



Uji Daya Hambat Antibakteri Produk Sabun Cuci Tangan Ekstrak Kulit Kakao (*Theobroma cacao L.*) Pada Bakteri Patogen

Abstrak: Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi efektivitas ekstrak kulit kakao (*Theobroma cacao L.*) sebagai agen antibakteri terhadap bakteri patogen *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Salmonella typhi*. Permasalahan resistensi antibiotik yang semakin meningkat menuntut pencarian agen antibakteri alami yang efektif dan aman. Selain itu, limbah kulit kakao yang selama ini belum dimanfaatkan secara optimal berpotensi menjadi sumber senyawa bioaktif antibakteri. Oleh karena itu, penelitian ini penting untuk mengembangkan alternatif pengobatan alami sekaligus mengurangi limbah pertanian. Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan kontribusi dalam pengembangan agen antibakteri dari ekstrak kulit kakao yang ramah lingkungan dan efektif melawan bakteri patogen. Ekstrak yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak kasar kulit kakao yang diperoleh melalui metode maserasi menggunakan pelarut aquadest. Kulit kakao dikeringkan, dihaluskan, lalu diekstraksi dengan aquadest untuk memperoleh senyawa bioaktifnya, yang kemudian diformulasikan menjadi sabun ekstrak pada konsentrasi 80%, 90%, dan 100%. Uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi cakram sesuai standar CLSI untuk mengukur zona hambat terhadap bakteri patogen *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Salmonella typhi*. Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap pola faktorial (3 x 3), dengan tiga konsentrasi sabun ekstrak dan tiga jenis bakteri, masing-masing diuji dalam tiga ulangan, dan data dianalisis menggunakan analisis of varians (Anova) untuk menentukan signifikansi perbedaan antar perlakuan. Pengukuran diameter zona hambat menunjukkan bahwa pada konsentrasi 80%, 90%, dan 100%, zona hambat untuk *E. coli* masing-masing sebesar 4,1 mm, 4,9 mm, dan 6,3 mm, yang termasuk dalam kategori lemah hingga sedang. Untuk *S. aureus*, zona hambat yang dihasilkan adalah 7,3 mm pada konsentrasi 80%, 11,30 mm pada 90%, dan 13,77 mm pada 100%, yang berada pada kategori sedang hingga kuat. Sementara itu, untuk *S. typhi*, zona hambat yang dihasilkan adalah 5,16 mm (80%), 6,3 mm (90%), dan 8,81 mm (100%), yang termasuk dalam kategori sedang. Berdasarkan pengkategorian zona hambat, yaitu lemah (<5 mm), sedang (5–10 mm), kuat (10–20 mm), dan sangat kuat (>20 mm), dapat diinterpretasikan bahwa sabun ekstrak kulit kakao menunjukkan aktivitas antibakteri yang paling efektif terhadap *S. aureus*, terutama pada konsentrasi 90% dan 100%, sedangkan terhadap *E. coli* dan *S. typhi* daya hambatnya masih tergolong lemah hingga sedang. Secara biologis, hasil ini menunjukkan bahwa efektivitas sabun ekstrak kulit kakao sebagai antibakteri alami lebih optimal untuk bakteri Gram positif seperti *S. aureus*, sementara efektivitasnya terhadap bakteri Gram negatif seperti *E. coli* dan *S. typhi* masih perlu dioptimalkan. Daya hambat yang dihasilkan juga masih lebih rendah dibandingkan dengan kontrol positif, yaitu sabun merk "Yuri", yang menghasilkan zona hambat lebih besar pada ketiga jenis bakteri yang diuji. Hasil uji Anova yang telah dilakukan menunjukkan nilai p-value <0.05 maka, rata – rata hasil zona hambat ketiga jenis bakteri berbeda secara signifikan. Penelitian ini memberikan informasi penting mengenai potensi kulit kakao sebagai bahan baku alami dalam pembuatan produk pembersih yang ramah lingkungan, dengan implikasi bahwa pemanfaatan limbah kulit kakao dapat mengurangi dampak lingkungan sekaligus menyediakan alternatif bahan antibakteri yang efektif dan berkelanjutan.

Kata Kunci: antibakteri; ekstrak kulit kakao; *Escherichia coli*; *Staphylococcus aureus*; *Salmonella typhi*

Abstract: This study aims to explore the effectiveness of cocoa pod husk extract (*Theobroma cacao L.*) as an antibacterial agent against pathogenic bacteria *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Salmonella typhi*. The increasing problem of antibiotic resistance demands the search for effective and safe natural antibacterial agents. In addition, cocoa pod husk waste, which has not been optimally utilized, has the potential to be a source of bioactive antibacterial compounds. Therefore, this research is important for developing natural treatment alternatives while reducing agricultural waste. The findings are expected to contribute to the development of environmentally friendly antibacterial agents from cocoa pod husk extract that are effective against pathogenic bacteria. The extract used in this study was a crude cocoa pod husk extract obtained by maceration using distilled water as the solvent. The cocoa pod husk was dried, ground, and extracted to obtain its bioactive compounds, which were then formulated into soap at concentrations of 80%, 90%, and 100%. Antibacterial activity was tested using the disk diffusion method according to CLSI standards to measure the inhibition zones against *E. coli*, *S. aureus*, and *S. typhi*. The study

