

**UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK KULIT BUAH KAKAO (*Theobroma cacao*)
SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP *Blood Disease Bacterium*
PADA BUAH PISANG (*Musa acuminata balbisiana* Colla)**

Oleh :

AGUNG WICAKSONO

**MINAT HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN
PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

MALANG

2015

**UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK KULIT BUAH KAKAO (*Theobroma cacao*)
SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP *Blood Disease Bacterium*
PADA BUAH PISANG (*Musa acuminata balbisiana* Colla)**

Oleh:

**AGUNG WICAKSONO
115040200111083**

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh
Gelar Sarjana Pertanian Strata Satu (S-1)

**PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI
JURUSAN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

MALANG

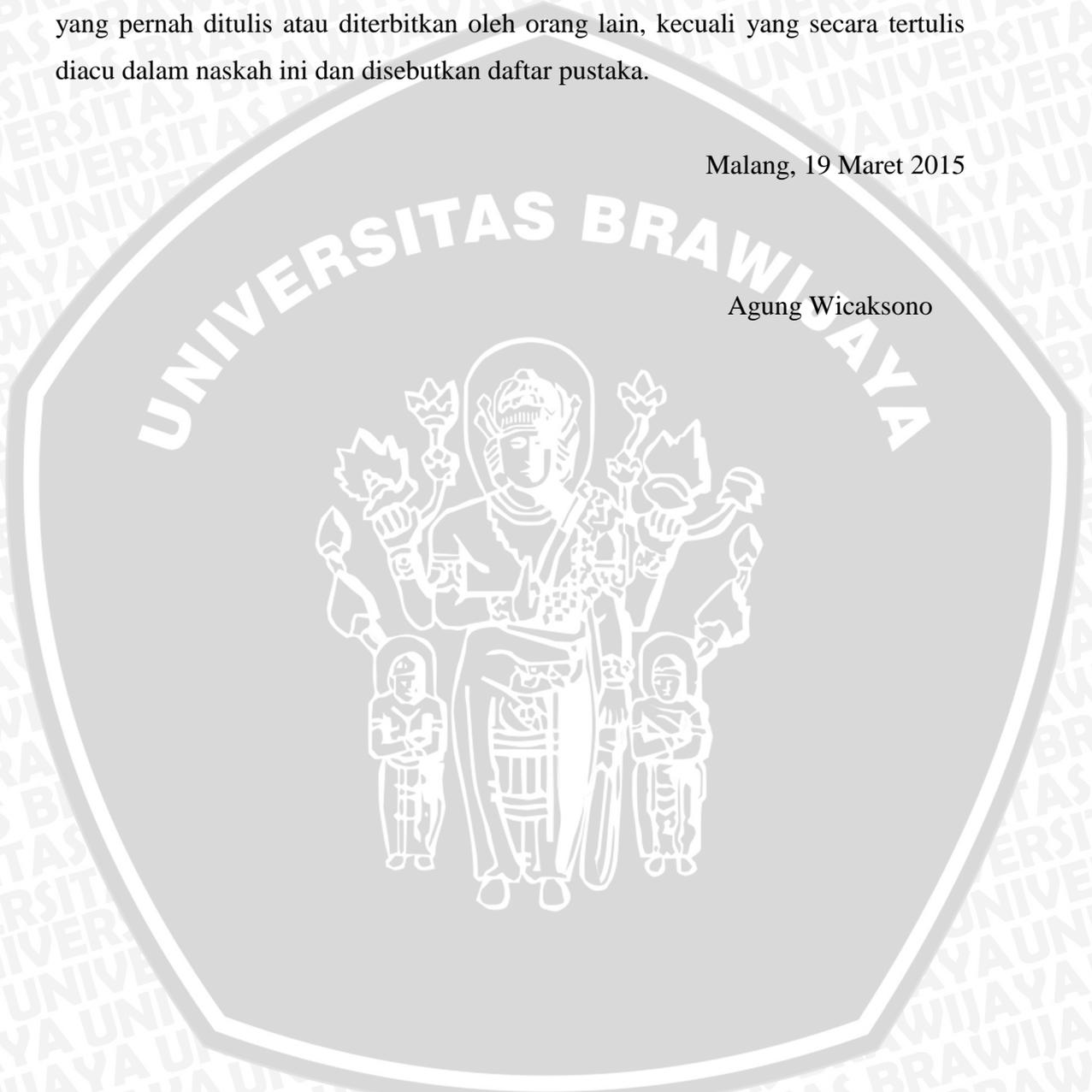
2015

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan daftar pustaka.

Malang, 19 Maret 2015

Agung Wicaksono



LEMBAR PERSETUJUAN SKRIPSI

Judul : Uji Efektivitas Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao*)
 Sebagai Antibakteri Terhadap *Blood Disease Bacterium* Pada
 Buah Pisang (*Musa acuminata balbisiana* Colla).

Nama : Agung Wicaksono

NIM : 115040200111083

Program Studi : Agroekoteknologi

Minat : Hama dan Penyakit Tumbuhan

Menyetujui : Dosen Pembimbing

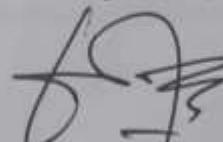
Disetujui

Pembimbing Utama



Luqman Qurata Aini, SP., MSi., Ph.D
 NIP. 19770810200212 1 003

Pembimbing Pendamping



Prof. Dr. Ir. Abdul Latief Abadi, MS
 NIP. 19550821 198002 1 002

Ketua Jurusan,
 Hama dan Penyakit Tumbuhan



Pri Rahardjo, SU.
 NIP. 19550403 198303 1 003

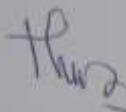
Tanggal persetujuan:

LEMBAR PENGESAHAN

Mengesahkan

MAJELIS PENGUJI

Penguji I



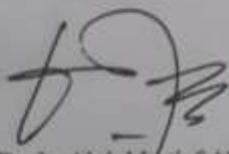
Prof. Dr. Ir. Tutung Hadiastono, MS
NIP. 19521028 197903 1 003

Penguji II



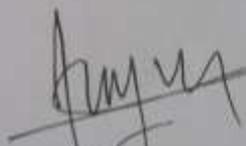
Restu Rizkyta Kusuma, SP., M.Sc
NIK. 880504 04 32 0021

Penguji III



Prof. Dr. Ir. Abdul Latief Abadi, MS
NIP. 19550821 198002 1 002

Penguji VI



Luqman Qurata Aini, SP., MSi., Ph.D
NIP. 19770840 200212 1 003

Tanggal Lulus :

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



*Skripsi ini kupersembahkan untuk
Kedua Orang tua tercinta serta kakak
Dan Adikku
Jersayang*

RINGKASAN

AGUNG WICAKSONO. 115040200111083. Uji Efektivitas Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.) Sebagai Antibakteri Terhadap *Blood Disease Bacterium* Pada Buah Pisang (*Musa acuminata balbisiana* Colla.) Dibawah bimbingan Luqman Qurata Aini, SP., MSi., Ph.D sebagai pembimbing utama dan Prof. Dr. Ir. Abdul Latief Abadi, MS sebagai pembimbing Pendamping.

Penyakit darah yang disebabkan *Blood disease bacterium* (BDB) merupakan kendala serius dalam budidaya tanaman pisang di Indonesia karena dapat menyebabkan kehilangan hasil sebesar 20-100% dalam satu luasan lahan. Selama ini pengendalian dilakukan dengan perbaikan teknik budidaya dan penggunaan bahan kimia, namun tingkat keberhasilan belum maksimal. Pemanfaatan ekstrak kulit buah kakao yang mengandung senyawa antibakteri menjadi alternatif pengendalian BDB yang lebih ramah lingkungan

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya bulan Oktober 2014 sampai Februari 2015. Pelaksanaan penelitian meliputi uji virulensi, pembuatan ekstrak kulit buah kakao, uji sensitivitas antibakteri, dan uji penekanan pertumbuhan BDB pada buah pisang. Dilakukan dua metode uji yaitu uji sensitivitas antibakteri dan uji penekanan pertumbuhan BDB pada buah pisang. Uji sensitivitas antibakteri menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan enam macam perlakuan yaitu US1 (Ekstrak kakao 15%), US2 (Ekstrak kakao 30%), US3 (Ekstrak kakao 45%), US4 (Ekstrak kakao 60%), US5 (Ekstrak kakao 75%) dan US6 (Ekstrak kakao 90%). Perlakuan diulang sebanyak 4 kali. Kontrol terdiri dari K1 (DMSO), K2 (Etanol 80%) dan K3 (Streptomisin). Uji penekanan pertumbuhan BDB pada buah pisang menggunakan RAL dengan 10 macam perlakuan yaitu UP1 (Kontrol BDB), UP2 (DMSO dan BDB), UP3 (Streptomisin dan BDB), UP4 (Alkohol dan BDB), UP5 (Ekstrak kakao 15% dan BDB), UP6 (Ekstrak kakao 30% dan BDB), UP7 (Ekstrak kakao 45% dan BDB), UP8 (Ekstrak kakao 60% dan BDB), UP9 (Ekstrak kakao 75% dan BDB) dan UP10 (Ekstrak kakao 90% dan BDB). Perlakuan diulang sebanyak 3 kali.

Hasil uji sensitivitas antibakteri dapat disimpulkan bahwa ekstrak kakao pada konsentrasi 30%, 45% 60%, 75% dan 90% mampu menghambat pertumbuhan BDB. Perlakuan kontrol streptomisin memberikan pengaruh yang nyata terhadap uji penekanan bakteri, Namun perlakuan kontrol streptomisin tidak berbeda jauh dengan perlakuan ekstrak kakao 90%. Dari uji penekanan pertumbuhan BDB pada buah pisang dapat disimpulkan bahwa perlakuan ekstrak kulit buah kakao konsentrasi 90% lebih efektif dalam menekan pertumbuhan BDB dibandingkan dengan perlakuan ekstrak yang lainnya.

AGUNG WICAKSONO, 115040200111083. Antibacterial Effectiveness of Fruit Peel Extract from Cacao (*Theobroma cacao* L.) to Blood Disease Bacterium on Banana (*Musa acuminata balbisiana* C.) Supervised by Luqman Qurata Aini, SP.,M.Si.,Ph.D and Prof.Dr.Ir Abdul Latief Abadi, MS.

Blood disease caused by *Blood disease bacterium* (BDB) has been reported caused loss of banana production by 20-100%. The control measure was commonly performed using cultivation technique and by the use of chemicals, but the effectivity were low. Utilization of cacao fruit peel extract which contains compounds act as antibacterial would be the alternative controlling for BDB and more environmental friendly.

The research was conducted at the laboratory of Bacteriology Department of pests and Plant disease Faculty of Agriculture, Brawijaya University from October 2014 until February 2015. Implementation of these research included the virulence assay, making fruit peel cocoa extracts, antibacterial sensitivity assay, and assay for suppression of BDB on banana fruit. Antibacterial sensitivity assay was carried out by agar diffusion assay. Antibacterial sensitivity assay were conducted using complete randomized design with six treatment as follows: US1 (15% of cocoa Extract), US2 (30% of cocoa Extract), US3 (45% of cocoa Extract), US4 (60% of cocoa Extract), US5 (75% of cocoa Extract), and US6 (90% of cocoa Extract). Each treatment was repeated four times. The control included of K1 (DMSO), K2 (ethanol 80%) and K3 (Streptomycin). Suppression of BDB growth assay was conducted using complete randomized design with ten treatments as follows: UP1 (BDB or control), UP2 (DMSO and BDB), UP3 (Streptomycin and BDB), UP4 (alcohol and BDB), UP5 (15% of cocoa Extract and BDB), UP6 (30% of cocoa Extracts and BDB), UP7 (45% of cocoa Extract and BDB), UP8 (60% of cocoa Extract and BDB), UP9 (75% of cocoa Extract and BDB) and UP10 (90% of cocoa Extract and BDB). Each treatment was repeated three times. Observations were done on four day after inoculation.

The results of the Antibacterial sensitivity assay it can be concluded of cocoa extracts at a concentration of 30%, 45% to 60%, 75% and 90% are able to inhibit the growth of the BDB. Streptomycin controls give the treatment effect the real assay of the emphasis of bacteria, but not control streptomycin treatment In contrast to the treatment of cocoa extract 90%. Assay for suppression the growth of BDB on bananas can be concluded that treatment extracts peel fruit concentration of cocoa 90% more effective in suppressing the growth of BDB compared with the treatment of other extracts.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang dengan rahmat dan hidayah-Nya telah menuntun penulis sehingga dapat menyelesaikan Skripsi yang berjudul Uji Efektivitas Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma Cacao*) sebagai Antibakteri terhadap *Blood Disease Bacterium* pada Buah Tanaman Pisang (*Musa acuminata balbisiana* Colla).

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Luqman Qurata Aini, SP., MSi., Ph.D selaku dosen pembimbing utama dan Prof. Dr. Ir. Abdul Latief Abadi, MS selaku dosen pembimbing pendamping atas segala kesabaran, nasihat, arahan dan bimbingannya kepada penulis. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada ketua majelis penguji Prof. Dr. Ir. Tutung Hadiastono, MS dan majelis penguji Restu Rizkyta Kusuma, SP., M.Sc serta kepada ketua Jurusan Hama Penyakit Tumbuhan Dr. Ir. Bambang Tri Rahardjo, SU dan Seketaris Jurusan Dr. Ir. Toto Himawan, SU. Selaku dosen pembimbing akademik atas segala nasihat dan bimbingannya kepada penulis beserta seluruh dosen atas bimbingan dan arahan yang selama ini diberikan serta kepada karyawan Jurusan Hama Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya atas fasilitas dan bantuan yang diberikan.

Penghargaan yang tulus penulis berikan kepada kedua orang tua dan keluarga besar saya atas doa, cinta, kasih sayang, pengertian, dan dukungan yang diberikan kepada penulis. Juga kepada rekan-rekan jurusan hama dan penyakit tumbuhan khususnya 2011 yang telah menjadi keluargaku di Malang.

Penulis berharap semoga hasil dari penelitian ini dapat bermanfaat bagi banyak pihak dan dapat memberikan sumbangan pemikiran dalam kemajuan ilmu pengetahuan.

Malang, 19 Maret 2015

Penulis

RIWAYAT HIDUP

Agung Wicaksono dilahirkan di Banyuwangi Jawa Timur pada tanggal 14 Juli 1993, anak kedua dari dua bersaudara dari Bapak Waloyo dan Ibu Suwarni.

Penulis terdaftar sebagai mahasiswa Program Studi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang, Jawa Timur, melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN) TULIS 2011.

Selama menjadi mahasiswa penulis pernah mengikuti organisasi di Eksekutif Mahasiswa (EM UB) selama 2 periode 2012-2014, Brawijaya Nano Club (BNC) 2012, Riset dan Karya Ilmiah Mahasiswa (RKIM UB) 2013, International Association on Agriculture and Related Sciences (IAAS LC-UB) 2014, Unit Aktivitas Bulu Tangkis (UABT LC-UB) 2014, Pusat Kajian Riset dan Karya Ilmiah Mahasiswa (PRISMA) 2014 DLL.

Selama menjadi mahasiswa penulis pernah meraih prestasi sebagai Juara 1 Tingkat Nasional Karya Tulis Ilmiah di IPB (2011), UNEJ (2011), UI (2012) UGM (2012), ITB (2012), USU (2013), ITS (2013), UNAIR (2014), UB (2014) Juara 2 Tingkat Nasional LKTI di UNSRI (2013), UNUD (2013), UNHAS (2014) Juara 3 Tingkat Nasional LKTI di Kemempora RI (2014), UNAIR (2014) UNS (2014), UNPAD (2014), Finalis Tingkat Nasional LKTI di UNIMED (2014) UGM (2013), ITS (2013). Medali Perunggu PIMNAS XXVI di Mataram 2013 Kategori Presentasi PKM- P. Silver Medal ICEAF'S Universiti Putra Malaya 2011, Gold Medal ICAST di Korea University (2012), Ambassador Eubios Ethics Institute Thailand (2012), Youth Exchange Ho Chi Minh City Vietnam (2012), Gold Medal The 2nd SEAMEO RIHED-ACC China Beijing (2013), Gold Medal Cigif Cyber Seoul National University (2013), Silver Medal Innovation I-ENVEX Universiti Malaysia Perlis (2013) Gold Medal International Essay UNESCO University of Tokyo (2013) Broze Medal Essay Competition National University of Singapore (2014) Mahasiswa Berprestasi Utama (MAWAPRES) Pertanian (2014) dan Top five Mahasiswa Berprestasi (MAWAPRES) Tingkat UB (2014).

Selama menjadi mahasiswa penulis pernah menjadi asisten mata kuliah Biokimia Tanaman (2013), Statistika (2013), Fisiologi Tumbuhan, Botani (2014) Pertanian Berlanjut (2014), Teknologi Konservasi Sumberdaya Lahan (2014).

