

**EKSPLORASI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN
HUBUNGANNYA DENGAN KADAR TOTAL FLAVONOID
SERTA TOTAL FENOLIK PADA KOMBINASI EKSTRAK DAUN
KAKAO (*Theobroma cacao* L.) DAN DAUN BELIMBING WULUH
(*Averrhoa bilimbi* L.) TERHADAP *Staphylococcus aureus***

Proposal Skripsi

Oleh

NIKKEN AYU LARASATI

2218031052



**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG**

2026

**EKSPLORASI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN
HUBUNGANNYA DENGAN KADAR TOTAL FLAVONOID
SERTA TOTAL FENOLIK PADA KOMBINASI EKSTRAK DAUN
KAKAO (*Theobroma cacao* L.) DAN DAUN BELIMBING WULUH
(*Averrhoa bilimbi* L.) TERHADAP *Staphylococcus aureus***

Oleh

NIKKEN AYU LARASATI

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA FARMASI**

Pada

**Jurusan Farmasi
Fakultas Kedokteran Universitas Lampung**



**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2026**

Judul Skripsi

: EKSPLORASI AKTIVITAS ANTIBAKTERI
DAN HUBUNGANNYA DENGAN KADAR
TOTAL FLAVONOID SERTA TOTAL FENOLIK
PADA KOMBINASI EKSTRAK DAUN KAKAO
(*Theobroma cacao* L.) DAN DAUN BELIMBING
WULUH (*Averrhoa bilimbi* L.) TERHADAP
Staphylococcus aureus

Nama Mahasiswa

: Nikken Ayu Larasati

No. Pokok Mahasiswa

: 2218031052

Program Studi

: Farmasi

Fakultas

: Kedokteran



Pembimbing 1

Pembimbing 2


apt. Muhammad Iqbal, S.Farm., M.Sc.
NIP.1986120520520222031003


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

Dekan Fakultas Kedokteran


Dr. dr. Eyi Kurniawati, S.Ked., M.Sc.
NIP. 19760120200312200

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji
Ketua

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



Sekretaris

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



Penguji

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



2. Dekan Fakultas Kedokteran



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

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 13 Januari 2026

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya, bahwa:

1. Skripsi dengan judul " **EKSPLORASI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN HUBUNGANNYA DENGAN KADAR TOTAL FLAVONOID SERTA TOTAL FENOLIK KOMBINASI EKSTRAK DAUN KAKAO (*Theobroma cacao* L.) DAN DAUN BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* L.) TERHADAP *Staphylococcus aureus***" 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.
2. Atas pernyataan ini apabila dikemudian hari ternyata ditemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya.

Bandar Lampung, 13 Januari 2026

Pembuat Pernyataan



Nikken Ayu Larasati
NPM. 2218031052

RIWAYAT HIDUP

Nikken Ayu Larasati, yang akrab disapa Nikken, lahir di Bandar Lampung pada tanggal 08 April 2004. Penulis merupakan anak dari pasangan Muslim dan Supriati. Pendidikan dasar ditempuh di SD Negeri 1 Beringin Raya Bandar Lampung, kemudian dilanjutkan ke jenjang sekolah menengah pertama di SMP Negeri 2 Bandar Lampung. Setelah itu, penulis melanjutkan pendidikan menengah atas di SMA Negeri 14 Bandar Lampung.

Pada tahun 2022, penulis dinyatakan lulus melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN) dan diterima sebagai mahasiswa Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung. Selama menempuh pendidikan di tingkat perguruan tinggi, penulis aktif dalam kegiatan organisasi kemahasiswaan, khususnya di Badan Eksekutif Mahasiswa (BEM) Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Penulis bergabung dalam Dinas Eksternal, Minat, dan Bakat (EKSMIKAT) dan kemudian dipercaya untuk mengemban amanah sebagai Kepala Dinas Eksternal, Minat, dan Bakat Badan Eksekutif Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

Sebagai bagian akhir dari proses akademik, penulis menyusun skripsi dengan judul: **“EKSPLOKASI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN HUBUNGANNYA DENGAN KADAR TOTAL FLAVONOID SERTA TOTAL FENOLIK KOMBINASI EKSTRAK DAUN KAKAO (*Theobroma cacao* L.) DAN DAUN BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* L.) TERHADAP *Staphylococcus aureus*.”**

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.

“Long story short, I survived.”

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 **"EKSPLORASI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN HUBUNGANNYA DENGAN KADAR TOTAL FLAVONOID SERTA TOTAL FENOLIK KOMBINASI EKSTRAK DAUN KAKAO (*Theobroma cacao* L.) DAN DAUN BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* L.) TERHADAP *Staphylococcus aureus*".**

Dengan rasa hormat dan kasih sayang yang mendalam, penulis mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada Ayah, Muslim dan Bunda, Supriati tercinta, yang telah membimbing dan membesarkan penulis dengan penuh kesabaran dan ketulusan tanpa pamrih. Ucapan terima kasih disampaikan atas setiap doa yang dipanjatkan, nasihat yang menjadi pedoman, serta dukungan yang turut mendampingi langkah dalam perjalanan hidup penulis. Segala bentuk pengorbanan, kerja keras, dan cinta kasih yang diberikan demi pendidikan dan kebutuhan penulis merupakan berkah yang sangat berharga. Semoga kepada Allah Subhanahu wa ta'ala membalas semua kebaikan dengan limpahan keberkahan dan kebahagiaan serta kesehatan.

Penyusunan skripsi ini tidak akan dapat terselesaikan dengan baik tanpa bimbingan, masukan, bantuan, saran, kritik, juga dukungan dan doa dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin mengucapkan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya 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, Sp.M., selaku Ketua Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
4. apt. Muhammad Iqbal, S.Farm., M.Sc., selaku pembimbing I atas kesediaannya meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran dalam memberikan ilmu, bimbingan, arahan, motivasi, masukan, kritik, dan saran yang membangun kepada penulis selama penyusunan skripsi. Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dan dengan tulus memohon maaf atas segala keterbatasan yang ada;
5. Ibu Femmy Andrifanie selaku pembimbing II serta pembimbing akademik yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga dan pikiran dalam memberikan arahan, arahan, motivasi, masukan, kritik, dan saran yang membangun kepada penulis. Penulis memohon maaf atas segala kesalahan selama proses bimbingan penyusunan skripsi;
6. apt. Ramadhan Triyandi, S.Farm., M.Si selaku penguji skripsi yang telah meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk memberikan kritik, saran dan masukan mengenai skripsi ini. Penulis juga memohon maaf atas segala kekurangan penulis dalam pemaparan maupun pemahaman selama proses penyusunan skripsi;
7. Seluruh dosen Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang telah memberikan ilmu, arahan, dan pendampingan sepanjang masa perkuliahan. Terima kasih atas wawasan, pengalaman, serta pembelajaran berharga yang telah diberikan kepada penulis;
8. Seluruh staf dan civitas akademik Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang telah membantu dalam menjalankan studi hingga proses penyelesaian skripsi ini;
9. Seluruh staf Laboratorium Kimia Farmasi Analisis Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang telah membantu selama proses penelitian;

10. Teruntuk Bundaku tercinta, terima kasih atas cinta yang tak hingga. Terima kasih karena tak pernah lelah mendoakan, menguatkan, dan menemani setiap proses yang ku jalani. Dalam setiap langkahku menyelesaikan skripsi ini, doa dan kasih Bunda selalu menjadi penopang utama, juga lahir dari segala pengorbanan yang mungkin tak pernah Bunda hitung. Semoga, terlepas dari manusia yang tidak mungkin sempurna. Semoga, semoga, dan semoga langkah kecil ini bisa menjadi awal dari kebahagiaan dan kebanggaan Bunda. Apa pun yang akan aku capai nanti, Bunda akan selalu menjadi alasan terbesarku untuk terus melangkah dan bertahan;
11. Teruntuk Ayahku tercinta, terima kasih telah memilih bertahan dan berjuang di tiap lelah yang tidak pernah Ayah ceritakan. Ayah mengajarkanku tentang keteguhan, tanggung jawab, dan arti berjuang tanpa banyak mengeluh. Setiap langkahku menyelesaikan skripsi ini tidak lepas dari doa, kerja keras, dan pengorbanan Ayah. Semoga pencapaian ini dapat menjadi pengingat bahwa segala yang Ayah lakukan tidak pernah sia-sia, juga sebagai wujud rasa terima kasih dan kebanggaanku atas segala yang telah Ayah berikan;
12. Kakak, Ageng Wicaksono, terima kasih telah menjaga, menguatkan, dan mengingatkan disaat penulis lelah dan ragu. Adik penulis, Nadin Cahaya Primustia, atas segala perhatian dan pengertian juga segala usaha penghiburan yang diberikan kepada penulis, terima kasih atas setiap pelukan yang menguatkan;
13. Aisyah Yuliantina, kakak penulis, terima kasih atas segala dukungan dan perhatian yang diberikan kepada penulis. Belvana Aira Tasane, anak baik, pintar, cantik, yang segala tingkahnya kerap menjadi hiburan dan penyemangat tersendiri untuk penulis.
14. Seluruh keluarga besar atas doa, dukungan, dan semangat yang telah diberikan selama ini;
15. Teruntuk 'A', lelaki bermanik indah dengan senyuman manisnya atas kasih sayang, kehadiran, perhatian, dan dukungan yang diberikan, juga segala hal yang telah diusahakan untuk penulis;

16. Sahabat saya, Ghea Laili dan Arya Muda, atas kehadiran, perhatian, bantuan, dan dukungan kepada penulis. Selalu bersedia mendengarkan cerita suka maupun duka dan siap sedia untuk menghibur penulis. Terima kasih telah menjadi sahabat yang selalu ada dan menjadi bagian paling berarti dalam hidup penulis;
17. Hani, sahabat saya. Anggota '*Crystal Blink*', geng semasa sekolah menengah penulis, yang masih turut menjadi bagian dari perjalanan hidup penulis atas perhatian, bantuan, dukungan, dan kehadiran yang berarti bagi penulis;
18. Sahabat-sahabat 'BK' yaitu, Arel, Aca, dan Triana atas segala perhatian dan dukungan yang menyertai kehidupan penulis selama masa perkuliahan. Terima kasih atas kebersamaan, tawa, serta kenangan yang sangat berharga untuk penulis, juga menjadi alasan penulis untuk semangat menjalani hari-hari di perkuliahan;
19. Teman-teman 'PBL' yaitu, Evriza, Kurnia, dan Husni atas kehadiran, bantuan, serta dukungan yang berarti bagi penulis. Terima kasih atas kebersamaan yang membantu penulis untuk bangkit;
20. Teman-teman penelitian penulis yang telah memberikan dukungan dan bantuan dalam proses penelitian yang dilakukan penulis;
21. Teman-teman BEM Eksmiklat yang telah memberikan begitu banyak pengalaman, kenangan, serta pembelajaran berharga dalam dunia organisasi;
22. 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 memiliki kekurangan dan keterbatasan. Oleh karena itu, penulis sangat terbuka terhadap kritik dan saran yang membangun sebagai bahan evaluasi dan perbaikan di masa mendatang. Penulis berharap karya ini dapat bermanfaat bagi semua pihak dan menambah pengetahuan serta informasi bagi pembaca.

Bandar Lampung, Januari 2026

Penulis,

Nikken Ayu Larasati

ABSTRACT

EXPLORATION OF ANTIBACTERIAL ACTIVITY AND ITS CORRELATION WITH TOTAL FLAVONOID AND TOTAL PHENOLIC CONTENT IN THE COMBINATION OF COCOA LEAVES (*Theobroma cacao* L.) AND BILIMBI LEAVES (*Averrhoa bilimbi* L.) EXTRACTS AGAINST *Staphylococcus aureus*

By

Nikken Ayu Larasati

Background: *Staphylococcus aureus* is a commonly encountered pathogenic bacterium that can cause infections and develop resistance to antibiotics. The combination of cocoa (*Theobroma cacao* L.) leaf extract and bilimbi (*Averrhoa bilimbi* L.) leaf extract is known to contain flavonoids and phenolic compounds with potential antibacterial activity.

Objective: To evaluate the antibacterial activity of a combination of cocoa leaf and bilimbi leaf extracts against *Staphylococcus aureus* and to determine its relationship with total flavonoid and total phenolic contents.

Methods: This experimental study used three extract combination ratios (1:1, 1:3, and 3:1) prepared using the Ultrasound-Assisted Extraction (UAE) method. Antibacterial activity was assessed using the disc diffusion method, while total flavonoid and total phenolic contents were analyzed spectrophotometrically. The relationship between antibacterial activity and bioactive compound levels was analyzed using *Pearson* correlation.

Results: The inhibition zones obtained were 4.83 mm (weak) for the 1:1 ratio, 5.093 mm (moderate) for the 1:3 ratio, and 6.05 mm (moderate) for the 3:1 ratio. Correlation analysis showed no significant relationship between antibacterial activity and total flavonoid content ($p = 0.452$) or total phenolic content ($p = 0.770$).

Conclusion: The combination of cocoa leaf and bilimbi leaf extracts exhibited weak to moderate antibacterial activity against *S. aureus*. Total flavonoid and total phenolic contents were not significantly associated with the inhibition zone.

Keywords: Antibacterial, *Staphylococcus aureus*, flavonoids, phenolics, cocoa leaf, bilimbi leaf.

ABSTRAK

EKSPLORASI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN HUBUNGANNYA DENGAN KADAR TOTAL FLAVONOID SERTA TOTAL FENOLIK PADA KOMBINASI EKSTRAK DAUN KAKAO (*Theobroma cacao* L.) DAN DAUN BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* L.) TERHADAP *Staphylococcus aureus*

Oleh

Nikken Ayu Larasati

Latar Belakang: *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri penyebab infeksi yang lazim ditemukan dan mampu menimbulkan resistensi antibiotik. Kombinasi ekstrak daun kakao dan daun belimbing wuluh diketahui mengandung flavonoid dan fenolik yang berpotensi sebagai antibakteri.

Tujuan: Menilai aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak daun kakao dan daun belimbing wuluh terhadap *S. aureus* serta hubungannya dengan kadar total flavonoid dan total fenolik.

Metode: Penelitian eksperimental menggunakan tiga perbandingan kombinasi ekstrak (1:1, 1:3, dan 3:1) dengan metode *Ultrasound-Assisted Extraction* (UAE). Aktivitas antibakteri diuji dengan metode difusi cakram, sedangkan kadar total flavonoid dan fenolik dianalisis secara spektrofotometri. Hubungan dianalisis menggunakan uji korelasi *Pearson*.

Hasil: Zona hambat yang dihasilkan yaitu 4,83 mm (lemah) pada rasio 1:1, 5,093 mm (sedang) pada 1:3, dan 6,05 mm (sedang) pada 3:1. Hasil korelasi menunjukkan tidak terdapat hubungan signifikan antara aktivitas antibakteri dengan kadar total flavonoid ($p=0,452$) maupun total fenolik ($p=0,770$).

Simpulan: Kombinasi ekstrak daun kakao dan belimbing wuluh menunjukkan aktivitas antibakteri lemah hingga sedang terhadap *S. aureus*. Kadar total flavonoid dan fenolik tidak berhubungan signifikan dengan zona hambat.

Kata Kunci: Antibakteri, *Staphylococcus aureus*, flavonoid, fenolik, daun kakao, daun belimbing wuluh.

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	iv
DAFTAR GAMBAR	v
DAFTAR LAMPIRAN	vi
 BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan Umum	4
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.4.1 Manfaat Bagi Peneliti	5
1.4.2 Manfaat Bagi Masyarakat	5
1.4.3 Manfaat Bagi Institusi	5
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Penyakit Infeksi	6
2.1.1 Agen Infeksi	6
2.1.2 Patogenesis Penyakit Infeksi	11
2.1.3 Pengobatan Infeksi Bakteri	13
2.2 Antibakteri	13
2.3 Tanaman Daun Kakao	15
2.3.1 Klasifikasi	15
2.3.2 Deskripsi	16
2.3.3 Morfologi	17
2.3.4 Kandungan Kimia Daun Kakao	18
2.3.5 Manfaat dan Khasiat	23
2.4 Tanaman Belimbing Wuluh	24
2.4.1 Klasifikasi	24
2.4.2 Deskripsi	24
2.4.3 Morfologi	26
2.4.4 Kandungan Kimia Daun Belimbing Wuluh	26
2.4.5 Manfaat dan Khasiat	29
2.5 Total Flavonoid	30
2.6 Total Fenolik	31
2.7 <i>Staphylococcus aureus</i>	32
2.7.1 Klasifikasi	32
2.7.2 Deskripsi	32
2.7.3 Morfologi	33
2.7.4 Patogenesis	34
2.8 Metode Ekstraksi	34
2.8.1 Sonikasi	35
2.9 Uji Aktivitas Antibakteri	36
2.9.1 Metode Difusi Agar	36
2.10 Kerangka Teori	39

2.11 Kerangka Konsep.....	40
2.12 Hipotesis	40
2.12.1 Hipotesis null (H0).....	40
2.12.2 Hipotesis alternatif (H1)	40
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Desain Penelitian	42
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	42
3.2.1 Tempat Penelitian	42
3.2.2 Waktu Penelitian.....	43
3.3 Alat dan Bahan.....	43
3.3.1 Alat Penelitian.....	43
3.3.2 Bahan Penelitian	43
3.3.3 Mikroba Uji Penelitian.....	43
3.3.4 Media Kultur.....	43
3.4 Variabel Penelitian.....	44
3.4.1 Variabel Bebas	44
3.4.2 Variabel Terikat	44
3.4.3 Variabel Kontrol	44
3.5 Definisi Operasional	44
3.6 Prosedur Penelitian	45
3.6.1 Determinasi Tanaman	45
3.6.2 Preparasi Sampel.....	46
3.6.3 Pengujian Aktivitas Antibakteri.....	49
3.7 Alur Penelitian	52
3.8 Pengolahan Data dan Analisis Data.....	53
3.8.1 Pengolahan Data	53
3.8.2 Analisis Data.....	53
3.9 Etika Penelitian	55
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Hasil Penelitian	56
4.1.1 Hasil Determinasi Tanaman.....	57
4.1.2 Ekstraksi.....	57
4.1.3 Hasil Uji Fitokimia	59
4.1.4 Hasil Pengukuran Total Flavonoid	63
4.1.5 Hasil Pengukuran Total Fenolik	64
4.1.6 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri	66
4.1.7 Hasil Analisis Data Antibakteri	69
4.1.8 Hasil Analisis Data Hubungan Aktivitas Antibakteri Dengan Kadar Total Flavonoid Dan Total Fenolik	70
4.2 Pembahasan.....	71
4.2.1 Ekstraksi.....	71
4.2.2 Uji Fitokimia.....	72
4.2.3 Kadar Total Flavonoid	74
4.2.4 Kadar Total Fenolik.....	75
4.2.5 Aktivitas Antibakteri.....	77
4.2.6 Hubungan Kadar Total Flavonoid dan Total Fenolik dengan Aktivitas Antibakteri	79