employed a completely randomized factorial design (3 x 3), with three soap extract concentrations and three bacterial species, each tested in triplicate, and data were analyzed using analysis of variance (ANOVA) to determine the significance of differences between treatments. Measurements of inhibition zone diameters showed that at concentrations of 80%, 90%, and 100%, the inhibition zones for *E. coli* were 4.1 mm, 4.9 mm, and 6.3 mm, respectively (categorized as weak to moderate). For *S. aureus*, the inhibition zones were 7.3 mm (80%), 11.30 mm (90%), and 13.77 mm (100%), categorized as moderate to strong. For *S. typhi*, the inhibition zones were 5.16 mm (80%), 6.3 mm (90%), and 8.81 mm (100%), categorized as moderate. Based on the inhibition zone classification—weak (<5 mm), moderate (5–10 mm), strong (10–20 mm), and very strong (>20 mm)—it can be interpreted that the cocoa pod husk extract soap showed the most effective antibacterial activity against *S. aureus*, especially at 90% and 100% concentrations, while the activity against *E. coli* and *S. typhi* was still in the weak to moderate range. Biologically, these results indicate that the effectiveness of cocoa pod husk extract soap as a natural antibacterial is more optimal for Gram-positive bacteria such as *S. aureus*, while its effectiveness against Gram-negative bacteria such as *E. coli* and *S. typhi* still needs to be optimized. The inhibition zones produced were also lower than those of the positive control, "Yuri" soap, which produced larger inhibition zones against all three tested bacteria. ANOVA results showed a *p*-value <0.05, indicating that the mean inhibition zones for the three bacterial species differed significantly. This study provides important information on the potential of cocoa pod husk as a natural raw material for environmentally friendly cleansing products, with the implication that utilizing cocoa pod husk waste can reduce environmental impact while providing an effective and sustainable alternative antibacterial agent.

Keywords: antibacterial; cocoa husk extract; *Eschericia coli*; *Salmonella thypi*; *Staphylococcus aureus*

How to Cite: Ika Priantari., Kukuh Munandar., & Annisa Mulya Dewi. (2025). Uji Daya Hambat Antibakteri Produk Sabun Cuci Tangan Ekstrak Kulit Kakao (*Theobroma cacao L.*) Pada Bakteri Patogen. *Bioscientist: Jurnal Ilmiah Biologi*, vol(no), xx-xx. doi:<https://doi.org/10.33394/bioscientist.v13i1.xxxxx>



<https://doi.org/10.33394/bioscientist.v13i1.xxxxx>

Copyright© xxxx, First Author et al

This is an open-access article under the [CC-BY-SA](#) License.



PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu produsen kakao terbesar di dunia, menyumbang sekitar 11% kebutuhan kakao global menurut Direktorat Jenderal Perkebunan (2016), namun rendahnya pengetahuan masyarakat tentang pengolahan biji kakao menyebabkan kualitas produk cokelat yang dihasilkan masih rendah dan bernilai ekonomi rendah. Selain itu, limbah kulit buah kakao yang merupakan bagian terbesar dari buah kakao seringkali dibuang dan mencemari lingkungan, padahal kulit kakao mengandung berbagai zat bernilai tambah seperti mineral (CaO, K₂O), senyawa fenolik, flavonoid, dan tanin yang memiliki potensi sebagai sumber alkali dalam pembuatan sabun serta memiliki aktivitas antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Kandungan kalium oksida (K₂O) dalam kulit kakao sangat relevan untuk proses pembuatan sabun cair karena berfungsi sebagai alkali alami yang menggantikan bahan kimia sintetis berbahaya, sementara senyawa polifenol dan tanin mendukung fungsi antibakteri sabun tersebut (Pallawagau *et al.*, 2019).

Logam alkali seperti kalium, kalsium, natrium, dan magnesium ditemukan pada kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) dalam bentuk garam yang berbeda. Mineral dalam kulit kakao akan teroksidasi menjadi oksida logam jika dibakar, dan kalium karbonat akan terbentuk jika bergabung dengan karbon dioksida. Kulit buah kakao mempunyai kandungan abu sebesar 10,8% dan kandungan mineral masing-masing sebesar 41%, 2,1%, 0,06%, dan 0,16% untuk kalium, natrium, magnesium, dan kalsium (Firmanto *et al.*, 2023). Diketahui bahwa di antara tanaman lainnya, kulit buah kakao memiliki konsentrasi bahan kimia polifenol yang paling besar (Afolayan, 2012). Aktivitas antimikroba dan antibakteri dihasilkan oleh senyawa-senyawa fenolik, flavonoid, tanin, dan terpenoid pada kulit buah kakao (Purwanti *et al.*, 2023). Metabolit

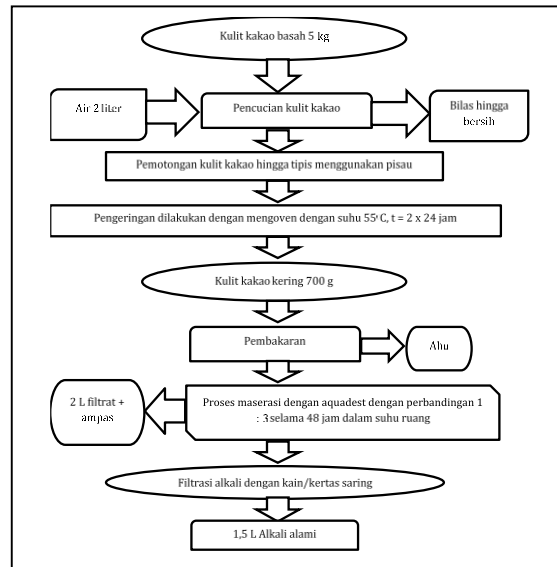
sekunder tanin yang terkandung dalam kulit buah kakao juga berperan dalam penghambatan pertumbuhan bakteri (Dipahayu, 2018).

