

**PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK
DAUN KAKAO (*Theobroma cacao* L.) DAN TEH HIJAU
(*Camellia sinensis*) BERBASIS NANOPARTIKEL PERAK
(AgNPs) TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa***

(Skripsi)

**Oleh
Reti Fusfita
2118031034**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

**PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK
DAUN KAKAO (*Theobroma cacao* L.) DAN TEH HIJAU
(*Camellia sinensis*) BERBASIS NANOPARTIKEL PERAK
(AgNPs) TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa***

**Oleh:
Reti Fusfita**

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar
SARJANA FARMASI**

Pada

**Program Studi Farmasi
Fakultas Kedokteran Universitas Lampung**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

Judul Skripsi

: **PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI
EKSTRAK DAUN KAKAO (*Theobroma cacao*
L.) DAN TEH HIJAU (*Camellia sinensis*)
BERBASIS NANOPARTIKEL PERAK (AgNPs)
TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa***

Nama Mahasiswa

: **Reti Jusfita**

No. Pokok Mahasiswa

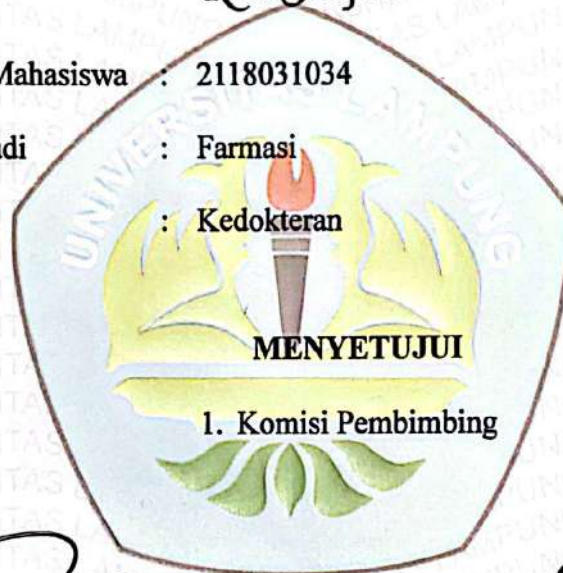
: **2118031034**

Program Studi

: **Farmasi**

Fakultas

: **Kedokteran**



apt. Muhammad Iqbal, M.Sc.
NIP. 198612052022031003

Afriyani, M. Farm.
NIP. 199504172022032022

2. Dekan Fakultas Kedokteran



Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc.
NIP. 197601202003122001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua

: apt. Muhammad Iqbal, M.Sc.



Sekretaris

: Afriyani, M. Farm.



Penguji

Bukan Pembimbing : Atri Sri Ulandari, S.Si., M.Farm.



2. Dekan Fakultas Kedokteran



Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc.
NIP. 197601202003122001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 23 Juli 2025

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Reti Fusfita

Nomor Pokok Mahasiswa : 2118031034

Tempat Tanggal Lahir : Kota Karang, 17 Juli 2002

Alamat : Jl. Bumimanti 1, Kampung Baru, Bandar Lampung

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya, bahwa:

1. Skripsi dengan judul **“PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN KAKAO (*Theobroma cacao* L.) DAN TEH HIJAU (*Camellia sinensis*) BERBASIS NANOPARTIKEL PERAK (AgNPs) TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa*”** adalah hasil karya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai tata etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau plagiarisme.
2. Hal intelektual atas karya ilmiah ini disertakan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

Atas pernyataan ini, apabila dikemudian hari ternyata ditemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya.

Bandar Lampung, 23 Juli 2025

Pembuat Pernyataan



Reti Fusfita

NPM. 2118031034

Skripsi ini saya persembahkan untuk kedua orang tua saya dan semua orang terdekat saya, yang selalu memberikan dukungan sampai saya berada pada tahap ini

“Dengan Bersyukur Semua Terasa Cukup”

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Kota Karang pada tanggal 17 Juli 2002 sebagai anak ketiga dari empat bersaudara pasangan Bapak Indra Bangsawan dan Ibu Nurhayati. Penulis memiliki riwayat pendidikan SDN 1 Sumber Rejo, SMPN 3 Balaraja, dan SMAN 19 Kab. Tangerang. Penulis terdaftar sebagai mahasiswa di Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN) pada tahun 2021.

Selama menjadi mahasiswa penulis turut aktif dalam organisasi kemahasiswaan diantaranya di Himpunan Mahasiswa Farmasi (Himafarsi) sebagai Sekretaris Umum pada tahun 2023-2024 dan tahun 2024-2025, PMPATD Pakis Rescue Team sebagai anggota, dan Dewan Perwakilan Mahasiswa sebagai Legislator Muda. Semasa perkuliahan, penulis mengikuti beberapa kegiatan non-akademis maupun kemahasiswaan yang pernah diikuti penulis antara lain meliputi Dies Natalis FK Unila ke-20 serta menjabat sebagai Ketua divisi Kestari pada kepanitiaan Pharmalation 2023.

SANWACANA

Puji syukur penulis sampaikan atas kehadiran Tahun Yang Maha Esa, atas rahmat, nikmat, serta berkat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN KAKAO (*Theobroma cacao* L.) DAN TEH HIJAU (*Camellia sinensis*) BERBASIS NANOPARTIKEL PERAK (AgNPs) TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa*”**.

Dalam menyelesaikan skripsi ini penulis banyak mendapatkan bimbingan, masukan, pembelajaran, dorongan, serta kritik dan saran dari berbagai pihak.

Dengan ini penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Allah SWT yang telah memberikan ridho, nikmat iman, nikmat islam, nikmat ilmu, nikmat sehat, dan karunia-Nya kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan perkuliahan dan skripsi dengan baik;
2. Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.,A., I.P.M selaku Rektor Universitas Lampung;
3. Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
4. dr. Rani Himayani, S.Ked., Sp.M. selaku Ketua Program Studi Farmasi;
5. Bapak apt. Muhammad Iqbal, M.Sc. selaku Pembimbing I yang telah bersedia meluangkan waktunya dalam membimbing dengan penuh kesabaran, memberi arahan, dorongan, dan motivasi bagi penulis selama proses penyusunan skripsi;
6. Ibu Afriyani, S.Farm, M.Farm. selaku Pembimbing II yang telah bersedia meluangkan waktunya dalam membimbing dengan penuh kesabaran, memberi arahan, dorongan, dan motivasi bagi penulis selama proses penyusunan skripsi;
7. Ibu Atri Sri Ulandari, S.Si., M.Farm. selaku pembahas yang telah bersedia meluangkan waktunya dalam membimbing dengan penuh kesabaran, memberi arahan, dorongan, dan motivasi bagi penulis selama proses penyusunan skripsi;

8. Ibu Atri Sri Ulandari, S.Si., M.Farm. selaku pembimbing akademik yang telah memberikan bimbingan selama perkuliahan hingga semester akhir;
9. Seluruh dosen Fakultas Kedokteran Universitas Lampung atas ilmu dan bimbingan yang telah diberikan selama proses perkuliahan;
10. Seluruh staf dan civitas akademik Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang telah membantu proses penyusunan skripsi dan membantu penulis selama menjalankan studi di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
11. Terima kasih yang sebesar-besarnya kepada kedua orang tua saya, Bapak Indra Bangsawan dan Ibu Nurhayati, yang telah menjadi cahaya dalam setiap langkah perjalanan hidup saya. Tanpa doa, dukungan, dan cinta tanpa batas dari kalian, saya tidak akan mampu sampai di titik ini.
Ayah dan Ibu, terima kasih atas setiap doa yang dihadiahkan, atas kerja keras dan pengorbanan yang tiada henti demi pendidikan dan masa depan penulis. Ribuan motivasi, nasihat, dorongan, dan pelukan hangat dari kalian adalah kekuatan terbesar yang membuat saya mampu bertahan dan menyelesaikan skripsi ini. Semoga keberhasilan ini menjadi awal dari kebahagiaan yang bisa saya persembahkan untuk keluarga kita kelak;
12. Keluarga penulis, wo Nesa, udo Reki, dan Tenza yang telah mendukung dan memberikan semangat bagi penulis;
13. Seseorang ber-NPM 119300032 yang sudah memberikan segala dukungannya dalam berbagai bentuk selama penulisan skripsi ini berlangsung;
14. Para sahabat Niken, Desi, dan Ica yang selalu mendukung penulis selama masa sekolah dan perkuliahan;
15. Para sahabat RTB kak Miah, kak Sifa, kak Putri, Iim, dan Risma yang menemani dan memberikan semangat bagi penulis dalam menempuh pendidikan Sarjana Farmasi di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
16. Para Sahabat Ranesya, Ummi, Fira, Risma, dan Ade yang selalu mengisi hari-hari penulis selama perkuliahan;
17. Teman-teman Farmasi angkatan 2021 yang saling memberikan dukungan dan motivasi;
18. Keluarga besar Himpunan Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang pernah memberikan kesempatan penulis dalam

menjadi sekretaris umum dan memberikan ruang bagi penulis dalam mengembangkan banyak *skill* di dalamnya;

19. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan namanya satu-persatu yang telah memberikan bantuan dan dukungan kepada penulis.

Peneliti menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan. Peneliti berharap agar skripsi ini dapat bermanfaat bagi orang banyak dan dapat menambah pengetahuan serta informasi bagi pembaca.

Bandar Lampung, 23 Juli 2025

Penulis

Reti Fusfita

ABSTRACT

COMPARATIVE ACTIVITY OF ANTIBACTERIAL EXTRACTS FROM COCOA LEAVES (*Theobroma cacao* L.) AND GREEN TEA (*Camellia sinensis*) BASED ON SILVER NANOPARTICLES (AgNPs) AGAINST *Pseudomonas aeruginosa*

By

Reti Fusfita

Background: *Pseudomonas aeruginosa* is a bacteria that causes infections that are difficult to treat due to its resistance to antibiotics. Silver nanoparticles (AgNPs) from natural sources, such as cocoa leaves (*Theobroma cacao* L.) and green tea (*Camellia sinensis*), have potential as antibacterial agents.

Purpose: To determine and compare the antibacterial activity of silver nanoparticles from cocoa leaves and green tea extracts against *Pseudomonas aeruginosa*.

Methods: An experimental laboratory study used the infusion method for extraction, AgNPs synthesis using the green synthesis method, phytochemical screening, and antibacterial activity testing using the disc diffusion method.

Results: The cocoa leaves extract solution contained alkaloids, flavonoids, tannins, and saponins. The green tea leaves extract solution contained flavonoids, tannins, saponins, and terpenoids. The AgNPs particles from the cocoa leaves extract were spherical, tending to be polygonal, with sharper edges and more pronounced angles, and an average inhibition zone of 6.3 mm (moderate). Green tea leaves extract AgNPs were irregularly shaped, forming aggregates, and smaller in size than cocoa leaves extract AgNPs, with an inhibition zone of 7.3 mm (moderate).

Conclusion: Green tea leaves extract AgNPs exhibited greater antibacterial activity against *Pseudomonas aeruginosa* than cocoa leaves extract AgNPs.

Keywords: Antibacterial, Cocoa leaves, Green tea leaves, Silver nanoparticle

ABSTRAK

PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN KAKAO (*Theobroma cacao* L.) DAN TEH HIJAU (*Camellia sinensis*) BERBASIS NANOPARTIKEL PERAK (AgNPs) TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa*

Oleh

Reti Fusfita

Latar Belakang: *Pseudomonas aeruginosa* merupakan salah satu bakteri penyebab infeksi yang sulit diatasi karena resistensinya terhadap antibiotik. Nanopartikel perak (AgNPs) dari bahan alam, seperti daun kakao (*Theobroma cacao* L.) dan teh hijau (*Camellia sinensis*) dapat berpotensi sebagai agen antibakteri.

Tujuan: Mengetahui dan membandingkan aktivitas antibakteri nanopartikel perak ekstrak daun kakao dan teh hijau terhadap *Pseudomonas aeruginosa*.

Metode: Penelitian laboratorium eksperimental menggunakan metode infusa untuk ekstraksi, sintesis AgNPs dengan metode *green synthesis*, skrining fitokimia, dan pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram.

Hasil: Ekstrak larutan daun kakao mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin. Ekstrak larutan daun teh hijau mengandung senyawa flavonoid, tanin, saponin, dan terpenoid. Partikel AgNPs ekstrak daun kakao berbentuk bulat cenderung *polygonal* dengan sisi yang lebih tajam dan sudut yang lebih jelas dan rata-rata zona hambat 6,3 mm (sedang). AgNPs ekstrak daun teh hijau berbentuk tidak beraturan, membentuk agregat, ukurannya lebih kecil dari AgNPs ekstrak daun kakao dengan zona hambat 7,3 mm (sedang).

Simpulan: AgNPs ekstrak daun teh hijau menunjukkan aktivitas antibakteri yang lebih besar terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dibandingkan AgNPs ekstrak daun kakao.

Kata Kunci: Antibakteri, Daun kakao, Daun Teh Hijau, Nanopartikel perak

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR ISI.....	i
DAFTAR GAMBAR.....	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1 Manfaat Bagi Peneliti	4
1.4.2 Manfaat Bagi Institusi Terkait	4
1.4.3 Manfaat Bagi Masyarakat.....	4
1.5 Batasan Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Penyakit Infeksi	5
2.2.1 Agen Infeksi.....	5
2.2.2 Proses Penyakit Infeksi	10
2.2.3 Pengobatan Infeksi Bakteri	11
2.2 Antibakteri	12
2.3 Nanoteknologi.....	14
2.3.1 Nanopartikel.....	15
2.3.2 Nanopartikel Perak	16

2.3.3	Aplikasi Nanopartikel Perak Dalam Bidang Medis.....	18
2.4	Tanaman Daun Kakao	19
2.4.1	Klasifikasi	19
2.4.2	Deskripsi	20
2.4.3	Morfologi.....	20
2.4.4	Kandungan Kimia	22
2.4.5	Manfaat dan Khasiat	26
2.5	Tanaman Teh Hijau	27
2.5.1	Klasifikasi	27
2.5.2	Deskripsi	27
2.5.3	Morfologi.....	28
2.5.4	Kandungan Kimia	30
2.5.5	Manfaat dan Khasiat	33
2.6	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	36
2.6.1	Klasifikasi	36
2.6.2	Deskripsi	36
2.6.3	Morfologi.....	37
2.6.4	Patogenesis.....	37
2.7	Metode Ekstraksi	38
2.7.1	Infusa	38
2.7.2	Maserasi	39
2.7.3	Perkolasi.....	40
2.7.4	Soxhletasi.....	41
2.8	Spektrofotometri UV-Vis	41
2.9	<i>Scanning Electron Microscopy</i>	42
2.10	Uji Aktivitas Antibakteri	43
2.10.1	Metode Difusi Agar	43
2.11	Kerangka Teori	48
2.12	Kerangka Konsep.....	49
2.13	Hipotesis	49
2.11.1	Hipotesis null (H0).....	49
2.11.2	Hipotesis alternatif (H1)	49

BAB III METODE PENELITIAN	50
3.1 Desain Penelitian	50
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	50
3.1 Tempat Penelitian	50
3.2 Waktu Penelitian.....	51
3.3 Alat dan Bahan	51
3.3.1 Alat Penelitian.....	51
3.3.2 Bahan Penelitian	51
3.3.3 Mikroba Uji Penelitian.....	52
3.3.4 Media Kultur.....	52
3.4 Variabel Penelitian.....	52
3.4.1 Variabel Bebas	52
3.4.2 Variabel Terikat	52
3.4.3 Variabel Kontrol	52
3.5 Definisi Operasional	53
3.6 Prosedur Penelitian	54
3.6.1 Determinasi Tanaman	54
3.6.2 Preparasi Sampel.....	54
3.6.3 Pengukuran Spektrum UV-VIS	57
3.6.4 Karakterisasi Nanopartikel Perak	57
3.6.5 Pengujian Aktivitas Antibakteri.....	58
3.7 Alur Penelitian.....	61
3.8 Pengolahan Data dan Analisis Data.....	62
3.8.1 Pengolahan Data	62
3.8.2 Analisis Data.....	62
3.9 Etika Penelitian.....	63
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	64
4.1 Hasil Penelitian.....	64
4.1.1 Hasil Determinasi Tanaman.....	65
4.1.2 Ekstraksi.....	65
4.1.3 Hasil Uji Fitokimia	67
4.1.4 Hasil Biosintesis Nanopartikel Perak	70

4.1.5	Hasil Pengukuran Spektrum Uv- Vis.....	70
4.1.6	Hasil Karakterisasi Nanopartikel Perak.....	73
4.1.7	Hasil Identifikasi Bakteri.....	75
4.1.8	Hasil Uji Aktivitas Antibakteri.....	75
4.1.9	Hasil Analisis Data Antibakteri.....	77
4.2	Pembahasan.....	79
4.2.1	Ekstraksi.....	79
4.2.2	Uji Fitokimia.....	80
4.2.3	Biosintesis Nanopartikel.....	81
4.2.4	Pengukuran Panjang Gelombang.....	83
4.2.5	Karakterisasi Biosintesis Nanopartikel Perak.....	84
4.2.6	Aktivitas Antibakteri.....	86
4.3	Keterbatasan Penelitian.....	90
BAB V PENUTUP.....		91
5.1	Kesimpulan.....	91
5.2	Saran.....	91
DAFTAR PUSTAKA.....		93
LAMPIRAN.....		104

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 1. Ultra Struktur Bakteri.....	6
Gambar 2. Struktur Dasar Virus.....	7
Gambar 3. Morfologi Miselium dan Hifa Jamur Multiseluler.....	8
Gambar 4. Morfologi <i>Trichonympha</i> Kelas <i>Mastigophora</i>	9
Gambar 5. Cara Kerja Antibiotik.....	12
Gambar 6. Mekanisme Kerja Antibakteri dari Senyawa Turunan Tanaman.....	14
Gambar 7. Jenis dan Subtipe Nanopartikel.....	15
Gambar 8. Sintesis AgNPs dengan Ekstrak Tanaman.....	18
Gambar 9. Tanaman kakao.....	20
Gambar 10. Daun Tanaman Kakao.....	21
Gambar 11. Contoh Senyawa Alkaloid.....	23
Gambar 12. Struktur Dasar Flavonoid.....	24
Gambar 13. Struktur Katekin.....	25
Gambar 14. Kebun Teh Pagar Alam.....	27
Gambar 15. Daun Teh Hijau.....	29
Gambar 16. Struktur Kimia Katekin yang diisolasi dari Teh Hijau.....	30
Gambar 17. Struktur Kimia Flavonoid yang diisolasi dari Teh Hijau.....	31
Gambar 18. Struktur kimia alkaloid yang diisolasi dari teh hijau.....	32
Gambar 19. Struktur Peptidoglikan.....	35
Gambar 20. Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	37
Gambar 21. Metode Difusi Cakram.....	44
Gambar 22. Metode Difusi Sumuran.....	45
Gambar 23. Metode Difusi Parit.....	47
Gambar 24. Kerangka Teori.....	48
Gambar 25. Kerangka Konsep.....	49

Gambar 26. Pengukuran Diameter Zona Hambat Bakteri.....	60
Gambar 27. Alur Penelitian.....	61
Gambar 28. Larutan AgNPs Daun Kakao dan Daun Teh Hijau.....	70
Gambar 29. Absorbansi Panjang Gelombang AgNPs Daun Kakao.....	71
Gambar 30. Kurva Panjang Gelombang AgNPs Daun Kakao.....	71
Gambar 31. Absorbansi Panjang Gelombang AgNPs Daun Teh Hijau.....	72
Gambar 32. Kurva Panjang Gelombang AgNPs Daun Teh Hijau.....	72
Gambar 33. Bentuk Morfologi Nanopartikel Perak Daun Kakao.....	73
Gambar 34. Morfologi Pati Jagung Putih.....	73
Gambar 35. Bentuk Morfologi Nanopartikel Perak Daun Teh.....	74
Gambar 36. Morfologi AgNPs Daun Teh Hijau.....	74
Gambar 37. Diameter Zona Hambat AgNPs Daun Kakao dan Daun Teh Terhadap <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	76
Gambar 38. Mekanisme Pembentukan Nanopartikel Perak oleh Flavonoid.....	82
Gambar 39. Absorbansi Panjang Gelombang AgNPs Daun Kakao.....	83
Gambar 40. Absorbansi Panjang Gelombang AgNPs Daun Teh Hijau.....	84
Gambar 41. Morfologi Partikel AgNPs Daun Kakao dan AgNPs Daun.....	85

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 1. Taksonomi Tanaman Kakao.....	19
Tabel 2. Taksonomi Tanaman Teh Hijau.....	27
Tabel 3. Klasifikasi <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	36
Tabel 4. Definisi Operasional.....	53
Tabel 5. Hasil Rendemen Ekstrak Larutan Daun Kakao.....	66
Tabel 6. Hasil Rendemen Ekstrak Larutan Daun Teh Hijau.....	67
Tabel 7. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Larutan Daun Kakao.....	68
Tabel 8. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Larutan Daun Teh Hijau.....	69
Tabel 9. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	75
Tabel 10. Hasil Uji Normalitas dan Homogenitas Diameter Zona Hambat.....	77
Tabel 11. Hasil Uji <i>Kruskall-Wallis</i> Aktivitas Antibakteri Terhadap.....	78
Tabel 12. Hasil Uji <i>Mann Whitney</i> Aktivitas Antibakteri terhadap.....	79
Tabel 13. Kategori Aktivitas Antibakteri Berdasarkan Diameter Zona.....	87

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
Lampiran 1. Etik Penelitian.....	105
Lampiran 2. Determinasi Tanaman	106
Lampiran 3. Hasil Uji Skrining Fitokimia	110
Lampiran 4. Biosintesis Nanopartikel Perak	111
Lampiran 5. Perhitungan Konsentrasi Pada Proses Biosintesis Nanopartikel ...	112
Lampiran 6. Hasil Uji Spektrofotometri UV-Vis	113
Lampiran 7. Hasil Uji SEM.....	115
Lampiran 8. Identitas Bakteri.....	117
Lampiran 9. Perhitungan Zona Hambat	118
Lampiran 10. Uji Aktivitas Antibakteri	119
Lampiran 11. Hasil Analisis SPSS	120
Lampiran 12. Kegiatan Penelitian	122
Lampiran 13. Surat Penelitian Laboratorium Mikrobiologi.....	124

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Infeksi merupakan penyebab utama kematian di seluruh dunia dengan 15 juta kematian pada tahun 2010, dua pertiganya disebabkan oleh bakteri dan virus (Kherid *et al.*, 2020). Infeksi nosokomial umumnya disebabkan oleh bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, termasuk pneumonia, infeksi saluran kemih, infeksi di tempat operasi, dan bakteremia. Prevalensi *Pseudomonas aeruginosa* diantara semua infeksi terkait perawatan kesehatan diperkirakan sekitar 7,1%–7,3% hayati (Reynolds & Kollef, 2021). Infeksi ini meningkatkan beban penyakit global, memperpanjang masa perawatan dan biaya rumah sakit, serta meningkatkan penggunaan dan resistensi antimikroba yang sangat tinggi, sehingga berdampak negatif pada kesejahteraan pasien dan menularkan infeksi kepada orang lain dan staf medis (Venkataraman *et al.*, 2023). Hal ini menunjukkan perlunya perhatian dan upaya lebih dalam pencegahan dan penanganan infeksi yang disebabkan oleh bakteri tersebut.

