

**UJI ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN *Theobroma cacao* L.
TERHADAP PERTUMBUHAN *Escherichia coli* DENGAN METODE
DIFUSI CAKRAM**

Annisa Rahmi Hayati¹, Abdul Rahman Singkam², Dewi Jumiarni³
Universitas Bengkulu^{1,2,3}
rahmiannisa764@gmail.com¹

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya hambat ekstrak daun *T. cacao* L. terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* dan korelasi antara konsentrasi ekstrak daun *T. cacao* L. dengan zona hambat *E. coli* yang terbentuk. Metode yang digunakan adalah eksperimental *post-test only control design* dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Zona hambat daun *T. cacao* L. terhadap *E. coli* diuji menggunakan metode difusi cakram dengan enam perlakuan (konsentrasi 25%, 50%, 75%, 100%, kontrol positif dan kontrol negatif) yang diulang sebanyak lima kali. Hasil penelitian menunjukkan bahwa diameter zona hambat ekstrak daun *T. cacao* L. terhadap *E.coli* berada pada interval 5-10 mm dan termasuk pada kategori hambatan sedang, namun hasil uji Duncan memperlihatkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antara zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%. Simpulan, daun *T. cacao* L. kurang efektif dalam menghambat pertumbuhan *E. Coli*, namun ekstrak daun *T. cacao* L. berkorelasi positif dengan zona hambat yang terbentuk.

Kata Kunci: Ekstrak Daun, *Escherichia coli*, *Theobroma cacao* L, Uji Zona Hambat

ABSTRACT

This study aims to determine the inhibition of T. cacao L. leaf extract on the growth of E. coli bacteria and the correlation between the concentration of T. cacao L. leaf extract and the formed E. coli inhibition zone. The method used is experimental post-test only control design using Completely Randomized Design (CRD). The inhibition zone of T. cacao L. leaves against E. coli was tested using the disc diffusion method with six treatments (concentration 25%, 50%, 75%, 100%, positive control and negative control) repeated five times. The results showed that the diameter of the inhibition zone of the leaf extract of T. cacao L. against E.coli was at intervals of 5-10 mm and was included in the category of moderate inhibition, but the results of Duncan's test showed that there was no significant difference between the inhibition zones formed at concentrations 25%, 50%, 75%, and 100%. In conclusion, the leaves of T. cacao L. were less effective in inhibiting the growth of E. Coli, but the leaf extract of T. cacao L. was positively correlated with the inhibition zone formed.

Keywords: Leaf Extract, *Escherichia coli*, *Theobroma cacao* L., Zone of Inhibition Test

PENDAHULUAN

Escherichia coli merupakan salah satu bakteri penyebab diare pada manusia. *E. coli* adalah pemicu terbanyak kedua terjadinya diare (Fransisca et al., 2020). Hal ini diperkuat pula oleh data bahwa sebanyak 20 dari 30 sampel feses wisatawan Ubud penderita diare mengandung bakteri *E. coli* (Rasyid et al., 2020) *E. coli* pada penderita diare akan menyebabkan gangguan pencernaan yang ditandai dengan rasa nyeri di bagian perut, frekuensi buang air besar meningkat, dan feses cair. Penderita diare akan mengalami buang air besar encer lebih dari tiga kali sehari yang dapat disertai sakit perut, mual dan muntah ataupun tidak (Hardiyanti et al., 2019). Kasus diare di Indonesia terbilang cukup tinggi. Data Kemenkes RI tahun 2019 menunjukkan kasus diare di seluruh Indonesia mencapai 7.265.013 kasus atau sebesar 270 per 1000 penduduk (Kementerian Kesehatan RI, 2019).

Pengobatan diare di Indonesia umumnya bertumpu pada pengobatan modern yang biasanya menggunakan bahan kimia sintesis dengan efek samping yang lebih besar. Pengobatan diare secara tradisional yang relatif lebih aman dari efek samping, belum banyak dieksplorasi. Alternatif umum pengobatan diare yang berkembang di masyarakat adalah dengan mengonsumsi larutan garam dan gula (Oralit). Padahal, pengetahuan tradisional Indonesia menunjukkan bahwa banyak tanaman yang berpotensi digunakan sebagai alternatif pengobatan diare (Mustofa & Rahmawati, 2018).