Penelitian ini penting karena menjawab kebutuhan akan produk pembersih alami yang efektif dan ramah lingkungan, sekaligus mengurangi dampak negatif limbah kulit kakao dan memperluas alternatif produk sabun cair berbasis bahan alami yang dapat mendukung kesehatan masyarakat dengan mencegah penyebaran bakteri patogen seperti *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, dan *Escherichia coli*. Dengan meningkatnya kesadaran akan kebersihan dan kesehatan, inovasi sabun cuci tangan berbasis ekstrak kulit kakao menawarkan solusi yang lebih unggul dibandingkan produk konvensional karena selain efektif secara antibakteri juga mendukung konsep zero waste dan keberlanjutan lingkungan (Siswanto et al., 2020)

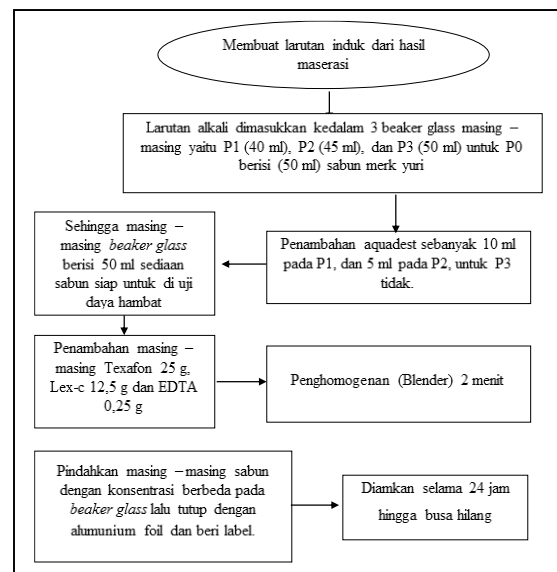
METODE

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) pola faktorial 3 x 3, yang berarti terdapat dua faktor yang diuji secara bersamaan dengan tiga taraf masing-masing. Faktor pertama adalah konsentrasi sabun ekstrak kulit kakao dengan tiga tingkat, yaitu 80%, 90%, dan 100%, sedangkan faktor kedua adalah jenis bakteri patogen yang diuji, yaitu *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Salmonella typhi*. Kombinasi dari kedua faktor ini menghasilkan sembilan perlakuan berbeda (3 konsentrasi x 3 jenis bakteri). Setiap perlakuan diuji dengan tiga kali ulangan untuk memperoleh data yang reliabel dan memungkinkan analisis statistik yang valid. Dengan demikian, total percobaan yang dilakukan adalah 27 ulangan (9 perlakuan x 3 ulangan). Data hasil uji daya hambat dianalisis menggunakan analisis of varians (Anova) untuk mengevaluasi pengaruh masing-masing faktor dan interaksinya terhadap efektivitas sabun ekstrak kulit kakao dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

Tahapan penyiapan simplisia kulit kakao hingga menjadi alkali alami dimulai dengan perlakuan waktu maserasi ekstrak kulit buah kakao ditunjukkan pada Gambar 1. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai rendemen tertinggi diperoleh dari perlakuan waktu maserasi selama 48 jam yaitu $4,04 \pm 0,92$ persen, dan terendah diperoleh dari waktu maserasi 24 jam yaitu $3,45 \pm 0,85$ persen (Pratyaksa et al., 2020). Larutan alkali difiltrasi menggunakan kain saring dan siap digunakan. Ekstrak kulit buah hasil dimaserasi yang dihasilkan dari 75 gram abu sebanyak 225 ml, digunakan untuk 40 ml untuk F1, 45 ml untuk F2, dan sebanyak 50 ml untuk F3. Selanjutnya, alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi petri dish, blue tip, tabung ependorf, batang L, dan pinset. Untuk proses pembuatan sabun cuci tangan dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 1. Tahapan pembuatan ekstrak kulit kakao

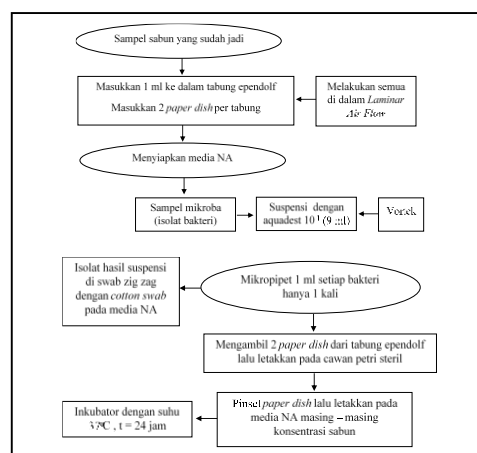


Gambar 2. Tahapan pembuatan sabun cuci tangan ekstrak kulit kakao

Dalam pembuatan media, bubuk NA ditimbang sebanyak 0,8 gram dan kemudian dilarutkan dalam 40 ml aquadest steril. Larutan tersebut dipanaskan di atas hot plate sambil diaduk hingga bubuk NA larut sempurna dan larutan menjadi jernih. Setelah itu, media disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 10 menit sebelum digunakan. Kemudian dituangkan masing-masing sebanyak 20 ml ke dalam cawan petri dan dibiarkan hingga mengeras. Uji daya hambat dilakukan menggunakan difusi agar dengan metode *Kirby Bauer* menggunakan kertas cakram dapat dilihat

pada Gambar 3. Penelitian ini menggunakan tiga jenis konsentrasi yaitu 80%, 90%, dan 100%, dan sabun merk “Yuri” sebagai kontrol.