Resistensi antimikroba (AMR) mengancam kesehatan global dengan menyebabkan 700.000 kematian pertahun, yang diproyeksikan meningkat menjadi 10 juta pada 2050. AMR diperparah oleh kemampuan bakteri dalam membentuk biofilm, sehingga meningkatkan resistensi terhadap obat dan kekebalan tubuh. Sementara itu, meningkatkan dosis antibiotik hanya akan menambah toksisitas dan efek samping (Colilla & Regí, 2020).

Nanoteknologi khususnya nanopartikel perak (AgNPs), menunjukkan potensi besar sebagai antimikroba dan desinfektan (Widatalla *et al.*, 2022). Masker berlapis nanopartikel perak dan titanium dioksida terbukti menghilangkan

100% koloni bakteri *E. coli* dan *S. aureus* dalam 48 jam (Bruna *et al.*, 2021). Penemuan ini menunjukkan potensi besar penggunaan nanopartikel perak untuk meningkatkan efektivitas dalam pencegahan infeksi bakteri. Sintesis AgNPs melalui metode *green synthesis* menggunakan ekstrak tanaman menjadi pendekatan inovatif untuk pencegahan infeksi bakteri (Widatalla *et al.*, 2022). Dua sumber ekstrak yang berpotensi adalah daun kakao (*Theobroma cacao* L.) dan daun teh hijau (*Camellia sinensis*).

Daun kakao (*Theobroma cacao* L.) memiliki sifat antibakteri, antioksidan, antiinflamasi, dan berfungsi sebagai antibiotik karena mengandung senyawa fenolat dan flavonoid (Maqfirah *et al.*, 2023). Ekstraknya menghasilkan zona hambat terhadap *E. coli* sebesar 5-10 mm (Hayati *et al.*, 2022). Sementara itu, nanopartikel perak dari ekstrak daun kakao mencapai 21 mm (Efavi *et al.*, 2022). Perbedaan ini menunjukkan bahwa penggunaan nanopartikel perak sebagai agen tambahan dapat meningkatkan efektivitas antibakteri dari ekstrak daun kakao. Sementara itu, daun teh hijau (*Camellia sinensis*) dengan kandungan katekin, terutama *epigallocatechin gallate* (EGCG) menunjukkan aktivitas antimikroba (Parvez *et al.*, 2019). Ekstraknya menghasilkan zona hambat terhadap *Streptococcus mutans* sebesar 15,2 mm (Wijaya *et al.*, 2021), sedangkan nanopartikel perak dari ekstraknya memberikan hambatan 10 mm terhadap *Klebsiella* spp. (Widatalla *et al.*, 2022).

Daun kakao dan teh hijau memiliki potensi sebagai agen antibakteri karena kandungan flavonoid dan polifenol yang tidak hanya melawan bakteri patogen, tetapi juga meningkatkan aktivitas antibakteri nanopartikel perak (AgNPs) (Maqfirah *et al.* 2023; Zhao *et al.*, 2022). Sehingga menjadi pilihan menarik dalam pengembangan terapi alternatif untuk infeksi bakteri. Dengan demikian, penggunaan nanopartikel perak dari ekstrak daun kakao dan daun teh hijau dapat memperluas spektrum dan meningkatkan efektivitas antibakteri terhadap berbagai patogen. Uji antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* berdasarkan nanopartikel perak (AgNPs) dari ekstrak daun kakao dan daun teh

hijau belum pernah dilakukan, sehingga penelitian ini dapat memberikan kontribusi penting dalam pengembangan terapi antibakteri berbasis bahan alam.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana profil fitokimia dari ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao* L.) dan daun teh hijau (*Camellia sinensis*)?
2. Bagaimana aktivitas antibakteri nanopartikel perak dari ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*?
3. Bagaimana aktivitas antibakteri nanopartikel perak dari ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis*) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan umum penelitian ini adalah untuk mengetahui perbandingan aktivitas antibakteri nanopartikel perak ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao* L.) dan daun teh hijau (*Camellia sinensis*) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui profil fitokimia dari ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao* L.) dan daun teh hijau (*Camellia sinensis*).
2. Mengetahui aktivitas antibakteri nanopartikel perak dari ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.
3. Mengetahui aktivitas antibakteri nanopartikel perak dari ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis*) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Bagi Peneliti

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi rujukan untuk penelitian selanjutnya terkait antibakteri dari nanopartikel perak ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao* L.) dan daun teh hijau (*Camellia sinensis*).

1.4.2 Manfaat Bagi Institusi Terkait

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi rujukan bacaan untuk penelitian selanjutnya di Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

1.4.3 Manfaat Bagi Masyarakat

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan pengetahuan kepada masyarakat bahwa tanaman daun kakao (*Theobroma cacao* L.) dan daun teh hijau (*Camellia sinensis*) dapat digunakan sebagai pengobatan alternatif dari penyakit infeksi yang disebabkan oleh mikroba.

1.5 Batasan Penelitian

Batasan penelitian ini dibuat untuk menghindari pelebaran fokus penelitian sehingga lebih terarah dan tujuan dari penelitian ini dapat tercapai. Adapun batasan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Metode pengujian antibakteri yang digunakan dalam penelitian ini hanya fokus menggunakan metode difusi cakram
2. Bakteri yang digunakan pada penelitian ini berfokus pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.
3. Konsentrasi sampel yang digunakan pada penelitian ini hanya menggunakan 1 seri konsentrasi.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Penyakit Infeksi

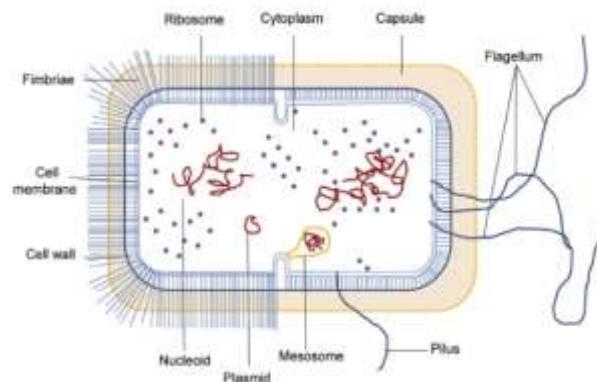
Penyakit infeksi disebabkan oleh mikroorganisme patogen seperti bakteri, virus, parasit, atau jamur (WHO, 2024). Meski banyak dari mikroorganisme ini tidak berbahaya atau bermanfaat, beberapa dapat menyebabkan penyakit dalam kondisi tertentu (Joegijantoro, 2019). Penyakit infeksi terjadi akibat invasi patogen yang merusak jaringan inang dan berkembang biak di dalam jaringan inang (Kanchan, 2016). Penyakit infeksi dapat menular melalui kontak dengan orang yang terinfeksi, hewan yang terinfeksi, atau benda mati yang terkontaminasi, lalu menginfeksi inang yang rentan (Seventer & Hochberg, 2017), serta menunjukkan gejala klinis atau asimtomatik. Manifestasi klinisnya dapat bervariasi dari ringan hingga berat, serta bisa bersifat akut (jangka pendek) atau kronis (jangka panjang). Infeksi subklinis tidak menunjukkan gejala, tetapi dapat didiagnosis melalui deteksi agen penyebab atau perubahan organ tertentu dan dapat menularkan penyakit (Joegijantoro, 2019).

2.2.1 Agen Infeksi

1. Bakteri

Bakteri adalah organisme prokariotik yang membawa informasi genetiknya dalam molekul DNA sirkuler yang memiliki untai ganda (Sanchez & Doron, 2017). Sel bakteri terdiri dari struktur dasar dan struktur khusus. Struktur dasar meliputi dinding sel, membran sel, sitoplasma, ribosom, plasmid. Struktur khusus hanya ditemukan pada beberapa bakteri, diantaranya flagel, pilus, kapsul, spora (Gambar 1). Bentuk dasar bakteri bervariasi, seperti bulat,

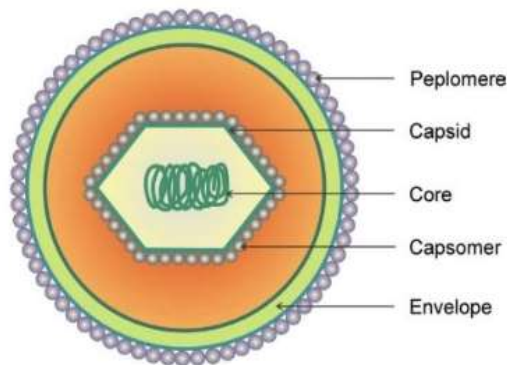
batang, dan melengkung, serta dapat berubah sesuai dengan usia dan kondisi pertumbuhan. Bakteri juga bisa mengalami degenerasi, yaitu perubahan bentuk akibat faktor lingkungan yang tidak mendukung, seperti nutrisi dan suhu (Effendi *et al.*, 2023).



Gambar 1. Ultra Struktur Bakteri (Zhao & Li, 2015)

Bakteri diklasifikasikan berdasarkan karakteristik dinding sel, bentuk, atau susunan genetiknya (Joegijantoro, 2019). Berdasarkan perbedaan karakteristik dinding selnya, bakteri dibedakan menjadi dua kelompok, yaitu bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Bakteri gram positif memiliki dinding sel yang tebal dan keras, terdiri dari peptidoglikan dan asam *teichoic* di luar peptidoglikan. Sementara itu, bakteri gram negatif memiliki lapisan peptidoglikan yang lebih tipis dan dilapisi oleh membran luar yang terdiri dari lipoprotein, fosfolipid, dan lipopolisakarida (Effendi *et al.*, 2023). Bakteri dapat berkembang biak dengan cepat melalui pembelahan biner dan bisa menyebabkan infeksi serius meskipun dalam jumlah yang sedikit (Sanchez & Doron, 2017).

2. Virus



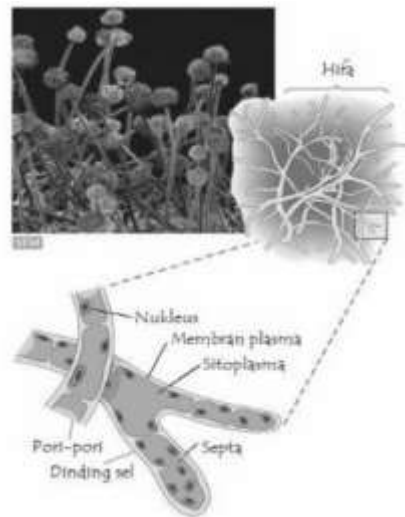
Gambar 2. Struktur Dasar Virus (Zhao & Li, 2015)

Virus merupakan salah satu jenis mikroba aseluler yang sebagian besar terdiri dari asam nukleat dan protein. beberapa virus tersusun dari sejumlah kecil lipid dan polisakarida. struktur dasar virus terdiri dari inti virus, kapsid virus, serta selubung membran pada beberapa virus (Gambar 2). Ukuran, morfologi, dan struktur virus memainkan peran penting dalam taksonomi virus dan dalam mendiagnosis infeksi virus (Zhao & Li, 2015). Virus adalah parasit intraseluler obligat yang bersifat patogen dan berbeda dari organisme lain karena tidak memiliki komponen seluler seperti mitokondria, badan golgi, kloroplas, dan retikulum endoplasma (Effendi *et al.*, 2023). Virus tidak dapat menghasilkan energi sendiri, tidak mengalami pertumbuhan, dan memiliki struktur yang sederhana. Oleh karena itu, mereka hanya dapat berkembang biak di dalam sel hidup lain (sel inang) yang cocok untuk mendukung jenis virus tertentu (Dronina *et al.*, 2021).

Virus merupakan parasit sejati yang sepenuhnya bergantung pada sel inang untuk hampir semua fungsi hidupnya. Berbeda dengan organisme sebenarnya, virus tidak dapat mensintesis protein karena tidak memiliki ribosom (organel sel) yang diperlukan untuk menerjemahkan *messenger* RNA (mRNA) virus, yaitu salinan komplementer asam nukleat dari nukleus yang berperan dalam

mengarahkan sintesis protein menjadi protein. Oleh karena itu, virus harus memanfaatkan ribosom sel inang untuk menerjemahkan mRNA-nya menjadi protein virus (Joegijantoro, 2019).

3. Fungi



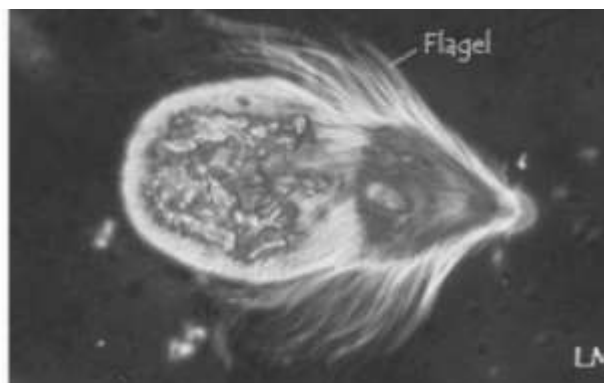
Gambar 3. Morfologi Miselium dan Hifa Jamur Multiseluler (Prayitno & Hidayati, 2020)

Fungi adalah organisme eukariotik yang dapat ditemukan di berbagai habitat karena sifat kosmopolitan mereka. Sebagai organisme heterotrof yang sederhana, fungi memiliki struktur seluler yang berinti dan berspora, tetapi tidak memiliki klorofil. Mereka berbentuk sel atau benang bercabang dengan dinding sel yang terdiri dari kitin, glukukan, dan manan (Effendi *et al.*, 2023). Fungi dapat berkembang biak secara seksual maupun aseksual, serta menjalin hubungan simbiotik dengan tanaman dan bakteri. Namun, mereka juga dapat menyebabkan penyakit pada tumbuhan dan hewan (Joegijantoro, 2019). Fungi memiliki struktur vegetatif yang disebut thallus, yang terdiri dari filamen atau benang hifa, sedangkan miselium adalah jaringan hifa tersebut (Effendi *et al.*, 2023). Pada jamur, sel hifa dipisahkan oleh dinding yang disebut septa. Septa ini

memiliki pori-pori yang memungkinkan sitoplasma dan inti sel untuk melewati antarahifa (Gambar 3) (Prayitno & Hidayati, 2020).

Fungi terbagi menjadi dua kelompok berdasarkan jenis selnya, yaitu uniseluler, yang dikenal sebagai khamir atau ragi, dan multiseluler, yang dikenal sebagai kapang atau *mold* (Effendi *et al.*, 2023). Selain itu, fungi juga dapat dibedakan berdasarkan ukurannya menjadi mikrofungi, yang hanya dapat dilihat dengan mikroskop, dan makrofungi, yang membentuk tubuh buah yang terlihat dengan mata telanjang. Makrofungi dibagi lagi menjadi dua kategori: jamur yang dapat dimakan, seperti *Pleurotus ostreatus* (jamur tiram) dan *Auricularia auricular* (jamur kuping), serta jamur yang beracun, seperti *Amanita palloides* dan *Rusula emetika* (Suryani *et al.*, 2020).

4. Protozoa



Gambar 4. Morfologi *Trichonympha* Kelas Mastigophora (Prayitno & Hidayati, 2020)

Protozoa adalah organisme bersel tunggal, beberapa spesiesnya memiliki lebih dari satu inti sel pada sebagian atau seluruh siklus hidupnya. Mereka termasuk dalam subkingdom hewan eukariotik dengan tubuh yang terdiri dari satu sel namun mampu menjalankan berbagai fungsi kehidupan. Protozoa memiliki alat reproduksi, sistem pencernaan, sistem pernapasan, organ ekskresi, dan organ-

organ lain yang mendukung kelangsungan hidup mereka. Seperti sel makhluk hidup lainnya, sel protozoa dilapisi oleh tiga lapisan membran yang berisi ektoplasma, endoplasma, dan nukleus (Yunus *et al.*, 2022). Protozoa dapat berkembang biak di dalam tubuh manusia, yang mendukung keberadaan mereka dan dapat menyebabkan infeksi serius (Joegijantoro, 2019). Penularan protozoa yang hidup di usus manusia biasanya terjadi melalui jalur fekal-oral, sedangkan protozoa yang hidup dalam darah atau jaringan manusia ditularkan melalui vektor arthropoda (Ogbera dan Anaba, 2021). Klasifikasi atau pengelompokan protozoa didasarkan atas ada tidaknya alat gerak. Protozoa diklasifikasikan dalam 4 kelas, yaitu: *Mastigophora* (Gambar 4), *Sarcodina*, *Apicomplexa* (*Sporozoa*), dan *Ciliata* (*Ciliophora*) (Prayitno & Hidayati, 2020).

2.2.2 Proses Penyakit Infeksi

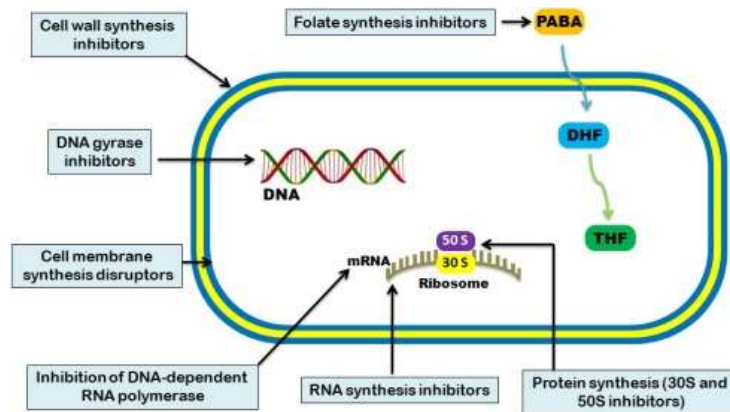
Mikroorganisme tersebar luas di lingkungan, termasuk pada permukaan tubuh manusia, saluran pencernaan, dan saluran pernapasan. Mikroorganisme komensal atau flora normal umumnya hidup berdampingan secara harmonis dengan tubuh inang. Mikroorganisme patogen, yang bukan merupakan bagian dari flora normal, dapat menginvasi tubuh melalui berbagai mekanisme transmisi, seperti melalui udara, vektor, atau kontak langsung (Joegijantoro, 2019).

Patogen dapat menyebabkan penyakit infeksi saat berhasil melalui empat tahap patogenesis, yaitu paparan, adhesi (atau kolonisasi), invasi, dan infeksi. Patogen pertama-tama harus masuk ke tubuh inang dan menuju lokasi infeksi untuk melawan sistem kekebalan tubuh inang, dan akhirnya menyebabkan kerusakan pada inang. Biasanya, siklus ini selesai ketika patogen keluar dari tubuh inang dan menyebar ke inang lainnya. Paparan terjadi ketika berinteraksi dengan patogen, misalnya melalui makanan atau benda yang disentuh. Namun, tidak semua kontak menyebabkan infeksi. Patogen dapat menyebabkan sakit dengan masuk

ke jaringan tubuh melalui portal masuk seperti kulit, selaput lendir, atau saluran pernapasan dan pencernaan. Setelah masuk, patogen menempel pada sel tubuh inang, proses ini disebut adhesi atau kolonisasi. Setelah terjadi adhesi, patogen mulai menyebar di dalam jaringan lokal atau tubuh (invasi). Patogen juga dapat menghasilkan faktor virulensi yang melindungi mereka terhadap pertahanan sistem imun dan menentukan tingkat kerusakan jaringan yang terjadi. Patogen intraseluler seperti virus masuk ke dalam sel tubuh dan berkembang biak. Ketika patogen berhasil berkembang biak, terjadilah infeksi, yang bisa bersifat lokal, sekunder, atau menyebar ke seluruh tubuh tergantung tingkat keparahannya (Ernstmeyer & Christman, 2021).