Salah satu tanaman yang dapat digunakan untuk pengobatan diare adalah tanaman *T. cacao* L. Daun *T. cacao* L. mengandung alkaloid, flavonoid, terpenoid dan saponin yang mampu menjadi antibakteri (Parbuntari et al., 2018). Namun sejauh ini belum ada penelitian dengan langkah metode ilmiah yang meneliti keefektifan daun *T. cacao* L. sebagai antibakteri *E. coli*. Oleh karena itu, peneliti melakukan kajian tersebut guna mengetahui tingkat hambatan daun *T. cacao* L. terhadap pertumbuhan *E. coli* dan juga untuk mengetahui korelasi antara konsentrasi ekstrak daun *T. cacao* L. dengan luas zona hambat pertumbuhan *E. coli* yang terbentuk.

METODE PENELITIAN

Metode penelitian dilakukan secara eksperimental dengan *post-test only control design* menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Alat dan bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah *Laminar Air Flow Cabinet* (ESCO, Singapura), inkubator (Mettler, Jerman), *autoclave* (All American, Amerika), *rotary evaporator* (Wincom Company Ltd, China), spektrofotometer UV-Vis (Thermo Scientific, Jerman), Jangka sorong digital (ENZO, China), kertas cakram 6 mm (Macherey-Nagel, Jerman), 1 Kg daun *T. cacao* L. (Bengkulu, Indonesia), 1,4 L etanol 96% (Brataco, Indonesia), 500 mL alkohol 70% (PT. Imfarmin Farmasi Industri, Indonesia), 5 g *Nutrient Agar* (Merck, Jerman), isolat murni bakteri *E. coli* (Laboratorium Biologi FKIP Universitas Bengkulu, Indonesia), *Amoxicillin* 500 mg (Hexpharm Jaya, Indonesia), dan 0.9 g NaCl (Merck, Jerman).

Sterilisasi Alat

Sterilisasi dilakukan dengan metode panas lembab dan metode sterilisasi zat kimia. Alat yang tahan panas disterilisasi dengan metode panas lembab

menggunakan autoclave selama 15 menit dengan suhu 121⁰C dan tekanan 1 atm. Alat yang tidak tahan panas disterilisasi dengan cara pengolesan dan perendaman menggunakan alkohol 70% selama 2 menit.

Pengambilan Sampel dan Pembuatan Simplisia

Sebanyak 1 Kg sampel daun *T. cacao* L. diperoleh dari Zona Pertanian Terpadu Universitas Bengkulu dengan metode *purposive sampling*. *Purposive sampling* adalah metode pengambilan sampel *non-probability* dimana sampel diambil berdasarkan standar tertentu. Sampel daun *T. cacao* L. pada penelitian ini diambil berdasarkan ciri berikut: 1) warna hijau terang 2) panjang daun 10-20 cm, 3) daun lembut-tidak kaku. Ciri tersebut mendeskripsikan daun cokelat stage 3, yaitu tahap daun peralihan muda ke tua. Kandungan metabolit sekunder pada tanaman muda lebih tinggi dari pada tanaman tua.

Preparasi sampel dilakukan dengan membersihkan daun *T. cacao* L., dipotong kecil-kecil menggunakan pisau, dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dalam suhu ruang hingga rapuh, dan kemudian dihaluskan menggunakan blender hingga membentuk serbuk halus. Serbuk ini lalu diayak menggunakan ayakan ukuran 60 *mesh*. Simplisia yang tidak lolos ayakan diblender kembali agar menjadi lebih halus dan dapat digunakan. Pembuatan serbuk halus bertujuan untuk memaksimalkan proses ekstraksi, semakin kecil ukuran serbuk semakin besar luas permukaannya. Sehingga, interaksi sampel dengan pelarut akan semakin efektif.

Ekstraksi Sampel

Ekstraksi sampel daun *T. cacao* L. dilakukan dengan metode maserasi. Sebanyak 200 g sampel halus daun *T. cacao* L. dimasukkan ke dalam botol kaca, kemudian ditambah 1 L etanol 96% (perbandingan 1:5). Etanol 96% merupakan pelarut yang memiliki kemampuan ekstraksi paling baik untuk senyawa fenolik dan flavonoid. Etanol 96% juga merupakan pelarut paling ideal untuk flavonoid, tanin, dan saponin. Pelarut ini akan menyebabkan sel daun pecah dan zat yang terkandung di dalamnya dapat keluar, sehingga diperoleh zat metabolit sekunder daun secara utuh.

