

BAB VI

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini ekstrak biji buah kakao terbukti memiliki efek sebagai antimikroba. Dapat dilihat dari hasil uji statistik yang menyatakan adanya perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol dengan kelompok yang diberi konsentrasi ekstrak biji kakao ($p > 0,05$). Perbedaan jumlah koloni pada tiap konsentrasi ekstrak biji buah kakao ini disebabkan oleh kemampuan ekstrak dalam membunuh bakteri yang berbeda, semakin tinggi konsentrasi ekstrak biji buah kakao kemampuan ekstraknya juga akan semakin besar. Kemampuan sebagai antimikroba pada ekstrak biji buah kakao ini berasal dari kandungan yang dimilikinya yaitu flavonoid dan tanin (Othman *et al*, 2007).

Mekanisme kerja antimikroba secara umum adalah merusak dinding sel (seperti penisilin, sefalosporin, dan vankomisin), mengganggu permeabilitas sel (seperti penisilin, sefalosporin, dan vankomisin), dan menghambat sintesis protein dan asam nukleat (seperti kloramfenikol, rifampisin, dan asam). Apabila mekanisme kerja antimikroba berjalan dengan lancar, akan menghasilkan bahan antimikroba yang efektif. Namun, keefektifan tersebut dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu konsentrasi antimikroba, jumlah bakteri, spesies bakteri, suhu, bahan organik, dan pH lingkungan (Cowan, 1999).

Flavonoid berperan dalam merusak DNA girase dan merusak membran sel bakteri, sehingga memiliki efek antimikroba (Cushnie, 2006). Senyawa golongan flavonoid dilaporkan memiliki aktivitas antimikroba. Aglikon, epigenin, quersetin, kaempferol merupakan senyawa golongan flavonoid yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif. Katekin yang juga termasuk salah satu jenis dari flavonoid, dapat menghambat pertumbuhan dari bakteri.

Mekanisme penghambatan pertumbuhan bakteri ini diduga dengan cara polifenol antimikrobal memiliki aktifitas antimikroba melalui penghambatan enzim mikroorganisme yaitu pada enzim sitosolik thiolase. Terhambatnya enzim thiolase menyebabkan tidak terjadinya proses oksidasi gugus sulfhidril. Proses oksidasi gugus sulfhidril berperan dalam pembentukan ikatan disulfida pada struktur sekunder protein. Jika ikatan disulfida tidak terbentuk, maka struktur sekunder protein akan rusak dan menyebabkan denaturasi protein bakteri (Silvikasari, 2011).

Tanin merupakan salah satu senyawa kimia yang termasuk dalam golongan polifenol yang diduga dapat mengikat salah satu protein yang dimiliki bakteri yaitu adhesin. Apabila bakteri dapat mengikat adhesin, maka ketersediaan *ligand* pada permukaan sel bakteri akan rusak. Tanin juga telah dibuktikan dapat menyebabkan rusaknya dinding sel dengan membentuk senyawa yang *irreversible* dengan prolin (Agnol *et al*, 2003). Polifenol juga merupakan senyawa lipofilik yang dapat merusak membran sel bakteri. Kerusakan membran sel bakteri ini berakibat kematian sel bakteri karena apabila membran sel rusak, maka nutrisi penting yang diperlukan bakteri untuk pembentukan energi tidak dapat masuk. Akibatnya, bakteri akan mati karena tidak memiliki energi (Cowan, 1999).

Untuk mengawali penelitian ini, dilakukan penelitian pendahuluan menggunakan metode dilusi tabung. Pada percobaan dilusi tabung yang pertama, konsentrasi yang digunakan adalah 17,5%, 15%, 12,5%, 10%, 7,5%. Hasil percobaan yang pertama, pada konsentrasi 17,5%, 15%, 12,5%, 10% memiliki hasil yang bening, sedangkan pada konsentrasi 7,5% sedikit lebih keruh. Setelah hasil dilusi tabung di-*striking* pada plate BHI *broth* dan diinkubasi, dapat dilihat bahwa tidak ada pertumbuhan bakteri semua konsentrasi ekstrak, kecuali pada konsentrasi 7,5%. Pada konsentrasi 7,5% terdapat beberapa koloni

