

**PERBANDINGAN KARAKTERISTIK, AKTIVITAS ANTIOKSIDAN,
ANTIBAKTERI EKSTRAK KULIT KAKAO (*Theobroma cacao* L.)
TERHADAP *Klebsiella pneumoniae* dengan MASERASI dan
*ULTRASOUND-ASSISTED EXTRACTION***

(Skripsi)

**Oleh
Anugrah Fasha
2218031013**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2026**

**PERBANDINGAN KARAKTERISTIK, AKTIVITAS ANTIOKSIDAN,
ANTIBAKTERI EKSTRAK KULIT KAKAO (*Theobroma cacao* L.)
TERHADAP *Klebsiella pneumoniae* dengan MASERASI dan
*ULTRASOUND-ASSISTED EXTRACTION***

Oleh

**Anugrah Fasha
(2218031013)**

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
2026**

Judul Skripsi

: PERBANDINGAN KARAKTERISTIK,
AKTIVITAS ANTIOKSIDAN, ANTIBAKTERI
EKSTRAK KULIT KAKAO (*Theobroma cacao*
L.) TERHADAP *Klebsiella pneumoniae* dengan
MASERASI dan ULTRASOUND-ASSISTED
EXTRACTION

Nama Mahasiswa

: Anugrah Fasha

No. Pokok Mahasiswa

: 2218031013

Program Studi

: Farmasi

Fakultas

: Kedokteran



Pembimbing 1

apt. Ramadhan Triyandi, S.Farm., M.Si.
NIP.198705202020121015

Pembimbing 2

Femmy Andrifianle, S.Farm., M.Farm.
NIP. 199009222022032013

Dekan Fakultas Kedokteran

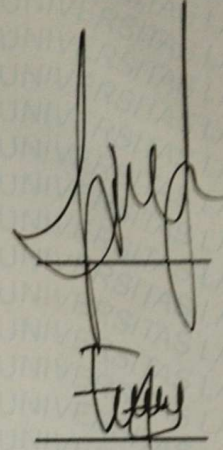
Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc.

NIP. 19760120200312200

MENGESAHKAN

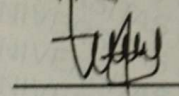
1. Tim Penguji
Ketua

: apt. Ramadhan Triyandi, S.Farm., M.Si.



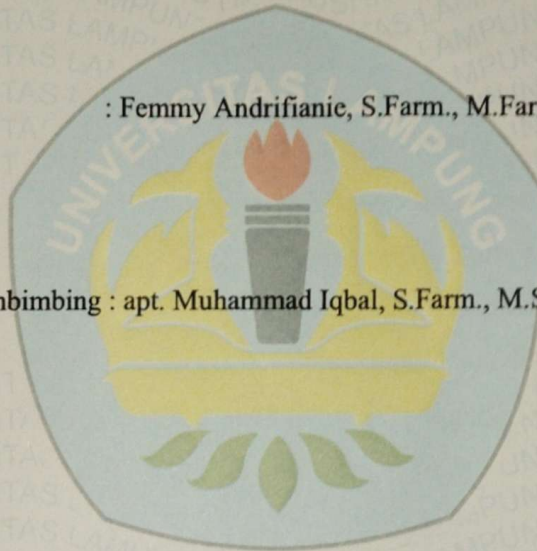
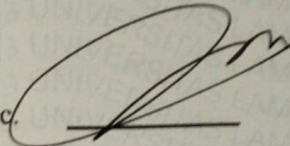
Sekretaris

: Femmy Andrifianie, S.Farm., M.Farm.



Penguji

Bukan Pembimbing : apt. Muhammad Iqbal, S.Farm., M.Sc.



2. Dekan Fakultas Kedokteran



Dr. dr. Evi Kurniawaty, M.Sc.

NIP. 197601202003122001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **20 Januari 2026**

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya, bahwa:

1. Skripsi dengan judul **“PERBANDINGAN KARAKTERISTIK, AKTIVITAS ANTIOKSIDAN, ANTIBAKTERI EKSTRAK KULIT KAKAO (*Theobroma cacao* L.) TERHADAP *Klebsiella pneumoniae* dengan MASERASI dan *ULTRASOUND-ASSISTED EXTRACTION*”**
2. adalah hasil karya saya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain dengan cara yang tidak sesuai tata etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau disebut plagiarisme.
3. Atas pernyataan ini apabila dikemudian hari ternyata ditemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya.

Bandar Lampung, 20 Januari 2026

Pembuat Pernyataan



Anugrah Fasha

NPM. 2218031013

“Sedikit bukan berarti tidak ada, dan sulit bukan berarti tidak dapat diusahakan. Oleh karena itu, segala upaya tetap dilakukan dengan kesiapan hati untuk menerima hasilnya.”

-Anugrah Fasha-

RIWAYAT HIDUP

Anugrah Fasha, lahir di Bandar Lampung, pada tanggal 6 Maret 2004. Penulis merupakan anak dari pasangan Rizwan Syah dan Firdawati. Pendidikan dasar ditempuh di MIN 5 Bandar Lampung, kemudian dilanjutkan ke jenjang sekolah menengah pertama di MTsN 2 Bandar Lampung. Setelah itu, penulis melanjutkan pendidikan menengah atas di MAN 1 Bandar Lampung.

Pada saat penulis menempuh pendidikan di MAN 1 Bandar Lampung, penulis diberikan amanah sebagai ketua umum ekstrakurikuler Paskibra selama 1 periode. Selanjutnya di tahun 2022, penulis dinyatakan lulus melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN) dan diterima sebagai mahasiswa Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung. Selama menempuh pendidikan di tingkat perguruan tinggi, penulis aktif dalam kegiatan organisasi kemahasiswaan, di Forum Studi Islam Ibnu Sina (FSIIS) sebagai anggota departemen Kaderisasi dan di Himpunan Mahasiswa Farmasi (HIMAFARSI) Universitas Lampung. Penulis bergabung dalam Departemen Eksternal dan Sosial dan di periode selanjutnya dipercaya untuk mengemban amanah sebagai Kepala Departemen Sosial Masyarakat Himpunan Mahasiswa Farmasi Universitas Lampung.

Sebagai bagian akhir dari proses akademik, penulis menyusun skripsi dengan judul: **“Perbandingan Karakteristik, Aktivitas Antioksidan, Antibakteri Ekstrak Kulit Kakao (*Theobroma cacao* L.) Terhadap *Klebsiella pneumoniae* dengan Maserasi dan *Ultrasound-Assisted Extraction*”**

Dengan memanjatkan puji syukur ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa, penulis dapat menyelesaikan karya ilmiah ini. Penulis juga menyampaikan terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada semua pihak yang telah memberikan dukungan, doa, bimbingan, serta kesempatan selama penyusunan skripsi dan selama menempuh pendidikan tinggi.

SANWACANA

Alhamdulillah Rabbil 'Aalamiin, puji syukur penulis haturkan kepada Allah Subhanahu wa ta'ala yang telah memberikan nikmat, rahmat, hidayah, dan karuniaNya sehingga penulis diberikan kelancaran dan kemudahan untuk menjalani masa perkuliahan, penelitian, dan penyusunan naskah skripsi yang berjudul “Perbandingan Karakteristik, Aktivitas Antioksidan, Antibakteri Ekstrak Kulit Kakao (*Theobroma cacao* L.) Terhadap *Klebsiella pneumoniae* dengan Maserasi dan *Ultrasound-Assisted Extraction*”

Dengan penuh syukur, penulis mengapresiasi kerja keras penulis dalam menyelesaikan penelitian dan penyusunan naskah skripsi ini. Dalam prosesnya, tentu penulis menyadari masih terdapat banyak kekurangan. Penulis mendapatkan banyak bimbingan, masukan, bantuan, saran, kritik, dukungan dan doa dari berbagai pihak. Untuk itu, penulis ingin mengucapkan rasa terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A., I.P.M., selaku Rektor Universitas Lampung;
2. Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked, M. Sc., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
3. dr. Rani Himayani, SpM., selaku Ketua Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
4. apt. Ramadhan Triyandi, S.Farm., M.Si., selaku pembimbing I atas kesediaannya meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran dalam memberikan ilmu, bimbingan, arahan, motivasi, masukan, kritik, dan saran membangun kepada penulis selama penyusunan skripsi ini;
5. Femmy Andrifianie, S.Farm., M.Farm. selaku pembimbing II yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga dan pikiran dalam memberikan arahan,

arahan, motivasi, masukan, kritik, dan saran membangun kepada penulis selama penyusunan skripsi ini;

6. apt. Muhammad Iqbal, S.Farm., M.Sc. selaku penguji skripsi yang telah meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk memberikan kritik, saran dan masukan mengenai skripsi ini;
7. Afriyani, M.Farm, selaku pembimbing Akademik terimakasih atas bimbingan dan arahan serta masukan kepada penulis selama masa perkuliahan berlangsung;
8. Seluruh dosen Fakultas Kedokteran Universitas Lampung atas bimbingan dan ilmu yang telah disampaikan selama proses perkuliahan;
9. Seluruh staf dan civitas akademik Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang telah membantu dalam proses penyiapan penyusunan skripsi ini;
10. Seluruh staf Laboratorium Kimia Farmasi Analisis Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang telah membantu selama proses penelitian;
11. Seluruh staf Laboratorium Kesehatan Daerah Provinsi Lampung yang telah membantu selama proses penelitian;
12. Ayah (Rizwan Syah) dan Ibu (Firdawati) kedua orang tua tercinta atas doa, kasih sayang, dukungan, semangat, nasihat, dan perhatian yang sangat berarti bagi penulis. Terimakasih telah selalu menyertai di setiap perjalanan penulis dalam segala kondisi serta menjadi motivasi terkuat bagi penulis;
13. Adikku tersayang Jasmine Khairunnisa yang telah memberikan semangat kepada penulis agar cepat menyelesaikan kuliahnya, terima kasih selalu membuat keceriaan dalam setiap waktu sehingga menjadi motivasi agar penulis selalu semangat menjalani perkuliahan;
14. Keluarga pertama pada masa DPA 1 “EP1TEL”, yang telah menjadi keluarga awal penulis di lingkungan perkuliahan, terima kasih atas kebersamaan, dukungan moral, serta semangat yang telah diberikan kepada penulis dalam menjalani masa awal perkuliahan;
15. Keluarga kedua DPA 20 “BEN20AT” yang beranggotakan Yunda Marwil, Adhillah, Elsa, Ami, Ando, Caca, Cabar, Kalyca, Naila, Linda, Adel, Nafis. Terima kasih atas kebersamaan, motivasi, serta bimbingan yang telah diberikan kepada penulis, khususnya dalam mengajarkan cara membimbing

dengan baik; sehingga penulis memperoleh pembelajaran berharga selama menjalani proses perkuliahan;

16. Departemen Sosial Masyarakat Himpunan Mahasiswa Farmasi yang beranggotakan Vanes, Zahra, Carisa, Refiandita, Shafira, Ayesha, Zaki, Adn, Wening, Adhanti, Alya, Jasmine, Aulia, Chairunnisa, Dinda, Dwi, Irania, Nayla, Panji, Vindya. Terima kasih atas pengalaman berorganisasi, kerja sama, serta ilmu dan pembelajaran berharga yang telah diberikan kepada penulis selama masa aktif dalam organisasi;
17. Anggota grup KLEMBURET yaitu Alya, Desi, Yumna, Tisa, dan Melisa, selaku sahabat penulis, terimakasih telah memberikan motivasi kepada penulis dan selalu mendengarkan keluh kesah penulis selama ini, terimakasih atas arahan, masukan, dukungan serta sebagai tempat saling berbagi cerita juga mendorong penulis agar menjadi pribadi yang lebih baik lagi kedepannya;
18. Adit, Arif, Azein, Raihan, Rizki dan Irham sebagai teman seperjuangan penulis, penulis mengucapkan terima kasih atas dukungan, motivasi, serta saran dan masukan yang diberikan selama proses penyusunan karya ini. Kebersamaan, perhatian, dan kesediaan untuk saling berbagi pengalaman serta pemikiran sangat berarti bagi penulis dan turut memberikan dorongan untuk berkembang menjadi pribadi yang lebih baik di masa mendatang.
19. Seluruh anggota grup KEBRUT yang telah menemani penulis selama masa perkuliahan, memberikan canda, tawa, serta saling tolong menolong dalam segala keadaan baik suka maupun duka, terima kasih telah membuat kesan baik selama masa perkuliahan, semoga kalian semua sukses pada jalannya masing-masing;
20. Keluarga KKN Desa Pulau Tengah yang beranggotakan Lingga, Nanang, Martha, Najwa, Angel, dan Baiti. Terima kasih atas dukungan, motivasi, dan semangat gotong royong selama KKN. Kebersamaan menghadapi tantangan lapangan serta berbagi pengalaman sangat berharga dan mendorong kontribusi masa depan bagi masyarakat.

21. Teman penelitian penulis, Ardi, Farhan, Ressa, Ayudya, Hanif, Dayu dan semua yang terlibat dalam penelitian penulis yang telah memberikan dukungan dan bantuan dalam proses penelitian yang dilakukan penulis;
22. Kak Fredison, S.Farm., yang telah memberikan bimbingan, arahan, serta pendampingan secara intensif kepada penulis selama pelaksanaan penelitian. Beliau berperan penting dalam membantu penulis memahami prosedur penelitian, mengarahkan pemecahan permasalahan yang dihadapi, serta memberikan dukungan teknis dan ilmiah sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik.
23. Perempuan dengan Nomor Pokok Mahasiswa 2218031022. Terima kasih telah menjadi bagian dari cerita hidup penulis. *Support System* yang selalu mendukung dan menyemangati dengan cara yang dimiliki. Terima kasih sudah menjadi tempat untuk penulis bercerita, berkeluh kesah, dan mendengarkan segala kesedihan yang dialami penulis;
24. Seluruh pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah membantu baik secara langsung maupun tidak langsung dalam menyelesaikan studi di Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung ini. Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna. Penulis berharap agar skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua orang dan menambah pengetahuan serta informasi bagi pembaca.

Bandar Lampung, 20 Januari 2026

Penulis,

Anugrah Fasha

ABSTRACT

COMPARISON OF THE CHARACTERISTICS, ANTIOXIDANT ACTIVITY, and ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF COCOA POD HUSK (*Theobroma cacao* L.) EXTRACT Against *Klebsiella pneumoniae* USING MACERATION and ULTRASOUND-ASSISTED EXTRACTION METHODS.

By

Anugrah Fasha

Background Indonesia, as one of the major cocoa producers, generates approximately $\pm 75\%$ cocoa pod husk waste, which may cause environmental problems. Cocoa pod husk (*Theobroma cacao* L.) is rich in phytochemicals with potential antioxidant and antibacterial activities against *Klebsiella pneumoniae*, a Gram-negative ESBL-producing bacterium resistant to antibiotics. Differences in extraction methods may affect the chemical composition and biological activities of these compounds.

Methods: Cocoa pod husk from Adiluwih District, Pringsewu Regency, was extracted using 96% ethanol by maceration (1:10 for 24 h) and Ultrasound-Assisted Extraction (1:10 at 50 °C for 30 min), each performed in triplicate. The extracts were characterized by GC-MS. Total phenolic and flavonoid contents were determined using the Folin–Ciocalteu and AlCl_3 methods, respectively. Antioxidant activity was evaluated using the DPPH assay (IC_{50}), while antibacterial activity was assessed by the well diffusion method against *Klebsiella pneumoniae*.

Results: Maceration produced 58 compounds, more than Ultrasound-Assisted Extraction with 26 compounds. The total phenolic and flavonoid contents of maceration extracts were 13,20 mg GAE/g and 70,855 mg QE/g, higher than those of Ultrasound-Assisted Extraction (5,60 mg GAE/g and 54,116 mg QE/g). The IC_{50} value of maceration was 476,681 $\mu\text{g/mL}$, lower than that of Ultrasound-Assisted Extraction at 665,133 $\mu\text{g/mL}$. The maximum inhibition zone of Ultrasound-Assisted Extraction was $1,55 \pm 0,15$ mm at 30% concentration, while maceration showed $0,75 \pm 0,327$ mm at 100%.

Conclusion: Extraction methods influenced compound profiles and phenolic and flavonoid contents but did not show significant differences in antioxidant and antibacterial activities.

Keywords: Antibacterial; antioxidant; cocoa pod husk; extraction methods; *Klebsiella pneumoniae*.

ABSTRAK

PERBANDINGAN KARAKTERISTIK, AKTIVITAS ANTIOKSIDAN, ANTIBAKTERI EKSTRAK KULIT KAKAO (*Theobroma cacao* L.) TERHADAP *Klebsiella pneumoniae* dengan MASERASI dan *ULTRASOUND-ASSISTED EXTRACTION*

Oleh

Anugrah Fasha

Latar Belakang Indonesia sebagai salah satu produsen kakao utama di dunia menghasilkan limbah kulit kakao sekitar $\pm 75\%$ dari total buah yang berpotensi menimbulkan masalah lingkungan. Kulit kakao (*Theobroma cacao* L.) diketahui kaya senyawa fitokimia yang berpotensi sebagai antioksidan dan antibakteri terhadap *Klebsiella pneumoniae*, bakteri Gram negatif penghasil ESBL (*Extended-Spectrum Beta-Lactamase*) yang resisten terhadap antibiotik. Perbedaan metode ekstraksi dapat memengaruhi kandungan dan aktivitas biologis senyawa tersebut.

Metode: Kulit kakao dari Kecamatan Adiluwih, Kabupaten Pringsewu diekstraksi menggunakan etanol 96% melalui metode maserasi (perbandingan 1:10 selama 24 jam) dan Ultrasound-Assisted Extraction (perbandingan 1:10 pada suhu 50 °C selama 30 menit). Ekstrak dikarakterisasi menggunakan GC-MS. Total fenolik dan flavonoid ditetapkan masing-masing dengan metode Folin–Ciocalteu dan AlCl_3 . Aktivitas antioksidan diuji menggunakan metode DPPH (IC_{50}) dan aktivitas antibakteri diuji dengan metode difusi sumuran terhadap *Klebsiella pneumoniae*.