Sampel direndam dan didiamkan selama 2x24 jam, terlindung dari cahaya matahari dan diaduk setiap hari sebanyak tiga kali sehari. Setelah hari ke-3 sampel disaring dan dipisahkan ampas dengan filtratnya menggunakan kertas saring. Ampas kemudian direm maserasi menggunakan pelarut yang sama dengan perbandingan 1:2. Filtrat yang diperoleh dari dua kali maserasi tersebut dikumpulkan, dan kemudian dipekatkan dengan menggunakan rotary evaporator pada suhu 50⁰C dengan putaran 60 rpm, hingga diperoleh ekstrak kasar (*crude extract*) kental daun coklat. Pemilihan suhu dan putaran pada nilai tersebut dilakukan agar senyawa dalam daun coklat tidak cepat rusak.

Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Daun *T. cacao* L.

Konsentrasi ekstrak yang akan digunakan pada penelitian ini adalah konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100% (Tabel 1). Berat ekstrak yang digunakan, dihitung dengan rumus konsentrasi larutan, yaitu massa zat terlarut dibagi dengan volume pelarut. Setelah diketahui massa ekstrak yang diperlukan untuk membuat konsentrasi, maka ekstrak dilarutkan dengan *aquadest* steril. Pembuatan

konsentrasi yang berbeda ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*.

Tabel 1. Perhitungan Konsentrasi Simplisia Daun *T. cacao* L. pada Uji Antibakteri *E. coli*

No	Konsentrasi	Perhitungan
1.	Konsentrasi 25%	$25\% = 25\text{gr}/100\text{ ml} = 0,25\text{ g/ml}$ Simplisia untuk 1 ml larutan = 0,25 g
2.	Konsentrasi 50%	$50\% = 50\text{ g}/100\text{ ml} = 0,50\text{ g/ml}$ Simplisia untuk 1 ml larutan = 0,50 g
3.	Konsentrasi 75%	$75\% = 75\text{ g}/100\text{ ml} = 0,75\text{ g/ml}$ Simplisia untuk 1 ml larutan = 0,75 g
4.	Konsentrasi 100%	$100\% = 100\text{ g}/100\text{ ml} = 1\text{ g/ml}$ Simplisia untuk 1 ml larutan = 1 g

Pembuatan Larutan Kontrol Positif

Satu tablet *Amoxicillin Trihydrate* 500 mg digerus hingga halus menggunakan lumpang alu porselen. Serbuk tablet *Amoxicillin* tersebut dimasukkan ke dalam gelas beker ukuran 50 mL. Kemudian dituangkan aquadest steril ke dalam gelas beker hingga volume larutan menjadi 50 mL, dan diaduk hingga homogen. Konsentrasi larutan *Amoxicillin* sebesar 0,01 g/mL. Konsentrasi hambat minimum *Amoxicillin* terhadap *E. coli* adalah konsentrasi 0,01 g/mL.

Pembuatan Media Nutrient Agar (NA)

Serbuk media NA ditimbang sebanyak 5 g dan dilarutkan dengan 250 mL aquades. Kemudian dipanaskan sambil diaduk hingga mendidih diatas api bunsen. Setelah mendidih, media NA diangkat dan ditutup menggunakan sumbatan kapas. Setelah itu, disterilkan menggunakan *autoclave* selama 15 menit. Setelah steril, digunakan untuk membuat dua media, yaitu media agar miring dan media pertumbuhan bakteri *E. coli*. Media agar miring dibuat dengan cara menuangkan 3 mL NA ke dalam 2 buah tabung reaksi steril, lalu ditutup dengan sumbatan kapas. Setelah itu, dibiarkan dalam suhu ruang selama ± 30 menit sampai memadat pada kemiringan 30° .

Media pertumbuhan bakteri *E. coli* dibuat dengan menuangkan sebanyak 20 mL NA secara aseptik ke dalam 5 cawan petri steril. Setelah itu, didinginkan dan dibiarkan dalam suhu ruang sampai memadat. Lalu, diletakkan dalam posisi terbalik di dalam *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC). Sebelum dituang media NA, cawan petri tersebut telah dibagi menjadi enam area menggunakan spidol.

