



Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Dan Fraksi N-Heksan, Etil Asetat, Air Dari Kulit Buah Kakao (*Theobroma Cacao L.*) Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes* ATCC 11827 Secara Difusi

Sovie Nofia Wijayanti¹, Kharisma Jayak Pratama², Desy Ayu Irma Permatasari³

^{1,2,3}Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Duta Bangsa Surakarta

Abstract

Received: 6 November 2023
Revised: 13 November 2023
Accepted: 27 November 2023

The skin of the cocoa fruit (*Theobroma cacao L.*) is one plant that can be used as an antibacterial. The skin of cocoa fruit (*Theobroma cacao L.*) contains chemical flavonoids, triterpenoids, and tannins. The purpose of this study was to determine ethanol extract and n-hexane fraction, ethyl acetate fraction, water fraction from cocoa fruit peel (*Theobroma cacao L.*) has antibacterial inhibitory power against *Propionibacterium acnes* ATCC 11827 bacteria and to determine between ethanol extract and n-hexane fraction, ethyl acetate fraction and the most active water fraction from cocoa fruit peel (*Theobroma cacao L.*) in inhibiting the growth of *Propionibacterium acnes* ATCC 11827. Cocoa peel powder (*Theobroma cacao L.*) is macerated using 96% ethanol, then fractionated using n-hexane, ethyl acetate, and water solvents. Extract, n-hexane fraction, ethyl acetate fraction and water fraction were tested for antibacterial activity using diffusion method with concentrations of 3.125%, 6.25%, 12.5%, 25% and 50% against *Propionibacterium acnes* ATCC 11827 bacteria. The results of research on antibacterial activity by diffusion method showed that extract, n-hexane fraction, ethyl acetate fraction and cocoa peel water fraction (*Theobroma cacao L.*) have inhibitory power against *Propionibacterium acnes* ATCC 11827 bacteria with the formation of an inhibition zone. The ethyl acetate fraction has the most effective antibacterial activity with concentrations of 3.12%, 6.25%, 12.5%, 25% and 50% having diameters of 8.56 mm, 9.76 mm, 9.83 mm, 13.33 mm and 15.5 mm. Based on the results of the study, it can be concluded that the ethyl acetate fraction is the most active fraction.

Keywords: Antibacterial, *Propionibacterium acnes* ATCC 11827, *Theobroma cacao L.*

(*) Corresponding Author: wijayantisovie@gmail.com

How to Cite: Wijayanti, S., Pratama, K., & Permatasari, D. (2023). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Dan Fraksi N-Heksan, Etil Asetat, Air Dari Kulit Buah Kakao (*Theobroma Cacao L.*) Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes* ATCC 11827 Secara Difusi. *Jurnal Ilmiah Wahana Pendidikan*, 9(23), 755-770. <https://doi.org/10.5281/zenodo.10416562>

PENDAHULUAN

Indonesia adalah salah satu di antara banyak negara yang memiliki iklim tropis sehingga temperatur suhu relatif lebih tinggi (Niah & Baharsyah, 2018). Dengan kondisi iklim tersebut dapat mempermudah tumbuhnya bakteri maupun jamur penyebab peradangan pada kulit. Contoh peradangan kulit yang kerap menyerang masyarakat di negara tropis adalah jerawat. Daerah penyebaran jerawat meliputi daerah wajah, dada, dan punggung. Terdapat beberapa jenis bakteri yang menyebabkan jerawat, salah satunya adalah *Propionibacterium acnes* (Hafsari *et al.*, 2015).

Bakteri *Propionibacterium acnes* merupakan bakteri gram positif dan berbentuk batang yang lebih banyak menyebabkan jerawat dari pada bakteri lain. Mekanisme bakteri *Propionibacterium acnes* yaitu mula-mula bakteri mengeluarkan enzim hidrolitik yang dapat menyebabkan kerusakan pada folikel polisebasea dan menghasilkan lipase, hialuronidase, protease, lesitinase, dan neurimidase yang berperan penting pada proses peradangan. *Propionibacterium acnes* dapat mengubah asam lemak tak jenuh menjadi asam lemak jenuh yang menimbulkan sebum menjadi padat. Jika produksi sebum bertambah, *Propionibacterium acnes* juga akan bertambah banyak yang keluar dari kelenjar sebasea, karena sifat bakteri *Propionibacterium acnes* yang pemakan lemak (Hafsari *et al.*, 2015).

Peningkatan penggunaan antibakteri dapat memicu timbulnya resistensi bakteri terhadap antibakteri yang diberikan tersebut. Sebanyak 50% isolat *Propionibacterium acnes* berbagai strain dari pasien berjerawat resisten terhadap antibiotik klindamisin, eritromisin, dan sebanyak 20% dari isolat resisten terhadap tetrasiklin sehingga dibutuhkan tindakan untuk mengurangi masalah tersebut (Permatasari, 2020). Oleh sebab itu, untuk mengurangi resistensi tersebut maka diperlukan adanya perkembangan penelitian dari tanaman bahan alam yang memiliki kandungan antibakteri sebagai bahan alternatif pengganti antibiotik. Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri yaitu kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*).

Kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) dapat digunakan sebagai antibakteri. Akan tetapi, hal tersebut belum banyak dikembangkan oleh masyarakat. Kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) diketahui memiliki kandungan metabolit sekunder berupa flavonoid, alkaloid, tanin dan saponin memiliki kemampuan sebagai antibakteri (Adha & Ibrahim, 2021).

Menurut Lestari *et al.*, (2021) membuktikan bahwa pemberian ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) mempengaruhi pertumbuhan patogen bakteri *Stapylococcus epidermis* dengan konsentrasi ekstrak yaitu 25%, 50%, 75%, dan 100% masing-masing dengan tiga kali ulangan, yang menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah kakao berpotensi sebagai antibakteri dengan rerata zona hambat berturut-turut adalah 1,23 mm, 1,93 mm, 2,85 mm dan 3,13 mm. Berdasarkan latar belakang di atas, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksi *n*-heksan, etil asetat, air dari kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) dengan konsentrasi 3,125%, 6,25%, 12,5%, 25% dan 50% terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* ATCC 11827 secara difusi.

METODE PENELITIAN

Penelitian uji aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* ATCC 11827 ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Universitas Duta Bangsa Surakarta. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*). Kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) diperoleh di Desa Ngerangan, Kecamatan Pabelan, Kabupaten Semarang. Penelitian ini memiliki beberapa tahapan, diantaranya:

1. Pengambilan dan Pengolahan Sampel

Kulit Buah kakao (*Theobroma cacao L.*) diperoleh di Desa Ngerangan, Kecamatan Pabelan, Kabupaten Semarang. Penyortiran kulit buah kakao dilakukan dengan memilih kulit yang masih segar, kemudian memisahkan atau membuang bahan pencemar berupa tanah dan kotoran yang menempel di kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*). Kulit yang telah dipilih, kemudian dicuci dengan air mengalir hingga bersih, setelahnya kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) dirajang dengan ukuran yang kecil supaya cepat dalam proses pengeringan. Kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) dikeringkan dengan cara terkena sinar matahari langsung sampai kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) kering. Tujuan pengeringan yaitu untuk mengurangi kadar air bahan sehingga dapat menghambat pertumbuhan mikroba yang tidak diinginkan (Warnis *et al.*, 2020). Setelah kulit kering dibuat serbuk dengan cara ditumbuk menggunakan lumpang dan alu, setelah itu dihaluskan kembali dengan menggunakan blender sampai halus dan diayak dengan ayakan mesh nomor 40.

2. Uji Parameter Non Spesifik Serbuk Simplisia

a. Penentuan Kadar Air Serbuk Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao L.*)

Penetapan kadar air menggunakan alat *moisture balance* dengan cara menimbang 2 gram serbuk kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) kemudian dimasukkan dalam lempeng logam, ratakan. Nyalakan *moisture balance* pada suhu 1050 C, tunggu sampai alat berbunyi yang menandakan analisis sudah selesai. Kadar air simplisia yang baik adalah kurang dari 10% (Rukmawati *et al.*, 2017).

b. Penetapan Susut Pengeringan Serbuk Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao L.*)

Serbuk simplisia ditimbang secara seksama 2 gram didalam cawan porselen kemudian dipanaskan pada suhu 105°C selama 30 menit di dalam oven kemudian di dinginkan pada suhu kamar lalu ditimbang. Dilakukan penetapan hingga bobot konstan (Kariem *et al.*, 2022).

Penetapan susut pengeringan dapat dihitung menggunakan rumus dibawah ini :

$$\text{Susut Pengeringan (\%)} = \frac{a-b}{a} \times 100 \%$$

3. Pembuatan Ekstrak Etanol 96% Kulit Kakao (*Theobroma cacao L.*)

Pembuatan ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) menggunakan metode maserasi. Serbuk simplisia 500 gr yang telah terbentuk dilakukan proses maserasi dengan melakukan perendaman menggunakan etanol 96 % sebanyak 5000 ml selama 3 x 24 jam dan dilakukan remaserasi 2 x 24 jam dengan perbandingan 1:10. Filtrat ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) di pekatkan dengan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental yang bebas dari pelarut.

4. Uji Parameter Non Spesifik Ekstrak

a. Uji Bebas Etanol Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao L.*)

Uji bebas etanol dilakukan dengan cara ekstrak ditambah dengan H₂SO₄ pekat dan CH₃COOH 1%. Uji positif ekstrak bebas etanol jika tidak terdapat bau ester yang khas dari etanol (Tivani *et al.*, 2021).

b. Penetapan Kadar Air Ekstrak Kulit Kakao (*Theobroma cacao L.*)

Penetapan kadar air menggunakan alat *moisture balance* dengan cara menimbang 2 gram serbuk kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) kemudian dimasukkan dalam lempeng logam, ratakan. Nyalakan *moisture balance* pada suhu 1050 C, tunggu sampai alat berbunyi yang menandakan analisis sudah selesai. Kadar air simplisia yang baik adalah kurang dari 10% (Rukmawati *et al.*, 2017).

c. Penetapan Susut Pengerinan Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao L.*).