Hasil: Maserasi menghasilkan 58 senyawa, lebih banyak dibandingkan *Ultrasound-Assisted Extraction* sebanyak 26 senyawa. Total fenolik dan flavonoid maserasi masing-masing sebesar 13,20 mg GAE/g dan 70,855 mg QE/g, lebih tinggi dibandingkan *Ultrasound-Assisted Extraction* (5,60 mg GAE/g dan 54,116 mg QE/g). Nilai IC_{50} maserasi sebesar 476,681 $\mu\text{g/mL}$ lebih rendah daripada *Ultrasound-Assisted Extraction* 665,133 $\mu\text{g/mL}$. Diameter zona hambat maksimum *Ultrasound-Assisted Extraction* sebesar $1,55 \pm 0,15$ mm pada konsentrasi 30% dan maserasi $0,75 \pm 0,327$ mm pada konsentrasi 100%.

Simpulan: Metode ekstraksi memengaruhi profil senyawa serta kadar fenolik dan flavonoid, tetapi tidak menunjukkan perbedaan signifikan terhadap aktivitas antioksidan dan antibakteri.

Kata Kunci: Antibakteri; antioksidan; *Klebsiella pneumoniae*; kulit kakao; metode ekstraksi

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR ISI.....	xiv
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR GAMBAR.....	xviii
DAFTAR LAMPIRAN	xix

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan.....	4
1.3.1 Tujuan Umum	4
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1 Bagi Peneliti.....	4
1.4.2 Bagi Institusi	5
1.4.3 Bagi Masyarakat	5

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tumbuhan Kakao	6
2.1.1 Definisi dan Morfologi Kakao	6
2.1.2 Manfaat Kakao.....	7
2.2 Bakteri <i>Klebsiella pneumoniae</i>	8
2.2.1 Definisi dan Morfologi <i>Klebsiella pneumoniae</i>	8
2.2.2 Patologi <i>Klebsiella pneumoniae</i>	9
2.3 Simplisia	10
2.4 Ekstraksi	10
2.4.1 Maserasi	11
2.4.2 <i>Ultrasound Assisted Extraction</i>	12
2.4.3 Perkolasi.....	13

2.4.4	Sokhlet	14
2.5	Pelarut.....	15
2.6	Metabolit Sekunder	16
2.6.1	Definisi.....	16
2.6.2	Klasifikasi	17
2.7	Antioksidan	19
2.7.1	Definisi Antioksidan	19
2.7.2	Metode Pengujian Antioksidan.....	20
2.8	Antibakteri.....	22
2.8.1	Definisi Antibakteri	22
2.8.2	Metode Pengujian Antibakteri	23
2.9	Spektrofotometer UV-Vis.....	24
2.10	Karakterisasi Senyawa Menggunakan Instrumen GC-MS.....	25
2.11	Kerangka Penelitian	27
2.11.1	Kerangka Teori	27
2.11.2	Kerangka Konsep.....	28

BAB III METODE PENELITIAN

3.1	Desain Penelitian	29
3.2	Tempat Dan Waktu Penelitian	29
3.2.1	Tempat Penelitian	29
3.2.2	Waktu Penelitian.....	29
3.3	Identitas Variabel	30
3.3.1	Variabel Bebas	30
3.3.2	Variabel Terikat	30
3.4	Alat Dan Bahan	30
3.4.1	Alat.....	30
3.4.2	Bahan	30
3.5	Prosedur Penelitian.....	30
3.5.1	Pengambilan Sampel.....	30
3.5.2	Uji Determinasi Tanaman.....	31
3.5.3	Preparasi Simplisia	31
3.5.4	Ekstraksi Metode Maserasi.....	31
3.5.5	Ekstraksi Metode <i>Ultasonic-Assisted Extraction</i>	31
3.5.6	Penapisan Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Kakao	32

3.5.7	Karakterisasi Dengan Instrumen GC-MS	33
3.5.8	Total Fenolik.....	34
3.5.9	Total Flavonoid.....	35
3.5.10	Uji Antioksidan.....	36
3.5.11	Uji Antibakteri	37
3.6	Alur Penelitian.....	38
3.7	Pengolahan dan Analisis Data	40

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1	Hasil.....	41
4.1.1	Etik Penelitian.....	41
4.1.2	Determinasi Tumbuhan.....	41
4.1.3	Pembuatan Ekstrak Kulit Kakao	41
4.1.4	Penapisan Fitokimia.....	42
4.1.5	Karakterisasi Senyawa Dengan GC-MS.....	44
4.1.6	Pengukuran Kadar Total Fenolik.....	47
4.1.7	Pengukuran Kadar Total Flavonoid.....	48
4.1.8	Uji Aktivitas Antioksidan	49
4.1.9	Uji Aktivitas Antibakteri	49
4.1.10	Pengolahan dan Analisis Data	50
4.2	Pembahasan	53
4.2.1	Pembuatan Ekstrak Kulit Kakao	53
4.2.2	Penapisan Fitokimia.....	54
4.2.3	Karakterisasi Senyawa Dengan GC-MS.....	56
4.2.4	Pengukuran Kadar Total Fenolik.....	58
4.2.5	Pengukuran Kadar Total Flavonoid.....	59
4.2.6	Uji Aktivitas Antioksidan	60
4.2.7	Uji Aktivitas Antibakteri	62

BAB V SIMPULAN DAN SARAN

5. 1	Simpulan	66
5. 2	Saran	67

DAFTAR PUSTAKA	68
-----------------------------	-----------

LAMPIRAN.....	82
----------------------	-----------

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 4. 1 Hasil Penapisan Fitokimia Metode Maserasi.....	42
Tabel 4. 2 Hasil Penapisan Fitokimia Metode <i>Ultrasound-Assisted Extraction</i>	43
Tabel 4. 3 Senyawa Ekstraksi <i>Ultrasound Assisted-Extraction</i>	44
Tabel 4. 4 Senyawa Ekstraksi Maserasi.....	45
Tabel 4. 5 Hasil Total Fenolik	47
Tabel 4. 6 Hasil Total Flavonoid	48
Tabel 4. 7 Hasil Uji Antioksidan	49
Tabel 4. 8 Hasil Uji Antibakteri.....	50
Tabel 4. 9 Hasil Uji Normalitas Total Fenolik.....	51
Tabel 4. 10 Hasil Uji <i>T-Test Independant</i> Total Fenolik	51
Tabel 4. 11 Hasil Uji Normalitas Total Flavonoid.....	51
Tabel 4. 12 Hasil Uji <i>T-Test Independant</i> Total Flavonoid	52
Tabel 4. 13 Hasil Uji Normalitas Aktivitas Antioksidan	52
Tabel 4. 14 Hasil Uji <i>Mann–Whitney U</i> Aktivitas Antioksidan.....	52
Tabel 4. 15 Hasil Uji Normalitas Aktivitas Antibakteri	52
Tabel 4. 16 Hasil Uji <i>Mann–Whitney U</i> Aktivitas Antibakteri	53

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 2. 1 Pohon Kakao	6
Gambar 2. 2 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	8
Gambar 2. 3 Prinsip Metode <i>Ultrasound-Assisted Extraction</i>	12
Gambar 2. 4 Prinsip Perkolasi	14
Gambar 2. 5 Alat Sokhletasi	15
Gambar 2. 6 Metabolit Sekunder	16
Gambar 2. 7 Struktur Senyawa Alkaloid	17
Gambar 2. 8 Hidrokuinon dan Vanili	18
Gambar 2. 9 Struktur Senyawa Flavonoid	18
Gambar 2. 10 Asam Galat	19
Gambar 2. 11 Mekanisme Kerja DPPH	20
Gambar 2. 12 Prinsip Spektrofotometer UV-Vis <i>Single-Beam</i>	25
Gambar 2. 13 Prinsip Spektrofotometer UV-Vis <i>Double-Beam</i>	25
Gambar 2. 14 Prinsip Kerja <i>Gas Chromatography</i>	26
Gambar 2. 15 Prinsip Kerja <i>Mass Spectrometry</i>	26
Gambar 3. 1 Kerangka Teori Penelitian	27
Gambar 3. 2 Kerangka Konsep	28
Gambar 3. 3 Kerangka Alur Penelitian	39
Gambar 4. 1 Kurva Baku Asam Galat	47
Gambar 4. 2 Kurva Baku Kuersetin	48
Gambar 4. 3 Mekanisme Kerja <i>Dragendoff</i>	54
Gambar 4. 4 Mekanisme Kerja Pita Mg dan HCl	55
Gambar 4. 5 Mekanisme Kerja Uji Saponin	55
Gambar 4. 6 Mekanisme Uji Salkowski	56
Gambar 4. 7 Mekanisme Aksi Antioksidan	62

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
Lampiran 1. Etik Penelitian	83
Lampiran 2. Determinasi Tanaman.....	84
Lampiran 3. Ekstraksi Tanaman	86
Lampiran 4. Uji Fitokimia	88
Lampiran 5. <i>Certificat of Analysis</i> GC-MS	90
Lampiran 6. Hasil GC-MS Maserasi.....	92
Lampiran 7. Hasil GC-MS <i>Ultrasound-Assisted Extraction</i>	93
Lampiran 8. Kurva Standar Asam Galat.....	94
Lampiran 9. Uji Total Fenolik	95
Lampiran 10. Kurva Standar Kuersetin	97
Lampiran 11. Uji Total Flavonoid	98
Lampiran 12. Kurva Baku Asam Askorbat.....	100
Lampiran 13. Uji Antioksidan Maserasi.....	103
Lampiran 14. Uji Antioksidan <i>Ultrasound-Assisted Extraction</i>	107
Lampiran 15. <i>Certificat of Analysis</i> DMSO.....	111
Lampiran 16. Uji Antibakteri.....	112
Lampiran 17. Analisis SPSS	119

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara produsen biji kakao urutan ke-empat terbesar di dunia menurut *International Cocoa Organization* (ICCO) pada tahun 2023. Selain itu, Indonesia menjadi negara produsen kakao terbesar di Asia dengan total produksi biji kakao pada tahun 2023 mencapai 632,12 ribu ton. Provinsi Lampung menjadi salah satu penyumbang produksi buah kakao Indonesia, dimana sebanyak 7,22% total buah kakao Indonesia berasal dari Lampung (Solimah *et al.*, 2024). Laporan tahunan Badan Pusat Statistik (BPS) Provinsi Lampung (2022) menunjukkan bahwa produksi kakao mencapai 53,991 ton.

Kulit kakao menempati 75% dari total buah kakao yang menyebabkan banyak limbah terbuang dan berpotensi dapat mencemari lingkungan di sekitar (Kamelia dan Fathurohman, 2017; Oktoba *et al.*, 2023). Pencemaran lingkungan secara terus-menerus memicu paparan radikal bebas dan stress oksidatif yang dapat menurunkan sistem imun tubuh, sehingga membuat tubuh lebih rentan terhadap penyakit seperti inflamasi dan infeksi paru-paru (Durrani *et al.*, 2012; Fakriah. *et al.*, 2019; Intan Fadila *et al.*, 2024; Pham-Huy *et al.*, 2020).

Salah satu bakteri yang menginfeksi paru-paru dan menyebabkan ISPA adalah *Klebsiella pneumoniae* (Liu *et al.*, 2020). *Klebsiella pneumoniae* yang menyerang jaringan paru-paru dan menyebabkan pembengkakan di

lobus kanan dan kiri paru-paru (Tarina and Kusuma, 2023). *Klebsiella pneumoniae* merupakan bakteri gram negatif dan salah satu bakteri yang mengalami mutasi yang disebut *Extended Spectrum Beta Lactamases* (ESBL), bakteri ESBL diketahui mampu menghidrolisis antibiotik beta laktam yang menghasilkan resistensi antibiotik (Raja Merlinda Veronica *et al.*, 2025). Untuk membantu mengatasi efek samping penggunaan obat antibiotik sintetik yang dapat berefek pada resistensi bakteri dan gangguan pencernaan akibat pemakaian dalam jangka waktu lama (Tadic *et al.*, 2025). Oleh karena itu, pengembangan obat antibiotik dari bahan alam menjadi solusi untuk pengembangan obat dan mengurangi efek samping (Vinca *et al.*, 2023).

Menariknya selain memiliki sisi negatif kulit kakao memiliki kandungan senyawa fitokimia seperti alkaloid, saponin, terpenoid dan steroid yang turut mengambil peran dalam aktivitas antioksidan dan antibakteri (Yahya *et al.*, 2021). Hasil penelitian Ahyani *et al.* tahun (2025) dan Ananta *et al.* tahun (2021), mengemukakan kandungan total fenolik ekstrak etanol kulit buah coklat sebesar $130,94 \pm 0,84$ mg GAEAC/g (*Galate Acid Equivalent Antioxidant Capacity*) serta kadar flavonoid yang tinggi sebesar $147,115$ mg QE/g (*miligram Quercetin Equivalent per gram*). Selain itu, hasil penelitian Lestari dan Asri tahun (2021), melaporkan ekstrak maserasi kulit kakao konsentrasi 100% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis* rata-rata zona hambat maksimal sebesar $3,13 \pm 0,43$ sejalan dengan itu, penelitian Purwanti *et al.* tahun (2023) melaporkan ekstrak kakao metode *Ultrasound-Assisted Extraction* dengan konsentrasi 60% dapat membunuh bakteri *Streptococcus mutans* dengan zona hambat $8,44 \pm 1,53$ mm dan pada bakteri *Propionibacterium acnes* dalam penelitian Adha and Ibrahim pada tahun (2021) menggunakan metode maserasi dengan konsentrasi 100% memberikan daya hambat sebesar $3,25 \pm 0,33$ cm.

Perbedaan suhu dan metode terbukti secara nyata berpengaruh pada senyawa yang dihasilkan, dalam penelitian yang dilakukan oleh Ghanimi *et*

al. pada tahun (2022) menggunakan perbedaan suhu, dan metode ekstraksi secara rata-rata lebih tinggi didapatkan oleh metode yang menggunakan suhu, hasil uji total fenolik $82,44 \pm 2,67$ mg GAE/g, total flavonoid $206,3 \pm 4,65$ mg QE/g, dan aktivitas antioksidan dengan metode DPPH sebesar $0,73 \pm 0,014$ mg/mL.

Berdasarkan uraian di atas ada beberapa faktor yang mempengaruhi hasil aktivitas senyawa ekstrak etanol kulit kakao. Oleh karena itu peneliti tertarik untuk mengenai perbandingan metode ekstraksi kulit kakao (*Theobroma cacao* L.) maserasi dan *Ultrasonic-Assisted Extraction* terhadap karakteristik fitokimia, aktivitas antioksidan, dan aktivitas antibakteri.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimanakah perbandingan karakteristik fitokimia dari metode ekstraksi maserasi dan *Ultrasound-Assisted Extraction* ?
2. Bagaimanakah aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) metode ekstraksi maserasi dan *Ultrasound-Assisted Extraction* ?
3. Bagaimanakah aktivitas antibakteri ekstrak etanol kulit kakao (*Theobroma cacao* L.) metode ekstraksi maserasi dan *Ultrasound-Assisted Extraction* pada bakteri *Klebsiella pneumoniae*?
4. Bagaimanakah profil kandungan senyawa fenolik dan flavonoid ekstrak etanol kulit kakao (*Theobroma cacao* L.) metode ekstraksi maserasi dan *Ultrasound-Assisted Extraction* ?
5. Apakah terdapat perbedaan signifikan antara metode ekstraksi maserasi dan *Ultrasound-Assisted Extraction* ?

1.3 Tujuan

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui kadar total flavonoid, total fenolik, aktivitas antioksidan dan antibakteri *Klebsiella pneumoniae* ekstrak etanol kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.)

1.3.2 Tujuan Khusus

- 1 Mengetahui perbandingan karakteristik fitokimia dari metode ekstraksi maserasi dan *Ultrasound-Assisted Extraction*
- 2 Mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) metode ekstraksi maserasi dan *Ultrasound-Assisted Extractio*.
- 3 Mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol kulit kakao (*Theobroma cacao* L.) metode ekstraksi maserasi dan *Ultrasound-Assisted Extraction* pada bakteri *Klebsiella pneumoniae*
- 4 Mengetahui profil kandungan senyawa fenolik dan flavonoid ekstrak etanol kulit kakao (*Theobroma cacao* L.) metode ekstraksi maserasi dan *Ultrasound-Assisted Extraction*.
- 5 Mengetahui perbedaan antara metode ekstraksi maserasi dan *Ultrasound-Assisted Extraction*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Peneliti

Hasil penelitian akan memberikan peneliti pengetahuan ilmiah, membentuk suatu disiplin ilmu berdasarkan pengetahuan yang dipelajari di dalam penelitian yang telah dilakukan.

1.4.2 Bagi Institusi

Hasil penelitian yang telah dilakukan diharapkan menambah referensi penelitian dan dapat meningkatkan penelitian di bidang kesehatan khususnya agromedicine untuk menunjang visi Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

1.4.3 Bagi Masyarakat

Hasil penelitian ini diharapkan menjadi sumber informasi mengenai potensi aktivitas antioksidan dan antibakteri ekstrak etanol 96% kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) yang diekstraksi dengan metode maserasi dan *Ultrasonic Assisted Extraction*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tumbuhan Kakao

2.1.1 Definisi dan Morfologi Kakao

Kakao adalah tumbuhan yang awal mulanya berasal dari Amerika Selatan dan sekarang banyak tumbuh di berbagai wilayah tropis. Tumbuhan ini memiliki nama ilmiah *Theobroma cacao* L. yang memiliki nilai jual tinggi pada bijinya yang menjadi bahan baku pembuatan bubuk coklat. (Farhanandi and Indah, 2022).



Gambar 2. 1 Pohon Kakao (Dokumentasi Pribadi. 2025).

Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Malvales
Famili : Sterculiaceae
Genus : *Theobroma*
Spesies : *Theobroma cacao* L.
(Minifie, 1999).

