



Daya Hambat Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma Cacao* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus* Rosenbach dan *Escherichia Coli* Migula

Aulia Nurbaiti^{1*}, A. A. Ketut Darmadi², dan Sang Ketut Sudirga³

¹⁻³ Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana

Korespondensi Penulis : aulianurbaiti009@student.unud.ac.id^{1*}

Abstract. Cocoa fruit peel (*Theobroma cacao* L.) is an agricultural waste with potential as an antibacterial agent due to its bioactive compounds. Pathogenic bacterial infections, such as *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, pose significant health problems, particularly due to the increasing resistance of bacteria to antibiotics. This creates a demand for alternative, safer, and more effective antibiotics. This study aims to evaluate the effectiveness of cocoa fruit peel extract in inhibiting the growth of *S. aureus* and *E. coli*, determine the Minimum Inhibitory Concentration (MIC), and identify the bioactive compound groups contained in the extract. The methods used in this study include maceration for the extraction of cocoa fruit peel, the well diffusion method to test the antibacterial activity of the crude extract, and phytochemical testing to identify the bioactive compounds in the extract. The results show that the crude extract of cocoa fruit peel can inhibit the growth of *S. aureus* with an inhibition zone diameter of 26.75 mm and *E. coli* with an inhibition zone diameter of 25.75 mm. The MIC test revealed that *S. aureus* was more sensitive to the extract, with an MIC at a concentration of 0.7%, resulting in an inhibition zone diameter of 5.35 mm, while *E. coli* showed an MIC at a concentration of 0.8%, with an inhibition zone diameter of 5.36 mm. The most effective concentration was 50%, with inhibition zone diameters of 20.56 mm against *S. aureus* and 21.06 mm against *E. coli*. Phytochemical testing showed that the cocoa fruit peel extract contains alkaloid, tannin, saponin, triterpenoid, and flavonoid compounds. Based on the results, cocoa fruit peel extract demonstrates potential as an effective natural antibacterial agent against *S. aureus* and *E. coli*.

Keyword : Antimicrobial, Bioactive Compounds, Cocoa Fruit Peel Extract, Inhibition Power, MIC

Abstrak. Kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) merupakan limbah pertanian yang memiliki potensi sebagai agen antibakteri karena mengandung senyawa bioaktif. Infeksi bakteri patogen seperti *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* menjadi masalah kesehatan yang signifikan, terutama karena semakin tingginya resistensi bakteri terhadap antibiotik. Hal ini menyebabkan kebutuhan akan alternatif antibiotik yang lebih aman dan efektif. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efektivitas ekstrak kulit buah kakao dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus* dan *E. coli*, menentukan Minimum Inhibitory Concentration (MIC), serta mengidentifikasi golongan senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak kulit buah kakao. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi untuk ekstraksi kulit buah kakao, yang diikuti dengan metode sumur difusi untuk menguji aktivitas antibakteri ekstrak kasar kulit buah kakao, dan uji fitokimia untuk mengetahui golongan senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak tersebut. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kasar kulit buah kakao mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus* dengan diameter zona hambat sebesar 26,75 mm dan *E. coli* sebesar 25,75 mm. Uji MIC menunjukkan bahwa *S. aureus* lebih sensitif terhadap ekstrak dengan MIC pada konsentrasi 0,7%, yang menghasilkan diameter zona hambat 5,35 mm, sedangkan *E. coli* memiliki MIC pada konsentrasi 0,8% dengan diameter zona hambat 5,36 mm. Konsentrasi yang paling efektif adalah 50%, dengan diameter zona hambat 20,56 mm terhadap *S. aureus* dan 21,06 mm terhadap *E. coli*. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah kakao mengandung senyawa alkaloid, tanin, saponin, triterpenoid, dan flavonoid. Berdasarkan hasil penelitian ini, ekstrak kulit buah kakao memiliki potensi sebagai antibakteri alami yang efektif terhadap *S. aureus* dan *E. coli*.

Kata kunci: Antimikroba, Senyawa Bioaktif, Ekstrak Kulit Buah Kakao, Daya Hambat, MIC

1. PENDAHULUAN

Akumulasi limbah pertanian merupakan permasalahan lingkungan yang mendapat perhatian serius di berbagai negara. Limbah dari aktivitas pertanian, seperti sisa tanaman pascapanen, residu pupuk kimia, pestisida, dan limbah peternakan, dapat mencemari tanah, air permukaan, dan air tanah apabila tidak dikelola dengan baik (FAO, 2017). Pencemaran ini berdampak pada penurunan kualitas lingkungan serta mengganggu keseimbangan ekosistem. Penumpukan limbah juga menjadi tempat berkembang biaknya mikroorganisme patogen yang berpotensi menyebar melalui air irigasi, udara, maupun kontak langsung dengan manusia atau hewan (Khan *et al.*, 2021). Beberapa jenis limbah mengandung sisa-sisa antibiotik atau senyawa antimikroba dalam kadar rendah yang menciptakan tekanan selektif di lingkungan (Kümmerer, 2009). Kondisi tersebut mempercepat munculnya dan berkembangnya bakteri resisten terhadap obat-obatan yang umum digunakan dalam pengobatan klinis (Berendonk *et al.*, 2015). Lingkungan pertanian berperan sebagai reservoir alami dalam penyebaran resistensi antimikroba secara global. Pengelolaan limbah pertanian melalui pendekatan terpadu dan pemanfaatan teknologi menjadi langkah penting dalam upaya menekan dampak negatif terhadap kesehatan manusia, hewan, dan ekosistem (Singer *et al.*, 2016).

Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* merupakan bakteri patogen yang banyak mempengaruhi kesehatan manusia. *S. aureus* dan *E. coli* memiliki kemampuan adaptasi yang tinggi terhadap berbagai lingkungan, termasuk permukaan tubuh manusia dan lingkungan eksternal. Kemampuan tersebut memungkinkan bakteri menyebar dengan mudah melalui kontak langsung, makanan yang terkontaminasi, atau air yang tercemar (Raza *et al.*, 2021). Infeksi yang disebabkan oleh kedua bakteri biasanya sering diperparah oleh faktor-faktor seperti sistem kekebalan tubuh yang lemah, kebersihan yang buruk, dan penggunaan antibiotik yang tidak rasional. Pengendalian infeksi dan pencegahan penyebaran bakteri tersebut menjadi tantangan utama dalam kesehatan masyarakat (Prestinaci *et al.*, 2015).

Banyak tumbuhan di Indonesia yang memiliki potensi sebagai obat alami. Salah satu contohnya adalah kulit buah kakao, yang dapat digunakan sebagai antimikroba alami (Hartina dkk., 2023). Buah kakao (*Theobroma cacao* L.) dikenal sebagai bahan baku utama dalam pembuatan coklat, namun, komponen lainnya seperti kulit buah sering kali diabaikan, meskipun mengandung beberapa senyawa bioaktif yang tinggi. Kulit buah kakao mengandung senyawa flavonoid, polifenol, dan alkaloid, yang telah terbukti memiliki potensi kesehatan yang signifikan (Lestari dan Asri, 2021). Menurut Purwanti dkk (2023), ekstrak kulit buah kakao mengandung senyawa antimikroba yang dapat mengendalikan pertumbuhan bakteri patogen.

Limbah kulit buah kakao merupakan salah satu limbah pertanian yang berpotensi menjadi sumber pencemaran lingkungan jika tidak dikelola atau dimanfaatkan dengan tepat. Kulit buah kakao yang dibuang begitu saja dapat menumpuk dan berdampak negatif terhadap kualitas lingkungan sekitar. Salah satu cara untuk mengatasi permasalahan ini adalah dengan memanfaatkan kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam kulit buah kakao. Senyawa metabolit sekunder seperti fenol, flavonoid, dan tanin, memiliki berbagai potensi bioaktif yang bermanfaat, misalnya sebagai antioksidan, antimikroba, dan bahkan bahan dasar untuk produk kesehatan atau pertanian (Christaki *et al.*, 2012).