Peremajaan Kultur Murni Bakteri Uji

Satu koloni biakan murni *E. coli* diambil dengan menggunakan jarum ose, dan inokulasi pada media nutrient agar (NA) miring dengan metode goresan sinambung (*zig-zag*). Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam.

Pembuatan Larutan NaCl Fisiologis 0,9% dan Suspensi Larutan Uji

Pembuatan larutan NaCl dilakukan dengan menimbang serbuk NaCl sebanyak 0,9 g, lalu ditambahkan aquades hingga volume larutan menjadi 100 mL. Kemudian larutan tersebut diaduk hingga homogen. Setelah homogen,

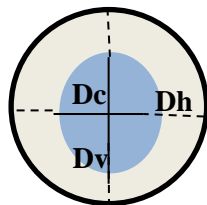
larutan NaCl disterilkan dalam *autoclave* selama 15 Menit untuk meminimalisir kontaminasi.

Suspensi larutan uji dibuat dengan memasukkan 5 mL larutan NaCl 0,9% ke dalam tabung reaksi, lalu mensuspensikan hasil peremajaan bakteri *E. coli* ke dalam larutan NaCl 0,9% tersebut. Suspensi tersebut kemudian dihomogenkan, setelah itu dihitung absorbansinya dengan metode turbidimetri menggunakan spektrofotometer UV-sinar tampak pada panjang gelombang 625 nm. Larutan tersebut dibuat sedemikian rupa hingga memiliki nilai absorbansi sebesar 0,08-0,1. Saat nilai absorbansi larutan uji sebesar 0,08-0,1 maka, suspensi larutan tersebut setara dengan *Mc. Farland* 0,5 ($1 \times 10^6 - 5 \times 10^6$ CFU/mL). Hasil nilai absorbansi suspensi yang diperoleh saat perhitungan dengan alat spektrofotometer adalah 0,089.

Uji Zona Hambat Bakteri

Uji zona hambat bakteri dilakukan dengan metode difusi cakram. Metode ini merupakan metode uji diameter daya hambat secara langsung. Setelah media NA dalam cawan petri memadat, suspensi bakteri *Escherichia coli* yang telah dibuat setara dengan standar *Mc. Farland* 0,5 diambil sebanyak 0,1 mL menggunakan mikropipet. Kemudian dituangkan pada permukaan media dan disebar secara merata menggunakan batang spreader. Selanjutnya kertas cakram direndam ke dalam masing-masing konsentrasi larutan ekstrak kasar (*crude extract*) daun *T. cacao* L. selama 1-5 menit. Untuk kontrol positif, direndam kertas cakram dalam larutan *Amoxicillin* 0,01 g/mL dan kontrol negatif kertas cakram direndam dalam aquades steril masing-masing selama 1-2 menit. Setelah itu, kertas cakram diambil menggunakan pinset dan diletakkan pada permukaan area yang telah diberi tanda. Lalu diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C. Kemudian diamati zona bening yang terbentuk.

Diameter zona bening diukur menggunakan jangka sorong dengan satuan mm. Semua rangkaian perlakuan dilakukan secara aseptis. Pengulangan perlakuan ditentukan berdasarkan rumus Federer. Adapun pengamatan dilakukan secara langsung dengan menggunakan lembar observasi. Perlakuan diulang minimal sebanyak empat kali. Metode pengukuran dilakukan menggunakan rumus berikut:



$$D = \frac{(Dv - Dc) + (Dh - Dc)}{2}$$

Keterangan:

- D = Diameter Zona Hambat
- Dv = Diameter Hambat Vertikal
- Dh = Diameter Hambat Horizontal
- Dc = Diameter Kertas Cakram