Penggunaan kontrol positif dalam penelitian antibakteri sabun ekstrak kulit kakao, seperti sabun merk “Yuri”, bertujuan untuk menjadi pembanding standar efektivitas antibakteri sabun uji. Kontrol positif dipilih karena sabun tersebut sudah dikenal memiliki aktivitas antibakteri yang efektif dan telah beredar secara luas, sehingga dapat dijadikan acuan untuk menilai daya hambat sabun ekstrak kulit kakao terhadap bakteri patogen. Sabun merk “Yuri” mengandung bahan aktif antiseptik seperti triclosan atau senyawa antibakteri lain yang mampu membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri, sehingga menghasilkan zona hambat yang jelas pada metode uji difusi cakram. Dengan menggunakan kontrol positif ini, peneliti dapat membandingkan seberapa efektif sabun ekstrak kulit kakao dalam menghambat bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Salmonella typhi* relatif terhadap produk yang sudah teruji. Selain itu, kontrol positif membantu memastikan bahwa prosedur uji berjalan dengan baik dan valid, serta memberikan standar untuk interpretasi hasil uji antibakteri. Pemilihan sabun merk “Yuri” sebagai kontrol positif juga didasarkan pada ketersediaan produk yang mudah diperoleh dan telah memiliki izin edar resmi, sehingga hasil perbandingan menjadi relevan dan aplikatif dalam konteks penggunaan sabun sehari-hari.



Gambar 3. Pengujian daya hambat sabun cuci tangan ekstrak kulit kakao terhadap bakteri patogen

Alat utama yang digunakan dalam penelitian ini meliputi cawan petri untuk media kultur, erlenmeyer 250 ml dan beaker glass 250 ml untuk persiapan larutan, autoclave untuk sterilisasi media dan alat, hot plate untuk pemanasan dan pelarutan media, laminar air flow sebagai ruang kerja steril, inkubator dengan suhu terkontrol untuk proses inkubasi bakteri selama 24 jam, mikropipet tipe adjustable dengan blue tip untuk penanganan cairan secara akurat, jangka sorong untuk pengukuran diameter zona hambat, serta vortex untuk homogenisasi suspensi bakteri.

Bahan utama yang digunakan adalah Nutrient Agar (NA) sebagai media padat pertumbuhan bakteri, , sabun ekstrak kulit kakao (*Theobroma cacao* L.) sebagai bahan uji, alkohol 96% untuk sterilisasi, bakteri patogen *Escherichia coli*, *Staphylococcus*

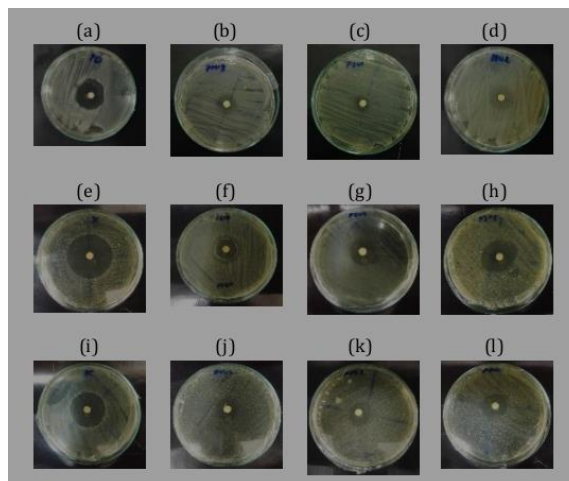
aureus, dan *Salmonella typhi* sebagai objek uji, serta aquadest steril sebagai pelarut dan media pelarutan.

Prosedur pengukuran diameter zona hambat dilakukan setelah inkubasi selama 24 jam pada inkubator dengan suhu 37°C. Zona hambat berupa area bening di sekitar cakram yang berisi sabun ekstrak diukur menggunakan jangka sorong digital dengan ketelitian 0,01 mm. Pengukuran dilakukan pada titik terlebar dari zona bening untuk mendapatkan nilai diameter maksimum. Setiap pengukuran dilakukan secara hati-hati untuk memastikan akurasi dan konsistensi data yang akan dianalisis secara statistik.

Analisis statistik dalam penelitian ini dilakukan menggunakan perangkat lunak SPSS versi terbaru. Metode yang digunakan adalah uji Anova dua arah (two-way Anova) sesuai dengan rancangan acak lengkap pola faktorial (3 x 3), yang menguji pengaruh dua faktor yaitu konsentrasi sabun (80%, 90%, dan 100%) dan jenis bakteri (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Salmonella typhi*) secara simultan. Kriteria signifikansi yang digunakan adalah $p < 0,05$, yang berarti hasil dianggap signifikan jika nilai probabilitas kurang dari 0,05. Apabila hasil Anova menunjukkan perbedaan yang signifikan, maka dilanjutkan dengan uji post hoc Tukey untuk membandingkan rata-rata perlakuan secara berpasangan dan menentukan kelompok mana yang berbeda secara signifikan. Uji Tukey ini membantu mengidentifikasi perbedaan spesifik antar konsentrasi sabun dan jenis bakteri dengan tingkat kepercayaan yang tinggi serta mengontrol kesalahan tipe I akibat banyaknya perbandingan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

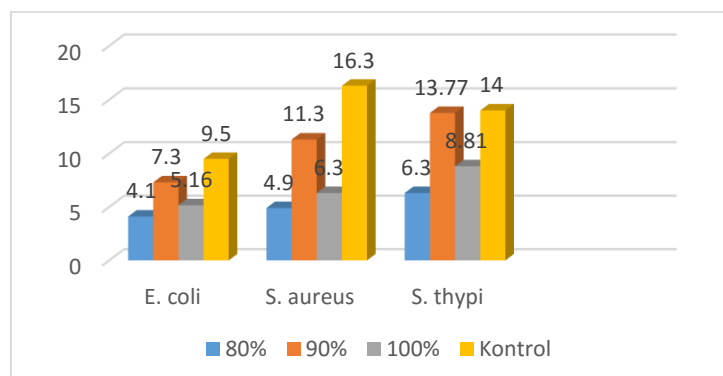
Dalam menggolongkan daya hambat antibakteri ekstrak yang dilakukan pengukuran diameter zona hambat. Zona hambat berwarna bening yang terbentuk disekitar kertas cakram yang diuji menandakan bahwa terjadi aktivitas daya hambat terhadap bakteri. Adanya zona hambat disekitar kertas cakram merupakan daerah difusi dalam mempengaruhi pertumbuhan bakteri dapat dilihat pada Gambar 4. Kekuatan antibakteri dapat diketahui dengan mengukur besarnya diameter zona hambat yang berwarna bening, terbentuk oleh ekstrak yang diuji. Suatu ekstrak atau tanaman perlu diketahui kekuatan antibakterinya. Menurut Davis dan Stout (1971), kekuatan bakteri dapat dikategorikan bahwa diameter ≤ 5 mm (Lemah), 6-10 mm (Sedang), 11-20 mm (Kuat) dan ≥ 21 mm (Sangat Kuat). Hasil penelitian rata – rata beserta kategorinya dapat dilihat pada Tabel 1 dan Gambar 5.