Tanaman kakao tersebar di berbagai wilayah Indonesia dengan karakteristik yang bisa dibilang tidak jauh berbeda satu dengan yang lainnya, contohnya di Pulau Bangka dimana terdapat beberapa jenis warna buah seperti hijau kemerahan, merah kekuningan, merah-oranye, hijau muda-hijau kekuningan dengan tebal rata-rata buah mencapai lebih dari 1 cm dengan maksimal tebal kulit buah 1,5 cm (Zasari *and* Sitorus, 2022). Penelitian di tempat lain juga mendapatkan hal yang kurang lebih sama dimana ketebalan buah paling kecil ada pada 0,6 cm dan paling tebal pada 1,4 cm, selain itu diketahui bahwa perbedaan ketinggian tempat berpengaruh pada morfologi tumbuhan kakao (Farhanandi *and* Indah, 2022).

2.1.2 Manfaat Kakao

Bagian yang paling sering dimanfaatkan dari tumbuhan kakao adalah bagian biji nya yang menjadi bahan pokok bubuk coklat dan *cocoa butter*. Hasil olahan biji coklat sendiri merupakan bahan utama dari bermacam-macam produk, dalam segmen makanan menjadi bahan baku dodol, kue , permen, susu dan di dalam segmen kecantikan menjadi bahan baku lulur coklat dan sabun coklat. Selain kedua segmen itu manfaat biji coklat ternyata juga dapat mempengaruhi kesehatan, kandungan serat dan protein yang sangat dibutuhkan oleh tubuh menjadi nilai tambah dari biji kakao (Inanda Khoidir, 2023).

Biji kakao yang dimanfaatkan meninggalkan limbah kulit yang tidak sedikit, beberapa penelitian menunjukan aktivitas farmakologi yang dihasilkan oleh kulit kakao. Kulit kakao bisa menghasilkan aktivitas antioksidan (Ananta *et al.*, 2021; Huda *et al.*, 2022; Rachmawati *et al.*, 2023), tidak sampai disitu bahkan terdapat upaya pemanfaatan lebih lanjut seperti dengan membuat suplemen antioksidan yang telah dilakukan di provinsi Lampung tepatnya di kecamatan Cukuh Balak dimana pembuatan suplemen herbal tersebut dibuat dengan cara menghaluskan kulit kakao yang telah kering menjadi serbuk dan dibuat menjadi sediaan kapsul (Oktoba *et al.*, 2023).

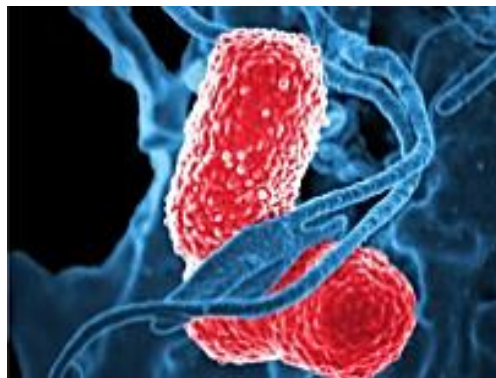
Aktivitas antibakteri yang dihasilkan oleh kulit kakao juga telah terbukti pada beberapa bakteri contohnya *Staphylococcus epidermidis* (Lestari and Asri, 2021), *Propionibacterium acnes* (Adha and Ibrahim, 2021), dan *Streptococcus mutans* (Purwanti et al., 2023). Hal tersebut makin menaikkan nilai kulit kakao yang tadinya hanya sebagai limbah sekarang mulai diperhitungkan dengan aktivitas farmakologi yang dimilikinya.

Selain aktivitas farmakologinya kulit kakao juga bermanfaat untuk menjadi alternatif pakan bagi hewan ternak masyarakat (Kamelia and Fathurohman, 2017), juga menjadi pupuk untuk tanaman di kebun-kebun yang dimiliki warga (Laude et al., 2020).

2.2 Bakteri *Klebsiella pneumoniae*

2.2.1 Definisi dan Morfologi *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae termasuk ke dalam bakteri gram negatif (-) yang berbentuk batang pendek dan memiliki ukuran yang kecil yaitu sekitar 0,5-1,2 mikro. Bakteri ini tidak memiliki spora namun memiliki kapsul yang melindungi seluruh bagian tubuhnya, ia juga tidak memiliki flagel sebagai alat untuk bergerak tetapi dapat memfermentasikan karbohidrat menjadi gas dan asam (Tarina and Kusuma, 2023).



Gambar 2. 2 *Klebsiella pneumoniae*
(Umarudin et al., 2023)

Kingdom : Bacteria
 Phylum : Proteobacteria
 Class : Γ proteobacteria
 Order : Enterobacterales
 Family : Enterobacteriaceae
 Genus : *Klebsiella*
 Species : *Klebsiella pneumoniae*

(Dong *et al.*, 2022).

Bakteri *Klebsiella pneumoniae* merupakan bakteri yang tidak bergerak dan spora pada bakteri ini tidak terbentuk, memiliki lebar antara 0,3-2,0 μm dan panjang 0,6-6,0 μm , serta bakteri ini memberikan tampilan mukoid yang khas di cawan agar. Bakteri ini memiliki kapsul yang pada lapisannya terdiri dari polisakarida ekstraseluler yang menonjol yang membungkus struktur sel dan memiliki fungsi sebagai perisai terhadap imunitas bawaan inang (Abbas *et al.*, 2024).

2.2.2 Patologi *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae termasuk ke dalam famili *Enterobactericeae* yang termasuk ke dalam bakteri gram negatif, basil yang anaerobik non-motil dan fakultatif. Bakteri ini sering dijumpai di alam seperti di tanaman, air dan tanah, bahkan mereka menjadi bagian mikrobiota normal dalam nasofaring dan saluran pencernaan manusia. Infeksi nosokomial akibat bakteri ini seringkali terjadi pada individu dengan sistem imun lemah selain infeksi nosokomial bakteri ini juga menjadi penyebab penyakit infeksi usus akut, infeksi urogenital, dan meningitis (Umarudin *et al.*, 2023).

Infeksi nosokomial yang disebabkan oleh *Klebsiella pneumoniae* cenderung bersifat kronis karena dua faktor utama. Pertama, bakteri ini mampu membentuk biofilm di dalam tubuh yang dapat melindungi diri dari sistem kekebalan inang. Kedua, *Klebsiella pneumoniae* menghasilkan enzim-enzim yang dapat menonaktifkan antibiotik tertentu, seperti

extended-spectrum β -laktamases (ESBL) dan karbapenemase, yang membuat bakteri ini menjadi resisten terhadap pengobatan antibiotik. Produksi enzim resistensi ini sangat menyulitkan upaya klinis dalam menemukan antibiotik yang efektif untuk mengatasi infeksi yang ditimbulkan (Abbas *et al.*, 2024).

2.3 Simplisia

Simplisia merupakan bahan alamiah yang akan digunakan sebagai obat yang belum sama sekali diolah kecuali dikeringkan, simplisia sendiri terbagi menjadi dua yaitu nabati, hewani dan mineral. Simplisia nabati merupakan bagian tumbuhan, eksudat atau tumbuhan utuh yang sudah dicuci dan dikeringkan. Eksudat tumbuhan merupakan senyawa nabati atau isi sel yang keluar dari tumbuhan yang belum berupa senyawa kimia murni (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

Cara pembuatan simplisia dimulai dari sortasi basah yaitu memilih bagian tumbuhan yang akan digunakan, lalu dilanjutkan dengan pencucian dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada bagian tumbuhan yang akan digunakan, selanjutnya bagian tumbuhan yang telah selesai dicuci dilakukan perajangan dan pengeringan untuk mengurangi kandungan airnya, yang terakhir dilakukan sortasi kering untuk memisahkan bagian tumbuhan yang masih layak untuk digunakan (Stephanie Rumaseuw *et al.*, 2023).

2.4 Ekstraksi

Proses ekstraksi merupakan proses yang sangat penting untuk mendapatkan senyawa bioaktif dari tanaman. Terdapat beberapa cara dalam mengekstraksi diantaranya dekoksi, maserasi, infusi, *Ultrasound-Assisted Extraction*, destilasi, dan sokhlet untuk memastikan kualitas ekstrak (Nugroho, 2017).

2.4.1 Maserasi

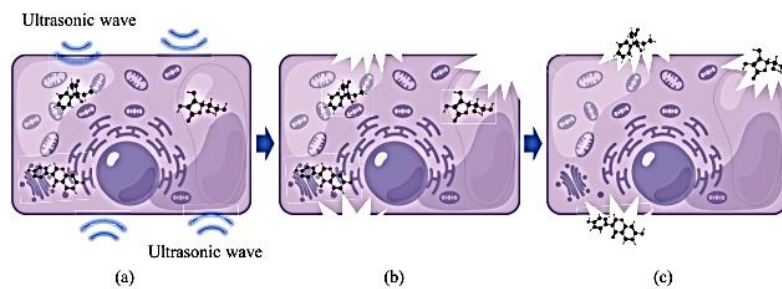
Metode ekstraksi maserasi digunakan untuk mengekstraksi senyawa metabolit sekunder dari bahan alam, metode ini tergolong metode yang sederhana dan mudah untuk dilakukan. Proses dalam metode ekstraksi ini tanpa melibatkan panas sehingga sering digunakan untuk mengekstraksi senyawa metabolit sekunder yang tidak tahan terhadap panas (*termolabile*) (Nugroho, 2017). Prinsip dari metode ekstraksi dengan maserasi adalah dengan merendam bahan baku dalam suatu bejana yang ditempatkan pada suhu ruang dengan dilakukan pengadukan secara kontinyu atau berkala yang dapat mempercepat proses ekstraksi. Proses ekstraksi dengan metode ini dapat diulang dua atau tiga kali untuk meningkatkan hasil rendemen karena masih terdapat sisa senyawa metabolit sekunder yang tertinggal pada serbuk simplisia dan memiliki peluang untuk diambil kembali (Nugroho, 2017).

Dalam pengerjaannya ada beberapa hal yang harus diperhatikan seperti perbandingan bahan baku dengan pelarut yang digunakan, suhu, kecepatan pengadukan, derajat kehalusan simplisia, dan waktu maserasi. Serta pelarut yang digunakan harus disesuaikan dengan kebutuhan pada senyawa aktif yang menjadi tujuan proses ekstraksi (BPOM RI, 2023).

Metode ekstraksi dengan maserasi mempunyai beberapa keuntungan seperti alat yang digunakan sederhana, tahapan pengerjaan yang tidak sulit, biaya yang murah, dan bisa digunakan untuk mengekstraksi senyawa metabolit sekunder yang tidak tahan terhadap proses pemanasan. Metode ekstraksi ini juga mempunyai beberapa kekurangan seperti dalam proses pengerjaannya membutuhkan waktu yang lama untuk mendapatkan hasil ekstrak, membutuhkan banyak pelarut, dan kurang efektif untuk mengekstraksi beberapa senyawa pada suhu kamar (Noviyanto *et al.*, 2024)

2.4.2 *Ultrasound Assisted Extraction*

Ultrasound Assisted Extraction merupakan salah satu metode ekstraksi modern yang pada prosesnya melibatkan penggunaan getaran dengan frekuensi antara 20 kHz hingga 2000 kHz yang akan meningkatkan permeabilitas dinding sel dan menghasilkan adanya kavitasi. Pada proses pengerjaannya terdapat beberapa hal yang perlu diperhatikan seperti frekuensi osilasi dan waktu yang akan menentukan tingkat efektivitas ekstraksi (BPOM RI, 2023).



Gambar 2. 3 Prinsip Metode *Ultrasound-Assisted Extraction* (Shen *et al.*, 2023)

Prinsip dari metode *Ultrasound-Assisted Extraction* adalah dengan memanfaatkan gelombang *ultrasound* (sinyal dengan frekuensi tinggi) dimana generator listrik ultrasonik akan mengubah sinyal listrik menjadi gelombang ultrasonik yang memiliki efek sangat kuat dan disebut dengan efek kavitasi yang akan menyebabkan pecahnya molekul-molekul larutan. Sampel yang akan diekstraksi ditempatkan dalam wadah ultrasonik yang kemudian dikenai dengan gelombang *ultrasound*, dengan tujuan untuk membentuk rongga dalam sampel karena adanya tekanan mekanik pada sel, sehingga akan terjadi kerusakan sel yang akan meningkatkan kelarutan senyawa dan hasil ekstraksi (Azzahra, 2023; Triyanti *et al.*, 2025).

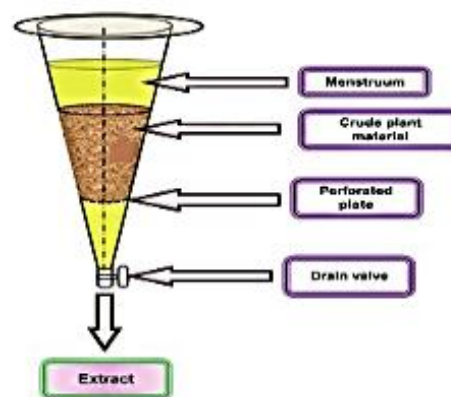
Metode ekstraksi dengan sonikasi memiliki beberapa keuntungan seperti pada proses pengerjaan waktu yang dibutuhkan singkat, meningkatkan kelarutan senyawa metabolit dalam pelarut, dan hasil ekstraksi menjadi lebih efisien (Triyanti *et al.*, 2025). Selain itu, keuntungan yang diberikan dari metode ini adalah mempercepat penetrasi bahan aktif karena

menghasilkan sampel yang memiliki luas permukaan yang (Azzahra, 2023). Selain itu, metode ini juga dapat mempengaruhi kestabilan senyawa metabolit sekunder yang diekstraksi karena adanya kenaikan suhu (BPOM RI, 2023).

2.4.3 Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan suhu ruang yang menggunakan pelarut baru secara terus menerus sampai benar-benar habis (*exhaustive extraction*). Proses perkolasi sendiri memiliki beberapa tahapan yaitu tahapan pengembahan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan/penampungan ekstrak), hal ini dilakukan secara berkelanjutan sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya mencapai 1-5 kali bahan. (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

Metode ekstraksi ini menggunakan peralatan yang bernama “perkolator” yaitu sebuah bejana sempit yang berbentuk kerucut dan terbuka di kedua ujungnya). Sampel padat yang telah dibasahi dengan pelarut lalu didiamkan selama kurang lebih 4 jam dan ditutup dengan baik, setelah itu ditambahkan pelarut tambahan untuk membentuk lapisan di atas simplisia lalu di maserasi lagi dalam waktu 24 jam dengan kondisi perkolator tertutup dan ekstrak dibiarkan menetes perlahan. Pelarut ditambahkan kembali sampai memenuhi tiga perempat dari volume yang dibutuhkan dan ditekan cairan yang telah ada di dalam perkolat sembari di filtrasi diikuti dengan dekantasi. (Willian and Pardi, 2022).

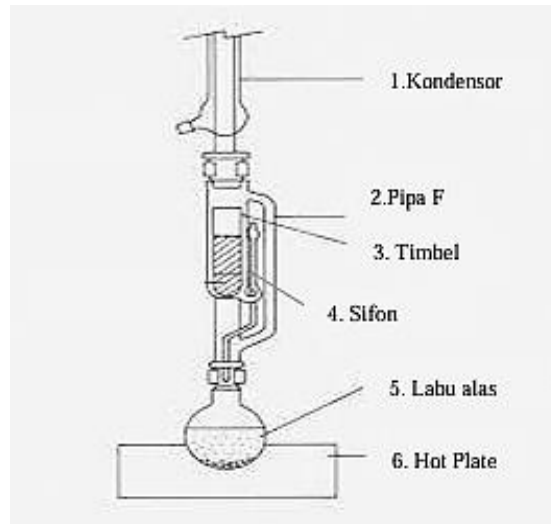


Gambar 2. 4 Prinsip Perkolasi (Willian and Pardi, 2022)

2.4.4 Sokhlet

Sokhlet merupakan ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu diperbarui setiap waktu, kebanyakan menggunakan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi secara berkelanjutan dengan jumlah pelarut yang tetap dan konstan akibat adanya pendingin atau kondensor (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

Prinsip dari metode sokletasi adalah melakukan penyaringan secara berulang-ulang agar hasil ekstraksi menjadi lebih sempurna dengan penggunaan pelarut yang sedikit. Pelarut yang dipilih sebaiknya mudah menguap dan mampu melarutkan zat yang diinginkan tanpa ikut melarutkan zat padat yang tidak diperlukan. Pelarut ini seringkali digunakan karena efektivitasnya dalam ekstraksi, meskipun memiliki beberapa keterbatasan terkait kestabilan hasil ekstrak dalam jangka waktu lama. Pelarut yang dapat digunakan bervariasi namun contoh-contoh pelarut yang sering digunakan adalah akuades, etanol dan methanol (Riniati *et al.*, 2019).



Gambar 2. 5 Alat Sokhletasi (Irvan *et al.*, 2015)

2.5 Pelarut

Pemilihan pelarut sangat penting dalam melaksanakan ekstrak karena perbedaan sifat pelarut akan menentukan jenis senyawa yang dihasilkan, karena pelarut sendiri termasuk ke dalam faktor yang mempengaruhi hasil ekstraksi. Pelarut organik dibagi menjadi dua menurut konstanta elektiriknya, yaitu pelarut polar dan non polar (Willian *and* Pardi, 2022).

Pelarut etanol termasuk ke dalam jenis pelarut polar dimana memiliki keuntungan dalam menarik senyawa-senyawa polar dari dalam tumbuhan. Pelarut ini memiliki sifat sebagai pengawet dimana kelebihan ini tidak dimiliki oleh pelarut ait, etanol relatif tidak beracun dan memiliki resiko yang kecil untuk merusak senyawa dimana hal ini tidak dimiliki oleh pelarut metanol (BPOM RI, 2023).