HASIL PENELITIAN

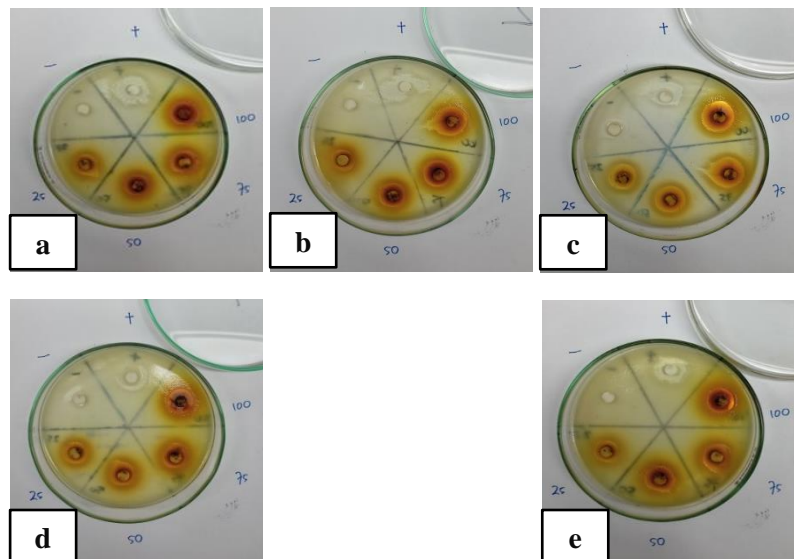
Berdasarkan uji normalitas dan homogenitas, data yang dianalisis berdistribusi normal ($p > 0.05$) dan homogen ($p > 0.05$). Selanjutnya data diuji secara statistik dengan metode *One Way ANOVA* menggunakan SPSS 23. Hasil uji ANOVA memperlihatkan bahwa ekstrak daun *T. cacao* L. efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* (Gambar 1). Selain itu, terdapat perbedaan zona hambat yang nyata antara kelompok kontrol positif, negatif, dan perlakuan ($F_{5,24} = 18,841$, $p < 0.05$). Uji lanjutan Duncan menunjukkan bahwa nilai rata-rata zona hambat semua perlakuan berbeda nyata dengan kontrol negatif dan zona hambat pada konsentrasi 25% juga berbeda nyata dengan kontrol positif.

Tabel 2. Diameter Zona Hambat Ekstrak Daun *T. cacao* L. terhadap *E. coli* (mm)

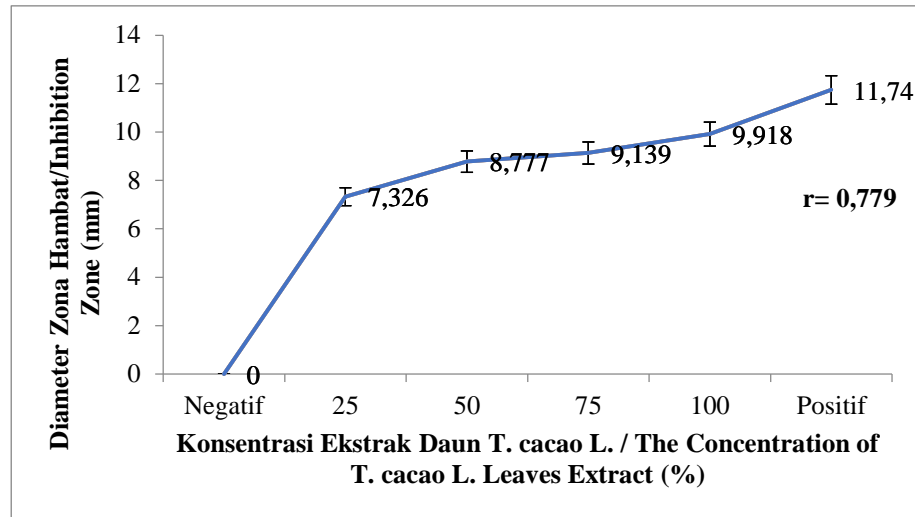
No	Kelompok uji	Pengulangan ke-					Rata ²
		1	2	3	4	5	
1	Kontrol negatif	0	0	0	0	0	0 ^a
2	Konsentrasi 25%	7.785	6.71	8.565	6.645	6.925	7.326 ^b
3	Konsentrasi 50%	7.605	8.77	9.625	7.735	10.15	8.777 ^{bc}
4	Konsentrasi 75%	8.63	9.78	11.35	8.05	7.885	9.139 ^{bc}
5	Konsentrasi 100%	7.865	14.665	10,48	8.415	8.165	9.918 ^{bc}
6	Kontrol positif	13.005	17.885	8.66	9.475	9.675	11.74 ^c

***Keterangan:** Angka diikuti huruf yang sama tiap kolom tidak berbeda nyata pada taraf uji 5% DMRT

Berdasarkan tabel 2, data memperlihatkan bahwa tidak ada perbedaan yang nyata antara zona hambat pada konsentrasi 25%, 50%, 75%, maupun 100% dan zona hambat pada konsentrasi 50%, 75%, 100% tidak berbeda nyata dengan kontrol positif.