Pemanfaatan kulit buah kakao sebagai bahan baku alami tidak hanya memberikan solusi untuk pengolahan limbah pertanian, tetapi juga membuka peluang dalam pengembangan produk dengan nilai tambah tinggi. Misalnya, kulit buah kakao dapat diekstrak untuk menghasilkan senyawa bioaktif yang dapat diformulasikan menjadi antiseptik cair, gel pembersih tangan, salep untuk perawatan luka, atau pengawet makanan alami yang aman untuk dikonsumsi. Pemanfaatan ini tidak hanya meningkatkan efisiensi pengelolaan limbah kakao, tetapi juga memberikan dampak positif pada inovasi produk kesehatan dan pangan berbasis bahan alami (Anoraga *et al.*, 2024).

Menurut Lestari dkk (2018), potensi ekstrak kulit buah kakao sebagai agen antimikroba cukup efektif. Contohnya terdapat pada penelitian yang dilakukan yang mengevaluasi aktivitas antimikroba dari ekstrak kulit buah dengan metode memiliki potensi sebagai agen antibakteri terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae*, yang merupakan salah satu penyebab bronkitis kronis. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah kakao memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri secara signifikan, bahkan pada konsentrasi yang rendah.

Limbah kulit buah kakao yang dihasilkan dari aktivitas industri pengolahan kakao mengalami peningkatan seiring dengan meningkatnya permintaan terhadap produk olahan kakao. Pemanfaatan limbah ini masih tergolong rendah, sehingga berpotensi menimbulkan permasalahan lingkungan apabila tidak dikelola secara optimal. Kulit buah kakao diketahui mengandung senyawa bioaktif yang memiliki potensi sebagai agen antibakteri terhadap berbagai mikroorganisme patogen. Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini dilakukan untuk mengkaji potensi ekstrak limbah kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

2. METODE

Penelitian ini dilakukan di Desa Ekasari, Jembrana pada Oktober 2024 dengan menggunakan sampel kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*). Proses pengolahan dan analisis dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA Universitas Udayana hingga Desember 2024. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak etanol kulit kakao, variabel terikat adalah diameter zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, serta variabel kontrol berupa Ciprofloxacin 0,1% sebagai kontrol positif dan etanol 96% sebagai kontrol negatif. Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan lima kali ulangan pada tiap perlakuan untuk menjamin validitas data (Sekaran & Bougie, 2022; Hermanda et al., 2016).

Prosedur penelitian mencakup proses ekstraksi kulit buah kakao dengan metode maserasi, uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi sumur, serta pengujian Minimum Inhibitory Concentration (MIC) dan konfirmasi mikroskopis melalui pewarnaan Gram dan uji katalase. Ekstrak diuji terhadap bakteri menggunakan berbagai konsentrasi (20%–50% untuk aktivitas umum dan hingga 0,6% untuk MIC). Selain itu, dilakukan uji fitokimia untuk mengidentifikasi kandungan metabolit sekunder seperti alkaloid, saponin, tanin, flavonoid, steroid, dan triterpenoid menggunakan metode reaksi kimia spesifik sesuai literatur yang berlaku (Puspawati et al., 2017; Maulida et al., 2016; Aviyani & Pujiyanto, 2020).

Data kuantitatif berupa diameter zona hambat dianalisis menggunakan ANOVA satu arah dengan signifikansi 5% menggunakan SPSS versi 23. Apabila terdapat pengaruh nyata, analisis dilanjutkan dengan uji Duncan untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Sementara itu, data kualitatif dari uji fitokimia dianalisis secara deskriptif berdasarkan adanya reaksi warna yang menunjukkan keberadaan senyawa bioaktif dalam sampel. Hasil analisis disajikan dalam bentuk tabel dan dijelaskan secara naratif untuk menggambarkan profil senyawa aktif dalam ekstrak kulit buah kakao (Sugiyono, 2019; Jannah et al., 2017; Amelinda et al., 2018).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian ini mencakup identifikasi isolat melalui uji pewarnaan Gram, uji katalase, daya hambat ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, penentuan nilai Minimum Inhibitory Concentration (MIC) ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*), efektivitas ekstrak kulit buah kakao, dan skrining fitokimia ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*).

Uji Katalase dan Konfirmasi Pewarnaan Gram

Hasil uji katalase pewarnaan Gram terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dapat dilihat pada Tabel 1. Bakteri Gram positif seperti *Staphylococcus aureus* menunjukkan sel secara mikroskopik berwarna ungu dan bakteri Gram negatif seperti *Escherichia coli* menunjukkan sel secara mikroskopik berwarna merah keduanya menghasilkan gelembung pada uji katalase. Hasil identifikasi dengan pewarnaan Gram dapat dilihat pada Gambar 1.

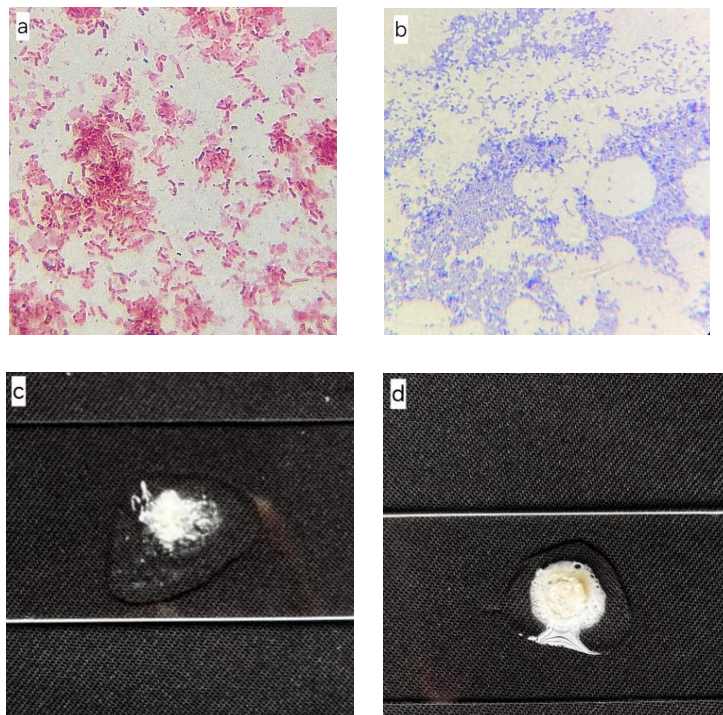
Tabel 1. Hasil uji katalase dan pewarnaan Gram isolat *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

No.	Spesies	Uji Katalase	Pewarnaan Gram	Keterangan
1	<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+(Ungu)	Gram positif
2	<i>Escherichia coli</i>	+	-(Merah)	Gram negatif

Keterangan pada hasil uji katalase:

+ Memproduksi enzim katalase

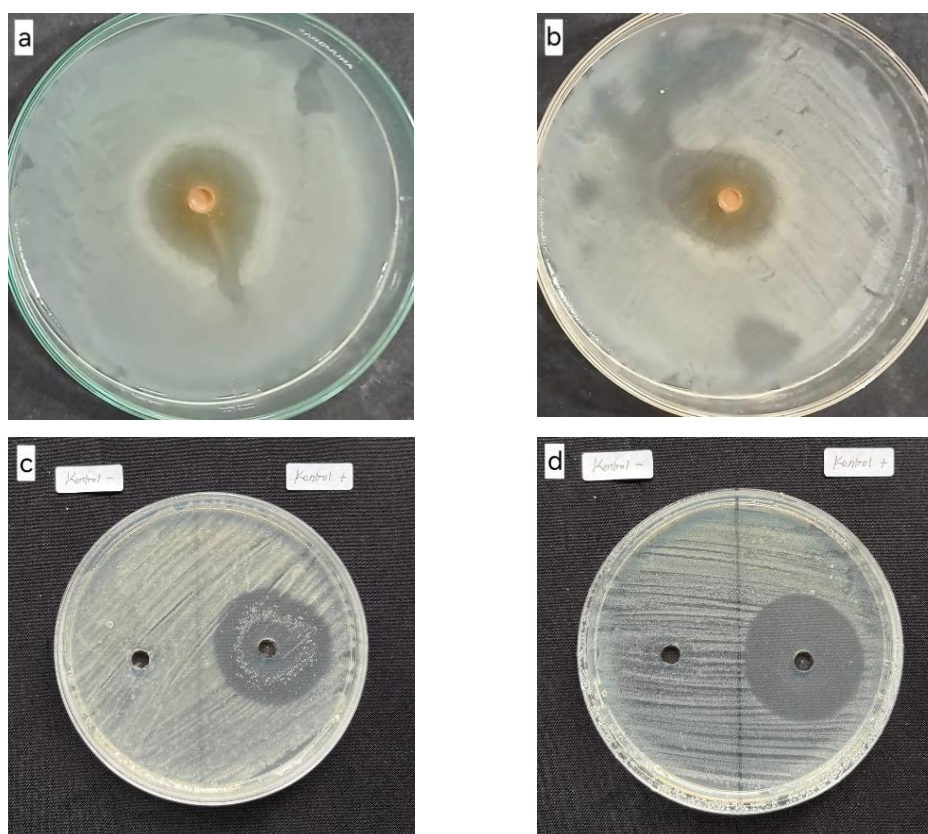
- Tidak memproduksi enzim katalase



Gambar 1. Uji Pewarnaan Gram dan uji katalase *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. (a) Mikroskopik *E. coli*, (b) Mikroskopik *S. aureus*, (c) Uji katalase *E. coli*, (d) Uji katalase *S. aureus*.

Daya Hambat Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao L.*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Ekstrak kasar kulit kakao dapat menghambat kedua bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, dengan diameter zona hambat 26,75 mm untuk *S. aureus* dan 25,75 mm untuk *E. coli*. Diameter zona hambat tersebut masuk dalam kategori sangat kuat. Kontrol positif (*Ciprofloxacin* 0,1%) menunjukkan daya hambat lebih tinggi, yaitu 33,20 mm untuk *S. aureus* dan 32,15 mm untuk *E. coli*. Kontrol negatif (etanol 96%) tidak menunjukkan daya hambat sama sekali (0,00 mm), sehingga masuk dalam kategori lemah. (Gambar 2 dan Tabel 2)



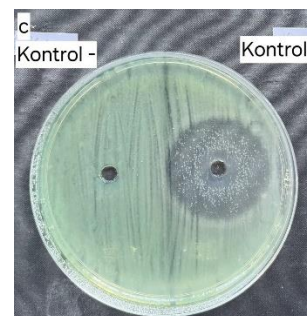
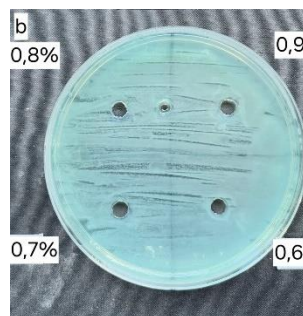
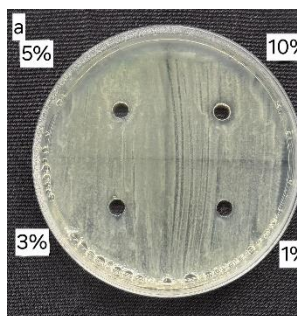
Gambar 2. (a) Ekstrak kasar vs *S. aureus*, (b) Ekstrak kasar vs *E. coli*, (c) Kontrol - dan +vs *S. aureus*, (d) Kontrol - dan +vs *E. coli*.

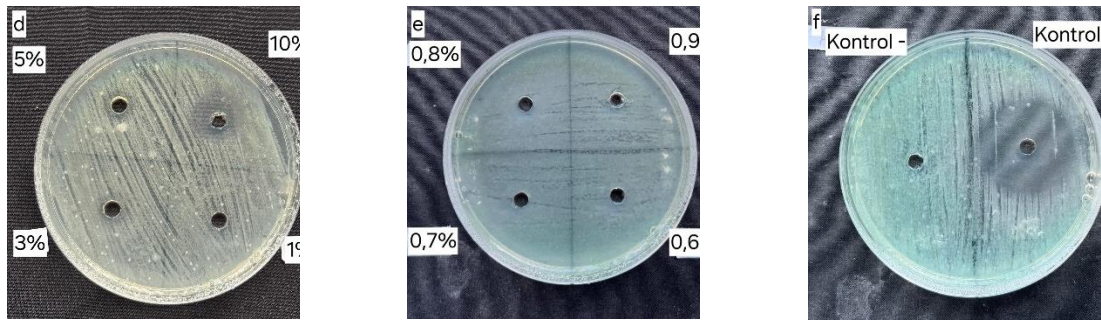
Tabel 2. Hasil uji daya hambat ekstrak kulit buah kakao (*T. cacao L.*) terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

No	Ekstrak Kulit Buah Kakao	Bakteri Uji	Rata-Rata Zona Hambat (mm)	Kategori
1.	Ekstrak Kasar	<i>S. aureus</i>	26,75±0,901	Sangat Kuat
2.	Kontrol + (<i>Ciprofloxacin</i> 0,1%)		33,20±0,543	Sangat Kuat
3.	Kontrol – (Etanol 96%)		00,00±00,00	-
4.	Ekstrak Kasar	<i>E. coli</i>	25,75±0,968	Sangat Kuat
5.	Kontrol + (<i>Ciprofloxacin</i> 0,1%)		32,15±0,602	Sangat Kuat
6.	Kontrol – (Etanol 96%)		00,00±00,00	-

Uji *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC)

Hasil uji MIC ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* ditunjukkan pada Gambar 3 Tabel 3 dan Tabel 4. Uji dilakukan dengan delapan konsentrasi: 10%, 5%, 3%, 1%, 0,9%, 0,8%, 0,7%, dan 0,6%. Ekstrak mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus* hingga konsentrasi 0,7% dengan diameter zona hambat 5,35 mm, sedangkan pada konsentrasi 0,6% tidak terbentuk zona hambat 00 mm, sehingga MIC ditetapkan pada 0,7%. Terhadap *E. coli*, ekstrak menunjukkan hambatan hingga konsentrasi 0,8% dengan diameter zona hambat 5,36 mm, dan tidak terbentuk zona hambat pada konsentrasi 0,7% 0,00 mm, sehingga MIC-nya sebesar 0,8%. MIC terhadap *S. aureus* Konsentrasi 10% hingga 0,7% tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan, sedangkan konsentrasi 0,6% berbeda signifikan dengan konsentrasi lainnya. Perlakuan MIC terhadap *E. coli*, konsentrasi 10% berbeda signifikan dengan konsentrasi lainnya, konsentrasi 5 hingga 0,8% tidak berbeda signifikan, serta konsentrasi 0,7% dan 0,6% berbeda signifikan dengan konsentrasi lainnya.





Gambar 3. (a) Konsentrasi 10%, 5%, 3%, 1% vs *S. aureus*, (b) Konsentrasi 0,9%, 0,8%, 0,7%, 0,6% vs *S. aureus*, (c) Kontrol + dan – vs *S. aureus*, (d) Konsentrasi 10%, 5%, 3%, 1% vs *E. coli*, (e) Konsentrasi 0,9%, 0,8%, 0,7%, 0,6% vs *E. coli*, (f) Kontrol + dan – vs *E. coli*.