DAFTAR ISI

RINGKASAN	i
SUMMARY	ii
KATA PENGANTAR	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Hipotesa Penelitian.....	3
1.5 Manfaat Penelitian	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Tanaman Pisang (<i>Musa acuminata balbisiana</i> Colla).....	4
2.2 Ekologi Tanaman Pisang	5
2.3 Penyakit Darah <i>Blood Disease Bactrium</i>	9
2.4 Tanaman Kakao (<i>Theobroma cacao</i> Linn).....	12
2.5 Kandungan Senyawa Kulit Buah Kakao	13
2.6 Antibakteri	20
2.7 Pengujian Sensitivitas Antibakteri.....	22
2.8 Mekanisme Antibakteri Kulit Buah Kakao	23
III. METODE PENELITIAN	
3.1 Tempat dan Waktu	24
3.2 Alat dan Bahan	24
3.3 Metode Penelitian.....	24
3.3.1 Persiapan Penelitian	25
3.3.2 Identifikasi BDB	25
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Uji Patogenisitas	29
4.2 Ekstraksi Kulit Buah Kakao.....	30
4.3 Pengujian Sensitivitas Antibakteri	31
4.4 Uji Penekanan Pertumbuhan BDB pada Buah Pisang.....	35
4.5 Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Kakao.....	39
V. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan	41
5.2 Saran.....	41
DAFTAR PUSTAKA	
LAMPIRAN	

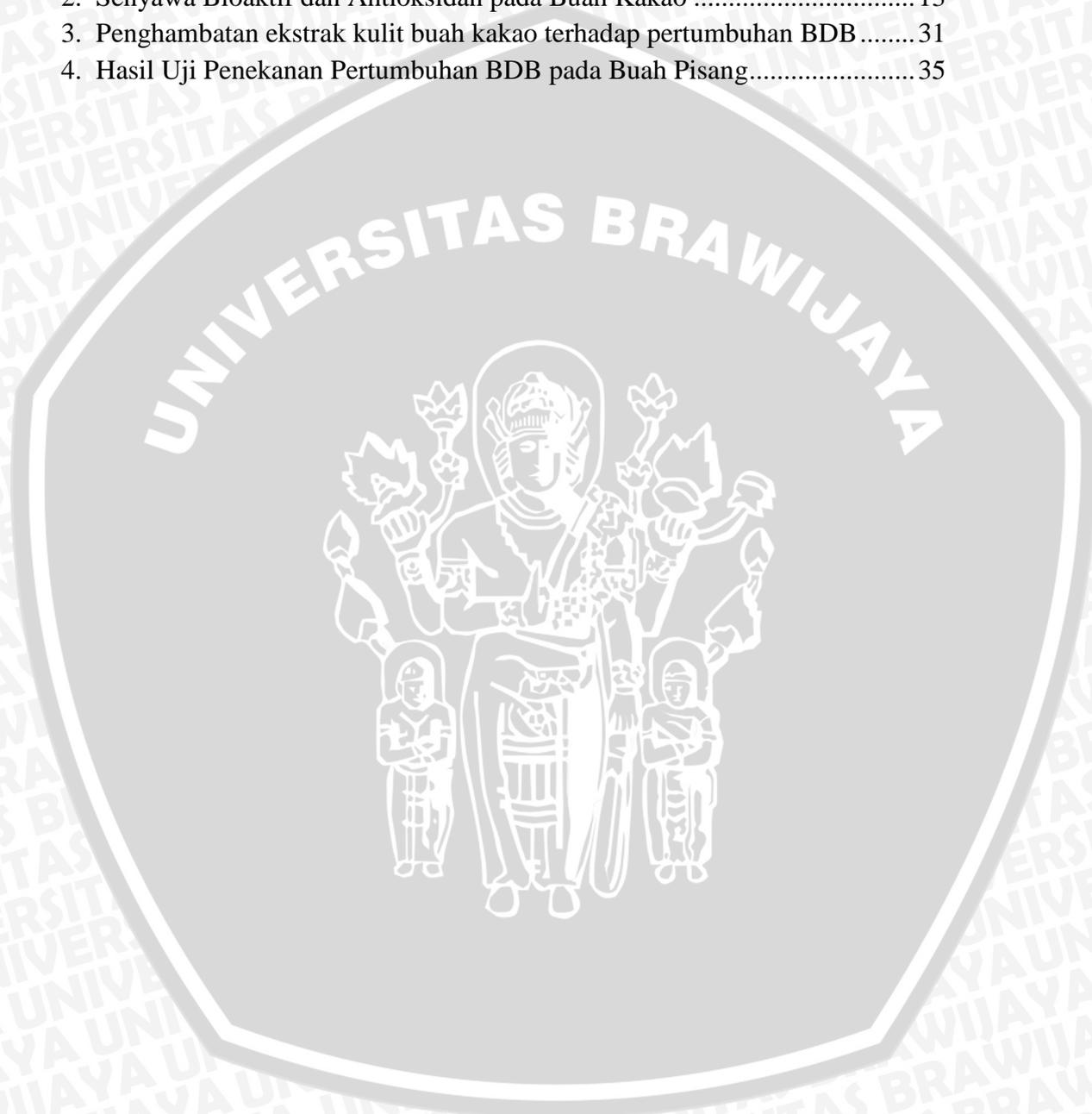
DAFTAR GAMBAR

Nomor	Teks	Halaman
1.	Ciri-ciri gejala tanaman pisang yang Terinfeksi BDB.....	9
2.	Tanaman Kakao (<i>Theobroma cacao</i> Linn)	12
3.	Struktur Polifenol dalam Buah Kakao	15
4.	Struktur Kimia Katakain.....	16
5.	Struktur Kimia Antosianin	17
6.	Struktur Kimia Antosianidin.....	17
7.	Struktur Kimia Leukoantosianidin.....	18
8.	Struktur Molekul Theobromine <i>3,7-dimethylxantine</i>	20
9.	Uji patogenisitas BDB pada buah pisang kepok.....	29
10.	Ekstrak kental kulit buah kakao dari proses <i>Rotari evaporator</i>	30
11.	Perbandingan hasil uji sensitivitas antibakteri	34
12.	Hasil uji penekanan pertumbuhan BDB pada buah pisang.....	38
13.	Uji fitokimia senyawa alkaloid dan senyawa flavonoid	39



DAFTAR TABEL

Nomor	Teks	Halaman
1.	Perbedaan Inang Penyakit Moko, Bugdok dan BDB.....	10
2.	Senyawa Bioaktif dan Antioksidan pada Buah Kakao	13
3.	Penghambatan ekstrak kulit buah kakao terhadap pertumbuhan BDB.....	31
4.	Hasil Uji Penekanan Pertumbuhan BDB pada Buah Pisang.....	35



DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Teks	Halaman
1.	Tabel Analisisn Ragam Uji Sensitivitas Antibakteri dan Tabel Uji Penekanan Pertumbuhan BDB pada Buah Pisang.....	49



1. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Pisang merupakan komoditas buah paling dominan yang banyak ditanam oleh petani di Indonesia. Sebagai negara tropika dengan areal yang cukup luas di dunia, peran Indonesia dalam produksi buah tropika khususnya buah pisang cukup besar. Produksi pisang nasional menempati urutan kelima setelah India, Ekuador, Brazil, dan Cina (Rustam, 2007). Produksi pisang di Indonesia pada tahun 2012 mencapai 6.189.052 ton dan terjadi penurunan yang drastis pada tahun 2013 menjadi 5.359.126 ton (BPS, 2014). Hal ini diakibatkan adanya serangan penyakit *Fusarium* dan *Blood Disease Bacterium* pada buah pisang yang mengakibatkan beberapa perkebunan swasta menghentikan proses produksinya (Deptan, 2014).

Berdasarkan penelitian Rustam (2007) penyakit layu bakteri merupakan penyebab kerusakan utama pada tanaman pisang, yang dikenal dengan sebutan penyakit darah atau *Blood Disease Bacterium* (BDB). Penyakit ini menyerang seluruh daerah sentra produksi pisang di Indonesia. Hermanto (2001) mengemukakan bahwa penyakit BDB yang disebabkan oleh *Ralstonia solanacearum* Phylotype IV merupakan penyebab utama turunnya produksi buah pisang di Indonesia. Hal tersebut dibuktikan dalam penelitian Asrul (2008) bahwa penyakit BDB menempati urutan pertama dalam daftar prioritas penyakit tanaman pisang. Bakteri ini menyebabkan kehilangan hasil produksi mencapai 20-100% (Sulyo, 1992).

Berdasarkan penelitian Rustam (2007) mekanisme dari penularan BDB umumnya melalui serangga polinator pada bunga pisang. Bakteri yang terbawa kemudian melakukan penetrasi pada nektartoda atau luka pada bunga pisang yang tidak menjadi buah. BDB dapat pula menginfeksi melalui perakaran. Bakteri masuk kedalam jaringan akar tanaman melalui lubang alami maupun luka akibat tusukan stilet nematoda.

Gejala penyakit darah pada tanaman pisang biasanya ditunjukkan oleh pelepasan daun yang mulai melemah kemudian patah pada bagian pangkalnya sehingga daun terlihat patah menggantung. Warna daun menjadi kuning kemudian nekrosis dan kering. Kulit buah sering tampak tidak normal, terkadang ada yang tampak kuning terlalu awal dan menghitam. Jika buah dipotong, bagian dalam buah kelihatan berwarna merah kecoklatan atau menjadi busuk berlendir (Sastraatmadja, 1990).

Pengendalian yang efektif dan efisien sangat dibutuhkan untuk mencapai produksi pisang yang optimal. Pengendalian yang telah dilakukan yaitu mencabut rumpun yang sakit, memilih bibit dari perdu yang sehat, pemeliharaan dan pemupukan sesuai anjuran, pengelolaan irigasi, dan aplikasi bahan kimia sintetis formalin 10% selama 10 menit pada parang tanaman. Penggunaan bahan kimia sintetis mampu membunuh patogen ini, tetapi mikroba bermanfaat yang lain juga terkena dampaknya, ditambah dengan adanya residu kimianya yang berbahaya bagi manusia (Semangun, 1989). Pendekatan yang lebih ramah lingkungan dengan memanfaatkan limbah kulit buah kakao menjadi alternatif pengendalian yang menarik untuk dikembangkan kedepannya.

Kakao merupakan salah satu jenis tanaman yang kaya akan senyawa bioaktif, terutama polifenol dan alkaloid yang mempunyai khasiat sebagai antioksidan dan antimikroba. Kulit buah kakao diketahui mengandung senyawa aktif alkaloid yaitu theobromin *3,7-dimethylxantine*. Kulit buah kakao mengandung senyawa aktif flavonoid atau tanin yang terkondensasi, seperti antosianidin, katekin, dan leukoantosianidin yang banyak terikat dengan glukosa. Senyawa bioaktif tersebut diketahui memiliki sifat antibakteri (Matsumoto *et al.*, 2004). Keberadaan senyawa tersebut di dalam kulit buah kakao diduga menjadi salah satu penyebab tidak ditemukannya penyakit pada tanaman kakao yang disebabkan oleh bakteri (Adamafio, 2004).

Kulit kakao yang berpotensi sebagai antibakteri diharapkan dapat menjadi suatu kajian penelitian yang menarik jika diuji pada patogen tanaman, khususnya BDB dalam bentuk ekstraksi dari kulit buah kakao.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah ekstrak kulit buah kakao mampu menghambat pertumbuhan BDB?
2. Bagaimana mekanisme senyawa kakao dalam menghambat pertumbuhan BDB?

1.3 Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak kulit buah kakao dalam menghambat pertumbuhan BDB.

1.4 Hipotesa

Ekstraksi dari kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) mampu menekan pertumbuhan BDB pada buah pisang.

1.5 Manfaat

Hasil penelitian ini diharapkan menjadi sumber informasi sifat antibakteri yang terdapat pada kulit buah kakao untuk menekan pertumbuhan BDB pada buang pisang, serta mengoptimalkan limbah kulit buah kakao.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Pisang (*Musa acuminata balbisiana* Colla)

Pisang merupakan tanaman buah berupa herba yang berasal dari kawasan Asia Tenggara. Tanaman ini kemudian menyebar ke Afrika (Madagaskar), Amerika Selatan dan Tengah. Di Jawa Barat, pisang disebut dengan *cau*, di Jawa Tengah dan Jawa Timur dinamakan *gedang* (Rukmana, 1999).

Tjitrosoepomo (2000) mengemukakan bahwa pisang termasuk dalam kerajaan Plantae, divisi Spermatophyta, kelas Monocotyledonae, famili Musaceae, genus *Musa*, dan spesies *Musa acuminata balbisiana* Colla. Tanaman pisang termasuk dalam golongan monokotil tahunan berbentuk pohon yang tersusun atas batang semu. Batang semu ini merupakan tumpukan pelepah daun yang tersusun secara rapat teratur. Percabangan tanaman bertipe *simpodial* dengan meristem ujung memanjang dan membentuk bunga lalu buah. Bagian bawah batang pisang menggebung berupa umbi yang disebut bonggol. Pucuk lateral muncul dari kuncup pada bonggol yang selanjutnya tumbuh menjadi tanaman pisang. Buah pisang umumnya tidak berbiji (Cahyono, 2002).

Pisang mempunyai batang semu yang tersusun atas tumpukan pelepah daun yang tumbuh dari batang bawah tanah sehingga mencapai ketebalan 20-50 cm. Daun yang paling muda terbentuk dibagian tengah tanaman, keluarinya menggulung dan terus tumbuh memanjang, kemudian secara progresif membuka. Helaihan daun bentuknya lanset memanjang, mudah koyak, panjang 1,5-3 m, lebar 30-70 cm, permukaan bawah berkilin, tulang tengah penopang jelas disertai tulang daun yang nyata, tersusun sejajar, dan warnanya hijau (Tjitrosoepomo, 2000).

Pisang mempunyai bunga majemuk, yang setiap kuncup bunga dibungkus oleh seludang berwarna merah kecoklatan. Seludang akan lepas dan jatuh ke tanah jika bunga telah membuka. Bunga betina akan berkembang secara normal, sedangkan bunga jantan yang berada di ujung tandan tidak berkembang dan tetap tertutup oleh seludang yang disebut sebagai jantung pisang (Cahyono, 2002).

Tiap kelompok bunga disebut sisir, yang tersusun dalam tandan. Jumlah sisir betina antara 5-15 buah. Buah pisang tersusun dalam tandan. Tiap tandan terdiri atas beberapa sisir, dan tiap sisir terdiri dari 6-22 buah pisang atau tergantung pada varietasnya. Proses pembuahan tanpa menghasilkan biji disebut *partenokarpi* (Rukmana, 1999).

Ukuran buah pisang bervariasi, panjangnya berkisar antara 10-18 cm dengan diameter sekitar 2,5-4,5 cm. Buah berlinggir 3-5 alur, bengkok dengan ujung meruncing atau membentuk leher botol. Daging buah (*mesokarpa*) tebal dan lunak. Kulit buah (*epikarpa*) yang masih muda berwarna hijau, namun setelah tua berubah menjadi kuning dan strukturnya tebal sampai tipis. Buah pisang termasuk buah buni, bulat memanjang, membengkok, tersusun seperti sisir dua baris, dengan kulit berwarna hijau, kuning, atau coklat. Tiap kelompok buah atau sisir terdiri dari beberapa buah pisang. Bijinya kecil, bulat, dan warna hitam. Buahnya dapat dipanen setelah 80-90 hari sejak keluarnya jantung pisang (Cahyono, 2002).

2.2 Ekologi Tanaman Pisang

Tanaman pisang akan tumbuh optimal jika persyaratan dan kebutuhan hidupnya terpenuhi dengan baik. Persyaratan kebutuhan hidup tanaman pisang meliputi keadaan tanah, keadaan iklim dan keadaan lingkungan.

Keadaan Tanah. Tanah sangat berperan penting bagi tumbuhan yaitu sebagai media tumbuh tanaman darat. Tanah menyediakan berbagai macam mineral yang digunakan oleh tumbuhan untuk tumbuh. Namun tanah juga dapat menjadi salah satu faktor pembatas bagi tanaman. Adanya bermacam kondisi fisik maupun kimiawi tanah yang berbeda-beda dimana setiap tumbuhan memiliki persyaratan tumbuh yang berbeda-beda pula.

Tanah yang cocok untuk pertumbuhan pisang ialah tanah dengan solum (kedalaman tanah) dalam, tidak berbatu (bercadas), cukup mengandung air namun tidak menggenang, tanah gembur, dan banyak mengandung kadar humus. Sedangkan jenis tanah yang cocok ialah jenis tanah liat berkapur atau *alluvial*. Pada tanah yang kritis, tanaman pisang masih dapat tumbuh dan hidup tetapi hasilnya kurang baik. Namun, dengan reklamasi dan pengolahan tanah yang baik

serta pemberian pupuk dan penghijauan tanaman pisang dapat berproduksi lebih baik (Cahyono, 2002).

