduk, timbangan, api Bunsen, jangka sorong, kompor, sendok plastik, sarung tangan, *vacuum rotary evaporator*, tabung erleymenter, masker, dan jas lab .

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu: Ekstrak kulit biji kakao, bakteri *Streptococcus mutans*, Nutrient Agar(NA), Agar Muller-Hinton (MHA), brain heart infusion broth (BHI-B), etanol 96%, antibiotik eritromisin, kertas saring larutan BaCl₂ 1%, larutan H₂SO₄ 1%, akuades.

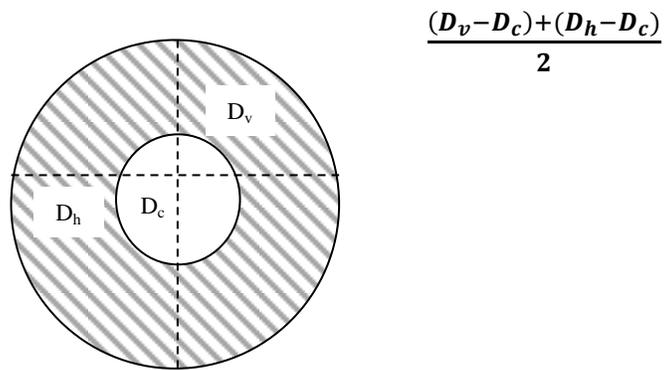
Pembuatan ekstrak kulit biji kakao (*Theobroma cacao L*)

Pembuatan ekstrak kulit biji kakao dilakukan di Laboratorium farmasi MIPA Universitas Sam Ratulangi. Kulit biji kakao diperoleh dari daerah kabupaten Buton Sulawesi Tenggara. Kulit biji kakao diambil 1 kg lalu dibersihkan dengan mencuci di bawah air mengalir sampai bersih, ditiriskan, lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan selama tiga hari dengan suhu ruangan dilanjutkan pengeringan dengan oven dengan suhu 40°C selama dua hari. Kulit biji kakao yang telah kering diblender. Serbuk kulit biji kakao ditimbang seberat 100 gram, dimasukkan dalam wadah dan ditambahkan etanol 96% sampai terendam lalu diaduk hingga homogen, tutup segera kemudian disimpan dalam ruangan yang terhindar dari cahaya matahari selama lima hari. Selama perendaman, setiap hari diaduk selama 15 menit. Setelah direndam selama lima hari, disaring dengan menggunakan kertas saring lalu diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator* pada

temperatur 40°C selama 3 jam. Setelah itu ekstrak murni yang didapat dimasukkan kedalam oven dengan suhu 40°C selama 2 jam lalu dituang ke dalam botol steril tertutup dan disimpan di dalam lemari pendingin.

Uji Efek Antibakteri

Metode pengujian yang digunakan adalah metode modifikasi Kirby-Bauer dengan menggunakan *paper disc*. Bakteri *Streptococcus mutans* yang disimpan di media agar yang diambil dari stok bakteri murni yang diperoleh dari laboratorium mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi Manado, diambil dengan jarum ose, lalu ditanamkan pada media agar miring dengan cara menggores. Bakteri yang telah digores pada media agar diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam. Bakteri yang telah diinkubasi diambil koloninya dari media agar miring dengan menggunakan jarum ose steril kemudian dimasukkan ke dalam media BHI-B sampai kekeruhannya sama dengan standar McFarland. Lidi kapas steril dicelupkan ke dalam suspensi bakteri hingga basah. Lidi kapas diperas dengan menekan pada dinding tabung reaksi bagian dalam, kemudian digores merata pada media MHA sampai permukaannya tertutupi. Selanjutnya diletakkan disk eritromisin, kertas saring pertama dicelupkan ke dalam etanol 96% dan kertas saring kedua dicelupkan dalam larutan ekstrak kulit biji kakao. Selanjutnya cawan petri di inkubasi dalam inkubator dengan suhu 37° selama 1x24 jam. Zona hambat yang terbentuk disekitar *paper disk* diukur diameter vertikal dan diameter horizontal dalam satuan millimeter (mm) menggunakan jangka sorong.