Tabel 3. Hasil Uji MIC ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) terhadap *Staphylococcus aureus*

No	Konsentrasi	Pertumbuhan Bakteri <i>S. aureus</i>	Rata-Rata Diameter MIC (mm)
1	Kontrol + (Ciprofloxacin 0,1%)	-	32,35±0,234
2	10%	-	6,38 ± 0,389
3	5%	-	6,28 ± 0,216
4	3%	-	6,04 ± 0,089
5	1%	-	5,86 ± 0,219
6	0,9%	-	5,76 ± 0,251
7	0,8%	-	5,40 ± 0,254
8	0,7%	-	5,35 ± 0,232
9	0,6%	+	0,00 ± 0,00
10	Kontrol – (Etanol 96%)	+	0,00±0,00

Keterangan:

+ Tidak terbentuk zona hambat

- Terbentuk zona hamat

Tabel 4. Hasil Uji MIC ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) terhadap *E. coli*

No	Konsentrasi	Pertumbuhan Bakteri <i>E. coli</i>	Rata-Rata Diameter MIC (mm)
1	Kontrol + (Ciprofloxacin 0,1%)	-	32,15±0,273
2	10%	-	8,78± 2,641

3	5%	-	6,32±0,216
4	3%	-	6,06±0,260
5	1%	-	5,60±0,223
6	0,9%	-	5,36±0,167
7	0,8%	-	5,36±0,114
8	0,7%	+	0,00±0,00
9	0,6%	+	0,00 ±0,00
10	Kontrol – (Etanol 96%)	+	0,00±0,00

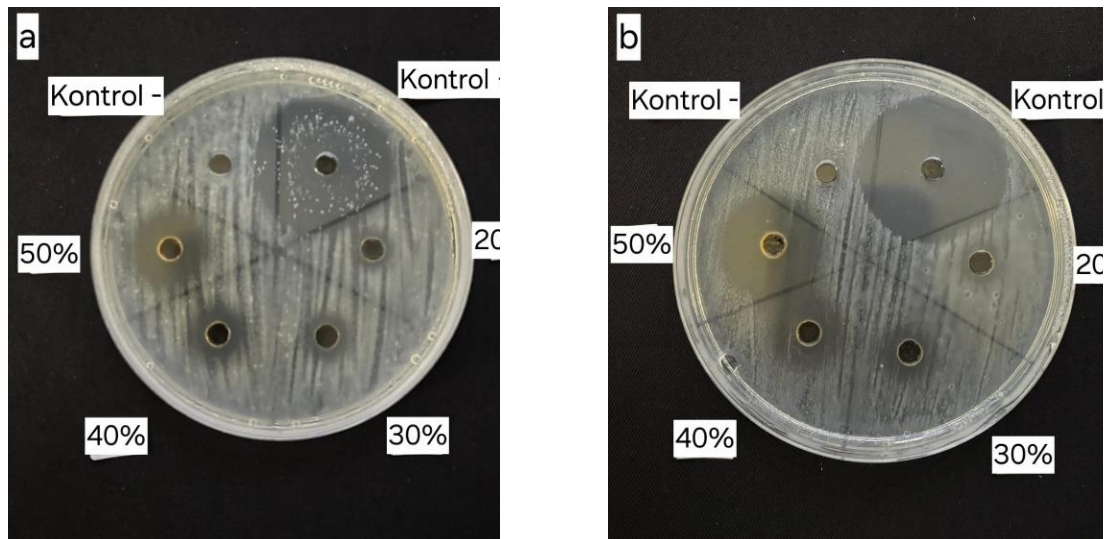
Keterangan:

+ Tidak terbentuk zona hambat

- Terbentuk zona hama

Uji Efektivitas Daya Hambat Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Hasil uji efektivitas daya hambat ekstrak kulit buah kakao terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* menunjukkan bahwa konsentrasi paling efektif adalah 50% dengan diameter zona hambat 20,56 mm untuk *S. aureus* dan 21,06 mm untuk *E. coli* yang masuk kategori sangat kuat, sedangkan konsentrasi paling kecil yang masih menunjukkan daya hambat adalah 20% dengan diameter zona hambat 7,24 mm untuk *S. aureus* dan 6,84 mm untuk *E. coli*. Konsentrasi 50% dan 40% menunjukkan perbedaan signifikan dalam daya hambat terhadap *S. aureus*, sedangkan konsentrasi 30% dan 20% tidak berbeda signifikan. Terhadap *E. coli*, seluruh konsentrasi ekstrak berbeda signifikan, secara berturut-turut dapat dilihat pada Gambar 4 dan Tabel 5.



Gambar 4. (a) Ekstrak kulit buah kakao vs *S. Aureus*, (b) Ekstrak kulit buah kakao vs *E. coli*.

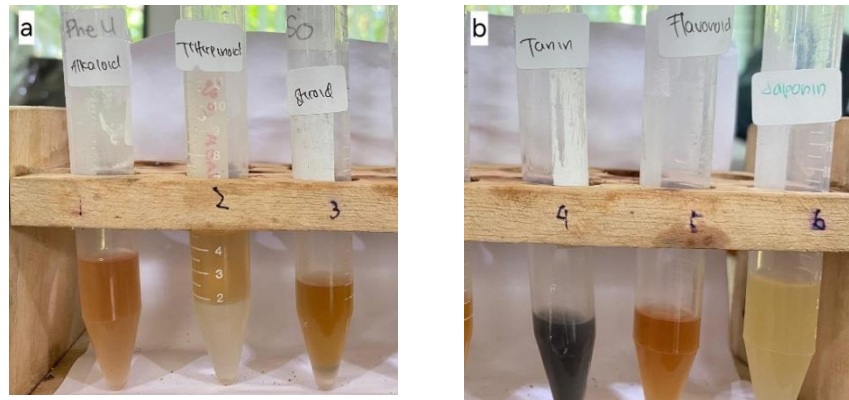
Tabel 5. Hasil uji efektivitas daya hambat ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

No	Konsentrasi Ekstrak	Rata-Rata Zona Hambat pada <i>S. aureus</i> (mm)**	Kategori Daya Hambat	Rata-Rata Zona Hambat pada <i>E. coli</i> (mm)**	Kategori Daya Hambat
1	Kontrol- (Etanol 96%)	0,00 ± 0,00 ^a	-	0,00 ± 0,00 ^a	-
2	20%	7,244±0,693 ^b	Sedang	6,845±2,033 ^b	Sedang
3	30%	9,785±1,124 ^{bc}	Sedang	7,85±2,279 ^c	Sedang
4	40%	12,190±0,825 ^c	Kuat	12,87±2,126 ^d	Kuat
5	50%	20,565±1,580 ^d	Sangat Kuat	21,06±1,794 ^e	Sangat Kuat
6	Kontrol + (Ciprofloxacin 0,1%)	31,805±4,400 ^e	Sangat Kuat	33,65±2,258 ^f	Sangat Kuat

Data pada Tabel 5 disajikan sebagai rata-rata dari lima ulangan ± standar deviasi. Angka-angka yang memiliki huruf berbeda menandakan adanya perbedaan yang signifikan antar perlakuan pada tingkat signifikansi $p < 0,05$, berdasarkan uji *Duncan* setelah dilakukan analisis varians (ANOVA).

Uji Fitokimia

Hasil identifikasi senyawa aktif ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) dengan menggunakan metode skrining fitokimia menunjukkan bahwa didapatkan sebanyak 5 senyawa yang terkandung pada ekstrak kulit buah kakao (Gambar 5 dan Tabel 6). Setiap senyawa memiliki masing-masing fungsi, diantaranya berperan sebagai antibakteri dan senyawa sebagai antioksidan.



Gambar 5. (a) Hasil uji alkaloid, triterpenoid, steroid, (b) Hasil uji tanin, flavanoid, saponin.

Tabel 6. Hasil uji fitokimia ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.)

No	Nama Senyawa	Uji Fitokimia	Indikator
1	Alkaloid	+	Keruh dan terdapat endapan merah.
2	Saponin	+	Terbentuk busa yang stabil.
3	Tanin	+	Terbentuk warna hijau kehitaman dan terdapat endapan.
4	Triterpenoid	+	Terbentuk warna kemerahan.
5	Flavanoid	+	Terbentuk warna orange kemerahan.
6	Steroid	-	Tidak terjadi perubahan apapun.