4.3 Keterbatasan Penelitian.....	82
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan	83
5.2 Saran	84
DAFTAR PUSTAKA.....	85

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 2.1 Taksonomi Tanaman Kakao.....	15
Tabel 2.2 Taksonomi Tanaman Belimbing Wuluh	24
Tabel 2.3 Klasifikasi <i>Staphylococcus aureus</i>	32
Tabel 3.1 Definisi Operasional.....	44
Tabel 4.1 Hasil Rendemen Kombinasi Ekstrak.....	59
Tabel 4.2 Hasil Skrining Kombinasi Ekstrak Perbandingan 1:1.....	60
Tabel 4.3 Hasil Skrining Kombinasi Ekstrak Perbandingan 1:3.....	61
Tabel 4.4 Hasil Skrining Kombinasi Ekstrak Perbandingan 3:1.....	62
Tabel 4.5 Hasil Penetapan Kadar Total Flavonoid (mgQE/g ekstrak).....	63
Tabel 4.6 Hasil Penetapan Kadar Total Fenolik (mgGAE/g ekstrak).....	65
Tabel 4.7 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri.....	68
Tabel 4.8 Hasil Uji Normalitas dan Homogenitas Diameter Zona Hambat.....	69
Tabel 4.9 Hasil Uji One-Way ANOVA dan Uji Post Hoc (Tukey HSD)	70
Tabel 4.10 Hasil Uji Korelasi Pearson	70
Tabel 4.11 Kategori Aktivitas Antibakteri Berdasarkan Diameter Zona Hambat	77

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 2.1 Struktur Bakteri	7
Gambar 2.2 Struktur Virus	8
Gambar 2.3 Morfologi Miselium Dan Hifa Jamur Multiseluler	9
Gambar 2.4 Morfologi <i>Trichonympha</i> Kelas Mastigophora	11
Gambar 2.5 Mekanisme Kerja Antibakteri dari Senyawa Turunan Tanaman	14
Gambar 2.6 Tanaman Kakao. Sumber: Dokumentasi Pribadi.....	16
Gambar 2.7 Contoh-contoh Alkaloid	19
Gambar 2.8 Kelas-kelas Flavonoid	20
Gambar 2.9 Struktur Kimia Monomer Tanin Terkondensasi.....	21
Gambar 2.10 Rumus Struktural Polifenol Sederhana.....	22
Gambar 2.11 Tanaman Belimbing Wuluh.....	25
Gambar 2.12 Struktur Dasar Flavonoid.....	27
Gambar 2.13 Struktur Alkaloid Sederhana	27
Gambar 2.14 Jalur Biosintesis Saponin.....	28
Gambar 2.15 Rumus Struktur Senyawa Polimer.....	29
Gambar 2.16 Metode Difusi Sumuran	36
Gambar 2.17 Metode Difusi Cakram	37
Gambar 2.18 Kerangka Teori	39
Gambar 2.19 Kerangka Konsep.....	40
Gambar 3.1 Pengukuran Diameter Zona Hambat Bakteri.....	51
Gambar 3.2 Alur Penelitian.....	52
Gambar 4.1 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri.....	67
Gambar 4.2 Senyawa Fenolik Pada Tumbuhan.....	75

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
Lampiran 1. Surat Persetujuan Etik.....	93
Lampiran 2. Hasil Determinasi Tanaman.....	94
Lampiran 3. Surat Izin Melakukan Penelitian.....	98
Lampiran 4. Kegiatan Penelitian	100
Lampiran 5. Rendemen Ekstrak	104
Lampiran 6. Uji Total Flavonoid.....	105
Lampiran 7. Uji Total Fenolik.....	109
Lampiran 8. Hasil Uji Antibakteri.....	113
Lampiran 9. CoA DMSO	117
Lampiran 10. CoA Clindamycin	118
Lampiran 11. Hasil Analisis Data	119

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Salah satu masalah global yang mendapat perhatian besar adalah penyakit infeksi akibat mikroorganisme, termasuk jamur, bakteri, virus, dan protozoa. Dari berbagai patogen tersebut, bakteri merupakan penyebab utama infeksi pada manusia. Infeksi yang disebabkan oleh mikroorganisme seperti bakteri dan virus termasuk dalam sepuluh penyebab kematian tertinggi di dunia. Indonesia sendiri dilaporkan memiliki angka infeksi bakteri yang lebih tinggi dibandingkan negara-negara lain di Asia (WHO, 2020). Bahkan, pada tahun 2019 infeksi bakteri tercatat sebagai penyebab kematian terbesar kedua di dunia, dengan jumlah 7,7 juta kematian atau setara 13,6% dari total angka kematian global (Dermana et al., 2025).

Terapi utama pada penyakit infeksi adalah penggunaan antibiotik, yang banyak tersedia dan digunakan di masyarakat. Namun, pemakaian antibiotik yang tidak tepat, misalnya durasi yang terlalu singkat, dosis rendah, kesalahan diagnosis awal, maupun penggunaan tanpa resep, dapat memicu terjadinya resistensi (Tumundo et al., 2024). Resistensi merupakan kondisi ketika antibiotik tidak lagi mampu membunuh bakteri patogen di dalam tubuh, sehingga menyebabkan kegagalan terapi infeksi dan berpotensi berujung pada kematian. Kondisi ini membatasi efektivitas antibiotik yang ada sehingga diperlukan pencarian alternatif senyawa dengan potensi aktivitas antibakteri (Tumundo et al., 2024).

Bakteri yang banyak menimbulkan masalah kesehatan salah satunya yaitu *Staphylococcus aureus*, merupakan bakteri Gram positif yang dapat ditemukan pada saluran pernapasan, mulut, hidung, saluran kencing, infeksi

luka, dan radang paru-paru. Resistensi antibiotik terhadap *Staphylococcus aureus* dilaporkan semakin meningkat, bahkan resistensi terhadap eritromisin telah mencapai 30-70% (Lake et al., 2019). *S. aureus* menunjukkan perkembangan resistensi antibiotik yang cepat, dan munculnya strain yang resistan terhadap banyak obat merupakan masalah serius. Perkembangan resistensi ini menimbulkan ancaman serius karena menyebabkan kegagalan terapi, dan diperkirakan pada tahun 2050 angka kematian akibat resistensi antibiotik akan melampaui angka kematian akibat kanker (Bashabsheh et al., 2024). Kondisi ini menegaskan adanya kebutuhan mendesak untuk mencari agen antibakteri alternatif yang efektif, aman, dan berasal dari bahan alami (Jeong et al., 2023).

Penggunaan bahan alam sebagai obat tradisional di Indonesia semakin meningkat karena dianggap memiliki efek samping yang lebih minimal dibanding dengan obat sintetik (Alouw & Lebang, 2022). Kakao (*Theobroma cacao* L.) dan belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) merupakan contoh tanaman yang memiliki potensi antibakteri. Penelitian oleh Mandhaki, Huda, dan Putri (2021) menunjukkan bahwa fraksi etanol dan diklorometana daun kakao mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan zona hambat masing-masing 17,33 mm dan 9,67 mm pada konsentrasi 30%, yang diduga berasal dari kandungan flavonoid, saponin, dan tanin. Sementara itu, penelitian Rante, Nasriah, dan Tayeb (2024) membuktikan bahwa ekstrak etanol daun belimbing wuluh mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* maupun *Escherichia coli* yang resisten terhadap antibiotik, bahkan pada konsentrasi rendah 1,25% (0,25 mg/paper disk) dengan efektivitas yang meningkat seiring dosis ekstrak. Selain itu, terdapat korelasi positif antara kadar total flavonoid dan kadar total fenolik terhadap aktivitas antibakteri. Flavonoid berperan dengan membentuk kompleks dengan protein dan mengganggu integritas membran yang kemudian dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Widyasanti & Febrianti, 2024). Sedangkan senyawa fenolik seperti tanin bekerja dengan mengendapkan protein dan merusak membran sel bakteri, sehingga menyebabkan kematian

sel (Dwika Sari et al., 2022). Dengan demikian, semakin tinggi kandungan total flavonoid dan total fenolik dalam suatu ekstrak, semakin kuat pula daya hambat bakterinya. Temuan tersebut membuktikan bahwa bahan alam seperti tanaman kakao (*Theobroma cacao* L.) dan belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) berpotensi besar untuk dikembangkan sebagai antibakteri alternatif. Hal ini menjadi sangat penting di tengah meningkatnya kasus resistensi antibiotik, yang membuat efektivitas obat-obat sintetik semakin berkurang dan mendorong pencarian sumber antibakteri baru dari tanaman obat.

Kombinasi ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao* L.) dan belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) merupakan pendekatan baru yang berpotensi menghasilkan efek sinergis dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen seperti *Staphylococcus aureus*. Mengingat keduanya mengandung senyawa bioaktif dengan mekanisme kerja yang berbeda, kombinasi ini diharapkan mampu memperluas spektrum antibakteri sekaligus meningkatkan efektivitas penghambatan. Penelitian terkait kombinasi ekstrak kedua tanaman ini dengan menggunakan metode *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) masih sangat terbatas, sehingga pengkajian lebih lanjut diharapkan dapat memberikan kontribusi penting dalam pengembangan kandidat antibakteri alami sebagai solusi untuk menghadapi masalah resistensi antibiotik. Oleh karena itu, penelitian ini penting dilakukan untuk mengeksplorasi potensi kombinasi ekstrak daun kakao dan daun belimbing wuluh sebagai antibakteri alternatif.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana profil kandungan metabolit sekunder kombinasi ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao* L.) dan daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.)?
2. Bagaimana pengaruh variasi perbandingan kombinasi ekstrak daun kakao dan daun belimbing wuluh terhadap aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*?

3. Berapakah kadar total flavonoid dan total fenolik yang terdapat pada masing-masing perbandingan kombinasi ekstrak daun kakao dan daun belimbing wuluh?
4. Bagaimana hubungan antara kadar total flavonoid dan total fenolik dengan aktivitas antibakteri dari kombinasi ekstrak daun kakao dan daun belimbing wuluh terhadap *Staphylococcus aureus*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan umum penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri serta hubungan kadar total flavonoid dan total fenolik pada kombinasi ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao* L.) dan daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap *Staphylococcus aureus*.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui profil kandungan metabolit sekunder dari kombinasi ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao* L.) dan daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.).
2. Mengetahui pengaruh variasi perbandingan kombinasi ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao* L.) dan daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus*.
3. Menentukan kadar total flavonoid dan total fenolik pada masing-masing perbandingan kombinasi ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao* L.) dan daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.).
4. Menganalisis hubungan antara kadar total flavonoid dan total fenolik dengan aktivitas antibakteri dari kombinasi ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao* L.) dan daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap *Staphylococcus aureus*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Bagi Peneliti

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah wawasan dan pengalaman peneliti dalam melakukan pengujian aktivitas antibakteri bahan alam, serta memberikan pemahaman lebih mendalam mengenai hubungan antara kadar total flavonoid dan total fenolik dengan efektivitas antibakteri pada kombinasi ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao* L.) dan daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.).

1.4.2 Manfaat Bagi Masyarakat

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan pengetahuan kepada masyarakat bahwa kombinasi ekstrak tanaman daun kakao (*Theobroma cacao* L.) dan daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dapat digunakan sebagai pengobatan alternatif dari penyakit infeksi yang disebabkan oleh mikroba.

1.4.3 Manfaat Bagi Institusi

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

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Penyakit Infeksi

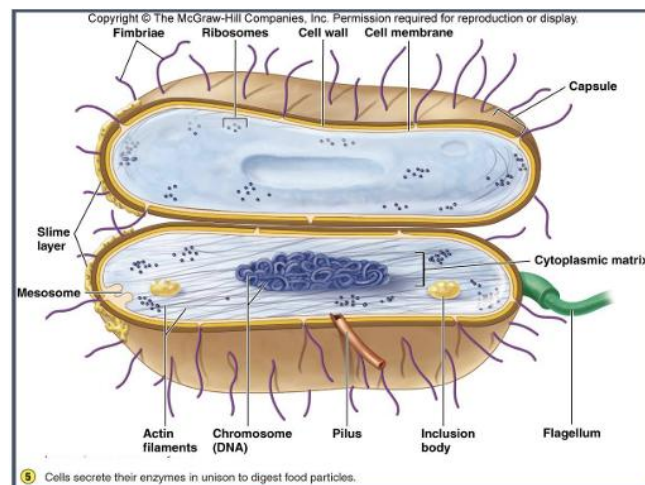
Penyakit infeksi adalah masalah kesehatan yang disebabkan oleh mikroorganisme seperti virus, bakteri, parasit, jamur. Mikroorganisme itu dapat bertahan di dalam tubuh manusia melalui interaksi simbiosis, baik yang bersifat mutualisme maupun komensalisme. Sebagian berfungsi sebagai flora normal yang sebenarnya mendukung kesehatan, tetapi dalam situasi tertentu bisa berubah menjadi patogen penyebab penyakit. Penyebaran penyakit infeksi dapat terjadi dari satu orang ke orang lain, melalui hewan atau serangga yang menularkannya kepada manusia (*zoonosis*). Jalan masuk mikroorganisme ke dalam tubuh bervariasi, termasuk melalui saluran pernapasan saat dihirup, mengonsumsi makanan atau minuman yang terkontaminasi, kontak dekat dalam waktu lama, luka terbuka, serta melalui hubungan seksual. Indonesia yang memiliki iklim tropis menyediakan kondisi yang ideal bagi berbagai mikroorganisme untuk tumbuh. Suhu yang lebih tinggi mendukung duplikasi sejumlah patogen, sehingga penyebaran penyakit menular di daerah ini lebih mudah terjadi (Fahdi & Sari, 2024).

2.1.1 Agen Infeksi

1. Bakteri

Bakteri adalah mikroorganisme uniseluler yang tidak memiliki klorofil dan berkembang biak melalui pembelahan biner. Karena tidak dapat melakukan fotosintesis, bakteri hidup sebagai saprofit maupun parasit, serta dapat ditemukan hampir di semua lingkungan, seperti tanah, air, udara, tumbuhan, hewan, hingga tubuh manusia (Putri et al., 2017).

Menurut Bergey's Manual edisi ke-8, prokariota dibedakan menjadi empat divisi utama berdasarkan karakteristik dinding selnya. Identifikasi bakteri umumnya dilakukan melalui pengamatan morfologi, baik makroskopis maupun mikroskopis. Morfologi makroskopis diamati melalui pertumbuhan koloni pada media padat. Karakteristik koloni dibedakan berdasarkan bentuk, ukuran, tepi, elevasi, warna, permukaan, konsistensi, dan pigmen. Setiap bakteri dapat membentuk koloni dengan ciri khas tersendiri, misalnya berbentuk bulat, tidak beraturan, atau memiliki warna tertentu. Sedangkan morfologi mikroskopis diamati dengan mikroskop, yang secara umum dikelompokkan menjadi tiga bentuk utama, yaitu kokus (bulat), basil (batang), dan spiril/spiroket (spiral) (Putri et al., 2017).



Gambar 2.1 Struktur Bakteri (Putri et al., 2017)

Struktur bakteri terdiri atas struktur dasar dan struktur tambahan. Struktur dasar dimiliki oleh hampir semua bakteri, meliputi:

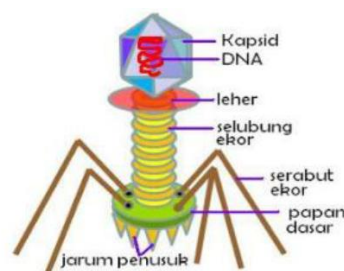
- a. Dinding sel, bersifat elastis, kompleks, dan tersusun atas karbohidrat, protein, serta lemak yang kaya nitrogen. Dinding sel berfungsi memberi bentuk dan melindungi sel, kecuali pada bakteri genus *Mycoplasma* yang tidak memilikinya.
- b. Membran plasma, terletak di bawah dinding sel, tersusun dari fosfolipid dan protein. Membran ini berfungsi sebagai penghalang sekaligus pengatur transportasi zat.

- c. Sitoplasma, berupa cairan koloid yang mengandung karbohidrat, protein, enzim, ion mineral, serta materi genetik (DNA) dan ribosom.

Struktur tambahan hanya terdapat pada bakteri tertentu, seperti kapsul, flagel, pilus/fimbriae, vakuola gas, klorosom, dan endospore. Struktur ini berperan dalam perlindungan, perlekatan, pergerakan, maupun mempertahankan kelangsungan hidup pada kondisi lingkungan ekstrem (Putri et al., 2017).

2. Virus

Infeksi virus adalah penyakit yang disebabkan oleh patogen berupa virus yang dapat menular dari individu atau hewan terinfeksi, serta melalui benda mati yang terkontaminasi, kepada inang yang rentan (Usmar et al., 2021). Kata "*virus*" berasal dari bahasa latin yang berarti racun. Virus berkaitan dengan segala bentuk kehidupan (bakteri, arkea, dan eukariota). Virus termasuk parasit intraseluler wajib yang bersifat infeksius dan memiliki materi genetik berupa DNA atau RNA. Genom virus berperan mengatur proses replikasi serta sintesis komponen virus yang lain dengan memanfaatkan sistem sel inang yang tepat. Partikel virus yang dikenal sebagai virion terbentuk dari perakitan berbagai komponen baru di dalam sel inang. Virion memiliki fungsi dalam menularkan genom virus ke sel atau organisme inang selanjutnya, di mana proses pelepasan komponen virus (*disassembly*) akan memulai siklus infeksi berikutnya (Ade Saputro et al., 2025).