Gambar 4. Zona bening daya hambat ekstrak kulit kakao (*Theobroma cacao L.*) terhadap bakteri a,b,c,d (*E.coli*), e,f,g,h (*S.aureus*), i, j, k,l (*S. thypi*)

Tabel 1. Rata-rata diameter zona hambat ekstrak kulit kakao (*Theobroma cacao L.*) terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypi*

Diameter dan Kategori Zona Hambat Produk Sabun Cuci Tangan Ekstrak Kulit Kakao (<i>Theobroma cacao L.</i>) Terhadap Bakteri Patogen						
Konsentrasi	<i>E. coli</i>	Kategori	<i>S. aureus</i>	Kategori	<i>S. thypi</i>	Kategori
Kontrol	9.5	Sedang	16.3	Kuat	14	Kuat
80%	4.1	Lemah	7.3	Sedang	5.16	Lemah
90%	4.9	Lemah	11.30	Kuat	6.3	Sedang
100%	6.3	Sedang	13.77	Kuat	8.81	Sedang



Gambar 5. Diagram diameter rata-rata zona hambat produk sabun cuci tangan ekstrak kulit kakao (*Theobroma cacao L.*) pada bakteri patogen

Hasil penelitian menunjukkan bahwa daya hambat antibakteri dari sabun ekstrak kulit kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Salmonella typhi* bervariasi berdasarkan konsentrasi. Pengukuran diameter zona hambat menunjukkan bahwa pada konsentrasi 80%, 90%, dan 100%, zona hambat untuk *E. coli* masing-masing adalah 4,1 mm, 4,9 mm, dan 6,3 mm, yang termasuk dalam kategori lemah hingga sedang. Sementara itu, untuk *S. aureus*, zona hambat yang dihasilkan adalah 7,3 mm (80%), 11,30 mm (90%), dan 13,77 mm (100%), yang menunjukkan kategori lemah hingga sedang. Terakhir, untuk *S. typhi*, zona hambat yang dihasilkan adalah 5,16 mm (80%), 6,3 mm (90%), dan 8,81 mm (100%), juga dalam kategori lemah hingga sedang. Hal ini menunjukkan bahwa meskipun ekstrak kulit kakao memiliki aktivitas antibakteri, kekuatannya masih lebih rendah dibandingkan dengan kontrol positif, yaitu sabun merk "Yuri".

Dukungan empiris untuk temuan ini dapat ditemukan dalam penelitian oleh Fortunata *et al.*, (2023) dan Jaida *et al.*, (2021) yang menunjukkan bahwa ekstrak kulit kakao dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan diameter zona hambat yang bervariasi tergantung pada konsentrasi. Penelitian sebelumnya juga menunjukkan bahwa senyawa aktif dalam ekstrak, seperti tanin, saponin, dan flavonoid, berkontribusi terhadap aktivitas antibakteri. Perbedaan hasil ini mungkin disebabkan oleh variasi dalam metode ekstraksi, konsentrasi senyawa aktif, dan jenis bakteri yang diuji. Penelitian Wahyuni (2019) menegaskan bahwa struktur dinding sel bakteri mempengaruhi permeabilitas terhadap senyawa antimikroba, di mana bakteri gram positif seperti *S. aureus* lebih rentan dibandingkan dengan bakteri gram negatif seperti *E. coli* dan *S. typhi*. Keberhasilan penelitian ini dalam menunjukkan variasi daya hambat antibakteri dari sabun ekstrak kulit kakao dapat menjadi best practice bagi peneliti lain yang ingin mengeksplorasi potensi tanaman sebagai agen antimikroba. Dengan memahami faktor-faktor yang mempengaruhi efektivitas antibakteri, peneliti dapat merancang penelitian lebih lanjut untuk meningkatkan potensi ekstrak kulit kakao dalam pengembangan produk antimikroba alami.

Pengukuran diameter zona hambat yang dihasilkan dari pengujian menunjukkan bahwa kategori daya hambat antibakteri dapat dikelompokkan berdasarkan ukuran diameter yang terbentuk. Menurut Davis dan Stout (1971), diameter ≤ 5 mm dikategorikan sebagai lemah, 6-10 mm sebagai sedang, 11-20 mm sebagai kuat, dan ≥ 21 mm sebagai sangat kuat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa untuk *E. coli*, zona hambat pada konsentrasi 80% dan 90% termasuk dalam kategori lemah, sedangkan pada konsentrasi 100% masuk dalam kategori sedang. Untuk *S. aureus*, konsentrasi 80% termasuk kategori lemah, sedangkan 90% dan 100% termasuk kategori sedang. Demikian pula, untuk *S. typhi*, konsentrasi 80% termasuk kategori lemah, sedangkan 90% dan 100% termasuk kategori sedang. Meskipun ekstrak kulit kakao memiliki aktivitas antibakteri, kekuatannya bervariasi tergantung pada konsentrasi yang digunakan. Variasi ini mengindikasikan bahwa efektivitas ekstrak meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi, sehingga pemilihan kadar yang tepat sangat penting untuk mendapatkan hasil optimal.