Keterangan:

+ Terdapat kandungan senyawa fitokimia

- Tidak terdapat kandungan senyawa fitokimia

4. SIMPULAN

- a. Ekstrak kasar kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) efektif menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan diameter zona hambat 26,75 mm untuk *Staphylococcus aureus* dan 25,75 mm untuk *Escherichia coli*.
- b. Nilai *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) ekstrak kulit buah kakao terhadap *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 0,7% dan *Escherichia coli* pada konsentrasi 0,8%. Di antara konsentrasi yang diujikan, konsentrasi 50% merupakan yang paling efektif terhadap *S. aureus* dan *E. coli* yang tergolong dalam kategori sangat kuat.
- c. Ekstrak kulit buah kakao mengandung alkaloid, tanin, saponin, triterpenoid, dan flavonoid.

DAFTAR PUSTAKA

- Adha, S. D., & Ibrahim, M. (2021). Aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) terhadap bakteri *Propionibacterium acnes*. *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi*, 10(2), 140-145. <https://doi.org/10.26740/lenterabio.v10n2.p140-145>
- Amelinda, E., Widarta, I. W. R., & Darmayanti, L. P. T. (2018). Pengaruh waktu maserasi terhadap aktivitas antioksidan ekstrak rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza Roxb.*). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*, 7(4), 165-174. <https://doi.org/10.24843/itepa.2018.v07.i04.p03>
- Anastasia, A., Yuliet, Y., & Tandah, M. R. (2017). Formulasi sediaan mouthwash pencegah plak gigi ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao L.*) dan uji efektivitas pada bakteri *Streptococcus mutans*. *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy)*, 3(1), 84-92. <https://doi.org/10.22487/j24428744.2017.v3.i1.8144>
- Anggraini, D. A. R., & Wijayanto, A. (2024). Anti-typhoid activity test of cacao leaf fraction (*Theobroma cacao L.*) against *Salmonella typhi* bacteria in vitro. *Strada Journal of Pharmacy*, 6(2), 104-114. <https://doi.org/10.30994/sjp.v6i2.145>
- Anoraga, S. B., Shamsudin, R., Hamzah, M. H., Sharif, S., & Saputro, A. D. (2024). Cocoa by-products: A comprehensive review on potential uses, waste management, and emerging green technologies for cocoa pod husk utilization. *Heliyon*, 10(16), 1-13. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e35537>
- Arad, E., Pedersen, K. B., Malka, O., Mambram Kunnath, S., Golan, N., Aibinder, P., & Jelinek, R. (2023). *Staphylococcus aureus* functional amyloids catalyze degradation of β -lactam antibiotics. *Nature Communications*, 14(1), 1-15. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-43624-1>
- Arivo, D., & Dwiningtyas, A. W. (2017). Uji sensitivitas antibiotik terhadap *Escherichia coli* penyebab infeksi saluran kemih. *Jurnal Ilmu Kedokteran Dan Kesehatan*, 4(4), 1-11.

- Berendonk, T. U., Manaia, C. M., Merlin, C., Fatta-Kassinos, D., Cytryn, E., Walsh, F., & Martinez, J. L. (2015). Tackling antibiotic resistance: The environmental framework. *Nature Reviews Microbiology*, 13(5), 310-317. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3439>
- Bhambhani, S., Kondhare, K. R., & Giri, A. P. (2021). Diversity in chemical structures and biological properties of plant alkaloids. *Molecules*, 26(11), 1-29. <https://doi.org/10.3390/molecules26113374>
- Busman, Alamsyah, Y., & Saputri, N. (2018). Uji aktivitas antibakteri ekstrak cacing tanah (*Lumbricus rubellus*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *Menara Ilmu*, 12(2).
- Brooks, G., Carroll, K. C., Butel, J., & Morse, S. (2012). *Jawetz Melnick & Adelbergs Medical Microbiology* (26th ed.). The McGraw-Hill Companies.
- Christaki, E., Bonos, E., Giannenas, I., & Florou-Paneri, P. (2012). Aromatic plants as a source of bioactive compounds. *Agriculture*, 2(3), 228-243. <https://doi.org/10.3390/agriculture2030228>
- Cova, I., Leta, V., Mariani, C., Pantoni, L., & Pomati, S. (2019). Exploring cocoa properties: Is theobromine a cognitive modulator? *Psychopharmacology*, 236, 561-572. <https://doi.org/10.1007/s00213-019-5172-0>
- Davis, W. W., & Stout, T. R. (1971). Disc plate method of microbiological antibiotic assay. *Applied Microbiology*, 659-665. <https://doi.org/10.1128/am.22.4.659-665.1971>
- Davidova, S., Galabov, A. S., & Satchanska, G. (2024). Antibacterial, antifungal, antiviral activity, and mechanisms of action of plant polyphenols. *Microorganisms*, 12(12), 2502. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12122502>
- De Rossi, L., Rocchetti, G., Lucini, L., & Rebecchi, A. (2025). Antimicrobial potential of polyphenols: Mechanisms of action and microbial responses—a narrative review. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 14(2), 200. <https://doi.org/10.3390/antiox14020200>
- Dewi, L. P., Fuadiyah, W., Nirwana, L., Zulkarnain, A. R., & Faisal, F. (2023). Uji aktivitas anti bakteri ekstrak daun sirsak (*Annona muricata L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia Coli* dengan metode difusi sumuran dan paper disk. *Era Sains: Jurnal Penelitian Sains, Keteknik dan Informatika*, 1(4), 8-14.
- Diana, N., Sartika, D., Setiyowati, E. D., Wihardini, R. A., & Riyanto, E. (2021). Pembuatan dan analisa tingkat kesukaan konsumen terhadap hand sanitizer ekstrak kulit kakao. *Journal of Innovation Research and Knowledge*, 1(4), 569-576.
- Dillinger, T. L., Barriga, P., Escárcega, S., Jimenez, M., Lowe, D. S., & Grivetti, L. E. (2000). Food of the gods: Cure for humanity? A cultural history of the medicinal and ritual use of chocolate. *The Journal of Nutrition*, 130(8), 2057S-2072S. <https://doi.org/10.1093/jn/130.8.2057S>

- Donadio, G., Mensitieri, F., Santoro, V., Parisi, V., Bellone, M. L., De Tommasi, N., Izzo, V., & Dal Piaz, F. (2021). Interactions with microbial proteins driving the antibacterial activity of flavonoids. *Pharmaceutics*, 13(5), 660. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13050660>
- Efimova, S. S., Zakharova, A. A., & Ostroumova, O. S. (2020). Alkaloids modulate the functioning of ion channels produced by antimicrobial agents via an influence on the lipid host. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 8(537), 1-16. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.00537>
- Elahi, S., & Fujikawa, H. (2019). Effects of lactic acid and salt on enterotoxin A production and growth of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Food Science*, 84(11), 3233-3240. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14829>
- Estifae, P., Su, X., Yannam, S. K., Rogers, S., & Thagard, S. M. (2019). Mechanism of *E. coli* inactivation by direct-in-liquid electrical discharge plasma in low conductivity solutions. *Scientific Reports*, 9(1), 1-12. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-38838-7>
- Factors influencing variability and error. *Applied Microbiol*, 22(4), 659-665.
- FAO. (2017). *The future of food and agriculture - Trends and challenges*. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Fajrin, F. I., & Susila, I. (2019). Uji fitokimia ekstrak kulit petai menggunakan metode maserasi. *E-Prosiding SNasTekS*, 1(1), 455-462.
- Ganesan, N., Mishra, B., Felix, L., & Mylonakis, E. (2023). Antimicrobial peptides and small molecules targeting the cell membrane of *Staphylococcus aureus*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 87(2), e00037-22. <https://doi.org/10.1128/membr.00037-22>
- Gilbert, P. (1990). Influence of growth rate on susceptibility to antimicrobial agents: Modification of the cell envelope and batch and continuous culture studies. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 34(9), 1623-1628. <https://doi.org/10.1128/AAC.34.9.1623>
- Gonellimali, F. D., Lin, J., Miao, W., Xuan, J., Charles, F., Chen, M., & Hatab, S. R. (2018). Antimicrobial properties and mechanism of action of some plant extracts against food pathogens and spoilage microorganisms. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1639. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01639>
- Górniak, I., Bartoszewski, R., & Króliczewski, J. (2019). Comprehensive review of antimicrobial activities of plant flavonoids. *Phytochem Reviews*, 18, 241-272. <https://doi.org/10.1007/s11101-018-9591-z>
- Griselda, Z. F. N., & Setiawan, I. (2023). Tinjauan artikel: Uji mikrobiologi. *Jurnal Farmasi*, 12(2), 31-36.