2.2.3 Pengobatan Infeksi Bakteri

Antibiotik adalah terapi yang digunakan pada infeksi bakteri. Golongan β -laktam, seperti *penicillin*, *amoxicillin* dan *cephalosporin* generasi pertama adalah antibiotik yang dapat digunakan dalam mengatasi infeksi bakteri *Streptococcus pyogenes*. Macrolide generasi baru juga dapat digunakan sebagai alternatif pilihan jika didapatkan alergi pada *penicillin*. Terapi yang dapat digunakan pada infeksi *Pseudomonas aeruginosa* adalah *penicillin*, *gentamicin*, *meropenem*, *imipenem*, atau *doripenem*, *aztreonam*, *polymixin E*, dan *ciprofloxacin*. Namun seiring perjalanan waktu, beberapa antibiotik mengalami resistensi yang diikuti dengan evolusi dari bakteri (Savitri *et al.*, 2019).



Gambar 5. Cara Kerja Antibiotik (Uddin *et al.*, 2021)

Menurut Uddin *et al.* (2021) secara umum mekanisme aktivitas atau kinerja antibiotik terhadap bakteri atau kuman terdiri dari:

- a. Mengganggu sintesis dinding sel bakteri
- b. Penghambatan biosintesis protein bakteri
- c. Penghambatan sintesis asam nukleat bakteri
- d. Penghambatan jalur metabolisme
- e. Penghambatan fungsi membran bakteri

2.2 Antibakteri

Antibakteri adalah zat yang berfungsi menghambat pertumbuhan bakteri dan digunakan secara khusus untuk mengobati infeksi. Berdasarkan mekanisme kerjanya, antibakteri terbagi menjadi dua jenis, yaitu bakterisidal dan bakteriostatik. Antibakteri bakteriostatik bekerja dengan menghambat pertumbuhan bakteri tanpa membunuhnya secara langsung, sementara antibakteri bakterisidal membunuh bakteri secara efektif (Wilapangga & Syaputra, 2018; Magani *et al.*, 2020).

Menurut Rollando (2019) target mekanisme antibakteri adalah sebagai berikut:

1. Perusakan dinding sel

Struktur sel dapat dirusak dengan menghambat proses pembentukan atau setelah terbentuknya dinding sel. Sebagai contoh, antibiotik seperti penisilin menghambat pembentukan dinding sel dengan menghalangi

pembentukan mukopeptida yang dibutuhkan dalam sintesis dinding sel mikroba.

2. Perubahan permeabilitas sel

Kerusakan pada membran sitoplasma dapat menghambat pertumbuhan sel. Hal ini terjadi karena membran ini berperan dalam menjaga bagian-bagian tertentu dalam sel, mengatur difusi bahan-bahan penting, serta mempertahankan integritas komponen seluler.

3. Penghambatan kerja enzim

Penghambatan kerja enzim akan menyebabkan aktivitas selular tidak berjalan normal. Seperti sulfonamid yang menghambat sintesis asam folat dan bersaing dengan PABA, yang merupakan asam amino penting untuk sintesis purin dan pirimidin.

4. Penghambatan sintesis asam nukleat dan protein

DNA dan RNA memiliki peran penting sebagai bahan baku pembentukan sel bakteri. Penghambatan DNA dan RNA menyebabkan kerusakan sel.

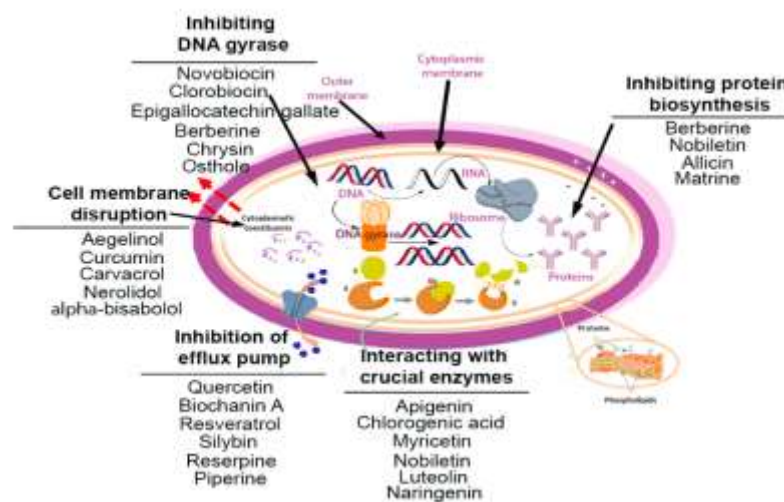
5. Pengubahan molekul protein dan asam nukleat

Suatu sel hidup tergantung pada terpeliharanya molekul-molekul protein dan asam nukleat dalam keadaan alamiahnya.

Suatu antibakteri bisa mengubah situasi ini dengan merusak protein dan asam nukleat, yang akan mengakibatkan kerusakan sel secara permanen.

Metabolit sekunder menunjukkan hasil menjanjikan dalam mengatasi perkembangan resistansi pada patogen bakteri dan melawan infeksi bakteri. Senyawa-senyawa ini dapat mengembalikan penggunaan klinis antibiotik konvensional dengan meningkatkan efektivitasnya dan mencegah munculnya resistansi. Berbagai mekanisme yang terlibat dalam aksi antibakteri mencakup penghambatan biosintesis dinding sel dan kerusakan membran sel bakteri,

penghambatan biosintesis protein bakteri, replikasi dan perbaikan DNA, serta jalur metabolik. Selain itu, terdapat mekanisme resistansi bakteri terhadap antibiotik, seperti peningkatan ekspresi pompa efluks, penguraian agen antibakteri, modifikasi struktur porin, dan modifikasi antibiotik. Oleh karena itu, menghambat mekanisme-mekanisme ini menjadi bagian penting dalam mengatasi resistansi antibiotik (Khameneh *et al.*, 2021).



Gambar 6. Mekanisme Kerja Antibakteri dari Senyawa Turunan Tanaman (Khameneh *et al.*, 2021)

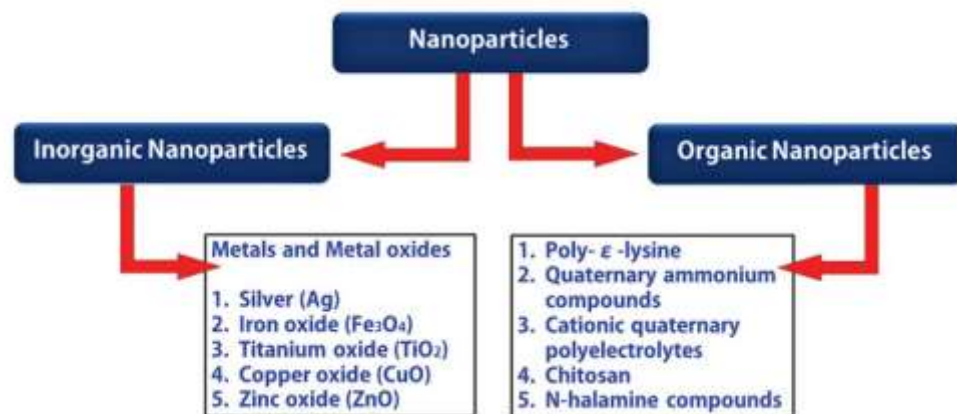
Berdasarkan struktur kimianya, Metabolit sekunder terbagi dalam beberapa kelompok utama, yaitu alkaloid, tanin, karbohidrat, dan glikosida, terpenoid, flavonoid, steroid, dan kumarin. Senyawa-senyawa ini memiliki nilai klinis yang khas karena bioaktivitasnya umumnya tidak memicu resistansi. Beberapa senyawa turunan tanaman yang memiliki aktivitas antibakteri serta mekanisme aksinya diilustrasikan pada Gambar 6 (Khameneh *et al.*, 2021).

2.3 Nanoteknologi

Nanoteknologi merupakan ilmu dan teknik yang mencakup desain, sintesis, karakterisasi, serta aplikasi bahan yang terorganisir pada skala nanometer, yaitu ≤ 100 nm, di mana sifat fisik, kimia, dan biologinya secara fundamental berbeda dari material dalam bentuk bulk material (Prasetyo, 2020). Teknologi ini memungkinkan manipulasi material seperti tembaga, seng, perak, emas, dan

magnesium pada skala nano yang memiliki potensi aplikasi luas di berbagai bidang, termasuk pangan, industri, elektronik, pertanian, dan medis (Rajoka *et al.*, 2020). Selain itu, sistem pengiriman obat berbasis nanoteknologi terus dikembangkan untuk meningkatkan efikasi terapi dengan cara membatasi degradasi obat, meningkatkan akumulasi di lokasi infeksi, serta mengurangi toksisitas. Untuk mengatasi masalah serius ini, nanoteknologi dan nanopartikel telah dikembangkan dalam beberapa tahun terakhir sebagai solusi untuk mengurangi dan melawan resistensi bakteri, resistensi multiobat (MDR), serta biofilm bakteri. Pendekatan ini menawarkan potensi besar dalam menghadapi tantangan infeksi bakteri yang semakin sulit ditangani dengan terapi konvensional (Hetta *et al.*, 2023).

2.3.1 Nanopartikel



Gambar 7. Jenis dan Subtipe Nanopartikel (Chaturvedi *et al.*, 2020)

Nanopartikel adalah struktur buatan dengan ukuran berkisar antara 1 hingga 100 nm (Hetta *et al.*, 2023), yang memiliki berbagai aplikasi, termasuk sebagai agen antimikroba, antijamur, sensor, katalis, serta alat pencitraan dalam diagnostic (Anjum *et al.*, 2021). Terdapat dua jenis nanopartikel yang disintesis, yaitu nanopartikel organik dan nanopartikel anorganik. Nanopartikel anorganik meliputi nanopartikel logam dan oksida logam yang merupakan agen antibakteri dan antijamur yang kuat. Nanopartikel organik mencakup ammonium kuarternar, polielektrolit, dan lain-lain (Gambar 7) (Chaturvedi *et al.*, 2020).

Nanopartikel dapat berfungsi sebagai terapi inheren (seperti TiO₂, ZnO, Cu, Ni, Se, Ag NPs) atau sebagai pembawa nano untuk agen antimikroba yang dikenal sebagai "Nanobiotik," seperti liposom, nanopartikel polimer, dan dendrimer. Kemampuannya untuk mengantarkan obat langsung ke lokasi target, melindunginya dari inaktivasi, dan meningkatkan efektivitas terapi dengan efek samping yang minimal menjadikan nanopartikel sebagai pendekatan terapi yang sangat terarah. Ukuran kecil nanopartikel, luas permukaan yang besar, dan sifat reaktifnya memungkinkan penetrasi penghalang biologis, seperti biofilm, dengan selektivitas tinggi terhadap sel bakteri. Luas permukaannya yang besar juga meningkatkan kapasitas muatan obat, sementara ukurannya yang kecil memungkinkan penetrasi biofilm dan dinding sel mikroba. Nanopartikel juga cepat diekskresikan melalui ginjal dan memiliki waktu paruh plasma yang lebih panjang (Hetta *et al.*, 2023).

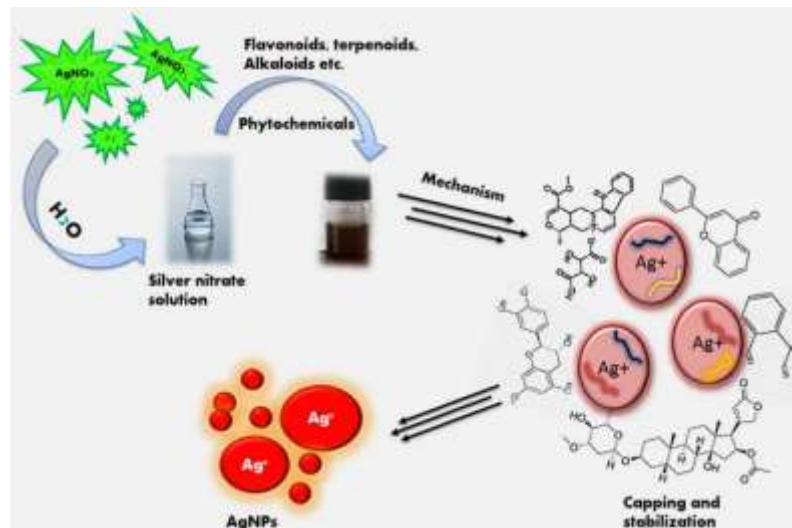
Nanopartikel dapat disintesis melalui metode fisika, kimia, dan biologi. Metode fisika biasanya menghasilkan produktivitas rendah, sementara metode kimia memiliki kelemahan seperti penggunaan pelarut beracun dan pembentukan produk sampingan yang berbahaya. Oleh karena itu, diperlukan metode yang lebih aman, ramah lingkungan, dan andal untuk mensintesis nanopartikel tanpa menghasilkan sisa-sisa beracun. Salah satu solusi adalah sintesis nanopartikel dengan biaya rendah menggunakan ekstrak tanaman dan produk mikroba (Rajoka *et al.*, 2020; Bamigboye *et al.*, 2020).

2.3.2 Nanopartikel Perak

Nanopartikel perak memiliki berbagai aplikasi luas dalam bidang elektronik, biologi, kedokteran, serta diagnosis dan terapi medis, termasuk pengembangan biosensor. Berbagai penelitian telah dilakukan untuk mengontrol ukuran dan bentuk nanopartikel perak demi

memaksimalkan penggunaannya, dengan metode fisika dan kimia yang ekstensif, salah satunya adalah mereduksi ion Ag^+ menggunakan ekstrak tanaman. Pendekatan "*green chemistry*" dalam sintesis nanopartikel perak memiliki keuntungan seperti waktu reaksi yang cepat, biaya yang lebih rendah, dan lebih ramah lingkungan. Meskipun umumnya nanopartikel berukuran antara 1 hingga 100 nm, dalam kedokteran ukurannya bisa mencapai 5 hingga 250 nm (Hetta *et al.*, 2023). Nanopartikel perak (AgNPs) banyak digunakan dalam berbagai bidang, dan pendekatan biologis dalam sintesis AgNPs semakin diteliti karena aplikasinya yang luas, termasuk sebagai antioksidan, antimikroba, katalis, serta dalam produksi biomaterial. Berbagai agen biologis seperti bakteri, jamur, ragi, dan tanaman dapat digunakan untuk menghasilkan AgNPs yang efektif sebagai agen antikanker, antioksidan, dan antimikroba, dengan bakteri asam laktat sebagai salah satu sumber potensial yang banyak digunakan dalam bioteknologi (Rajoka *et al.*, 2020).

Salah satu sintesis AgNPs yang dikenal baik untuk aplikasi biomedis dan farmasi adalah sintesis hijau. AgNPs sintesis hijau memiliki kelebihan diantaranya, ramah lingkungan, hemat biaya, mudah diskalakan, dan menghasilkan hasil yang tinggi daripada AgNPs yang diproduksi secara kimiawi. Banyak fitokimia ditemukan pada tanaman obat. Fitokimia memainkan peran penting dalam formulasi nanopartikel. Senyawa alami fitokimia ditambahkan ke perak nitrat (AgNO_3) dan senyawa ini bertindak sebagai zat penutup dan penstabil yang menghasilkan reduksi Ag(I) murni menjadi Ag(0) . Mekanisme sintesis hijau melibatkan proses reduksi, yaitu gugus fungsi dari metabolit sekunder bertindak sebagai pereduksi yang mendonorkan elektron terhadap ion Ag^+ sehingga Ag^+ tereduksi menjadi Ag^0 . (Rahuman *et al.*, 2022). Sintesis AgNPs menggunakan ekstrak tanaman diilustrasikan pada Gambar 8.



Gambar 8. Sintesis AgNPs dengan Ekstrak Tanaman (Rahuman *et al.*, 2022)

Nanopartikel perak yang disintesis dengan ekstrak tumbuhan, biasanya berukuran antara 1 hingga 100 nm, memiliki sifat fisikokimia yang unik, seperti luas permukaan yang besar, bentuk dan ukuran yang bervariasi, konduktivitas listrik yang baik, serta aktivitas optik yang tinggi. Sifat-sifat ini membuat AgNPs efektif sebagai agen antibakteri, antioksidan, dan antikanker. AgNPs yang disintesis secara biologis menunjukkan toksisitas terhadap bakteri dengan cara menyebabkan lisis sel, menghentikan sintesis protein ribosom, serta menghambat replikasi DNA. Nanopartikel ini juga menunjukkan aktivitas sitotoksik yang signifikan terhadap sel kanker, seperti lini sel HeLa, kanker epitel manusia (Hep-2), dan kanker prostat (PC-3). Selain itu, AgNPs digunakan sebagai antimikroba dalam instrumen bedah, krim antiinfeksi, dan obat antikanker (Talib *et al.*, 2024).

2.3.3 Aplikasi Nanopartikel Perak Dalam Bidang Medis

Nanopartikel perak telah diaplikasikan sebagai agen antimikroba dalam kedokteran gigi, seperti memasukkan nanopartikel perak ke dalam resin akrilik untuk pembuatan gigi tiruan, resin komposit untuk restorasi, larutan irigasi dan bahan obturasi untuk perawatan endodontik, bahan perekat untuk ortodontik, membran untuk regenerasi jaringan

periodontal, dan lapisan titanium untuk implan gigi (Yin *et al.*, 2020). Selain itu, dikutip dari Bruna *et al.* (2021) penelitian yang dilakukan oleh Li *et al.* menunjukkan bahwa masker wajah yang dilapisi dengan nanopartikel perak (AgNPs) dan titanium dioksida memiliki kemampuan perlindungan yang sangat efektif. Masker ini mampu mengurangi hingga 100% koloni bakteri *E. coli* dan *S. aureus* dalam waktu 48 jam. Penemuan ini menunjukkan potensi besar penggunaan nanopartikel perak untuk meningkatkan efektivitas dalam pencegahan infeksi bakteri.

2.4 Tanaman Daun Kakao

2.4.1 Klasifikasi

Menurut (Matatula *et al.*, 2022), klasifikasi taksonomi tanaman kakao, sebagai berikut:

Tabel 1. Taksonomi Tanaman Kakao

Kategori	Keterangan
Kerajaan	<i>Plantae</i>
Divisi	<i>Magnoliophyta</i>
Kelas	<i>Magnoliopsida</i>
Ordo	<i>Malvales</i>
Famili	<i>Malvaceae (Sterculiaceae)</i>
Genus	<i>Theobroma</i>
Spesies	<i>Theobroma cacao</i> L.

Sumber : (Matatula *et al.*, 2022)

2.4.2 Deskripsi



Gambar 9. Tanaman kakao (Tumpal *et al.*, 2021)

Kakao (*Theobroma cacao* L.) berasal dari Amerika Selatan dan tumbuh di hutan hujan tropis. Nama *Theobroma* berarti "minuman para dewa". Di Indonesia, kakao merupakan komoditas perkebunan yang dapat diolah menjadi produk cokelat yang kaya akan antioksidan alami (Matatula *et al.*, 2022). Kakao adalah tanaman tropis yang menyukai naungan (*shade loving plant*) dengan potensi hasil berkisar antara 50 hingga 120 buah per pohon per tahun. Tanaman kakao dapat berproduksi hingga usia 30 tahun. Faktor lingkungan, seperti iklim dan kondisi tanah, sangat mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan kakao. Curah hujan, suhu udara, dan sinar matahari merupakan elemen penting dari faktor iklim yang menentukan pertumbuhan tanaman ini. Selain itu, faktor tanah berperan dalam kemampuan akar menembus tanah dan menyerap nutrisi. Di Indonesia, ketinggian ideal untuk budidaya kakao adalah kurang dari 800 meter di atas permukaan laut (Matatula *et al.*, 2022).

2.4.3 Morfologi

Tanaman kakao memiliki buah buni, berbentuk bulat telur, memiliki rusuk, kulit buah tebal dengan panjang buah 12-22 cm (Santoso, 2021). Buah kakao memiliki dua warna dasar, yaitu hijau saat muda yang berubah menjadi kuning saat matang, serta merah yang berubah menjadi jingga (Matatula *et al.*, 2022). Buah kakao memiliki daging biji yang

sangat lunak dan kulit yang tebal dengan alur dalam. Saat buah matang, biji akan terlepas dari kulit buah dan akan berbunyi jika digoncang. Bunga kakao merupakan bunga sempurna dengan diameter 1,5 cm, terdiri dari 5 kelopak (*calyx*) dan 10 benang sari (*androecium*). Bunga ini tumbuh dari bantalan bunga di batang (*cauliflora*) atau cabang (*ramiflora*). Daun kelopak berwarna putih dengan panjang 6-8 mm, sedangkan mahkota bunga berwarna putih kekuningan atau putih kemerahan dengan panjang 8-9 mm (Tumpal *et al.*, 2021).

Tanaman Kakao memiliki akar tunggang yang bercabang, berbentuk bulat dan warnanya kecoklatan (Santoso, 2021). Tanaman kakao memiliki batang berkayu, berbentuk bulat, dan percabangan monopodial dengan warnanya coklat kotor. Tanaman ini dapat mencapai ketinggian 8-10 meter, tetapi dalam budidaya biasanya dibatasi hingga 5 meter untuk memaksimalkan produksi cabang (Matatula *et al.*, 2022).