Pemilihan pelarut etanol khususnya pada konsentrasi 96% digunakan untuk memaksimalkan aktifitas senyawa ekstrak yang dihasilkan, pada penelitian aktifitas antioksidan kulit biji kakao pelarut ini memiliki aktifitas yang paling tinggi dibandingkan dengan pelarut aseton dan metanol (Widhiana Putra *et al.*, 2020). Aktifitas antibakteri menggunakan pelarut yang sama namun dengan kulit kakao menunjukkan hasil yang cukup memuaskan pada

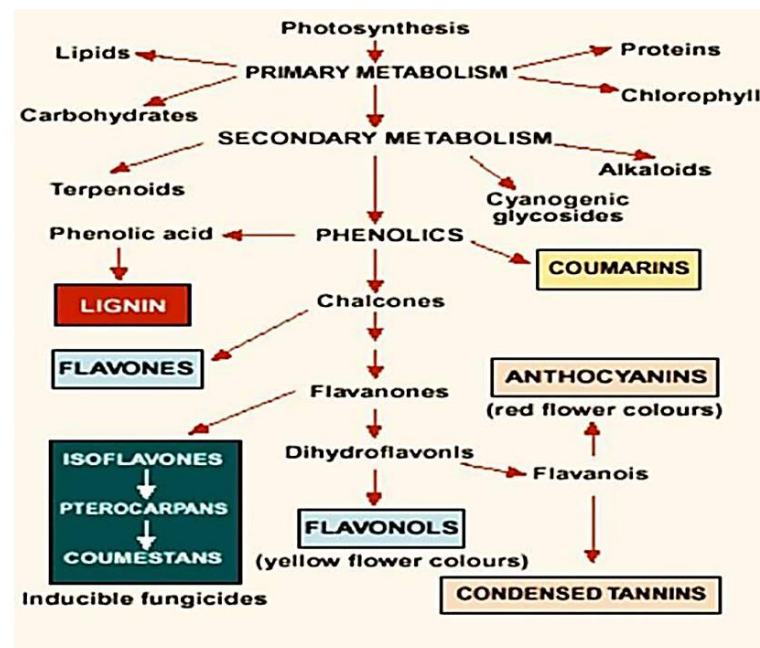
bakteri *Proponibacterium acnes* sebesar $3,25 \pm 0,33$ cm pada konsentrasi 100% (Lestari and Asri, 2021). Untuk itu dipilih etanol 96% sebagai pelarut pada penelitian ini.

2.6 Metabolit Sekunder

2.6.1 Definisi

Metabolisme sekunder adalah perubahan senyawa kimia yang terjadi dalam jalur sel hidup yang didalamnya terdapat proses penguraian dan pembentukan senyawa kimia yang dibutuhkan oleh tumbuhan namun tidak dianggap sebagai kebutuhan utama. Metabolit sekunder memiliki berbagai fungsi yaitu sebagai hormon, pengatur metabolisme dan pertumbuhan sel, pertahanan tumbuhan, mengatur warna untuk menarik perhatian serangga. (Julianto, 2019).

Istilah lain yang berhubungan dengan metabolit sekunder adalah fitokimia (*phytochemicals*) bermakna bahan-bahan atau senyawa kimia yang dihasilkan dari tumbuhan, berasal dari bahasa latin yaitu fito (*phyto*) yang berarti tanaman, sedangkan *chemicals* berarti bahan-bahan kimia. (Nugroho, 2017).



Gambar 2. 6 Metabolit Sekunder (Nugroho, 2017)

2.6.2 Klasifikasi

Metabolit sekunder terbagi menjadi beberapa kelompok besar berdasarkan struktur senyawa kimianya, komposisi, jalur sintesisnya, kelarutannya.

2.6.2.1 Terpenoid

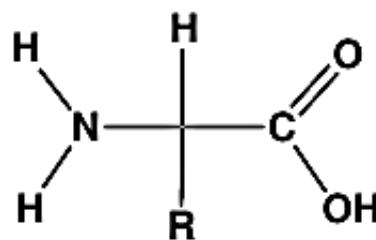
Terpenoid adalah senyawa yang memiliki spektrum paling luas dibanding senyawa metabolit sekunder lainnya, yang memiliki struktur berupa rantai lurus sampai membentuk polisiklik (struktur cincin). Senyawa terpenoid berasal dari proses kondensasi isoprene yang memiliki lima atom karbon (C_5) pada strukturnya (Nugroho, 2017).

2.6.2.2 Saponin

Saponin adalah senyawa yang banyak ditemukan dalam bentuk glikosida sebagai *amphipatic glycoside* yaitu glikosida yang memiliki sifat hidrofilik dan lipofilik. Saponin memiliki efek racun bagi hewan-hewan berdarah dingin atau ikan. (Nugroho, 2017).

2.6.2.3 Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa yang memberikan rasa pahit pada suatu bahan alam dan dikenal sebagai senyawa fitokimia yang memiliki efek farmakologis yang beragam, senyawa alkaloid dikenali dengan adanya atom nitrogen dalam struktur kimianya (Nugroho, 2017).

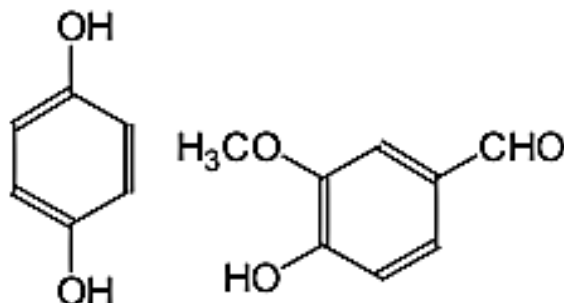


Gambar 2. 7 Struktur Senyawa Alkaloid (Saifudin, 2014)

2.6.2.4 Fenolik

Fenolik merupakan senyawa yang memiliki ciri-ciri setidaknya terdapat struktur cincin aromatik diikuti oleh satu atau lebih gugus hidroksil yang

saling terikat satu-sama lain. Terdapat lebih dari 8.000 jenis senyawa fenolik yang sudah teridentifikasi dari berbagai jenis tumbuhan (Nugroho, 2017).

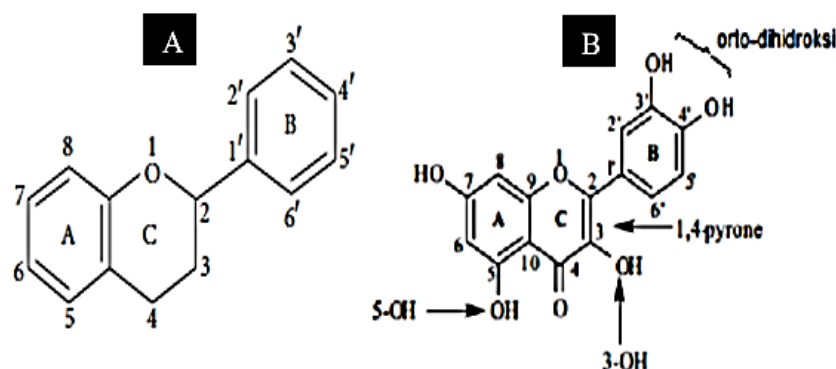


Gambar 2. 8 Hidrokuinon dan Vanili (Julianto, 2019)

Gambar di atas adalah struktur senyawa fenol paling sederhana yang dapat ditemukan di alam, senyawa fenol ditandai dengan adanya cincin benzene yang memiliki salah satu atau dua cabang OH yang berikatan langsung pada cincin benzene (Julianto, 2019).

2.6.2.5 Flavonoid

Flavonoid merupakan ikatan yang secara alami dapat ditemukan dan bertanggung jawab pada berbagai proses biologis, senyawa flavonoid memiliki banyak sub-sub kelas seperti flavon, flavanol, flavanolol, flavanon, isoflavon dan antosianin bahkan masih banyak lainnya. (Benítez-Correa *et al.*, 2023).

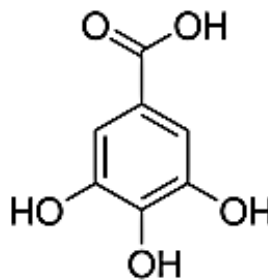


Gambar 2. 9 Struktur Senyawa Flavonoid (Anggraito *et al.*, 2018)

Flavonoid terdiri dari atom karbon $C_6-C_3-C_6$, dua cincin aromatik yang dihubungkan dengan tiga buah rantai karbon. Secara kimia struktur senyawa flavonoid terdiri atas 15 rangka karbon yang terdiri dari dua cincin benzene dan terhubung oleh satu cincin pirin berbentuk heterolik (Anggraito *et al.*, 2018).

2.6.2.6 Tanin

Tanin merupakan senyawa yang berfungsi sebagai pertahanan diri tumbuhan berbagai jenis hewan dan hama, senyawa ini banyak ditemukan dalam buah yang belum matang. Tanin memberikan rasa sepat dan pahit bagi yang memakannya karena itu banyak hewan menghindari tanaman yang masih muda atau mentah (Anggraito *et al.*, 2018; Julianto, 2019). Berikut ini contoh senyawa tanin :



Gambar 2. 10 Asam Galat (Julianto, 2019)

2.7 Antioksidan

2.7.1 Definisi Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang memiliki kemampuan untuk meredam atau menangkal dampak negatif dari oksidan. Antioksidan diperlukan tubuh untuk melindungi tubuh dari paparan radikal bebas baik dari dalam eksogen atau luar tubuh, dengan cara menghambat atau memperlambat kerusakan sel-sel tubuh akibat oksidasi (Kesuma, 2015). Senyawa antioksidan secara garis besar terbagi menjadi dua yaitu eksogen dan endogen, antioksidan endogen berasal dari produksi dalam tubuh

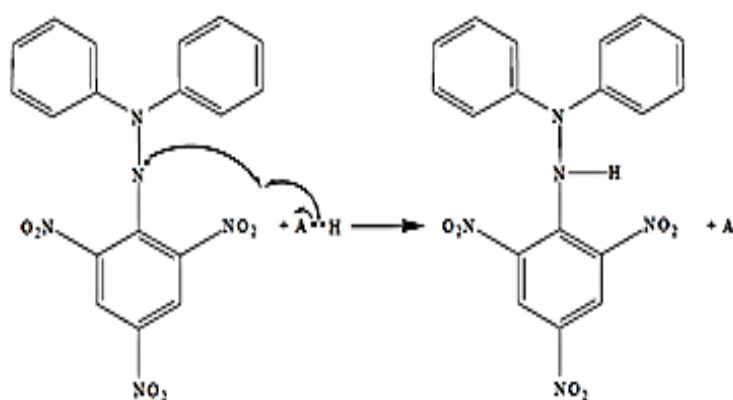
contohnya enzim katalase dan non-enzim seperti glutathione. Senyawa eksogen didapatkan dari luar tubuh seperti dalam suplemen, vitamin dan mineral, salah satu senyawa fitokimia yang ada dalam tanaman memiliki efek farmakologis sebagai antioksidan, senyawa tersebut adalah fenolik yang memiliki beberapa mekanisme yaitu mereduksi, meredam terbentuknya singlet oksigen dan pendonor elektron. Turunan dari senyawa fenolik yaitu flavonoid juga terbukti memiliki potensi dalam aktivitas antioksidan (Kesuma, 2015; Korczowska-Lącka *et al.*, 2023).

2.7.2 Metode Pengujian Antioksidan

Pengujian antioksidan ditunjukan untuk mengetahui seberapa kuat suatu senyawa atau ekstrak dalam kemampuannya menjadi agen pereduksi. Berikut ini adalah beberapa metode uji aktivitas antioksidan yang sering digunakan.

2.7.2.1 Metode Uji DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl)

Uji aktivitas antioksidan ini ditemukan oleh Blois (1995), dengan menggunakan senyawa DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl; $C_{18}H_{12}N_5O_6$, $M = 394.33$) yang merupakan radikal bebas berwarna ungu karena adanya delokalisasi pada kemudian menjadi kuning hydrazine setelah adanya proses reduksi setelah terjadinya donor hidrogen dari dari senyawa atau ekstrak yang menyebabkan warna ungu pada DPPH berkurang (Mu'nisa, 2023).



Gambar 2. 11 Mekanisme Kerja DPPH

DPPH hanya dapat larut dalam pelarut organik seperti methanol dan etil asetat, lalu uji kuantatif aktivitas antioksidan menggunakan instrumen spektrofotometer pada panjang gelombang 516 nm (Kesuma, 2015; Rachmawati *et al.*, 2023).

Besarnya daya antioksidan dihitung dengan rumus IC_{50} (*Inhibition Concentration*) :

$$\text{Daya antioksidan} = \frac{\text{Absorban blanko} - \text{absorban sampel}}{\text{Absorban blanko}} \times 100\%$$

Semakin kecil nilai yang didapat maka semakin besar aktivitas antioksidan senyawa atau ekstrak tersebut (Kesuma, 2015).

2.7.2.2 Metode Uji FRAP (*Ferric Reducing Ability of Plasma*)

Metode FRAP digunakan untuk mengukur kemampuan antioksidan yang akan diuji dalam mereduksi Fe(III)-TPTZ yang merupakan radikal bebas berwarna kuning menjadi Fe(II)-TPTZ yang berwarna biru. Instrumen yang digunakan adalah *diode-array* spektrofotometer pada panjang gelombang 593 nm (Mu'nisa, 2023).

Keunggulan metode FRAP adalah termasuk ke dalam metode yang cepat, cocok untuk sampel plasma dan mudah dalam mendapatkan reagenya. FRAP menunjukkan aktivitas antioksidan yang setara dengan aktivitas antioksidan yang terjadi di dalam plasma tubuh (Soedarini *and* Nugrahedi, 2019).

2.7.2.3 Metode Uji ABTS (*2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)*)

Metode ini menggunakan senyawa radikal ABTS yang merupakan kation organik yang bereaksi pada pH yang sama dengan pH dalam tubuh manusia yaitu 7,4 dimana aktivitas ABTS ditandai dengan perubahan warna yang semula biru atau hijau menjadi tidak berwarna (Mu'nisa, 2023; Soedarini *and* Nugrahedi, 2019).

Cara untuk mengukur aktivitas secara kuantitatif menggunakan instrumen kalorimeter pada panjang gelombang 734 nm, dengan menggunakan pembanding seperti alpha tocopherol atau uric acid. Kelebihan dari metode ini yaitu dapat digunakan dengan baik dalam fasa aqueous atau lipid, mudah dan cepat. (Mu'nisa, 2023).

2.8 Antibakteri

2.8.1 Definisi Antibakteri

Antibakteri adalah zat yang dapat menghambat atau membunuh bakteri dengan pembagian pada mekanisme kerjanya yaitu, bakteristatika yang artinya menghambat pertumbuhan bakteri dan bakterisida yang artinya membunuh bakteri. Berikut ini adalah target mekanisme antibakteri menurut Rollando (2019).

1. Perusakan Dinding Sel

Struktur sel rusak dengan menghambat pembentukan atau setelah proses pembentukan dinding sel. Antibiotik yang bekerja dengan mekanisme ini adalah penisilin.

2. Pengubahan Permeabilitas Sel

Kerusakan membran sitoplasma yang berfungsi mempertahankan bagian-bagian sel tertentu.

3. Penghambatan Kerja Enzim

Menghambat aktivitas selular bakteri seperti dalam mekanisme kerja sulfonamid yang menghalangi sintesis asam folat yang berfungsi untuk sintesis purin dan pirimidin.

4. Penghambatan Sintesis Asam Nukleat dan Protein

Penghambatan DNA dan RNA sebagai bahan baku utama pembentukan sel bakteri.

5. Pengubahan Molekul Protein dan Asam Nukleat

Antibakteri ini menyerang dengan mengubah keadaan protein dan asam nukleat sehingga pertumbuhannya terganggu dan merusak sel secara permanen.

Senyawa fitokimia memiliki beberapa mekanisme untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Senyawa flavonoid menghambat DNA dan RNA bakteri dengan cara menumpuk basa asam nukleat dengan ikatan hidrogen yang terdapat pada cincin A dan B pada senyawa flavonoid, senyawa flavonoid menargetkan dinding polipeptida dengan cara mengendapkan protein bakteri dan menghambat enzim-enzim penting dalam pertumbuhan bakteri (Khairunnisa *et al.*, 2025). Alkaloid mengganggu susunan peptidoglikan yang bertanggung jawab sebagai komponen dinding sel dan menyebabkan kematian sel karena dinding sel tidak terbentuk secara maksimal, terpenoid merusak membran sel bakteri dengan cara bereaksi dengan sel aktif membran bakteri yang menghasilkan larutnya lipid dan meningkatkan permeabilitas membran bakteri sehingga membran bakteri lebih mudah ditembus oleh senyawa-senyawa lainnya (Rahman *et al.*, 2017). Saponin mengganggu stabilitas membran sel bakteri dengan cara difusi dari membran luar yang rentan dan mengikat sitoplasma yang menyebabkan komponen-komponen bakteri keluar dari sel bakteri, tanin bekerja dengan cara menginaktivasi materi genetik yang menyebabkan sel bakteri gagal terbentuk secara sempurna (Pramita Yuli Pratiwi *et al.*, 2021).

2.8.2 Metode Pengujian Antibakteri

2.8.2.1 Metode Difusi

Metode uji difusi digunakan untuk menguji kemampuan antibakteri suatu senyawa berdasarkan aktivitas difusi antimikroba pada media padat, hal yang menjadi dasar penilaian adalah pengamatan pada daya hambat pertumbuhan mikroba yang di ujikan. Metode uji antibakteri dibagi menjadi sumuran, difusi dengan silinder/cakram dan metode dengan parit. Metode difusi dengan piringan/cakram dilakukan dengan cara merendam piringan/cakram pada cairan mengandung senyawa yang akan

diujikan. Sumuran dilakukan dengan melubangi media yang telah diinokulasi dengan perforator lalu meletakkan senyawa uji. Metode difusi parit dilakukan dengan membuat parut sepanjang diameter media dan senyawa uji diinokulasi dengan bakteri di kanan dan kiri parit (Rollando, 2019).

Sumuran dilakukan dengan membuat lubang tipis atau pencadangan pada media padat yang telah ditambahkan suspensi bakteri dengan cara disebarkan menggunakan kapas lidi steril. Setelah lubang terbentuk pada media dimasukan ekstrak berbagai konsentrasi yang akan diujikan dengan cara diteteskan langsung dalam lubang yang telah terbentuk, pengamatan hasil uji bervariasi mulai dari 12, 24 sampai 48 jam dan daya hambat diukur menggunakan jangka sorong (Misna and Diana, 2016).