**Gambar 1. Zona Hambat Ekstrak Daun *T. cacao* L. terhadap *E. coli*.
(a) Pengulangan 1; (b) Pengulangan 2; (c) Pengulangan 3;
(d) Pengulangan 4; (e) Pengulangan 5**



Gambar 2. Zona Hambat Pertumbuhan *E. coli* pada Beberapa Perlakuan Ekstrak Daun *T. cacao L.*

Hasil pada gambar 2 menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak daun *T. cacao L.* berbanding lurus dengan zona hambat ($r=0.78$, $p<0.01$). Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun coklat, zona hambat pertumbuhan *E. coli* juga semakin luas. Perlakuan pada dosis 100% hanya berbeda 1.82 mm (18%) dengan kontrol positif.

PEMBAHASAN

Daya Hambat Daun *T. cacao L.* terhadap Pertumbuhan *E. coli*

Rata-rata zona hambat ekstrak daun *T. cacao L.* terhadap *E. coli* berada pada interval 5-10 mm. Jika dibandingkan dengan kriteria hasil zona hambat Davis dan Stout (1971), angka tersebut masuk pada kategori hambatan sedang (Trisia et al., 2018). Hasil ini paralel dengan penelitian Permataningrum et al. yang menemukan bahwa zona hambat ekstrak daun *T. cacao L.* terhadap *Candida albicans* tergolong kedalam kriteria sedang (Permataningrum et al., 2019).

Hasil uji ANOVA menunjukkan terdapat perbedaan nyata antara kelompok perlakuan. Namun, uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan zona hambat yang signifikan antar konsentrasi ekstrak yang dipaparkan. Hal ini berarti tidak terdapat perbedaan efektivitas ekstrak daun *T. cacao L.* pada konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%. Meskipun, dari luas zona hambat yang terbentuk, terlihat konsentrasi ekstrak 100% adalah konsentrasi paling baik dalam menghambat pertumbuhan *E. coli*. Terdapat keuntungan dan kerugian dari hasil tersebut. Keuntungannya adalah hanya dengan hanya menggunakan ekstrak dosis rendah, zona hambat *E. coli* yang terbentuk sama dengan zona hambat pada dosis yang lebih tinggi. Hal ini memungkinkan sumber daya yang digunakan dalam proses uji lanjutan menjadi semakin sedikit. Namun, kerugiannya adalah, hasil tersebut mengindikasikan bahwa efektivitas ekstrak daun *T. cacao L.* dalam menghambat pertumbuhan *E. coli* tergolong kurang baik.

Pertumbuhan *E. coli* dapat terhambat disebabkan interaksi negatif antara zat antibakteri di dalam ekstrak daun coklat dengan komponen penyusun sel *E. coli*. Ekstrak daun *T. cacao L.* mengandung alkaloid, flavonoid, terpenoid dan saponin (Parbuntari et al., 2018) yang secara berturut-turut mampu menyebabkan

kerusakan *Deoxyribonucleic Acid* (DNA), protein sel, porin, dan dinding sel. Alkaloid dapat merusak DNA karena senyawa ini memiliki gugus basa yang jika berinteraksi dengan asam amino DNA, maka DNA menjadi tidak seimbang dan rusak. Flavonoid merusak protein dikarenakan membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler yang menyebabkan denaturasi protein dan kerusakan membran sel (Hati et al., 2019). Terpenoid bekerja dengan cara membentuk ikatan polimer kuat dengan protein yang mengakibatkan porin menjadi rusak. Sedangkan saponin bekerja dengan cara memanfaatkan permukaannya yang bersifat seperti detergen untuk menurunkan tegangan permukaan dinding sel dan permeabilitas membrane (Suryani et al., 2019). Akibat serangkaian reaksi tersebut, sel *E. coli* tidak mampu bertahan hidup, sehingga terbentuklah zona bening yang mengindikasikan bahwa tidak ada *E. coli* yang hidup di area tersebut.