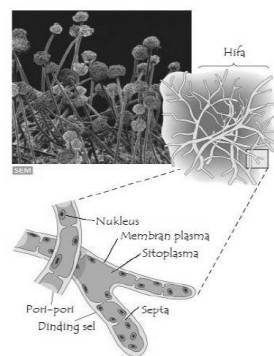


Gambar 2.2 Struktur Virus (Ade Saputro et al., 2025)

Virus dengan struktur paling dasar terdiri dari genom yang memiliki asal replikasi (*origin of replication*) dan dilindungi oleh selubung protein yang dikenal sebagai kapsid. Pada virus yang memiliki selubung (*enveloped*), kapsid diselubungi oleh lapisan lipid bilayer yang berasal dari membran sel inang dan dipenuhi glikoprotein spesifik milik virus. Virus sepenuhnya tergantung pada sel inang untuk melaksanakan biosintesis protein dan berbagai makromolekul penting lainnya. Infeksi virus dapat menyebabkan dampak tertentu pada organisme prokariotik dan eukariotik, yang bisa mengakibatkan penyakit akut seperti gastroenteritis dan influenza, serta penyakit kronis seperti imunodefisiensi dan hepatitis (Ade Saputro et al., 2025).

3. Fungi

Infeksi dapat disebabkan oleh beragam jenis mikroorganisme seperti virus, bakteri, dan jamur (Nuradi et al., 2024). Jamur merupakan organisme eukariotik yang tergolong dalam kerajaan *Fungi*, ditandai dengan ciri-ciri seperti tidak memiliki klorofil dan mendapatkan nutrisi dengan cara menguraikan bahan organik atau hidup bersimbiosis dengan organisme lain. Fungsi utama jamur dalam ekosistem adalah kemampuannya sebagai dekomposer bahan organik, yang berperan dalam mengurai zat organik menjadi senyawa yang lebih sederhana yang dapat diserap kembali oleh tumbuhan dan organisme lainnya (Mohammad et al., 2024).

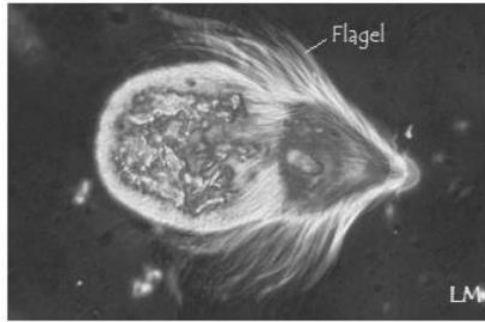


Gambar 2.3 Morfologi Miselium Dan Hifa Jamur Multiseluler
(Prayitno & Hidayati, 2019)

Jamur tidak termasuk ke dalam kelompok tumbuhan. Umumnya jamur tumbuh di tempat yang basah, tetapi jamur juga dapat beradaptasi dengan lingkungan sehingga bisa hidup di berbagai lokasi. Jamur dapat menginfeksi bagian tubuh seperti kulit, kuku, dan rambut. Jamur ditandai dengan filamen bercabang tunggal yang disebut miselium, atau kumpulan filamen yang menyatu. Mirip dengan kelompok ragi (*Saccharomyces*), bentuk tubuhnya berupa sel tunggal. Jamur tidak mengandung klorofil, sehingga tubuhnya bersifat heterotrofik (Nuradi et al., 2024), dan mendapatkan nutrisi dengan cara menguraikan bahan organik atau hidup bersimbiosis dengan organisme lain (Mohammad et al., 2024). Ciri ini menunjukkan bahwa jamur merupakan organisme eukariotik yang secara evolusi lebih kompleks dibandingkan bakteri prokariotik (Nuradi et al., 2024).

4. Protozoa

Protozoa adalah organisme bersel tunggal yang dapat melakukan berbagai fungsi kehidupan, seperti metabolisme, gerakan, pencernaan, respirasi, sekresi, reproduksi, dan mekanisme pertahanan diri, semua itu diatur oleh organela sel. Protozoa termasuk dalam organisme eukariot, yang memiliki inti sel yang dilindungi oleh membran, berbeda dengan organisme prokariot seperti bakteri yang intinya tidak terbungkus membran dan tidak terpisah dari sitoplasma (L. A. Putri et al., 2024). Klasifikasi atau pengelompokan protozoa didasarkan atas ada tidaknya alat gerak. Protozoa diklasifikasikan dalam 4 kelas, yaitu: Mastigophora, Sarcodina, Apicomplexa (Sporozoa), dan Ciliata (Ciliophora) (Prayitno & Hidayati, 2019). Protozoa secara taksonomi digolongkan sebagai organisme uniseluler eukariotik yang termasuk dalam kerajaan Protista (L. A. Putri et al., 2024).



Gambar 2.4 Morfologi *Trichonympha* Kelas Mastigophora

(Prayitno & Hidayati, 2019)

Protozoa pada umumnya adalah organisme mikroskopis yang dapat dijumpai di berbagai lingkungan, seperti air tawar, laut, tanah, serta sebagai parasit yang hidup di dalam tubuh makhluk hidup lainnya. Protozoa menunjukkan variasi dalam bentuk, ukuran, serta metode bergerak dan mendapatkan nutrisi yang berbeda-beda. Dalam siklus hidupnya, berbagai jenis protozoa melewati dua fase perkembangan, yakni fase aktif yang dikenal sebagai trophozoit dan fase tidak aktif yang disebut kista. Pada fase trophozoit, protozoa berkembang dan bereproduksi secara aktif, tetapi lebih sensitif terhadap kondisi lingkungan. Sementara itu, pada tahap kista, protozoa melapisi dirinya dengan selubung pelindung, kehilangan kemampuan untuk bergerak dan berkembang, namun menjadi lebih kuat terhadap kondisi ekstrem seperti suhu tinggi, kekeringan, kelembaban yang tinggi, serta paparan zat kimia (L. A. Putri et al., 2024).

2.1.2 Patogenesis Penyakit Infeksi

Penyakit infeksi disebabkan oleh mikroorganisme patogen yang mampu menimbulkan gangguan kesehatan pada manusia. Sebagian mikroorganisme bersifat virulen yaitu dapat menimbulkan penyakit bahkan pada individu yang sehat meskipun jumlahnya sedikit. Sebagian lain bersifat oportunistik yang pada kondisi normal merupakan flora tubuh namun dapat berubah menjadi patogen ketika daya tahan tubuh menurun. Penyakit infeksi dapat bersifat endemik, epidemik, atau pandemik, bergantung pada tingkat kejadian dan penyebarannya.

Perjalanan infeksi akut umumnya terdiri atas empat fase, yaitu periode inkubasi, periode prodromal dengan gejala umum seperti demam dan malaise, periode sakit dengan gejala khas, serta periode penyembuhan ketika kondisi pasien berangsur membaik. Dalam beberapa kasus, infeksi dapat berlangsung tanpa gejala (subklinis), menetap dalam tubuh dan kambuh kembali (laten), atau menjadikan individu sebagai karier kronis (Putri et al., 2017).

Patogenitas bakteri ditentukan oleh beberapa mekanisme. Pertama, transmisi, yaitu proses penularan yang dapat terjadi secara eksogen dari luar tubuh maupun endogen dari flora normal yang menjadi patogen. Jalur penularan mencakup inhalasi, ingesti, maupun inokulasi melalui kontak langsung, jarum suntik, transfusi darah, atau gigitan serangga. Pintu masuk bakteri umumnya melalui kulit, saluran pernapasan, saluran pencernaan, dan saluran genitourinaria. Kedua, perlekatan, yaitu kemampuan bakteri menempel pada permukaan sel inang dengan bantuan struktur khusus seperti pili atau polisakarida ekstraseluler, yang memungkinkan kolonisasi pada jaringan tertentu, misalnya *E. coli* pada saluran kemih dan *Streptococcus mutans* pada gigi. Ketiga, invasi, yaitu daya serang bakteri yang didukung enzim tertentu, seperti hialuronidase, kolagenase, koagulase, protease IgA, dan leukosidin, yang berperan dalam merusak jaringan inang, menghindari fagositosis, serta melemahkan sel imun (Putri et al., 2017).

Faktor penting lain dalam patogenitas adalah toksigenitas, yaitu kemampuan bakteri menghasilkan toksin. Toksin dibedakan menjadi dua jenis utama, yaitu endotoksin dan eksotoksin. Endotoksin merupakan bagian dari lipopolisakarida (LPS) dinding sel bakteri Gram negatif, yang dilepaskan ketika sel mengalami lisis. Toksin ini umumnya menimbulkan gejala sistemik seperti demam dan syok, tetapi bersifat antigen lemah dan tidak dapat dijadikan vaksin. Sebaliknya, eksotoksin adalah protein yang disekresikan oleh bakteri Gram positif maupun Gram

negatif. Eksotoksin memiliki toksisitas tinggi dengan efek yang lebih spesifik, misalnya neurotoksin pada tetanus dan botulisme, serta enterotoksin pada kolera. Eksotoksin bersifat antigenik kuat sehingga dapat merangsang pembentukan antitoksin, dan setelah dinaktivasi menjadi toksoid dapat dimanfaatkan untuk pembuatan vaksin (Putri et al., 2017).

2.1.3 Pengobatan Infeksi Bakteri

Antibiotik merupakan obat yang dipakai untuk mencegah dan mengobati penyakit infeksi yang biasanya disebabkan oleh bakteri. Infeksi adalah penyakit yang disebabkan oleh masuknya mikroorganisme ke dalam tubuh yang kemudian memicu reaksi dari sistem imun. Masalah yang berkaitan dengan antibiotik saat ini telah menjadi isu global. Penggunaan antibiotik secara tidak bijak memberikan kontribusi besar terhadap meningkatnya kasus resistensi antibiotik secara signifikan (Emelda et al., 2023).

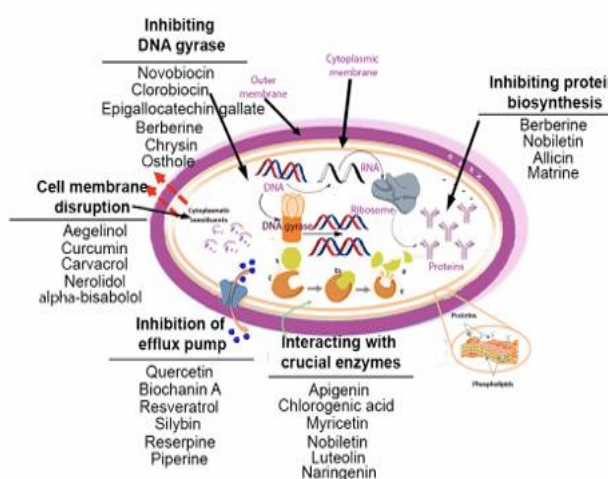
Resistensi antibiotik muncul saat bakteri mengalami perubahan atau mutasi yang membuatnya tidak bisa lagi terhambat atau dibunuh oleh antibiotik. Keadaan ini membuat infeksi akibat bakteri resisten menjadi semakin sulit untuk disembuhkan. Hal itu terjadi karena bakteri dapat memproduksi protein atau enzim tertentu yang berfungsi menetralkan bahkan menghancurkan efek antibiotik. Kemampuan mikroorganisme untuk menurunkan efektivitas antibiotik disebut sebagai resistensi (Emelda et al., 2023).

2.2 Antibakteri

Menurut (Khameneh et al., 2019) mekanisme aksi agen antibakteri mencakup beberapa jalur utama. Pertama, penekanan biosintesis protein dengan menargetkan subunit ribosom sehingga proses inisiasi, elongasi, dan terminasi translasi terhenti; mekanisme ini digunakan oleh antibiotik seperti makrolida, tetrasiklin, aminoglikosida, dan oksazolidinon. Kedua,

penghambatan sintesis dinding sel melalui penghambatan enzim transpeptidase dan transglukosilase yang terlibat dalam pembentukan ikatan silang peptidoglikan, mengakibatkan kelemahan struktur dinding sel; contohnya adalah antibiotik seperti penisilin, sefalosporin, dan vankomisin.

Mekanisme lain yang menjanjikan adalah penghambatan pembelahan sel dengan menargetkan protein *Filamenting temperature-sensitive mutant Z* (FtsZ), yang memiliki peran penting dalam pembentukan dinding sel baru; inhibisi FtsZ akan menghalangi proses sitokinesis pada bakteri. Selain itu, antibakteri dapat menghambat sintesis asam nukleat dengan menargetkan DNA girase dan topoisomerase IV yang berfungsi dalam replikasi, perbaikan, serta transkripsi DNA; mekanisme ini diterapkan oleh asam nalidiksat dan fluoroquinolon seperti siprofloksasin (Khameneh et al., 2019). Beberapa antibiotik bekerja dengan merusak membran sel bakteri, seperti polimiksin yang berikatan dengan lipid A pada lipopolisakarida, yang mengakibatkan kebocoran isi sel, gangguan permeabilitas, hingga kematian bakteri; kerusakan membran ini juga dapat memengaruhi metabolisme energi sel serta mengakibatkan koagulasi sitoplasma (Khameneh et al., 2019).



Gambar 2.5 Mekanisme Kerja Antibakteri dari Senyawa Turunan Tanaman
(Khameneh et al., 2021)

Polifenol seperti flavanol dan asam fenolik telah diketahui memiliki aktivitas antibakteri yang kuat. Mekanismenya mencakup penghambatan faktor virulensi bakteri (enzim dan toksin), berinteraksi dengan membran sitoplasma atau menurunkan pH, menghalangi pembentukan biofilm, menciptakan efek sinergis dengan antibiotik tradisional, serta mengurangi aktivitas polisakarida ekstraseluler (Khameneh et al., 2021).

Alkaloid adalah kelompok senyawa penting yang menunjukkan sifat antibakteri, di mana berbagai variasi struktur kimianya memberikan potensi aktivitas terhadap berbagai patogen bakteri. Selain itu, kumarin, terpenoid, flavonoid, dan steroid dilaporkan memiliki mekanisme antibakteri dengan cara menghambat biosintesis dinding sel, merusak membran, menghalangi sintesis protein, replikasi dan perbaikan DNA, serta mengganggu jalur metabolisme bakteri. Fitokimia yang memiliki sifat antibakteri juga terbukti mampu mengembalikan efisiensi antibiotik konvensional, meningkatkan permeabilitas membran sel bakteri, serta menghambat kemunculan resistensi. Hal tersebut menjadikannya kandidat potensial sebagai agen antimikroba baru yang lebih aman dan efisien dibandingkan dengan antibiotik sintetik (Khameneh et al., 2021).

2.3 Tanaman Daun Kakao

2.3.1 Klasifikasi

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

Tabel 2.1 Taksonomi Tanaman Kakao

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

Sumber: (Matatula et al., 2022)

2.3.2 Deskripsi

Kakao (*Theobroma cacao* L.) merupakan salah satu tanaman perkebunan yang termasuk dalam famili *Sterculiaceae*. Tanaman ini berasal dari kawasan Amerika Selatan dan banyak dibudidayakan di berbagai wilayah tropis (Farhanandi et al., 2022). Kakao (*Theobroma cacao* L.) merupakan tanaman tahunan (*perennial*) berbentuk pohon yang tingginya mencapai 10 meter. Sebagai tanaman tahunan, kakao termasuk dalam kelompok tanaman *kauliflori*, yaitu tanaman yang berbunga dan berbuah pada batang dan cabang (Matatula et al., 2022). Biji kakao diolah menjadi produk bernilai tinggi yang dikenal luas, yaitu coklat (Farhanandi et al., 2022).



Gambar 2.6 Tanaman Kakao. Sumber: Dokumentasi Pribadi

Kakao merupakan tanaman tropis yang menyukai kondisi teduh (*shade loving plant*) dengan potensi produksi berkisar antara 50 hingga 120 buah per pohon setiap tahun. Tanaman ini berproduksi hingga usia sekitar 30 tahun. Pertumbuhan dan perkembangannya sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan, terutama iklim dan kondisi tanah. Unsur iklim seperti curah hujan, suhu udara, serta intensitas cahaya matahari berperan penting dalam menentukan kualitas pertumbuhan tanaman. Sementara itu, faktor tanah berhubungan erat dengan kemampuan akar dalam menembus lapisan tanah dan menyerap unsur hara. Di Indonesia, wilayah yang dianggap ideal untuk budidaya kakao

umumnya berada pada ketinggian kurang dari 800 meter di atas permukaan laut (Matatula et al., 2022).

2.3.3 Morfologi

Tanaman kakao memiliki sistem perakaran tipe *surface root feeder*, di mana mayoritas akar lateral menyebar secara horizontal pada lapisan tanah atas (0-30 cm) dan meluas jauh melebihi tajuk. Dalam perbanyakan generatif melalui biji, terbentuk akar utama (*radix primaria*) yang dapat tumbuh hingga 8 meter dan mencapai kedalaman 15 meter. Sebaliknya, tanaman yang diperoleh melalui perbanyakan vegetatif awalnya menghasilkan banyak akar serabut, lalu berkembang menjadi dua akar seperti akar tunggang yang dapat mendukung pertumbuhan yang tegak dan kuat. Pertumbuhan akar sangat dipengaruhi oleh keadaan tanah, air, dan hambatan fisik (Matatula et al., 2022). Pohon kakao dapat mencapai tinggi 8-10 meter, tetapi dalam praktik budidaya biasanya dibatasi agar tidak lebih dari 5 meter dengan banyak cabang yang produktif. Ciri percabangan kakao dikenal sebagai dimorfisme, yaitu adanya tunas ortotrop yang tumbuh tegak dan tunas plagiotrop yang tumbuh menyamping membentuk cabang kipas (Matatula et al., 2022).