2.8.2.2 Metode Dilusi

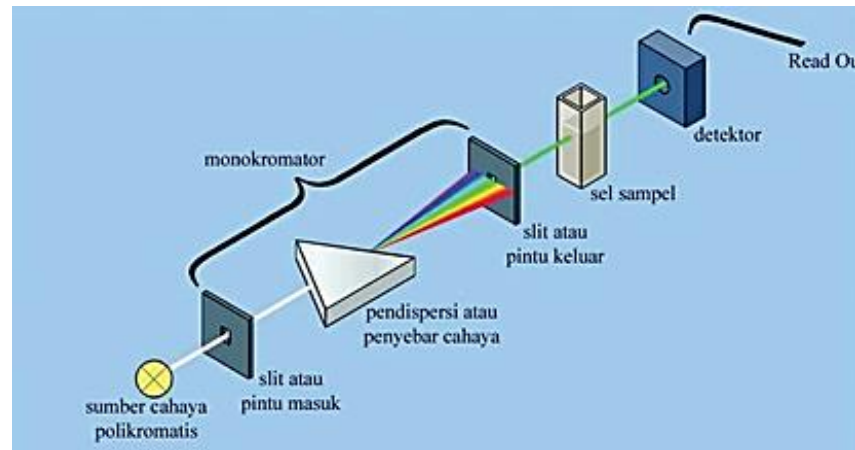
Metode dilusi digunakan untuk mengukur kadar hambat minimum dari pertumbuhan mikroba yang diujikan. Metode dilusi terbagi menjadi dua yaitu dilusi cair dan dilusi padat dimana perbedaan antara kedua metode tersebut ada pada media yang digunakan dengan metode pengerjaan yang sama dengan cara memberi seri pengenceran senyawa uji antimikroba yang akan diujikan lalu ditanam/digoreskan ke media padat dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media yang tidak ditumbuhi ditetapkan sebagai kadar hambat minimum (Zainab *et al.*, 2022).

2.9 Spektrofotometer UV-Vis

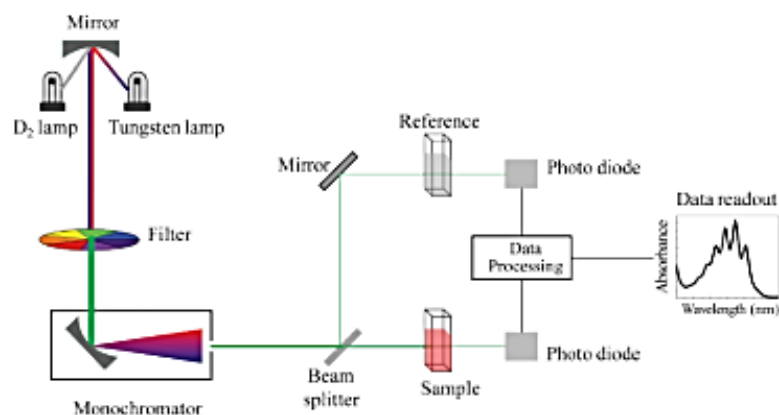
Spektrofotometer UV-Vis digunakan untuk menghitung interaksi antara sinar ultraviolet atau sinar tampak dengan transisi elektronik yang terjadi. Transisi elektronik adalah perpindahan elektron dari orbit yang dimilikinya dari tingkat dasar ke tingkat tereksitasi. Sinar ultraviolet (UV) mempunyai rentang 100-400 nm, sedangkan sinar tampak (Vis) 400-750 nm sinar yang ditunjukkan mulai dari tidak berwarna-ungu-merah (Tati, 2017).

Tipe spektrofotometer dibagi menjadi dua yaitu *single-beam* dan *double-beam*. Instrumen *single-beam* mengukur absorbansi secara kuantitatif pada panjang gelombang tunggal, sedangkan instrumen *double-beam* mengukur

absorbansi dengan beberapa pancaran sinar gelombang yang semula satu sinar dipecah menggunakan potongan cermin berbentuk V. Sinar pertama menembus larutan blanko lalu sinar kedua melewati sampel. (Tati, 2017).



Gambar 2. 12 Prinsip Spektrofotometer UV-Vis *Single-Beam* (Tati, 2017)

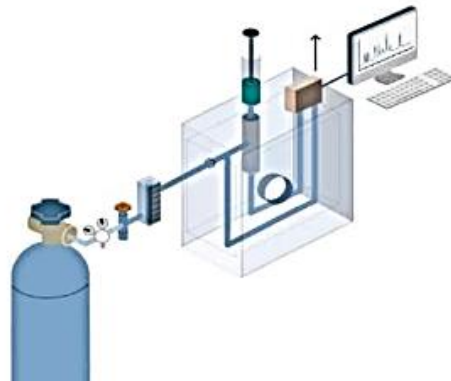


Gambar 2. 13 Prinsip Spektrofotometer UV-Vis *Double-Beam* (Tati, 2017)

2.10 Karakterisasi Senyawa Menggunakan Instrumen GC-MS

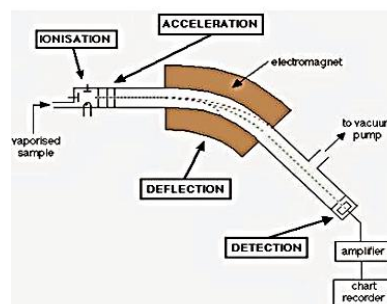
Ekstraksi yang dilakukan pada tumbuhan bertujuan untuk mengeluarkan senyawa metabolit sekunder dalam tumbuhan yang memiliki aktivitas farmakologi yang bermacam-macam, salah satu instrumen yang digunakan untuk menganalisis senyawa-senyawa yang terdapat didalamnya adalah kromatografi gas. Kromatografi gas atau dalam bahasa Inggris disebut *Gas Chromatography* (GC) merupakan penemuan ahli botani Rusia-Italia yang

bernama Mikhail Semyonovich Tsvet, teknik pemisahan yang digunakan dalam instrumen ini adalah dengan pemisahan campuran komponen kimia yang mudah menguap dalam fase gas dan dianalisis ada tidaknya komponen-komponen kimia dan menentukan kadar komponen-komponen kimia yang terdeteksi (Willian and Pardi, 2022).



Gambar 2. 14 Prinsip Kerja *Gas Chromatography*
(Willian and Pardi, 2022)

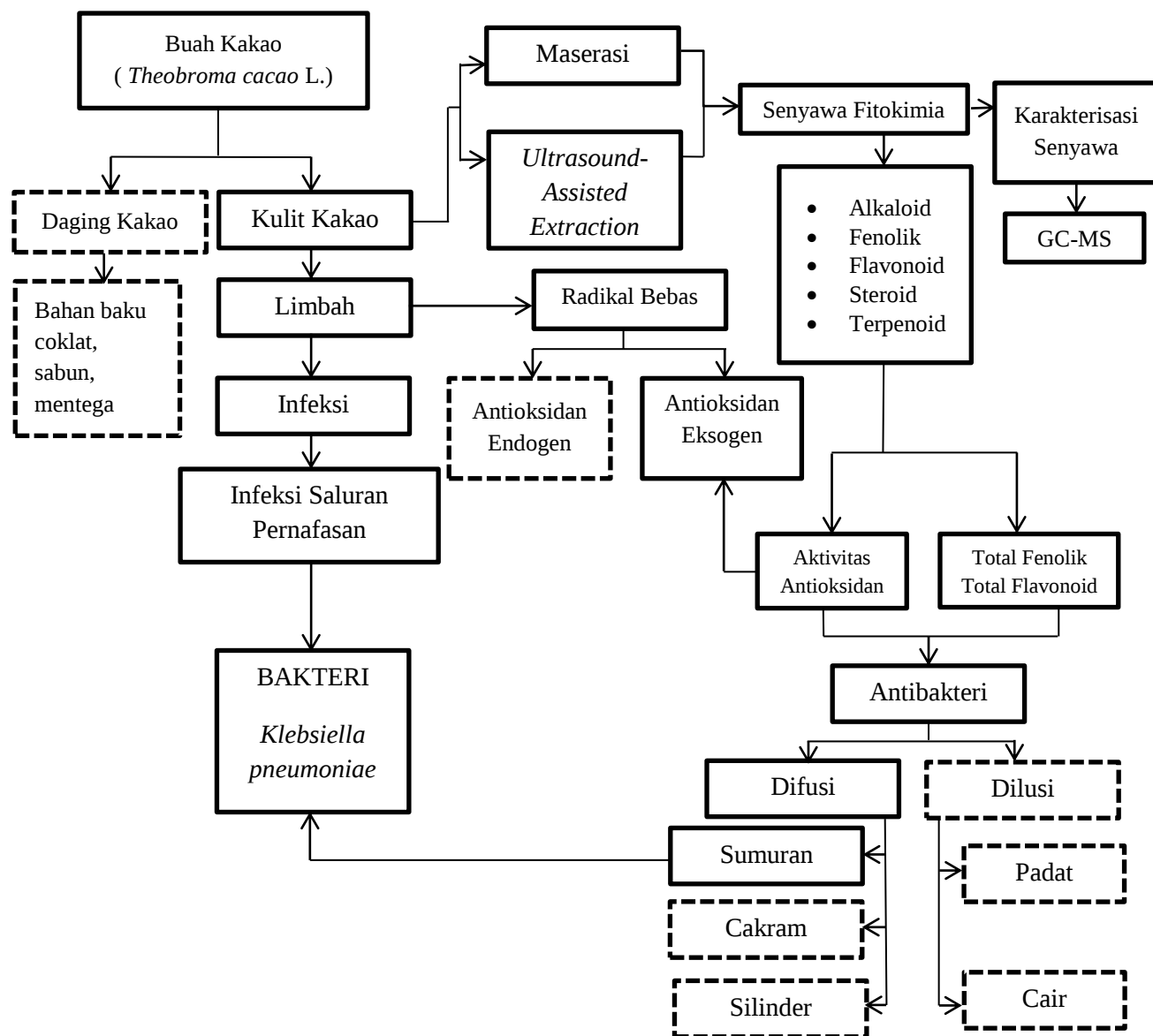
Pembacaan menggunakan *mass spectrometry* (MS) melalui beberapa tahapan. Tahapan pertama adalah mengionisasi bahan yang akan dianalisis dalam ruang ionisasi yang telah diisi dengan nebulator, tahap kedua yaitu *mass analyser* yang bertugas untuk memisahkan ion-ion berdasarkan muatannya lalu molekul ion dipecahkan berdasarkan kerangka karbon yang diikat dan molekul yang ada dalam molekul. Tahap selanjutnya adalah detektor ion yaitu ketika ion beruatan menyambar permukaan membran detektor lalu dikonversi dalam sistem data dan dikombinasikan untuk membaca berat molekul ion-ion yang telah diuji, namun ion-ion yang berumur pendek tidak dapat terbaca dan hanya fragmentasinya yang menunjukan puncak pada pembacaan (Kade *et al.*, 2019; Tati, 2017).



Gambar 2. 15 Prinsip Kerja *Mass Spectrometry*
(Tati, 2017)

2.11 Kerangka Penelitian

2.11.1 Kerangka Teori



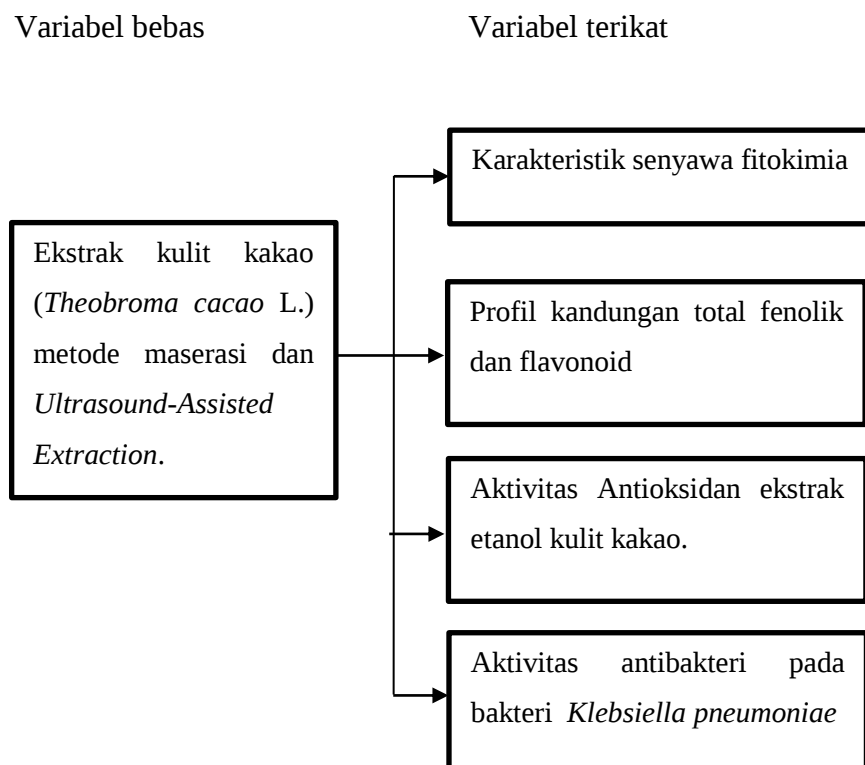
Keterangan :

: Diteliti

: Tidak diteliti

Gambar 3. 1 Kerangka Teori Penelitian (Ghanimi *et al.*, 2022; Lestari and Asri, 2021; Purwanti *et al.*, 2023)

2.11.2 Kerangka Konsep



Gambar 3. 2 Kerangka Konsep

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dalam skala laboratorium. Penelitian ini dilakukan dengan mengekstraksi kulit kakao (*Theobroma cacao* L.) menggunakan dua metode ekstraksi berbeda yaitu maserasi dan *Ultrasonic-Assisted Extraction* yang keduanya dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan. Pelarut yang digunakan adalah etanol 96%. Ekstrak yang didapatkan kemudian di uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH, aktivitas antibakteri pada bakteri *Klebsiella pneumonia* dengan metode sumuran, dan karakterisasi dengan instrumen GC-MS.

3.2 Tempat Dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

Tempat dilakukan penelitian ini adalah :

1. Laboratorium Analisis Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung
2. Laboratorium Botani, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung
3. Laboratorium Kesehatan Daerah Provinsi Lampung
4. Invilab Biosains Indonesia, Bogor

3.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan September 2025- Desember 2025

3.3 Identitas Variabel

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah metode ekstraksi ekstrak etanol kulit kakao (*Theobroma cacao* L.).

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah karakterisasi senyawa, total fenolik, total flavonoid, aktivitas antioksidan dan aktivitas antibakteri ekstrak etanol kulit kakao (*Theobroma cacao* L.).

3.4 Alat Dan Bahan

3.4.1 Alat

Alat yang dilakukan dalam penelitian ini adalah labu erlenmeyer, batang pengaduk, spatula besi, corong kaca (IWAKI[®]), *aluminium foil*, *plastic wrap*, kertas perkamen, cawan porselen, penjepit kayu, pipet tetes, mikro pipet (DLAB[®]), neraca analitik (BEL Engineering[®]), kertas saring, tabung reaksi, labu ukur, *beaker glass*, gelas ukur, pipet volume, *bulb filler*, *waterbath* (IKA[®]), *ultrasonic bath* (OVAN[®]), rotary evaporator (Rotavapor R-100 BUCHI[®]), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu[®] UV-1900i), GC-MS (Perkin Elmer[®] Clarus 500–Clarus SQ 8S), dan Kuvet (Shimadzu[®]).

3.4.2 Bahan

Etanol 96%, Simplisia kulit kakao (*Theobroma cacao* L.), HCL 2 N (SMART-LAB[®]), H₂SO₄ p.a (Supelco[®]), reagen *Dragendroff*, Media Kultur, Bakteri *Klebsiella Pneumonia*, Sebuk DPPH (sigma), Reagen Iodin, Reagen Mayer, FeCl₃ 10%.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah tumbuhan kakao yang didapatkan dari Kecamatan Adiluwih, Kabupaten Pringsewu. Bagian

tumbuhan yang diambil berupa kulit kakao yang masih utuh dan segar berwarna hijau, kuning kecoklatan, hingga merah.

3.5.2 Uji Determinasi Tanaman

Uji determinasi kulit kakao bertujuan untuk memastikan secara ilmiah bahwa sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar tumbuhan kakao. Uji determinasi dilakukan di Laboratorium Botani Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

3.5.3 Preparasi Simplisia

Pengumpulan kulit kakao yang telah diambil lalu dipisahkan dari bagian tumbuhan yang tidak digunakan. Bagian yang digunakan adalah kulit kakao yang masih segar dan tidak rusak. Setelah dipisahkan kulit yang akan digunakan dicuci terlebih dahulu sampai bersih dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran, debu, serangga, dan tanah. Kulit kakao selanjutnya dikeringkan di tempat yang kering dan teduh sesudah dikeringkan kulit coklat dihaluskan dengan blender sampai simplisia kulit coklat berbentuk serbuk halus.

3.5.4 Ekstraksi Metode Maserasi

Proses ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol 96% dengan rasio sampel pelarut sebesar 1:10 lalu dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer dan diaduk tiap 6 jam agar proses ekstraksi berjalan maksimal. Proses ekstraksi ini berlangsung selama 72 jam dilakukan pergantian pelarut tiap 24 jam sekali. Ekstrak cair yang telah didapatkan kemudian disaring menggunakan kertas saring lalu dipekatkan menggunakan rotary evaporator dengan suhu 50°C dengan tekanan 175 mbar dan kecepatan 80 rpm untuk mendapatkan ekstrak kental (Aprila Fajrin *et al.*, 2024).

3.5.5 Ekstraksi Metode *Ultrasonic-Assisted Extraction*

Proses ekstraksi dengan metode *Ultrasound-Assisted Extraction* dilakukan dengan memasukan sebanyak 25 gram serbuk simplisia ke labu erlenmeyer lalu dimasukan pelarut etanol 96% dengan menggunakan rasio

sampel pelarut sebesar 1:10. Ekstraksi berlangsung selama 30 menit dengan suhu 55°C (Md Yusof *et al.*, 2019). Setelah ekstraksi selesai ekstrak disaring dengan kertas saring lalu dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 50°C dengan tekanan 175 mbar dan kecepatan 80 rpm untuk mendapatkan ekstrak kental. Ekstraksi dengan metode ini dilakukan sebanyak 3 kali (Oñate-Gutiérrez *et al.*, 2023).