Pada tanah liat yang berat, tanaman pisang masih dapat tumbuh dan memberikan hasil yang tinggi apabila tanah tersebut diolah dengan baik dan pengairannya baik pula. Tanah liat yang berat sulit merembeskan air dan mudah memadat sehingga mudah terjadi genangan air, terutama pada musim penghujan. Oleh karena itu, pengairan pada tanah liat berat harus baik. Air yang menggenang dapat menyebabkan akar pisang membusuk dan mudah terserang penyakit.

Keasaman (pH) tanah yang sesuai dengan pertumbuhan tanaman pisang, yaitu sekitar 4,5-7,5. Tanaman pisang akan mengalami hambatan pertumbuhan apabila pH dibawah 4,5 atau diatas 7,5. Nilai pH optimum untuk pertumbuhan tanaman pisang ialah 5-7 (Cahyono, 2002).

Tanaman pisang dapat ditanam dan tumbuh dengan baik pada berbagai macam keadaan topografi tanah, baik pada tanah datar maupun tanah miring. Namun yang ideal ialah pada tanah datar pada ketinggian kurang dari 1000 meter di atas permukaan laut. Tanaman pisang akan tumbuh dengan baik pada ketinggian sampai 800 meter di atas permukaan laut (Cahyono, 2002).

Tanaman pisang sebenarnya tergolong jenis tanaman dataran rendah. Namun tanaman pisang masih dapat hidup dan berproduksi di daerah-daerah pegunungan yang mempunyai ketinggian kurang dari 1000 meter di atas permukaan laut. Tanaman pisang yang ditanam di pegunungan dengan ketinggian di atas 1000 meter di atas permukaan laut, maka produksinya kurang memuaskan dan umur panennya menjadi lebih lama jika dibandingkan dengan pisang yang ditanam pada ketinggian kurang dari 1000 meter dpl (Cahyono, 2002).

Keadaan Iklim. Rata-rata curah hujan yang cocok untuk tanaman pisang ialah berkisar antara 1.520-3.800 mm per tahun. Namun demikian, tanaman pisang masih toleran di daerah yang curah hujannya lebih rendah. Pisang yang ditanam di daerah tadah hujan memerlukan curah hujan rata-rata 2.000-2.500 mm per tahun. Tinggi rendahnya curah hujan ini sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan tanaman untuk berproduksi, karena curah hujan

mempunyai pengaruh terhadap ketersediaan air tanah yang sangat diperlukan oleh tanaman. Pada daerah yang beriklim basah sering terjadi *stagnasi* (genangan air).

Genangan air ini dapat mengganggu pertumbuhan tanaman, sebab tanaman mudah terserang penyakit. Oleh karena itu, penanaman pisang di daerah yang beriklim basah harus memiliki kedalaman muka air tanah 50-200 cm di bawah tanah. Sedangkan pisang yang ditanam di daerah kering masih dapat tumbuh subur apabila kedalaman air tanahnya kurang dari 150 cm di bawah tanah. Tinggi rendahnya kedalaman air tanah ini mempunyai pengaruh terhadap tanaman dalam hal mendapatkan air, terutama dalam musim kemarau (Cahyono, 2002).

Faktor iklim yang berpengaruh terhadap pertumbuhan tanaman ialah suhu udara. Suhu merupakan derajat panas atau dingin yang diukur berdasarkan skala tertentu dengan menggunakan termometer. Pengaruh suhu terhadap tumbuhan sangat besar sehingga pertumbuhannya sangat bergantung padanya. Tanaman memerlukan suhu tertentu agar dapat tumbuh dengan baik. Untuk tanaman diperlukan suhu antara 15°C sampai 40°C, jika suhu berada di bawah 15°C atau di atas 40°C maka pertumbuhan tanaman akan menurun secara drastis (Basri, 1992).

Rata-rata suhu yang cocok untuk pertumbuhan pisang ialah berkisar 16°C dengan suhu udara optimal rata-rata 27°C. Di bawah suhu 16 – 38°C tanaman pisang akan tumbuh kerdil dan tangkai bunga akan muncul terlambat. Tanaman pisang yang ditanam pada suhu di bawah 8°C dalam waktu yang panjang akan menimbulkan kerusakan tanaman secara total. Sedangkan kelembapan nisbi udara yang cocok untuk tanaman pisang ialah 60%. Pada proses fotosintesis, tanaman pisang membutuhkan sinar matahari penuh secara langsung sepanjang hari. Di daerah yang memiliki curah hujan tinggi, lebih dari 3.000 mm per tahun, hanya menerima penyinaran matahari kurang dari 69%. Sedangkan di daerah yang mempunyai curah hujan kurang dari 2.000 mm per tahun menerima penyinaran matahari rata-rata sekitar 60%-75%. Tinggi rendahnya intensitas sinar matahari yang diterima berpengaruh terhadap mutu buah pisang yang dihasilkan, khususnya dalam hal jumlah kandungan gula dan vitamin C (Cahyono, 2002).

Keadaan angin juga berpengaruh terhadap pisang. Angin yang kencang dengan kecepatan lebih dari 4 m/detik dapat menyebabkan tanaman pisang roboh. Selain itu, angin yang kencang dapat menyebabkan penguapan air tanah, sehingga tanah menjadi cepat kering dan keras. Akibatnya ialah imbalance antara udara dan air dalam tanah tidak seimbang dan tidak mencukupi. Keadaan tanah yang kering dan padat menyebabkan aktivitas jasad kering di dalam tanah tidak dapat membantu proses pelepasan unsur hara di dalam tanah. Akibatnya ialah pertumbuhan akar terhambat karena tanaman tidak dapat menyerap unsur hara sehingga tanaman tidak tumbuh normal (*wind break*) (Cahyono, 2002).

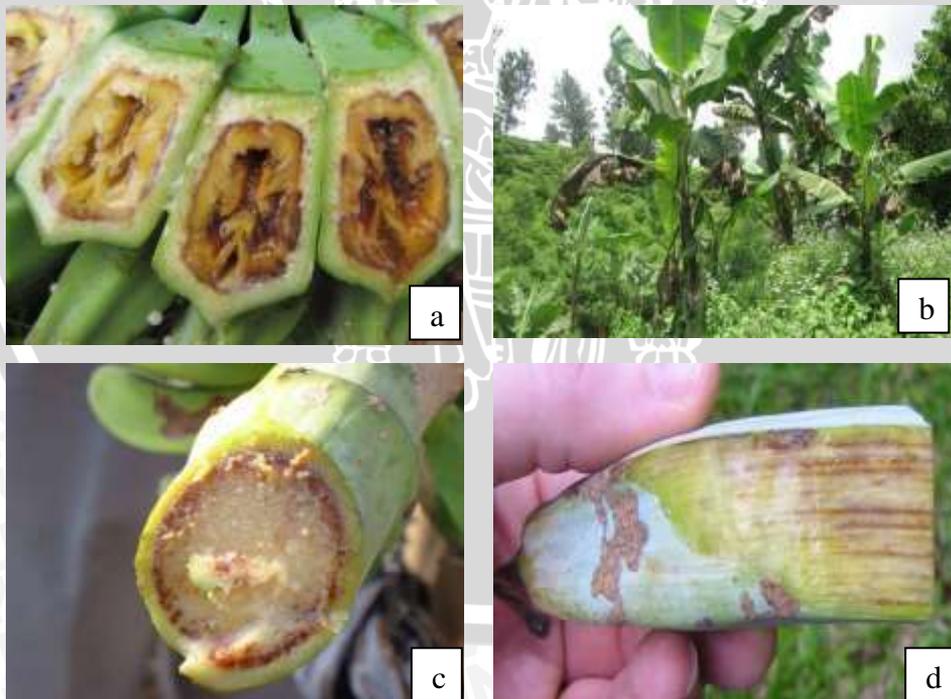
Ketinggian Tempat. Tanaman pisang toleran akan ketinggian dan kekeringan. Tanaman pisang dapat tumbuh di dataran rendah sampai pegunungan setinggi 1000 m dpl. Produktivitas pisang yang optimum akan dihasilkan pada pisang yang ditanam pada ketinggian kurang dari 500 m dpl. Tanaman pisang umumnya tumbuh dan berproduksi secara optimal di daerah yang memiliki ketinggian antara 400 m- 600 m dpl. Di dataran tinggi umur tanaman berubah menjadi lama dan kulitnya tebal (Cahyono, 2002).

Ketinggian tempat mempengaruhi jenis organisme yang hidup, karena ketinggian yang berbeda akan menyebabkan kondisi fisik dan kimia yang berbeda. Semakin tinggi suatu daerah semakin dingin suhu di daerah tersebut. Demikian juga sebaliknya bila lebih rendah berarti suhu udara di daerah tersebut lebih panas. Semakin tinggi suatu tempat, maka suhu dan intensitas cahaya di tempat tersebut juga akan semakin berkurang. Kondisi lain pada daerah yang memiliki elevasi tinggi ialah jumlah konsentrasi CO₂ yang relatif lebih kecil bila dibandingkan pada daerah yang lebih rendah. Padahal CO₂ diperlukan dalam proses fotosintesis untuk diubah menjadi karbohidrat, sehingga tumbuhan yang tumbuh pada dataran tinggi cenderung memiliki jumlah klorofil yang lebih banyak dari pada tumbuhan yang hidup di dataran rendah, agar dapat menangkap CO₂ lebih banyak. Sedangkan tumbuhan daerah dataran rendah, dengan kondisi iklimnya umumnya temperatur tinggi (Gold sworthy, 1992).

2.3 Penyakit Darah (*Blood Disease Bacterium*)

Penyakit darah merupakan penyakit pada tanaman pisang yang disebabkan oleh bakteri. Penyakit ini pertama kali ditemukan di Pulau Selayar, Sulawesi tahun 1910. Pada tahun 1923 patogen penyebab penyakit darah pada tanaman pisang diberi nama *Pseudomonas celebensis* (Semangun, 1989). Taksonomi yang tepat untuk menyatakan nama bakteri penyebab darah pada tanaman pisang sampai saat ini belum ada, sehingga penyebutan nama bakteri ini hanya digunakan nama umum saja yaitu penyakit darah, dalam bahasa Inggris disebut *Blood Disease Bacterium* yang disingkat menjadi BDB (Cahyaniati, 2000).

Dinamakan penyakit darah karena bila batang pisang yang terserang dipotong pada permukaan bidang potongan keluar lendir bakteri yang berwarna kemerahan menyerupai darah. Berdasarkan penelitian Baharuddin (1994) pada jaringan pembuluh, terlihat bercak kemerahan yang merupakan gejala khas penyakit ini.



Gambar 1. Gejala yang disebabkan oleh BDB terdiri dari a). pada buah pisang b). pada tanaman pisang c). pada bonggol pisang d). pada kulit buah pisang. (Baharuddin, 1994).

Penyakit darah ini menjadi kendala utama pada produksi pisang di beberapa daerah, antara lain Lampung, Jawa Timur, Jawa Barat, Lombok, Sumatera Selatan, dan Sulawesi Selatan. Kerusakan tanaman pisang yang disebabkan oleh penyakit tersebut berkisar antara 27–80%. Sedangkan kerugian yang diakibatkan oleh penyakit ini cukup tinggi yaitu berkisar antara 20–90%, bahkan dapat mencapai 100% pada serangan berat (Asrul, 2008).

BDB dapat menyebabkan produksi buah pisang menurun secara signifikan. Pengamatan di lapangan menunjukkan bahwa BDB selalu menyerang pisang *plantain* seperti pisang kepok, pisang raja dan pisang nangka (Dikin, 1995). Penyebaran penyakit ini dibantu vektor yang menjadi pengujung bunga jantan dan jantung pisang. Eden Green (1994) mengemukakan bahwa pada tanaman yang sudah berbuah, ibu tulang daun dan tangkai menjadi lemah dan patah. Daun muda menjadi kuning terang, kemudian nekrotik dan mengering.

Gejala penyakit darah dapat diketahui dengan memotong batang atau bonggol tanaman pisang. Gejala yang paling khas ialah terjadi pembusukan daging buah sehingga terjadi perubahan warna kuning sampai coklat kemerahan. Pada umumnya permukaan kulit buah pisang yang terinfeksi tidak memperlihatkan gejala dan ukuran buah normal (Cahyaniati, 2000).

Ada 3 jenis penyakit layu yang umumnya menyerang tanaman pisang, yaitu penyakit moko, bugtok dan BDB. Penyakit moko pertama kali ditemukan pada tahun 1890-an dan berstatus endemik di wilayah Amerika Selatan dan dibagian selatan Filipina. Penyakit Bugtok ditemukan pertama kali di Filipina pada pertengahan tahun 1960, sedangkan BDB hingga saat ini hanya ditemukan di wilayah Indonesia. Ketiga patogen ini mempunyai perbedaan karakteristik pada tingkat morfologi, kisaran inang, dan aras molekulernya (Cahyaniati, 2000).

Tabel 1. Perbedaan inang dan temuan awal penyakit Moko, Bugtok dan BDB

	Moko	Bugtok	BDB
Nama Patogen	<i>R. solanacearum</i> ras 2	<i>R. solanacearum</i> ras 2	BDB
Inang Utama	<i>Heliconia sp.</i>	<i>Heliconia sp.</i>	Pisang
Inang alternatif	Pisang	Pisang	-
Negara asal	Amerika selatan (1980)	Filipina (1960)	Indonesia (1920)

Sumber: (Asrul, 2008).

Gejala penyakit ini pada tanaman pisang yang masih muda ialah layu total dan tidak didahului oleh penguningan daun. Pada tanaman yang lebih tua, daun-daun menguning dimulai dari daun yang muda, kemudian daun tersebut terkulai. Biasanya pada nomor 3 atau 4 dari daun termuda, yang berubah menjadi kuning, yang pada akhirnya akan menjadi kering dan mati. Pada buah pisang yang terserang, bagian yang seharusnya berisi daging buah menjadi berisi cairan kental yang berwarna merah kecoklatan (Supeno, 2003).

Patogen BDB dapat bertahan selama bertahun-tahun di dalam tanah, meskipun tidak terdapat di tanaman pisang. BDB dapat menular dari tanaman sakit ke tanaman sehat melalui bibit, bonggol atau anakan yang sakit, peralatan kebun (parang, cangkul, dll), kontak melalui tanah (Nurhadi *et al.*, 1994) atau melalui air irigasi dan dapat disebarkan oleh vektor (*Drosophilidae*, *Piophilidae*, *Fergunidae* dan *Tanyderidae*) melalui bunga pisang. Ciri-ciri yang dapat dilihat pada patogen BDB ini ialah koloni berbentuk bulat atau lonjong (berukuran 2 sampai 5 mm) setelah 4 hari pada suhu 28°C, tidak fluidal, pinggir koloni jelas dan bening, dengan bagian tengah sedikit keruh bisa dilihat pada gambar 5 koloninya yang bulat atau lonjong (Supeno, 2003).

Kemampuan dalam hal mengoksidasi atau menggunakan sumber karbon, terutama glukosa, sukrosa, galaktosa, gliserol, mannososa dan ribosa, menunjukkan terdapat perbedaan di antara isolat *Rastonia solanacearum* dengan *Blood Disease Bacterium* (Supriadi, 1995).

Bedasarkan penelitian Asrul (2008) pada medium TZC (*Tetrazolium chloride*) yang diinkubasikan pada temperatur 28°C selama 4 hari, koloni bakteri berukuran 2-5 mm, tidak beraturan, cembung dan fluidal, dengan atau tanpa pusat formasi merah muda. Ciri lainnya ialah koloni cenderung lengket pada permukaan media sehingga agak sulit diambil dengan menggunakan jarum ose. Sifat ini tidak dijumpai pada jenis bakteri *Rastonia solanacearum* dan *Pseudomonas syzygii*.

2.4 Tanaman Kakao (*Theobroma cacao* Linn.)

Tanaman kakao merupakan keturunan dari genus *Theobroma*, salah satu kelompok kecil tanaman yang berasal dari hulu Sungai Amazon dan daerah tropika lain di Amerika Tengah serta Amerika Selatan. Terdapat lebih dari 20 species dalam genus ini, tetapi hanya *Theobroma Cacao* yang dibudidayakan dan memberikan nilai ekonomis (Adamafio, 2004). Varietas jenis kakao dibagi menjadi dua tipe besar, yaitu:

a. Criollo

Criollo termasuk kakao yang bermutu tinggi atau kakao mulia. Negara-negara penghasil kakao ini adalah Venezuela, Ekuador, Trinidad, Grenada, Srilangka, Indonesia, Samoa, Jamaica, Suriname (Sunanto, 1992).

b. Forastero

Forastero umumnya termasuk kakao bermutu rendah disebut kakao curah atau *bulk cacao*. Jenis kakao ini berasal dari Brazil, Afrika Barat dan Ekuador. Jenis Forastero dikenal sebagai penghasil biji kakao lindak. Kakao lindak merupakan kakao kualitas kedua dan digunakan sebagai bahan komplementer dalam mengolah kakao mulia. kakao lindak mendominasi seluruh perkebunan kakao di Indonesia (Sunanto, 1992).