Ekstrak simplisia ditimbang secara seksama 2 gram didalam cawan porselen kemudian dipanaskan pada suhu 105°C selama 30 menit di dalam oven kemudian di dinginkan pada suhu kamar lalu ditimbang. Dilakukan penetapan hingga bobot konstan (Kariem *et al.*, 2022). Persyaratan Farmakope Herbal Indonesia susut pengerinan ekstrak yang baik adalah kurang dari 10%.

Penetapan susut pengerinan dapat dihitung menggunakan rumus dibawah ini :

$$\text{Susut Pengerinan (\%)} = \frac{a-b}{a} \times 100 \%$$

5. Uji Skrining Fitokimia Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao L.*)

a. Uji Flavonoid.

Ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) ditimbang sebanyak 10 mg lalu dilarutkan dalam metanol panas dan menambahkan 0,05 mg serbuk Mg dan 1 ml HCl pekat. Hasil positif ditunjukkan warna jingga (Setyowati *et al.*, 2014).

b. Uji Tanin

Ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) ditimbang 10 mg dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan FeCl₃ 10% sebanyak 5 mL kemudian dikocok, apabila cairan berubah menjadi biru tua atau hijau kehitaman maka menunjukkan adanya tanin (Widiastuti *et al.*, 2014).

c. Uji Saponin

Ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) ditimbang 10 mg dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 5 mL air panas kemudian didinginkan, setelah dingin dikocok selama 30 detik. Tabung dibiarkan dalam posisi tegak selama 30 menit, apabila buih terbentuk setinggi 1– 10 cm dari permukaan cairan, maka menunjukkan adanya saponin dan bila ditambah HCl 2N buih tidak hilang (Widiastuti *et al.*, 2016).

d. Uji Alkaloid.

Identifikasi alkaloid dilakukan dengan metode Mayer, Wagner dan Dragendorff. 2 mg ekstrak pekat kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) ditambah dengan 1 mL HCl 2 M dan 9 mL aquades dipanaskan selama 2 menit, didinginkan dan kemudian disaring. Filtrat dibagi menjadi 3 bagian, masing - masing ditambah dengan pereaksi Mayer, Wagner, dan Dragendorff (Setyowati *et al.*, 2014).

e. Uji Triterpenoid

Identifikasi terpenoid dilakukan dengan melarutkan 10 mg ekstrak pekat ke dalam 0,5 mL kloroform, kemudian menambahkan 0,5 mL anhidrida asetat dan meneteskan campuran dengan 2 mL H₂SO₄ pekat melalui dinding tabung (Setyowati *et al.*, 2014).

6. Skrining Fitokimia Secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

a. Identifikasi Flavonoid

Identifikasi senyawa flavonoid menggunakan KLT, fase diam silica gel GF₂₅₄ dan fase gerak kloroform : etil asetat (3 : 2) dengan pereaksi semprot AlCl₃ 10%. Senyawa flavonoid akan terlihat bercak berwarna kuning pada sinar tampak, berwarna hijau pada sinar UV 254 nm dan terlihat berwarna fluoresensi berwarna biru pada sinar UV 366 nm (Sopiah *et al.*, 2019).

b. Identifikasi Tanin

Identifikasi senyawa tanin secara KLT menggunakan fase diam silica gel GF₂₅₄ dan fase gerak toluene : etil asetat (3:1) dengan pereaksi semprot FeCl₃ 5%. Identifikasi senyawa tanin pada UV 254 nm, UV 366 nm berwarna biru kehitaman dan kehitam-hitaman dibawah sinar tampak (Maulana, 2018).

c. Identifikasi Terpenoid

Identifikasi senyawa triterpenoid secara KLT menggunakan fase diam silica gel GF₂₅₄ dan fase gerak n-heksan : etil asetat (1 : 1) dengan pereaksi semprot H₂SO₄. Identifikasi senyawa triterpenoid berupa warna merah, merah keunguan, ungu tua, hijau-biru dibawah sinar tampak UV 254 nm dan UV 366 nm, sedangkan pada sinar tampak berwarna cokelat (Maulana, 2018).

7. Fraksinasi

Ekstrak kental sebanyak 10 gram dilarutkan dengan aquadest sebanyak 75 ml. Kemudian dimasukkan dalam corong pisah. Fraksinasi pertama dengan penambahan n-heksana sebanyak 75 ml kemudian digojok dan didiamkan sampai terbentuk 2 lapisan (lapisan atas n-heksana dan lapisan bawah aquadest), ambil lapisan n-heksan (direplikasi 3 kali). Fraksi selanjutnya dilakukan dengan penambahan etil asetat sebanyak 75 ml ke dalam corong pisah kemudian digojok dan didiamkan sampai terbentuk 2 lapisan (lapisan bawah aquadest dan lapisan atas etil asetat), ambil lapisan etil asetat (replikasi 3 kali). Fraksi air, n-heksana, dan etil asetat selanjutnya dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan di pekatkan diatas *waterbath* (Makalusenge, 2022).