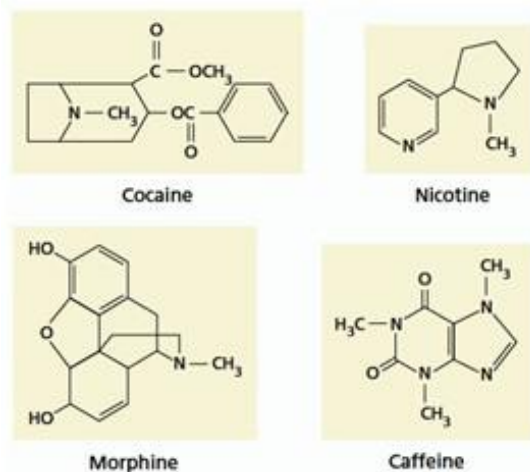
Daun kakao menunjukkan karakteristik dimorfisme. Pada tunas ortotrop, panjang tangkai daun berkisar antara 7,5-10 cm, sedangkan pada tunas plagiotrop hanya sekitar 2,5 cm. Daun muda (*flush*) memiliki warna merah dan tekstur halus seperti sutra, kemudian bertransformasi menjadi hijau kasar saat mencapai dewasa. Daun yang sudah dewasa dapat memiliki panjang hingga 30 cm dan lebar sekitar 10 cm, berbentuk oval, dengan ujung yang meruncing, bertulang menyirip, serta permukaan yang halus, dan mengkilap. Ciri khasnya adalah terdapat dua sendi pada tangkai daun yang memungkinkan daun untuk mengubah arah sesuai dengan cahaya matahari. Bunga kakao adalah bunga sempurna yang memiliki diameter 1,5 cm, terdiri dari lima helai

kelopak dan 10 benang sari, serta tumbuh secara berkelompok di bantalan bunga (*cushion*) pada batang (*kauliflori*) maupun di cabang (*ramiflori*). Warna bunga bervariasi merah, putih, atau ungu tergantung pada kultivarnya (Matatula et al., 2022). Buah kakao memiliki bentuk buni dan warnanya bervariasi antara hijau atau merah saat masih muda, lalu berubah menjadi kuning atau jingga ketika matang setelah 5-6 bulan. Kulit buah memiliki sepuluh alur memanjang yang dapat bersifat dangkal (*superficial*) atau tampak jelas pada permukaan, tergantung pada varietas atau jenis buahnya (Matatula et al., 2022).

2.3.4 Kandungan Kimia Daun Kakao

1. Alkaloid

Alkaloid adalah salah satu golongan metabolit sekunder yang paling umum ditemukan di tumbuhan, biasanya bersifat basa dan memiliki atom nitrogen dalam strukturnya yang berbentuk siklik. Senyawa ini memiliki peran krusial dalam metabolisme dan pengendalian pertumbuhan tumbuhan, serta menunjukkan aktivitas biologis yang beragam. Secara umum, alkaloid memiliki karakteristik berupa bentuk kristal padat, meskipun ada yang berbentuk cair seperti nikotin, mempunyai rasa pahit, mampu memutar bidang polarisasi, larut dalam air sebagai garam, dan larut dalam pelarut organik dalam keadaan bebasnya. Pada manusia, alkaloid sering digunakan sebagai obat, seperti untuk analgesik, ekspektoran, stimulan sistem saraf pusat, midriatik, miotik, serta untuk terapi tekanan darah (Putri & Chatri, 2024)



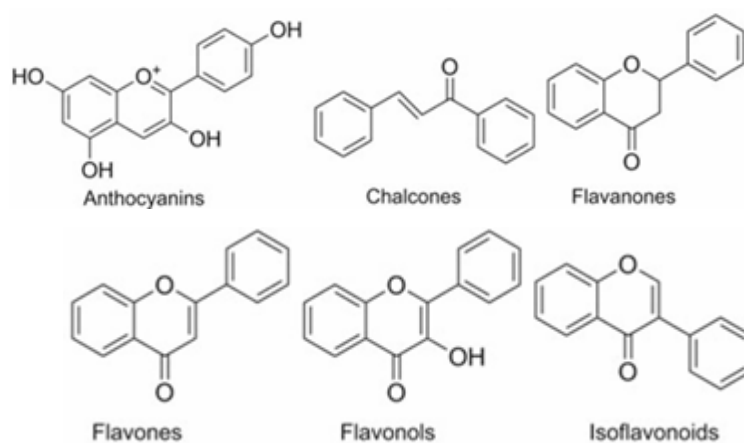
Gambar 2.7 Contoh-contoh Alkaloid (Anggraito et al., 2018)

Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri Adalah dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan dalam sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak berbentuk sempurna dan akhirnya mengakibatkan kematian sel. Selain itu, alkaloid juga dapat berfungsi sebagai interkelator DNA dan menghambat aktivitas enzim topoisomerase dalam sel bakteri (Hasanah & Gultom, 2020). Dengan berbagai karakteristik tersebut, tanaman yang mengandung alkaloid berpotensi menunjukkan aktivitas antibiotik (I. I. Putri & Chattri, 2024).

2. Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu golongan metabolit sekunder yang banyak ditemukan pada tumbuhan dan dikenal memiliki aktivitas antimikroba yang luas. Flavonoid dapat menghambat sintesis asam nukleat dengan cara berinteraksi langsung dengan DNA bakteri maupun enzim yang berperan dalam replikasi, sehingga proses pembelahan dan perbaikan DNA terganggu. Flavonoid bekerja dengan merusak struktur membran sel. Senyawa ini mampu membentuk kompleks dengan protein membran melalui ikatan hidrogen, sehingga menyebabkan ketidakstabilan struktur dinding sel maupun membran sitoplasma. Kondisi tersebut mengakibatkan terganggunya permeabilitas membran, hilangnya fungsi biologis

sel, dan berakhir pada kematian bakteri. Kerusakan membran umumnya juga memicu masuknya air secara tidak terkontrol ke dalam sel, yang menyebabkan pembengkakan hingga lisis. Flavonoid dapat mengganggu metabolisme energi dengan menghambat enzim-enzim yang berperan dalam jalur pernapasan sel bakteri, sehingga produksi energi seluler berkurang drastis. Dengan mekanisme-mekanisme tersebut, flavonoid berperan langsung sebagai antibiotik alami yang mampu menghambat pertumbuhan bahkan menyebabkan kematian sel bakteri (Rohama et al., 2023).

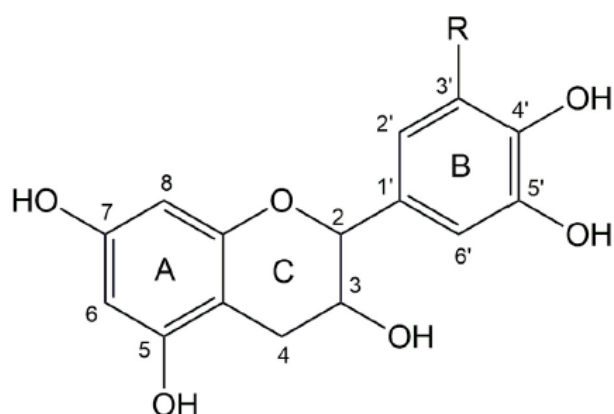


Gambar 2.8 Kelas-kelas Flavonoid (Panche et al., 2016).

3. Tanin

Tanin merupakan senyawa bioaktif golongan polifenol. Gugus seperti -OH pada tanin mampu berfungsi sebagai antioksidan karena dapat meredam radikal bebas superoksida (O_2^-), hidroksil, peroksil (ROO^-), hidrogen peroksida (H_2O_2), singlet oksigen (1O_2), oksigen nitrit (NO^-), dan peroksinitrit ($ONOO^-$) yang terdapat di dalam tubuh (Anggraito et al., 2018). Sebagai antibakteri dapat berinteraksi dengan protein bakteri, termasuk adhesin, sehingga dapat merusak reseptor di permukaan sel. Senyawa ini juga dapat membentuk kompleks yang bersifat *irreversible* dengan protein, yang berujung pada penghambatan sintesis protein dalam proses pembentukan dinding sel bakteri. Selain itu, tanin dapat berikatan

dengan membran sel dan menginaktivasi enzim serta merusak materi genetik dengan membentuk kompleks protein melalui ikatan hidrogen dan hidrofobik. Pada konsentrasi rendah, tanin berfungsi menghalangi pertumbuhan bakteri, sementara pada konsentrasi tinggi bisa berperan sebagai antibakteri dengan cara mengkoagulasi protoplasma, yang menghasilkan ikatan stabil dengan protein bakteri (Rohama et al., 2023).



R = H; Catechin or Epicatechin

R = OH; Gallocatechin or Epigallocatechin

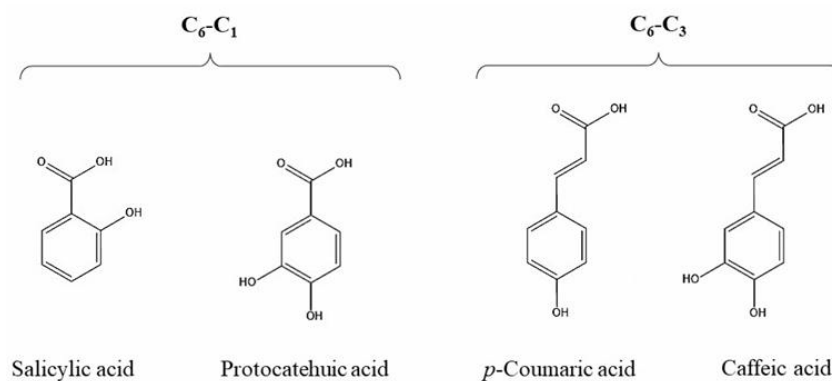
Gambar 2.9 Struktur Kimia Monomer Tanin Terkondensasi

(Romero et al., 2025).

4. Polifenol

Daun kakao diketahui mengandung senyawa polifenol yang terdiri atas epigalo katekin galat (EGCG), epigalo katekin (EGC), epi katekin galat (ECG), dan epi katekin (EC). Kandungan senyawa tersebut bervariasi tergantung pada umur daun. Pada daun muda, yang terdiri dari pucuk dan tiga daun di bawahnya, total polifenol mencapai 19,0% dengan kadar kafein sebesar 2,24% dan total katekin sebesar 9,75% dari total polifenol. Sementara itu, pada daun tua (daun nomor lima hingga delapan), total polifenol meningkat menjadi 28,4%, kafein menurun menjadi 1,33%, dan total katekin berkurang menjadi 5,25% dari total polifenol (Khalid & Sulaeman, 2024).

Senyawa polifenol dalam daun kakao memiliki berbagai fungsi biologis, terutama sebagai antioksidan dan antibakteri. Sebagai antioksidan, polifenol mampu menghambat aktivitas enzim serta mengikat ion logam yang berperan dalam pembentukan radikal bebas, bertindak sebagai donor hidrogen untuk menetralkan radikal bebas, dan menghambat proses oksidasi. Polifenol juga berperan dalam menurunkan oksidasi LDL, meningkatkan produksi *nitric oxide* (NO) yang membantu pelebaran pembuluh darah, serta mencegah aterosklerosis dan penyakit kardiovaskular (Anggraito et al., 2018). Selain itu, polifenol menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap berbagai jenis bakteri melalui beberapa mekanisme, seperti menghambat faktor virulensi bakteri (enzim dan toksin), berinteraksi dengan membran sitoplasma sehingga menurunkan pH sel, mencegah pembentukan biofilm, memperkuat efek antibiotik konvensional, serta menghambat aktivitas polisakarida ekstraseluler dengan bertindak sebagai inhibitor alami (Khameneh et al., 2021).



Gambar 2.10 Rumus Struktural Polifenol Sederhana

(Zagoskina et al., 2023).

2.3.5 Manfaat dan Khasiat

1. Antioksidan

Kakao banyak mengandung senyawa bioaktif, terutama polifenol yang berkhasiat sebagai antioksidan alami dan antimikroba. Efek antioksidan yang terdapat pada kakao akan mempengaruhi resistensi insulin sehingga dapat mengurangi resiko diabetes. Kakao juga dapat memodulasi sistem imun dan dapat mencegah penyakit kanker juga jantung coroner. Kandungan fenolik dalam kakao lebih besar dibandingkan makanan pada umumnya. Senyawa flavonoid termasuk *catechin*, *epicatechin*, dan *procyanidins* yang terkandung dalam kakao mendominasi aktivitas antioksidan. Polifenol dan flavonoid bekerja dengan cara menetralkan dan menghambat aktivitas radikal bebas dalam tubuh (Matatula et al., 2022).

2. Antibakteri dan Antifungi

Daun kakao diketahui mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti kafein, flavonoid, dan alkaloid. Senyawa kafein berperan dalam menghambat proses sintesis dinding sel yang kemudian menyebabkan sel mikroba mengalami lisis dan berujung pada kematian. Flavonoid berfungsi sebagai inhibitor proliferasi dengan menghambat proses pembelahan sel sehingga pertumbuhan mikroba dapat ditekan. Selain itu, alkaloid bekerja dengan mengganggu komponen peptidoglikan pada dinding sel, sehingga struktur dinding sel tidak terbentuk secara sempurna (Permataningrum et al., 2019). Selain itu, senyawa polifenol seperti tanin dapat berinteraksi dengan protein bakteri dan menghambat pembentukan dinding sel. Senyawa ini juga dapat membentuk kompleks yang bersifat *irreversible* dengan protein, yang berujung pada penghambatan sintesis protein dalam proses pembentukan dinding sel bakteri. Selain itu, tanin dapat berikatan dengan membran sel dan menginaktivasi enzim serta merusak

materi genetik dengan membentuk kompleks protein melalui ikatan hidrogen dan hidrofobik (Rohama et al., 2023).

2.4 Tanaman Belimbing Wuluh

2.4.1 Klasifikasi

Menurut (Nurlela & Harfika, 2017) klasifikasi taksonomi tanaman Belimbing Wuluh, sebagai berikut:

Tabel 2.2 Taksonomi Tanaman Belimbing Wuluh

Kategori	Keterangan
Subkingdom	<i>Tracheobionta</i>
Super divisi	<i>Spermatophyta</i>
Divisio	<i>Magnoliophyta</i>
Kelas	<i>Magnoliopsida</i>
Sub Kelas	<i>Rosidae</i>
Ordo	<i>Geraniales</i>
Famili	<i>Oxalidaceae</i>
Genus	<i>Averrhoa</i>
Spesies	<i>Averrhoa bilimbi</i> L.

Sumber: (Nurlela & Harfika, 2017).

2.4.2 Deskripsi

Belimbing adalah istilah dalam bahasa Melayu untuk tanaman buah dari keluarga *Oxalidaceae*, yang termasuk dalam genus *Averrhoa*. Secara umum, tanaman ini dikategorikan menjadi dua tipe, yaitu belimbing manis (*Averrhoa carambola*) dan belimbing asam (*Averrhoa bilimbi*), yang lebih dikenal dengan sebutan belimbing wuluh. Tanaman belimbing wuluh berasal dari Maluku dan kemudian menyebar ke berbagai daerah di Indonesia (Suryaningsih et al., 2016). Tanaman belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn.) merupakan tanaman yang mudah dibudidayakan dan dirawat, sehingga banyak dijumpai di berbagai daerah. Tanaman ini mampu berbuah sepanjang tahun, namun buahnya sering kali gugur sebelum dimanfaatkan secara optimal. Selain itu, bagian lain seperti tangkai dan daun yang ikut berguguran umumnya hanya menjadi limbah. Oleh karena itu, khususnya bagian daun

belimbing wuluh perlu dimanfaatkan secara maksimal agar tidak terbuang sia-sia (Tiara Putri et al., 2024).



Gambar 2.11 Tanaman Belimbing Wuluh. Sumber: Dokumentasi Pribadi

Belimbing wuluh merupakan jenis tanaman pohon yang dapat mencapai ketinggian 5-500 meter dari permukaan laut, dengan batang yang dapat tumbuh hingga ± 15 meter dan memiliki percabangan yang tergolong sedikit. Buahnya memiliki rasa yang sangat asam dengan biji yang pipih dan banyak kandungan air saat matang (Suryaningsih et al., 2016). Tanaman ini umumnya tumbuh di pekarangan rumah dan tergolong mudah dibudidayakan. Selain digunakan sebagai obat tradisional, belimbing wuluh juga banyak dimanfaatkan dalam kehidupan sehari-hari, seperti penyedap makanan, rempah masak, pengawet, penambah kesegaran rasa, hingga sebagai pembersih noda pada pakaian, tubuh, logam, maupun keramik (Aseptianova dan Yuliany, 2020). Komponen kimia yang ada dalam belimbing wuluh meliputi tanin, saponin, glukosa, sulfur, asam format, peroksida, flavonoid, dan triterpenoid (Suryaningsih et al., 2016).

2.4.3 Morfologi

Belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*) adalah tanaman buah yang memiliki ciri warna hijau kekuningan dan rasa asam yang menyegarkan. Buahnya berbentuk oval atau lonjong dengan ukuran yang bervariasi dari kecil sampai besar, dan mengandung banyak air. Belimbing wuluh tumbuh berkelompok pada batangnya, sedangkan daunnya berwarna hijau dengan ukuran kecil, dan saat dewasa akan berubah menjadi kuning sebelum akhirnya jatuh. Bunganya berwarna ungu kecil, sedangkan batang pohonnya dapat tumbuh hingga 5-10 meter, bercabang, dan memiliki akar serabut. Tanaman ini termasuk non-musiman karena dapat tumbuh sepanjang tahun dan banyak ditemukan di berbagai wilayah Indonesia. Keunikan lain dari belimbing wuluh adalah kemampuan buah dan bunga untuk berkembang langsung pada batang maupun kulit pohonnya (Dermana et al., 2025).

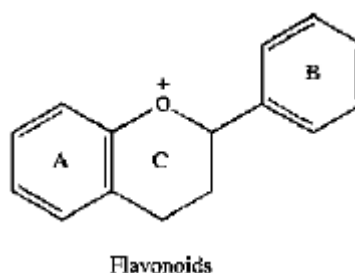
Batang belimbing wuluh berbentuk tegak dengan permukaan kasar dan banyak tonjolan dengan warna hijau kotor. Daun majemuk, menyirip, dengan anak daun 25-45 helai, berbentuk bulat telur, ujung runcing, pangkal membulat dengan panjang 7-10 cm dan lebar 1-3 cm, tangkai pendek dan berwarna hijau. Bunga majemuk dengan bentuk malai (bintang), cabang menggantung dan berada pada tonjolan batang. Akar pohon tunggang coklat kehitaman. Buah berbentuk buni, bulat dengan panjang 4-6 cm berwarna hijau kekuningan (Lestari & Kurniawaty, 2016).