Di daerah tempat asalnya (Amerika Selatan), tanaman kakao tumbuh subur di hutan-hutan dataran rendah dan hidup dibawah naungan pohon-pohon yang tinggi. Kesuburan tanah, kelembaban udara, suhu dan curah hujan berpengaruh besar terhadap pertumbuhan tanaman kakao.



Gambar 2. Tanaman Kakao Varietas Criollo (Dokumentasi Pribadi, 2014).

2.5 Kandungan Senyawa Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* Linn.)

Kakao merupakan salah satu jenis tanaman yang kaya senyawa bioaktif, terutama polifenol, yang berkhasiat sebagai antioksidan dan antimikroba. Kulit buah kakao diketahui mengandung senyawa aktif alkaloid yaitu theobromin 3,7-*dimethylxantine* (Adamafio, 2004).

Kulit buah kakao mengandung senyawa aktif flavonoid yang terkondensasi, seperti antosianidin, katekin, dan leukoantosianidin yang banyak terikat dengan glukosa. Senyawa bioaktif tersebut diketahui memiliki sifat antibakteri (Matsumoto *et al.*, 2004). Berdasarkan hasil penelitian Elwers (2009) mengenai senyawa bioaktif dan antioksidan pada kakao, dapat disajikan dalam table berikut:

Tabel 2. Senyawa Bioaktif dan Antioksin pada Buah Kakao

Komponen	Persentase Bioaktif Kakao
Polifenol	2,56-4,06 mg Gallic acid/g DM
Pektin terlarut	13,32-25,22 mg Galacturonic acid/g DM
Antioksidan	0,023-0,035 mmol Fremy's salt/g DM

(Matsumoto *et al.*, 2004).

Berdasarkan penelitian Osawal (2001) komponen utama pada kulit buah kakao yaitu epikatekin (2753 ppm) dan asam *p-hydroxybenzoat* (2252 ppm). Dari penelitian yang dilakukan uji lebih lanjutan oleh Elwers (2009). ditemukan pula beberapa senyawa minor yang diketahui sebagai antosianin dan proanthocianidin yang memiliki sifat antioksidan kuat.

a. Polifenol

Polifenol (PPs) ialah metabolit tanaman yang mengandung beberapa golongan fenol (seperti cincin aromatik hidroksil) yang berasal dari *1-Fenilalanin*. Polifenol yang memiliki nilai penting ialah asam-asam fenolat, yang didalamnya mengandung struktur polimer seperti tanin terhidrolisis, lignan, stilbena dan flavonoid. Flavonoid memiliki beberapa jenis, yaitu flavonol, flavon, isoflavon, antosianidin dan flavanol (Alemawor, 2009).

Polifenol memegang peranan yang penting pada tumbuhan, yakni memberi pigmen warna pada bunga, buah, biji, menarik serangga polinator, penyebar biji, meningkatkan kesuburan tanaman, perkecambahan serbuk sari, dan pertahanan tanaman. Fungsi pertahanan tanaman yang dimaksud yaitu melindungi tumbuhan dari aktivitas mikroorganisme patogenik. (Alemawor F, 2009).

Polifenol yang juga dikenal dengan nama *soluble* tanin, merupakan metabolit sekunder yang terdapat dalam daun, biji dan buah dari tumbuhan tingkat tinggi. Keberadaannya dalam bidang pangan menjadi penting setelah dijadikan bagian diet manusia dan menyumbang terhadap citarasa makanan (Harsini, 2010). Polifenol dalam produk coklat bertanggung jawab atas pembentukan rasa sepat melalui mekanisme pengendapan protein yang kaya prolin dalam air ludah dan menyumbang rasa pahit khas coklat bersama alkaloid, beberapa amino, peptida dan pirazin (Misnawi, 2003).

Polifenol dalam kulit buah kakao disimpan dalam bentuk sel-sel pigmen. Tiga golongan polifenol yang dapat ditemukan ialah *Catechin* atau *flavan-3-ols* (sekitar 37%), Antosianin (sekitar 4%), dan Proantosianin (sekitar 58%). Selain itu, terdapat pula *epigallocatechin gallate* (EGCG), procyanidin B1, procyanidin B2, procyanidin B3, procyanidin B4, procyanidin B5, procyanidin C1, procyanidin F, quercetin, asam ferulat, asam syringat, luteonin, asam klorogenat, asam kumarat, asam kafeat, asam vanilik, dan clovamide (Sartini, 2007).

Berbagai penelitian menyebutkan bahwa aktivitas antibakteri yang utama bisa diperoleh dari komponen seperti flavonoid, isoflavon, flavon, antosianin, dan katekin, disamping itu terdapat vitamin C,E, dan beta karoten. Kulit buah kakao sebagai bahan yang kaya akan flavonoid yang erat kaitannya sebagai zat yang mempunyai kapasitas antioksidan dan antibakteri (Sudirja, 2007).

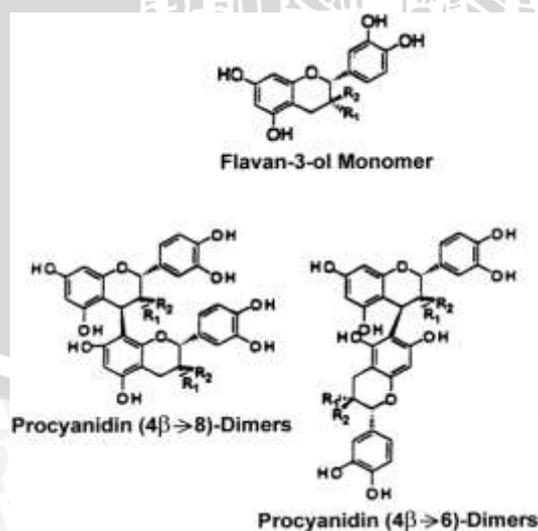
Berdasarkan penelitian Lee dan Kim (2003) mengidentifikasi senyawa utama flavonoid dalam biji kakao yaitu antosianin, leukosianidin dan epikatekin. Penelitian secara *in vitro* dan *in vivo* menunjukkan bahwa polifenol biji kakao memiliki antibakteri yang mampu menekan hidrogen peroksida dan alunn superoksida, melindungi lemak dari kerusakan oksidasi, bertindak sebagai

antimikrobia, antikarsinogenik, antimutagenik, menghambat pertumbuhan tumor dan kanker, dan mengurangi penyakit karena oksidasi *low density lipoprotein* (LDL) (Othman, 2007).

Berdasarkan penelitian kromatografi (Weisburger, 2001) dapat diidentifikasi dan diperkirakan konsentrasi polifenol utama dalam kakao Forastero. Delapan senyawa dalam tiga fraksi utama yaitu katekin, leukosianidin dan antosianin telah teridentifikasi, fraksi lain yang bergerak sangat lambat dalam kromatografi kertas diduga sebagai tanin kompleks.

Polifenol berinteraksi dengan bakteri pada membran protein, enzim dan lipid. Dengan cara tersebut, polifenol mengubah permeabilitas sel dan menyebabkan kehilangan proton, ion dan makromolekul pada tubuh bakteri. Polifenol yang terpapar pada membran sel bakteri dapat mengaktifkan enzim dan protein yang dapat membunuh bakteri (Alemawor, 2009).

Monomer flavan-3-ol merupakan struktur dasar dari polifenol kakao dimana R1 adalah H dan R2 adalah OH yang menggambarkan (+)-katekin, sedangkan apabila R1 ialah OH dan R2 ialah H maka menggambarkan (-)-epikatekin yang merupakan komponen penyusun prosianidin utama dalam biji kakao. Gambar 7 menunjukkan susunan struktur dasar *monomer flavan-3-ol* dan prosianidin.



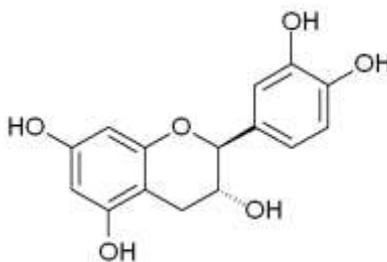
Gambar 3. Struktur Senyawa Polifenol dalam Buah Kakao (Weisburger, 2005).

Mekanisme dari penangkapan radikal bebas oleh flavonoid ialah dengan cara melepaskan atom hidrogen dari gugus hidroksilnya. Pemberian atom hidrogen ini menyebabkan radikal bebas menjadi stabil dan berhenti melakukan gerakan ekstrim, sehingga tidak merusak lipida, protein dan DNA yang menjadi target kerusakan seluler. Flavonoid menghentikan tahap awal reaksi dengan melepaskan satu atom hidrogen kemudian berikatan dengan satu radikal bebas. Selanjutnya dengan mekanisme seperti itu, radikal peroksi dapat dihancurkan atau distabilkan dengan cara resonansi dari gugus hidroksil yang membuat energi aktivasinya berkurang (Weisburger, 2005).

Berdasarkan penelitian secara *in vitro* oleh Özçelik (2008) di Universitas California bahwa flavonoid kakao memiliki kekuatan sebagai antioksidan untuk mencegah reaksi berantai radikal bebas yang dapat menyebabkan kanker pada tanaman kakao. Selain itu, Wollgast dan Anklam (2000) mengemukakan bahwa polifenol kakao terutama monomer dan *oligomer dari flavan-3-ol* sebagai komponen dasar. Mereka juga mengklasifikasikan polifenol kakao dalam tiga kelompok yaitu:

1. Katekin

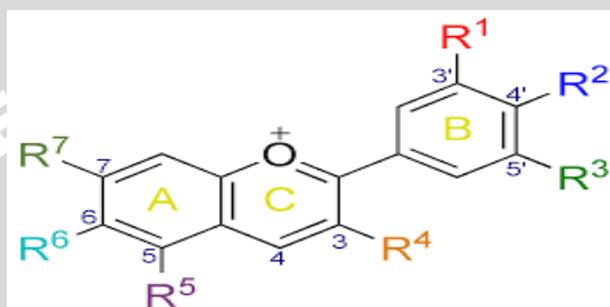
Katekin merupakan senyawa polifenol alami, metabolit sekunder termasuk dalam penyusun golongan tanin. Katekin biasanya disebut juga asam *catechoat* dengan rumus kimia $C_{15}H_{14}O_6$ (gambar 8) tidak berwarna dan dalam keadaan murni sedikit tidak larut dalam air dingin tetapi sangat larut dalam air panas, larut dalam alkohol dan etil asetat, hampir tidak larut dalam kloroform, benzen dan eter. Katekin merupakan senyawa fenolik yang kompleks (polifenol) yang berkhasiat sebagai antibakteri, hemostasis, dan antioksidan (Lestari, 2009).



Gambar 4. Struktur Kimia Senyawa Katekin (Lestari, 2009).

2. Antosianin

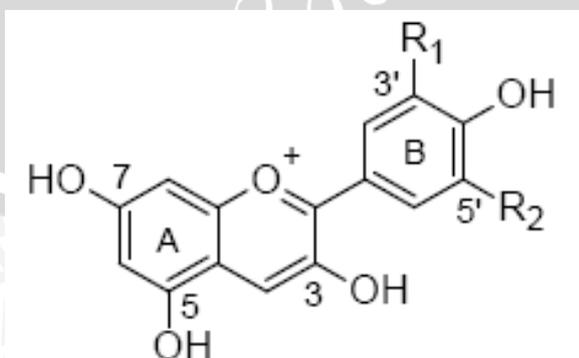
Antosianin tergolong pigmen yang disebut flavonoid dan pada umumnya dapat larut dalam air (Winarno, 1997). Flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol. Senyawa ini terdapat pada semua bagian tumbuhan termasuk daun, akar, bunga, buah dan biji (Harborne, 1987 dalam Ibtisam; 2008:6). Flavonoid bertindak sebagai penangkal yang baik radikal bebas, menghambat reaksi hidrolisis dan oksidasi enzim, antibakteri, serta antiinflamasi (Hii, 2009).



Gambar 5. Struktur Kimia Senyawa Antosianin (Osawal, 2001).

3. Antosianidin

Antosianidin merupakan senyawa organik yang memiliki sifat sangat unik, pada larutan asam berwarna merah, pada larutan netral berwarna bening dan pada larutan basa berwarna biru. Antosianidin pada umumnya digunakan dalam bidang farmasi dan pewarna alami makanan atau minuman. Dalam bidang kesehatan, antosianidin digunakan sebagai antikanker, sedangkan pada tanaman dapat menghambat pertumbuhan mikroba (Irmalia WR, 2011).



Gambar 6. Struktur Kimia Senyawa Antosianidin (Osawal, 2001).

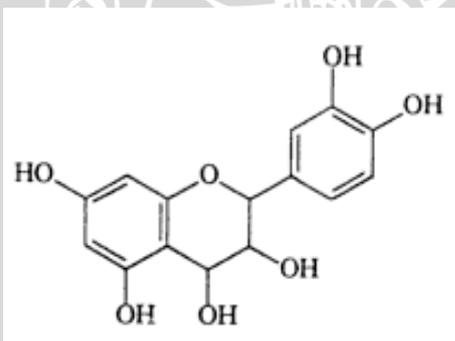
4. Proantosianidin

Proantosianidin merupakan nama lain dari tanin yang terkondensasi dan merupakan senyawa fenolik kompleks. Tanin dibagi menjadi dua kelompok atas dasar tipe struktur dan aktivitasnya terhadap senyawa hidrolitik terutama asam yaitu tanin terkondensasi (*condensed tannin*) dan tanin yang dapat dihidrolisis (*hydrolyzable tannin*) sebagai anti mikroba (Okuda, 2004).

5. Leukoantosianidin

Leukoantosianidin merupakan bentuk dari *flavan-3,4-diol* yang dapat dijumpai dengan mudah pada tanaman dan kebanyakan tidak memiliki nilai ekonomi. Leukoantosianidin kebanyakan berbentuk leukosianin, tetapi ada juga yang berbentuk leukopelargonidin dan leucodelphidin (Misnawi, 2004).

Dalam kaitannya dengan warna pada tanaman, leukoantosianidin merupakan senyawa yang tidak berwarna (bening) dan tidak stabil (mudah berubah menjadi senyawa lain). Pembentukan leukoantosianidin berhubungan dengan reaksi yang terjadi pada sintesis antosianin, yakni sebagai substrat dasar (Mojab, 2008).



Gambar 7. Struktur kimia leukoantosianidin (*flavan-3,4-diol*) (Hii, 2009).

6. Proantosianidin

Proantosianidin merupakan nama lain dari tanin yang terkondensasi dan merupakan senyawa fenolik kompleks. Tanin dibagi menjadi dua kelompok atas dasar tipe struktur dan aktivitasnya terhadap senyawa hidrolitik terutama asam yaitu tannin terkondensasi (*condensed tannin*) dan tanin yang dapat dihidrolisis (*hydrolyzable tannin*) (Okuda, 2004).

b. Saponin

Saponin ialah glikosida steroid, alkaloid steroid (steroid dengan fungsi nitrogen) atau triterpen yang ditemukan ditanaman, terutama kulit tanaman, dimana terbentuk lapisan lilin untuk proteksi (Goldenberg, 2008). Saponin memberikan rasa pahit sebagai antioksidan dan antibakteri. Sifat-sifat saponin antara lain mempunyai rasa pahit, membentuk busa yang stabil dalam larutan air, menghemolisa eritrosit membentuk persenyawaan dengan kolesterol dan hidroksisteroid lainnya, sulit untuk dimurnikan dan diidentifikasi, dan berat molekulnya relative tinggi (Otman, 2007).

Berdasarkan penelitian, didapatkan efek antifungal yang diduga berhubungan dengan aktivitas saponin yang bekerja dengan menurunkan tegangan permukaan (*surface tension*) membrane sterol dari candida albicans (Setiadevi S, 2010).

c. Tanin

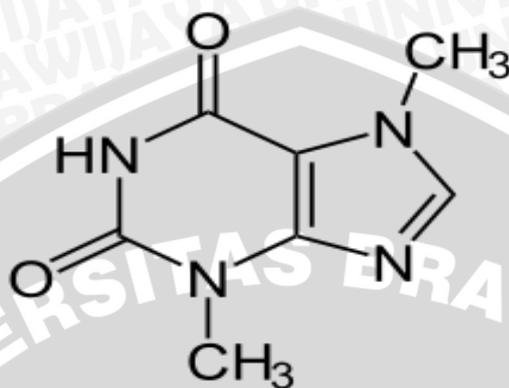
Tanin ialah senyawa fenol kompleks yang memiliki berat molekul 500-3000. Tanin dibagi menjadi dua kelompok atas dasar tipe struktur dan aktivitasnya terhadap senyawa hidrolitik terutama asam, yaitu tannin (Otman, 2007).

d. Theobromine (3,7 dimethylxanthine)

Theobromine, dikenal juga dengan nama *Xantheose*, merupakan alkaloid yang ditemukan pada tanaman kakao dengan rumus molekul $C_7H_8N_4O_2$. *Theobromine* termasuk dalam senyawa kimia jenis *methylxanthine* bersama dengan teofilin dan kafein, dimana hanya berbeda satu kelompok metal dengan molekul kafein (*1,3,7 dimethylxanthine*). *Theobromine* memiliki rasa pahit, sedikit larut dalam air, berbentuk kristal, dan berwarna putih hingga tidak berwarna.