3.5.6 Penapisan Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Kakao

3.5.6.1 Uji Alkaloid

Uji *Dragendorff* untuk menguji adanya senyawa alkaloid pada ekstrak dilakukan dengan cara mencampurkan 1-2 mL reagen *Dragendorff* pada beberapa mL larutan ekstrak, hasil positif apabila terdapat endapan merah kecoklatan (Harbone JB, 1998).

3.5.6.2 Uji Fenolik

Uji untuk menentukan adanya senyawa fenolik pada ekstrak adalah dengan cara menambahkan beberapa tetes larutan iodine pada 1 mL larutan ekstrak, hasil positif apabila terdapat perubahan warna menjadi merah sementara (Harbone JB, 1998).

3.5.6.3 Uji Flavonoid

Uji Shinoda dilakukan untuk menguji adanya senyawa flavonoid pada ekstrak, uji ini dilakukan dengan cara melarutkan ekstrak kental pada 5 mL etanol lalu ditambahkan serbuk pita magnesium 200 mg dan diberikan beberapa tetes HCl pekat. Hasil positif apabila terdapat perubahan warna menjadi berwarna kuning, merah dan jingga. Selain itu bisa dengan cara menambahkan beberapa tetes H₂SO₄ pekat ke dalam 0,1 gram ekstrak kental, hasil positif apabila terdapat perubahan warna menjadi oranye (Harbone JB, 1998).

3.5.6.4 Uji Saponin

Uji saponin dilakukan dengan cara melarutkan ekstrak dalam 2 mL etanol lalu ditambahkan aquades secukupnya setelah itu dikocok, hasil positif apabila terdapat buih pada bagian atas larutan (Harbone JB, 1998).

3.5.6.5 Uji Tanin

Uji Braymer dilakukan untuk menentukan kandungan tanin pada ekstrak uji ini dilakukan dengan cara 1 mL larutan ekstrak ditambahkan 3 mL aquadest lalu ditambahkan 3 tetes larutan FeCl_3 10%. Hasil positif apabila terdapat perubahan warna menjadi biru kehijauan (Harbone JB, 1998).

3.5.6.6 Uji Steroid dan Terpenoid

Uji Salkowski dilakukan dengan cara melarutkan ekstrak kental dalam 5 mL aquadest lalu ditambahkan 2 mL kloroform setelah itu ditambahkan beberapa mL H_2SO_4 pekat, hasil positif apabila terdapat larutan berwarna merah muda atau merah pada bagian bawah (Harbone JB, 1998).

3.5.7 Karakterisasi Dengan Instrumen GC-MS

Instrumen terlebih dahulu dikonfigurasi menggunakan *Gas Chromatography–Mass Spectrometry* dengan *Gas Chromatography* Perkin Elmer Clarus 500 yang terhubung dengan *Mass Spectrometer* Perkin Elmer Clarus SQ 8S. Analisis dilakukan menggunakan kolom kapiler Elite-5ms ($30 \text{ m} \times 0,25 \text{ mm I.D.} \times 0,25 \mu\text{m}$) dengan gas helium sebagai gas pembawa. Proses ionisasi dilakukan dengan metode *electron ionization* pada energi 70 eV dan pemindaian massa pada rentang 40–450 Da. Injeksi sampel dilakukan sebanyak 1 μL menggunakan mode split 10:1 dengan suhu injektor 250°C dan waktu *solvent delay* selama 2 menit. Kondisi oven diatur dengan suhu awal 110°C yang ditahan selama 2 menit, kemudian dinaikkan dengan laju $10^\circ\text{C}/\text{menit}$ hingga mencapai 200°C , dan selanjutnya dinaikkan kembali dengan laju $5^\circ\text{C}/\text{menit}$ hingga mencapai 280°C dengan waktu tahan selama 9 menit. Ekstrak kental kemudian diinjeksi ke dalam instrumen dan senyawa diidentifikasi berdasarkan perbandingan spektra massa. Selanjutnya, komposisi senyawa dibaca melalui spektra massa dan data hasil analisis ditampilkan secara deskriptif dalam bentuk tabel (Simanjuntak *et al.*, 2021).

3.5.8 Total Fenolik

3.5.8.1.1 Larutan Na_2CO_3

Sebanyak 7,5 gram Na_2CO_3 dilarutkan dalam 80 mL aquadest kemudian dididihkan sampai serbuk Na_2CO_3 larut sempurna, setelah serbuk larut sempurna didiamkan selama 24 jam lalu disaring dan diencerkan dengan aquadest dalam labu ukur 100 mL dan dicukupkan sampai tanda batas. (Pramiastuti *et al.*, 2018).

3.5.8.1.2 Larutan Induk Asam Galat

Sebanyak 10 mg asam galat dilarutkan dengan metanol p.a.dalam labu ukur 100 mL dicukupkan sampai tanda batas dan diaduk sampai homogen. Lalu dibuat larutan seri konsentrasi 5, 25, 15, 20, 25 ppm dalam labu ukur 10 mL dengan metanol p.a sampai tanda batas (Belew *et al.*, 2025).

3.5.8.1.3 Larutan Uji

Sebanyak 10 mg ekstrak dilarutkan dalam 100 mL metanol p.a. dalam labu ukur 100 mL dicukupkan sampai tanda batas lalu diaduk hingga homogen. Setelah itu dibuat larutan seri konsentrasi 20, 25, 30, 35, 40 ppm dalam labu ukur 10 mL dengan metanol p.a. sampai tanda batas (Pramiastuti *et al.*, 2018).

3.5.8.2 Uji Total Fenolik

3.5.8.2.1 Pembuatan Kurva Baku Asam Galat

Pertama dibuat seri konsentrasi asam galat dipipet sebanyak 0,2 mL dimasukkan ke tabung reaksi , kemudian ditambahkan reagen *Folin-Ciocalteu* sebanyak 0,2 mL dan digojog lalu diinkubasi selama 5 menit. Setelah itu tiap tabung reaksi ditetaskan sebanyak 1 mL Na_2CO_3 7,5% lalu tabung reaksi diinkubasi 90 menit. Selanjutnya diukur absorbansi tiap konsentrasi menggunakan instrumen spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 760 nm dan replikasi sebanyak 3 kali (Belew *et al.*, 2025).

3.5.8.2.2 Penetapan Kadar Total Fenolik

Sebanyak 0,2 mL larutan ekstrak yang telah dibuat seri konsentrasi dipipet ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan reagen *Folin-Ciocalteu* dan digojog setelah itu diinkubasi selama 5 menit. Selanjutnya tabung reaksi ditambahkan 1 mL Na_2CO_3 7,5 % dan diinkubasi selama 90 menit. Setelah diinkubasi diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 760 nm dan replikasi sebanyak 3 kali (Belew *et al.*, 2025).

3.5.9 Total Flavonoid

3.5.9.1 Larutan Standar

Larutan standar dibuat dengan melarutkan kuersetin 10 mg dalam labu ukur 10 mL dengan metanol p.a. dicukupkan sampai tanda batas. Lalu buat seri konsentrasi kuersetin 60, 70, 80, 90, 100 ppm (Elvansi *and* Rissa Laila, 2022).

3.5.9.2 Larutan Uji

Larutan uji dibuat konsentrasi 1000 ppm dengan menimbang 100 mg ekstrak kental lalu di labu ukur 100 mL dengan metanol p.a. dan dicukupkan sampai tanda batas. Lalu dibuat seri konsentrasi 20, 25, 30, 35, 40 ppm (Hadi *and* Subekti, 2023).

3.5.9.3 Uji Total Flavonoid

Dipipet 0,5 mL larutan standar kuersetin lalu diikuti 0,5 mL larutan AlCl_3 10% dan 4 mL asam asetat glasial 5% dalam tabung reaksi lalu diinkubasi selama 60 menit setelah itu diukur serapannya dan dibuat kurva baku dengan rumus berikut. Lakukan perlakuan yang sama terhadap sampel lalu dihitung total flavonoidnya dengan rumus berikut.

$$\text{Kadar Flavonoid} = \frac{C \times V \times Fp}{M}$$

Dimana C adalah konsentrasi kuersetin (mg/L), V adalah volume sampel (liter), dan M adalah berat sampel (gram). Kandungan flavonoid total dinyatakan dengan satuan (mg QE/g) (Elvansi *and* Rissa Laila, 2022; Hadi *and* Subekti, 2023).

3.5.10 Uji Antioksidan

3.5.10.1 Pembuatan Larutan DPPH

Serbuk DPPH sebanyak 15,77 mg dilarutkan dengan metanol dalam labu ukur 100 mL, lalu digojog hingga homogen dan diletakan di tempat yang terlindung dari cahaya. (Konda *et al.*, 2020).

3.5.10.2 Preparasi Sampel

Sebanyak 0.1 g ekstrak kental diencerkan dengan 100 mL metanol pro analisis untuk membuat larutan baku ekstrak 1000 ppm lalu dibuat larutan seri 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, 250 ppm, 300 ppm. Diambil larutan sampel pada setiap konsentrasi sebanyak 1 mL ditambahkan metanol pro analisis 1 mL dan larutan DPPH sebanyak 2 mL dalam tabung reaksi sehingga larutan menjadi 4 mL yang ditutup dengan alumunium foil. Setelah diinkubasi selama 30 menit masing-masing diuji pada panjang gelombang 517 nm lalu direplikasi sebanyak 3x (Konda *et al.*, 2020).

3.5.10.3 Preparasi Pembanding

Dibuat larutan stok asam askorbat 1000 ppm dengan menimbang 100 mg asam askorbat dilarutkan dalam 100 mL methanol p.a sambil diaduk dan dihomogenkan dalam labu ukur 100 mL. Selanjutnya dibuat variasi konsentrasi 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, 250 ppm, dan 300 ppm. Diambil larutan pembanding pada setiap konsentrasi sebanyak 1 mL ditambahkan metanol p.a. sebanyak 1 mL dan larutan DPPH sebanyak 2 mL dalam tabung reaksi sehingga larutan menjadi 4 mL yang ditutup dengan alumunium foil. Setelah diinkubasi selama 30 menit masing-masing diuji pada panjang gelombang 517 nm lalu direplikasi sebanyak 3x (Rachmawati *et al.*, 2023).

3.5.10.4 Analisis Data

Hasil absorbansi dihitung dengan metode IC_{50} , yaitu dengan menghitung % inhibisi menggunakan persamaan berikut ini lalu dihitung regresi linearnya. Dimana sumbu X sebagai konsentrasi larutan sampel uji ekstrak etanol dan sumbu Y sebagai % inhibisi (Hadi *and* Subekti, 2023).

$$\% inhibition = \frac{A \text{ blanko} - A \text{ sampel}}{A \text{ blanko}} \times 100\%$$

3.5.11 Uji Antibakteri

3.5.11.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam uji antibakteri disterilisasi dalam autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 2 atm. Alat logam disterilkan dengan cara dipanaskan diatas bunsen menyala. Sterilisasi alat-alat dari gelas dengan menggunakan oven dengan suhu 175°C selama 1,5 jam (Rahmawati *et al.*, 2025; Zainab *et al.*, 2022).

3.5.11.2 Pembuatan Media *Mueller Hinton Agar* (MHA)

Sebanyak 3,8 gram *Mueller Hinton Agar* (MHA) ditambahkan aquadest sebanyak 100 mL dilalutkan dalam erlenmeyer dipanaskan menggunakan *hotplate* dan diaduk kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 15°C selama 15 menit. (Rahmawati *et al.*, 2025).

3.5.11.3 Pembuatan Suspensi Bakteri

Bakteri *klebsiella penumoniae* dibuat suspensi dengan menambahkan media *Nutrient Broth* (NB) ke dalam tabung reaksi dan distandarisasi dengan standar *McFarland* 0,5. Bakteri diambil sebanyak 1 ose dari media *Nutrient Agar* yang telah diinkubasi selama 24 jam (Rahmawati *et al.*, 2025; Wulandari *and* Asih, 2017).

3.5.11.4 Pembuatan Kontrol Positif dan Negatif

Kontrol positif dibuat dari sediaan tablet ciprofloxacin 500 mg. Ditimbang 10 tablet dan dihitung berat per tablet lalu digerus dan ditimbang setarakan dengan 50 mg. Kemudian serbuk ciprofloxacin

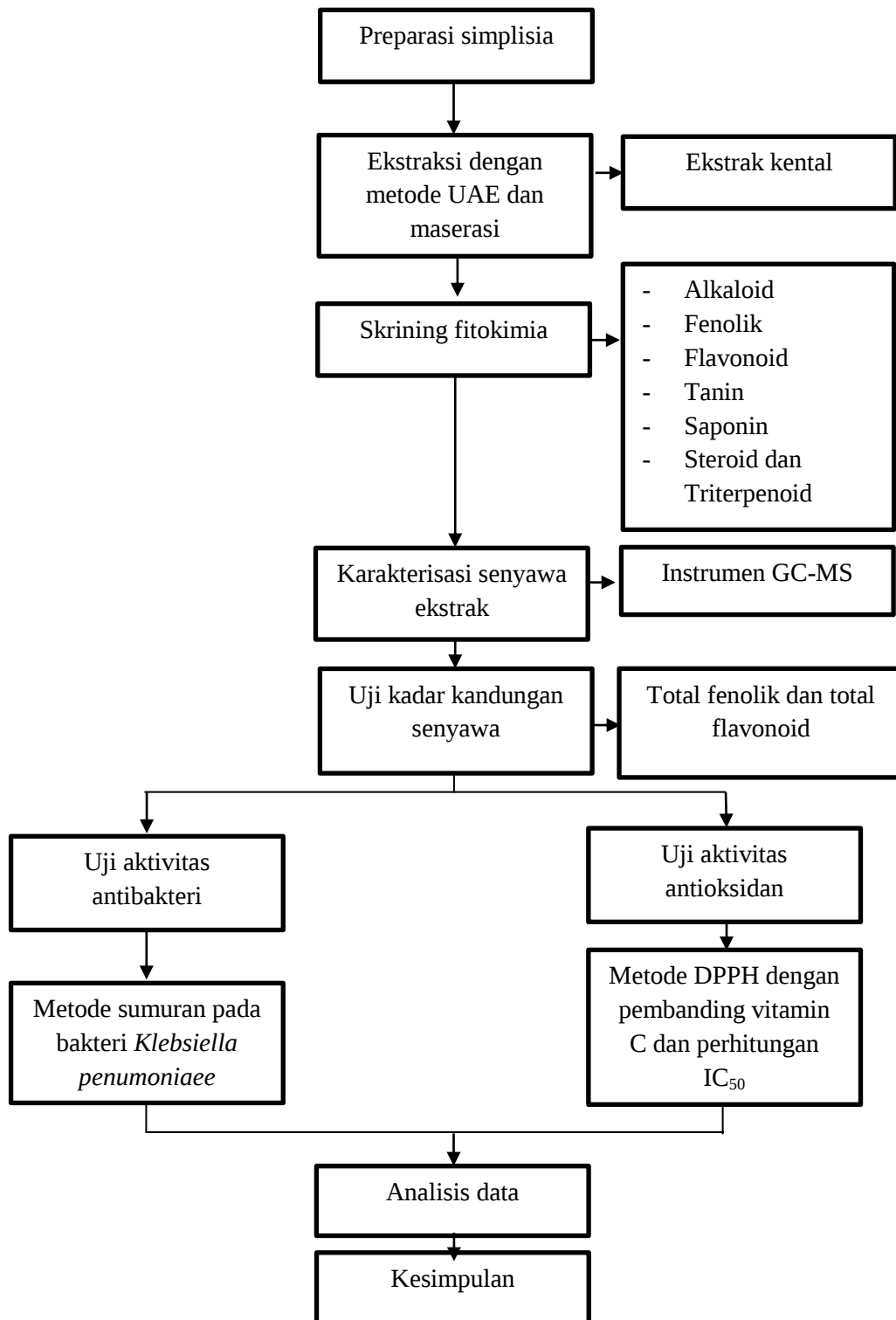
dilarutkan dengan DMSO dalam labu ukur 50 mL. Kontrol negatif digunakan DMSO yang diencerkan dengan aquades sampai konsentrasi 10% (Nurhamidin *et al.*, 2021; Wulandari *and* Asih, 2017).

3.5.11.5 Pengujian Aktivitas Antibakteri

Setiap *plate* terdiri dari empat buah sumuran yang diisi dengan kontrol positif (ciprofloxacin 0,2%), kontrol negatif (DMSO 10%) dan ekstrak kulit kakao konsentrasi 10%, 20%, 30% dan 100%. Selanjutnya, cawan petri disimpan di dalam inkubator (37°C; 24 jam). Setelah 24 jam, dihitung diameter daya hambat menggunakan jangka sorong (Kurama *et al.*, 2020).

3.6 Alur Penelitian

Penelitian dilakukan berdasarkan alur yang sudah tertata seperti dibawah ini. Adanya kerangka penelitian di bawah membantu dan mengarahkan peneliti untuk mengerjakan penelitian, dimulai dari proses pengambilan sampel kulit kakao hingga pengujian aktivitas antioksidan, antibakteri, dan karakteristik senyawa dengan GC-MS, terakhir dilakukan analisis data



Gambar 3. 3 Kerangka Alur Penelitian

3.7 Pengolahan dan Analisis Data

Penelitian ini menggunakan beberapa uji statistik untuk menganalisis perbandingan karakteristik senyawa, kadar total fenolik, kadar total flavonoid, aktivitas antioksidan, dan aktivitas antibakteri ekstrak kulit kakao metode maserasi dan *Ultrasonic-Assisted Extraction*. Prosedur analisis dimulai dengan uji normalitas data masing-masing variabel menggunakan uji *Shapiro-Wilk*. Data yang berdistribusi normal ($p\text{-value} > 0,05$) menandakan data mengikuti distribusi normal sehingga uji parametrik dapat diterapkan.