Gambar 10. Daun Tanaman Kakao (Santoso, 2021)

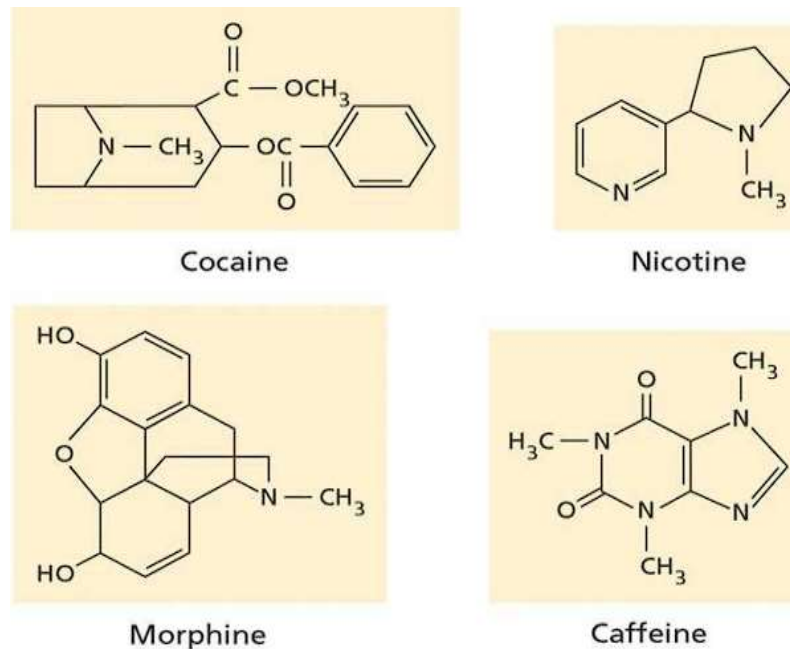
Daun kakao merupakan daun tunggal berbentuk bulat telur dan pangkalnya runcing, memiliki tepi daun rata (Santoso, 2021), memiliki dimorfisme seperti percabangannya, terdiri dari tangkai dan helai daun. Pada tunas orthotrop, tangkai daun panjangnya 7,5-10 cm, sedangkan pada tunas plagiotrop sekitar 2,5 cm. Daun mudanya yang disebut *flush*, berwarna merah dan halus seperti sutra, lalu berubah hijau dan kasar saat

dewasa. Tangkai daun berbentuk silinder dengan dua persendian di pangkal dan ujung, memungkinkan gerakan mengikuti arah cahaya matahari. Helai daun berbentuk oblong, dengan ujung dan pangkal runcing, serta tulang daun menyirip yang menonjol di permukaan bawah. Daun dewasa berwarna hijau tua, panjangnya 30 cm dan lebar 10 cm, licin, mengkilap, dan lebih besar di tempat teduh (Matatula *et al.*, 2022).

2.4.4 Kandungan Kimia

1. Senyawa Alkaloid

Alkaloid adalah metabolit sekunder yang mengandung nitrogen berjumlah lebih dari 15.000 dan dijumpai di sekitar 20% spesies tumbuhan berpembuluh. Atom nitrogen biasanya bagian dari cincin heterosiklik, cincin yang mengandung atom nitrogen dan karbon. Alkaloid adalah kelompok yang memiliki efek farmakologis pada hewan vertebrata. Sebagaimana namanya, alkaloid adalah alkalin. Pada nilai pH yang umum dijumpai di sitosol (pH 7.2) atau vakuola (pH 5-6) atom nitrogen bersifat proton, alkaloid bermuatan positif dan umumnya larut dalam air. Alkaloid disintesis dari asam amino, khususnya lisin, tirosin dan triptofan. Tetapi kerangka karbon beberapa alkaloid mengandung komponen yang diperoleh dari lintasan terpen. Beberapa tipe berbeda termasuk nikotin dan derivatnya diperoleh dari ornitin, intermediat biosintesis arginine. Vitamin B *nicotinic acid* (niacin) adalah prekursor cincin *pyridine* alkaloid; cincin *pyrolidon* nikotin muncul dari ornitin. *Nicotinic acid* juga konstituen NAD^+ dan NADP^+ yang merupakan *carrier electron* pada metabolisme yang merupakan senyawa alkaloid seperti Kokain, nikotin, kafein yang digunakan sebagai *stimulant* dan *sedative* (Mastuti, 2016).



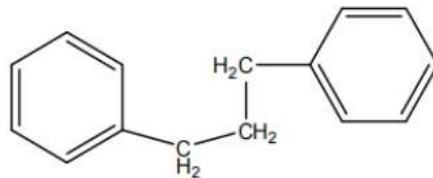
Gambar 11. Contoh Senyawa Alkaloid (Mastuti, 2016)

Senyawa Alkaloid dapat bekerja sebagai agen antibakteri, yaitu dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan yang terdapat pada dinding sel bakteri. Peptidoglikan merupakan struktur penting yang menjaga integritas dinding sel bakteri, memberikan kekuatan dan kestabilan terhadap tekanan osmotik. Ketika alkaloid mengganggu proses pembentukan atau komponen peptidoglikan, lapisan dinding sel bakteri menjadi rusak, menyebabkan kehilangan kekuatan strukturalnya. Akibatnya, sel bakteri tidak dapat mempertahankan bentuk dan fungsinya, yang pada akhirnya berujung pada kematian sel tersebut (Febrianti *et al.*, 2022).

2. Senyawa Flavonoid

Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenolik terbesar di alam. Banyaknya senyawa flavonoid ini karena banyaknya jenis tingkat hidroksilasi, alkoksilasi dan glikosilasi pada strukturnya (Julianto, 2019). Flavonoid terdiri dari beberapa subkelompok, termasuk flavon, flavonol, flavanon, flavanonol, flavanol atau katekin, antosianin, dan *chalcones*. Kelompok senyawa ini tergolong dalam

polifenol dan dikelompokkan berdasarkan struktur kimia serta proses biosintesisnya. Flavonoid memiliki struktur dasar yang terdiri dari 15 atom karbon, di mana dua cincin benzena (C6) dihubungkan oleh rantai propana (C3) (Ningsih *et al.*, 2023).



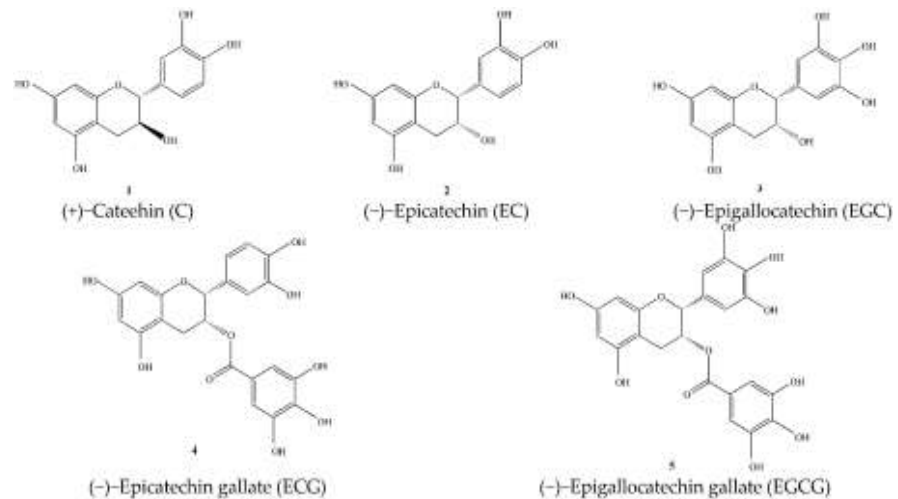
Gambar 12. Struktur Dasar Flavonoid (Ningsih *et al.*, 2023)

Flavonoid merupakan senyawa golongan fenol yang memiliki mekanisme kerja sebagai antibakteri dengan cara menghambat fungsi membran sel bakteri. Flavonoid bekerja dengan membentuk ikatan kompleks dengan protein ekstraseluler yang bersifat larut, sehingga menyebabkan perubahan fluiditas dan permeabilitas membran, yang secara langsung maupun tidak langsung mengganggu proses metabolisme bakteri. Akibatnya, sel bakteri mengalami disfungsi metabolik yang berujung pada kematian sel bakteri (Febrianti *et al.*, 2022).

3. Senyawa Polifenol

Senyawa polifenol bersifat multifungsi dan berperan sebagai antioksidan karena dapat menghambat enzim atau mengikat ion logam yang terlibat dalam produksi radikal bebas. Polifenol dapat menyumbangkan satu elektron pada radikal bebas yang elektronnya tidak berpasangan, sehingga reaksi oksidasi menjadi terhambat. Sebagai antioksidan, polifenol dapat menurunkan oksidasi LDL dan meningkatkan pembentukan *nitric oxide* (NO). NO bersifat anti aterosklerosis, karena NO dapat menyebabkan dilatasi pembuluh darah (vasodilator). Efek antioksidan polifenol juga dilaporkan

dapat menurunkan kadar kolesterol dan menghambat aterosklerosis (Anggraito *et al.*, 2018).



Gambar 13. Struktur Katekin (Zhao *et al.*, 2022)

Daun kakao mengandung polifenol yang terdiri atas epigalo katekin galat (EGCG), epigalo katekin (EGC), epi katekin galat (ECG), dan epi katekin (EC). Jumlah dari masing-masing senyawa tersebut dipengaruhi oleh umur daun. Pada daun muda (pucuk daun ditambah 3 daun dibawahnya) mengandung total polifenol 19,0% dan kafein 2,24% dari ekstrak daun kakao, total katekin 9,75% dari total polifenol Pada daun tua (daun nomer 5 sampai dengan 8) mengandung total polifenol 28,4%, dan kafein 1,33% dari ekstrak daun kakao, total katekin 5,25% dari total polifenol (Supriyanto *et al.*, 2014).

Senyawa Polifenol juga menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap berbagai macam bakteri. Polifenol dapat menghambat faktor virulensi bakteri termasuk enzim dan toksin, berinteraksi dengan membran sitoplasma atau mengurangi nilai pH, menekan pembentukan biofilm, memberikan efek sinergis dengan antibiotik konvensional, dan mengurangi aktivitas polisakarida ekstraseluler (EP) dan bertindak sebagai penghambat EP (Khameneh *et al.*, 2021).

2.4.5 Manfaat dan Khasiat

1. Antioksidan

Efek antioksidan pada kakao secara langsung akan mempengaruhi resistensi insulin sehingga bisa mengurangi resiko diabetes. Kakao dapat melindungi saraf dari gangguan cedera serta peradangan, melindungi kulit dari paparan *ultraviolet*, memiliki efek mengenyangkan, fungsi kognitif, dan mengatur suasana hati. Konsumsi kakao berpotensi mencegah berbagai macam penyakit kronis diantaranya yaitu penyakit kardiovaskular, neurodegeneratif, obesitas, diabetes, kanker, dan penuaan. Kakao juga bertindak sebagai bahan nutraceutical yang berperan dalam penyakit saluran cerna, seperti: alergi makanan dan radang usus. Kakao dapat memodulasi sistem imun serta dapat mencegah penyakit kanker dan jantung koroner. Kakao memiliki kadar senyawa fenolik lebih besar apabila dibandingkan dengan kebanyakan makanan pada umumnya. Senyawa flavonoid yang terdapat pada kakao termasuk *catechin*, *epicatechin*, dan *pricyanidins* adalah komponen yang mendominasi aktivitas senyawa antioksidan (Matatula *et al.*, 2022).

2. Antibakteri dan Antijamur

Pada daun kakao terdapat beberapa senyawa aktif seperti kefein, flavonoid dan alkaloid. Kafein dapat menghambat sintesis dinding sel yang menyebabkan sel jamur menjadi lisis dan berakhir dengan kematian sel. Flavonoid berfungsi menghambat pembelahan atau proliferasi sel. Alkaloid mampu untuk mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel sehingga menyebabkan lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan mengakibatkan kematian sel (Permataningrum, 2019). Selain itu, Senyawa Polifenol menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap berbagai macam bakteri. Polifenol dapat menghambat faktor virulensi bakteri termasuk enzim dan toksin, berinteraksi dengan membran sitoplasma atau

mengurangi nilai pH, menekan pembentukan biofilm, memberikan efek sinergis dengan antibiotik konvensional, dan mengurangi aktivitas polisakarida ekstraseluler (EP) dan bertindak sebagai penghambat EP (Khameneh, *et al.*, 2021).

2.5 Tanaman Teh Hijau

2.5.1 Klasifikasi

Menurut Anggraini (2017), klasifikasi taksonomi tanaman kakao adalah sebagai berikut:

Tabel 2. Taksonomi Tanaman Teh Hijau

Kategori	Keterangan
Kerajaan	<i>Plantae</i>
Divisi	<i>Spermatophyta</i>
Subdivisi	<i>Angiospermae</i>
Kelas	<i>Dicotyledoneae</i>
Bangsa	<i>Guttiferales</i>
Famili	<i>Tehaceae</i>
Marga	<i>Camellia</i>
Jenis	<i>Camellia sinensis</i> L.
Ras	<i>Sinensis</i> dan <i>Asamika</i>

Sumber : (Anggraini, 2017)

2.5.2 Deskripsi



Gambar 14. Kebun Teh Pagar Alam (Sumber : dokumentasi pribadi)

Teh hijau Indonesia memiliki kadar katekin yang lebih tinggi (10,81-11,60%) dibandingkan teh Jepang dan Cina. Pengolahan teh hijau dilakukan tanpa fermentasi, dengan cara menonaktifkan enzim oksidase pada daun teh segar segera setelah pemetikan (Ma'rifah, 2020). Sebagai jenis teh pertama yang ditemukan, teh hijau tetap mempertahankan banyak zat alami dari daun segar, sehingga hanya sedikit vitamin yang hilang selama pengolahannya. Sejumlah penelitian menunjukkan bahwa teh hijau mengandung senyawa kimia penting untuk kesehatan, seperti polifenol, kafein, theanine, dan polisakarida, yang memiliki berbagai efek farmakologis, termasuk sifat anti-kanker, antioksidan, melindungi sistem saraf, dan membantu menurunkan kadar gula darah (Zhao *et al.*, 2022). Secara umum, pengolahan teh hijau menggunakan metode sederhana, seperti pemanasan dengan udara panas atau penguapan (menggunakan steamer atau uap air), untuk mencegah oksidasi enzimatis katekin (Ma'rifah, 2020). Di Indonesia, pengolahan teh hijau biasanya dilakukan dengan metode sangrai (*panning*), sementara di Jepang lebih sering menggunakan metode pengukusan. Teh yang diolah dengan pengukusan menghasilkan warna yang lebih cerah dan tampak lebih segar dibandingkan dengan teh yang diproses melalui sangrai (Anggraini, 2017).

2.5.3 Morfologi

Buah teh yang masih muda berwarna hijau, namun seiring pertumbuhan, buah tersebut akan berubah menjadi coklat kehitaman saat sudah matang. Bentuk buahnya bulat dengan dinding tebal, dan ketika sudah tua, buah tersebut akan pecah mengikuti ruang-ruang dalamnya. Biji teh memiliki tekstur yang keras (Ma'rifah, 2020). Buah teh biasanya mengandung tiga biji, namun terkadang hanya berisi satu atau dua biji, dan pada beberapa kasus yang lebih besar, buah teh dapat berisi hingga empat atau lima biji. Pada awalnya, biji berwarna putih, namun semakin tua akan berubah menjadi coklat (Muljana, 2019). Bunganya berwarna putih dengan serbuk sari kuning yang wangi. Bunga ini biasanya tumbuh di ketiak

daun, baik secara tunggal maupun berkelompok beberapa bunga menjadi satu (Ma'rifah, 2020).

Tanaman teh memiliki batang yang tegak, berkayu, dan bercabang dengan ujung yang berupa ranting. Umumnya, pohon teh berukuran kecil dan berbentuk seperti perdu karena sering dilakukan pemangkasan. Tanaman teh memiliki sistem perakaran tunggang yang bercabang banyak (Ma'rifah, 2020). Akar tunggang pada tanaman ini mampu menembus lapisan tanah yang dalam, dengan cabang-cabang akar yang juga tumbuh secara meluas (Muljana, 2019).



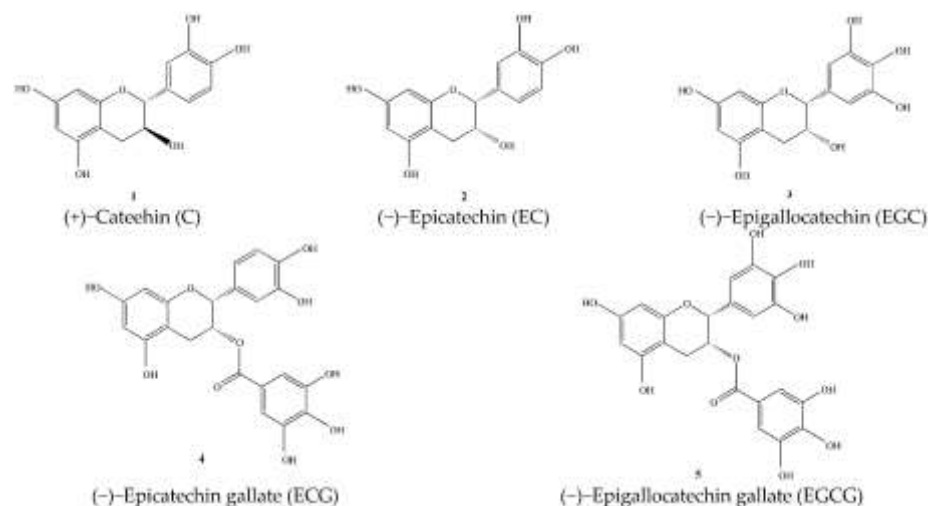
Gambar 15. Daun Teh Hijau (Ma'rifah, 2020)

Tanaman teh memiliki karakteristik daun tunggal berbentuk lonjong dengan pinggiran yang halus dan bergerigi lembut. Daun-daun muda ditutupi oleh rambut-rambut halus, dengan tangkai yang pendek serta posisi daun yang berseling. Bentuk daunnya cenderung kaku dan berbentuk elips. Selain itu, daun teh memiliki pola tulang menyirip, dengan warna hijau yang mengkilap pada permukaannya. Ukuran daunnya bervariasi, dengan panjang antara 6 hingga 8 cm dan lebar sekitar 2 hingga 6 cm (Ma'rifah, 2020).

2.5.4 Kandungan Kimia

1. Polifenol

Polifenol teh adalah istilah umum untuk polifenol dalam teh. Ada sekitar 30 jenis senyawa, terutama terdiri dari katekin, flavonoid, antosianin, dan asam fenolik. Kandungan polifenol teh tertinggi dalam teh hijau adalah 20-30%, yang dapat digunakan sebagai antioksidan alami yang sangat baik (Zhao *et al.*, 2022). Katekin dalam teh terutama meliputi katekin (C), epikatekin (EC), *epigallocatechin* (EGC), *epicatechin gallate* (EKG), dan *epigallocatechin Gallate* (EGCG). Seperti yang ditunjukkan pada Gambar 16. Sejumlah besar penelitian telah menunjukkan bahwa katekin dalam teh hijau, terutama EGCG, memiliki efek antikanker, antivirus, dan antioksidan (Zhao *et al.*, 2022). selain itu menurut Ma'rifah (2020) katekin teh bersifat antimikroba (bakteri dan virus), antiradiasi, memperkuat pembuluh darah, dan memperlancar sekresi air seni.



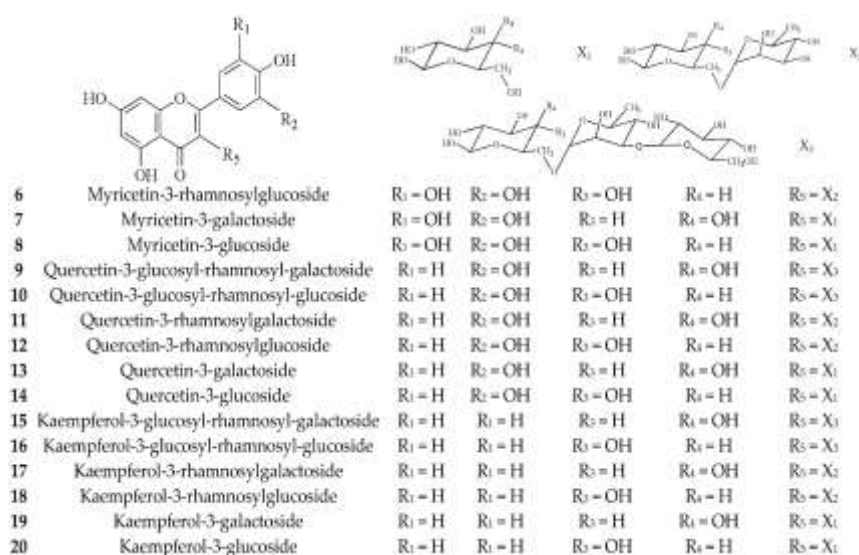
Gambar 16. Struktur Kimia Katekin yang diisolasi dari Teh Hijau (Zhao *et al.*, 2022)

Polifenol juga memiliki aktivitas antibakteri terhadap beragam jenis bakteri. Senyawa ini mampu menghambat faktor virulensi bakteri,

seperti enzim dan toksin, serta dapat berinteraksi dengan membran sitoplasma atau menurunkan pH. Selain itu, polifenol dapat menghambat pembentukan biofilm, memberikan efek sinergis dengan antibiotik konvensional, dan menurunkan aktivitas polisakarida ekstraseluler (EP) serta bertindak sebagai penghambat EP (EPI) (Khameneh *et al.*, 2021).