8. Uji Identifikasi Kandungan Kimia Fraksi Teraktif Etil Asetat Secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

a. Identifikasi Flavonoid

Identifikasi senyawa flavonoid menggunakan KLT, fase diam silica gel GF₂₅₄ dan fase gerak kloroform : etil asetat (3 : 2) dengan pereaksi semprot AlCl₃ 10%. Senyawa flavonoid akan terlihat bercak berwarna kuning pada sinar tampak, berwarna hijau pada sinar UV 254 nm dan terlihat berwarna fluoresensi berwarna biru pada sinar UV 366 nm (Sopiah *et al.*, 2019).

b. Identifikasi Tanin

Identifikasi senyawa tanin secara KLT menggunakan fase diam silica gel GF₂₅₄ dan fase gerak toluene : etil asetat (3:1) dengan pereaksi semprot FeCl₃ 5%. Identifikasi senyawa tanin pada UV 254 nm, UV 366 nm berwarna biru kehitaman dan kehitam-hitaman dibawah sinar tampak (Maulana, 2018).

9. Pembuatan suspensi bakteri *Propionibacterium acnes*

Untuk suspensi bakteri *Propionibacterium acnes* yaitu dengan cara biakan *Propionibacterium acnes* diambil dengan kawat ose steril, kemudian disuspensikan kedalam tabung reaksi yang berisi 2 ml NaCl 0,9% hingga diperoleh kekeruhan yang sama dengan standar kekeruhan Mc.Farland (Ngajow *et al.*, 2013).

10. Pengujian Aktivitas Antibakteri *Propionibacterium Acnes*.

Pengujian aktivitas antibakteri *Propionibacterium acnes* dilakukan dengan metode uji difusi.

Ekstrak dan fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanol kulit buah kakao (*Theobroma cacao L*) yang diperoleh diuji secara difusi ke bakteri *Propionibacterium acnes*. Metode yang digunakan yaitu difusi dengan menyelupkan kapas lidi steril pada suspensi bakteri yang telah dibuat kemudian diinokulasikan ke dalam media MHA dengan metode perataan (*Spread Plate*

Method). Medium didiamkan 10 menit pada suhu kamar agar suspensi biakan terdifusi ke dalam media. Kertas cakram direndam selama 15 menit dengan ekstrak etanol kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) dan fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air dengan 5 konsentrasi yaitu 3,12%, 6,25%, 12,5%, 25%, dan 50%, clindamycin sebagai kontrol positif dan kontrol negatif pelarut DMSO 1%, masing-masing dengan volume 10 µl dan kontrol normal tanpa penambahan suspensi *Propionibacterium acnes* dan clindamycin. Masa inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dan diamati hasilnya. Diameter zona hambat sekitar kertas cakram diukur dan dinyatakan dalam satuan mm. Daerah yang tidak ditumbuhi bakteri sekitar disk menandakan bahwa kandungan kimia kulit buah kakao memiliki daya hambat terhadap *Propionibacterium acnes*. Pengujian ini dilakukan sebanyak 3 kali replikasi (Monica, 2021).

ANALISIS DATA

Analisis data dalam penelitian ini menggunakan perangkat lunak SPSS (*Statistical Product for Service Solutions*) merupakan program komputer statistik yang mampu memproses data statistik secara cepat dan akurat. Data penelitian ini dianalisis dengan menggunakan SPSS 25, menggunakan uji One Way ANOVA (*Analysis of Varians*) dan perlu dilakukan uji lanjutan yaitu *Post Hoc Test*. Uji *Post Hoc* yang dilakukan dengan metode *Tukey*. Uji tersebut bertujuan untuk mengetahui perbedaan antara ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) dan fraksi dengan kontrol positif clindamycin. Adanya perbedaan signifikan pada uji ditandai dengan nilai $p < 0,05$. Perbedaan signifikan ini menunjukkan bahwa fraksi kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) dengan ketiga pelarut tersebut berbeda secara signifikan terhadap kontrol positif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Pengolahan Sampel

Pengumpulan sampel Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao L.*) yang telah dipilih, kemudian dicuci dengan air mengalir hingga bersih. Selanjutnya kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) dirajang dengan ukuran yang kecil supaya cepat dalam proses pengeringan. Kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) dikeringkan dengan sinar matahari langsung. Tujuan pengeringan yaitu untuk mengurangi kadar air bahan sehingga dapat menghambat pertumbuhan mikroba yang tidak diinginkan (Warnis *et al.*, 2020). Kulit buah kakao yang telah kering dibuat serbuk dengan cara ditumbuk menggunakan lumpang dan alu, setelah itu dihaluskan kembali dengan blender sampai halus dan diayak dengan ayakan mesh nomor 40.