Perbedaan efektivitas antibakteri sabun ekstrak kulit kakao terhadap berbagai jenis bakteri dapat dijelaskan melalui karakteristik biologis bakteri dan sifat kimia

senyawa aktif dalam ekstrak. Bakteri gram positif seperti *Staphylococcus aureus* memiliki dinding sel yang tebal tersusun dari lapisan peptidoglikan yang padat, namun tidak memiliki membran luar, sehingga senyawa antibakteri seperti tanin dan saponin dalam ekstrak kulit kakao lebih mudah menembus dan mengganggu struktur selnya. Sebaliknya, bakteri gram negatif seperti *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi* memiliki membran luar yang kompleks, terutama lapisan lipopolisakarida (LPS), yang berfungsi sebagai penghalang fisik dan kimiawi terhadap penetrasi senyawa aktif (Jasmine, 2014). Struktur membran luar ini membuat bakteri gram negatif lebih resisten terhadap senyawa antibakteri, sehingga zona hambat yang terbentuk cenderung lebih kecil dibandingkan bakteri gram positif.

Senyawa aktif dalam ekstrak kulit kakao, terutama tanin dan saponin, memiliki sifat kimia yang memungkinkan mereka berikatan dengan protein dan membran sel bakteri, menyebabkan kerusakan pada dinding sel dan membran, serta mengganggu fungsi metabolik bakteri. Tanin, misalnya, dikenal memiliki kemampuan mengendapkan protein dan menghambat enzim penting dalam bakteri, sedangkan saponin dapat menyebabkan permeabilitas membran meningkat sehingga mengakibatkan kebocoran isi sel. Namun, efektivitas senyawa ini sangat dipengaruhi oleh kelarutan dan kemampuan penetrasi ke dalam struktur bakteri, yang berbeda antara gram positif dan gram negatif.

Secara kritis, hasil penelitian ini sejalan dengan temuan Hamidah *et al.*, (2019) yang menunjukkan kerentanan lebih tinggi pada bakteri gram positif terhadap senyawa aktif ekstrak tanaman. Namun, perbedaan zona hambat yang relatif kecil pada bakteri gram negatif seperti *E. coli* dan *S. typhi* mengindikasikan bahwa senyawa antibakteri dalam ekstrak kulit kakao memiliki keterbatasan penetrasi atau konsentrasi efektif yang belum optimal. Hal ini juga didukung oleh Hani *et al.*, (2022) yang melaporkan variasi efektivitas antibakteri ekstrak kulit kakao terhadap berbagai bakteri, dan WHO (2009) yang menekankan pentingnya memahami mekanisme kerja senyawa aktif dalam konteks struktur bakteri.

Selain itu, perbedaan efektivitas ini dapat dipengaruhi oleh faktor teknis seperti penggunaan aquadest sebagai pelarut ekstrak. Karena aquadest bersifat polar, senyawa antibakteri non-polar yang mungkin juga berkontribusi terhadap aktivitas antibakteri tidak larut dengan baik, sehingga efektivitas total ekstrak menjadi terbatas (Emelda *et al.*, 2021). Kondisi lingkungan seperti pH media juga berperan penting dalam mendukung pertumbuhan bakteri dan aktivitas senyawa antibakteri (Purnowo *et al.*, 2024). Ketidaksesuaian pH dapat menurunkan aktivitas antibakteri atau pertumbuhan bakteri yang tidak optimal, sehingga mempengaruhi hasil pengujian.

Dengan demikian, hasil penelitian ini tidak hanya mengonfirmasi bahwa struktur dinding sel bakteri dan sifat kimia senyawa aktif memengaruhi efektivitas antibakteri, tetapi juga menegaskan perlunya optimalisasi metode ekstraksi dan kondisi pengujian untuk meningkatkan potensi antibakteri ekstrak kulit kakao. Pemahaman kritis

terhadap faktor-faktor ini penting untuk pengembangan produk antimikroba berbasis tanaman yang efektif dan aplikatif.

Tanin bekerja dengan mengendapkan (mempresipitasi) protein pada dinding dan membran sel bakteri, sehingga mengganggu pembentukan dinding sel yang menyebabkan lisis atau kematian sel. Tanin juga dapat menginaktivasi enzim penting bakteri, menghambat adhesi bakteri pada permukaan inang, serta mengganggu transport protein di dalam sel (Kusmayadi *et al.*, 2023). Efek ini membuat tanin efektif dalam merusak integritas dinding sel dan fungsi metabolik bakteri.

Flavonoid memiliki mekanisme antibakteri dengan cara merusak membran sel melalui pembentukan kompleks dengan protein ekstraseluler, yang menyebabkan kerusakan permeabilitas membran dan keluarnya isi sel bakteri (Diana, 2022). Flavonoid juga menghambat metabolisme energi dengan menghalangi penggunaan oksigen oleh bakteri, serta menghambat sintesis asam nukleat dengan berikatan pada DNA dan RNA bakteri, sehingga mengganggu pertumbuhan dan reproduksi bakteri (Harms *et al.*, 2024).

Saponin bekerja dengan meningkatkan permeabilitas membran sel bakteri, menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel, serta mengganggu stabilitas membran sitoplasma (Kusmayadi *et al.*, 2023). Saponin berinteraksi dengan kolesterol pada membran sel, mengubah struktur lipid sehingga membran menjadi tidak stabil dan menyebabkan lisis sel bakteri (Alkatiri, 2019). Selain itu, saponin menurunkan tegangan permukaan membran, memungkinkan senyawa intraseluler keluar dan menyebabkan kematian sel (Adha *et al.*, 2021).