2.4.4 Kandungan Kimia Daun Belimbing Wuluh

1. Flavonoid

Flavonoid adalah kelompok senyawa fenolik terbesar yang banyak terdapat di alam dan memiliki aktivitas biologis signifikan, termasuk sebagai antivirus, antibakteri, serta antijamur (Fadel et al., 2021). Keragaman senyawa flavonoid terjadi akibat perbedaan tingkat hidroksilasi, alkoksilasi, dan glikosilasi dalam strukturnya.

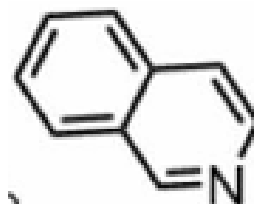
Flavonoid mempunyai struktur dasar yang terdiri dari 15 atom karbon dengan pola C6-C3-C6, dan sampai sekarang lebih dari 2.000 jenis telah berhasil diidentifikasi dari berbagai jenis tumbuhan, termasuk antosianin, flavonol, dan flavon (Julianto, 2019). Mekanisme flavonoid sebagai antibakteri bekerja dengan membentuk kompleks dengan protein terlarut maupun ekstraseluler, yang dapat merusak membran sel bakteri dan menghambat pertumbuhan mikroorganisme (Widyasanti & Febrianti, 2024).



Gambar 2.12 Struktur Dasar Flavonoid (Salim et al., 2020).

2. Alkaloid

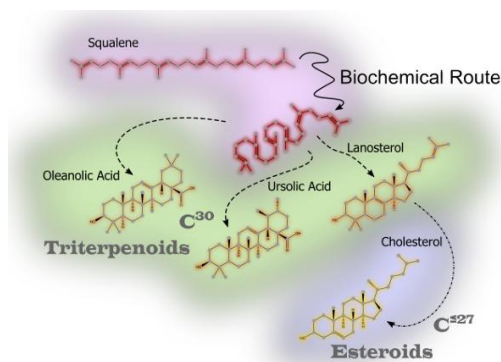
Alkaloid adalah salah satu metabolit sekunder yang memiliki sifat antibakteri dengan cara merusak membran serta dinding sel bakteri, yang mengakibatkan sel mati. Dinding sel memiliki peran krusial dalam reproduksi bakteri, sementara membran sel berfungsi untuk melindungi bagian dalam sel. Kerusakan pada dua struktur ini akan mengganggu fungsi penting bakteri dan pada akhirnya menyebabkan kematian (Dwika Sari et al., 2022).



Gambar 2.13 Struktur Alkaloid Sederhana (Yang et al., 2024)

3. Saponin

Saponin memiliki kemampuan sebagai antibakteri, di mana cara kerjanya dapat mengakibatkan kebocoran protein dan enzim dari sel dengan merusak dinding sel bakteri (Dwika Sari et al., 2022). Saponin bekerja dengan membentuk kompleks dengan membran sel melalui ikatan hidrogen, yang menyebabkan destruksi struktur protein, sehingga permeabilitas membran sel menjadi tidak seimbang dan mengakibatkan lisis sel. Sedangkan tanin dapat merusak membran serta fungsi materi genetik sel bakteri (Widyasanti & Febrianti, 2024).

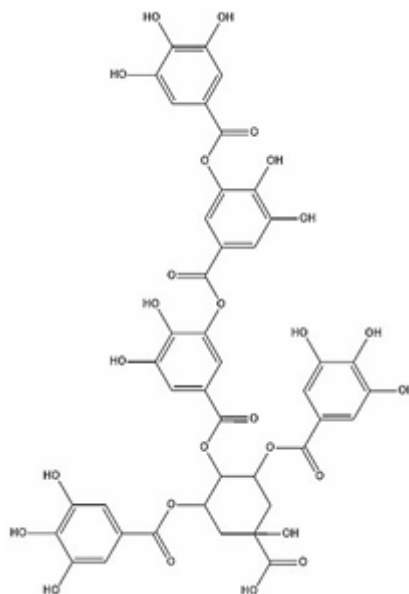


Gambar 2.14 Jalur Biosintesis Saponin

(Domínguez-Arca et al., 2025)

4. Tanin

Tanin adalah senyawa fenolik yang memberikan rasa pahit dan sepat, serta dapat berinteraksi dengan protein atau senyawa organik lain yang mengandung asam amino dan alkaloid. Senyawa ini dibedakan menjadi dua jenis, yaitu tanin terhidrolisis (asam galat dan asam elegat) serta tanin terkondensasi (Julianto, 2019). Aktivitas antibakteri tanin berjalan melalui presipitasi protein, di mana turunan fenol berinteraksi dengan sel bakteri melalui ikatan hidrogen. Pada konsentrasi rendah terbentuk kompleks fenol-protein yang selanjutnya terdegradasi, memungkinkan fenol masuk ke dalam sel, mengakibatkan koagulasi, kerusakan membran, dan akhirnya mengakibatkan kematian bakteri (Dwika Sari et al., 2022).



Gambar 2.15 Rumus Struktur Senyawa Polimer Bersifat Fenolik (Tannin) (Zagoskina et al., 2023)

2.4.5 Manfaat dan Khasiat

1. Antibakteri

Belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) mengandung senyawa aktif seperti flavonoid, tanin, dan saponin yang berperan sebagai antibakteri sekaligus antifungi (N. T. Putri et al., 2024). Berdasarkan hasil penelitian Dwika Sari et al. (2022) menunjukkan bahwa ekstrak daun dan buah belimbing wuluh mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif, antara lain *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Propionibacterium acnes*, serta *Staphylococcus epidermidis*. Aktivitas antibakteri ini dikaitkan dengan adanya flavonoid dan saponin yang bekerja secara sinergis, dengan mekanisme berupa gangguan integritas membran sel melalui interaksi dengan lipid membran, denaturasi protein seluler, serta penghambatan sintesis dinding sel bakteri (Nadia et al., 2025).

2. Antioksidan

Kandungan flavonoid yang terdapat pada daun belimbing wuluh berkhasiat sebagai antioksidan yang dapat membantu penyembuhan luka (Abanit et al., 2025). Flavonoid, yang termasuk dalam kelompok polifenol, mampu mengikat radikal bebas sehingga bertindak sebagai super antioksidan dengan kemampuan antiinflamasi, antikanker, dan pencegah kerusakan oksidatif sel. Fungsi utama antioksidan adalah menghentikan reaksi berantai radikal bebas dan menetralkannya, sehingga melindungi sistem biologis tubuh dari dampak negatif akibat oksidasi berlebihan. Secara alami, tubuh memproduksi antioksidan endogen yang berupa enzim seperti superoksida dismutase, katalase, dan glutathion peroksidase. Namun, aktivitas enzim ini dapat berkurang dalam kondisi patologis saat jumlah radikal bebas meningkat secara berlebihan (Hasim et al., 2019).

2.5 Total Flavonoid

Flavonoid termasuk salah satu golongan metabolit sekunder yang paling banyak terdapat dalam jaringan tanaman. Analisis kandungan flavonoid umumnya dilakukan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis secara kolorimetri, karena metode ini memiliki tingkat sensitivitas dan selektivitas yang tinggi. Flavonoid mampu menyerap cahaya pada panjang gelombang 400–800 nm akibat adanya gugus aromatik terkonjugasi, dan hasil pengukuran kadar totalnya dinyatakan dalam mgQE/g ekstrak (Ahyani et al., 2025). Metode kolorimetri dilakukan dengan pereaksi aluminium klorida (AlCl_3) karena reaksi warna dapat meningkatkan kepekaan dan selektivitas. Flavonoid dapat membentuk kompleks warna dengan AlCl_3 sehingga dapat ditetapkan dengan metode kolorimetri, kompleks ini terbentuk melalui interaksi antara gugus keton pada atom C-4 dan gugus hidroksil pada atom C-3 atau C-5, yang menjadi ciri khas struktur flavonoid (Mursiany et al., 2024).

2.6 Total Fenolik

Senyawa fenol adalah jenis metabolit sekunder yang paling banyak terdapat pada tumbuhan dan berfungsi sebagai antioksidan alami yang penting. Kemampuannya dalam menghasilkan radikal fenoksi yang stabil saat proses oksidasi menjadikannya berguna untuk menetralkan radikal bebas. Peningkatan konsentrasi senyawa fenolik akan meningkatkan jumlah radikal bebas yang bereaksi dan terstabilkan, sehingga menghasilkan penurunan kadar radikal bebas dan peningkatan aktivitas antioksidan (Hafidz et al., 2025). Penentuan kadar total fenolik umumnya dilakukan menggunakan pereaksi *Folin-Ciocalteu* (F-C), yaitu suatu pereaksi redoks yang bereaksi spesifik dengan senyawa polifenol dalam ekstrak tanaman untuk membentuk kompleks berwarna biru yang dapat diukur dengan spektrofotometri UV-Vis (Salim et al., 2020). Pereaksi F-C, yang mengandung senyawa kompleks molibdotungstosfat ($3H_2O-P_2O_5-13WO_3-5MoO_3-10H_2O$), bereaksi dengan gugus fenolat menghasilkan warna biru ($PMoW_{11}O_4$)⁴⁻ yang diukur pada panjang gelombang 760 nm. Warna tersebut muncul karena ion molibdenum (Mo^{6+}) dalam pereaksi direduksi menjadi Mo^{5+} oleh donor elektron dari senyawa fenolik, yang menunjukkan adanya aktivitas antioksidan (Salim et al., 2020).

Dalam analisis ini, asam galat atau asam kafeat dipakai sebagai larutan baku standar, dan hasil pengukuran konsentrasi fenolik dinyatakan dalam mg ekuivalen asam galat per gram ekstrak (mg GAE/g ekstrak). Metode *Folin-Ciocalteu* banyak dipakai karena mudah, cepat, tepat, dan memiliki absorbansi pada panjang gelombang yang tinggi, sehingga mengurangi gangguan dari matriks sampel. Selain itu, pereaksi *Folin-Ciocalteu* tetap stabil jika disimpan dengan benar dari reduktor dan sinar. Secara prinsip, metode ini mengevaluasi kadar polifenol melalui reaksi redoks, di mana gugus fenolat dalam sampel mengalami oksidasi dan logam molibdenum dalam pereaksi mengalami reduksi, yang menghasilkan perubahan warna sebanding dengan jumlah total fenolik (Salim et al., 2020).

2.7 *Staphylococcus aureus*

2.7.1 Klasifikasi

Staphylococcus berasal dari kata *staphyle* yang berarti kelompok buah anggur dan kokus yang berarti benih bulat. *Aureus* berasal dari kata *aurum* yang berarti emas. Klasifikasi *Staphylococcus aureus* menurut Bergey's manual adalah:

Tabel 2.3 Klasifikasi *Staphylococcus aureus*

Kategori	Keterangan
Kerajaan	<i>Monera</i>
Divisi	<i>Firmicutes</i>
Kelas	<i>Bacili</i>
Ordo	<i>Bacillates</i>
Famili	<i>Staphylococcaceae</i>
Genus	<i>Staphylococcus</i>
Spesies	<i>Staphylococcus aureus</i>

Sumber: (Hasibuan, 2016)

2.7.2 Deskripsi

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat dari keluarga *Micrococcaceae* yang memiliki sifat katalase positif dan oksidase negatif. Secara umum, *S.aureus* tinggal sebagai flora normal di kulit dan saluran hidung, tetapi dapat bertindak sebagai patogen oportunistik yang menyebabkan berbagai infeksi, mulai dari bisul hingga pneumonia, serta keracunan makanan karena produksi toksin. Sejarahnya, bakteri ini pertama kali ditemukan oleh Alexander Ogston (1880) dan dibedakan oleh Friedrich Rosenbach (1884) berdasarkan ciri koloni berwarna emas yang dihasilkan oleh pigmen stafilo xantin. *S. aureus* berkembang dengan baik pada mannitol salt agar, memfermentasi manitol menjadi asam yang membedakannya dari *S. epidermidis*. Masalah utama bakteri ini adalah kemampuannya untuk cepat mengembangkan resistensi terhadap antibiotik, termasuk strain multiresisten yang diperkirakan bisa menyebabkan lebih dari 10 juta kematian per tahun pada 2050, melebihi angka kematian akibat kanker (Bashabsheh et al., 2024).

2.7.3 Morfologi

Staphylococcus aureus adalah bakteri Gram positif berbentuk bulat dengan ukuran sel sekitar 0,5 hingga 1,0 μm . Di bawah mikroskop cahaya setelah pewarnaan Gram, bakteri ini terlihat berkelompok mirip dengan anggur. Pengamatan mikroskop elektron memperlihatkan sel berwujud bulat dengan permukaan yang halus, dinding sel yang tebal, membran sitoplasma yang terlihat, serta sitoplasma yang amorf (Gnanamani et al., 2017).

Dalam keadaan terinfeksi, *Staphylococcus aureus* dapat membentuk biofilm, yaitu struktur kompleks yang terdiri dari sel bakteri dan matriks bahan polimer ekstraseluler (*extracellular polymeric substances*/EPS) yang berupa polisakarida, protein, dan DNA ekstraseluler. Kehadiran biofilm ini mengakibatkan perubahan morfologi dan fenotipe jika dibandingkan dengan bentuk planktoniknya, termasuk variasi ukuran sel, perbedaan laju pertumbuhan, serta pola ekspresi gen dan produksi protein yang unik. Sel dalam biofilm dapat berada dalam empat kondisi metabolik, yaitu aerobik aktif, fermentatif, dorman, atau bahkan mati, yang berperan dalam peningkatan resistensi terhadap antimikroba. Biofilm terbentuk melalui proses adhesi sel planktonik ke permukaan, diikuti oleh kolonisasi, maturasi dengan pembentukan EPS, dan akhirnya tahap dispersal di mana sel-sel kembali dilepaskan untuk membentuk biofilm yang baru. Ciri morfologi ini menjadikan *S. aureus* sangat tahan terhadap pengobatan antimikroba dan berkontribusi signifikan pada terjadinya infeksi yang berkepanjangan (Idrees et al., 2021)

2.7.4 Patogenesis

Patogenesis *Staphylococcus aureus* berlangsung melalui pengaktifan beragam faktor virulensi yang ditentukan oleh gen tertentu, termasuk toksin, eksoenzim, dan imunomodulator. Toksin adalah elemen kunci yang memungkinkan bakteri untuk mengatasi sistem pertahanan inang. Beberapa contohnya adalah *Toxin Shock Syndrome Toxin-1* (TSST-1) yang dikode oleh gen *tstH* dan mengakibatkan sindrom syok toksik, toksin eksfoliatif (*eta* dan *etb*) yang menyebabkan sindrom kulit melepuh, serta hemolisin dan leukotoksin (*hla* dan *lukDE*) yang merusak membran sel inang (Idrees et al., 2021).

Selain itu, eksoenzim seperti lipase, protease, dan nuklease yang diatur oleh sistem agr (*accessory gene regulator* sistem) dapat menyebabkan kerusakan jaringan dan infeksi metastatik, sementara imunomodulator seperti leukosidin dan *phenol-soluble modulins* (PSMs) berkontribusi terhadap infeksi invasif pada kulit, abses, dan pneumonia. *S. aureus* juga memiliki kemampuan untuk menghindari sistem imun bawaan berkat protein yang dikodekan oleh kluster gen *IEC1* dan *IEC2*. Faktor lain yang mendukung patogenesis adalah kemampuan bakteri untuk melekat pada jaringan inang (diatur oleh gen *clfAB*, *fnbAB*, *cna*, dan *ica*) serta kemampuan untuk bertahan (persistensi) melalui lokus *ica* dan gen *hemB* yang terkait dengan pembentukan biofilm. Faktor-faktor ini menjadikan *S. aureus* penyebab utama berbagai penyakit berat, termasuk endokarditis, artritis septik, fibrosis kistik, serta infeksi yang berulang (Idrees et al., 2021).

2.8 Metode Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan komponen dari suatu campuran menggunakan pelarut tertentu, yang didasarkan pada perbedaan kelarutan zat dalam dua fase cair yang tidak saling bercampur, seperti air dan pelarut organik. Proses ini melibatkan perpindahan zat atau solut dari larutan asal atau padatan ke dalam pelarut, sehingga memungkinkan pemisahan

komponen yang diinginkan dari campuran. Tujuan utama ekstraksi bahan aktif adalah untuk memperoleh rendemen atau jumlah hasil ekstrak yang diperoleh. Secara umum, metode ekstraksi dibedakan menjadi dua jenis, yaitu ekstraksi padat-cair dan ekstraksi cair-cair (Aji et al., 2017). Dengan demikian, ekstraksi dapat dipahami sebagai salah satu teknik pemisahan yang efektif karena memanfaatkan perbedaan kemampuan melarut dari masing-masing komponen dalam campuran (Badaring et al., 2020).

2.8.1 Sonikasi

Metode sonikasi adalah teknik ekstraksi yang memanfaatkan gelombang ultrasonik (≥ 20 kHz) untuk mempercepat pelepasan senyawa aktif dari bahan dengan pelarut organik, serta dapat meningkatkan kandungan antioksidan dalam waktu yang relatif singkat (Aryanti et al., 2025). Metode ini bersifat non-destruktif dan non-invasif, sehingga aman diterapkan pada berbagai bahan, termasuk bahan pertanian. Kelebihannya antara lain membutuhkan energi dan waktu lebih sedikit, berlangsung pada suhu rendah sehingga menjaga mutu ekstrak, serta memiliki efisiensi ekstraksi yang tinggi (Yasacaxena et al., 2023). Namun demikian, sonikasi juga memiliki keterbatasan, seperti potensi kerusakan senyawa yang sensitif terhadap panas, konsumsi energi yang cukup besar, dan biaya operasional yang tinggi. Keberhasilan ekstraksi dengan metode ini dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain ukuran partikel, rasio pelarut terhadap bahan, jenis pelarut, waktu, suhu, intensitas gelombang ultrasonik, serta durasi paparan (Aryanti et al., 2025; Yasacaxena et al., 2023).