2. Uji Parameter Non Spesifik Serbuk Simplisia

a. Penetapan Kadar Air Serbuk Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao L.*)

Penetapan kadar air serbuk simplisia bertujuan untuk memberikan Batasan minimal rentang besarnya kandungan air di dalam serbuk simplisia tersebut, persyaratan kadar air simplisia menurut parameter standar yang berlaku adalah tidak lebih dari 10% (Retnaningtyas *et al.*, 2016). Penetapan kadar air serbuk kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) dilakukan pengujian ke BPSMB (Balai Pengujian dan Sertifikasi Mutu Barang Surakarta) dengan mengirimkan sampel serbuk kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) sebanyak 2 gram. Berdasarkan hasil

pengujian yang diperoleh untuk penetapan kadar air serbuk kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) adalah 8,69%. Hal ini berarti kadar air serbuk kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) memenuhi persyaratan kadar air.

b. Penetapan Susut Pengeringan Serbuk Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao L.*)

Penetapan susut pengeringan serbuk merupakan salah satu parameter non spesifik yang bertujuan untuk memberikan batasan maksimal (rentang) tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan (Utami *et al.*, 2017).

Tabel 1. Hasil Susut Pengeringan Serbuk Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao L.*)

Bobot Serbuk (g)	Susut Pengeringan (%)	Pustaka (Farmakope Herbal Indonesia)
2,00 (g)	8,5%	<10%

Hasil susut pengeringan yaitu sebesar 8,5%. Susut pengeringan memenuhi persyaratan Farmakope Herbal Indonesia bila suatu serbuk simplisia tidak lebih dari 10%, jika terlalu tinggi dapat merubah komposisi kimia dari simplisia sehingga menurunkan kualitas simplisia dan mudah ditumbuhi bakteri.

3. Pembuatan Ekstrak Etanol 96% Kulit Kakao (*Theobroma cacao L.*)

Pembuatan ekstrak kulit buah kakao menggunakan metode maserasi. Proses maserasi dilakukan 3 x 24 jam dengan 2 x 24 jam sesekali sambil diaduk, setelah itu disaring menggunakan *corong buchner* diperoleh hasil maserasi, selanjutnya dipisahkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 40-50°C dan dikentalkan menggunakan *waterbath* sehingga didapat ekstrak etanol.

Tabel 2. Hasil Pembuatan Ekstrak Etanol 96% Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao L.*)

Bobot Serbuk (g)	Bobot Ekstrak (g)	Persentase (%)
500 (g)	50,056 (g)	10,01%

Berdasarkan tabel 2. dapat dilihat bahwa hasil ekstrak kental yang diperoleh pada kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) diperoleh sebanyak 50,056 gram dengan persentase 10,01%. Syarat rendemen ekstrak kental yaitu nilainya tidak kurang dari 10% (Farmakope Herbal Indonesia, 2017). Sehingga dapat dikatakan bahwa hasil rendemen memenuhi syarat.

4. Uji Parameter Non Spesifik Ekstrak

a. Uji Bebas Etanol Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao L.*)

Uji bebas etanol dilakukan untuk membebaskan ekstrak dari etanol sehingga didapatkan ekstrak yang murni tanpa ada kontaminasi, selain itu etanol sendiri bersifat sebagai antibakteri dan antifungi sehingga tidak akan menimbulkan positif palsu pada perlakuan sampel (Kurniawati, 2015).

Tabel 3. Hasil Uji Bebas Etanol Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao L.*)

Uji Bebas Etanol	Hasil Pengamatan	Pustaka (Tivani <i>et al.</i>, 2021)
-------------------------	-------------------------	---

Ekstrak kulit buah kakao + H ₂ SO ₄ pekat + CH ₃ COOH 1%, dipanaskan	(+) Tidak terdapat bau ester	Tidak terdapat bau ester yang khas dari etanol
---	------------------------------	--

Hasil uji bebas etanol menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) sudah bebas dari pelarut etanol 96% yang ditunjukkan tidak ada bau ester yang khas dari etanol.

b. Penetapan Kadar Air Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao L.*)

Penetapan kadar air pada ekstrak bertujuan untuk mengetahui kandungan atau jumlah air dalam ekstrak tersebut, persyaratan kadar air pada ekstrak menurut Badan Pengawas Obat Tradisional tidak boleh lebih dari 10% (BPOM, 2014). Penetapan kadar air ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) dilakukan pengujian ke BPSMB (Balai Pengujian dan Sertifikasi Mutu Barang Surakarta) dengan mengirimkan sampel ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) sebanyak 2 gram. Berdasarkan hasil pengujian yang diperoleh untuk penetapan kadar air ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) adalah 9,59%. Hal ini berarti kadar air ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) memenuhi persyaratan kadar air.

c. Penetapan Susut Pengerinan Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao L.*)

Penetapan susut pengerinan pada ekstrak merupakan salah satu persyaratan yang harus dipenuhi dalam standarisasi tumbuhan yang berkhasiat obat dengan tujuan dapat memberikan batas maksimal (rentang) tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengerinan (Najib *et al.*, 2018).