Secara keseluruhan, tanin menargetkan dinding dan enzim bakteri, flavonoid merusak membran dan menghambat metabolisme energi serta sintesis asam nukleat, sedangkan saponin meningkatkan permeabilitas dan menyebabkan kerusakan fisik pada membran sel. Kombinasi mekanisme ini menjadikan ekstrak kulit kakao efektif dalam menghambat pertumbuhan berbagai bakteri patogen.

Hasil uji statistik menggunakan Anova dua arah menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$) pada daya hambat antibakteri sabun ekstrak kulit kakao terhadap berbagai konsentrasi sabun dan jenis bakteri, yang menguatkan klaim bahwa konsentrasi dan jenis bakteri memengaruhi efektivitas antibakteri. Namun, penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan, antara lain penggunaan pelarut aquadest yang kurang optimal dalam melarutkan senyawa non-polar sehingga potensi antibakteri ekstrak mungkin belum maksimal, tidak dilakukannya pengukuran pH media Nutrient Agar yang dapat memengaruhi pertumbuhan bakteri, serta belum diuji variasi waktu kontak atau stabilitas ekstrak selama pengujian.

Meskipun demikian, hasil penelitian ini memberikan potensi penting penggunaan ekstrak kulit kakao sebagai bahan baku sabun alami dengan aktivitas antibakteri yang efektif, sekaligus berkontribusi dalam pengurangan limbah kulit kakao yang selama ini belum dimanfaatkan secara optimal. Dengan mempertimbangkan variabel lingkungan seperti pH, suhu, dan kelembaban sebagaimana didukung oleh

penelitian Hani *et al.*, (2022) dan Guli *et al.*, (2024) peneliti dapat merancang studi lanjutan yang lebih efektif untuk mengembangkan produk antimikroba alami yang lebih kuat dan efisien. Implementasi ekstrak kulit kakao dalam produk sabun tidak hanya mendukung kesehatan masyarakat melalui pencegahan infeksi bakteri, tetapi juga mendukung praktik berkelanjutan dan pengelolaan limbah pertanian

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa sabun cuci tangan berbasis ekstrak kulit kakao memiliki kemampuan antibakteri terhadap bakteri patogen *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Salmonella typhi*, dengan efektivitas yang bervariasi antar jenis bakteri. *Staphylococcus aureus* menunjukkan sensitivitas tertinggi terhadap ekstrak kulit kakao, ditandai dengan zona hambat terbesar pada konsentrasi 100% (13,77 mm), meskipun nilai ini masih lebih rendah dibandingkan dengan kontrol positif menggunakan sabun komersial “Yuri”. Temuan ini mengindikasikan potensi ekstrak kulit kakao sebagai bahan alami alternatif dalam formulasi produk pembersih tangan yang ramah lingkungan dan mendukung pengurangan penggunaan bahan kimia sintetis. Secara ilmiah, hasil ini memberikan dasar untuk pengembangan produk antimikroba berbasis bahan alam yang dapat membantu mengatasi masalah resistensi bakteri dan limbah pertanian. Untuk penelitian selanjutnya, disarankan dilakukan optimasi metode ekstraksi guna meningkatkan rendemen dan konsentrasi senyawa aktif, pengujian efektivitas terhadap strain bakteri resisten antibiotik, serta formulasi sabun dengan kombinasi bahan alami lain untuk meningkatkan aktivitas antibakteri dan efek sinergis. Pendekatan ini diharapkan dapat menghasilkan produk pembersih tangan yang lebih efektif dan berkelanjutan.

REKOMENDASI

Berdasarkan hasil penelitian mengenai daya hambat antibakteri sabun ekstrak kulit kakao (*Theobroma cacao* L.), terdapat beberapa rekomendasi untuk penelitian selanjutnya. Pertama, eksplorasi variasi konsentrasi ekstrak dan penggunaan metode ekstraksi yang berbeda, seperti ekstraksi dengan pelarut organik lainnya yang dapat meningkatkan konsentrasi senyawa aktif yang berkontribusi terhadap aktivitas antibakteri. Selain itu, pengujian ekstrak terhadap berbagai jenis bakteri patogen lainnya, termasuk bakteri gram negatif dan gram positif yang lebih beragam, akan memberikan gambaran yang lebih komprehensif tentang potensi antibakteri dari ekstrak ini. Penelitian lebih lanjut juga perlu dilakukan untuk menguji kandungan metabolit sekunder dari kulit kakao. Namun, beberapa hambatan yang mungkin mempengaruhi hasil penelitian selanjutnya termasuk variabilitas dalam sumber bahan baku, yang dapat mempengaruhi konsentrasi dan komposisi senyawa aktif, serta faktor-faktor lingkungan yang dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri dan efektivitas senyawa antimikroba.