Salah satu bentuk penerapan metode sonikasi yang banyak digunakan dalam penelitian bahan alam adalah *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE). Teknik ini memanfaatkan gelombang ultrasonik untuk membantu pelepasan senyawa aktif dari jaringan tanaman secara lebih efisien. Gelombang ultrasonik menimbulkan efek kavitasi, yaitu pembentukan dan pecahnya gelembung mikro di dalam pelarut yang menghasilkan

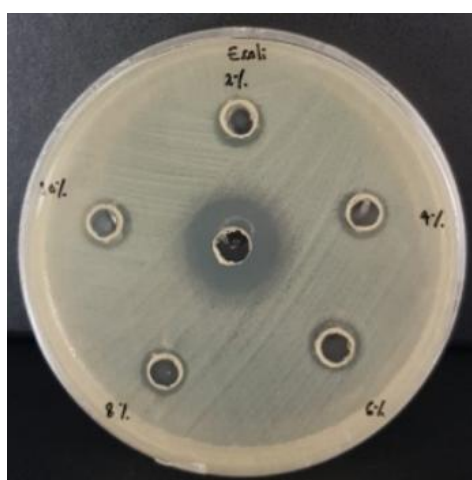
tekanan tinggi pada dinding dan membran sel tanaman. Proses ini meningkatkan penetrasi pelarut ke dalam jaringan, mempercepat perpindahan massa, serta memudahkan keluarnya senyawa bioaktif seperti alkaloid, flavonoid, polisakarida, protein, dan minyak esensial ke dalam pelarut. Dengan demikian, metode UAE mampu mempercepat proses ekstraksi, meningkatkan rendemen, dan menghasilkan ekstrak yang kaya senyawa aktif, sehingga banyak digunakan dalam penelitian fitokimia (Widyasanti et al., 2018).

2.9 Uji Aktivitas Antibakteri

2.9.1 Metode Difusi Agar

Aktivitas antibakteri dapat dipelajari menggunakan beberapa metode, yaitu metode dilusi, metode difusi agar, dan metode difusi dilusi. Metode difusi adalah metode yang sering digunakan untuk analisis aktivitas antibakteri. Prinsip kerja metode difusi adalah terdifusinya senyawa antibakteri ke dalam media padat dimana mikroba uji telah diinokulasikan. Hasil pengamatan yang diperoleh berupa ada atau tidaknya daerah bening yang terbentuk di sekeliling kertas cakram yang menunjukkan zona hambat pada pertumbuhan bakteri (Nurhayati et al., 2020).

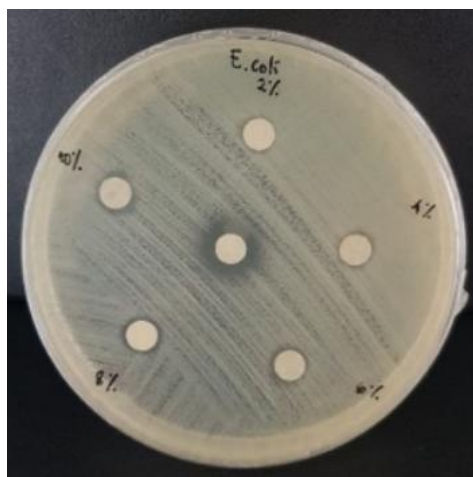
2.9.1.1 Difusi Sumuran



Gambar 2.16 Metode Difusi Sumuran (Nurhayati et al., 2020)

Metode sumuran dilakukan dengan cara membuat lubang tegak lurus pada media agar padat yang telah diinokulasi bakteri uji. Jumlah serta posisi lubang disesuaikan dengan kebutuhan penelitian, lalu masing-masing lubang diisi dengan sampel yang akan diuji. Setelah diinkubasi, diamati adanya zona hambat di sekitar sumuran sebagai indikator aktivitas antibakteri. Kelebihan metode ini adalah pengukuran zona hambat lebih mudah karena bakteri tumbuh tidak hanya di permukaan, tetapi juga hingga ke bagian bawah media agar. Namun, metode sumuran juga memiliki kelemahan, seperti kemungkinan tertinggalnya sisa agar pada media saat pembuatan sumuran, serta risiko media retak atau pecah di sekitar lubang yang dapat mengganggu peresapan sampel dan memengaruhi pembentukan diameter zona hambat pada uji sensitivitas (Nurhayati et al., 2020).

2.9.1.2 Difusi Cakram



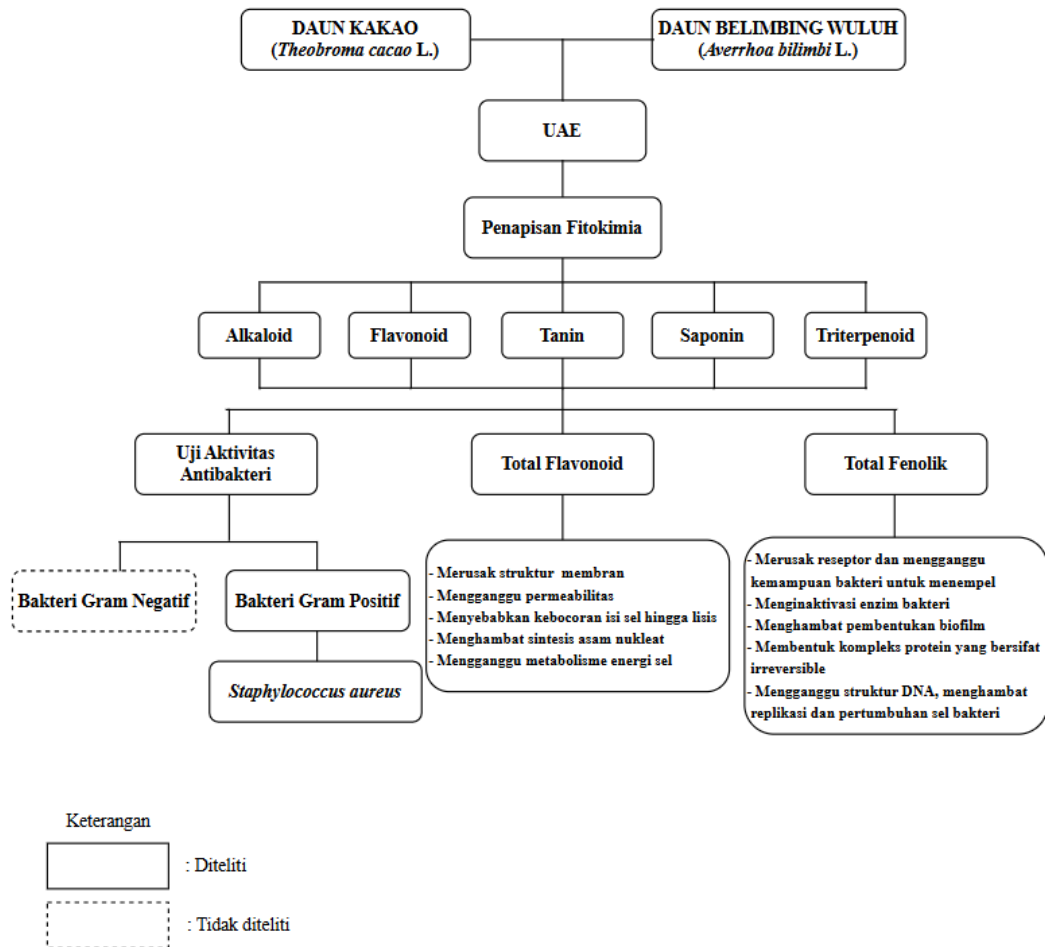
Gambar 2.17 Metode Difusi Cakram (Nurhayati et al., 2020)

Metode difusi cakram merupakan salah satu teknik uji aktivitas antimikroba yang dilakukan dengan menjenuhkan kertas cakram menggunakan bahan uji, kemudian meletakkannya pada permukaan media agar yang telah diinokulasi dengan mikroorganisme uji. Setelah diinkubasi pada suhu 35°C selama

18–24 jam, terbentuknya area bening di sekitar cakram menunjukkan adanya hambatan pertumbuhan mikroba. Diameter zona bening yang terbentuk sebanding dengan efektivitas antimikroba yang terkandung dalam sampel (Nurhayati et al., 2020).

Metode ini dipilih karena relatif cepat, mudah, sederhana, serta dapat digunakan untuk menguji senyawa nonpolar. Mekanisme kerjanya terjadi ketika agen antimikroba berdifusi dari kertas cakram ke media agar dan menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Dalam pengujian, digunakan kontrol positif untuk membandingkan diameter zona hambat dengan zat uji, serta kontrol negatif untuk memastikan bahwa aktivitas antimikroba yang muncul berasal dari senyawa dalam ekstrak, bukan dari pelarut yang digunakan (Katili et al., 2020).

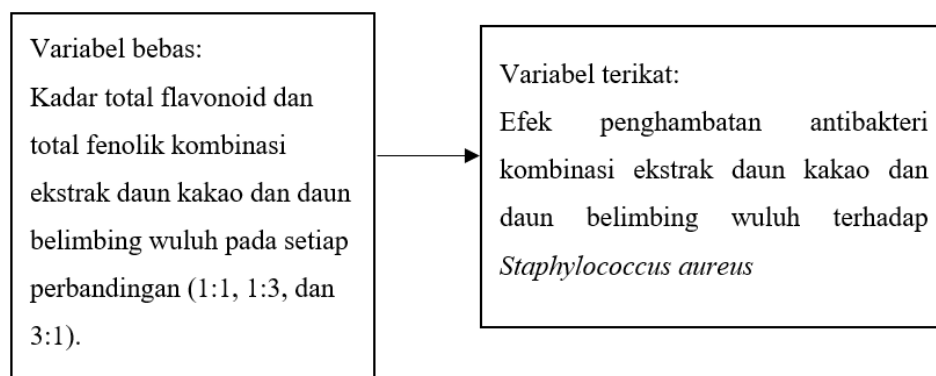
2.10 Kerangka Teori



Gambar 2.18 Kerangka Teori (Khameneh et al., 2021)(Rohama et al., 2023)

2.11 Kerangka Konsep

Adapun kerangka konsep pada penelitian ini adalah sebagai berikut:



Gambar 2.19 Kerangka Konsep

2.12 Hipotesis

2.12.1 Hipotesis null (H0)

1. Tidak terdapat perbedaan aktivitas antibakteri pada variasi perbandingan kombinasi ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao L.*) dan ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) terhadap *Staphylococcus aureus*.
2. Tidak terdapat perbedaan kadar total flavonoid dan total fenolik pada setiap perbandingan kombinasi ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao L.*) dan ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*).
3. Tidak terdapat hubungan antara kadar total flavonoid dan total fenolik dengan aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao L.*) dan ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) terhadap *Staphylococcus aureus*.

2.12.2 Hipotesis alternatif (H1)

1. Terdapat perbedaan aktivitas antibakteri pada variasi perbandingan kombinasi ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao L.*) dan ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) terhadap *Staphylococcus aureus*.

2. Terdapat perbedaan kadar total flavonoid dan total fenolik pada setiap perbandingan kombinasi ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao L.*) dan ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*).
3. Terdapat hubungan antara kadar total flavonoid dan total fenolik dengan aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao L.*) dan ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) terhadap *Staphylococcus aureus*.

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Pada penelitian ini digunakan metode eksperimental laboratorium dengan melakukan ekstraksi pada kombinasi daun kakao dan daun belimbing wuluh dengan konsentrasi 1:1 1:3, dan 3:1 lalu dilakukan uji aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan metode difusi cakram. Sampel daun kakao (*Theobroma cacao L.*) berasal dari perkebunan coklat kecamatan Kemiling Bandar Lampung, dan daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) yang berasal dari pekarangan rumah warga di kecamatan Kemiling, Bandar Lampung.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan di:

1. Laboratorium Botani Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung untuk mendeterminasi daun kakao (*Theobroma cacao L.*) dan daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*).
2. Laboratorium Kimia Analis Farmasi untuk mengekstrak daun kakao (*Theobroma cacao L.*) dan belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*). Selain itu untuk preparasi sample, mengetahui kandungan fitokimia, dan mengukur kadar total flavonoid serta total fenolik dari ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao L.*) dan belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*).
3. Balai Veteriner Lampung untuk menguji aktivitas antibakteri dari kombinasi ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao L.*) dan belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

3.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan September 2025 – November 2025

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat Penelitian

Pada penelitian ini peralatan yang digunakan adalah Timbangan Analitik (ACIS type AD-300i), Blender, *Ultrasound Assisted Extraction*, Kertas Saring, Kertas Label, Vial, Rak dan Tabung Reaksi, Batang Pengaduk, Pisau, Erlenmeyer, Spektrofotometer UV-Vis, Gelas Beaker, Jarum Ose, Bunsen, Kapas Steril, Inkubator, Jangka Sorong, Masker, *Handscoon*, Aluminium Foil, Cawan Petri.

3.3.2 Bahan Penelitian

Sampel daun kakao (*Theobroma cacao L.*) berasal dari perkebunan coklat kec. Kemiling Bandar Lampung, dan daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) yang berasal dari pekarangan rumah warga di kec. Kemiling, Bandar Lampung, Kuersetin, Asam Galat, Methanol, HCl, Mayer, Zinc, H₂SO₄, FeCl₃, Etanol 70%, NaCl, *Nutrient Agar*, Klindamisin 2µg/ disk, dan DMSO.

3.3.3 Mikroba Uji Penelitian

Mikroorganisme yang akan diuji dalam penelitian ini yaitu *Staphylococcus aureus*. Mikroba tersebut diperoleh dari Laboratorium Bakteriologi Balai Veteriner Lampung.

3.3.4 Media Kultur

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

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah kombinasi ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao L.*) dan daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dengan konsentrasi 1:1, 1:3, dan 3:1.

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah efek penghambatan antibakteri kombinasi ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao L.*) dan daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

3.4.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol pada penelitian ini adalah Klindamisin 2µg/ disk sebagai kontrol positif.

3.5 Definisi Operasional

Tabel 3.1 Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
Variabel Bebas	Kombinasi ekstrak daun kakao (<i>Theobroma cacao L.</i>) dan daun belimbing wuluh (<i>Averrhoa bilimbi L.</i>)	Timbangan analitik	Rasio kombinasi ekstrak • 1:1 • 1:3 • 3:1	Nominal
Variabel Terikat	Jenis metabolit sekunder (flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, fenolik, steroid/triterpenoid)	Reagen spesifik uji fitokimia	Hasil positif atau negatif dari setiap uji metabolit sekunder	Nominal

	yang terdapat pada kombinasi ekstrak			
Variabel	Efek antibakteri	Metode difusi	Diameter zona	Rasio
Terikat	kombinasi ekstrak	cakram;	hambat (mm)	
Aktivitas antibakteri	daun kakao (<i>Theobroma cacao</i> L.) dan daun belimbing wuluh (<i>Averrhoa bilimbi</i> L.) terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	pengukur zona hambat (mm) dengan jangka sorong/ mistar	dengan kategori: • Lemah ≤ 5 mm • Sedang 5-10 mm • Kuat 10-20 mm • Sangat kuat ≥ 20 mm (Tumundo et al., 2024)	
Variabel	Jumlah total	Spektrofotometer	mg ekuivalen	Rasio
Terikat	flavonoid yang terkandung dalam kombinasi ekstrak, dinyatakan sebagai ekuivalen kuersetin	UV-Vis; metode kolorimetri $AlCl_3$; kurva standar kuersetin	kuersetin per gram ekstrak (mg QE/g)	
Variabel	Jumlah total	Spektrofotometer	mg ekuivalen	Rasio
Terikat	senyawa fenolik dalam kombinasi ekstrak, dinyatakan sebagai ekuivalen asam galat	UV-Vis; metode Folin–Ciocalteu; kurva standar asam galat	asam galat per gram ekstrak (mg GAE/g)	

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Determinasi Tanaman

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

3.6.2 Preparasi Sampel

3.6.2.1 Pembuatan Ekstrak

Penelitian ini menggunakan metode sonikasi atau *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) untuk mengekstraksi senyawa metabolit sekunder dari daun kakao dan daun belimbing wuluh. Tahap awal dilakukan sortasi basah dengan mencuci daun menggunakan air beberapa kali untuk menghilangkan kotoran, kemudian dikeringkan dengan udara tanpa paparan sinar matahari langsung hingga benar-benar kering. Daun kering selanjutnya dihaluskan menggunakan blender. Ekstraksi dilakukan dengan perbandingan simplisia dan pelarut etanol 70% sebesar 1:10, yaitu 25 gram serbuk simplisia dengan 250 ml pelarut. Pada kombinasi ekstrak, digunakan tiga variasi perbandingan: (1) kombinasi 1:1 dengan masing-masing 12,5 gram daun kakao dan daun belimbing wuluh, (2) kombinasi 1:3 dengan 6,25 gram daun kakao dan 18,75 gram daun belimbing wuluh, serta (3) kombinasi 3:1 dengan 18,75 gram daun kakao dan 6,25 gram daun belimbing wuluh. Seluruh simplisia dilarutkan dalam 250 ml etanol 70%, kemudian diekstraksi menggunakan alat sonikasi pada suhu 40°C selama 30 menit.

3.6.2.2 Skrining Fitokimia

1. Flavonoid

Sebanyak beberapa mL larutan ekstrak berair ditambahkan 0,1 g seng (Zn) logam dan 8 mL asam sulfat pekat (H_2SO_4). Terbentuknya warna merah menunjukkan adanya flavonol (Shaikh & Patil, 2020).

2. Alkaloid

Beberapa mL filtrat (50 g ekstrak bebas pelarut dicampur dengan beberapa mL HCl encer, kemudian disaring) ditambahkan 1–2 tetes pereaksi Mayer (diteteskan melalui dinding tabung reaksi). Terbentuknya endapan putih krem atau kuning menunjukkan hasil positif (Shaikh & Patil, 2020).