2. Flavonol

Teh hijau kaya akan glikosida flavonol, terutama termasuk glikosida myricetin, glikosida quercetin, dan glikosida behenyl. Rantai gula ini terdiri dari monosakarida, seperti glukosa, galaktosa, rhamnose, arabinosa, dll., dan disakarida atau trisakarida, seperti yang ditunjukkan pada **Gambar 17** (Zhao *et al.*, 2022).



Gambar 17. Struktur Kimia Flavonoid yang diisolasi dari Teh Hijau (Zhao *et al.*, 2022)

Flavonol tanaman teh menunjukkan suatu kelompok senyawa yang komposisi kimianya sangat mirip dengan katekin. Sekitar 2-3 persen bagian teh yang larut dalam air merupakan senyawa flavonol. Flavonol lebih merupakan glukosida daripada sebagai bentuk aglikon. Terdapat sekitar 14 glikosida mirisetin, kuersetin dan

kaempferol dalam teh segar, teh hijau dan teh hitam yang telah diketahui keampuhannya menghalau kanker dan kolesterol (Ma'rifah, 2020).

Flavonol sebagai agen antibakteri dengan menghambat fungsi membran sel bakteri. Flavonol dapat membentuk ikatan kompleks dengan protein ekstraseluler yang bersifat larut, sehingga dapat mengganggu integritas membran sel bakteri dan mengakibatkan sel bakteri mengalami disfungsi metabolik yang berujung pada kematian (Febrianti *et al.*, 2022).

3. Alkaloid

Alkaloid dalam teh sebagian besar adalah alkaloid purin. Di antara mereka, kandungan kafein adalah yang paling banyak (2~5%). Selain itu, ia juga mengandung sejumlah kecil teofilin dan teobromin. Ketiga alkaloid ini adalah dasar bahan utama untuk efek menyegarkan teh. Nama dan struktur ketiga alkaloid ini dirinci pada **Gambar 18** (Zhao *et al.*, 2022). Kandungan yang mempengaruhi cita rasa minuman teh adalah alkaloid, kafein, theobromine, dan theolofin. Alkaloid dapat dipertahankan pada produk teh sampai tahap pengolahan akhir selama penyimpanan (Ma'rifah, 2020).



Gambar 18. Struktur kimia alkaloid yang diisolasi dari teh hijau (Zhao *et al.*, 2022)

Senyawa Alkaloid dapat sebagai agen antibakteri dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan yang terdapat pada dinding sel bakteri. Peptidoglikan merupakan struktur penting yang

menjaga integritas dinding sel bakteri, memberikan kekuatan dan kestabilan terhadap tekanan osmotik. Ketika alkaloid mengganggu proses pembentukan atau komponen peptidoglikan, lapisan dinding sel bakteri menjadi rusak, menyebabkan kehilangan kekuatan strukturalnya. Akibatnya, sel bakteri tidak dapat mempertahankan bentuk dan fungsinya, yang pada akhirnya berujung pada kematian sel tersebut (Febrianti *et al.*, 2022).

2.5.5 Manfaat dan Khasiat

1. Antioksidan dan Antikanker

Senyawa polifenol pada teh hijau berperan sebagai penangkal radikal bebas hidroksi sehingga tidak mengoksidasi lemak, protein, dan DNA dalam sel. Beberapa hasil studi menunjukkan bahwa teh hijau mampu menurunkan resiko penyakit kanker dengan EGCG sebagai senyawa aktif yang terkandung di dalamnya. Selain itu, EGCG juga bermanfaat sebagai antihipertensi, antioksidan, anti karsinogenesis, dan melindungi kulit dari sinar UV. Teh hijau mampu mencegah kanker pada manusia, diantaranya kanker prostat, kanker payudara, kanker perut, dan kanker paru-paru (Ma'rifah, 2020).

Pada awal tahun 1997, dilaporkan bahwa ekstrak teh hijau dan tiga komponen utamanya, termasuk polifenol teh, theanine, dan kafein, memiliki kemampuan untuk secara efektif menghambat peroksidasi lipid lipoprotein densitas rendah (LDL) yang dikatalisis tembaga. Selain itu, Yokozawa T *et al.* menemukan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak teh hijau bergantung pada dosis, dan aktivitas antioksidan dari ketiga komponen tersebut adalah polifenol teh > theanine > kafein. Akhirnya, mereka sampai pada kesimpulan bahwa tembaga ion logam dikelat dianggap sebagai salah satu mekanisme teh hijau yang mungkin melawan peroksidasi (Zhao *et al.*, 2022).

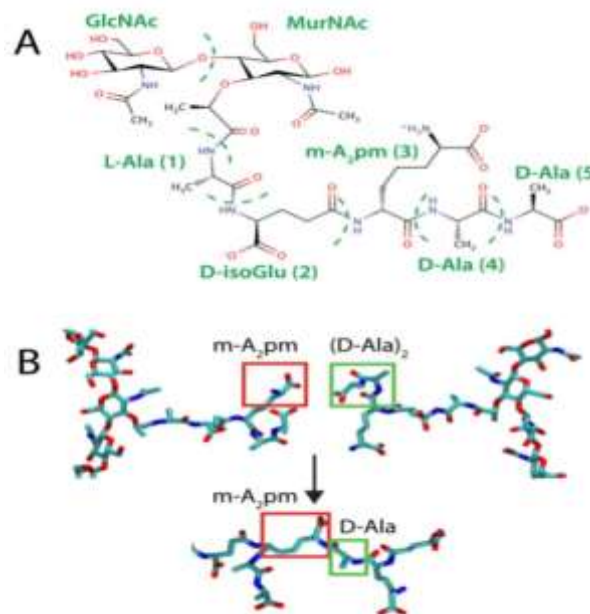
2. Antibakteri

Dikutip dalam Zhao *et al.* (2022) diketahui bahwa teh hijau menunjukkan efek antibakteri terhadap berbagai bakteri. Pada tahun 2000, Yee *et al.* pertama kali melaporkan bahwa teh hijau memiliki kemampuan untuk menghambat aktivitas *Helicobacter pylori*. Studi mereka telah menunjukkan bahwa EGCG, dan EC dapat menghambat pertumbuhan *Helicobacter pylori* dengan MIC90 nilai masing-masing 50~100 µg/mL, dan 800~1600 µg/mL. Hasilnya menunjukkan bahwa EGCG mungkin merupakan komponen yang paling efektif melawan aktivitas *Helicobacter pylori*. Dalam satu laporan tahun 2006, Anand *et al.* menemukan bahwa EGCG dapat menurunkan regulasi ekspresi gen TACO dengan cara yang bergantung pada dosis dengan eksperimen flow cytometry untuk menghambat kelangsungan hidup *Mycobacterium tuberculosis* pada makrofag. Selain itu, mereka juga mengusulkan bahwa EGCG memiliki potensi untuk menjadi obat yang efektif untuk pengobatan tuberkulosis.

Pada awal tahun 1995, beberapa sarjana telah menemukan bahwa ekstrak teh hijau dapat secara efektif menghambat pertumbuhan patogen bawaan makanan utama, termasuk *E.*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes*, dan sebagainya. Namun, tidak jelas apa bahan antibakteri utama dalam ekstrak teh hijau, dan bakteri mana yang paling dihambat. Pada tahun 2006, Si *et al.* menggunakan teknologi HSCCC untuk mengisolasi *epicatechin gallate* (EKG), *epigallocatechin gallate* (EGCG), *epicatechin* (EC) dan kafein (CN) dari ekstrak teh hijau dan lebih lanjut membandingkan aktivitas antibakterinya. Kemudian, ditemukan bahwa EGCG memiliki aktivitas antibakteri tertinggi, terutama efek penghambatan yang paling signifikan pada *S. aureus* dengan MIC90 nilai 58 mg/L. Selain itu, Sharma *et al.* (2012) mengungkapkan bahwa ekstrak teh hijau menunjukkan

aktivitas antibakteri yang signifikan terhadap patogen kulit secara *in vitro*, dan mekanisme ini terutama terkait dengan pencegahan adhesi bakteri (Zhao *et al.*, 2022).

Kemampuan antibakteri dari ekstrak teh adalah karena *catechin* (*epigallocatechin galat*) membentuk ikatan secara langsung dengan peptidoglikan sehingga membuat kerusakan pada dinding sel bakteri. Dimana peptidoglikan adalah suatu zat penyusun dinding sel bakteri (disakarida/oligopeptida) Berikut adalah struktur Peptidoglikan (Anggraini, 2017). Konstituen peptidoglikan (A) Komposisi kimia unit monomer peptidoglikan, yang terdiri dari disakarida dengan menghubungkan lima residu peptida. (B) Reaksi transpeptida antara dua peptidoglikan (Anggraini, 2017).



Gambar 19. Struktur Peptidoglikan (Anggraini, 2017)

2.6 *Pseudomonas aeruginosa*

2.6.1 Klasifikasi

Menurut *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology second edition volume empat* yang dikutip dalam Rollando (2019), klasifikasi *Pseudomonas aeruginosa* dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Klasifikasi *Pseudomonas aeruginosa*

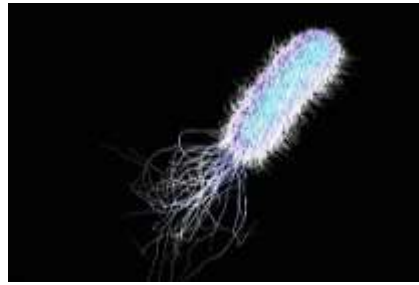
Kategori	Keterangan
Kerajaan	<i>Monera</i>
Divisi	<i>Proteobacteria</i>
Kelas	<i>Gamma Proteobacteria</i>
Bangsa	<i>Pseudomonadales</i>
Suku	<i>Pseudomonadaceae</i>
Marga	<i>Pseudomonas</i>
Jenis	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

Sumber : (Rollando, 2019)

2.6.2 Deskripsi

Pseudomonas aeruginosa adalah patogen oportunistik resistensi multi-obat (MDR), menyebabkan infeksi akut atau kronis pada individu dengan gangguan kekebalan dengan penyakit paru obstruktif kronis (PPOK), fibrosis kistik, kanker, trauma, luka bakar, sepsis, dan pneumonia terkait ventilator (VAP) termasuk yang disebabkan oleh COVID-19. *P. aeruginosa* dalam keadaan biofilm dapat bertahan hidup di atmosfer hipoksia atau lingkungan yang sangat keras lainnya. Selain itu, pengobatan infeksi *P. aeruginosa* sangat sulit karena mutasi dan adaptasinya yang cepat untuk mendapatkan resistensi terhadap antibiotik. Selain itu, *P. aeruginosa* juga merupakan salah satu patogen yang terdaftar teratas yang menyebabkan infeksi yang didapat di rumah sakit, yang banyak ditemukan pada perangkat medis (ventilasi) karena mereka cenderung tumbuh subur di permukaan basah (Qin *et al.*, 2022).

2.6.3 Morfologi



Gambar 20. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* (Pelu, 2022)

Pseudomonas aeruginosa adalah bakteri gram negatif berbentuk batang pendek, bersifat aerobik, tidak membentuk spora, dan memiliki ukuran lebar 0,5-0,8 μm serta panjang 1,5-3,0 μm . Bakteri ini dilengkapi dengan flagela untuk pergerakan dan memiliki dua jenis pigmen: *pyoverdine* (pigmen fluoresens hijau) dan *pyocyanin* (pigmen biru). Bakteri ini banyak ditemukan di dalam tanah dan air, serta dapat dijumpai di permukaan tanah maupun air. Bakteri ini mampu bertahan hidup dan berkembang biak dalam kondisi tanpa oksigen (Rollando, 2019).

2.6.4 Patogenesis

Pada pasien dengan *cystic fibrosis* (CF), *P. aeruginosa* merupakan patogen yang sangat penting, dan merupakan penyebab utama morbiditas dan mortalitas. Komplikasi dari CF termasuk infeksi saluran pernapasan kronis, penyakit paru-paru struktural dan bronkiektasis, obstruksi aliran udara, dan kematian. Infeksi kronis *P. aeruginosa* dikaitkan dengan memburuknya fungsi paru-paru dan pedoman merekomendasikan terapi awal yang agresif untuk mengobati *P. aeruginosa* pada pasien CF untuk mempertahankan fungsi paru-paru. *P. aeruginosa* dapat berkembang di paru-paru CF karena kemampuannya untuk mengalami mutasi dan perubahan genetik yang memungkinkannya untuk bertahan hidup di lingkungan paru-paru CF yang biasanya anaerob. Infeksi kronis dengan *P. aeruginosa* biasanya menyebabkan produksi biofilm, dan konversi ke fenotipe berlendir ini dikaitkan dengan produksi alginat polisakarida

Perkembangan fenotipe berlendir dari *P. aeruginosa* dikaitkan dengan penurunan fungsi paru-paru dan dikaitkan dengan peningkatan mortalitas, yang telah menyebabkan pengobatan dini *P. aeruginosa* pada pasien CF menjadi standar perawatan (Reynolds & Kollef, 2021).

2.7 Metode Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses yang dilakukan oleh cairan penyari untuk menarik keluar zat aktif yang beberapa terdapat pada tanaman obat. Zat aktif berada di dalam sel, sehingga untuk dapat mengeluarkan zat aktif dari dalam sel diperlukannya suatu cairan penyari atau pelarut tertentu. Cairan penyari yang biasa digunakan adalah metanol, etanol, kloroform, heksan, eter, aseton, benzen dan etil asetat. Pembagian metode ekstraksi cukup beragam, ada yang membaginya berdasarkan suhu dari sistem ekstraksi yang digunakan, proses tersarinya sampel oleh cairan penyari dan berdasarkan ragam metode yang bertujuan secara khusus untuk menarik komponen tertentu. Metode ekstraksi dengan cara panas dapat dibagi berdasarkan pada cairan penyari yang digunakan yaitu dengan menggunakan air dan dengan pelarut organik seperti metanol atau etanol (Najib, 2018).

2.7.1 Infusa

Infusa adalah sediaan cair yang dihasilkan melalui proses ekstraksi simplisia nabati menggunakan air sebagai pelarut. Metode ini melibatkan pemanasan pada suhu antara 90°C hingga 95°C selama 15 hingga 20 menit untuk mengekstrak senyawa-senyawa aktif dari bagian tanaman seperti daun dan kulit kayu, yang biasanya memiliki tekstur yang keras dan mampu bertahan pada suhu tinggi (Pratama *et al.*, 2021). Keuntungannya menggunakan metode infusa yaitu, unit alat yang dipakai sederhana dan biaya operasionalnya relatif rendah. Sedangkan kerugiannya yaitu, zat-zat yang tertarik kemungkinan sebagian akan mengendap dan kembali apabila kelarutannya sudah mendingin atau lewat jenuh (Dewi *et al.*, 2021).

Proses pembuatan infusa dilakukan dengan menempatkan simplisia dalam bejana yang dipanaskan dengan air, dengan pengadukan sesekali untuk memastikan ekstraksi yang merata (Khafidhoh *et al.*, 2015). Perlakuan ini dapat dilakukan pada sampel yang segar maupun dalam bentuk simplisia (Najib, 2018). Setelah pemanasan selesai, campuran diangkat dan disaring dalam keadaan panas untuk memisahkan ekstrak dari sisa simplisia. Karena air adalah pelarut polar, senyawa-senyawa yang memiliki kepolaran serupa, seperti saponin, tanin, flavonoid, dan kumarin, lebih mudah terlarut, sehingga infusa menjadi metode yang efektif untuk mengisolasi komponen-komponen aktif tersebut, yang semuanya larut dalam air (Khafidhoh *et al.*, 2015).

2.7.2 Maserasi

Maserasi merupakan jenis ekstraksi sederhana karena pengerjaan hanya dilakukan dengan cara merendam bahan simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk kedalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut dan adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang diluar sel, maka zat aktif (zat terlarut) ditarik keluar. Peristiwa tersebut terjadi berulang kali hingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan diluar dan di dalam sel (Najib, 2018).

Metode maserasi digunakan untuk penyarian simplisia yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari, tidak mengandung zat yang mudah mengembang dalam cairan penyari, tidak mengandung benzoin, tiraks dan lilin. Pada penyarian dengan cara maserasi perlu dilakukan pengadukan, diperlakukan untuk meratakan konsentrasi larutan diluar butir serbuk simplisia, sehingga dengan pengadukan tersebut tetap terjaga adanya derajat konsentrasi yang sekecil-kecilnya antara larutan di dalam sel dengan diluar sel. Setelah tiga hari endapan dipisahkan, ampas ditambahkan cairan penyari hingga diperoleh sari sebanyak 100 bagian (Najib, 2018). Keuntungan dari

metode ini yaitu unit alat yang dipakai sederhana, (hanya dibutuhkan bejana perendam), biaya operasionalnya relatif rendah. prosesnya relatif hemat penyari, tanpa pemanasan. Kelemahan dari metode ini yaitu proses penyariannya tidak sempurna, karena zat aktif hanya mampu terekstraksi sebesar 50% saja, prosesnya lama, butuh waktu beberapa hari (Dewi *et al.*, 2021).

2.7.3 Perkolasi

Perkolasi merupakan proses penyarian simplisia yang dilakukan pada temperatur kamar dengan menggunakan pelarut yang selalu baru jika penyarian sudah sempurna maka dihentikan penggunaan penambahan pelarut. Perkolasi dilakukan dalam wadah berbentuk silindris atau kerucut (perkolator), yang memiliki jalan masuk dan keluar yang sesuai. Bahan pengekstraksi yang dialirkan secara terus-menerus dari atas, akan mengalir turun secara lambat melintasi simplisia yang umumnya berupa serbuk kasar. Melalui penyegaran bahan pelarut secara terus-menerus, akan terjadi proses maserasi bertahap banyak (Najib, 2018).

Proses penyarian pada perkolasi memiliki beberapa tahap, di antaranya adalah tahap pelembapan bahan, tahap perendaman antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan atau penampungan ekstrak) terus-menerus sampai diperoleh perkolat (Najib, 2018). Keuntungan perkolasi yaitu, tidak memerlukan langkah tambahan yaitu sampel padat (*marc*) telah terpisah dari ekstrak, sedangkan kerugian perkolasi yaitu, kontak antara sampel padat tidak merata atau terbatas dibandingkan dengan metode refluks, dan pelarut menjadi dingin selama proses perkolasi sehingga tidak melarutkan komponen secara efisien (Dewi *et al.*, 2021).

2.7.4 Soxhletasi

Sokletasi adalah suatu metode atau proses pemisahan suatu komponen yang terdapat dalam zat padat dengan cara penyaringan berulang ulang dengan menggunakan pelarut tertentu, sehingga semua komponen yang diinginkan akan terisolasi (Dewi *et al.*, 2021) Metode soxhletasi digunakan untuk bahan yang tahan pemanasan dengan cara meletakkan bahan yang akan diekstraksi dalam sebuah kantong ekstraksi (kertas sari) di dalam sebuah alat ekstraksi dari gelas yang bekerja kontinu dengan pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik dan turun menyari simplisia dalam klongsong dan selanjutnya masuk kembali kedalam labu alas bulat setelah melewati pipa sifon (Najib, 2018).

Keuntungan dari metode ini yaitu, dapat digunakan untuk sampel dengan tekstur yang lunak dan tidak tahan terhadap pemanasan secara langsung, dapat digunakan pelarut yang lebih sedikit dan pemanasannya dapat diatur. Sedangkan kerugian dari metode sokletasi yaitu, karena pelarut didaur ulang, ekstrak yang terkumpul pada wadah di sebelah bawah terus-menerus dipanaskan sehingga dapat menyebabkan reaksi peruraian oleh panas dan jumlah total senyawa-senyawa yang diekstraksi akan melampaui kelarutannya dalam pelarut tertentu sehingga dapat mengendap dalam wadah dan membutuhkan volume pelarut yang lebih banyak untuk melarutkannya. Bila dilakukan dalam skala besar, metode ini mungkin tidak cocok untuk menggunakan pelarut dengan titik didih yang terlalu tinggi, seperti metanol atau air, karena seluruh alat yang berada di bawah kondensor perlu berada pada temperatur ini untuk pergerakan uap pelarut yang efektif (Dewi *et al.*, 2021).

2.8 Spektrofotometri UV-Vis

Metode spektrofotometri UV-Vis merupakan teknik analisis yang memanfaatkan panjang gelombang pada daerah ultraviolet dan cahaya tampak untuk mendeteksi senyawa tertentu. Spektrofotometri UV-Vis

bekerja berdasarkan prinsip Hukum Lambert-Beer, yang menyatakan bahwa ketika cahaya monokromatik melewati suatu zat, sebagian dari cahaya tersebut akan diserap, sebagian dipantulkan, dan sebagian lainnya diteruskan. Adapun panjang gelombang pada daerah ultraviolet berada dalam rentang 189–380 nm, sedangkan pada daerah cahaya tampak (*visible*) berkisar antara 380–780 nm (Ahriani *et al.*, 2021). Prinsip kerja Spektrofotometri UV-Vis didasarkan pada absorpsi cahaya pada panjang gelombang tertentu dari suatu sampel yang dianalisis (Sulistyani *et al.*, 2023).