Selain pada tanaman kakao, *Theobromine* (3,7-dimethylxanthine) alkaloid purin, yang juga diproduksi oleh berbagai jenis tumbuhan seperti kopi (*Coffea arabica*), teh (*Camellia sinensis*), guarana (*Paullinia cupana*), dan cola (*Cola nitida*) (Ashihara dan Crozier, 2001).

Kandungan *Theobromine* dalam biji kakao dipengaruhi oleh jenis, kematangan buah, dan proses fermentasi. *Theobromine* berperan sebagai antimikroba (Maharddhika, 2013).



Gambar 8. Struktur Molekul 3,7-dimethylxantine (Ashihara,2001).

2.6 Antibakteri

Berdasarkan penelitian Brooks (2005) antibakteri merupakan sifat dari suatu bahan yang menunjukkan efek penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri. Aktivitas antibakteri dibagi menjadi 2 sifat yaitu aktivitas bakteriostatik dan aktivitas bakterisidal. Suatu bahan bersifat bakteriostatik jika mampu menghambat pertumbuhan tetapi tidak membunuh bakteri sedangkan sifat bakteriostatik jika mampu membunuh bakteri.

Mekanisme kerja antibakteri secara umum ialah merusak dinding sel, mengganggu permeabilitas membran, mempengaruhi metabolisme sel mikroba, menghambat sintesis protein, mengganggu sintesis asam nukleat dan mengganggu aktivitas enzim. Antibakteri yang merusak dinding sel contohnya penisilin, sefalosporin, dan vankomisin. Serta mengganggu permeabilitas sel, contohnya penisilin sefalosporin dan vankomisin. Sedangkan menghambat sintesis protein dan asam nukleat contohnya kloramfenikol, rifampisin, streptomisin dan tetrasiklin. Dan mengganggu aktivitas enzim contohnya basitrasin, sikloserin, dan ampicilin (Sartini, 2007).

Beberapa senyawa kimia yang terdapat pada tanaman juga berperan sebagai antibakteri seperti senyawa fenol, flavonoid, alkaloid, tanin dan terpenoid. Mekanisme fenol sebagai antibakteri dengan cara merusak bagian sitoplasma dan berkoagulasi dengan protein. Aktivitas tersebut sangat efektif ketika bakteri dalam tahap pembelahan dimana lapisan fosfolipid di sekeliling sel sedang dalam kondisi yang sangat tipis sehingga fenol dapat dengan mudah merusak isi sel (Volk dan Wheller, 1984).

Mekanisme terpenoid sebagai antibakteri dengan mengganggu permeabilitas dinding sel bakteri yang akan mengakibatkan sel bakteri kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Cowan, 1999). Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri ialah menghambat *enzim reverse transkriptase* dan DNA sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Robinson, 1995).

Mekanisme flavonoid sebagai antibakteri ialah dapat mengubah sifat fisik dan kimiawi sitoplasma yang mengandung protein dan mendenaturasi dinding sel bakteri, dengan cara berikatan dengan protein melalui ikatan hidrogen. Aktivitas ini akan mengganggu fungsi permeabilitas selektif, fungsi pengangkutan aktif, dan pengendalian susunan protein (Biehl, 1984). Mekanisme alkaloid sebagai antibakteri ialah dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Robinson, 1995).

Sifat antibakteri dapat berbeda satu dengan yang lainnya. Antibakteri termasuk dalam jenis spektrum luas bila menghambat atau membunuh bakteri gram negatif dan gram positif. Antibakteri termasuk ke dalam jenis spektrum sempit bila menghambat atau membunuh bakteri gram negatif atau gram positif saja (Jones, 2000). Efektivitas kerja antibakteri dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya konsentrasi antibakteri, jumlah bakteri, spesies bakteri, bahan organik, suhu, dan pH lingkungan (Cowan, 1999).

2.7 Pengujian Sensitivitas Antibakteri

Uji sensitivitas antibakteri merupakan tes yang digunakan untuk menguji kepekaan suatu bakteri terhadap antibiotik. Uji sensitivitas bertujuan untuk mengetahui efektivitas dari suatu antibiotik dalam membunuh bakteri. Pada prinsipnya uji sensitivitas terhadap antibakteri ialah penentuan kepekaan bakteri penyebab penyakit yang kemungkinan menunjukkan resistensi terhadap suatu antibakteri atau kemampuan suatu antibakteri untuk menghambat pertumbuhan bakteri yang tumbuh *in vitro*, sehingga dapat dipilih sebagai antibakteri yang berpotensi untuk pengobatan. Uji sensitivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi dan metode pengenceran. Metode difusi dilakukan dengan mengukur diameter zona bening yang merupakan petunjuk adanya respon penghambatan pertumbuhan bakteri oleh suatu senyawa antibakteri dalam ekstrak kulit buah kakao (Hermawan dkk., 2007).

Berdasarkan penelitian Kusmayati dan Agustini (2007) metode difusi dapat dilakukan dengan 3 cara yaitu metode silinder, metode lubang atau sumuran dan metode cakram kertas. Metode silinder dapat dilakukan dengan memasang silinder dari besi tahan karat atau porselen secara tegak lurus pada lapisan agar padat dalam cawan petri atau lempeng. Sehingga mikroorganisme yang ditambahkan dihambat pertumbuhannya pada daerah berupa lingkaran atau zona di sekeliling silinder yang berisi larutan antibiotik. Metode lubang atau sumuran yaitu membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian lubang diinjeksikan dengan ekstrak yang akan diuji. Setelah dilakukan inkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan di sekeliling lubang (Kusmayati dan Agustini, 2007).

Metode cakram kertas yaitu metode yang menggunakan cakram kertas yang telah diresapi antibiotik, desinfektan atau antiseptik diletakkan pada permukaan cawan yang telah diinokulasi dengan bakteri (Hermawan dkk., 2007).

Setelah diinkubasi dilakukan pengamatan terhadap adanya zona penghambatan atau daerah jernih di sekeliling cakram kertas. Ini menunjukkan organisme itu dihambat pertumbuhannya oleh senyawa antibiotika, desinfektan atau antiseptik yang diresap dari cakram kertas ke dalam agar (Kusmayati dan Agustini, 2007).

2.8 Mekanisme Antimikroba Kulit Buah Kakao

Mekanisme aksi dari antimikroba bermacam-macam, dapat dilakukan melalui penghambatan biosintesis *ergosterol* dalam sel, penghambatan sintesis protein, dan penghambatan mitosis mikroba. Mekanisme biosintesis disebabkan oleh senyawa turunan *imidazole* yang mampu mengangkut senyawa-senyawa esensial yang dapat menyebabkan ketidakseimbangan metabolik sehingga menghambat biosintesis *ergosterol* dalam sel mikroba. Penghambatan sintesis protein disebabkan oleh senyawa turunan pirimidin, efek antimikroba terjadi karena senyawa turunan pirimidin mampu mengalami metabolisme dalam sel bakteri menjadi satu metabolit. Sedangkan penghambatan mitosis terjadi karena adanya senyawa antibiotik *griseofulvin* yang mampu mengikat protein mikrotubuli dalam sel dan mengganggu fungsimitosis gelendong dan menimbulkan penghambatan pertumbuhan (Brooks *et al.*, 2008)

Beberapa literatur penelitian menyebutkan bahwa kandungan saponin dan tannin memiliki efek antimikroba. Senyawa saponin bekerja sebagai antimikroba dengan menurunkan tegangan permukaan (*surface tension*) (Naczki, 1994). Sedangkan tanin memiliki kemampuan menghambat sintesis *chitin* yang digunakan untuk pembentukan dinding sel pada bakteri (Marsaban, 2008).

Polifenol berinteraksi dengan bakteri pada membran protein, enzim dan lipid. Dengan cara tersebut, polifenol mengubah permeabilitas sel dan menyebabkan kehilangan proton, ion dan makromolekul pada tubuh bakteri. Polifenol yang terpapar pada membran sel bakteri dapat mengaktifkan enzim dan protein yang dapat membunuh bakteri (Alemawor, 2009).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya, dilaksanakan pada bulan September 2014 sampai Februari 2015

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ialah timbangan digital, kompor listrik, gelas ukur, panci, *autoclave*, pisau, cawan petri, jarum ose, kamera Samsung Galaxy Tab Ace, bunsen, *beaker glass*, timbangan, tabung reaksi, pinset, pipet, jarum suntik, kertas saring, botol media, gelas ukur, jangka sorong, *micropipet*, gunting, kertas label, *Microtube*, *cuvet*, Whatman no 41 diameter 125 gelas objek, *cover glass*, blender, *cork borer*, spektrofotometer, *ependorf*, oven, *shaker*, *rotary evaporator* dan *laminar air flow cabinet* (LAFC).

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ialah 10 kg kulit buah kakao, *Blood Disease Bacterium* (BDB), buah pisang kepok, aquades steril, media nutrient agar (NA), Kalium iodida, iodium, Magnesium, HCl, spirtus, media nutrient broth, tissue steril, *streptomycin*, alkohol 96%, 80% dan 70% serta Dimetil Sulfoksida (DMSO).

3.3 Metode Penelitian

Dilakukan dua metode uji yaitu uji sensitivitas antibakteri dan uji penekanan pertumbuhan BDB pada buah pisang. Uji sensitivitas antibakteri menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan sembilan macam perlakuan yaitu US1 (Ekstrak kakao 15%), US2 (Ekstrak kakao 30%), US3 (Ekstrak kakao 45%), US4 (Ekstrak kakao 60%), US5 (Ekstrak kakao 75%) dan US6 (Ekstrak kakao 90%). Perlakuan diulang sebanyak 4 kali. Kontrol terdiri dari K1 (DMSO), K2 (Alkohol) dan K3 (Streptomisin).

Uji penekanan pertumbuhan BDB pada buah pisang menggunakan RAL dengan 10 macam perlakuan yaitu UP1 (Kontrol BDB), UP2 (DMSO dan BDB), UP3 (Streptomisin dan BDB), UP4 (Alkohol dan BDB), UP5 (Ekstrak kakao 15% dan BDB), UP6 (Ekstrak kakao 30% dan BDB), UP7 (Ekstrak kakao 45% dan BDB), UP8 (Ekstrak kakao 60% dan BDB), UP9 (Ekstrak kakao 75% dan BDB) dan UP10 (Ekstrak kakao 90% dan BDB). Perlakuan diulang sebanyak 3 kali.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

Pembuatan Media Nutrient Agar (NA)

Agar sejumlah 14 gram dilarutkan kedalam 500 ml aquades dengan cara dididihkan dalam panci sambil diaduk, kemudian dibagi kedalam beberapa botol steril masing-masing berisi 250 ml media. Botol-botol yang telah terisi media tersebut diseterilkan dalam autoklaf pada temperature 121°C selama 20 menit.

Uji Patogenisitas

Inokulum BDB dibiakan dalam media NA selama 3 hari. Kemudian dari biakan dibuat suspensi dengan steril hingga diperoleh kerapatan 10^9 cfu/ml. Inokulasi dilakukan dengan cara menyuntikan suspensi inokulum BDB sebanyak 1000 µl/buah pada buah pisang.

Pertumbuhan pada suhu 40°C

Bakteri ditumbuhkan dalam media nutrient broth (NB) sebanyak 5 ml dalam tabung reaksi, kemudian diinkubasi pada suhu 40°C . Pertumbuhan dicatat pada 24 jam. Reaksi positif terjadi jika bakteri uji tidak mampu tumbuh pada perlakuan suhu 40°C.

Ekstraksi Kulit Buah Kakao

Pembuatan ekstrak kulit buah kakao yang digunakan ialah kulit buah yang segar atau baru dipetik dari pohonnya yang ditanam di Kecamatan Glenmore Kabupaten Banyuwangi, Jawa Timur. Bahan baku yang digunakan berupa kulit buah kakao sebanyak 10 kg dibersihkan dari kotoran, dicuci bersih, ditimbang kemudian dibelah agar bagian cangkang dan bijinya mudah dipisahkan. Buah

kakao diiris sampai membentuk simplisa untuk mempercepat proses pengeringan, lalu dikeringkan dengan cara di oven selama 24 jam.

Kemudian sampel yang telah kering dimaserasi dengan merendam ke dalam pelarut etanol 80% sampai terendam seluruhnya dan dikocok menggunakan *shaker* dengan kecepatan 120 rpm secara kotinyu selama \pm 24 jam, kemudian disaring dengan kertas Whatman no.41 dengan diameter 125. Ekstrak atau filtrat hasil maserasi ditampung menjadi satu dan diuapkan untuk memisahkan pelarutnya. Penguapan dilakukan dengan menggunakan alat *rotary evaporator* pada suhu 80°C, sampai pelarut habis menguap, sehingga didapatkan ekstrak kental kulit buah kakao. Ekstrak kental yang dihasilkan didinginkan selama 24 jam kemudian dilakukan pengeringan beku dalam *freeze dryer* selama 24 jam.

Selama proses maserasi, sel kulit buah kakao mengalami kondisi jenuh sehingga sel-selnya akan mengeluarkan senyawa-senyawa aktif yang kemudian diikat oleh pelarut etanol tersebut. Pelarut etanol akan mengikat berbagai senyawa aktif seperti, polifenol, flavonoid, terpenoid, sterol dan alkaloid (Dewi, 2010).

Selanjutnya dilakukan 6 perlakuan konsentrasi pada masing-masing ekstrak. Konsentrasi larutan dibuat dengan cara dilakukan penambahan pelarut (DMSO) sebanyak 850 μ l untuk 150 μ l ekstrak, 700 μ l untuk 300 μ l ekstrak, 550 μ l untuk 450 μ l ekstrak, 400 μ l untuk 600 μ l ekstrak, 250 μ l untuk 750 μ l ekstrak dan 100 μ l untuk 900 μ l ekstrak. Sehingga didapatkan konsentrasi sebesar 15%, 30%, 45%, 60%, 75% dan 90% ekstrak dari kulit buah kakao).

Pengujian Sensitivitas Antibakteri

Metode yang digunakan untuk pengujian sensitivitas antibakteri ialah metode difusi agar dengan lubang sumuran. Media yang digunakan ialah media NA dan dicairkan dengan cara dididihkan. Selanjutnya jika suhu media sudah menurun, 20 ml media NA dicampur dengan 100 μ l suspensi bakteri yang telah diatur dengan spektrofotometer OD₆₆₀=1, kerapatan 10⁹ cfu/ml, kemudian dituang ke dalam petri. Setelah media memadat maka dibuat lubang sumuran dengan menggunakan *cork borer* yang memiliki diameter 0,5 cm.

Dalam pengujian sensitivitas antibakteri digunakan 6 perlakuan ekstrak dengan konsentrasi berbeda, yaitu US1 (Ekstrak kakao 15%), US2 (Ekstrak kakao 30%), US3 (Ekstrak kakao 45%), US4 (Ekstrak kakao 60%), US5 (Ekstrak kakao 75%) dan US6 (Ekstrak kakao 90%) dengan menggunakan pelarut DMSO. Pada pengujian sensitivitas antibakteri diberi 3 kontrol, yaitu Dimetil Sulfoksida (DMSO), etanol 80% (CH₃OH) dan Streptomisin (C₂₁H₄₁N₇O₁₂). Kontrol DMSO bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya pengaruh pada zona hambat pertumbuhan BDB.

Pemberian kontrol dengan menggunakan etanol 80% bertujuan untuk mengetahui pengaruh pelarut yang digunakan untuk pembuatan ekstrak dalam menghambat pertumbuhan BDB. Sedangkan kontrol streptomisin bertujuan untuk membandingkan kemampuan aktivitas antibakteri sintetik dengan antibakteri dari kulit buah kakao dalam menghambat BDB. Masing-masing kontrol dan ekstrak kulit buah kakao dengan konsentrasi berbeda dimasukkan 100 µl kedalam lubang sumuran. Selanjutnya ditunggu hingga 24 jam untuk diamati.

Uji Penekanan Pertumbuhan BDB pada Buah Pisang

Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan ekstrak kulit buah kakao dalam menghambat pertumbuhan BDB secara langsung pada buah pisang. Uji penekanan pertumbuhan BDB dilakukan dengan cara menginjeksikan ekstrak dengan enam macam konsentrasi sebanyak 1000 µl ke dalam buah pisang dan didiamkan selama satu jam agar meresap pada buah pisang. Kemudian suspensi BDB sebanyak BDB 1000 µl yang telah diatur dengan spektrofotometer pada OD₆₆₀=1 diinjeksikan ke dalam buah pisang yang telah diberi perlakuan ekstrak. Selanjutnya ditunggu hingga 3 hari setelah isolasi (HSI) untuk diamati.