Tabel 4. Hasil Susut Pengerinan Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao L.*)

Bobot Serbuk (g)	Susut Pengerinan (%)	Pustaka (Farmakope Herbal Indonesia)
2,00 (g)	7%	<10%

Hasil susut pengerinan yaitu sebesar 7% Susut pengerinan ekstrak memenuhi persyaratan Farmakope Herbal Indonesia bila suatu ekstrak simplisia tidak lebih dari 10%, jika terlalu tinggi dapat merubah komposisi kimia dari simplisia sehingga menurunkan kualitas simplisia dan mudah ditumbuhi bakteri.

5. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao L.*)

Berdasarkan hasil pada tabel 5 dapat dilihat uji fitokimia pada ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) terdapat senyawa flavonoid, tanin dan triterpenoid.

Tabel 5. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao L.*)

Senyawa	Uji	Hasil dan Keterangan	Pustaka
Flavonoid	Ekstrak + metanol + serbuk Mg + 1 ml HCL pekat	(+) terbentuknya warna jingga	Terbentuknya warna jingga (Setyowati, <i>et al.</i> , 2014)

Tanin	Ekstrak + FeCl ₃ 10% + dikocok	+) terdapat warna Hijau kehitaman	Terbentuk warna biru tua atau hijau kehitaman (Widiastuti <i>et al.</i> , 2016)
Triterpenoid	Ekstrak + kloroform + anhidrida asetat + ml H ₂ SO ₄ pekat	(+) terbentuknya cincin kecoklatan	Terbentuknya cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan pelarut (Setyowati <i>et al.</i> , 2014)
Saponin	Ekstrak + air panas → didinginkan, kocok 30 detik biarkan dalam posisi tegak (30 menit)	(-) tidak terdapat adanya buih saat ditambah HCl 2N	Terdapat buih setinggi 1-10 cm dari permukaan cairan + HCl 2N buih tidak hilang (Widiastuti, <i>et al.</i> , 2016)
Alkaloid	Ekstrak + 1 ml HCl 2N + air → panas didinginkan, bagi 3 tabung + masing-masing pereaksi mayer, wagner, dragendorff	-) pereaksi meyer tidak ada terbentuknya endapan putih (-) pereaksi wagner tidak adanya edapan warna coklat (-) pereaksi dragendorff tidak terdapat endapan merah	- Mayer adanya endapan putih - Wagner adanya endapan coklat - Dragendorff terbentuknya endapan merah (Setyowati, <i>et al.</i> , 2014)

6. Identifikasi Kandungan Fitokimia Ekstrak Kulit Kakao (*Theobroma cacao L.*) Secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Identifikasi terhadap kandungan kimia dengan uji kromatografi lapis tipis (KLT) dilakukan pada ekstrak kental kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) tujuannya untuk memberikan ketegasan adanya kandungan senyawa kimia yang telah diidentifikasi dengan uji skrining fitokimia.

Tabel 6. Hasil Identifikasi Kandungan Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma Cacao L.*) Secara KLT

Pengujian	Fase Diam	Fase Gerak	Deteksi nm	Warna Sinar	Nilai Rf
-----------	-----------	------------	------------	-------------	----------

Flavonoid	Silica Gel	Kloroform : Etil Asetat (3 : 2)	UV 254	Hijau	0,28 cm
			UV 366	Biru	
			Sinar Tampak	-	
Tanin	Silica Gel	Toluen : Etil Asetat (3 : 1)	UV 254	Biru kehitaman	0,35 cm
			UV 366	Biru kehitaman	
			Sinar Tampak	Kehitama - hitaman	
Triterpenoid	Silica Gel	<i>n</i> -heksan : Etil Asetat (1:1)	UV 254	Hijau – biru	0,38 cm
			UV 366	Hijau – biru	
			Sinar Tampak	-	

Berdasarkan tabel 6 hasil identifikasi kromatografi lapis tipis, dapat disimpulkan bahwa kandungan ekstrak kulit buah kakao positif mengandung senyawa flavonoid, tanin dan triterpenoid. Menurut Sopiah (2019) senyawa flavonoid akan terlihat bercak berwarna kuning pada sinar tampak, berwarna hijau pada sinar UV 254 nm dan terlihat berwarna fluoresensi berwarna biru pada sinar UV 366 nm. Identifikasi senyawa tanin pada UV 254 nm, UV 366 nm berwarna biru kehitaman dan kehitam-hitaman dibawah sinar tampak (Maulana, 2018). Identifikasi senyawa triterpenoid berupa warna merah, merah keunguan, ungu tua, hijau-biru dibawah sinar tampak UV 254 nm dan UV 366 nm, sedangkan pada sinar tampak berwarna cokelat (Maulana, 2018).