Dalam analisis nanopartikel perak, spektrum hasil dari spektrofotometri UV-Vis memberikan informasi penting, dimana nilai absorbansi mengindikasikan jumlah nanopartikel perak yang terbentuk dan spektrum panjang gelombang maksimum menunjukkan distribusi ukuran partikel yang dihasilkan (Prasetia *et al.*, 2019). Pembentukan nanopartikel perak dikonfirmasi melalui puncak serapan maksimum pada panjang gelombang 395-515 nm (Masakke *et al.*, 2015).

2.9 *Scanning Electron Microscopy*

SEM adalah salah satu jenis mikroskop elektron yang mampu menghasilkan resolusi tinggi dari gambaran permukaan suatu sampel. Prinsip kerja alat SEM adalah dengan memanfaatkan hamburan balik elektron (*electron beam*) pada permukaan objek dan mengambil gambar dengan mendeteksi elektron yang muncul pada permukaan objek (Septiano *et al.*, 2021). Elektron berinteraksi dengan atom-atom penyusun sampel, menghasilkan sinyal yang menyimpan informasi tentang morfologi permukaan sampel. Penggunaan SEM banyak digunakan diberbagai bidang mulai dari biologi hingga teknik material dengan resolusi hingga 1 nm dan perbesaran 1.000.000x (Masta, 2020). Selain SEM, TEM (*Transmission Electron Microscopy*) juga digunakan secara luas, terutama untuk mengamati struktur internal atau bagian dalam dari sampel pada tingkat atomik (Zhac *et al.*, 2023).

2.10 Uji Aktivitas Antibakteri

2.10.1 Metode Difusi Agar

Metode lempeng silinder atau difusi agar merupakan teknik yang digunakan untuk mengevaluasi sensitivitas mikroorganisme terhadap senyawa antibiotik dengan membandingkan zona hambatan pertumbuhan mikroba akibat dosis antibiotik yang diuji dengan dosis standar pada media agar. Proses ini melibatkan pengamatan terhadap area di sekitar kertas cakram yang tidak terinfeksi mikroorganisme, yang menunjukkan daya hambat senyawa antimikroba (Fitriana *et al.*, 2019). Metode difusi ini terbagi menjadi beberapa jenis, yaitu metode disk, sumuran, dan parit (Retnaningsih *et al.*, 2019). Pengujian dilakukan dengan menempatkan kertas cakram yang telah dicelupkan dengan senyawa uji ke dalam media agar yang diinokulasi bakteri, di mana area bening yang terbentuk menunjukkan adanya hambatan pertumbuhan akibat senyawa antimikroba. Kelebihan metode ini adalah kemudahan pelaksanaannya tanpa memerlukan alat khusus serta fleksibilitas dalam pemilihan obat yang akan diuji. Selain itu, metode difusi juga dapat digunakan untuk zat antimikroba yang larut maupun tidak larut, dan prinsip kerjanya melibatkan difusi senyawa antibakteri ke dalam media padat tempat mikroba uji diinokulasi. Hasil yang diamati berupa zona bening di sekitar kertas cakram, yang menunjukkan efek hambat pada pertumbuhan bakteri (Burhan *et al.*, 2022; Rollando, 2019).

2.10.1.1 Cakram



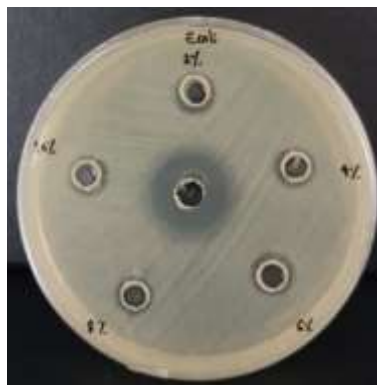
Gambar 21. Metode Difusi Cakram (Pelu, 2022)

Uji difusi cakram merupakan metode *Kirby-Bauer* yang dilakukan dengan meletakkan piringan yang mengandung senyawa antimikroba pada permukaan media agar yang telah diinokulasi dengan mikroba. Selama inkubasi, senyawa antimikroba akan berdifusi ke dalam media agar, namun laju difusi tidak secepat laju ekstraksi senyawa dari disk. Akibatnya, konsentrasi senyawa antimikroba tertinggi terdapat di dekat disk dan menurun secara logaritmik seiring bertambahnya jarak dari disk tersebut (Rollando, 2019). Daerah atau area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan media agar (Pelu, 2022).

Metode difusi cakram ini merupakan prosedur yang akurat dan terstandarisasi, serta dapat disesuaikan dengan kebutuhan laboratorium. EUCAST dan CLSI merekomendasikan waktu inkubasi antara 16 hingga 18 jam untuk sebagian besar spesies dan kombinasi obat. Metode difusi cakram menawarkan banyak kelebihan, termasuk efisiensi biaya, fleksibilitas, dan kemampuan untuk mengamati pertumbuhan organisme secara langsung. Namun, kelemahannya adalah memerlukan biaya tenaga

kerja untuk pengukuran dan dokumentasi secara manual, yang dapat menghasilkan variasi dalam hasil (Griselda & Setiawan, 2023). Metode ini lebih banyak digunakan karena proses pengujiannya yang cepat dan tidak memerlukan alat khusus, serta memberikan fleksibilitas dalam pemilihan obat yang akan diuji (Burhan *et al.*, 2022).

2.10.1.2 Sumuran



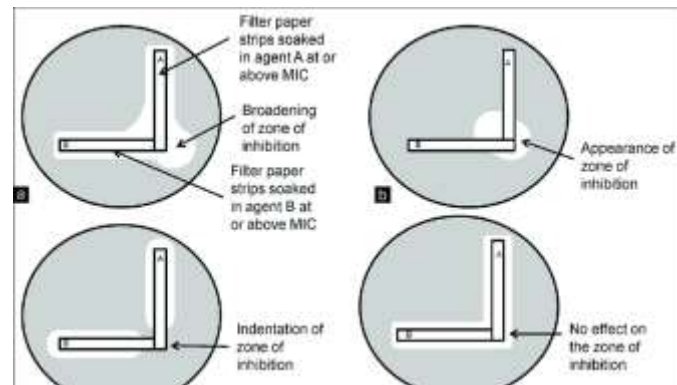
Gambar 22. Metode Difusi Sumuran (Nurhayati, Yahdiyani, dan Hidayatullah, 2020)

Salah satu metode yang umum digunakan dalam evaluasi aktivitas antimikroba, terutama yang berasal dari tanaman, adalah metode difusi sumuran (Griselda & Setiawan, 2023). Metode difusi dilakukan dengan melubangi media yang telah diinokulasi dengan perforator dan zat uji diletakan didalamnya (Rollando, 2019). Prinsip dasar metode ini melibatkan inokulasi permukaan pelat agar dengan inokulum mikroba, di mana kemudian dibuat lubang dengan diameter 6-8 mm secara aseptis menggunakan alat sumuran. Lubang-lubang ini disiapkan untuk larutan uji, larutan kontrol positif, dan larutan kontrol negatif sesuai tujuan penelitian. Sebanyak 20-100 μL larutan uji dengan konsentrasi tertentu dimasukkan ke dalam lubang tersebut, setelah itu pelat agar diinkubasi pada suhu 37°C selama 24

jam atau dalam kondisi sesuai dengan mikroorganisme yang diuji. Setelah inkubasi, diameter zona hambat diukur, yang menunjukkan bahwa agen antimikroba telah berdifusi ke dalam media agar dan menghambat pertumbuhan mikroba. Metode difusi sumuran biasanya digunakan untuk menentukan KHM (Konstanta Hambat Minimum) dalam media padat, di mana difusi antibiotik menghasilkan zona bening di sekitar petri yang semakin luas seiring meningkatnya konsentrasi antibiotik (Griselda & Setiawan, 2023).

Kelebihan dari metode ini adalah kemudahan dalam mengukur luas zona hambat, karena isolat beraktivitas tidak hanya di permukaan agar, tetapi juga sampai ke bawah. Namun, kekurangannya terletak pada kerentanan media terhadap kontaminasi saat pembuatan lubang dan saat memasukkan sampel, terutama dibandingkan dengan metode difusi disk. Prinsip metode ini adalah membuat lubang pada agar yang telah diinokulasi dengan bakteri, lalu meneteskan larutan ke dalam lubang sumuran tersebut, sehingga penghambatan pertumbuhan mikroorganisme dapat diamati dari adanya zona hambat (wilayah jernih) di sekitar lubang (Retnaningsih *et al.*, 2019).

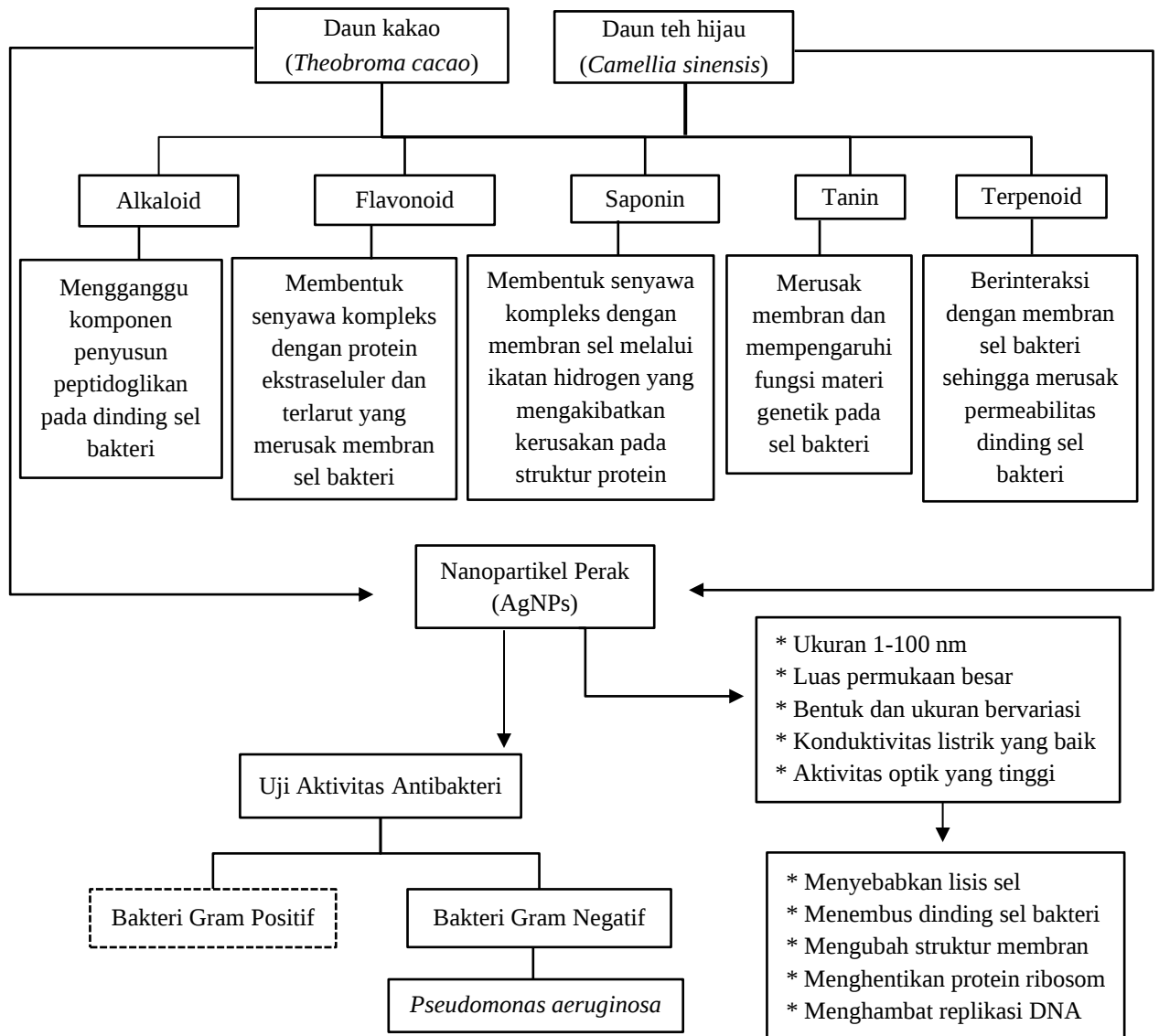
2.10.1.3 Parit



Gambar 23. Metode Difusi Parit (Pelu, 2022)

Metode ini menggunakan sampel uji berupa agen antimikroba yang diletakkan pada parit yang dibuat dengan cara memotong media agar dalam cawan petri pada bagian tengah secara membujur dan mikroba uji (maksimum 6 macam) kemudian digoreskan ke arah parit yang berisi agen antimikroba (Pelu, 2022) Metode ini dilakukan dengan membuat parit sepanjang diameter media padat dan zat uji diletakkan pada parit tersebut kemudian diinokulasi dengan bakteri pada bagian kiri dan kanan parit, metode ini digunakan untuk sediaan uji dalam bentuk krim atau salep (Rollando, 2019).

2.11 Kerangka Teori

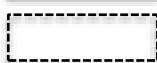


Gambar 24. Kerangka Teori

Keterangan



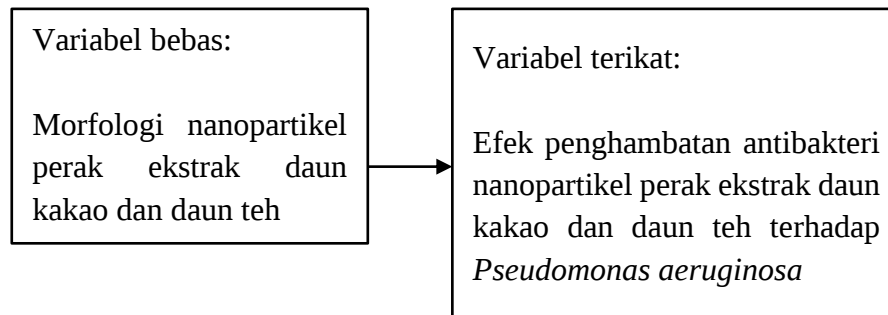
: Diteliti



: Tidak diteliti

2.12 Kerangka Konsep

Adapun kerangka konsep pada penelitian ini adalah sebagai berikut:



Gambar 25. Kerangka Konsep

2.13 Hipotesis

2.11.1 Hipotesis null (H0)

1. Tidak terdapat perbedaan signifikan antara aktivitas antibakteri nanopartikel perak ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao* L.) dan daun teh hijau (*Camellia sinensis*) terhadap *Pseudomonas aeruginosa*.

2.11.2 Hipotesis alternatif (H1)

1. Terdapat perbedaan signifikan antara aktivitas antibakteri nanopartikel perak ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao* L.) dan daun teh hijau (*Camellia sinensis*) terhadap *Pseudomonas aeruginosa*.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Pada penelitian ini digunakan metode eksperimental laboratorium dengan melakukan sintesis nanopartikel perak dengan ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao* L.) dan daun teh hijau (*Camellia sinensis*) sebagai pereduktor, dan uji aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dengan menggunakan metode difusi cakram. Sampel daun kakao (*Theobroma cacao* L.) berasal dari perkebunan coklat kec. Way Tenung provinsi Lampung, dan daun teh (*Camellia sinensis*) yang berasal dari perkebunan teh kota Pagar Alam provinsi Sumatera Selatan.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan di:

1. Laboratorium Botani Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung untuk mendeterminasi daun kakao (*Theobroma cacao* L.) dan daun teh hijau (*Camellia sinensis*).
2. Laboratorium Kimia Analis Farmasi untuk mengekstrak daun kakao (*Theobroma cacao* L.) dan daun teh hijau (*Camellia sinensis*). Selain itu untuk preparasi sampel, serta mengukur absorbansi dari nanopartikel perak ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao* L.) dan daun teh hijau (*Camellia sinensis*).
3. Unit Pelaksana Teknis Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi (UPT LTSIT) Universitas Lampung untuk melakukan uji

karakterisasi nanopartikel perak dari ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao* L.) dan daun teh hijau (*Camellia sinensis*).

4. Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung untuk menguji aktivitas antibakteri nanopartikel perak dari ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao* L.) dan daun teh hijau (*Camellia sinensis*) terhadap *Pseudomonas aeruginosa*.

3.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Oktober 2024-Maret 2025.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat Penelitian

Pada penelitian ini peralatan yang digunakan adalah Oven (Memmert), Timbangan Analitik (ACIS type AD-300i), Blender, SEM (ZEISS), *Hot Plate* (Biosan MSH-300), *Magnetic Stirrer*, *Centrifuge* (Hettich EBA 200), Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu type UV-1900i), Vortex (Maxi Mix II), Kertas Saring, Kertas Label, Toples Kaca, Mikro pipet, Rak dan Tabung Reaksi, Batang Pengaduk, Pisau, Erlenmeyer, Gelas Beaker, Jarum Ose, Bunsen, Kapas Steril, Inkubator, Jangka Sorong, Masker, *Handscoon*, Aluminium Foil, dan Cawan Petri.

3.3.2 Bahan Penelitian

Daun kakao (*Theobroma cacao* L.) yang berasal dari perkebunan coklat kec. Way Tenung provinsi Lampung, daun teh (*Camellia sinensis*) yang berasal dari perkebunan teh kota Pagar Alam provinsi Sumatera Selatan, Aquades, Perak Nitrat (AgNO_3), *Nutrient Agar Merck*, dan NaCl.

3.3.3 Mikroba Uji Penelitian

Mikroorganisme yang akan diuji dalam penelitian ini adalah *Pseudomonas aeruginosa*. Mikroba tersebut diperoleh dari UPTD Balai Laboratorium Kesehatan Provinsi Lampung.

3.3.4 Media Kultur

Pada penelitian ini digunakan media kultur *Nutrient Agar* (NA).

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah morfologi nanopartikel perak ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao* L.) dan daun teh hijau (*Camellia sinensis*).

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah efek penghambatan antibakteri nanopartikel ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao* L.) dan daun teh hijau (*Camellia sinensis*) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

3.4.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol pada penelitian ini adalah Ciprofloxacin 1% sebagai kontrol positif pengukuran daya hambat antibakteri.

3.5 Definisi Operasional

Tabel 4. Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
Variabel Bebas	Melihat bentuk maupun struktur mikro permukaan nanopartikel ekstrak daun kakao (<i>Theobroma cacao</i> L.) dan daun teh hijau (<i>Camellia sinensis</i>)	<i>Scanning Electron Microscopy</i> (SEM)	Nanopartikel perak dapat berbentuk • Bulat • Batang atau Tabung • Serat • Acak (Masakke <i>et al.</i> , 2015)	Rasio
Variabel Terikat	Kemampuan nanopartikel ekstrak daun kakao (<i>Theobroma cacao</i> L.) dan daun teh hijau (<i>Camellia sinensis</i>) dalam menghambat <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Menggunakan metode difusi cakram untuk mengukur daya hambat.	Diameter zona hambat (mm) Kategori: • Zona hambat lemah: ≤ 5 mm • Zona hambat sedang: 6-10 mm • Zona hambat sangat kuat: ≥ 20 mm (Luthfia <i>et al.</i> , 2024).	Rasio

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Determinasi Tanaman

Proses identifikasi atau determinasi tanaman akan dilaksanakan di Laboratorium Botani Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Proses ini untuk mengidentifikasi dan mengklasifikasi jenis tanaman yang digunakan dalam penelitian ini. Daun kakao (*Theobroma cacao* L.) dan daun teh (*Camellia sinensis*) akan diamati sesuai dengan ciri-ciri morfologinya.

3.6.2 Preparasi Sampel

3.6.2.1. Pembuatan Ekstrak

Penelitian ini menggunakan metode ekstraksi infusa untuk mengekstrak senyawa aktif dari daun teh hijau dan kakao. Daun teh hijau dan kakao dicuci dengan air beberapa kali dan terakhir dibilas dengan aquades untuk menghilangkan kotoran. Daun dikeringkan dengan udara, dan kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 50 °C selama sekitar 24 jam. Daun kering kemudian dihaluskan dengan blender. Dalam proses ekstraksi, perbandingan antara simplisia dan pelarut aquades yang digunakan adalah 1:5. Sebanyak 100 gram serbuk daun teh dan 100 gram serbuk daun kakao masing-masing dimasukkan ke dalam gelas beaker berukuran 1000 ml. Kemudian ditambahkan 500 ml aquades sebagai pelarut ke dalam gelas beaker. Campuran tersebut dimagnetik stirrer pada suhu 90 °C selama 10 menit, kemudian disentrifugasi pada 3000 rpm untuk mengumpulkan larutan. Larutan yang dihasilkan disaring melalui kertas saring (Khac *et al.*, 2023). Ekstrak daun teh hijau dan daun kakao dapat disimpan pada suhu 4 °C untuk digunakan selama sekitar 1 bulan (Zhao *et al.*, 2022). Sebelum disimpan ekstrak yang diperoleh dapat dihitung rendemennya dengan

syarat nilai rendemen yang baik lebih dari 10% menggunakan persamaan berikut (FHI, 2017).

$$\text{Rendemen Ekstrak} = \frac{\text{Bobot Ekstrak}}{\text{Bobot Simplisia}} \times 100\%$$

3.6.2.2. Skrining Fitokimia

1. Pemeriksaan Alkaloid

Dilakukan pengujian alkaloid pada ekstrak daun kakao dan daun teh pada tabung reaksi yang berbeda. Masing-masing ekstrak sebanyak 2 mL dicampur dengan 5 mL HCl 2N, kemudian ditambahkan lagi 3 tetes pereaksi *Dragendorff*. Terbentuknya endapan berwarna kuning menunjukkan keberadaan alkaloid (Khafid *et al.*, 2023).