- Gulzar, M., & Zehra, A. (2018). *Staphylococcus aureus*: A brief review. *Int J Vet Sci Res.*, 4(1), 20-22.
- Hafidhah, N., & Hakim, R. F. (2017). Pengaruh ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao L.*) terhadap pertumbuhan *Enterococcus faecalis* pada berbagai konsentrasi. *Journal Caninus Dentistry*, 2(2), 92-96.
- Hamidah, M. N., Rianingsih, L., & Romadhon, R. (2019). Aktivitas antibakteri isolat bakteri asam laktat dari peda dengan jenis ikan berbeda terhadap *E. coli* dan *S. aureus*. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Perikanan*, 1(2), 11-21. <https://doi.org/10.14710/jitpi.2019.6742>
- Harahap, S. N., & Situmorang, N. (2021). Skrining fitokimia dari senyawa metabolit sekunder buah jambu biji merah (*Psidium guajava L.*). *EduMatSains: Jurnal Pendidikan, Matematika dan Sains*, 5(2), 153-164. <https://doi.org/10.33541/edumatsains.v5i2.2204>
- Hartina, D. S., Rahayu, Y. C., & Kurniawati, A. (2023). Uji aktivitas antijamur ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) terhadap *Candida albicans*. *STOMATOGNATIC-Jurnal Kedokteran Gigi*, 20(2), 98-102. <https://doi.org/10.19184/stoma.v20i2.44006>
- Hatmi, R. U., Ainuri, M., & Sukartiko, A. C. (2018). Analisis sebaran tipe dan performa mutu fisik kakao pada tiga rentang elevasi. *Journal of Industrial and Beverage Crops*, 5(1), 11-20. <https://doi.org/10.21082/jtidp.v5n1.2018.p11-20>
- Hendri, N. A. M., Amdan, N. A. N., Dounis, S. O., Najib, N. S., & Louis, S. R. (2024). Ultra-structural and morphological studies on variables affecting *Escherichia coli* with selected commercial antibiotics. *The Cell Surface*, 11(100120), 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.tcsu.2024.100120>
- Hermanda, R., Widayat, W., & Rijai, L. (2016). Aktivitas antibakteri ekstrak metanol akar tumbuhan merung (*Coptosapelta tomentosa*) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. In *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, 4(1), 322-329. <https://doi.org/10.25026/mpc.v4i1.200>
- Herrialfian, H., Lubis, M. M. N., Darmawi, D., Dewi, M., Erina, E., Hennivanda, H., & Harris, A. (2021). Inhibition activity of ethanolic extract of binahong leaf (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) on *Staphylococcus aureus* bacteria. *Jurnal Medika Veterinaria*, 15(1), 43-55. <https://doi.org/10.21157/j.med.vet.v15i1.9988>
- Hidayah, H., Fatmawati, F., Khairunnisa, J., & Putri, M. H. (2023). Aktivitas triterpenoid sebagai senyawa antikanker. *Innovative: Journal of Social Science Research*, 3(2), 10168-10183.
- Hidayati, C. D., Indrayudha, P., & Munawaroh, R. (2013). Aktivitas antibakteri dan bioautografi ekstrak aseton kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) terhadap *Streptococcus mutans* dan *Escherichia coli*. Doctoral dissertation, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.

- Hoang Minh, S., Kimura, E., Hoang Minh, D., Honjoh, K. I., & Miyamoto, T. (2015). Virulence characteristics of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* from raw meats and clinical samples. *Microbiology and Immunology*, 59(3), 114-122. <https://doi.org/10.1111/1348-0421.12235>
- Hu, H. S., Wu, Y. L., & Yang, M. D. (2018). Fractionation of bio-oil produced from hydrothermal liquefaction of microalgae by liquid-liquid extraction. *Biomass and Bioenergy*, 108, 487-500. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2017.10.033>
- Huang, W., Wang, Y., Tian, W., Cui, X., Tu, P., Li, J., & Liu, X. (2022). Biosynthesis investigations of terpenoid, alkaloid, and flavonoid antimicrobial agents derived from medicinal plants. *Antibiotics*, 11(10), 1-32. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11101380>
- Igiehon, N. O., & Babalola, O. O. (2018). Below-ground-above-ground plant-microbial interactions: Focusing on soybean, rhizobacteria, and mycorrhizal fungi. *The Open Microbiology Journal*, 12, 261. <https://doi.org/10.2174/1874285801812010261>
- Ingle, K. P., Deshmukh, A. G., Padole, D. A., Dudhare, M. S., Moharil, M. P., & Khelurkar, V. C. (2017). Phytochemicals: Extraction methods, identification and detection of bioactive compounds from plant extracts. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6(1), 32-36.
- Jain, C., Khatana, S., & Vijayvergia, R. (2019). Bioactivity of secondary metabolites of various plants: A review. *Int. J. Pharm.*, 10(2), 494-504.
- Jannah, R., Husni, M. A., & Nursanty, R. (2017). Inhibition test of methanol extract from sour-sop leaf (*Annona muricata* Linn.) against *Streptococcus mutans* bacteria. *Jurnal Natural*, 17(1), 23-30. <https://doi.org/10.24815/jn.v17i1.6823>
- Kayaputri, I. L., Djali, M., Sukri, N., & Fazaryasti, R. H. (2020). The antimicrobial effectiveness of cacao shell and cacao husk combination on inhibition of pathogenic bacteria in food products. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 443(1), 1-10. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/443/1/012077>
- Khotimah, K. (2016). Skrining fitokimia dan identifikasi metabolit sekunder senyawa karpain pada ekstrak metanol daun *Carica pubescens* Lenne & K. Koch dengan LC/MS (Liquid Chromatograph-Tandem Mass Spectrometry). Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Khan, F. A., Hellmark, B., Ehricht, R., Söderquist, B., & Jass, J. (2021). Antibiotic resistance and wastewater: Ecological and public health concerns. *Science of The Total Environment*, 768, 144985. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144985>
- Kopon, A. M., Baunsele, A. B., & Boelan, E. G. (2020). Skrining senyawa metabolit sekunder ekstrak metanol biji alpukat (*Persea americana* Mill.) asal Pulau Timor. *Akta Kimia Indonesia*, 5(1), 43-52. <https://doi.org/10.12962/j25493736.v5i1.6709>