7. Fraksinasi Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao L.*)

Fraksinasi dilakukan dengan menggunakan pelarut *n*-heksan, etil asetat, air dan dilakukan 3 kali replikasi.

Tabel 7. Hasil Rendemen Fraksinasi Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao L.*)

Nama Fraksi	Bobot Ekstrak (g)	Bobot Fraksi (g)	Rendemen (%)
Fraksi <i>n</i>-heksan	10 (g)	2,3 (g)	23%
Fraksi etil asetat	10 (g)	1,5 (g)	15%
Fraksi air	10 (g)	4,9 (g)	49%

Berdasarkan hasil rendemen pada tabel 7 dapat dilihat bahwa perhitungan persentase rendemen fraksinasi dari fraksi *n*-heksan kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) diperoleh persentase rata-rata yaitu 23%, kemudian pada fraksi etil asetat didapat persentase rata-rata rendemen sebanyak 15% dan pada fraksi air diperoleh persentase rata-rata rendemen sebesar 49%. Hasil rendemen yang berbeda dari tiap fraksi berkaitan dengan banyaknya senyawa yang terkandung didalam kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*). Pengulangan dilakukan bertujuan untuk efisiensi dari proses penyarian senyawa. Penyarian yang baik diperoleh apabila jumlah ekstraksi yang dilakukan berulang dengan penambahan jumlah pelarut sedikit demi sedikit (Khopkar, 2003).

8. Identifikasi Kandungan Kimia Fraksi Teraktif Secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Identifikasi terhadap kandungan kimia dengan KLT hanya dilakukan pada fraksi etil asetat karena fraksi ini mempunyai aktivitas antibakteri paling aktif terhadap *Propionibacterium acnes* ATCC 11827.

Tabel 8. Hasil Identifikasi Kandungan Kimia Fraksi Etil Asetat Secara KLT

Pengujian	Fase Diam	Fase Gerak	Deteksi nm	Warna Sinar	Nilai Rf
Flavonoid	Silica Gel	Kloroform : etil asetat (3 : 2)	UV 254	Hijau	0,57 cm
			UV 366	Biru	
			Sinar Tampak	-	
Tanin	Silica Gel	<i>n</i> -heksan : etil asetat (3:1)	UV 254	Biru kehitaman	0,54 cm
			UV 366	Biru kehitaman	
			Sinar Tampak	Kehitaman - hitaman	

Berdasarkan hasil identifikasi kandungan kimia fraksi etil asetat pada tabel 8 menunjukkan bahwa fraksi etil asetat dari kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) terdapat senyawa flavonoid dan tanin. Menurut Sopiah (2019) senyawa flavonoid akan terlihat bercak berwarna kuning pada sinar tampak, berwarna hijau pada sinar UV 254 nm dan terlihat berwarna fluoresensi berwarna biru pada sinar UV 366 nm. Identifikasi senyawa tanin pada UV 254 nm, UV 366 nm berwarna biru kehitaman dan kehitaman-hitaman dibawah sinar tampak (Maulana, 2018).

9. Pengujian Antibakteri *Propionibacterium acnes* ATCC 11827 Secara Difusi

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak, fraksi *n*-heksan, etil asetat dan fraksi air dari kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) dengan menunjukkan adanya daya hambat disekitar disk. Berdasarkan hasil pada tabel 9 dapat dilihat semakin besar konsentrasi maka semakin besar daya hambat pada masing-masing kelompok. kemampuan antibakteri dalam menghambat mikroorganisme tergantung pada konsentrasi dan jenis antibakterinya. Semakin tinggi konsentrasi suatu antibakteri,

maka zona bening yang terbentuk semakin besar. Semakin tinggi konsentrasi bahan antibakteri, maka zat aktif yang terkandung di dalamnya semakin banyak, sehingga efektivitas dalam menghambat bakteri akan semakin meningkat dan membentuk zona bening yang lebih luas. Sebaliknya, pada konsentrasi kecil zat antibakteri yang terdapat di dalam suatu bahan antibakteri akan semakin sedikit, sehingga aktivitasnya akan menurun (Pratiwi, 2016).