2. Pemeriksaan Flavonoid

Dilakukan pengujian flavonoid pada ekstrak daun kakao dan daun teh pada tabung reaksi yang berbeda. Masing-masing ekstrak sebanyak 1 mL larutan uji dimasukkan kedalam tabung reaksi, tambahkan 0,1gram serbuk magnesium dan 10 tetes asam klorida 2 N. Kemudian diamati, jika terjadi perubahan warna menjadi merah jingga sampai merah ungu menunjukkan adanya flavonoid (Indah *et al.*, 2022).

3. Pemeriksaan Saponin

Dilakukan pengujian saponin pada ekstrak daun kakao dan daun teh pada tabung reaksi yang berbeda. Masing-masing ekstrak sebanyak 1 mL, kemudian dikocok vertikal selama 10 detik dan dibiarkan selama 10 detik. Pembentukan busa setinggi 1-10 cm yang stabil selama tidak kurang dari 10 menit. Kemudian ditambahkan 1 tetes HCL 2N dan busa

tidak hilang maka sampel positif mengandung saponin (Indah *et al.*, 2022).

4. Pemeriksaan Tanin

Dilakukan pengujian tanin pada ekstrak daun kakao dan daun teh pada tabung reaksi yang berbeda. Masing-masing ekstrak sebanyak 1 mL dan ditambahkan beberapa tetes FeCl_3 1%, jika menghasilkan warna hijau violet maka larutan uji positif mengandung tanin (Indah *et al.*, 2022).

5. Pemeriksaan Terpenoid

Dilakukan pengujian Triterpenoid pada ekstrak daun kakao dan daun teh hijau pada tabung reaksi yang berbeda. Masing-masing ekstrak sebanyak 2 mL ditambahkan 0,5 mL asam asetat anhidrat. Selanjutnya ditambahkan 2 mL asam sulfat pekat melalui dinding tabung. Jika terbentuk cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan menunjukkan adanya terpenoid, sedangkan bila muncul cincin biru kehijauan menunjukkan adanya steroid (Indah *et al.*, 2022).

3.6.2.3. Sintesis Hijau Nanopartikel Perak dari Ekstrak Tanaman

Ditambahkan 25mL larutan AgNO_3 dengan konsentrasi 1M ke masing-masing 1mL ekstrak daun kakao dan daun teh hijau yang telah disiapkan. Konsentrasi masing-masing ekstrak yang digunakan adalah sebesar 3,84%. Kemudian dilakukan pengadukan magnetik stirer selama sekitar 2 jam pada suhu bervariasi antara 30 °C dan 60 °C (Khac *et al.*, 2023). Setelah reaksi berakhir, larutan yang dihasilkan berwarna kecokelatan (Zhao *et al.*, 2022).

3.6.3 Pengukuran Spektrum UV-VIS

Larutan sampel nanopartikel perak ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao* L.) dan daun teh hijau (*Camellia sinensis*) yang diperoleh masing-masing dilakukan pemindaian dengan Spektrofotometri UV-Vis. Prinsip kerja Spektrofotometri UV-Vis didasarkan pada absorpsi cahaya pada panjang gelombang tertentu dari suatu sampel yang dianalisis (Sulistyani *et al.*, 2023). Larutan sampel masing-masing dipindai pada rentang panjang gelombang yang sama. Pembentukan nanopartikel perak dikonfirmasi dengan adanya serapan maksimum pada panjang gelombang 395-515 nm (Masakke *et al.*, 2015).

3.6.4 Karakterisasi Nanopartikel Perak

Dianalisis bentuk serta morfologi partikel nano perak menggunakan instrumen *scanning electron microscopy* (SEM). SEM merupakan salah satu jenis mikroskop elektron yang mampu menghasilkan resolusi tinggi dari gambaran permukaan suatu sampel. Prinsip kerja alat SEM adalah dengan memanfaatkan hamburan balik elektron (*electron beam*) pada permukaan objek dan mengambil gambar dengan mendeteksi elektron yang muncul pada permukaan objek (Septiano *et al.*, 2021).

Larutan sampel yang diperoleh disentrifugasi pada kecepatan 8900 rpm selama 45 menit, kemudian endapan yang dihasilkan dicuci dengan 10 mL aquabides dan disentrifugasi kembali. Proses pencucian dan sentrifugasi ini dilakukan sebanyak 4-5 kali. Setelah itu, endapan yang diperoleh dikeringkan di oven pada suhu 100 °C (Massake *et al.*, 2015). Serbuk yang dihasilkan kemudian dapat dianalisis menggunakan SEM (Rahim *et al.*, 2021).

3.6.5 Pengujian Aktivitas Antibakteri

1. Sterilisasi Alat dan Bahan

Dalam penelitian ini, semua peralatan harus disterilkan sebelum digunakan. Sterilisasi yang digunakan yaitu oven, penggunaan oven diperuntukkan bagi benda-benda dari kaca atau gelas, seperti pipet ukur, Erlenmeyer, dan tabung reaksi. Bahan yang terbuat dari karet atau plastik tidak boleh disterilkan dengan cara ini. Proses sterilisasi di oven dilakukan pada suhu 180°C selama 30 menit. Sebelum dilakukan sterilisasi, alat-alat tersebut harus dibungkus dengan kertas.

Selain itu, sterilisasi dengan pemanasan menggunakan bunsen dilakukan untuk peralatan seperti jarum ose, yang dipanaskan di atas nyala api bunsen hingga membara. Autoklaf merupakan metode sterilisasi dengan panas basah. Sebelum menggunakan autoklaf, peralatan yang akan disterilkan harus dibersihkan dengan air dan tissue. Untuk sterilisasi media, seperti media NA dan media NB, ujung botol ditutup dengan kapas, *aluminium foil*, dan *cling wrap*. Proses sterilisasi dengan autoklaf berlangsung selama 15-20 menit pada suhu 121°C (Anggraeni & Triajie, 2021).

2. Pembuatan media *Nutrient Agar* (NA)

Pembuatan media padat dilakukan dengan menggunakan *Nutrient Agar* (NA). Sebanyak 2,3 g NA ditimbang dan dilarutkan dalam 100 mL aquades, kemudian diaduk sambil dipanaskan di *hotplate* hingga larutan mencapai suhu yang tepat. Setelah itu, media padat disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Anggraeni & Triajie, 2021).

3. Pembuatan Suspensi Standar *Mc Farland*

Suspensi standar yang digunakan memiliki konsentrasi kekeruhan suspensi bakteri 10^8 CFU/ml yang terdiri dari 99,5 mL larutan asam sulfat 1% dan 0,5 mL larutan BaCl 1,175%. Kedua larutan tersebut dicampurkan ke dalam tabung reaksi steril, kemudian dikocok hingga tercampur rata dan ditutup. Jika kekeruhan suspensi bakteri yang dihasilkan sama dengan kekeruhan suspensi standar, maka konsentrasi bakteri tersebut adalah 10^8 CFU/mL (Noviyanto *et al.*, 2020).

4. Pembuatan Suspensi Mikroba

Pembuatan suspensi mikroba dilakukan dengan mencampurkan satu ose kultur mikroba ke dalam larutan NaCl 0,9% hingga mencapai kekeruhan yang sesuai dengan standar 0,5 *Mac Farland* (CLSI, 2021)

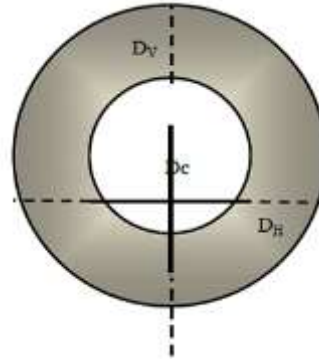
5. Peremajaan Mikroba

Peremajaan isolat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dilakukan dengan menggunakan *Nutrient Agar* (NA). Sebanyak 1 ose bakteri diambil dari stok atau kultur, lalu diinokulasi pada media NA secara zig-zag dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Anggraeni & Triajie, 2021).

6. Pengujian Aktivitas Antibakteri

Pengujian ini dilakukan untuk mengukur efektivitas penghambatan antara nanopartikel perak dari ekstrak daun kakao dan daun teh terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan menggunakan metode difusi cakram. Kertas cakram dijenuhkan selama 15 menit dalam nanopartikel perak dari ekstrak daun kakao dan daun teh sebanyak 10 μ L. Kemudian, kertas cakram berukuran 5 mm yang telah mengandung 10 μ L formulasi tersebut diletakkan di atas media

agar yang telah diinokulasi dengan bakteri uji menggunakan *cotton swab*. Selanjutnya, media tersebut diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Zona hambat yang terbentuk kemudian diukur menggunakan jangka sorong (Luthfia *et al.*, 2024).



Gambar 26. Pengukuran Diameter Zona Hambat Bakteri (Magvirah *et al.*, 2019)

Untuk mengukur zona hambat pada metode difusi cakram dapat menggunakan persamaan berikut.

$$\frac{(Dv - Dc) + (DH - Dc)}{2}$$

Keterangan:

Zona hambat:

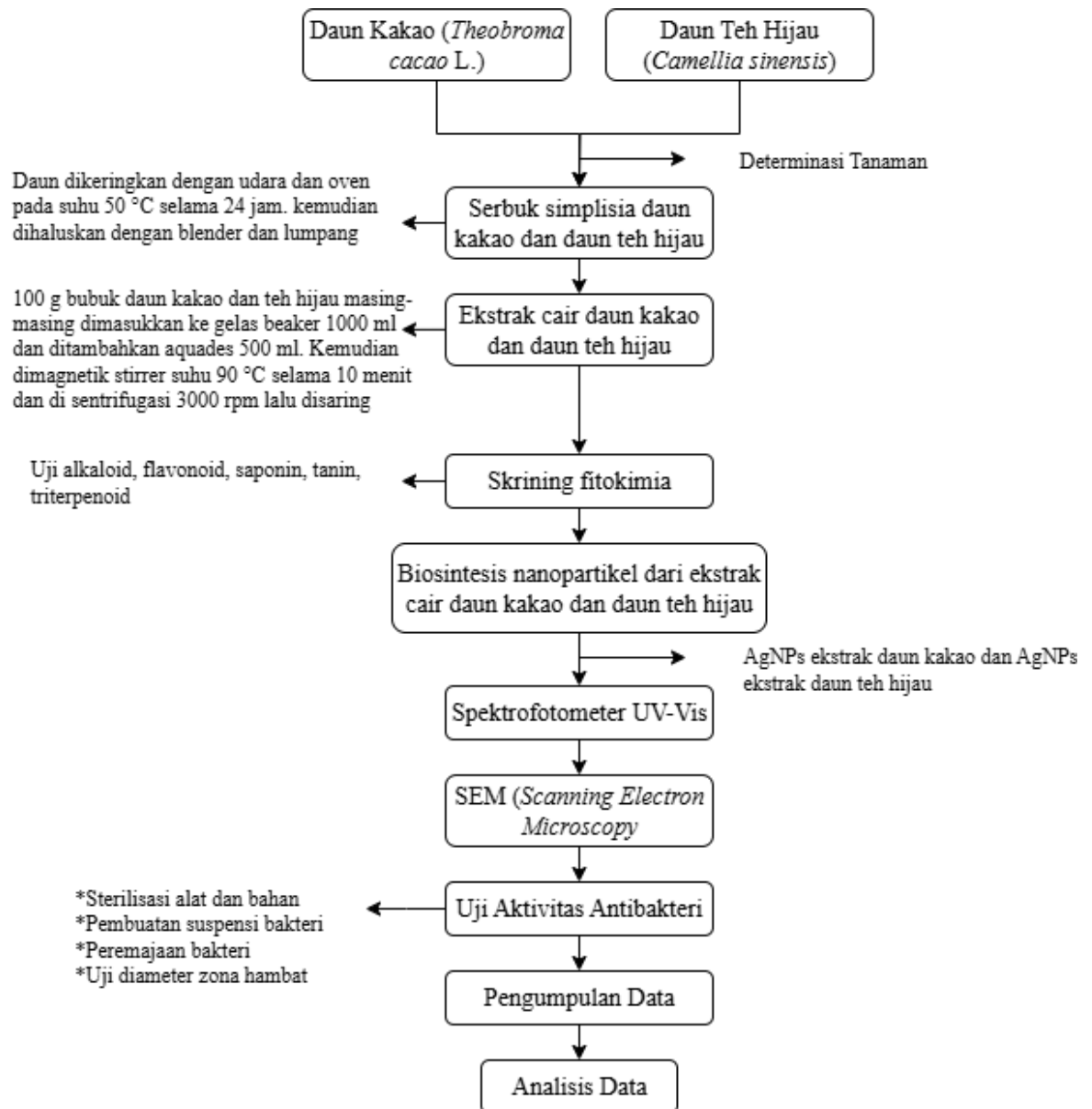


Dv: Diameter vertikal

DH: Diameter horizontal

Dc: Diameter kertas cakram

3.7 Alur Penelitian



Gambar 27. Alur Penelitian

3.8 Pengolahan Data dan Analisis Data

3.8.1 Pengolahan Data

Data yang telah dikumpulkan kemudian dimasukkan ke dalam tabel, dan analisis dilakukan menggunakan perangkat lunak *Statistical Packages for Social Science* (SPSS). Menurut Adiputra *et al.* (2021), prosedur pengolahan data mencakup langkah-langkah berikut:

- 1) *Editing*, yaitu proses untuk mengevaluasi apakah data yang diperlukan memenuhi kriteria untuk menjawab pertanyaan penelitian, dengan memperhatikan kelengkapan, konsistensi, dan relevansinya.
- 2) *Coding*, yaitu proses pengkodean data yang bertujuan mengubah data kualitatif menjadi data kuantitatif. Pengkodean ini penting dalam semua jenis pemrosesan data, baik dilakukan secara manual maupun menggunakan program komputer.
- 3) *Data entry*, yaitu menganalisis data yang telah dikode dengan cara memasukkan data tersebut ke dalam program SPSS.
- 4) Tabulasi data, yaitu proses penyajian data dalam bentuk tabel yang disusun sesuai dengan tujuan analisis yang diperlukan dalam penelitian.

3.8.2 Analisis Data

3.8.2.1 Analisis Univariat

Analisis univariat jika jumlah variabel yang dianalisis hanya satu macam. Pengertian satu macam disini bukan jumlahnya hanya 1 tetapi yang dimaksud adalah jenis variabelnya hanya 1 macam (tidak ada variabel dependen dan independen). Bisa saja variabel yang dianalisis ada 4,5,6 dan seterusnya namun peneliti memperlakukan semua variabel tersebut sama yaitu sebagai variabel dependen. Analisis univariat menggunakan metode statistik deskriptif untuk menggambarkan parameter dari masing-masing variabel. Parameter tersebut antara lain nilai tengah

(*mean*, median, modus), dan nilai dispersi (*varians*, standr deviasi, *range*). Beberapa peneliti juga menggunakan uji statistik 1 sampel/kelompok untuk mengetahui normalitas data (nilai *p-value*), estimasi parameter/interval, homogenitas, dan sebagainya (Heryana, 2020).

3.8.2.2 Analisis Bivariat

Sebelum masuk ke analisis bivariat, terlebih dahulu dilakukan uji normalitas menggunakan uji *Saphiro-Wilk*. Jika nilai $p > 0,05$ maka data berdistribusi normal dan sebaliknya. Pada penelitian ini, analisis bivariat digunakan untuk mengetahui perbedaan aktivitas antibakteri nanopartikel perak ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao* L.) dan daun teh hijau (*Camellia sinensis*) terhadap *Pseudomonas aeruginosa*.

1. Uji Antibakteri

Uji statistik yang digunakan adalah uji T independen (jika distribusi data normal) dan uji alternatifnya adalah *Mann Whitney* (jika distribusi data tidak normal). Jika $p\text{ value} < 0,05$ maka dikatakan terdapat perbedaan signifikan dalam aktivitas antibakteri antara 2 sampel, begitupun sebaliknya.

3.9 Etika Penelitian

Sebelum penelitian dilaksanakan, telah diperoleh persetujuan etik dari Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Lampung selaku institut tempat penelitian, dengan NO.1650/UN26.18/PP.05.02.00/2025. Etik dalam penelitian uji antibakteri memiliki peran penting dalam menjamin bahwa proses penelitian dilakukan secara berintegritas, penuh kehati-hatian, serta menghormati hak seluruh pihak yang terlibat. Surat persetujuan etik tercantum pada Lampiran 1.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Hasil pengujian fitokimia pada infusa daun kakao (*Theobroma cacao* L.) positif mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin. Sedangkan pada infusa daun teh hijau (*Camellia sinensis*) menghasilkan positif mengandung senyawa flavonoid, tanin, saponin, dan terpenoid.
2. Hasil morfologi bentuk partikel AgNPs daun kakao (*Theobroma cacao* L.) menunjukkan bentuk bulat cenderung *polygonal*, yaitu dengan sisi-sisi yang lebih tajam dan sudut-sudut yang lebih jelas. Sementara itu, bentuk partikel AgNPs daun teh hijau (*Camellia sinensis*) berbentuk bulat tidak beraturan dan membentuk agregat. Ukuran partikel yang dihasilkan AgNPs daun teh hijau (*Camellia sinensis*) juga lebih kecil daripada partikel AgNPs daun kakao (*Theobroma cacao* L.).
3. Hasil pengujian aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* pada AgNPs daun teh hijau (*Camellia sinensis*) lebih besar rata-rata diameter zona hambat yaitu sebesar 7,3 mm (sedang) dibandingkan dengan rata-rata diameter zona hambat AgNPs daun kakao (*Theobroma cacao* L.) yang sebesar 6,3 mm (sedang).

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, penulis memberikan saran sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai variasi konsentrasi biosintesis nanopartikel perak dari daun kakao dan daun teh hijau.

2. Dibutuhkan penelitian lebih lanjutan untuk mengetahui secara pasti ukuran nanopartikel yang dihasilkan dari proses biosintesis nanopartikel perak menggunakan daun kakao dan daun teh.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan metode delusi untuk mengetahui nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) dari nanopartikel perak hasil biosintesis.

DAFTAR PUSTAKA

- Adiputra, I.M.S., Trisnadewi, N.W., Oktavini, N.P.W., & Faridi, A. 2021. Metodologi Penelitian Kesehatan. Edisi 1. Medan: *Penerbit Yayasan Kita Menulis*. 121-132.
- Ahriani, A., Zelviani, S., Hernawati, H., & Fitriyanti, F. 2021. Analisis Nilai Absorbansi Untuk Menentukan Kadar Flavonoid Daun Jarak Merah (*Jatropha gossypifolia* L.) Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. *JFT: Jurnal Fisika dan Terapannya*. 8(2): 147-155.
- Andro, A. N. P., & Siahaan, B. M. 2025. The Journal Adsorpsi Ciprofloxacin Menggunakan Biochar dari Tongkol Jagung (*Zea mays* L). *Jurnal MIPA*. 14(2): 34-38.
- Anggraeni, A., & Triajie, H. 2021. Uji Kemampuan Bakteri (*Pseudomonas aeruginosa*) Dalam Proses Biodegradasi Pencemaran Logam Berat Timbal (Pb), Di Perairan Timur Kamal Kabupaten Bangkalan. *Juvenil: Jurnal Ilmiah Kelautan Dan Perikanan*. 2(3): 176–185.
- Anggraini, T. 2017. Proses dan Manfaat Teh. Padang: *Erka*.
- Anggraito, Y. U., Susanti, R., Iswari, R. S., Yuniastuti, A., Lisdiana, W. H., Habibah, N. A., & Bintari, S. H. 2018. Metabolit Sekunder Dari Tanaman: Aplikasi Dan Produksi. Semarang: *Universitas Negeri Semarang*.
- Anjum, S., Ishaque, S., Fatima, H., Farooq, W., Hano, C., Abbasi, B. H., & Anjum, I. 2021. Emerging Applications of Nanotechnology in Healthcare Systems: Grand Challenges and Perspectives. *Pharmaceuticals*. 14(8).
- Aryanti, R., Perdana, F., & Syamsudin, R. A. M. R. 2021. Telaah Metode Pengujian Aktivitas Antioksidan pada Teh Hijau (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze): Study of Antioxidan Activity Testing Methods of Green Tea

(*Camellia sinensis* (L.) Kuntze). *Jurnal Surya Medika (JSM)*. 7(1): 15-24.

Bamigboye, C. O., Amao, J. A., Fadiora, I. A., Adegboye, J. D., Akinola, O. E., Alarape, A. A., Oyeleke, O. R., & Adebayo, E. A. 2020. Antioxidant And Antimicrobial Activities of Nanosilver-Mycomeat Composite Produced Through Solid State Fermentation f Tigernut Waste and Cassava Pulp By *Pleurotus Pulmonarius*. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. 805(1).

Bere, M. L., Sibarani, J., & Manurung, M. 2019. Sintesis Nanopartikel Perak (NPAg) Menggunakan Ekstrak Air Daun Kemangi (*Ocimum sanctum* linn.) dan Aplikasinya Dalam Fotodegradasi Zat Warna Metilen Biru. *Cakra Kimia (Indonesian E-Journal of Applied Chemistry)*. 7(2): 155-164.