- Kováč, J., Slobodníková, L., Trajčiková, E., Rendeková, K., Mučaji, P., Sychrová, A., & Bittner Fialová, S. (2022). Therapeutic potential of flavonoids and tannins in management of oral infectious diseases—A review. *Molecules*, 28(1), 1-21. <https://doi.org/10.3390/molecules28010158>
- Kowalska-Krochmal, B., & Dudek-Wicher, R. (2021). The minimum inhibitory concentration of antibiotics: Methods, interpretation, clinical relevance. *Pathogens*, 10(2), 165. <https://doi.org/10.3390/pathogens10020165>
- Kumalasari, M. L. F., & Andiarna, F. (2020). Uji fitokimia ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.). *Indonesian Journal for Health Sciences*, 4(1), 39-44. <https://doi.org/10.24269/ijhs.v4i1.2279>
- Kümmerer, K. (2009). Antibiotics in the aquatic environment - A review - Part I. *Chemosphere*, 75(4), 417-434. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.11.086>
- Lestari, H. D., & Asri, M. T. (2021). Aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap *Staphylococcus epidermidis*. *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi*, 10(3), 302-308. <https://doi.org/10.26740/lenterabio.v10n3.p302-308>
- Lestari, R., Wicaksana, A. S. A., Puspitasari, K., & Syukri, Y. (2018). Nano spray dari limbah kulit kakao sebagai agen antibakteri *Klebsiella pneumonia*. *Khazanah: Jurnal Mahasiswa*, 10(1), 1-7. <https://doi.org/10.20885/khazanah.vol10.iss1.art4>
- Li, J., & Monje-Galvan, V. (2023). In vitro and in silico studies of antimicrobial saponins: A review. *Processes*, 11(10), 1-17. <https://doi.org/10.3390/pr11102856>
- Maghsoudloo, M., Bagheri Shahzadeh Aliakbari, R., & Jabbari Velisdeh, Z. (2023). Pharmaceutical, nutritional, and cosmetic potentials of saponins and their derivatives. *Nano Micro Biosystems*, 2(4), 1-6.
- Maharani, S., Meilina, R., Kulla, P. D. K., & Rezeki, S. (2024). Skrining fitokimia senyawa metabolit sekunder dan standarisasi akar manis (*Glycyrrhiza glabra* L.). *Journal of Healthcare Technology and Medicine*, 10(1), 506-518.
- Mappasomba, M., Malaka, M. H., Hamsidi, R., & Zulbayu, L. M. A. (2020). Aktivitas antibakteri dan skrining fitokimia beberapa tanaman berkhasiat obat di Kota Kendari. *Pharmauho: Jurnal Farmasi, Sains dan Kesehatan*, 6(1), 20-26. <https://doi.org/10.33772/pharmauho.v6i1.11445>
- Mashuni, M., Jahiding, M., & Hamid, F. H. (2024). PKM penerapan teknologi pirolisis untuk produksi biopestisida dari limbah kulit kakao. *Science and Technology: Jurnal Pengabdian Masyarakat*, 1(2), 73-79. <https://doi.org/10.69930/scitech.v1i2.33>
- Maulida, W., Fadraersada, J., & Rijai, L. (2016). Isolasi senyawa antioksidan dari daun pila-pila (*Mallotus paniculatus*). In *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, 4, 384-390. <https://doi.org/10.25026/mpc.v4i1.209>

- Milawati, L. S. P. (2022). *Biostimulan untuk tanah dan tanaman*. Penerbit Qiara Media.
- Minarno, E. B. (2015). Skrining fitokimia dan kandungan total flavonoid pada buah *Carica pubescens* Lenne dan K. Koch di kawasan Bromo, Cangar, dan dataran tinggi Dieng. *El-Hayah: Jurnal Biologi*, 5(2), 73-82. <https://doi.org/10.18860/elha.v5i2.3022>
- Mohamed, J. A. (2022). Determination and assessment for effects of electric current and voltage on *E. coli* bacteria. *Alnilain University*.
- Munadi, R. (2020). Analisis komponen kimia dan uji aktivitas antioksidan ekstrak rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* Rosc. *Var Rubrum*). *Cokroaminoto Journal of Chemical Science*, 2(1), 1-6.
- Mustafa, G., Arif, R., Atta, A., Sharif, S., & Jamil, A. (2017). Bioactive compounds from medicinal plants and their importance in drug discovery in Pakistan. *Journal Pharma*, 1(1), 17-26. <https://doi.org/10.26480/msp.01.2017.17.26>
- Nazzaro, F., Fratianni, F., De Martino, L., Cappola, R., & De Feo, V. (2013). Effect of essential oils on pathogenic bacteria. *Pharmaceuticals*, 6(12), 1451-1474. <https://doi.org/10.3390/ph6121451>
- Ndia, L., & Asnia, A. (2019). Peningkatan partisipasi petani dalam pengendalian hama dan penyakit tanaman kakao berbasis bahan alam. *CARADDE: Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat*, 2(1), 23-28. <https://doi.org/10.31960/caradde.v2i1.82>
- Negi, P. S. (2012). Plant extracts for the control of bacterial growth: Efficacy, stability, and safety issues for food application. *International Journal of Food Microbiology*, 156(1), 7-17. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.03.006>
- Nikaido, H. (1989). Outer membrane barrier as a mechanism of antimicrobial resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 33(11), 1831-1836. <https://doi.org/10.1128/AAC.33.11.1831>
- Nuraeni, Y., & Darwiati, W. (2021). Pemanfaatan metabolit sekunder tumbuhan sebagai pestisida nabati pada hama tanaman hutan. *Jurnal Galam*, 2(1), 1-15. <https://doi.org/10.20886/glm.2021.2.1.1-15>
- Nuridin, G. M. (2020). Struktur dan fungsi sel: Konsep dasar biologi. Cendekia Publisher.
- Ohiagu, F. O., Chikezie, P. C., Maduka, T. O., Chikezie, C. M., Nwaiwu, O., & Paudel, K. R. (2024). Antioxidants, radical scavengers, and their impact on oxidative stress. *Free Radicals and Antioxidants*, 14(2), 62-85. <https://doi.org/10.5530/fra.2024.2.7>
- Pakadang, S. R. (2025). *Buku ajar metode pengujian mikrobiologi untuk obat herbal; metode difusi agar, pour plate agar, dilusi cair*. Nas Media Pustaka.

- Pal, M., Gutama, K. P., & Koliopoulos, T. (2021). *Staphylococcus aureus*, an important pathogen of public health and economic importance: A comprehensive review. *Journal of Emerging Environmental Technologies and Health Protection*, 4(2), 17-32.
- Pallawagau, M., Yanti, N. A., Jahiding, M., Kadidae, L. O., Asis, W. A., & Hamid, F. H. (2019). Penentuan kandungan fenolik total liquid volatile matter dari pirolisis kulit buah kakao dan uji aktivitas antifungi terhadap *Fusarium oxysporum*. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, 15(1), 165. <https://doi.org/10.20961/alchemy.15.1.24678.165-176>
- Pancu, D. F., Scurtu, A., Macasoi, I. G., Marti, D., Mioc, M., Soica, C., & Dehelean, C. (2021). Antibiotics: Conventional therapy and natural compounds with antibacterial activity—A pharmaco-toxicological screening. *Antibiotics*, 10(4), 401. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10040401>
- Parraguez-Vergara, E., Contreras, B., Clavijo, N., Villegas, V., Paucar, N., & Ther, F. (2018). Does indigenous and campesino traditional agriculture have anything to contribute to food sovereignty in Latin America? Evidence from Chile, Peru, Ecuador, Colombia, Guatemala, and Mexico. *International Journal of Agricultural Sustainability*, 16(4-5), 326-341. <https://doi.org/10.1080/14735903.2018.1489361>
- Parvekar, P., Palaskar, J., Metgud, S., Maria, R., & Dutta, S. (2020). The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of silver nanoparticles against *Staphylococcus aureus*. *Biomaterial Investigations in Dentistry*, 7(1), 105-109. <https://doi.org/10.1080/26415275.2020.1796674>
- Patra, J. K., Das, G., Lee, S., Kang, S. S., & Shin, H. S. (2018). Selected commercial plants: A review of extraction and isolation of bioactive compounds and their pharmacological market value. *Trends in Food Science & Technology*, 82, 89-109. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.10.001>
- Pratiwi, R. H. (2017). Mekanisme pertahanan bakteri patogen terhadap antibiotik. *Jurnal Pro-life*, 4(3), 418-429.
- Prestinaci, F., Pezzotti, P., & Pantosti, A. (2015). Antimicrobial resistance: A global multifaceted phenomenon. *Pathogens and Global Health*, 109(7), 309-318. <https://doi.org/10.1179/2047773215Y.0000000030>
- Purwanti, A., Agustin, D. B., & Nuri, N. (2023). Uji potensi antibakteri *Streptococcus mutans* ekstrak kulit biji kakao (*Theobroma cacao L.*) dengan metode ekstraksi sonikasi. *Jurnal Farmasi Higea*, 15(1), 64-70. <https://doi.org/10.52689/higea.v15i1.506>
- Puspadewi, R., Adirestuti, P., & Abdulbasith, A. (2017). Deteksi *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella* pada jajanan sirup. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 3(1), 26-33. <https://doi.org/10.51352/jim.v3i1.87>