DAFTAR PUSTAKA

Adha, S., Dwi, & Ibrahim, M. (2021). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes*. *LenteraBio* :

- Berkala Ilmiah Biologi*, 10(2), 140–145.
- Afolayan. (2012). Kandungan Senyawa Fenolik Pada Kulit Buah Kakao. *Journal of Physiology and Pharmacology Advances*, 2(3), 158–164.
- Alkatiri, S. (2019). Pengaruh Pemberian Air Rebusan Tradisional Daun Alpukat (*Persea americana* Mill) Terhadap Tingkat Keasaman Saliva yang Diinduksi *Streptococcus mutans* Secara In Vitro.
- Davis, W., W., & Stout, T. R. (1971). Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay. *Applied Microbiology*, 22(4), 659–665.
- Diana, N. (2022). Potensi Limbah Kulit Kakao Sebagai Antibakteri *Staphylococcus aureus* Dan Kelayakan Ekonomisnya Sebagai Sediaan Gel Hand Sanitizer.
- Dipahayu, D. (2018). Karakteristik Fisika Masker Gel Peel Off dan Krim Wajah dengan Kandungan Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao*, L.) Sebagai Antioksidan Topikal. *Journal of Pharmacy and Science*, 3(2), 28–31.
- Emelda, Safitri, E. A., & Fatmawati, A. (2021). Aktivitas Inhibisi Ekstrak Etanolik *Ulva lactuca* terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, 7(1), 43–48.
- Firmanto, Puspitasari, N., Firmanto, Dharmawan, A., Wiradinata, R., Tunjungsari, A. B., Febrianto, N. A., & Dharmawan, A. D. (2023). Pemanfaatan Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L .) Untuk Substitusi Sumber Basa Pada Produk Sabun Mandi Cair. *Seminar Nasional Teknik Kimia Soebardjo Brotohardjono XIX*, 9(1), 78.
- Hamidah, M. N., Rianingsih, L., & Romadhon, R. (2019). Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat Dari Peda Dengan Jenis Ikan Berbeda Terhadap *E. Coli* Dan *S. Aureus*. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Perikanan*, 1(2), 11–21.
- Hani, F. K., Syarifah, & Sunarti, N. R. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Bonggol Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.) Terhadap *Salmonella enterica* Serotipe Typhi. *Journal of Biotropical Research and Nature Technology*, 1(1), 1–6.
- Harms, C. D. C., Activity, A., & Harms, C. D. C. (2024). Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Kulit Batang *Chisocheton* sp . 17(1), 87–96.
- Jaida, H., Sabara, Z., & Yani, S. (2021). Efektifitas Kulit Buah Kakao (*Theobroma Cacao* L) Sebagai Antibakteri Terhadap *Escherichia Coli* (*E.Coli*) dan Biosorben Terhadap Logam Cd dalam Air Menggunakan Aktivator Asam Nitrat (HNO_3). *Jurnal Geomine*, 9(2), 168–178.
- Jasmine, K. (2014). Analisis Kebutuhan Konsumen Ayam Boiler dengan Daya Saing. *Penambahan Natrium Benzoat Dan Kalium Sorbat (Antiinversi) Dan Kecepatan*

Pengadukan Sebagai Upaya Penghambatan Reaksi Inversi Pada Nira Tebu.

- Kusmayadi, A., Adriani, L., Abun, A., Muchtaridi, M., & Tanuwiria, U. H. (2023). Formulation and Antibacterial Activity Test of Salmonella thypimurium and Lactobacillus acidophilus in Microencapsulation of Mangosteen Peel Extract. *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA*, 9(4), 2282–2287.
- M. Guli, M., Priyandini, N., Lambui, O., Ardiputra, M. A., & Toemon, A. I. (2024). Uji efektivitas antibakteri ekstrak daun kayu hitam (Diospyros celebica Bakh.) terhadap bakteri Staphylococcus aureus dan Salmonella typhi. *Jurnal Kedokteran Universitas Palangka Raya*, 12(1), 39–46.
- Pallawagau, M., Yanti, N. A., Jahiding, M., Kadidae, L. O., Asis, W. A., & Hamid, F. H. (2019). Penentuan Kandungan Fenolik Total Liquid Volatile Matter dari Pirolisis Kulit Buah Kakao dan Uji Aktivitas Antifungi terhadap Fusarium oxysporum. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, 15(1), 165.
- Pratyaksa, I. P. L., Ganda Putra, G. P., & Suhendra, L. (2020). Karakteristik Ekstrak Kulit Buah Kakao (Theobroma cacao L.) sebagai Sumber Antioksidan pada Perlakuan Ukuran Partikel dan Waktu Maserasi. *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*, 8(1), 139.
- Purnowo, D., Setiawan, A., & Yusmaniar, Y. (2024). Pengaruh Faktor Suhu dan Kelembaban pada Lingkungan Kerja terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Mikroba. *JRSKT - Jurnal Riset Sains Dan Kimia Terapan*, 9(2), 45–54.
- Purwanti, Aliyah, Agustin, D. B., & Nuri, N. (2023). Uji Potensi Antibakteri Streptococcus mutans Ekstrak Kulit Biji Kakao (Theobroma cacao L) dengan Metode Ekstraksi Sonikasi. *Jurnal Farmasi Higea*, 15(1), 64.
- Regita Fortunata, Tatiana Siska Wardani, & Desy Ayu Irma Permatasari. (2023). Uji Aktivitas Anti Bakteri Ekstrak Etanol Dan Fraksi n-Heksana, Etil Asetat, Air Dari Kulit Buah Kakao (Theobroma cacao L.) Terhadap Bakteri Staphylococcus epidermidis ATCC 12228 Dengan Metode Difusi Dan Dilusi. *Jurnal Medika Nusantara*, 1(4), 84–102.
- Siswanto, A., Bagus, I., & Muksin. (2020). Biodegradar Limbah Kulit Buah Kakao (Theobroma cacao L.) Oleh Kupang Aspergillus niger Dengan Variasi Jumlah dan Inokulum Waktu Inkubasi. 41–51.
- Wahyuni. (2019). Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Dari Sampel Pus Dan Pola Sensivitas Terhadap Antibiotik Penicillin , Cefuroxime Dan Meropenen Di Rs Inco Pt . Vale Sorowako. *Skripsi Universitas Alauddin Makassar*, 1–81.
- WHO. (2009). Buku Prosiding Kongres XX & Pertemuan Ilmiah Tahunan Ikatan Apoteker Indonesia | ani pahriyani - Academia.edu. *Academia.Edu*. I