Jika data berdistribusi normal ($p\text{-value} > 0,05$), perbandingan dua metode ekstraksi dilakukan dengan uji *Independent t-test* untuk menguji perbedaan rata-rata masing-masing variabel. Uji ini memiliki syarat $p\text{-value} < 0,05$ untuk menandakan perbedaan yang signifikan secara statistik antar dua metode ekstraksi. Sebaliknya, apabila data tidak berdistribusi normal ($p\text{-value} < 0,05$), maka uji non-parametrik *Mann-Whitney U* dipilih sebagai alternatif. Uji ini tidak mensyaratkan normalitas dan hasil signifikan ditandai dengan $p\text{-value} < 0,05$.

\

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

1. Karakterisasi senyawa (GC–MS)

Metode *Ultrasound-Assisted Extraction* menghasilkan 26 senyawa, sedangkan metode maserasi menghasilkan 58 senyawa, menunjukkan bahwa maserasi memberikan keragaman senyawa yang lebih tinggi.

2. Uji aktivitas antioksidan

Ekstrak *Ultrasound-Assisted Extraction* memiliki nilai IC_{50} 665,133 $\mu\text{g/mL}$ (kategori sangat lemah), sedangkan maserasi 476,681 $\mu\text{g/mL}$ (kategori sangat lemah).

3. Uji aktivitas antibakteri

Aktivitas tertinggi *Ultrasound-Assisted Extraction* diperoleh pada konsentrasi 30% dengan zona hambat $1,55 \pm 0,15$ mm (kategori lemah), sedangkan maserasi pada konsentrasi 100% sebesar $0,75 \pm 0,327$ mm (kategori lemah).

4. Uji total fenolik dan total flavonoid

Metode maserasi menghasilkan total fenolik 13,20 mg GAE/g dan total flavonoid 70,855 mg QE/g, lebih tinggi dibandingkan metode *Ultrasound-Assisted Extraction* dengan total fenolik 5,60 mg GAE/g dan total flavonoid 54,116 mg QE/g.

5. Perbandingan keseluruhan metode ekstraksi

Terdapat perbedaan signifikan pada hasil karakterisasi senyawa GC–MS serta kadar total fenolik dan total flavonoid, namun tidak terdapat perbedaan signifikan terhadap aktivitas antioksidan dan antibakteri antara metode maserasi dan *Ultrasound-Assisted Extraction*.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka penulis menyarankan:

1. Perlu dilakukan uji aktivitas antioksidan dan antibakteri dengan metode yang berbeda untuk melihat pengaruh perbedaan metode uji aktivitasnya.
2. Perlu dilakukan ekstraksi bertingkat salah satunya dmenggunakan pelarut n-heksan untuk untuk menghilangkan senyawa non polar dan metabolisme primer seperti gula atau asam lemak agar hasil senyawa yang didapatkan lebih selektif.
3. Perlu digunakan metode ekstraksi lain seperti sokhletasi atau *Hot Extraction* untuk eksplorasi metode yang lebih cocok dengan simplisia kulit coklat.
4. Perlu dilakukan *Docking* senyawa untuk menentukan aktivitas farmakologis senyawa yang telah didapatkan dari GC-MS.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, R., Chakkour, M., Zein El Dine, H., Obaseki, E.F., Obeid, S.T., Jezzini, A., Ghssein, G., Ezzeddine, Z., 2024. General Overview of *Klebsiella pneumoniae*: Epidemiology *and* the Role of Siderophores in Its Pathogenicity. *Biology* 13. <https://doi.org/10.3390/biology13020078>
- Aboagye, D., Quaye, K.O., Akambase, E., Bandoh, C.O., Issaka, S.S., Azaanang, H.C.S., Owusu-agyare, S., Akakpo, J.Y., This, C., Dickson, A., Quaye, K.O., Akambase, E., Bandoh, C.O., 2024. Cholesterol Estimation in Edible Oils on the Ghanaian Market. *American Journal of Food Science and Technology* 12, 77–81. <https://doi.org/10.12691/ajfst-12-3-1>
- Achou, C.G., Díez, M.J.C., Cano, J.D., 2025. Evaluation of Different Nutritional Sources in Lactic Acid Bacteria Fermentation for Sustainable Postbiotic Production. *Foods* 14, 1–17.
- Adha, S.D., Ibrahim, M., 2021. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes*. *LenteraBio : Berkala Ilmiah Biologi* 10, 140–145. <https://doi.org/10.26740/lenterabio.v10n2.p140-145>
- Ahmad, J., Bagheri, R., Bashir, H., Baig, M.A., Al-huqail, A., Ibrahim, M.M., Qureshi, M.I., 2018. Organ-Specific Phytochemical Profiling and Antioxidant Analysis of *Parthenium hysterophorus* L . 2018, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2018/9535232>
- Ahyani, I.N., Mahbub, F., Trifena, A., Kanlung, P., Kusumaningtyas, F.A., 2025. Penetapan Kadar Flavonoid Total dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Coklat dengan Metode DPPH dan FRAP. *Majalah Farmaseutik* 21, 213–220.
- Amalia, R., Anggarani, M.A., 2022. Bawang Bombai (*Allium Cepa* L .) Analysis

- Of Phenolic , Flavonoid Content And Antioxidant Activities Of Onion Bulb (*Allium Cepa* L .). *UNESA Journal of Chemistry* Vol. 11, 34–45.
- Amin, I.I., Azis, H.A., Mulyani, A.S., 2025. Extraction of Polyphenols Cocoa Fruit Skin with The Soxhletation. *JURNAL SAINS DAN TEKNOLOGI* 5, 24–34.
- Ananta, D.A., Ganda Putra, G.P., Arnata, I.W., 2021. Pengaruh Suhu Dan Waktu Maserasi Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.). *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri* 9, 186. <https://doi.org/10.24843/jrma.2021.v09.i02.p04>
- Andriani, M., Permana, I.D.G.M., Widarta, I.W.R., 2019. Pengaruh Suhu Dan Waktu Ekstraksi Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi* L .) Terhadap Aktivitas Antioksidan Dengan Metode Ultrasonic Assisted Extraction (UAE). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan* 8, 330–340.
- Anggraini, W., Nisa, S.C., Da, R.R., Ma, B., 2019. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 96% Buah Blewah (*Cucumis melo* L. var. *cantalupensis*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. *PHARMACEUTICAL JOURNAL OF INDONESIA* 5, 61–66.
- Anggraito, Y.U., Susanti, R., Iswari, R.S., Yuniastuti, A., Lisdiana, WH, N., Habibah, N.A., Bintari, S.H., 2018. Metabolit Sekunder Dari Tanaman; Aplikasi Dan Produksi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang.
- Aprila Fajrin, F., Holiday, D., Nurhidayah, H., Suci Wulansari, P., Pudji Restanto, D., Azkiyah, L., Witono, Y., Satia Nugraha, A., 2024. The ethanol extract of cocoa pod husk minimizes hyperalgesia and blood glucose levels in diabetic neuropathy model through transient receptor protein vanilloid (TRPV)-1. *Saudi Pharmaceutical Journal* 32, 102097. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2024.102097>
- Azevedo, L.S., Gonçalves, T.P.R., Coimbra, M.C., Siqueira, E.P. De, Alves, N., Luciana, A.R., Lima, S., 2024. Larvicidal potential of ether extract , and its derivatives fatty acids , and fatty acid methyl esters from *Tecoma stans* seeds : Bioprospecting for an effective insecticide 10, 1–5.
- Azzahra, S., 2023. Isolasi dan identifikasi senyawa golongan flavonoid dari

- kelopak bunga rosella (*Hibiscus Sabdariffa*, Linn) menggunakan metode sonikasi. *Maliki Interdisciplinary Journal (MIJ)* eISSN 1, 237–249.
- Belew, A.A., Hanan, G.G.M.W., Meshesha, D.S., Akele, M.L., 2025. Evaluation of total phenolic, flavonoid contents, antioxidant and antibacterial activity of leaf extracts from *Rhus vulgaris*. *Discover Plants* 2. <https://doi.org/10.1007/s44372-025-00222-3>
- Benítez-Correa, E., Bastías-Montes, J.M., Acuña-Nelson, S., Muñoz-Fariña, O., 2023. Effect of choline chloride-based deep eutectic solvents on polyphenols extraction from cocoa (*Theobroma cacao* L.) bean shells and antioxidant activity of extracts. *Current Research in Food Science* 7. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2023.100614>
- Benramdane, E., Chougui, N., Ramos, A.B., Makhoulfi, N., Tamendjari, A., Silvestre, A.J.D., Santos, S.A.O., 2022. Lipophilic Compounds and Antibacterial Activity of *Opuntia ficus-indica* Root Extracts from Algeria. *International Journal of Molecular Sciences* Article. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/ijms231911161>
- BPOM RI, 2023. Pedoman Penyiapan Bahan Baku Obat Bahan Alam Berbasis Ekstrak / Fraksi. Badan Pengawas Obat dan Makanan RI 45.
- Davis, W.W., Stout, T.R., 1971. Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay. *Applied microbiology* 22, 659–665. <https://doi.org/https://doi.org/10.1128/am.22.4.659-665.1971>
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat.
- Dian Arista, S., Tukiran, 2017. UJI SKRINING FITOKIMIA EKSTRAK METANOL KULIT BATANG TUMBUHAN KLAMPOK WATU (*Syzygium litorale*) PHYTOCHEMICAL SCREENING ON METHANOL EKSTRAK FROM STEAM BARK KLAMPOK WATU (*Syzygium litorale*) Dian Arista Setiabudi * and Tukiran Departement of Chemistry , F. UNESA Journal of Chemistry 6.
- Dong, N., Yang, X., Chan, E.W.C., Zhang, R., Chen, S., 2022. *Klebsiella* species: Taxonomy, hypervirulence and multidrug resistance. *eBioMedicine* 79, 103998. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2022.103998>

- Durrani, F., Phelps, D.S., Weisz, J., Silveyra, P., Hu, S., Mikerov, A.N., Floros, J., 2012. Gonadal hormones and oxidative stress interaction differentially affects survival of male and female mice after lung *Klebsiella Pneumoniae* infection. *Experimental Lung Research* 38, 165–172. <https://doi.org/10.3109/01902148.2011.654045>
- Eloff, J.N., 2019. Avoiding pitfalls in determining antimicrobial activity of plant extracts and publishing the results. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 3, 1–8.
- Elvansi, M., Rissa Laila, V., 2022. Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Rambai Laut Dengan Variasi Pelarut Ekstraksi (*Sonneratia caseolaris* L.). *Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product* 05.
- Endrini, S., Rahmat, A., Ismail, P., 2014. Cytotoxic effect of γ -sitosterol from *Kejibeling* (*Strobilanthes crispus*) and its mechanism of action towards c-myc gene expression and apoptotic pathway 0–5.
- Fakriah., Eka Kurniasih, Adriana, Rusydi, 2019. Sosialisasi Bahaya Radikal Bebas Dan Fungsi Antioksidan Alami Bagi Kesehatan. *Jurnal Vokasi* 3, 1–7.
- Farhanandi, B.W., Indah, N.K., 2022. Karakteristik Morfologi dan Anatomi Tanaman Kakao (*Theobroma cacao* L.) yang Tumbuh pada Ketinggian Berbeda. *LenteraBio : Berkala Ilmiah Biologi* 11, 310–325. <https://doi.org/10.26740/lenterabio.v11n2.p310-325>
- Farooq, M., Abutaha, N., Mahboob, S., Baabbad, A., Almoutiri, N.D., Ahmed, M., Wadaan, A.M., 2020. Saudi Journal of Biological Sciences Investigating the antiangiogenic potential of *Rumex vesicarius* (*humeidh*), anticancer activity in cancer cell lines and assessment of developmental toxicity in zebrafish embryos. *Saudi Journal of Biological Sciences* 27, 611–622. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.11.042>
- Firdausia, R.S., Pratama, N.P., Kurniawati, E., Ervany, I., Irawan, D., 2025. Optimasi Waktu Ekstraksi Dengan Metode Ultrasound Assisted Extraction (UAE) Terhadap Kandungan Senyawa Flavonoid dan Fenolik Daun Kayu Bulan (*Pisonia alba* Span). *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia* 11, 274–280.
- Fridayanthi, P.U., Wijaya, M.D., Putu, D., Udiyani, C., 2025. Phytochemicals and

- Antibacterial Activity of *Impatiens balsamina* L . Leaf Extracts Against Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria. *Biology, Medicine, & Natural Product Chemistry* 14, 327–335. <https://doi.org/10.14421/biomedich.2025.141.327-335>
- Ge, Y., Li, D., Wang, N., Shi, Y., Guo, G., Fang, L., Zou, Q., Liu, Q., 2024. Unveiling the fructose metabolism system in *Staphylococcus aureus*: insights into the regulatory role of FruR and the FruRKT operon in bacterial fitness. *BMC Microbiology* 24, 1–12.
- Ghanimi, R., Ouhammou, A., El Atki, Y., El Hassan Bouchari, M., Cherkaoui, M., 2022. The Antioxidant Activities of Ethanolic, Methanolic, Ethyl Acetate, and Aqueous Extracts of the Endemic Species, *Lavandula mairei* Humbert (A Comparative Study between Cold and Hot Extraction). *Ethiopian journal of health sciences* 32, 1231–1236. <https://doi.org/10.4314/ejhs.v32i6.21>
- Goud, B.J., Poornima, D., 2018. PRELIMINARY QUALITATIVE PHYTOCHEMICAL SCREENING AND FLUORESCENCE ANALYSIS OF METHANOLIC LEAF EXTRACT OF *ARTEMISIA ABSINTHIUM*. *European Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences* 5, 412–417.
- Guamán-balcázar, M.C., Hualpa, D., Infante, G., Luzuriaga, L., Riofrío, J.L., Jarro, A., Lopez, E., Salas-gomez, V., Salazar, R., Reyes, J.F., Meneses, M.A., 2025. Chemical Composition , Antioxidant and Antimicrobial Activity of *Piper carpunya* and *Simira ecuadorensis*: A Comparative Study of Four Extraction Methods. *Plants* 14, 1–25. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/plants14162526>
- Hadi, S., Subekti, A., 2023. Uji Antioksidan dan Penetapan Flavonoid (*Nephrolepis cordifolia* (L) C . Presl). *Indonesian Journal Of Chemical Analysis* 06, 1–9. <https://doi.org/10.20885/ijca.vol6.iss1.art1>
- Harbone JB, 1998. *Phytochemical methods a guide to modern techniques of plant analysis* (3rd ed.). Chapman & Hall. [https://doi.org/10.1016/0305-1978\(93\)90098-c](https://doi.org/10.1016/0305-1978(93)90098-c)
- Huda, N., Sindi, C., Amelia Kusmawan, Z., Sinaga, H., 2022. Formulasi Sediaan Krim Ekstrak Etanol Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.) Sebagai

- Antioksidan. Jurnal Biogenerasi 7, 163–170.
<https://doi.org/10.30605/biogenerasi.v7i1.1701>
- Ibrahim, N.H., Mahmud, M.S., Said, N., 2020. Microwave-assisted extraction of β -sitosterol from cocoa shell waste Microwave-assisted extraction of β - sitosterol from cocoa shell waste. IOP Conference Series: Materials Science and Engineering. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/991/1/012106>
- Inanda Khoidir, S., 2023. Karakteristik Fisik, Kimia dan Sensoris Biji Kakao Criollo, Forastero dan Trinitario: Review. Journal of Comprehensive Science (JCS) 2, 764–770. <https://doi.org/10.59188/jcs.v2i3.271>
- Intan Fadila, R., Iqbal, M., Triyandi, R., Dwi Rahayu, I., 2024. Analisis Aktivitas Antioksidan Pada Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) Dan Jahe Merah (*Zingiber officinale* var *Rubrum*): Kajian Mendalam. Medula 14, 719–724.
- Irvan, Putra B. Manday, Januar Sasmitra, 2015. Ekstraksi 1,8-Cineole Dari Minyak Daun Eucalyptus Urophylla Dengan Metode Soxhletasi. Jurnal Teknik Kimia USU 4, 52–57. <https://doi.org/10.32734/jtk.v4i3.1482>
- Julianto, T.S., 2019. Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining fitokimia, Jakarta penerbit buku kedokteran EGC.
- Kade, H., Yahdiana, H., Supandi, 2019. Liquid Chromatography Tandem-Mass Spectrometry (LC-MS/MS), 1st ed. PT. ISFI Penerbitan, Jakarta Barat.
- Kalasuba, K., Rahayuningsih, S.R., Amalia, E., Syaputri, Y., Doni, F., Rustama, M.M., 2025. Antibacterial Activities of Red Mangrove (*Rhizophora stylosa* Griff.) Leaf Extract against *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603. HAYATI Journal of Biosciences Journal of Bioscienc 32, 661–669. <https://doi.org/10.4308/hjb.32.3.661-669>
- Kamelia, M., Fathurohman, F., 2017. Pemanfaatan Kulit Buah Kakao Fermentasi Sebagai Alternatif Bahan Pakan Nabati Serta Pengaruhnya Terhadap Pertumbuhan Ternak Entok (*Cairina muschata*). Biosfer: Jurnal Tadris Biologi 8, 66–77. <https://doi.org/10.24042/biosf.v8i1.1264>
- Kesuma, Y., 2015. Antioksidan Alami dan Sintetik. Andalas University Press, Padang.