Variabel Pengamatan

Variabel pengamatan yang dilakukan terdiri dari data kuantitatif dan kualitatif. Pada uji sensitivitas antibakteri pengamatan masa inkubasi dilakukan setiap hari dihitung 24 jam setelah inokulasi patogen yang disertai inokulasi antibakteri. Pengamatan dilakukan sebanyak tiga kali selama 3 hari. Penilaian kemampuan ekstrak kulit buah kakao dalam menghambat pertumbuhan BDB

dengan mengukur zona bening atau zona hambat disekitar lubang sumuran menggunakan jangka sorong secara vertikal dan horizontal (Pratiwi, 2005).

Keterangan:

$$S = \frac{V+H}{2}$$

S = Proporsi zona hambat disekitar lubang sumuran (mm)

V = Luas zona hambat secara vertikal (mm)

H = Luas zona hambat secara horizontal (mm)

Pengamatan uji penekanan pertumbuhan BDB pada buah pisang dilakukan terhadap daya hambat yang dihasilkan ekstrak kulit buah kakao dengan konsentrasi berbeda dalam menekan kerusakan jaringan pada buah pisang. Variabel yang diamati ialah panjang gejala kerusakan pada plasenta buah pisang. Dari perhitungan panjang plasenta buah pisang terserang BDB maka diperoleh variabel kuantitatif. Berdasarkan Devi (2013) untuk mendapatkan proporsi kerusakan plasenta buah digunakan rumus:

Keterangan:

$$P = \frac{A}{B} \times 100 \%$$

P = Proporsi panjang gejala kerusakan plasenta buah (%)

A = Panjang gejala plasenta buah yang rusak (cm)

B = Panjang plasenta buah (cm)

Foto hasil pengamatan merupakan variabel kualitatif untuk menunjukkan tingkat penekanan pertumbuhan BDB oleh ekstrak tanaman yang diberikan. Pengambilan gambar dilakukan pada hari ke tiga setelah inokulasi.

Analisis Data

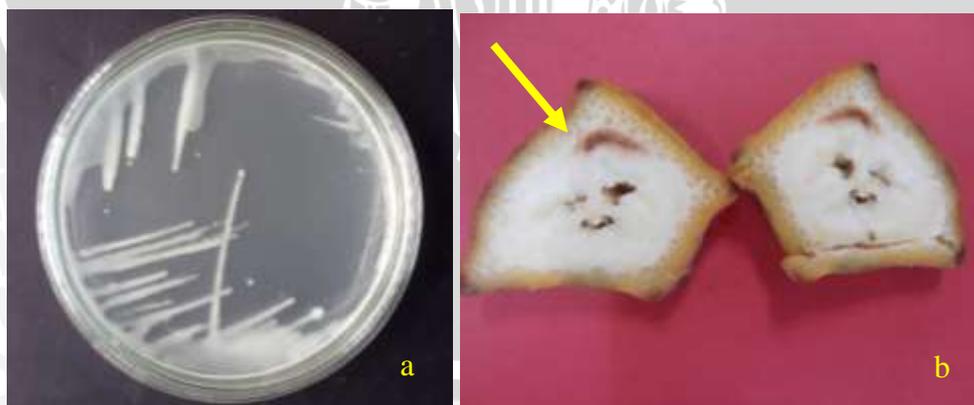
Pada uji sensitivitas antibakteri dan uji penekanan pertumbuhan BDB pada buah pisang, data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan uji Ragam F pada taraf kesalahan 5%. Bila F hitung lebih besar dari F tabel, dilanjutkan dengan menggunakan uji Duncan pada taraf 5%.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Uji Patogenisitas

Isolat BDB yang digunakan berasal dari koleksi Laboratorium Bakteriologi Jurusan Hama dan penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya. Oleh karena itu diperlukan uji patogenisitas untuk mengetahui isolat yang digunakan masih virulen atau tidak pada buah pisang.

Uji patogenisitas dilakukan pada buah pisang yang telah diinokulasi dengan isolat BDB. Empat hari setelah inokulasi (hsi), pengamatan dilakukan dengan membelah buah pisang secara vertikal dan horizontal. Buah yang dibelah menunjukkan gejala terjadi perubahan warna menjadi cokelat kemerahan dan terdapat lendir berwarna merah, serta bakteri menyebar searah dengan panjang plasenta buah pisang (Gambar 13). Hal tersebut sesuai dengan yang dilaporkan peneliti sebelumnya Devi (2013) bahwa hasil uji patogenisitas BDB pada buah pisang menunjukkan gejala perubahan warna kuning hingga kecoklatan serta menimbulkan warna merah pada daging buah. Selain itu gejala yang khas dari patogen ini yaitu BDB hanya mampu melakukan infeksi dan menyebar pada bagian plasenta buah. Hal tersebut membedakan gejala yang ditimbulkan oleh BDB dengan gejala yang ditimbulkan oleh patogen lain seperti *R. solanacearum*.



Gambar 9. a). Biakan koloni BDB yang ditumbuhkan dimedia NA. b). Hasil uji patogenisitas pada buah pisang. Tanda panah menunjukkan gejala BDB pada plasenta buah pisang.

4.2 Ekstraksi Kulit Buah Kakao

Ekstrak kulit buah kakao yang digunakan ialah kulit buah yang segar atau baru dipetik dari pohonnya yang ditanam di Kecamatan Glenmore Kabupaten Banyuwangi, Jawa Timur. Buah kakao diiris sampai membentuk simplisa untuk mempercepat proses pengeringan, lalu dikeringkan dengan cara dimasukkan oven selama 24 jam. Kemudian kulit buah yang telah kering sebanyak 400 gram dimaserasi dengan merendam ke dalam pelarut etanol 80% sampai terendam seluruhnya dan dikocok dengan menggunakan *shaker* dengan kecepatan 120 rpm secara kontinyu selama ± 24 jam, kemudian disaring dengan kertas Whatman no.41 dengan diameter 125. Ekstrak atau filtrat hasil maserasi ditampung menjadi satu dan diuapkan untuk memisahkan pelarutnya. Penguapan dilakukan dengan menggunakan alat *rotary evaporator* pada suhu 80°C , sampai pelarut habis menguap, sehingga didapatkan ekstrak kental kulit buah kakao sebanyak 126 ml.

Ekstrak kental yang dihasilkan didinginkan selama 24 jam kemudian dilakukan pengeringan beku dalam *freeze dryer* selama 24 jam. Selama proses maserasi, sel kulit buah kakao mengalami kondisi jenuh sehingga sel-selnya akan mengeluarkan senyawa-senyawa aktif yang kemudian diikat oleh pelarut etanol tersebut. Pelarut etanol akan mengikat berbagai senyawa aktif seperti, polifenol, flavonoid, terpenoid, sterol dan alkaloid (Dewi, 2010).



Gambar 10. Hasil ekstraksi kulit buah kakao yang dihasilkan melalui proses penyulingan

4.3 Pengujian Sensitivitas Antibakteri

Pada pengujian sensitivitas antibakteri variabel yang diamati adalah diameter zona bening disekitar lubang sumuran. Zona bening merupakan bentuk penghambatan (zona hambat) yang dihasilkan oleh ekstrak kulit buah kakao. Zona hambat merupakan reaksi aktivitas antibakteri dari ekstrak kulit buah kakao yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

Hasil uji sensitivitas antibakteri terhadap BDB diperoleh zona hambat yang berbeda dari berbagai konsentrasi ekstrak kulit buah kakao serta ketiga kontrol yaitu DMSO, etanol 80% dan streptomisin. Hasil uji sensitivitas disajikan dalam Tabel 3. memberikan gambaran tingkat penghambatan pertumbuhan BDB oleh konsentrasi ekstrak kulit buah kakao yang diuji pada media NA dan diamati setelah 1 hsi selama 3 hari.

Tabel 3. Penghambatan ekstrak kulit buah kakao terhadap pertumbuhan BDB.

Perlakuan	Rerata zona hambat ekstrak terhadap BDB pada pengamatan hingga hari ke- (mm)		
	1	2	3
Kontrol DMSO	0,02 a	0 a	0 a
Kontrol Etanol 80%	0,13 a	0 a	0 a
Kontrol Streptomisin	27,10 e	24,2 d	23,30 d
Ekstrak Kakao 15%	0,52 a	0,27 a	0,05 a
Ekstrak Kakao 30%	16,18 b	13,29 b	12,36 b
Ekstrak Kakao 45%	17,25 bc	14,32 bc	13,41 bc
Ekstrak Kakao 60%	17,91 cd	15,01 c	14,11 c
Ekstrak Kakao 75%	18,55 d	15,70 c	14,79 c
Ekstrak Kakao 90%	26,20 e	23,29 d	22,38 d

Keterangan:

Angka disertai huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak terdapat beda nyata antar perlakuan.

Analisis menggunakan uji Duncan taraf kesalahan 0,05 menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata antar perlakuan dalam menghambat pertumbuhan BDB selama tiga hari pengamatan (Tabel 3). Penelitian menunjukkan terjadinya perbedaan yang signifikan antara perlakuan ekstrak kakao jika dibandingkan dengan kontrol DMSO dan etanol 80%.

Pada kontrol DMSO tidak terdapat zona hambat disekitar lubang sumuran, sehingga dapat diketahui pemberian DMSO tidak berpengaruh terhadap penghambatan BDB. Pada kontrol alkohol Etanol 80% zona hambat yang terbentuk tidak berbeda nyata dengan perlakuan kontrol DMSO. Hal tersebut menunjukkan bahwa Etanol 80% tidak berpengaruh nyata pada penekanan pertumbuhan BDB, sehingga pelarut yang digunakan untuk pembuatan ekstrak tidak berpengaruh sebagai antibakteri terhadap BDB. Pada kontrol streptomisin terdapat adanya zona hambat pertumbuhan terhadap BDB. Penggunaan kontrol streptomisin mampu menghasilkan rata-rata diameter zona hambat sebesar 27,10 mm pada 1 hsi, zona hambat tersebut paling besar jika dibandingkan dengan antar perlakuan. Hal tersebut karena streptomisin merupakan antibakteri sintetik yang mampu menekan pertumbuhan bakteri. Berdasarkan Volk dan Wheeler (1993) Streptomisin merupakan zat yang bersifat antibakteri dengan cara menghambat sintesis protein pada bakteri.

Perlakuan ekstrak kakao 15% mampu menghasilkan zona hambat sebesar 0,52 mm pada 1 hsi. Zona hambat yang dihasilkan tidak berbeda nyata dengan kontrol DMSO dan etanol 80%, sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak kakao 15% tidak mampu menghambat pertumbuhan BDB. Perlakuan ekstrak kakao 30% mampu menghasilkan zona hambat sebesar 16,18 mm pada 1 hsi. Zona hambat yang dihasilkan berbeda nyata dengan kontrol DMSO dan etanol 80%, sehingga disimpulkan bahwa ekstrak kulit buah kakao 30% mampu menghambat pertumbuhan BDB. Perlakuan ekstrak kakao 45% menghasilkan zona hambat sebesar 17,25 mm pada 1 hsi, zona hambat tersebut tidak berbeda nyata jika dibandingkan dengan ekstrak kakao 30% akan tetapi berbeda nyata dengan kontrol DMSO dan etanol 80%.

Pada perlakuan ekstrak kakao 60% menghasilkan zona hambat sebesar 17,91 mm pada 1 hsi. Zona hambat tersebut tidak berbeda nyata jika dibandingkan dengan ekstrak kakao 45% dan 30% namun berbeda nyata jika dibandingkan dengan ekstrak kakao 15%. Pada perlakuan ekstrak kakao 75% menghasilkan zona hambat sebesar 18,55 mm pada 1 hsi. Zona hambat tersebut berbeda nyata

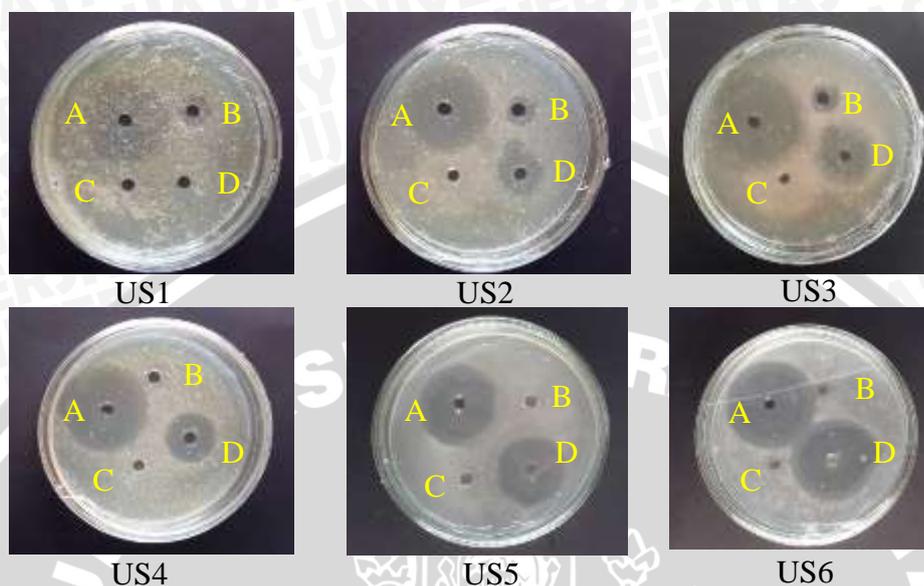
jika dibandingkan dengan ekstrak kakao 60%, 45% dan 30%, 15% namun tidak berbeda nyata jika dibandingkan dengan kontrol streptomisin. Pada perlakuan ekstrak kakao 90% menghasilkan zona hambat sebesar 26,20 mm pada 1 hsi. Zona hambat tersebut berbeda nyata jika dibandingkan dengan semua perlakuan konsentrasi ekstrak kakao, kontrol DMSO, kontrol etanol 80% namun tidak berbeda nyata jika dibandingkan dengan kontrol streptomisin.

Dapat disimpulkan bahwa penggunaan ekstrak kakao 90% dapat menekan pertumbuhan BDB lebih baik jika dibandingkan dengan ekstrak kakao 15%, 30%, 45%, 60% dan 75%. Sehingga penggunaan ekstrak kakao 90% lebih efektif dalam menekan pertumbuhan BDB. Hal tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan maka zona hambat yang terbentuk semakin lebar. Sesuai dengan hasil penelitian Ajizah (2004) bahwa semakin pekat konsentrasi suatu ekstrak maka senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalamnya akan semakin banyak sehingga memberikan pengaruh terhadap diameter zona hambat yang terbentuk.

Selama tiga hari pengamatan masing-masing perlakuan dapat memberikan zona hambat yang berbeda nyata antar perlakuan konsentrasi. Diameter zona hambat paling tinggi pada pengamatan pada hari pertama dan mengalami penurunan setelah pengamatan pada hari kedua dan ketiga. Berdasarkan hasil penelitian Baroroh (2014) lebar zona hambat dari ekstrak tanaman semakin lama semakin mengalami penurunan, hal ini menunjukkan efektifitas zat antibakteri yang terkandung juga semakin menurun. Dari hasil uji sensitivitas antibakteri dapat diketahui bahwa ekstrak kakao pada konsentrasi 30%, 45% 60%, 75% dan 90% mampu menghambat pertumbuhan BDB.

Semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan mampu menghasilkan zona hambat yang lebih besar. Kemampuan ekstrak kakao semakin mengalami penurunan selama tiga hari pengamatan. Ekstrak kulit buah kakao konsentrasi 90% paling efektif jika dibandingkan dengan semua perlakuan konsentrasi ekstrak yang lainnya, namun perlakuan ekstrak kakao 90% tidak berbeda jauh dengan

kontrol streptomisin dalam menekan pertumbuhan BDB. Berikut hasil dokumentasi uji sensitivitas antibakteri (Gambar 15).



Gambar 11. Perbandingan hasil uji sensitivitas antibakteri (pengamatan hari pertama).

Keterangan:

US1: ekstrak kakao 15%, US2: ekstrak kakao 30%, US3: ekstrak kakao 45%, US4: ekstrak kakao 60%, US5: ekstrak kakao 75%, US6: ekstrak kakao 90%, A: streptomisin, B: etanol 80%, C: DMSO, D: ekstrak kakao.

Senyawa bioaktif yang terdapat didalam kulit buah kakao berkhasiat sebagai antibakteri adalah flavonoid, alkaloid, saponin, fenol dan tanin. Flavonoid akan merusak membran sel bakteri karena sifatnya lipofilik. Alkaloid berperan sebagai antimikroba karena sifatnya mampu berikatan dengan DNA. Efek antibakteri dari senyawa saponin sebagai deterjen yang memiliki molekul ampifatik yang dapat melarutkan protein membrane (Robinson, 1995).

Fenol bersifat toksik terhadap bakteri yang dianggap bertanggung jawab terhadap toksisitas bakteri. Senyawa alkaloid dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan gram negatif. Alkaloid dapat mengganggu terbentuknya jembatan seberang silang komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel (Robinson, 1995).