Gambar 1. Pengukuran diameter zona hambat zat antibakteri.

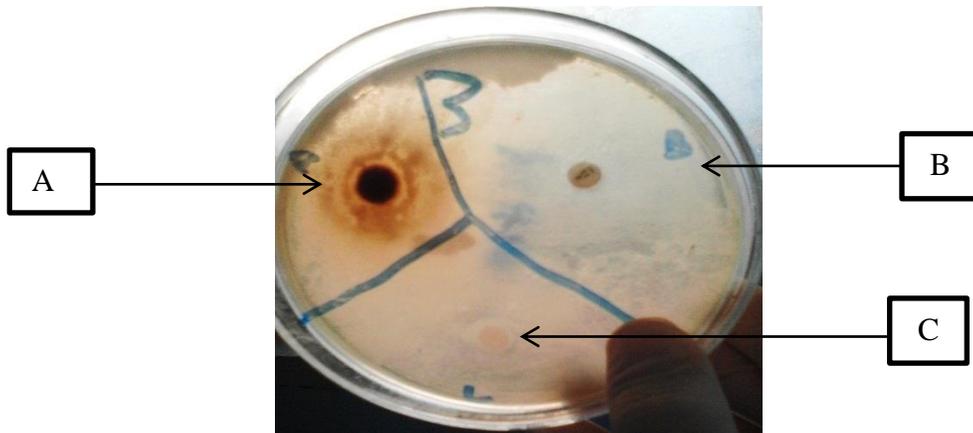
Keterangan:

-  : Zona hambat.
- D_v : Diameter Vertikal
- D_h : Diameter Horizontal
- D_c : Diameter Cakram

HASIL PENELITIAN

Pada penelitian ini zona hambat yang terbentuk pada lima cawan petri yang

sudah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37° C dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Gambar zona hambat yang terbentuk pada media MHA (A) zona hambat ekstrak kulit biji kakao (B) zona hambat eritromisin (C) cakram etanol 96%.

Diameter zona hambat yang diukur dengan menggunakan jangka sorong, dihitung luas zona hambatnya dengan

menggunakan rumus lalu dimasukkan ke dalam Tabel 1.

Tabel 1. Hasil pengukuran diameter zona hambat bakteri *Streptococcus mutans*

Pengulangan	Diameter zona hambat (mm)			Selisih diameter pelarut kontrol (+) dengan ekstrak kulit biji kakao
	Ekstrak kulit biji kakao (<i>Theobroma cacao L.</i>)	Kontrol positif (eritromisin)	Kontrol negatif (etanol 96%)	
1	17,7	33,1	0	15,4
2	19,75	32,42	0	12,67
3	19,15	35,45	0	16,3
4	22,22	28,08	0	5,86
5	18,45	33,15	0	14,7
Rerata	19,46	32,44	0	12,98

Tabel 1 menunjukkan bahwa rerata diameter zona hambat yang terdapat pada kulit biji kakao lebih kecil jika dibandingkan dengan eritromisin. Diameter zona hambat terkecil ekstrak kulit biji kakao terdapat pada pengulangan pertama, sedangkan diameter zona hambat terbesar terdapat pada pengulangan keempat. Selisih diameter zona hambat pada kelompok kontrol positif (eritromisin) dengan ekstrak kulit biji kakao cukup besar tetapi tidak terjadi pada pengulangan keempat. Pada kelompok kontrol negatif etanol 96% tidak menunjukkan adanya zona hambat yang dihasilkan disekitar cakram kertas saring.

PEMBAHASAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak kulit biji kakao (*Theobroma cacao L.*) memiliki efek antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan diameter zona hambat yang dibentuk sampel pada lima kali pengulangan. Hal ini dikarenakan metode kertas saring (*paper disk*) yang digunakan memiliki kekurangan yaitu

tidak bisa mengontrol banyaknya ekstrak yang terserap pada masing-masing kertas saring, sehingga membuat hasil diameter zona hambat berbeda-beda walaupun diambil dari suspensi yang sama. Selisih zona hambat ekstrak kulit biji kakao dengan eritromisin pada pengulangan keempat lebih kecil dikarenakan jumlah bakteri pada cawan petri eritromisin pada pengulangan keempat lebih sedikit.

Ekstrak kulit biji kakao menunjukkan zona hambat. Hal ini membuktikan bahwa ekstrak kulit biji kakao memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*, walaupun lebih kecil jika dibandingkan dengan eritromisin. Hal ini disebabkan mekanisme kerja daya hambat pertumbuhan bakteri berbeda. Menurut Setiabudy, suatu bahan antibakteri tertentu aktivitasnya dapat meningkat bila kadar antibakterinya ditingkatkan melebihi kadar hambat minimumnya. Dengan demikian ekstrak kulit biji kakao dapat menghasilkan zona hambat yang lebih besar apabila kadarnya ditingkatkan melebihi kadar hambat minimumnya (Setiabudy, 2007). Zona hambat yang

terbentuk di sekitar cakram kertas saring yang diberi ekstrak kulit biji kakao menunjukkan kandungan flavonoid yaitu katekin dan epikatekin yang terdapat pada ekstrak kulit biji kakao mampu menghambat *Streptococcus mutans*. Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Annisa Wicita Mustain. Hasil penelitian tersebut menunjukkan efektivitas dari larutan ekstrak etanol kulit biji kakao 0,1% yang digunakan sebagai larutan kumur dalam intervensi pada penelitian ini, telah terbukti menunjukkan penurunan jumlah bakteri *Streptococcus mutans* (Mustain, 2012). Penelitian yang dilakukan oleh Ooshima, ekstrak kulit biji kakao selain memiliki aktivitas antibakteri juga memiliki aktivitas antiglukosiltransferease yang dapat menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* sebagai bakteri patogen penyebab karies gigi (Ooshima, 2000).

KESIMPULAN

Ekstrak kulit biji kakao memiliki efek antibakteri dalam menghambat bakteri *Streptococcus mutans*.

SARAN

1. Diharapkan penelitian lanjut mengenai efek antibakteri ekstrak kulit biji kakao terhadap bakteri lain yang dapat menimbulkan masalah kesehatan gigi dan mulut.
2. Diharapkan penelitian lanjut tentang antibakteri kulit biji kakao dengan metode lain

DAFTAR PUSTAKA

Anonim 2013. *Riset kesehatan dasar riskesdas 2013*. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.

Jakarta : Kementrian Kesehatan RI.h.147-54.

Mulyatni AS. 2012. Antibacterial activity of cacao pod husk extract (*Theobroma cacao L*) against *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus*. In-vitro and experiments. 80(2), 77-84.

Mustain WA. 2012. *Efektivitas Larutan etanol ekstrak kulit biji kakao 0,1% terhadap penurunan jumlah koloni Streptococcus mutans pada saliva anak usia 12-14 tahun*. [skripsi]. Makasar: Universitas Hasanudin. Makasar.

Ooshima T. 2000. Caries inhibitory activity of cacao bean husk extract in in-vitro and animal experiments. *Arch Oral Biol.*:45(8).

Roeslan B. 2002. *Imunologi Oral*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. hal.141-5.

Setiabudy R. 2007. *Antimikroba*. Tanu I. Farmakologi dan ter edisi 5. Jakarta: EGC..h.585.

Zaenab, Mardiasuti H, Anny V, Logawa B. 2004. Uji antibakteri siwak (*Salvadora persica linn*) terhadap *Streptococcus mutans* dan *Bacteroides melaninogenicus*. *Makalah kesehatan..* 8(2):37-40.