- Khairunnisa, A., Yuniarti, R., Dalimunthe, G.I., Rani, Z., 2025. Characterization, Screening, and Antibacterial Activity Assay of Ethanol Extract of Torch Ginger (*Etlingera elatior* (Jack) R.M.Sm) Flowers Against *Staphylococcus aureus*. *Jps* 8, 1033–1046.
- Konda, J.P., Siampa, J.P., Tallei, T.E., Kepel, B.J., Fatimawali, F., 2020. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Biji Langsung (*Lansium domesticum* var. *pubescens*) dan Duku (*Lansium domesticum* var. *domesticum*) dengan Metode DPPH. *Jurnal Ilmiah Sains* 20, 113. <https://doi.org/10.35799/jis.20.2.2020.28835>
- Korcowska-Łacka, I., Słowikowski, B., Piekut, T., Hurła, M., Banaszek, N., Szymanowicz, O., Jagodziński, P.P., Kozubski, W., Permoda-Pachuta, A., Dorszewska, J., 2023. Disorders of Endogenous and Exogenous Antioxidants in Neurological Diseases. *Antioxidants* 12. <https://doi.org/10.3390/antiox12101811>
- Kumowal, S., Fatimawali, Jayanto, I., 2019. Uji Aktivitas Antibakteri Nanopartikel Ekstrak Lengkuas Putih (*Alpinia Galanga* (L.) Willd) Terhadap Bakteri *Klebsiella Pneumoniae*. *PHARMACON* 8, 781–790.
- Kurama, G.M., Maarisit, W., Karundeng, E.Z., Potalangi, N.O., 2020. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Benalu Langsung (*Dendrophthoe* sp) Terhadap Bakteri *Klebsiella Pneumoniae*. *Biofarmasetikal Tropis* 3, 27–33. <https://doi.org/10.55724/j.biofar.trop.v3i2.281>
- Laude, S., Rahim, A., Kadir, S., Lamusa, A., Ismail, 2020. Pemberdayaan Masyarakat Dalam Pemanfaatan Limbah Dan Pengolahan Biji Kakao Di Desa Uenuni Kecamatan Palolo Kabupaten Sigi. *Jurnal Abditani* 3, 50–56. <https://doi.org/10.31970/abditani.v2i0.42>
- Lestari, H.D., Asri, M.T., 2021. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.) Terhadap *Staphylococcus epidermidis*. *LenteraBio : Berkala Ilmiah Biologi* 10, 302–308. <https://doi.org/10.26740/lenterabio.v10n3.p302-308>
- Liu, D., Chen, Z., Yuan, Y., Jing, H., Zou, J., Zhang, X., Zeng, X., Zhang, W., Zou, Q., Zhang, J., 2020. Innate Immune Effectors Play Essential Roles in Acute Respiratory Infection Caused by *Klebsiella pneumoniae*. *Journal of*

- Immunology Research 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/5291714>
- Md Yusof, A.H., Abd Gani, S.S., Zaidan, U.H., Halmi, M.I.E., Zainudin, B.H., 2019. Optimization of an Ultrasound-Assisted Extraction Condition for Flavonoid Compounds from Cocoa Shells (*Theobroma cacao*) Using Response Surface Methodology. *Molecules* (Basel, Switzerland) 24, 1–16. <https://doi.org/10.3390/molecules24040711>
- Minifie, B.W., 1999. *Chocolate, Cocoa, and Confectionery: Science and Technology* 3rd Edition, Food Chemistry. Van Nostrand Reinhold, New York. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(82\)90045-0](https://doi.org/10.1016/0308-8146(82)90045-0)
- Misna, Diana, K., 2016. Aktivitas Bakteri Ekstrak Kulit Bawang Merah (*Allium cepa* L .) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Antibacterial Activity Extract Of Garlic (*Allium cepa* L .) Skin Against *Staphylococcus aureus* 2.
- Mu'nisa, 2023. Antioksidan Pada Tanaman Dan Peranannya terhadap Penyakit Degeneratif. *Brilian Internasional Surabaya* 91–106.
- Nadeem, A., Ahmed, B., Shahzad, H., Craker, L.E., Muntean, T., 2021. *Verbascum Thapsus* (*Mullein*) Versatile Polarity Extracts : GC-MS Analysis , Phytochemical Profiling , Anti-bacterial Potential and Anti-oxidant Activity. *Pharmacognosy Journal* 13, 1488–1497. <https://doi.org/10.5530/pj.2021.13.189>
- Ngoc, V., Vu, H., Cao, T.Q., Thi, T., Nguyen, H., Thi, L., Nguyen, N., Le, P.H., Nguyen, V., 2025. Extraction of Bioactive Compounds from Cocoa Pod Husk (*Theobroma cacao* L .) Using Deep Eutectic Solvent Assisted with Ultrasound. *Natural Product Communications* 20. <https://doi.org/10.1177/1934578X251333026>
- Noviyanto, F., Kurnadi, R.L.S., Kholifah, E., Shobah, Afifah Nur Halimatusyadiah, L., 2024. Perbandingan Toksisitas Ekstrak Kulit Semangka (*Citrullus lanatus*) dan Ekstrak Kulit Melon (*Cucumis melo*) dengan Metode BSLT. *Jurnal Ilmiah Sains* 24, 99–109.
- Nugroho, A., 2017. *Buku Ajar: Teknologi Bahan Alam*, Lambung Mangkurat University Press.
- Nurhamidin, A.P.R., Fatimawali, F., Antasionasti, I., 2021. Uji Aktivitas

- Antibakteri Ekstrak N-Heksan Biji Buah Langsung (*Lansium domesticum* Corr) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* dan *Klebsiella Pneumoniae*. *Pharmakon* 10, 748. <https://doi.org/10.35799/pha.10.2021.32772>
- Oktoba, Z., Adjeng, A.N.T., Sangging, P.R.A., Irawan, A., 2023. Pemberdayaan Kelompok Tani dalam Pemanfaatan Kulit Buah Kakao (*Theobroma Cacao* L.) sebagai Produk Suplemen Antioksidan. *Wikrama Parahita: Jurnal Pengabdian Masyarakat* 7, 83–90. <https://doi.org/10.30656/jpmwp.v7i1.5480>
- Oñate-Gutiérrez, J.A., Díaz-Sánchez, L.M., Urbina, D.L., Pinzón, J.R., Blanco-Tirado, C., Combariza, M.Y., 2023. Exploring the chemical composition and coloring qualities of cacao fruit epicarp extracts. *RSC Advances* 13, 12712–12722. <https://doi.org/10.1039/d3ra01049j>
- Paczosa, M.K., Mecsas, J., 2016. *Klebsiella pneumoniae* : Going on the Offense with a Strong Defense. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 80. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00078-15>.Address
- Parbuntari, H., Prestica, Y., Gunawan, R., Nurman, M.N., Adella, F., 2018. Preliminary Phytochemical Screening (Qualitative Analysis) of Cacao Leaves (*Theobroma Cacao* L .). *EKSAKTA* 19.
- Pavlović, N., Jokić, S., Jakovljević, M., Blažić, M., Molnar, M., 2020. Green extraction methods for active compounds from food waste - Cocoa bean shell. *Foods* 9, 1–14. <https://doi.org/10.3390/foods9020140>
- Pham-Huy, L.A., He, H., Pham-Huy, C., 2020. Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health Lien. *International journal of Biomedical science REVIEW* 4, 33–48. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820595-2.00003-5>
- Pramiastuti, O., Zen, D.A., Prastiyo, B.A., 2018. Penetapan kadar total fenolik dan uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol 96% daun kecombrang (*Etlingera Elatior*) dengan metode 2,2-Difenil-1- Pikrilhidazil (DPPH). *Jurnal Farmasi & Sains Indonesia* 1, 42–55.
- Pramita Yuli Pratiwi, Ana Mardiyarningsih, Nur Ismiyati, Hery Setiyawan, 2021. Antibacterial Activity of Ethanolic Extract, n-Hexane Fraction, and Chloroform Fraction of Binahong Leaves (*Anredera Cordifolia*) on *Escherichia Coli* and its Phytochemical Screening. *Jurnal Jamu Indonesia* 6, 84–91. <https://doi.org/10.29244/jji.v6i2.207>

- Pratyaksa, I.P.L., Putra, G.P.G., Suhendra, L., 2020. Karakteristik Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L .) sebagai Sumber Antioksidan pada Perlakuan Ukuran Partikel dan Waktu Maserasi. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri* 8, 139–149.
- Primadhamanti, A., Winahyu, D.A., Ramadhana, Y.T., 2020. ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF MANGKOKAN LEAF EXTRACTS (*Nothopanax scutellarium*) AGAINST *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *JURNAL ANALIS FARMASI* 5, 1–9.
- Purwanti, A., Agustin, D.B., Nuri, N., 2023. Uji Potensi Antibakteri *Streptococcus mutans* Ekstrak Kulit Biji Kakao (*Theobroma cacao* L) dengan Metode Ekstraksi Sonikasi. *Jurnal Farmasi Higea* 15, 64. <https://doi.org/10.52689/higea.v15i1.506>
- Rachmawati, P.A., Novita, D., Rizqiyyah, F.N., Constanty, I.C., Prastika, R.A., 2018. BIODEGRADABLE DETERGEN DARI SAPONIN DAUN WARU DAN EKSTRAKSI BUNGA TANJUNG. *INDONESIAN CHEMISRY AND APPLICATION JOURNAL* 2, 1–4.
- Rachmawati, S., Tasanif, S., Roskiana Ahmad, A., Handayani, S., 2023. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.) Dengan Menggunakan Metode DPPH. *Makassar Natural Product Journal* 1, 2023–222.
- Rahman, F.A., Haniastuti, T., Utami, T.W., 2017. Skrining fitokimia dan aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) pada *Streptococcus mutans* ATCC 35668. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia* 3, 1. <https://doi.org/10.22146/majkedgiind.11325>
- Rahmawati, A., Irfan, N., Amalia, E.T., Farmasi, P., Mipa, F., Muhammadiyah, U., 2025. Pengujian Konsentrasi Hambat Minimum Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria Ternatea* L .) Terhadap Bakteri *Klebsiella Pneumoniae* 2, 75–87.
- Raja Merlinda Veronica, Dani Rosdiana, Anwar Bet, Agustawan, 2025. Pengaruh Extended-Spectrum Beta-Lactamase (Esbl) Terhadap Mortalitas Pasien *Pneumonia*. *Ibnu Sina: Jurnal Kedokteran dan Kesehatan - Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sumatera Utara* 24, 68–75.

<https://doi.org/10.30743/ibnusina.v24i1.703>

- Ramadhani, S., Berna, E., Forestrania, R.C., 2023. Aktivitas Anti-elastase dan Antioksidan dari Ekstrak Etanol Kayu Bangkal konvensional yaitu Ultrasound Assisted Extraction (UAE) dan Microwave Assisted. *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia* 9, 228–243. <https://doi.org/10.35311/jmpi.v9i2.347>
- Riniati, R., Sularasa, A., Febrianto, A.D., 2019. Ekstraksi Kembang sepatu (*Hibiscus Rosa Sinensis* L) Menggunakan Pelarut Metanol dengan Metode Sokletasi untuk Indikator Titration Asam Basa. *IJCA (Indonesian Journal of Chemical Analysis)* 2, 34–40. <https://doi.org/10.20885/ijca.vol2.iss1.art5>
- Rollando, 2019. *Senyawa Antibakteri Dari Fungi Endofit*, 1st ed. CV. Seribu Bintang, Malang.
- Safitri, I.N., Herdyastuti, N., 2021. Pengaruh Suhu Terhadap Kandungan Fenolik Total Dan Aktivitas Antioksidan Bawang Putih Bubuk Dan Bawang Hitam Bubuk. *UNESA Journal of Chemistry* 10, 348–355.
- Saifudin, A., 2014. *Senyawa Alam Metabolit Sekunder, Paper Knowledge . Toward a Media History of Documents*.
- Setiawan, A., Dwi, A., Widodo, W., Dwi, P., 2022. Comparison of ciprofloxacin , cotrimoxazole , and doxycycline on *Klebsiella pneumoniae* : Time-kill curve analysis. *Annals of Medicine and Surgery* 84, 104841. <https://doi.org/10.1016/j.amsu.2022.104841>
- Shariati, A., Arshadi, M., Khosrojerdi, M.A., 2022. The resistance mechanisms of bacteria against ciprofloxacin and new approaches for enhancing the efficacy of this antibiotic. *Public Health*. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2022.102563>
- Shen, L., Pang, S., Zhong, M., Sun, Y., Qayum, A., Liu, Y., Rashid, A., Xu, B., Liang, Q., Ma, H., Ren, X., 2023. A comprehensive review of ultrasonic assisted extraction (UAE) for bioactive components: Principles, advantages, equipment, and combined technologies. *Ultrasonics Sonochemistry* 101, 106646. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2023.106646>
- Simanjuntak, S.B., Suoth, E., Fatimawali, 2021. Analisis Gas Chromatography-Mass Spectrometry Ekstrak N-Heksan Dari Daun Gedi Hijau (*Abelmoschus*

- manihot (L.) Medik). *Pharmacon* 10, 1109–1114.
- Skrovankova, S., Mlcek, J., 2025. Antioxidant Potential and Its Changes Caused by Various Factors in Lesser-Known Medicinal and Aromatic Plants. *Horticulturae* 11. [https://doi.org/https://doi.org/10.3390/horticulturae11010104](https://doi.org/10.3390/horticulturae11010104) Copyright:
- Soedarini, Nugrahedhi, R.P.Y., 2019. *Antioksidan Bahan Pangan & Pengukuran Aktifitasnya*, 1st ed. Universitas Katolik Soegijapranata, Semarang.
- Solimah, Wahyunindarsih, Ucik Mawarsari, Dwi Susilo, Gusmiati, Andy Yusuf Kurniawan, Lasmiyati, Muhammad Syaipulloh, Afifah Siti Muslikhah, Roseta Afrina Asyanti, Adella Siti Nusaliyawati, Nur Dina Camalia, 2024. *Statistik Kakao Indonesia 2023*. Emak 8, 1–76.
- Stephanie Rumaseuw, E., Estefania Kaban, V., Wibawa Mahatva Yodha, A., Pratiwi Indah Lestari, Y., Vebriyanti Asjur, A., Taufiqurrahman, M., Hasan, H., Adiyas Putra, T., 2023. *Farmakognosi*. PT GLOBAL EKSEKUTIF TEKNOLOGI, Padang.
- Tadic, I., Fialová, D., Hazen, A., C. Henman, M., Okuyan, B., Wirth, F., Abdi, A., Urru, S., R. Stover, K., E. Weidmann, A., 2025. Current Practices on Prescribing and Deprescribing for Patients on Long-Term Antibiotic Treatment for Chronic Pulmonary Conditions: An Umbrella Review by the European Society of Clinical Pharmacy (ESCP). *COPD: Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease* 22. <https://doi.org/10.1080/15412555.2025.2532076>
- Tarina, N.T.I., Kusuma, S.A.F., 2023. Deteksi Bakteri *Klebsiella pneumonia*. *Farmaka* 15, 119–126.
- Tati, S., 2017. *Dasar-Dasar Spektrofotometri Uv-Vis Dan Spektrometri Massa Untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik*. CV. Anugrah Utama Raharja, Bandar Lampung.
- Topraksever, N., Artuç, G.Ö., 2025. Quantitative Determination of α -Tocopherol and α -Tocopheryl Acetate in Pharmaceutical and Supplementary Soft Capsules by High Performance Liquid Chromatography. *Istanbul Gelisim University Journal of Health Sciences* 26, 500–511.

- Triyanti, S.B., Lestari, F.P., Fitriana, P.A.N., Rostiana, H.R., Silalahi, D.D., Syalsabina, T.D., Putri, R.Y., Saputra, I.S., 2025. Pengaruh Metode Ekstraksi Maserasi, Sonikasi, dan Sokletasi Terhadap Nilai Rendemen Sampel Kulit Buah Naga (*Hylocereus polyrhizus*). *Jurnal Sains dan Edukasi Sains* 8, 71–78. <https://doi.org/10.24246/juses.v8i1p71-78>
- Umarudin, I Gede Angga, A., Rohayati, Nangsih Sulastri, S., Febri, S., Yasinta, R., Ni Ketut Yuiana, S., Ayu Brenda, S., Iis, K., Yuliawati, Anak Agung Ayu Putri, P., Fusvita, M., Asep, D., 2023. *Bakteriologi* 2, 1st ed. PENERBIT MEDIA SAINS INDONESIA, Bandung.
- Vinca, D.T., Iqbal, M., Triyandi, R., Oktarlina, R.Z., 2023. Artikel Review: Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Kelor (*Moringa Oleifera*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Medical Profession Journal of Lampung* 13, 649–654. <https://doi.org/10.35311/jmpi.v4i02.30>
- Widhiana Putra, I.K., Ganda Putra, G., Wrasati, L.P., 2020. Pengaruh Perbandingan Bahan dengan Pelarut dan Waktu Maserasi terhadap Ekstrak Kulit Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.) sebagai Sumber Antioksidan. *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri* 8, 167. <https://doi.org/10.24843/jrma.2020.v08.i02.p02>
- Willian, N., Pardi, H., 2022. *Bahan Ajar Pemisahan Kimia*, 1st ed. UMRAH Press, Tanjungpinang.
- Wulandari, D., Asih, J., 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Suruhan (*Peperomia pellucida* L . Kunth) terhadap *Klebsiella pneumoniae* Antibacterial Activity of Suruhan Leaf Extract (*Peperomia pellucida* L . Kunth) against *Klebsiella pneumoniae* 15, 33–39.
- Yahya, M., Ginting, B., Saidi, N., 2021. In-vitro screenings for biological and antioxidant activities of water extract from *theobroma cacao* l. Pod husk: Potential utilization in foods. *Molecules* 26. <https://doi.org/10.3390/molecules26226915>
- Younes, K.M., Romeilah, R.M., El-, H.S., Moll, H.E.L., Rajendrasozhan, S., El-shemy, H.A., Shalaby, E.A., 2021. In-vitro evaluation of antioxidant and antiradical potential of successive extracts , semi-purified fractions and biosynthesized silver nanoparticles of *Rumex vesicarius*. *Notulae Botanicae*

Horti Agrobotanici Cluj-Napoca 49, 1–23.
<https://doi.org/10.15835/nbha49112293>

Yuliantari, N.W.A., Widarta, I.W.R., Permana, I.D.G.M., 2017. Pengaruh Suhu dan Waktu Ekstraksi Terhadap Kandungan Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Daun Sirsak (*Annona muricata* L .) Menggunakan Ultrasonik. Media Ilmiah Teknologi Pangan (Scientific Journal of Food Technology) 4, 35–42.

Zainab, Sulistyani, N., Nurani, L.H., Mulyaningsih, S., 2022. Buku Ajar Praktikum Mikrobiologi. Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta.

Zasari, M., Sitorus, R., 2022. Exploration-Characterization Morphology of Local Cocoa On Bangka Island. AGROSAINSTEK: Jurnal Ilmu dan Teknologi Pertanian 6, 23–33. <https://doi.org/10.33019/agrosainstek.v6i1.356>