3. Tanin

Sebanyak 1 mL filtrat ditambahkan 3 mL akuades dan 3 tetes larutan besi(III) klorida (FeCl_3) 10%. Terbentuknya warna biru kehijauan menunjukkan hasil positif (Shaikh & Patil, 2020).

4. Saponin

Sebanyak 1,0 mL ekstrak ditambahkan dengan 2,0 mL akuades, kemudian dikocok hingga tercampur merata. Campuran tersebut didiamkan selama 15 menit, dan terbentuknya lapisan busa setebal ± 1 cm menjadi indikator adanya kandungan saponin (Shaikh & Patil, 2020).

5. Triterpenoid

Filtrat (ekstrak tanaman ditambahkan dengan jumlah kloroform yang sama, kemudian disaring) ditambahkan beberapa tetes asam sulfat pekat (H_2SO_4), dikocok hingga homogen dan dibiarkan. Terbentuknya lapisan kuning keemasan pada bagian bawah menunjukkan hasil positif (Shaikh & Patil, 2020).

3.6.2.3 Uji Total Fenolik

Hasil kombinasi ekstrak kental daun kakao dan daun belimbing wuluh dengan rasio 1:1, 1:3, dan 3:1 dilarutkan dalam etanol

70% hingga mencapai konsentrasi 1000 µg/ml. Sebanyak 1 ml larutan sampel kemudian dicampurkan dengan 4 ml larutan natrium karbonat (75 g/l) dalam labu takar 10 ml dan dikocok hingga homogen. Selanjutnya ditambahkan 2 ml pereaksi *Folin-Ciocalteu*, lalu campuran kembali dikocok dan diencerkan dengan akuades hingga mencapai tanda tera. Campuran tersebut didiamkan pada suhu kamar dalam kondisi gelap selama 1 jam, kemudian absorbansinya diukur pada panjang gelombang 760 nm menggunakan spektrofotometer dengan tiga kali ulangan (*triplo*). Sebagai pembanding digunakan larutan standar asam galat pada berbagai konsentrasi (0, 20, 40, 60, 80, dan 100 µg/ml). Hasil kadar total fenolik dinyatakan sebagai ekuivalen asam galat (GAE) dalam µg per miligram ekstrak kering (Hasim et al., 2019).

3.6.2.4 Uji Total Flavonoid

Sebanyak 0,5 ml kombinasi ekstrak daun kakao dan daun belimbing wuluh (dilarutkan dalam metanol) pada konsentrasi 250 µg/ml dicampurkan dengan 0,5 ml larutan AlCl_3 2%. Campuran kemudian dihomogenkan dan diinkubasi selama 10 menit. Selanjutnya, absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 415 nm dengan pengulangan sebanyak tiga kali (*triplo*). Kadar total flavonoid dari ekstrak daun belimbing wuluh dinyatakan dalam satuan µg kuersetin ekuivalen (QE) per mg ekstrak kering. Sebagai larutan standar, digunakan kuersetin dengan variasi konsentrasi 0, 5, 10, 15, 20, 25, dan 30 µg/ml.

3.6.3 Pengujian Aktivitas Antibakteri

1. Sterilisasi Alat

Alat-alat yang akan digunakan disterilkan terlebih dahulu sebelum digunakan untuk melakukan uji aktivitas antibakteri. Cawan petri dan pipet volume dibungkus menggunakan kertas, lalu disterilkan dengan autoklaf suhu 121°C selama 15 menit bersama alat lainnya seperti gelas beaker. Jarum ose dan pinset disterilkan dengan dipanaskan diatas lampu bunsen (Pramiastuti et al., 2020).

2. Pembuatan Media *Nutrient Agar* (NA)

Sebanyak 0,3 gram serbuk NA ditimbang dan dilarutkan dalam aquadest sebanyak 15 mL, kemudian dipanaskan sampai semua larut dan mendidih. Media NA kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C. Selanjutnya media siap untuk dituangkan ke dalam cawan petri.

3. Pembiakan Bakteri *Staphylococcus aureus*

Pembiakan bakteri dilakukan dengan metode tuang. Diambil satu gores bakteri menggunakan jarum ose, kemudian dilarutkan dengan aquadest steril dalam tabung reaksi. Ambil 0,1 mL suspensi, tuangkan pada media agar, lalu ratakan dengan batang L. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Pramiastuti et al., 2020).

4. Pembuatan Larutan Uji

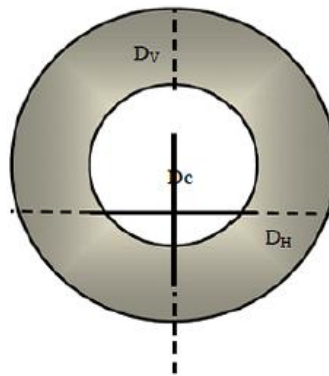
Dibuat larutan uji dari tiap sampel ekstrak kombinasi yaitu (1:1), (1:3), dan (3:1) yang sudah dibuat dengan konsentrasi masing-masing 100%. Untuk membuat konsentrasi 100% dilakukan dengan menimbang ekstrak kental sebanyak 1 gram kemudian dilarutkan dengan DMSO 5% sebanyak 1 mL, lakukan langkah yang sama pada tiap sampel ekstrak kombinasi (Pramiastuti et al., 2020).

5. Uji Aktivitas Antibakteri

Metode yang digunakan dalam pengujian aktivitas antibakteri kombinasi daun kakao dan daun belimbing pada penelitian ini yaitu difusi cakram. Kertas cakram dicelupkan dalam larutan uji selama 5 menit kemudian diletakkan diatas permukaan media *Nutrient Agar* yang berisi bakteri. Untuk kontrol negatif, kertas cakram dicelupkan dalam DMSO 5%. Lalu untuk kontrol positif menggunakan Klindamisin 2 μ g/ disk. Dilakukan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C pada tiap cawan petri. Diukur diameter zona hambat yang terbentuk di area kertas cakram yang menandakan adanya aktivitas antibakteri pada sampel, pengujian dilakukan dengan pengulangan sebanyak 3 kali (Pramiastuti et al., 2020).

6. Pengamatan dan Pengukuran Diameter Zona Bening

Zona bening di sekitar cakram kertas menandakan tingkat sensitivitas bakteri terhadap antibiotik. Diameter zona hambat diukur menggunakan mistar berskala dengan cara menjumlahkan ukuran horizontal dan vertikal, kemudian hasilnya dibagi dua. Selanjutnya, nilai diameter yang diperoleh diklasifikasikan menurut kriteria Davis dan Stout, yaitu ≤ 5 mm termasuk kategori daya hambat lemah, 5–10 mm sedang, 10–20 mm kuat, dan ≥ 20 mm sangat kuat (Tumundo et al., 2024).



Gambar 3.1 Pengukuran Diameter Zona Hambat Bakteri

(Magvirah et al., 2019)

Diameter zona hambat pada metode difusi cakram dapat dihitung menggunakan persamaan berikut:

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

Keterangan;

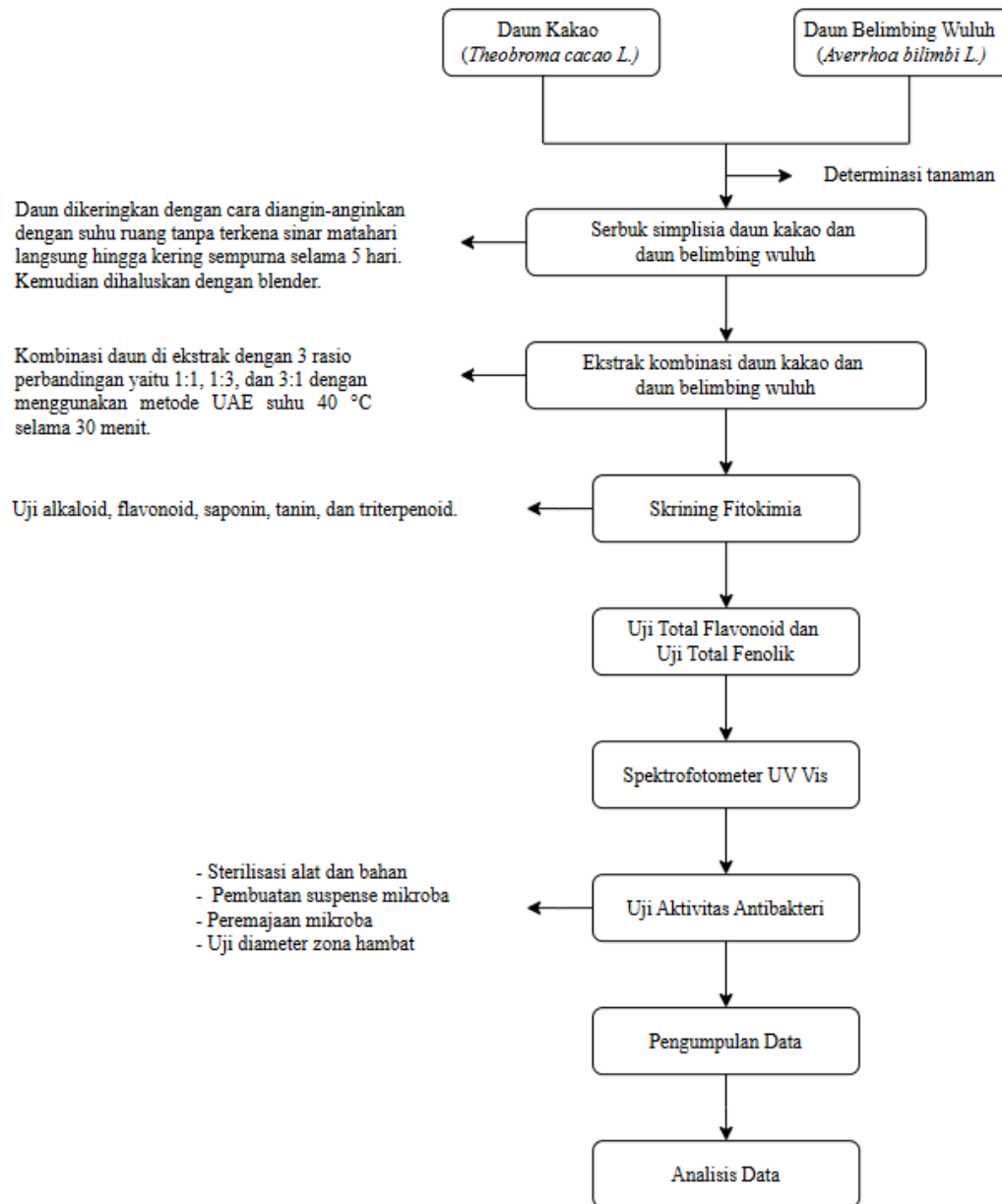
■ : Zona hambat

DV : Diameter vertikal

DH : Diameter horisontal

DC : Diameter cakram

3.7 Alur Penelitian



Gambar 3.2 Alur Penelitian

3.8 Pengolahan Data dan Analisis Data

3.8.1 Pengolahan Data

Data yang telah dikumpulkan kemudian diolah menggunakan perangkat lunak *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS). Proses pengolahan data meliputi beberapa tahapan. Tahap pertama adalah *editing*, yaitu evaluasi terhadap kelengkapan, konsistensi, dan relevansi data untuk memastikan bahwa data tersebut memenuhi kriteria penelitian. Tahap kedua adalah *coding*, yakni proses pengubahan data kualitatif menjadi data kuantitatif melalui pemberian kode, yang dapat dilakukan secara manual maupun dengan bantuan komputer. Selanjutnya dilakukan *data entry*, yaitu memasukkan data yang telah dikodekan ke dalam program SPSS untuk dianalisis. Tahap terakhir adalah tabulasi data, yaitu penyajian hasil pengolahan data dalam bentuk tabel yang disusun sesuai dengan tujuan analisis penelitian (Adiputra et al., 2021).

3.8.2 Analisis Data

3.8.2.1 Analisis Univariat

Analisis univariat merupakan teknik analisis data yang dilakukan terhadap satu variabel secara terpisah, tanpa mempertimbangkan hubungan dengan variabel lain. Analisis ini juga dikenal sebagai analisis deskriptif atau statistik deskriptif, karena tujuannya adalah menggambarkan atau menjelaskan karakteristik suatu fenomena berdasarkan data yang dikaji. Metode ini menjadi bentuk analisis paling dasar dalam statistik, di mana hasilnya dapat disajikan dalam bentuk angka, persentase, rasio, atau prevalensi (Senjaya et al., 2022).

Ukuran pemusatan data (*tendensi sentral*) dalam analisis univariat meliputi nilai mean, median, modus, kuartil, desil, dan persentil. Sementara itu, ukuran penyebaran data (*dispersi*) mencakup rentang, deviasi rata-rata, variansi, standar deviasi, serta koefisien variasi. Hasil analisis dapat disajikan dalam bentuk narasi, tabel, grafik, diagram, maupun gambar, tergantung pada kebutuhan visualisasi data. Selain itu, bentuk kemiringan data (*skewness*) sering dikaitkan dengan pola atau model kurva yang dihasilkan dari distribusi data tersebut (Senjaya et al., 2022).

3.8.2.2 Analisis Bivariat

Penelitian ini menggunakan analisis bivariat untuk mengetahui perbedaan aktivitas antibakteri pada setiap perbandingan kombinasi ekstrak serta pengaruh kadar total flavonoid dan total fenolik terhadap aktivitas antibakteri. Sebelum dilakukan analisis bivariat, terlebih dahulu dilakukan uji normalitas menggunakan uji *Shapiro–Wilk*. Apabila data terdistribusi normal ($p\text{-value} > 0,05$), maka analisis dilanjutkan dengan uji *One-Way ANOVA* dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc (Tukey HSD)* untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara signifikan satu sama lain. Namun, jika data tidak terdistribusi normal ($p\text{-value} < 0,05$), maka digunakan uji nonparametrik alternatif, yaitu uji *Kruskal–Wallis*, jika hasil yang didapatkan signifikan dapat dilanjutkan dengan uji *Mann–Whitney*. Selanjutnya, untuk mengetahui hubungan antara kadar total flavonoid dan total fenolik terhadap aktivitas antibakteri pada tiap perbandingan, dilakukan uji korelasi *Pearson* jika data terdistribusi normal. Namun apabila data tidak terdistribusi normal maka uji alternatifnya adalah korelasi *Spearman*.

3.9 Etika Penelitian

Sebelum penelitian dilaksanakan, telah diperoleh persetujuan etik dari Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Lampung selaku institut tempat penelitian, dengan NO.6281/UN26.18/PP.05.02.00/2025. Etik dalam penelitian uji antibakteri memiliki peran penting dalam menjamin bahwa proses penelitian dilakukan secara berintegritas, penuh kehati-hatian, serta menghormati hak seluruh pihak yang terlibat. Surat persetujuan etik tercantum pada **Lampiran**.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Hasil uji penapisan fitokimia pada kombinasi perbandingan ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao L.*) dan daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) positif mengandung senyawa metabolit sekunder flavonoid, saponin, tanin, dan triterpenoid pada setiap perbandingan ekstrak.
2. Hasil pengujian kadar total flavonoid menggunakan *Spektrofotometri UV-Vis* menunjukkan hasil tertinggi pada kombinasi perbandingan 1:1 yaitu 106,14 mgQE/g ekstrak, diikuti oleh perbandingan 1:3 dengan nilai kadar total flavonoid sebesar 80,86 mgQE/g ekstrak, dan kombinasi perbandingan 3:1 dengan kadar total flavonoid terendah yaitu 76,72 mgQE/g ekstrak.
3. Hasil pengujian kadar total fenolik menggunakan *Spektrofotometri UV-Vis* menunjukkan hasil tertinggi pada kombinasi perbandingan 3:1 yaitu 16,92 mgGAE/g ekstrak, diikuti oleh perbandingan 1:1 dengan nilai kadar total fenolik sebesar 16,61 mgGAE/g ekstrak, dan kombinasi perbandingan 1:3 dengan kadar total fenolik terendah yaitu 10,60 mgGAE/g ekstrak.
4. Hasil pengujian antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* menghasilkan zona hambat yaitu 4,83 mm (lemah) pada rasio 1:1, 5,093 mm (sedang) pada 1:3, dan 6,05 mm (sedang) pada 3:1.
5. Hasil analisis hubungan kadar total flavonoid dan total fenolik dengan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* tidak menunjukkan adanya hubungan yang signifikan antara kadar total flavonoid dengan zona hambat, kadar total fenolik dengan zona hambat, maupun kadar total flavonoid dan total fenolik pada variasi perbandingan ekstrak.

5.2 Saran

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

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan menambah variasi perbandingan kombinasi ekstrak untuk memperoleh gambaran yang lebih komprehensif mengenai pengaruh rasio kombinasi ekstrak terhadap aktivitas antibakteri.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan metode uji lain seperti MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) dan MBC (*Minimum Bactericidal Concentration*) untuk memperoleh data kuantitatif yang lebih akurat terkait potensi antibakteri kombinasi ekstrak.
3. Diperlukan analisis lanjutan yang mengidentifikasi jenis flavonoid dan fenolik secara spesifik, misalnya menggunakan instrument kromatografi seperti HPLC atau LC-MS, sehingga dapat diketahui senyawa mana yang paling berperan terhadap aktivitas antibakteri.
4. Perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri terhadap jenis bakteri lain, baik Gram positif atau Gram negatif untuk mengetahui spektrum antibakteri kombinasi ekstrak dan potensi aplikasinya secara lebih luas.