Bruna, T., Maldonado-Bravo, F., Jara, P., & Caro, N. 2021. Silver Nanoparticles and Their Antibacterial Applications. In *International Journal of Molecular Sciences*. 22(13).

Burhan, A. H., Bintoro, D. W., Mardiyarningsih, A., & Nurhaeni, F. 2022. Studi Literatur: Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun dan Batang Tanaman terhadap Bakteri *Klebsiella Pneumoniae*. *Action Research Literate*. 6(2): 118–133.

Chaturvedi, M., Yadav, T., & Masih, S. C. 2020. Biogenic Synthesis of Nanoparticles from Algae and Its Various Applications. In *Algae and Sustainable Technologies CRC Press*. 185–200.

Clinical and Laboratory Standards Institute. 2021. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 31th Edition: 35.

Colilla, M., & Vallet-Regí, M. 2020. Targeted Stimuli-Responsive Mesoporous Silica Nanoparticles for Bacterial Infection Treatment. In *International Journal of Molecular Sciences*. 21 (22): 1–32.

Condello, M., & Meschini, S. 2021. Role Of Natural Antioxidant Products Iin Colorectal Cancer Disease: A Focus on A Natural Compound Derived From *Prunus Spinosa*, Trigno Ecotype. In *Cells*. 10(12).

Depkes RI. 2017. Farmakope Herbal Indonesia. Jakarta: Depkes RI.

- Dewi, B.A. Wardani, T.S., & Nurhayati, N. 2021. Fitokimia. Yogyakarta: *Pustaka Baru Press*.
- Dronina, J., Samukaite-Bubniene, U., & Ramanavicius, A. 2021. Advances And Insights in The Diagnosis f Viral Infections. In *Journal of Nanobiotechnology*. 19(1): 1-23.
- Efavi, J. K., Nyankson, E., Kyeremeh, K., Manu, G. P., Asare, K., & Yeboah, N. 2022. Monodispersed AgNPs Synthesized from the Nanofactories of *Theobroma cacao* (Cocoa) Leaves and Pod Husk and Their Antimicrobial Activity. *International Journal of Biomaterials*.
- Effendi, Alhidayatullah, Warella, J.C. 2023. Mikrobiologi Kedokteran. *Mitra Mandiri Persada*.
- Ernstmeyer, K. & Christman, E. 2021. Nursing Fundamentals. *Chipewa Valley Technical College*.
- Fadila, N. Z. 2022. Khasiat Ekstrak Etanol Teh Hijau terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. *Panthera: Jurnal Ilmiah Pendidikan Sains dan Terapan*. 2(4): 239-245.
- Farahim, N. & Najib, S. Z. 2021. Profil persepan antibiotik golongan penisilin di apotek sakti farma periode januari 2020-maret 2020. *Jurnal Ilmiah Farmasi Attamru (JIFA)*. 2(1): 27-36.
- Febrianti, D. R., Susanto, Y., Niah, R., & Latifah, S. 2019. Aktivitas antibakteri minyak atsiri kulit jeruk siam banjar (*Citrus reticulata*) terhadap pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*. *Jurnal Pharmascience*. 6(1): 10-17.
- Febrianti, F., Widyasanti, A., & Nurhasanah, S. 2022. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) terhadap Bakteri Patogen. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*. 18(2): 234.
- Fernandes, R. de P. P., Trindade, M. A., & de Melo, M. P. 2018. Natural Antioxidants and Food Applications: Healthy Perspectives. In *Alternative and Replacement Foods*. 17: 31–64
- Fitriana, Y. A. N., Fatimah, V. A. N., & Fitri, A. S. 2020. Aktivitas Anti Bakteri Daun Sirih: Uji Ekstrak KHM (Kadar Hambat Minimum) Dan KBM (Kadar Bakterisidal Minimum). *Sainteks*. 16(2).

- Griselda, Z. F. N., & Setiawan, I. 2023. Tinjauan Artikel: Uji Mikrobiologi. *Jurnal Farmasi (Journal of Pharmacy)*. 12(2): 31-36.
- Haerani, A., Chaerunisa, A. Y., & Subarnas, A. 2018. Artikel Tinjauan: Antioksidan Untuk Kulit. *Farmaka*. 16(2): 135-151.
- Handjani, F. 2019. Oksidan Dan Antioksidan Pada Beberapa Penyakit Dan Proses Penuaan. Surabaya: *Zifatama Jawara*.
- Hayati, A. R., Singkam, A. R., & Jumiarni, D. 2022. Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun *Theobroma cacao* L. terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* dengan Metode Difusi Cakram. *BIOEDUSAINS:Jurnal Pendidikan Biologi Dan Sains*. 5(1): 31–40.
- Heryana, A. 2020. Analisis data penelitian kuantitatif, Jakarta: *Penerbit Erlangga*.
- Hetta, H. F., Ramadan, Y. N., Al-Harbi, A. I., A. Ahmed, E., Battah, B., Abd Ellah, N. H., Zanetti, S., & Donadu, M. G. 2023. Nanotechnology as a Promising Approach to Combat Multidrug Resistant Bacteria: A Comprehensive Review and Future Perspectives. In *Biomedicines*. 11(2).
- Indah, Asri, M., Auliah, N., & Ashari, A. T. 2022. Sintesis Nanopartikel Perak dengan Air Rebusan Daun Pegagan (*Centella asiatica* L.) dan Uji Aktivitas dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*. 26(2): 88-91.
- Iskandar, B., Marvika, S., Nabilla, R., Putri, W. M., Maghfirah, W., & Marlind, N. M. 2025. Pengaruh dan Peran Ukuran Nanopartikel Perak (AgNPs) terhadap Efektivitas Antibakteri. *Jurnal Farmasetis*. 14(2): 55-64.
- Joegijantoro, R. 2019. Penyakit Infeksi. Edisi 1. Intimedia.
- Julianto, T. S. 2019. Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia. Yogyakarta: *Universitas Islam Indonesia*.
- Khac, K. T., Phu, H. H., Thi, H. T., Thuy, V. D., & Do Thi, H. 2023. Biosynthesis of Silver Nanoparticles Using Tea Leaf Extract (*Camellia sinensis*) For Photocatalyst And Antibacterial Effect. *Heliyon*. 9(10).

- Khafid, A., Wiraputra, M. D., Putra, A. C., Khoirunnisa, N., Putri, A. A. K., Suedy, S. W. A., & Nurchayati, Y. 2023. Uji Kualitatif Metabolit Sekunder pada Beberapa Tanaman yang Berkhasiat sebagai Obat Tradisional. *Buletin Anatomi Dan Fisiologi*. 8(1): 61-70.
- Khafidhoh, Z., Dewi, S. S., & Iswara, A. 2015. Efektivitas infusa kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) terhadap pertumbuhan *Candida albicans* penyebab sariawan secara in vitro. *Ilmu Keperawatan dan Medis*.
- Khameneh, B., Eskin, N. A. M., Iranshahy, M., & Fazly Bazzaz, B. S. 2021. Phytochemicals: A promising weapon in the arsenal against antibiotic-resistant bacteria. In *Antibiotic*. 10(9).
- Khodashenas, B., & Ghorbani, H. R. 2019. Synthesis of Silver Nanoparticles With Different Shapes. *Arabian Journal of Chemistry*, 12(8), 1823-1838.
- La Tapa, F., Suryanto, E., & Irma Momuat, L. 2016. Biosintesis Nanopartikel Perak Menggunakan Ekstrak Empelur Batang Sagu Baruk (*Arenga microcarpha*) Dan Aktivitas Antioksidannya. *Chem. Prog.* 9(8).
- Liang, N., & Kitts, D. D. 2014. Antioxidant Property Of Coffee Components: Assessment Of Methods That Define Mechanism Of Action. In *Molecules*. 19(11): 19180–19208.
- Luthfia, C. D. M., Miswand, D., Nasution, H. M., & Lubis, M. S. 2024. Sintesis Nanopartikel Perak Menggunakan Ekstrak Daun Bidara Ziziphus Spina-Christi Dan Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *OBAT: Jurnal Riset Ilmu Farmasi dan Kesehatan*. 2(1): 139-149.
- Magani, A. K., Tallei, T. E., & Kolondam, B. J. 2020. Uji Antibakteri Nanopartikel Kitosan terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Bios Logos*. 10(1): 7-12.
- Magvirah, T., Marwati, M., & Ardhani, F. 2020. Uji Daya Hambat Bakteri *Staphylococcus aureus* Menggunakan Ekstrak Daun Tahongai (*Kleinhovia hospita* L.). *Jurnal Peternakan Lingkungan Tropis*. 2(2): 41-50.
- Maqfirah, Z., Nasution, M. A., Nasution, M. P., & Nasution, H. M. 2023. Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol, Fraksi Etil Asetat Dan

N-Heksan Pada Daun Kakao (*Theobroma cacao* L.) Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Journal of Pharmaceutical and Sciences*. 1534-1543.

Ma'rifah, Z. 2020. Mengenal Teh Hijau. Semarang: *Alprin*.

Masakke, Y., Sulfikar, & Rasyid, M. 2015. Biosintesis Partikel-Nano Perak Menggunakan Ekstrak Metanol Daun Manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Sainsmat: Jurnal Ilmiah Ilmu Pengetahuan Alam*. 4(1): 28-41.

Masta, N. 2020. Buku Materi Pembelajaran Scanning Electron Microscopy. Jakarta: Universitas Kristen Jakarta.

Mastuti, R. 2016. Metabolit Sekunder Dan Pertahanan Tumbuhan. Malang: *Universitas Brawijaya*.

Masykuroh, A., & Puspasari, H. 2022. Aktivitas Anti Bakteri Nano Partikel Perak (Npp) Hasil Biosintesis Menggunakan Ekstrak Keladi Sarawak *Alocasia macrorrhizos* terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Bioma: Jurnal Biologi Makassar*. 7(1): 76-85.

Matatula, A. J., Mahulette, A. S. Tanasale, V. J. 2022. Budidaya tanaman Perkebunan Kakao. Maluku: *Universitas Pattimura*.

Maulani, R.R, Rahmawati, Munarso, J., & Saputra, D. 2016. Karakterisasi Sifat Kimia dan Sifat Fisik Pati Hasil Ekstraksi Jagung Putih Varietas Anoman dan Pulut Uri 1. Bandung: *Institut Teknologi Bandung*.

Menichetti, A., Mavridi-Printezi, A., Mordini, D., & Montalti, M. 2023. Effect of size, shape and surface functionalization on the antibacterial activity of silver nanoparticles. *Journal of Functional Biomaterials*. 14(5): 244.

Muljana, W. 2019. Bercocok Tanam Teh. Semarang: *Aneka Ilmu*.

Najib, A. 2018. Ekstraksi Senyawa Bahan Alam. Yogyakarta: *Deepublish*.

Ningsih, I. S., Chatri, M., Advinda, L., & Violita. 2023. Senyawa Aktif Flavonoid yang Terdapat Pada Tumbuhan. *Jurnal Serambi Biologi*. 8(2): 257-263.

Noraida, W., Bintang, M., & Bambang Pontjo, P. Ekstrak dan Fraksi N-heksana Teh Hijau sebagai Antiproliferasi Sel Kanker Payudara MCM-B2 In Vitro. *Current Biochemistry*. 6(2):92-105.

- Noviyanto, F., Hodijah, S., & Yusransyah, Y. 2020. Aktivitas Ekstrak Daun Bangle (*Zingiber purpureum* roxb.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal Syifa Sciences and Clinical Research (JSSCR)*. 2(1): 31-38.
- Nurhayati, L. S., Yahdiyani, N., & Hidayatulloh, A. 2020. Perbandingan pengujian aktivitas antibakteri starter yogurt dengan metode difusi sumuran dan metode difusi cakram. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*. 1(2): 41-46.
- Ogbera, A. O., & Anaba, E. 2021. Protozoa And Endocrine Dysfunction. *Endotext*.
- Pambudi, S. R., Rahmawati, I., & Sulaiman, T. N. S. 2024. Green Synthesis Nanopartikel Perak Menggunakan Ekstrak Daun Bayam Duri (*Amaranthus spinosus* L.) dan Aktivitasnya Sebagai Antibakteri. *Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik*. (1): 1-15.
- Parvez, M. A. K., Saha, K., Rahman, J., Munmun, R. A., Rahman, M. A., Dey, S. K., Rahman, M. S., Islam, S., & Shariare, M. H. 2019. Antibacterial Activities of Green Tea Crude Extracts and Synergistic Effects Of Epigallocatechingallate (EGCG) With Gentamicin Against MDR Pathogens. *Heliyon*. 5(7).
- Pelle, S. B., Wuntu, A. D., & Aritonang, H. F. 2021. Sintesis dan Aktivitas Antibakteri Nanopartikel Ag-Zeolit A. *Jurnal LPPM Bidang Sains Dan Teknologi*. 6(1): 1-6.
- Pelu, A.D. 2022. Mikrobiologi Aktivitas Antibakteri. Malang: *Literasi Nusantara Abadi*.
- Permataningrum, N. I., Dewi, L. R., & Prihanti, A. M. 2020. Daya Hambat Ekstrak Daun Kakao (*Theobroma Cacao* L.) terhadap Pertumbuhan *Candida Albicans*. *Pustaka Kesehatan*. 7(3):142-146.
- Prasetia, E., Firdaus, M. L., & Elvinawati, E. 2019. Upaya peningkatan sensitivitas nanopartikel perak untuk analisis ion merkuri (ii) secara citra digital dengan penambahan NaCl. *Jurnal Pendidikan dan Ilmu Kimia*. 3(2): 139-147.

- Prasetyo, K. W. 2020. Aplikasi Nanoteknologi Dalam Industri Hasil Hutan (Application of Nanotechnology in Forest Products Industry). *Akar*. 2(1): 15-26.
- Pratama, M. D., Palupi, P. J., Prasetia, R., & Muhtar, M. 2021. Karakteristik Fisikokimia dan Mikrobiologi Permen Jeli Jahe (*Zingiber officinale*) terhadap Daya Simpan dengan Teknik Pengemasan Berbeda. *Jurnal Teknologi Agro-Industri*. 8(1): 11-24.
- Prayitno, T.A. & Hidayati, N. 2020. Pengantar Mikrobiologi. Malang: MNC Publishing.
- Puspitasari, E., & Ningsih, I. Y. 2016. Kapasitas Antioksidan Ekstrak Buah Salak (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss) Varian Gula Pasir Menggunakan Metode Penangkapan Radikal DPPH. *PHARMACY: Jurnal Farmasi Indonesia (Pharmaceutical Journal of Indonesia)*. 13(1): 116-126.
- Qin, S., Xiao, W., Zhou, C., Pu, Q., Deng, X., Lan, L., Liang, H., Song, X., & Wu, M. 2022. *Pseudomonas aeruginosa*: Pathogenesis, Virulence Factors, Antibiotic Resistance, Interaction with Host, Technology Advances and Emerging Therapeutics. In *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 7(1).
- Rahim, D. M., Herawati, N., & Hasri, H. 2020. Sintesis Nanopartikel Perak Menggunakan Bioreduktor Ekstrak Daun Teh Hijau (*Camellia Sinensis*) Dengan Iradiasi Microwave. *Chemica: Jurnal Ilmiah Kimia Dan Pendidikan Kimia*. 21(1): 30.
- Rahuman, H. B., Dhandapani, R., Narayanan, S., Palanivel, V., Paramasivam, R., Subbarayalu, R., ... & Muthupandian, S. 2022. Medicinal plants mediated the green synthesis of silver nanoparticles and their biomedical applications. *IET nanobiotechnology*. 16(4): 115-144.
- Rajoka, M. S. R., Mehwish, H. M., Zhang, H., Ashraf, M., Fang, H., Zeng, X., & He, Z. 2020. Antibacterial And Antioxidant Activity of Exopolysaccharide Mediated Silver Nanoparticle Synthesized by *Lactobacillus Brevis* Isolated from Chinese Koumiss. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 186: 110734

- Ramadhani, M. A., Nadifah, S. D., Putri, N. A., & Sulastri, S. 2024. Uji Aktivitas Antibakteri Berbagai Ekstrak Tanaman Herbal Terhadap *Staphylococcus epidermidis*. *Generics: Journal of Research in Pharmacy*. 4(1): 65-76.
- Retnaningsih, A., Primadiamanti, A., & Marisa, I. 2019. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Biji Pepaya Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* Dan *shigella* Dysentriae dengan Metode Difusi Sumuran. *Jurnal Analisis Farmasi*. 4(2): 122-129.
- Reynolds, D., & Kollef, M. 2021. The Epidemiology and Pathogenesis and Treatment of *Pseudomonas aeruginosa* Infections: An Update. *Drugs*. 81(18): 2117-2131
- Rollando. 2019. Senyawa Antibakteri dari Fungi Endofit. Malang: *Puntadewa*.
- Sanchez, E., & Doron, S. 2017. Bacterial infections: overview. *International Encyclopedia of Public Health*.
- Santoso, H.B. 2021. Seri Mengenal Tanaman Obat Kakao. Yogyakarta: *Pohon Cahaya Semesta*.
- Savitri, N. H., Indiasuti, D. N., & Wahyunitasari, M. R. 2019. Inhibitory Activity of *Allium sativum* L. Extract Against *Streptococcus pyogenes* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Vocational Health Studies*. 3(2): 72-77.
- Septiano, A. F., Susilo, S., & Setyaningsih, N. E. 2021. Analisis Citra Hasil Scanning Electron Microscopy Energy Dispersive X-Ray (SEM EDX) Komposit Resin Timbal dengan Metode Contrast to Noise Ratio (CNR). *Indonesian Journal of Mathematics and Natural Sciences*. 44(2), 81-85.
- Sulistiyani, M., Huda, N., Prasetyo, R., & Alauhdin, M. 2023. Calibration of Microplate Uv-Vis Spectrophotometer for Quality Assurance Testing of Vitamin C using Calibration Curve Method. *Indonesian Journal of Chemical Science*. 12(2): 204-211.

- Supriyanto, S., Darmadji, P., & Susanti, I. 2014. Studi pembuatan teh daun tanaman kakao (*Theobroma cacao* L) sebagai minuman penyegar. *Agritech*. 34(4): 422-429.
- Suryani, Y., Taupiqqurahman, O., dan Kulsum, Y. 2020. Buku Mikologi. *Freeline Cipta Granesia*.
- Talib, H., Mehmood, A., Amjad, M. S., Mustafa, A., Khan, M. A. R., Raffi, & Qureshi, H. 2024. Antibacterial, Antioxidant, And Anticancer Potential of Green Fabricated Silver Nanoparticles Made from Viburnum Grandifloru Leaf Extract. *Botanical Studies*. 65(1): 4.
- Tumpal, H. S., Siregar, Riyadi S., Nuraeni, L. 2021. Panduan Praktis Budidaya Kakao. Jakarta: *Penebar Swadaya*.
- Uddin, T. M., Chakraborty, A. J., Khusro, A., Zidan, B. R. M., Mitra, S., Emran, T. B., & Koirala, N. 2021. Antibiotic Resistance in Microbes: History, Mechanisms, Therapeutic Strategies and Future Prospects. *Journal of infection and public health*. 14(12): 1750-1766.
- Venkataraman, R., Yadav, U., Shivalingegowda, R. K., & Shrestha, Y. 2023. Vaccination Strategies to Combat Nosocomial Infections. *Vacunas*. 24(1), 60-67.
- Widatalla, H. A., Yassin, L. F., Alrasheid, A. A., Rahman Ahmed, S. A., Widdatallah, M. O., Eltilib, S. H., & Mohamed, A. A. 2022. Green Synthesis Of Silver Nanoparticles Using Green Tea Leaf Extract, Characterization and Evaluation Of Antimicrobial Activity. *Nanoscale Advances*. 4(3): 911–915.
- Wijaya, S., Purba, R., & Suryantika, T. 2021. Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Teh Hijau Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*. *Prima Journal of Oral and Dental Sciences*. 4(2): 39–44.
- Wilapangga, A., & Syaputra, S. 2018. Analisis Antibakteri Metode Agar Cakram Dan Uji Toksisitas Menggunakan Bslt (Brine Shrimp Lethality Test) Dari Ekstrak Metanol Daun Salam (*Eugenia Polyantha*). *Indonesian Journal of Biotechnology and Biodiversity*. 2(2): 50-56.
- Wulansari, E. D., Lestari, D., & Khoirunissa, M. A. 2020. Kandungan terpenoid dalam daun ara (*Ficus carica* L.) sebagai agen antibakteri

terhadap bakteri methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Pharmacon*. 9(2), 219-225.

Yin, I. X., Zhang, J., Zhao, I. S., Mei, M. L., Li, Q., & Chu, C. H. 2020. The Antibacterial Mechanism of Silver Nanoparticles and Its Application In Dentistry. *International journal of nanomedicine*. 2555-2562.

Yunus, R., Umar, A., Susilawati, & Idris, S. A. 2022. Parasitologi Medik Dasar. Penerbit. Eureka Media Aksara.

Yusuf, Y. 2019. Belajar Mudah Kimia Analisis. Jakarta: EduCenter Indonesia.

Zhao & Li. 2015. Atlas of Oral Microbiology: From Healthy Microflora to Disease. London: Academic Press.

Zhao, T., Li, C., Wang, S., & Song, X. 2022. Green tea (*Camellia sinensis*): A Review of its Phytochemistry, Pharmacology, and Toxicology. *Molecules*. 27(12): 3909.