bakteri yang tumbuh pada media agar. Selanjutnya dilakukan percobaan yang kedua dengan menurunkan konsentrasi ekstrak yang digunakan, untuk dapat mengetahui konsentrasi ekstrak minimal yang paling efektif untuk menghambat pertumbuhan dan membunuh bakteri *Lactobacillus acidophilus*. Percobaan yang kedua ini menggunakan konsentrasi 2%, 4%, 6%, 8%, dan 10%. Terlihat perbedaan kekeruhan pada masing-masing konsentrasi ekstrak. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak, semakin bening cairan dalam tabung, dan pada konsentrasi 10% merupakan yang paling bening. Setelah diamati kekeruhannya, dilakukan *striking* (penggoresan pada media biakan) seperti pada percobaan pertama dan diinkubasi. Hasil *striking* menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak, semakin sedikit koloni bakteri yang ada pada *plate*, dan pada konsentrasi 10% tidak ada pertumbuhan bakteri. Namun, metode ini tidak dapat digunakan untuk melanjutkan penelitian, karena terdapat endapan ekstrak pada dasar tabung, sehingga, kekeruhan tidak dapat dihitung menggunakan spektrofotometer. Penelitian dengan konsentrasi 2%, 4%, 6%, 8%, dan 10% dilanjutkan menggunakan dilusi agar. Untuk mencari konsentrasi ekstrak kakao yang lebih efektif dari penelitian tahun 2010, oleh Purnamasari yaitu 12,5% terhadap bakteri *S.mutans*.

Uji sensitivitas menggunakan dilusi agar dilakukan untuk mencari KHM, hasil yang didapat adalah adanya kemiripan hasil pada konsentrasi 4% dan 6% saat pengujian menggunakan metode dilusi agar, dikarenakan dosis pada konsentrasi tersebut belum bekerja dengan maksimal. Pada konsentrasi 4%, terdapat lapisan koloni bakteri yang tipis sekali seperti agar, sedangkan pada konsentrasi 6% lapisan koloni bakteri sangat tipis seperti noda. Koloni yang tumbuh pada media agar terlalu banyak sehingga tidak dapat dilakukan perhitungan. Hasil tersebut digolongkan dalam kriteria yang sama, hal ini disebabkan oleh banyak bakteri pada kedua koloni tidak terhitung dan kriteria

yang terbatas. KHM ditemukan pada konsentrasi 8%, dimana pada konsentrasi tersebut sudah tidak ada pertumbuhan bakteri pada media agar yang telah dicampur dengan ekstrak biji buah kakao.

Pada dasarnya, bahan antimikroba adalah penghambat mikroorganisme secara kimia yang mengganggu aktivitas metabolisme mikroba. Antimikroba dapat dibedakan menjadi dua berdasarkan cara kerjanya, yang pertama adalah bakteristatik. Bakteristatik adalah zat yang bekerja menghambat pertumbuhan bakteri. Cara kerja bakteri seperti ini dapat ditentukan dengan Kadar Hambat Minimal (KHM). Yang kedua adalah bakterisidal, merupakan zat yang bekerja mematikan bakteri, yang ditentukan dengan Kadar Bunuh Minimal (KBM). Beberapa zat antimikroba bersifat bakteristatik pada konsentrasi rendah (KHM) dan bakterisidal pada konsentrasi tinggi (KBM) (Silvikasari, 2011).

Untuk menentukan Kadar Bunuh Minimal (KBM) dari ekstrak biji buah kakao terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus*, dilakukan dengan metode difusi sumuran. Metode ini dipilih karena dianggap lebih akurat, dibandingkan dengan metode cakram. Pada metode cakram, cakram direndam dalam ekstrak biji buah kakao, resikonya adalah ekstrak tidak meresap dengan baik karena konsistensi ekstrak yang cukup kental. Setelah difusi sumuran dilakukan, hasil yang didapat pada konsentrasi 2% dan 4% tidak ada perbedaan yang signifikan, hal ini dapat disebabkan karena bakteri yang masih dapat bertahan pada konsentrasi tersebut. Untuk konsentrasi 6% perbedaannya juga tidak signifikan dengan konsentrasi 4%. Sehingga dapat dikatakan bahwa dengan konsentrasi 2%, 4%, dan 6% belum dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus*. Namun pada konsentrasi 8%, sangat terlihat perbedaan yang terbentuk pada koloni bakteri. Dan pada konsentrasi 10%, perbedaan yang terbentuk terlihat lebih jelas dibandingkan konsentrasi 8%. Hal ini menyatakan

bahwa KBM dapat diperoleh dari konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi dari KHM yaitu konsentrasi ekstrak biji kakao 10%.

Dari penelitian ini dapat diketahui bahwa ekstrak biji buah kakao memiliki efek antimikroba terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus*, karena terdapat data yang menunjukkan adanya pengurangan jumlah koloni bakteri, maupun terbentuknya zona hambat yang besar. Selain itu, dengan adanya berbagai sumber yang menyebutkan tentang kandungan senyawa kimia serta mekanisme kandungan yang terdapat dalam ekstrak tersebut saat menghambat pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus*.