4.4 Uji Penekanan Pertumbuhan BDB pada Buah Pisang

Uji penekanan pertumbuhan BDB pada buah pisang dilakukan untuk melihat efektivitas ekstrak kakao jika diaplikasikan secara langsung pada tanaman inang dalam menghambat pertumbuhan BDB. Pengamatan uji penekanan pertumbuhan BDB pada buah pisang dilakukan setelah 4 hsi dengan mengukur tingkat kerusakan pada plasenta buah serta melihat gejala kerusakan disekitar plasenta buah. Hasil pengamatan uji penekanan pertumbuhan BDB pada buah pisang tersaji dalam Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Uji Penekanan Pertumbuhan BDB pada Buah Pisang

No	Perlakuan	Rerata presentase panjang gejala plasenta buah pisang yang terserang BDB (cm)
1.	Kontrol (BDB)	54,49 f
2.	Kontrol DMSO	54,33 f
3.	Kontrol Etanol 80%	53,46 f
4.	Kontrol Streptomisin	3,63 a
5.	Ekstrak Kakao 15%	52,85 ef
6.	Ekstrak Kakao 30%	49,59 de
7.	Ekstrak Kakao 45%	47,78 cd
8.	Ekstrak Kakao 60%	45,93 bc
9.	Ekstrak Kakao 75%	42,59 b
10.	Ekstrak Kakao 90%	6,67 a

Keterangan:

Huruf yang sama dalam kolom menunjukkan tidak terdapat berbeda nyata antar perlakuan pada uji Duncan 0,05

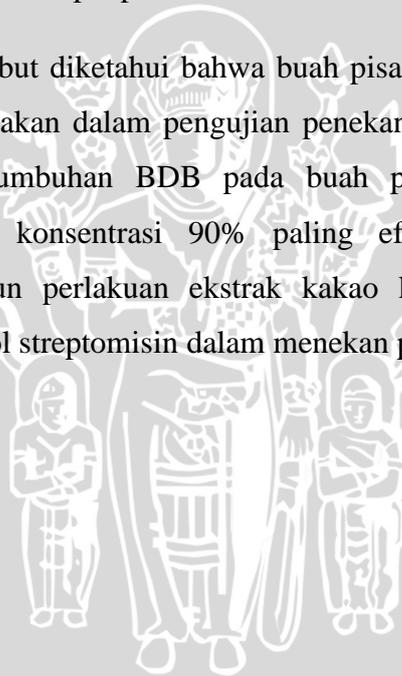
Analisis menggunakan uji Duncan taraf kesalahan 0,05 menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata pada perlakuan streptomisin dan perlakuan konsentrasi ekstrak buah 90% dibandingkan perlakuan yang lainnya dalam penghambatan pertumbuhan BDB. Pada kontrol tingkat kerusakan plasenta buah pisang memiliki presentase yang tinggi yaitu sebesar 54,49%. Gejala yang ditimbulkan adanya perubahan warna coklat kemerahan mengikuti panjang plasenta pisang. Berdasarkan Eden-Green dan Sastratmadja (1990) buah pisang yang dipotong melintang akan mengeluarkan lendir berwarna merah kecoklatan yang mengandung massa bakteri dan busuk pada bagian tengahnya.

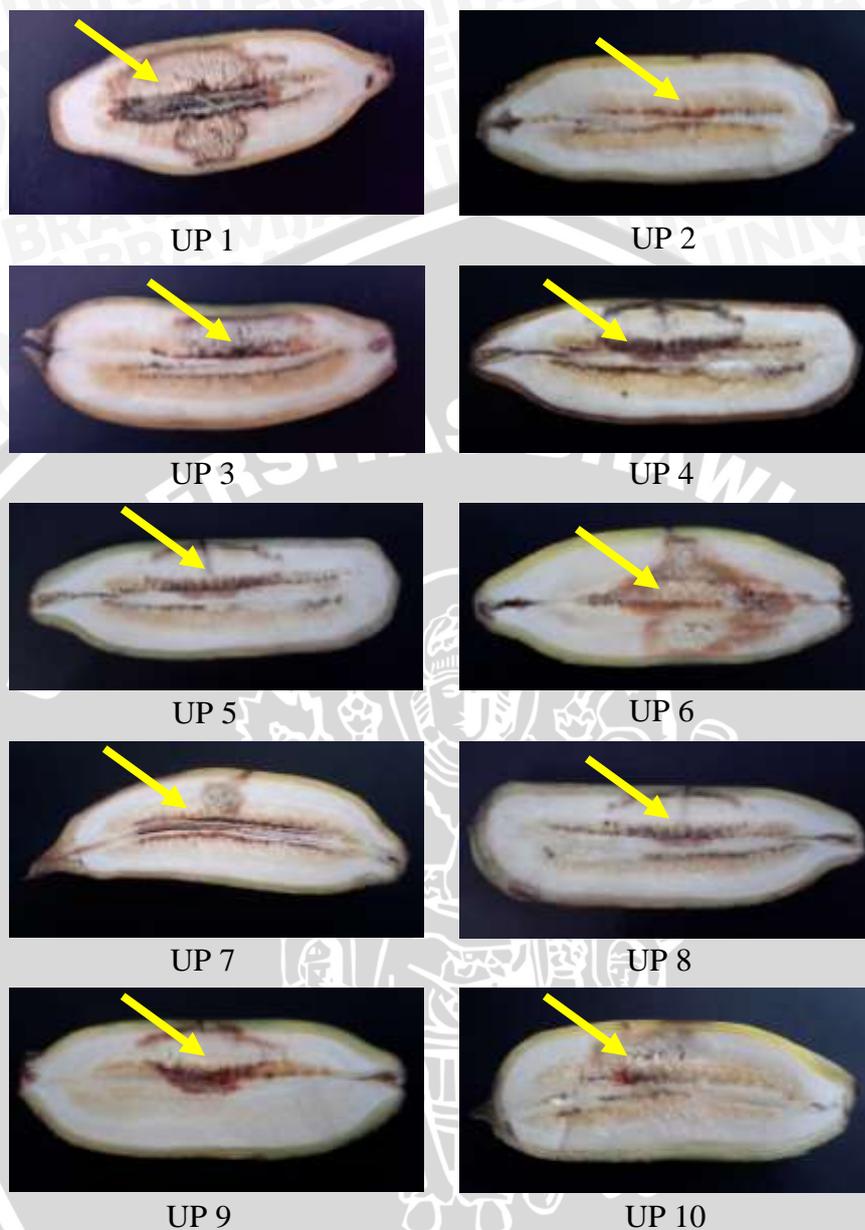
Pada perlakuan pemberian DMSO yang disertai inokulasi BDB memiliki tingkat kerusakan plasenta yang tidak berbeda nyata dengan kontrol, dengan gejala terjadinya perubahan warna menjadi coklat kemerahan disekitar plasenta pisang. Perlakuan streptomisin memiliki tingkat kerusakan plasenta buah yang berbeda nyata dengan perlakuan kontrol. Pada perlakuan streptomisin gejala yang muncul yaitu adanya warna coklat pudar pada tepi plasenta buah, sedangkan pada plasenta buah masih berwarna putih tanpa ada perubahan warna. Hal tersebut menunjukkan BDB tidak mampu tumbuh dengan baik pada buah pisang yang diberi perlakuan streptomisin. Pada perlakuan etanol 80% tingkat kerusakan plasenta buah tidak berbeda nyata dengan perlakuan kontrol. Gejala yang muncul adalah pada buah pisang nampak putih pada bagian tengah namun terjadi perubahan warna merah kecoklatan di tepi plasenta pisang, sehingga perlakuan etanol 80% tidak berpengaruh pada penekanan pertumbuhan BDB.

Pada perlakuan ekstrak kulit buah kakao 15% tingkat kerusakan plasenta buah tidak berbeda nyata dengan perlakuan kontrol. Gejala yang muncul adalah pada buah pisang nampak putih pada bagian tengah namun terjadi perubahan warna merah kecoklatan di tepi plasenta pisang, sehingga perlakuan ekstrak kulit buah kakao 15% tidak berpengaruh pada penekanan pertumbuhan BDB. Perlakuan ekstrak kulit buah kakao pada konsentrasi 30%, 45%, 60%, 75% dan 90% menghasilkan tingkat kerusakan plasenta pisang yang berbeda nyata dengan perlakuan kontrol. Dengan demikian perlakuan ekstrak kulit buah kakao dengan berbagai konsentrasi berbeda mampu menghambat pertumbuhan BDB pada buah pisang. Pada buah pisang yang dibelah terlihat perubahan warna putih kehijauan dibagian tengah plasenta pisang, perubahan warna tersebut diduga sebagai persebaran dari ekstrak kulit buah kakao. Selain itu terjadi perubahan warna coklat kemerahan pada tepi plasenta pisang yang diduga persebaran BDB. Hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah kakao memberikan pengaruh terhadap penekanan pertumbuhan BDB pada buah pisang.

Pada perlakuan ekstrak kulit buah kakao dengan konsentrasi 90% tingkat kerusakan yang dihasilkan berbeda nyata dengan perlakuan kontrol. Tingkat kerusakan yang dihasilkan relatif kecil yaitu sebesar 6,67%. Gejala yang muncul adalah adanya warna coklat muda pada sekeliling plasenta buah yang merupakan persebaran ekstrak dan adanya warna coklat kehitaman tipis dibagian tepi ekstrak yang diduga BDB. Menurut Pelczar dan Chan (1988), bahwa semakin tinggi konsentrasi suatu bahan antibakteri maka aktivitas antibakterinya semakin besar pula. Dengan konsentrasi ekstrak yang semakin tinggi maka kandungan senyawa ataupun zat antibakteri didalamnya juga akan semakin banyak (Efri dan Aeny, 2004). Kemampuan menghambat kulit buah kakao tersebut berkaitan dengan kandungan antibakteri yang terdapat pada kakao.

Hasil pengujian tersebut diketahui bahwa buah pisang yang sudah dipanen dari pohonnya dapat digunakan dalam pengujian penekanan pertumbuhan BDB. Pada uji penekanan pertumbuhan BDB pada buah pisang dapat diketahui perlakuan ekstrak kakao konsentrasi 90% paling efektif dalam menekan pertumbuhan BDB. Namun perlakuan ekstrak kakao konsentrasi 90% tidak berbeda jauh dengan kontrol streptomisin dalam menekan pertumbuhan BDB.





Gambar 12. Hasil uji penekanan pertumbuhan BDB pada buah pisang setelah tigas HIS. Tanda panah warna kuning menunjukan gejala BDB pada buah pisang

Keterangan:

UP1: Kontrol (BDB), UP2: Streptomisin, UP3: Etanol 80%, UP4, DMSO, UP5, Konsentrasi 15% Ekstrak kakao, UP6, Konsentrasi 30% Ekstrak kakao, UP7, Konsentrasi 45% Ekstrak kakao, UP8, Konsentrasi 60% Ekstrak kakao, UP9, Konsentrasi 75% Ekstrak kakao, UP10, Konsentrasi 90% Ekstrak kakao.

4.5 Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Kakao

Dari hasil penelitian menunjukkan terjadinya penghambatan ekstrak kulit buah kakao terhadap pertumbuhan BDB yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening di sekitar lubang sumuran yang mengandung ekstrak kulit buah kakao. Penghambatan pertumbuhan bakteri oleh ekstrak kulit buah kakao diduga berasal dari aktifitas senyawa bioaktif yang terlarut, di antaranya adalah senyawa polifenol, alkaloid dan flavonoid. Hasil pemeriksaan fitokimia terhadap ekstrak kulit buah kakao menunjukkan hasil yang positif terdeteksi adanya senyawa alkaloid maupun senyawa flavonoid. Endapan berwarna putih atau kekuningan menunjukkan adanya senyawa alkaloid.



Gambar 13. Hasil uji fitokimia senyawa alkaloid dan senyawa flavonoid dari ekstrak kental kulit buah kakao

Dirjen POM (1995) mengemukakan bahwa flavonoid dianggap positif jika terjadi endapan ketika ekstrak direaksikan dengan salah satu dari pereaksi Bouchardat. Pemeriksaan flavonoid menunjukkan hasil yang positif dengan terjadinya perubahan warna ekstrak menjadi kemerahan setelah ditambahkan dengan serbuk Mg dan HCl pekat (Arifin *et al.*, 2006).

Senyawa alkaloid merupakan senyawa organik yang memiliki atom nitrogen dan bersifat basa (alkali) dan dapat menyebabkan koagulasi protein sel bakteri, sehingga menyebabkan penghambatan pertumbuhan bakteri. Koagulasi protein akan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri yang

menyebabkan lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh, sehingga menyebabkan kematian sel bakteri. Flavonoid pada ekstrak kulit kakao termasuk golongan senyawa fenolik yang mempunyai ikatan glikosida. Senyawa fenolik akan berinteraksi dengan protein membran sel bakteri melalui proses adsorpsi dengan cara terikat pada bagian hidrofilik membran sel. Senyawa fenolik selanjutnya akan masuk ke dalam membran sel dan menyebabkan presipitasi protein sel. Hal tersebut mengganggu permeabilitas membran sel, sehingga dapat mengalami lisis (Hawley, 2003).

Analisis uji statistik menunjukkan bahwa diameter zona hambat pada keenam konsentrasi tersebut berbeda nyata, hal ini menunjukkan bahwa keenam konsentrasi ekstrak tersebut berpengaruh nyata terhadap aktivitas penghambatan BDB. Konsentrasi ekstrak tersebut berbeda nyata dengan perlakuan kontrol. Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah kakao terhadap bakteri BDB, terbukti bahwa aktivitas penghambatan dipengaruhi oleh konsentrasi ekstrak. Aktivitas antibakteri semakin meningkat, dengan semakin tingginya konsentrasi ekstrak. Banyaknya kandungan senyawa aktif dalam ekstrak menyebabkan senyawa aktif akan lebih mudah untuk merusak sel bakteri. Selain itu senyawa aktif akan mampu menghambat pertumbuhan bakteri lebih banyak yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat di sekitar lubang sumuran.

Tidak terbentuknya zona hambat pada beberapa perlakuan konsentrasi ekstrak 15%, disebabkan oleh konsentrasi ekstrak yang rendah. Rendahnya senyawa aktif tersebut dapat menyebabkan penghambatan pertumbuhan masing-masing bakteri uji, terjadi pada sebagian kecil dari jumlah total sel bakteri, sehingga bakteri yang tidak terganggu oleh senyawa aktif dapat tumbuh.

Brooks (2001) menyatakan, bahwa semakin besar jumlah sel inokulum bakteri, maka semakin berkurang tingkat kepekaannya terhadap senyawa aktif. Konsentrasi sel untuk BDB 10^9 cfu/mL karena semakin kecil jumlah populasi inokulum bakteri maka akan semakin peka terhadap senyawa aktif. Lipopolisakarida dan lipoprotein (Hawley, 2003).

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa:

1. Hasil uji sensitivitas antibakteri dapat disimpulkan bahwa ekstrak kakao pada konsentrasi 30%, 45% 60%, 75% dan 90% mampu menghambat pertumbuhan BDB. Sedangkan perlakuan kontrol DMSO memberikan pengaruh yang terkecil terhadap uji sensitivitas antibakteri, namun perlakuan kontrol DMSO tidak berbeda jauh dengan perlakuan ekstrak kakao 15% dan kontrol etanol 80%.
2. Dari uji penekanan pertumbuhan BDB pada buah pisang dapat disimpulkan bahwa perlakuan ekstrak kulit buah kakao konsentrasi 90% lebih efektif dalam menekan pertumbuhan BDB dibandingkan dengan perlakuan ekstrak yang lainnya. Akan tetapi ekstrak kakao konsentrasi 90% tidak berbeda jauh dengan kontrol streptomycin.
3. Hasil pengujian fitokimia terhadap ekstrak kakao menunjukkan hasil yang positif terdeteksi adanya senyawa alkaloid maupun senyawa flavonoid. Endapan berwarna putih atau kekuningan menunjukkan adanya senyawa alkaloid didalam kulit buah kakao sedangkan pemeriksaan flavonoid juga menunjukkan hasil yang positif dengan terjadinya perubahan warna ekstrak menjadi kemerahan setelah ditambahkan dengan serbuk Mg dan HCl.

5.2 Saran

Penelitian selanjutnya perlu dilakukan pengujian fraksinasi yang terdapat pada ekstrak kakao untuk mengetahui secara pasti senyawa manakah yang menghambat pertumbuhan BDB dan perlu diujikan langsung di lapang.