Zona hambat ekstrak daun *T. cacao* L. terhadap *E. coli* yang ditemukan pada penelitian ini masih lebih kecil jika dibandingkan dengan tumbuhan herbal lain yang biasa digunakan masyarakat sebagai obat diare, seperti ubi kayu (*Manihot esculenta*), buah pinang (*Areca catechu* L.), dan daun salam (*Eugenia polyantha*) (Redwik et al., 2019; Utami, 2020). Menurut Mandhaki et al., (2021) diketahui bahwa daya hambat ekstrak etanol daun *T. cacao* L. pada *Staphylococcus aureus* lebih baik dari pada hambatannya terhadap *E. coli*. Hal ini menunjukkan ekstrak daun *T. cacao* L. lebih efektif menghambat bakteri gram positif daripada bakteri gram negatif. Hal ini dikarenakan struktur dinding sel bakteri gram positif lebih sederhana dari pada struktur dinding sel bakteri gram negatif. Dinding sel bakteri gram positif hanya terdiri atas dua lapis, sedangkan bakteri gram negatif dinding selnya terdiri atas tiga lapis (Sanuddin et al., 2022).

Selain faktor tingkat kompleksitas dinding sel bakteri, kurangnya tingkat hambatan ekstrak daun *T. cacao* L. pada penelitian ini juga kemungkinan karena kadar zat antibakteri di dalam daun *T. cacao* L. yang tergolong rendah. Mandhaki et al., (2021) juga melaporkan bahwa rendemen fraksi etanol yang meliputi saponin, tanin, dan flavonoid dalam daun *T. cacao* L. hanya sebesar 12,52%. Angka ini menunjukkan bahwa kandungan senyawa antibakteri di dalam daun *T. cacao* L. cenderung sedikit. Oleh karena itulah pemberian ekstrak pada tingkatan konsentrasi tidak berpengaruh signifikan terhadap pertumbuhan *E. coli*.

Selain itu, ekstrak daun *T. cacao* L. yang dipaparkan pada *E. coli* dalam penelitian ini hanya mengandung terpenoid dalam jumlah yang sedikit. Hal ini karena, terpenoid tidak dapat larut secara sempurna dalam etanol yang bersifat polar. Terpenoid merupakan senyawa non-polar yang hanya bisa larut sempurna pada pelarut non polar (Susanto et al., 2018). Sehingga, terpenoid yang tidak terlarut sempurna ini menyebabkan efektivitas ekstrak daun *T. cacao* L. dalam menghambat *E. coli* menjadi kurang efektif. Penyebab ketiga yang memungkinkan kecilnya zona hambat yang terbentuk adalah penggunaan metode difusi cakram yang menghasilkan zona hambat lebih kecil jika dibandingkan dengan metode difusi sumuran (Febriawan & Sari, 2021).

Korelasi Konsentrasi Ekstrak Daun *T. cacao* L. terhadap Diameter Zona Hambat *E. coli*

Nilai korelasi Pearson antara konsentrasi ekstrak daun *T. cacao* L. dengan zona hambat bakteri *E. coli* berada pada interval 0,60-0,79. Berdasarkan pedoman derajat korelasi, nilai korelasi pada interval tersebut termasuk dalam kategori kuat.

Hal ini menandakan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak daun *T. cacao* L. memiliki korelasi yang kuat dengan penambahan luas zona hambat *E. coli*.

SIMPULAN

Daun *T. cacao* L. kurang efektif dalam menghambat pertumbuhan *E. Coli*, meskipun peningkatan konsentrasi ekstrak daun tersebut berbanding lurus dengan penambahan diameter zona hambat pertumbuhan *E. coli*. Ekstrak daun *T. cacao* L. berkorelasi positif dengan zona hambat yang terbentuk.