DAFTAR PUSTAKA

- Abanit, Y.M., Tjitda, P.J.P., Rahmat, E.G.A., Banhae, Y.K. & Soares, J.A. 2025. Pengaruh Ukuran Partikel Dan Rendemen Terhadap Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). *JCI Jurnal Cakrawala Ilmiah*, 4(10). <http://bajangjournal.com/index.php/JCI>.
- Ade Saputro, T., Rafika, Inayah, M.N., Imasari, T., Zuhri, F.M., Fadilla, Z., Riyani, A., Hamida, I., Meri, Sulastina, N.A., Meri, Ms., Nur Afni Sulastina, Mi. & Asri Widyayanti, O. 2025. *VIROLOGI DAN MUTASI VIRUS* Editor. O. S. Widyayanti, ed. www.mediapustakaindo.com.
- Adiputra, I.M.S., Trisnadewi, N.W., Oktaviani, N.P.W., Munthe, S.A., Hulu, V.T., Budiastutik, I., Faridi, A., Ramdany, R., Fitriani, R.J., Tania, P.O.A., Rahmiati, B.F., Lusiana, S.A., Susilawaty, A., Sianturo, E. & Suryana. 2021. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. R. Watrianthos & J. Simarmata, eds. Yayasan Kita Menulis.
- Ahyani, I.N., Mahbub, F., Kanalung, A.T.P. & Kusumaningtyas, F.A. 2025. Penetapan Kadar Flavonoid Total dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Coklat dengan Metode DPPH dan FRAP Determination of Total Flavonoid Levels and Antioxidant Activity Test of Cocoa Skin Extract Using DPPH and FRAP Methods. *Majalah Farmaseutik*, 21(2): 2025.
- Aji, A., Bahri, S. & Tantalina. 2017. Pengaruh waktu ekstraksi dan konsentrasi hcl untuk pembuatan pektin dari kulit jeruk bali (*Citrus maxima*).
- Alouw, G.E., Fatimawali & Lebang, J.S. 2022. *Antibacterial Activity Test Of Ethanol Extraction From Jamaican Cherry Leaves (Muntingia Calabura L.) On Staphylococcus Aureus And Pseudomonas Aeruginosa Bacteria Using Well Diffusion Method. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kersen (Muntingia calabura L.) Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus Dan Pseudomonas aeruginosa Dengan Metode Difusi Sumuran.*
- Anggraito, Y.U., Susanti, R., Iswari, R.S., Yuniastuti, A., Lisdiana, WH, N., Habibah, N.A. & Bintari, S.H. 2018. *Metabolisme Sekunder Dari Tanaman, Aplikasi Dan Produksi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang.*
- Aryanti, A.R., Susanti, M.H., Saputro, A.H., Herayati, Sari, I.P. & Saputra, I.S. 2025. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi, Sokletasi, Dan Sonikasi Terhadap Nilai Rendemen Ekstrak Rimpang Kunyit (*Curcuma Longa* L.). *Journal of Chemistry Sciences and Education*, 2(01): 1–9.

- Aseptianova & Yuliany, E.H. 2020. Penyuluhan Manfaat Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn.) sebagai Tanaman Kesehatan di Kelurahan Kebun Bunga, Kecamatan Sukarami, Palembang. *Abdihaz: Jurnal Ilmiah Pengabdian pada Masyarakat*, 2(2): 52.
- Badaring, D.R., Sari, S.P.M., Nurhabiba, S., Wulan, W. & Lembang, S.A.R. 2020. Uji Ekstrak Daun Maja (*Aegle marmelos* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* Indonesian Journal Of Fundamental Sciences (IJFS). *Indonesian Journal of Fundamental Sciences*, 6(1).
- Balouiri, M., Sadiki, M. & Ibnsouda, S.K. 2016. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2): 71–79.
- Bashabsheh, R.H.F., AL-Fawares, O., Natsheh, I., Bdeir, R., Al-Khreshieh, R.O. & Bashabsheh, H.H.F. 2024. *Staphylococcus aureus* epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations and application of nano-therapeutics as a promising approach to combat methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Pathogens and Global Health*, 118(3): 209–231.
- Cushnie, T.P.T. & Lamb, A.J. 2011. *Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids*.
- Dermana, K.D.A.W., Hidayati, D.S., Herlinawati, H. & Hermawati, R. 2025. Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi* L.) dan Daun Kelor (*Moringa Oleifera* L.) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus Aureus*. *MAHESA : Malahayati Health Student Journal*, 5(8): 3370–3381.
- Domínguez-Arca, V., Hellweg, T. & Antelo, L.T. 2025. Harnessing Thalassochemicals: Marine Saponins as Bioactive Agents in Nutraceuticals and Food Technologies. *Marine Drugs*, 23(6).
- Dwika Sari, E., Kosman, R. & Herwin. 2022. *Literature Study of Antibacterial Assay of Averrhoa bilimbi L. Against Gram Positive Bacteria*. Makassar.
- Emelda, A., Yuliana, D., Maulana, A., Kurniawati, T., Yumnal Utamil, W., Marwah, M., Idawati, I. & Novianti, L. 2023. Gambaran Penggunaan Antibiotik Pada Masyarakat Di Pasar Niaga Daya Makassar. *Indonesian Journal of Community Dedication*, 5.
- Fadel, M.N., Setyowati, E., Trinovitawati, Y. & Sabaan, W. 2021. *Uji Aktivitas Antibakteri Obat Kumur Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (Averrhoa Bilimbi L.) Terhadap Bakteri Streptococcus mutans Penyebab Karies Gigi*.

- Fahdi, F. & Sari, H. 2024. *Pengenalan Konsep Dasar Mikrobiologi Dalam Pencegahan Penyakit Infeksi Di Lingkungan Sekolah Sma/Smk Swasta Yapim Biru-Biru Introduction To Basic Microbiology Concepts In The Prevention Of Infectious Diseases At Yapim Biru-Biru Private High School*. <http://ejournal.delihusada.ac.id/index.php/JPMMPH>.
- Farhanandi, B.W. & Indah, N.K. 2022. Karakteristik Morfologi dan Anatomi Tanaman Kakao (*Theobroma cacao* L.) yang Tumbuh pada Ketinggian Berbeda Morphological and Anatomical Characteristics of Cocoa Plants (*Theobroma cacao* L.) That Grow at Different Heights. , 11(2): 310–325. <https://journal.unesa.ac.id/index.php/lenterabio/index310>.
- Gnanamani, A., Hariharan, P. & Paul-Satyaseela, M. 2017. *Staphylococcus aureus: Overview of Bacteriology, Clinical Diseases, Epidemiology, Antibiotic Resistance and Therapeutic Approach*. In *Frontiers in Staphylococcus aureus*. InTech.
- Hafidz, R., Abdul, A. & Ariastuti, R. 2025. Uji kandungan fenolik total dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol biji kelor (*Moringa Oleifera* L.) dan daun sirih cina (*Peperomia Pellucida* L.). *Borobudur Pharmacy Review*, 5(1): 1–8. <https://journal.unimma.ac.id/index.php/bphr/article/view/13260>.
- Hasanah, N. & Gultom, E.S. 2020. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata*) Terhadap Bakteri Mdr (Multi Drug Resistant) Dengan Metode Klt Bioautografi. *Jurnal Biosains*, 6(2): 45.
- Hasibuan, S.A. 2016. *Perbandingan Daya Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar (Jatropha curcas Linn) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus Dan Escherichia coli Secara In Vitro*. Skripsi.Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Hasim, H., Arifin, Y.Y., Andrianto, D. & Faridah, D.N. 2019. Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*) sebagai Antioksidan dan Antiinflamasi. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 8(3): 86.
- Idrees, M., Sawant, S., Karodia, N. & Rahman, A. 2021. *Staphylococcus aureus* biofilm: Morphology, genetics, pathogenesis and treatment strategies. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(14).
- Jeong, J.Y., Jung, I.G., Yum, S.H. & Hwang, Y.J. 2023. In Vitro Synergistic Inhibitory Effects of Plant Extract Combinations on Bacterial Growth of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Pharmaceuticals*, 16(10).
- Julianto, T.S. 2019. *Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia*.

- Katili, Y.I., Wewengkang, D.S. & Rotinsulu, H. 2020. *Uji Aktivitas Antimikroba Dari Jamur Laut Yang Berasosiasi Dengan Organisme Laut Karang Lunak Lobophytum sp.*
- Khalid, I. & Sulaeman. 2024. *Pelatihan Pembuatan Teh Herbal Dari Daun Tanaman Kakao (Theobroma Cacao L) Dalam Mengembangkan Usaha Baru Bagi Petani Kakao Desa Sembalun.* <https://jurnal.licheninstitute.org/index.php/ngabdi>.
- Khameneh, B., Eskin, N.A.M., Iranshahy, M. & Bazzaz, B.S.F. 2021. Phytochemicals: A promising weapon in the arsenal against antibiotic-resistant bacteria. *Antibiotics*, 10(9).
- Khameneh, B., Iranshahy, M., Soheili, V. & Fazly Bazzaz, B.S. 2019. Review on plant antimicrobials: A mechanistic viewpoint. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 8(1).
- Lake, W.K., Hamid, I.S., Saputro, A.L., Plumeriastuti, H., Yustinasari, L.R. & Yunita, M.N. 2019. (Antibacterial Activity Of Extract N-Heksana And Chloroform Of Soursop Leaf (Annona muricata L.) On Growth Of Bacterial Staphylococcus aureus In Vitro). *Jurnal Medik Veteriner*, 2(1): 60–65.
- Lestari, E.E. & Kurniawaty, E. 2016. *Uji Efektivitas Daun Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi L.) sebagai Pengobatan Diabetes Melitus The Effectiveness Test for Extract Wuluh Starfruited Leaf (Averrhoa bilimbiL.) as Diabetes Mellitus Treatment.*
- Liu, Y., Zhu, J., Liu, Z., Zhi, Y., Mei, C. & Wang, H. 2025. Flavonoids as Promising Natural Compounds for Combating Bacterial Infections. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(6).
- Magvirah, T., Marwati & Ardhani, F. 2019. Uji Daya Hambat Bakteri Staphylococcus aureus Menggunakan Ekstrak Daun Tahongai (Kleinhovia hospita L.) Bacterial Inhibitory Test of Staphylococcus aureus Using Leaf Extract of Tahongai (Kleinhovia hospita L.). *Jurnal Peternakan Lingkungan Tropis*, 2: 2019.
- Mandhaki, N., Huda, C. & Putri, A.E. 2021. Aktivitas ANTibakteri Fraksi Daun Kakao (Theobroma cacao L.) terhadap Bakteri Staphylococcus aureus Secara In Vitro. *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 3(2): 188–193.
- Matatula, A.J., Mahulette, A.S. & Tanasale, V.L. 2022. *Budidaya Tanaman Perkebunan Kakao.*
- Mohammad, T., Maharani, S., Arroyan, N.F., Putri, A.O. & Mulyah, E. 2024. Eksplorasi Keanekaragaman Jamur Makroskopis Di Kawasan Evergreen Taman Nasional Baluran Situbondo Jawa Timur Exploration Of Macroscopical Fungal Diversity In The Evergreen Area Of Baluran National

- Park, Situbondo, East Java. *Bio Sains Jurnal Ilmiah Biologi*, 4(1): 38. <https://jurnal.uia.ac.id/biosains/about>.
- Mursiany, A., Umboro, R.O. & Truly, D.A. 2024. Penetapan Kadar Flavonoid Total Infusa Rambut Jagung Manis (*Zea Mays Saccharata* Sturt) Menggunakan Spektrofotometri Uv-Vis Secara Kolorimetri. *Jurnal Locus Penelitian dan Pengabdian*, 2(12): 1191–1200.
- Nadia, A., Pradewi, A., Putri, A., Ani, A., Ramadhani, A.S., Indriyati, D., Salsabila, D.M. & Apriani, D. 2025. Medic Nutricia Review: Paper Soap Daun Belimbing Wuluh Sebagai Skin Moisturizer. , 20(4).
- Nuradi, Artati, Pratama, R., Mursalim, Tandjungbulu, Y.F. & Virgiawan, A.R. 2024. Komparasi Hasil Pemeriksaan Onikomikosis Menggunakan Modifikasi Potassium Hydroxide Dan Dimethyl Sulfoxide Dengan Lactophenol Cotton Blue. *Jurnal Media Analis Kesehatan*, 15(1): 1–10.
- Nurhayati, L.S., Yahdiyani, N. & Hidayatulloh, A. 2020. Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt dengan Metode Difusi Sumuran dan Metode Difusi Cakram. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, 1(2): 41.
- Nurlela, L. & Harfika, M. 2017. *Buku Ajar Belimbing Wuluh Untuk Meringankan ISPA*. Sidoarjo: Indomedia Pustaka. www.indomediapustaka.com.
- Panche, A.N., Diwan, A.D. & Chandra, S.R. 2016. Flavonoids: An overview. *Journal of Nutritional Science*, 5.
- Permataningrum, N.I., Dewi, L.R. & Prihanti, A.M. 2019. Daya Hambat Ekstrak Daun Kakao (*Theobroma Cacao* L.) terhadap Pertumbuhan *Candida Albicans*.
- Pramiastuti, O., Rejeki, D.S., Maghfiroh, I. & Firsty, G.R. 2020. Uji Antibakteri Kombinasi Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) Dan Daun Kersen (*Muntingia calabura* L) Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 9(2): 2020–2053.
- Prayitno, T.A. & Hidayati, N. 2019. *Pengantar Mikrobiologi*. Media Nusa Creative. <https://www.researchgate.net/publication/336678957>.
- Putri, C.N., Rahardhian, M.R.R. & Ramonah, D. 2022. Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Kadar Total Fenol dan Total Flavonoid Esktrak Etanol Daun Insulin (*Smallanthus sonchifolius*) serta Aktivitas Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus*. *JPSCR: Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 7(1): 15.
- Putri, I.I. & Chattri, M. 2024. *Peranan Metabolit Sekunder sebagai Antimikroba*.
- Putri, L.A., Ardellia, I.K., Fitriana, N., Moy, A. & Charisma, A.M. 2024. Identifikasi Penyakit Protozoa Terhadap Manusia. *Nian Tana Sikka : Jurnal ilmiah Mahasiswa*, 2(5): 48–58.

- Putri, M.H., Sukini & Yodong. 2017. *Bahan Ajar Keperawatan Gigi Mikrobiologi*.
- Putri, N.T., Kurnyawaty, N. & Sirajuddin. 2024. Pemanfaatan saponin dari ekstrak daun belimbing wuluh yang diaplikasikan dalam pembuatan detergen cair. *Jurnal teknik kimia vokasional*, 4(2): 55–63.
- Rante, H., Nasriah & Tayeb, R. 2024. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* Resistensi Antibiotik. *Jurnal Pharmascience 154 Jurnal Pharmascience*, 11(1): 154–160. <https://ppjp.ulm.ac.id/journal/index.php/pharmascience>.
- Rohama, R., Melviani, M. & Rahmadani, R. 2023. Aktivitas Antibakteri dan Penetapan Kadar Flavonoid Fraksi Daun Kalangkala (*Litsea angulata*) Serta Profil Kromatografi Lapis Tipis. *Jurnal Surya Medika*, 9(1): 267–276.
- Romero, R., Gonzalez, T., Urbano, B.F., Segura, C., Pellis, A. & Vera, M. 2025. Exploring tannin structures to enhance enzymatic polymerization. *Frontiers in Chemistry*, 13.
- Salim, S.A., Saputri, F.A., Saptarini, N.M. & Levita, J. 2020. Review Artikel: Kelebihan Dan Keterbatasan Pereaksi Folin-Ciocalteu Dalam Penentuan Kadar Fenol Total Pada Tanaman. , 18.
- Senjaya, S., Sriati, A., Maulana, I. & Kurniawan. 2022. Dukungan Keluarga Pada ODHA Yang Sudah Open Status Di Kabupaten Garut. *Jurnal Cakrawala Ilmiah*.
- Shaikh, J.R. & Patil, M. 2020. Qualitative tests for preliminary phytochemical screening: An overview. *International Journal of Chemical Studies*, 8(2): 603–608.
- Suryaningsih, S. 2016. Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi*) Sebagai Sumber Energi Dalam Sel Galvani Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi*) As Energy Source In Galvani Cell. *Jurnal Penelitian Fisika dan Aplikasinya (JPFA)*, 06(01). <http://journal.unesa.ac.id/index.php/jpfa>.
- Takó, M., Kerekes, E.B., Zambrano, C., Kotogán, A., Papp, T., Krisch, J. & Vágvyölyi, C. 2020. Plant phenolics and phenolic-enriched extracts as antimicrobial agents against food-contaminating microorganisms. *Antioxidants*, 9(2).
- Tumundo, C.S., Wewengkang, D.S. & Jumriadi. 2024. Uji Potensi Antibakteri Ekstrak Spons *Stylissa Carteri* Dari Perairan Poopoh Minahasa Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dan *Pseudomonas Aeruginosa*. , 13(1).

- Usmar, Fitri, A.M.N., Yuliana, D. & Nainu, F. 2021. Review : Immunoterapi Penanganan Infeksi Virus. *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, 7. www.jurnal-pharmaconmw.com/jmpi.
- Widyasanti, A. & Febrianti. 2024. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Journal of Science and Technology*, 17(2): 198–205. <https://doi.org/10.21107/rekayasa.v17i2.22348>.
- Widyasanti, A., Nurlaily, N. & Wulandari, E. 2018. Karakteristik fisikokimia antosianin ekstrak kulit buah naga merah menggunakan metode uae (Physicochemical Characteristics of Red Dragon Fruit Skin Anthocyanin Extracts using UAE Method). *Jurnal Ilmiah Rekayasa Pertanian dan Biosistem*, 6(1): 27–38.
- Yang, X., Miao, X., Dai, L., Guo, X., Jenis, J., Zhang, J. & Shang, X. 2024. Isolation, biological activity, and synthesis of isoquinoline alkaloids. *Natural Product Reports*, 41(11): 1652–1722.
- Yasacaxena, L.N., Defi, M.N., Kandari, V.P., Weru, P.T.R., Papilaya, F.E., Oktafera, M. & Setyaningsih, D. 2023. Review: Extraction of Temulawak Rhizome (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) and Activity As Antibacterial. *Jurnal Jamu Indonesia*, 8(1): 10–17.
- Zagoskina, N. V., Zubova, M.Y., Nechaeva, T.L., Kazantseva, V. V., Goncharuk, E.A., Katanskaya, V.M., Baranova, E.N. & Aksenova, M.A. 2023. Polyphenols in Plants: Structure, Biosynthesis, Abiotic Stress Regulation, and Practical Applications (Review). *International Journal of Molecular Sciences*, 24(18).