- Rahayu, Y. C., Setiawatie, E. M., Rahayu, R. P., & Ramadan, D. E. (2023). Analysis of anti-oxidant and antibacterial activity of cocoa pod husk extract (*Theobroma cacao L.*). *Dental Journal*, 56(4), 220-225. <https://doi.org/10.20473/j.djmkkg.v56.i4.p220-225>
- Raza, S., Matuła, K., Karoń, S., & Paczesny, J. (2021). Resistance and adaptation of bacteria to non-antibiotic antibacterial agents: Physical stressors, nanoparticles, and bacteriophages. *Antibiotics*, 10(4), 1-24. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10040435>
- Rokhim, N. (2023). Isolasi bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus sp.* pada sampah di TPA Segawe Kabupaten Tulungagung. *Asian Journal of Natural Sciences*, 2(1), 1-8. <https://doi.org/10.55927/ajns.v2i1.3005>
- Sánchez, M., Laca, A., Laca, A., & Díaz, M. (2023). Cocoa bean shell: A by-product with high potential for nutritional and biotechnological applications. *Antioxidants*, 12(5), 1-21. <https://doi.org/10.3390/antiox12051028>
- Sari, D. N. R., Hasanah, H. U., & MP, M. M. P. P. P. (2017). Efektivitas antifungi ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao L.*) dalam menghambat pertumbuhan fungi patogen indigenous *Phytophthora palmivora* dengan metode dilusi padat. *Jurnal Biologi & Pembelajarannya*, 4(1), 9-14. <https://doi.org/10.31957/jbp.103>
- Singer, A. C., Shaw, H., Rhodes, V., & Hart, A. (2016). Review of antimicrobial resistance in the environment and its relevance to environmental regulators. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1728. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01728>
- Sinha, S., Aggarwal, S., & Singh, D. V. (2024). Efflux pumps: Gatekeepers of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus* biofilms. *Microbial Cell (Graz, Austria)*, 11, 368-377. <https://doi.org/10.15698/mic2024.11.839>
- Siregar, T. W., & Daniela, C. (2023). Uji antimikroba ekstrak kulit buah naga merah terhadap bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Lactobacillus acidophilus*. *Jurnal Riset Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian (RETIPA)*, 3(2), 78-85. <https://doi.org/10.54367/retipa.v3i2.2640>
- Sobral, R., & Tomasz, A. (2019). The *Staphylococcal cell wall*. *Microbiology Spectrum*, 7(4), 10. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.GPP3-0068-2019>
- Soleha, T. U. (2015). Uji kepekaan terhadap antibiotik. *Juke Unila*, 5(9), 119-123.
- Sorrenti, V., Ali, S., Mancin, L., Davinelli, S., Paoli, A., & Scapagnini, G. (2020). Cocoa polyphenols and gut microbiota interplay: Bioavailability, prebiotic effect, and impact on human health. *Nutrients*, 12(7), 1908. <https://doi.org/10.3390/nu12071908>
- Spaggiari, C., Annunziato, G., & Costantino, G. (2024). Ursolic and oleanolic acids: Two natural triterpenoids targeting antibacterial multidrug tolerance and biofilm formation. *Frontiers in Natural Products*, 3, 1456361. <https://doi.org/10.3389/fntpr.2024.1456361>

- Staphylococcus aureus* Rosenbach, 1884 in Döring M. (2022). English Wikipedia - Species Pages. Wikimedia Foundation. Checklist dataset <https://doi.org/10.15468/c3kkgh> accessed via GBIF.org on 2024-10-25. (Diakses 10 Oktober 2024).
- Štumpf, S., Hostnik, G., Primožič, M., Leitgeb, M., Salminen, J.-P., & Bren, U. (2020). The effect of growth medium strength on minimum inhibitory concentrations of tannins and tannin extracts against *E. coli*. *Molecules*, 25(12), 2947. <https://doi.org/10.3390/molecules25122947>
- Tamfu, A. N., Ceylan, O., Cârâc, G., Talla, E., & Dinica, R. M. (2022). Antibiofilm and anti-quorum sensing potential of cycloartane-type triterpene acids from Cameroonian grass-land propolis: Phenolic profile and antioxidant activity of crude extract. *Molecules*, 27(15), 1-19. <https://doi.org/10.3390/molecules27154872>
- Ummamie, L., Rastina, R., & Erina, E. (2017). Isolasi dan identifikasi *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* pada keumamah di pasar tradisional Lambaro, Aceh Besar. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Veteriner*, 1(3), 574-583.
- Utami, S., & Handayani, S. K. (2017). Ketersediaan air bersih untuk kesehatan: Kasus dalam pencegahan diare pada anak. *Optimalisasi Peran Saint dan Teknologi Untuk Mewujudkan Smartcity*, 211-236.
- Wahyuni, D., Kesuma, S., & Azahra, S. (2023). Profil bakteri patogen dan antibiotik pada gangren diabetes melitus di RSUD Abdul Wahab Sjahranie Samarinda. *Health Care: Jurnal Kesehatan*, 12(1), 159-170. <https://doi.org/10.36763/healthcare.v12i1.370>
- Wahyuni, D., Kesuma, S., & Azahra, S. (2023). Profil bakteri patogen dan antibiotik pada gangren diabetes melitus di RSUD Abdul Wahab Sjahranie Samarinda. *Health Care: Jurnal Kesehatan*, 12(1), 159-170. <https://doi.org/10.36763/healthcare.v12i1.370>
- Widaryanto, E., & Azizah, N. (2018). Perspektif tanaman obat berkhasiat: Peluang, budidaya, pengolahan hasil, dan pemanfaatan. *Universitas Brawijaya Press*, Malang.
- Widodo, W. D., Kurniawati, A., & Purwakusumah, E. D. (2007). Metode adaptasi tanaman sambung nyawa terhadap cahaya UV untuk meningkatkan produksi flavonoid. *Institut Pertanian Bogor*.
- Yang, X., Huang, E., & Yousef, A. E. (2017). Brevibacillin, a cationic lipopeptide that binds to lipoteichoic acid and subsequently disrupts cytoplasmic membrane of *Staphylococcus aureus*. *Microbiological Research*, 195, 18-23. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2016.11.002>
- Yasacaxena, L. N., Defi, M. N., Kandari, V. P., Weru, P. T. R., Papilaya, F. E., Oktafera, M., & Setyaningsih, D. (2023). Extraction of temulawak rhizome (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) and activity as antibacterial. *Jurnal Jamu Indonesia*, 8(1), 10-17. <https://doi.org/10.29244/jji.v8i1.265>

- Zhou, J., Cai, Y., Liu, Y., An, H., Deng, K., Ashraf, M. A., & Wang, J. (2022). Breaking down the cell wall: Still an attractive antibacterial strategy. *Frontiers in Microbiology*, 13(1), 1-21. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.952633>
- Ziraluo, Y. P. B., & Duha, M. (2020). Diversity study of fruit producer plant in Nias Islands. *Jurnal Inovasi Penelitian*, 1(4), 683-694.