DAFTAR PUSTAKA

- Febriawan, R., & Sari, Z. A. A. (2021). Perbedaan Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Metode Well Diffusion dan Kirby Bauer terhadap Pertumbuhan Bakteri. *Jurnal Medika Hutama*, 2(4), 1156–1162. <https://www.jurnalmedikahutama.com/index.php/JMH/article/view/241>
- Fransisca, D., Kahanjak, D. N., & Frethernety, A. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack) terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* dengan Metode Difusi Cakram Kirby-Bauer. *Jurnal Pengelolaan Lingkungan Berkelanjutan*, 4(1), 460–470. <https://doi.org/10.36813/jplb.4.1.460-470>
- Hardiyanti, F., Tambunan, H. S., & Saragih, I. S. (2019). Penerapan Metode K-Medoids Clustering pada Penanganan Kasus Diare di Indonesia. *KOMIK (Konferensi Nasional Teknologi Informasi dan Komputer)*, 3(1), 598–603. <https://doi.org/10.30865/komik.v3i1.1666>
- Hati, A. K., Dyahariesti, N., & Yuswantina, R. (2019). Penetapan Kadar Flavonoid dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Sereh (*Cymbopogon nardus*) dan Temu Kunci (*Boesenbergia pandurata* Roxb) terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*. *Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product*, 2(2), 71–78. <https://doi.org/10.35473/ijpnp.v2i2.264>
- Kementerian Kesehatan RI. (2019). Profil Kesehatan Indonesia Tahun 2019. <https://www.kemkes.go.id/downloads/resources/download/pusdatin/profil-kesehatan-indonesia/Profil-Kesehatan-Indonesia-Tahun-2020>.
- Mandhaki, N., Huda, C., & Putri, A. E. (2021). Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara In Vitro. *Jurnal Saiins Dan Kesehatan*, 3(2), 188–193. <https://doi.org/10.25026/jsk.v3i2.269>
- Mustofa, F. I., & Rahmawati, N. (2018). Studi Etnofarmakologi Tumbuhan Obat yang Digunakan oleh Penyehat Tradisional untuk Mengatasi Diare di Sulawesi Selatan. *Jurnal Tumbuhan Obat Indonesia*, 11(2), 17–32. <https://doi.org/10.22435/jtoi.v11i2.580>
- Parbuntari, H., Prestica, Y., Gunawan, R., Nurman, M. N., & Adella, F. (2018). Preliminary Phytochemical Screening (Qualitative Analysis) of *Cacao Leaves* (*Theobroma cacao* L.). *Eksakta*, 19(2), 40–45. <https://doi.org/10.24036/eksakta/vol19-iss2/142>
- Permataningrum, N. I., Dewi, L. R., & Prihanti, A. M. (2019). Daya Hambat Ekstrak Daun Kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*. *E-Journal Pustaka Kesehatan*, 7(3), 142–146. <https://doi.org/10.19184/pk.v7i3.10824>

- Rasyid, B., Karta, I. W., Sari, N. L. P. E. K., & Putra, I. G. N. D. (2020). Identifikasi Gen Penyandi Protein Transport sebagai Kandidat Vaksin Subunit terhadap Bakteri *Escherichia coli* Penyebab Diare Wisatawan. *JST (Jurnal Sains Dan Teknologi)*, 9(1), 47–57. <https://doi.org/10.23887/jst-undiksha.v9i1.22774>
- Redwik, D. U. W., Simbala, H. E., & Edy, H. J. (2019). Identifikasi Fitokimia dan Uji Daya Hambat dari Ekstrak Etanol Tangkai Buah Pinang Yaki (*Areca vestiaria giseke*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Pharmacon*, 8(4), 936–944. <https://doi.org/10.35799/pha.8.2019.29373>
- Sanuddin, M., Hadriyati, A., & Sari, I. P. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* terhadap Senyawa Sintesis Difeniltin (IV) Metil Ditiokarbamat. *Lambung Farmasi*, 3(1), 46–50. <https://doi.org/10.31764/lf.v3i1.7030>
- Suryani, N., Nurjanah, D., & Indriatmoko, D. D. (2019). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Batang Kecombrang (*Etilingera elatior* (Jack) R. M. Sm.) terhadap Bakteri Plak Gigi *Streptococcus mutans*. *Jurnal Kartika Kimia*, 2(1), 23–29. <https://doi.org/10.26874/jkk.v2i1.19>
- Susanto, A., Ratnaningtyas, N. I., & Ekowati, N. (2018). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Tubuh Buah Jamur Paha Ayam (*Coprinus comatus*) dengan Pelarut Berbeda. *Majalah Ilmiah Biologi Biosfera : A Scientific Journal*, 35(2), 63–68. <https://doi.org/10.20884/1.mib.2018.35.2.566>
- Trisia, A., Philyria, R., & Toemon, A. N. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kalanduyung (*Guazuma ulmifolia* Lam.) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan Metode Difusi Cakram (Kirby-Bauer). *Anterior Jurnal*, 17(2), 136–143. <https://doi.org/10.33084/anterior.v17i2.12>
- Utami, P. R., & Ramadhani, R. (2020). Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum* [Wight] Walp) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Ilmiah Pannmed*, 15(2). <https://doi.org/10.36911/pannmed.v15i2.726>