DAFTAR PUSTAKA

- Adamafo NA, IK Afeke, J Wepeba, EK Ali & FQ Quaye. 2004. Biochemical composition and in vitro digestibility of cocoa (*Theobroma cacao*) pod husk, cassava (*Manihot esculenta*) peel and plantain (*Musa paradisiacal*) Peel Ghana J Sci 44: 29-38.
- Alemawor F, F Victoria, P Dzogbefia1, EOK Oddoye & JH Oldham .2009. Effect of *Pleurotus ostreatus* fermentation on cocoa pod husk composition: Influence of fermentation period and Mn²⁺ supplementation on the fermentation process. *African J Biotech* 8(9): 1950-1958.
- Arifin H, N Anggraini, D Handayani & R Rasyid. 2006. Standarisasi ekstrak etanol daun *Eugenia cimini* Merr. *J Sains Tek. Far* 11(2): 88-92.
- Ashihara H, Crozier A. 2001. Caffeine: a well known but little mentioned compound in plant science. *Trends Plant Sci* 6: 407-413
- Asrul, 2008. Uji Sensivitas Koloni BDB Terhadap Pemberian Bahan Kimia Secara In Vitro. *J. Agroland* 15 (3): 198-203.
- Baharuddin, B. 1994. Pathological, Biochemical, and Serological Characterization of the *Blood Disease Bacterium* Affecting Banana and Plantain (*Musa sp.*). *Molecular Plant Pathology*. 84 (6): 570-575.
- Baroroh, H. F. 2014. Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Dan Buah Mengkudu (*Morinda Citrifolia* L.) Terhadap *Blood Disease Bacterium*. Skripsi. Fakultas Pertanian. Universitas Brawijaya, Malang
- Basri, Hasan. 1992. Ekologi Tanaman Pisang Press. Jakarta.
- Biehl, B., 1984. Cocoa Fermentation and Problems of Acidity, Over Fermentation and Low Cocoa Flavor. *Proceedings of the Internatinal Conference of Cocoa and Coconut*, Kuala lumpur. No. 561-566.
- BPS (Badan Pusat Statistik). 2014. Produksi Buah-Buahan Indonesia. Diunduh di <http://www.bps.go.id> pada 17 Oktober 2014.
- BPS. 2014. Produksi Tanaman Obat-Obatan di Indonesia 1997-2013 (Online). Diunduh dari http://www.bps.go.id/tab_sub/view.php?kat=3&tabel=1&daftar=1&id_subyek=55¬ab=25 pada tanggal 18 Oktober 2014.

- Brooks, G.F., Butel, J.S., dan Morse, S.A. 2005. Mikrobiologi Kedokteran. Penerbit Salemba Medika. Jakarta.
- Brooks, G.F., Butel, J.S., dan Morse, S.A. 2008. Mikrobiologi Kedokteran. Bagian mikrobiologi, FKU Unair. Penerbit Salemba Medika. Jakarta.
- Buddenhagen, I. W. 1994. Banana diseases caused by bacteria. Compendium of Tropical Fruit Diseases. R. C. Ploetz, G. A. Zentmyer, W. T. Nishijima, K. G. Rohrbach and H. D. Ohr. St. Paul, Minnesota, APS Press: 15-17.
- Cahyaniati, Mortense CN and Mathur SB. 2000. Bacterial wilt of Banana in Indonesia Directorate of Plant Protection Indonesia and Daniosh Government Institute of Seed Pathology for Developing Countries Denmark. Technical Bulletin. Carrenho R, Silva ES, Trufem SFB, Bononi VLR. 2001. Succesive cultivation of maize and agricultural practices on root colonization, number of tipeores and tipeecies of arbuscular mycorrhizal fungi. Brazilian J. Microbiol. 32: 262-270
- Cahyono, B. 2009. Pisang Budidaya dan Analisis Usaha Tani. Kanisius. Yogyakarta.
- Cahyono. B. 2002. Pisang Usaha Tani dan Penanganan Pascapanen. Kanisius. Yogyakarta.
- Cook, E., Barlow dan Sequeira, L. 1989. Genetic diversity of *P. solanacearum* detection of retriction fragment length polymorphisms with DNA probes that specify virulence and hypersensitivity respons. Mol. Plant_Microbe Interactions. 2:113-121.
- Cowan, M. M. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. Clinical Microbiology Reviews 12: 564–82.
- Darmawijaya, Isa. 1997. Klasifikasi Tanah. UGM Press. Yogyakarta.
- Dewi, F. K. 2010. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda Citrifolia*, *Linnaeus*) Terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar. Skripsi. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Devi, R. K. 2013. Uji Metode Inokulasi dan Patogenesisitas *Blood Disease Bacterium* (BDB) pada Buah Pisang. Skripsi. Fakultas Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang.

- Dikin A, Kornida F, Hermawan. 1995. Perbedaan Isolat Bakteri Penyebab Penyakit Layu Pisang di Lampung dan Jawa. Prosiding Kongres Nasional VIII dan Seminar Ilmiah. PFI Mataram.
- Direktorat Perlindungan Hortikultura. 2014. Penyakit Layu Bakteri (Penyakit Darah/Moko Disease): *Ralstonia (Pseudomonas solanacearum* E.F. Smith pv. *celebensis* (Online). Diunduh dari <http://www.deptan.go.id/ditlinhorti> pada tanggal 16 Oktober 2014.
- Dirjen POM. 1986. Pengujian Bahan Kimia Sintetik Dalam Obat Tradisional. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- DPEN (Direktorat Jendral Pengembangan Ekspor Nasional). 2014. Nilai Ekspor Buah Indonesia. Diunduh di <http://www.kemendag.go.id> diunduh pada tanggal 29 November 2014.
- Eden-Green, S. J., Ed. 1994. Banana Blood Disease. *Musa Disease Fact Sheet No. 3*. Montpellier, France, INIBAP.
- Eden-Green, S. J. 1994. Diversity of *Pseudomonas solanacearum* and related bacteria in South East Asia: new direction for moko disease. Bacterial wilt: the disease and its causative organism, *Pseudomonas solanacearum*. A. C. Hayward and G. L. Hartman. Wallingford, United Kingdom, CAB International: 25-34.
- Elwers S, A Zambrano, C Rohsius & R Lieberei .2009. Differences between the content of phenolic compounds in criollo, forastero and trinitario cocoa seed (*Theobroma cacao* L.). *Eur Food Res Technol* 229: 937-948.
- Gold C.S dan Messiaen, S. 2000. The Banana Weevil *Cosmopolites sordidus*. *Musa Pest Fact Sheet 4*.INIBAP. Montpellier
- Goldsworthy dan Fisher. 1992 *Fisiologi Tanaman Budidaya Tropik*. UGM Press. Yogyakarta.
- Harbone JB. 1987. *Phytochemical methods*. London: Chapman and Hall Ltd.
- Harsini T & Susilowati .2010. Pemanfaatan kulit buah kakao dari limbah perkebunan kakao sebagai bahan baku pulp dengan proses organosolv. *J Ilmiah Teknik Lingkungan* 2 (2): 80-89.
- Hawley LB. 2003. *Intisari Mikrobiologi dan Penyakit Infeksi*. Alih Bahasa: Brahm U. Pendit. Jakarta, Hipokrates.

- Hermanto, C., Harlion, Subhana, Mujiman dan K. Mukminin, 2001. *Identifikasi Komponen Penduga Perkembangan Penyakit Layu Bakteri Pisang*. J. Hortikultura 11 (4): 254 – 259.
- Hermawan, A., Hana, W. dan Wiwiek, T. 2007. Pengaruh Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan Metode Difusi Disk. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Helmenstein AM. 2010. Theobromine Chemistry: Theobromine is Chocolate's Caffeine Relative. Taken from [http://chemistry.about.com/od/facts_structures/a/theobrominechemistry.htm]. 6 Mei 2010.
- Hii, C. L., Lawi, C. L., Suzannah, S., Misnawi, dan Clokei, M. 2009. Polyphenol in cocoa (*Theobroma cacao* L). *Asian Journal of Food and Agro Industry*. Vol. 2 (4): 702-722.
- Ibtisam. 2008. Optimasi Pembuatan Ekstrak Daun Dewandaru *Eugenia uniflora* Menggunakan Metode Perlokasi dengan Parameter Kadar Total Senyawa Fenolik dan Flavonoid. Bogor: Institut Pertanian Bogor Press.
- Irmalia WR .2011. Daya Antibakteri Ekstrak Biji Coklat (*Theobroma cacao*) Varietas Forastero terhadap *Streptococcus mutans*. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Airlangga.
- Jones, C. L. A. 2000. *The Antibiotic Alternative: The Natural Guide to Fighting Infection and Maintaining a Healthy Immune System*. Inner Traditions / Bear & Company. Canada.
- Kusmayati dan Agustini, N. W. R. 2007. Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri dari Mikroalga (*Porphyridium cruentum*). *Biodiversitas*. 8(1): 48-53.
- Lee, K.W., Kim,Y.J., Lee, H.J., Lee, C.Y. 2003. Cocoa has More Phenolic Phytochemical and Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. *J.Agric. Food. Chem.*, 51(25): 7292- 7295
- Lelliott, R. A. dan Steed, D. E. 1987. *Methods For The Diagnosis of Bacterial Disease of Plants*. British Society For Plant Pathology. London.
- Lestari,C., Widjijono, dan Murdiastuti, K, 2009 pengaruh ekstrak gambir tertadarisasi sebagai periodontal dressing terhadap penyembuhan luka gingiana kelinci majalah kedokteran gigi vol. 16

- Maharddhika. A., 2013. Pengaruh Penyikatan Terhadap Kekerasan Email Gigi Manusia Setelah Pemaparan Gel NaF dan Gel *Theobromine*. Fakultas Kedokteran Gigi. Universitas Indonesia. Jakarta
- Marsaban. 2008. Efek ekstrak buah kakao *Theobroma cacao* Linn. Terhadap bakteri dan fungi <http://jurnal.pdii.lipi.go.id/index.php/search.html>.
- Matsumoto M, M Tsuji, J Okuda, H Sasaki, K Nakano, K Osawa, S Shimura & T Ooshima. 2004. Inhibitory effects of cacao bean husk extract on plaque formation in vitro and in vivo. *Eur J Oral Sci* 112 (3): 249-52.
- Misnawi, S Jinap, B Jamilah, S Nazamid. 2004. Fermentation sensory properties of cocoa liquor as affected by polyphenol concentration and duration of roasting. *Food Quality and Preference* 15:403-409
- Mojab, F., Poursaeed, M., Mehrgan, H. dan Pakdaman, S. 2008. Antibacterial Activity of *Thymus daenensis* methanolic Extract. *Pak. J. Pharm. Sci.* 21 (3): 210-213.
- Naczka, M., T Nichols, D. Pink, and F. Sosulski. 1994. Condensed tannins in canola hulls, *J Agri. Food Chem.* 42: 2196-2200
- Nurhadi M, Rais dan Harlion. 1994. Serangan bakteri dan cendawan pada tanaman pisang di Propinsi Dati I Lampung. *Info Hortikultura* Vol 2(1): 37-41.
- Okuda, H Sasaki, K Nakano, K Osawa, S Shimura & T Ooshima. 2004. Inhibitory effects of cacao bean husk extract on plaque formation in vitro and in vivo. *Eur J Oral Sci* 112 (3): 249-52.
- Osawal, K., Miyazaki, K., Shimura, I., Okuda, J., Matsumoto, M and Ooshima, T., 2001, Identification of Cariostatic Substances in the Cacao Bean Husk: Their Antiglucosyltransferase and Antibacterial Activities. *Dent. Res.*, 80(11): 2000-2004
- Othman, A., Ismail, A., Ghani, N.A., Adenan, I., 2007, Antioxidant Capacity and Phenolic Content of Cocoa Bean. *Food Chemistry*. 1523-1530.
- Othman A, A Ismail, NA Ghani, I Adenan. 2007, Antioxidant capacity and phenolic content of cocoa bean. *Food Chemistry*. 100(40): 1523- 1530.
- Özçelik, B., Orhan, D. D., Özgen, S., dan Ergun, F. 2008. Antimicrobial Activity of Flavonoids against Extended-Spectrum β -Lactamase (ES β L)-Producing

Klebsiella pneumoniae. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. Vol. 7 (4): 1151-1157.

Pelczar, M.J. dan Chan, E.C.S. 1986. Dasar-Dasar Mikrobiologi, Jilid ke-1, Penerjemah : Hadioetomo, R.S., Imas, T., Tjitrosomo, S.S., dan Angka, S.L., Universitas Indonesia Press. Jakarta.

Pratiwi, R. 2005. Perbedaan Daya Hambat Terhadap *Streptococcus mutans* dari Beberapa Pasta Gigi yang Mengandung Herbal. Vol. 38 No. 2 April – Juni :Maj. Ked. Gigi: 64 - 67.

Robinson, T. 1991. Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi. Institut Pertanian Bogor. Bandung. 132-6.

Robinson, J.C. 2006. Bananas and Plantains. CABI Publishing. London. UK.

Rukmana, R. 2002. Tanaman Kakao Budi Daya dan Prospek Agribisnis. Kanisius. Yogyakarta.

Rukmana, R. 1999. Usaha Tani Pisang. Kanisius. Yogyakarta.

Rustam. 2007. Uji Metode Inokulasi dan Kerapatan Populasi *Blood Disease Bacterium* pada Tanaman Pisang. *J. Hortikultura*. 17 (4): 387-392.

Sartini, MN Djide & G Alam .2007. Ekstraksi Komponen Bioaktif dari Limbah Kulit Buah Kakao dan Pengaruhnya Terhadap Aktivitas Antioksidan dan Antimikroba. UGM Press. Yogyakarta

Sastraatmadja, H .1990. "Blood disease present in Java." *FAO Plant Protection Bulletin* 38: 49-50

Schaad, N. W., Jones, J. B. dan Chun, W. 2001. *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogen Bacteria*. Ed ketiga. APS Press. St. Paul Minnesota.

Semangun, H. 1989. *Penyakit-Penyakit Tanaman Hortikultura di Indonesia*. UGM Press. Yogyakarta
Setiadevi S. 2010. *Karakterisasi Ekstrak Polifenol Biji Kakao Nonfermented Dari Berbagai Macam Metode Ekstraksi*. [Skripsi]. Jember: Universitas Jember.

Sudirja R, MA Solihin & S Rosniawaty. 2007. Respon beberapa sifat kimia fluventic eutrudepts melalui pendayagunaan limbah kakao dan berbagai jenis pupuk organik. *Soil Rens J* 8(6): 23-30.

- Sulyo, Y. 1992. Major Banana Disease and Their Control. IARD Journal 14 (3 dan 4): 55-62.
- Supeno, B., 2003. *Preferensi Beberapa Serangga Vektor Bakteri Penyebab Penyakit Darah Pisang (Pseudomonas solanacearum)* pada beberapa jenis bunga pisang. Jurnal Penelitian UNRAM. 2 (4): 45 – 51.
- Supriadi. 1997. Bacteriophage Typing of *Ralstonia solanacearum*, *Pseudomonas syzygii* and *Blood Disease Bacterium* of Banana. Hayati 4(3):72-76.
- Tjitrosoepomo, G., 2000. Taksonomi Tumbuhan Spermathophyta. Cetakan ke-9, UGM Press. Yogyakarta.
- Volk, W.A and M.F. Wheeler. 1993. Mikrobiologi Dasar. Edisi Kelima. Jilid 1. Penerbit Erlangga. Jakarta
- Winarno, F.G. 1997. Kimia Pangan dan Gizi. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama
- Weisburger JH. 2001, Chemopreventive Effects of Cocoa Polyphenols on Chronic Diseases. *Experimental Biology and Medicine*, 226: 891-897.
- Weisburger JH. 2005. *Chemopreventive Effects of Cocoa Polyphenols on Chronic Disease*. USA: American Health Foundation Valhalla
- Wood, G.A.R, 1975, Cocoa Tropical Agriculture. Series, 3 Ed, London, Longmans.
- Wollgast, J. and Anklam, E. 2000. Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. Food Research International, 33 (6): 423-447.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Tabel Analisis Ragam Uji Sensitivitas Antibakteri dan Tabel Uji Penekanan Pertumbuhan BDB pada Buah Pisang

Tabel Lampiran 1. Analisis Ragam Uji Sensitivitas Antibakteri pada Hari Pertama Setelah Inokulasi

SK	DB	JK	KT	F hitung	F tabel 5%	F tabel 1%
PERLAKUAN	8	3754,4152	469,302	1042,9**	2,30	3,26
GALAT	27	12,062	0,45			
TOTAL	35	3766,477				

Tabel Lampiran 2. Analisis Ragam Uji Sensitivitas Antibakteri pada Hari Kedua Setelah Inokulasi

SK	DB	JK	KT	F hitung	F tabel 5%	F tabel 1%
PERLAKUAN	8	2924,344	624,988	1602,5**	2,30	3,26
GALAT	27	10,581	0,39			
TOTAL	35	2934,925				

Tabel Lampiran 3. Analisis Ragam Uji Sensitivitas Antibakteri pada Hari Ketiga Setelah Inokulasi

SK	DB	JK	KT	F hitung	F tabel 5%	F tabel 1%
PERLAKUAN	8	2695,234	559,73	1436,03**	2,30	3,26
GALAT	27	10,524	0,3897			
TOTAL	35	2705,758				

Tabel Lampiran 4. Analisis Ragam Diameter Kerusakan Plasenta Buah pada Hari Ketiga Setelah Inokulasi

SK	DB	JK	KT	F hitung	F tabel 5%	F tabel 1%
PERLAKUAN	9	10128,42	1125,38	323,48**	2,5	3,655
GALAT	20	69,57	3,479			
TOTAL	29	10198,2				