Tabel 9. Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri Secara Difusi Terhadap Bakteri

Bahan Uji	Konsentrasi	Daya Hambat (mm)			Rata-Rata (mm) ± SD
		I	II	III	
		Propionibacterium acnes ATCC 11827			
Ekstrak	3,125%	8	7,5	8	7,83 ± 0,51
	6,25%	7,7	8,5	8,7	8,33 ± 0,68
	12,5%	9	10	10,5	9,83 ± 0,76
	25%	12	12	12,5	12,16 ± 0,28
	50%	13	12,5	13	12,83 ± 0,28
N-Heksan	3,125%	7	7,5	7,5	7,33 ± 0,28
	6,25%	8	8,5	8,5	8,33 ± 0,28
	12,5%	8,4	8	8,6	8,33 ± 0,30
	25%	9,8	9	9,5	9,43 ± 0,40
	50%	11	12	12,2	11,73 ± 0,64
Etil Asetat	3,125%	8	8,7	9	8,56 ± 0,28
	6,25%	10	9	10,3	9,76 ± 0,52
	12,5%	10	10,5	10	9,83 ± 0,76
	25%	13	13,5	13,5	13,33 ± 0,28
	50%	15,5	15,5	15,5	15,5 ± 0,00
Air	3,125%	6	6,6	6,7	6,43 ± 0,37
	6,25%	7	7,5	7,5	7,33 ± 0,28
	12,5%	9	9	9	9,00 ± 0,00
	25%	10	10,5	10,5	10,33 ± 0,28
	50%	11,5	11	11,5	11,33 ± 0,28
K (+) Klindamycin		16	16	16,5	16,16 ± 0,28
		17,5	17	17,5	17,33 ± 0,28
		18	18	18	18,00 ± 0,00
		19	19	19	19,00 ± 0,00
K (-) DMSO 1%		0	0	0	0,00 ± 0,00
		0	0	0	0,00 ± 0,00
		0	0	0	0,00 ± 0,00
		0	0	0	0,00 ± 0,00

Tabel 10 Hasil Post Hoc Test Tukey Rerata Diameter Uji Homogen Subset Dari Aktivitas Ekstrak dan Fraksi Dari Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao L.*) Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes* ATCC 11827

Konsentrasi	Perlakuan	Rata-rata (cm)
K (-) 1%	DMSO	0,00
3,125%	Fraksi Air	6,43
	Fraksi <i>n</i> -heksan	7,33
	Fraksi etilasetat	8,56
	Ekstrak	7,83
6,25%	Fraksi Air	7,33
	Fraksi <i>n</i> -heksan	8,33
	Fraksi etilasetat	9,76
	Ekstrak	8,3
12,5%	Fraksi Air	9,00
	Fraksi <i>n</i> -heksan	8,33
	Fraksi etilasetat	10,16
	Ekstrak	9,83
25%	Fraksi Air	10,33
	Fraksi <i>n</i> -heksan	9,43
	Fraksi etilasetat	13,5
	Ekstrak	12,16
50%	Fraksi Air	11,33
	Fraksi <i>n</i> -heksan	11,73
	Fraksi etilasetat	15,5
	Ekstrak	12,83
K (+)	Klindamycin	17,62

Hasil pengujian *Post Hoc Tukey* menunjukkan bahwa ekstrak, fraksi *n*-heksan, etilasetat dan air memiliki efek dalam menghambat pertumbuhan bakteri, bahwa kontrol negatif DMSO 1%, konsentrasi pada ekstrak 3,125%, 12,5%, konsentrasi dari fraksi air 3,125%, 25%, 50%, konsentrasi dari etilasetat 3,125%, 25%, 50%, konsentrasi dari fraksi *n*-heksan 50% menunjukkan adanya perbedaan nyata dengan seluruh perlakuan yang tertera ditabel diatas sedangkan konsentrasi

ekstrak 6,25%, 25%, 50%, konsentrasi fraksi *n*-heksan 3,125%, 6,25%, 12,5%, 25%, konsentrasi fraksi air 6,25%, 12,5%, konsentrasi pada fraksi etil asetat 6,25%, dan 12,5% tidak menunjukkan perbedaan nyata, tetapi fraksi etil asetat mempunyai aktivitas antibakteri yang paling efektif dengan konsentrasi 3,12%, 6,25%, 12,5%, 25% dan 50% dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* ATCC 11827 karena mempunyai daya hambat 8,56 mm, 9,76 mm, 9,83 mm, 13,33 mm dan 15,5 mm. Sifat etil asetat yang semi polar ini menyebabkan fraksi mengandung metabolit sekunder yang lebih kompleks dibandingkan pada fraksi polar dan nonpolar. Hal tersebut mengakibatkan fraksi etil asetat menjadi fraksi teraktif dengan membentuk daya hambat paling besar serta teraktif dibandingkan dengan ekstrak, fraksi *n*-heksana, dan fraksi air.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian uji aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi *n*-heksan, etil asetat, fraksi air dari kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* ATCC 11827 secara difusi dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air dari kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) mempunyai daya hambat terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* ATCC 11827 dengan terbentuknya zona hambat. Secara difusi fraksi etil asetat mempunyai aktivitas antibakteri yang paling efektif dengan konsentrasi 3,12%, 6,25%, 12,5%, 25% dan 50% memiliki diameter sebesar 7,83 mm, 8,33 mm, 9,83 mm, 13,33 mm dan 15,5 mm.

REFERENSI

- 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.
- BPOM. (2014). Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia Nomor 12 Tahun 2014 Tentang Persyaratan Mutu Obat Tradisional. *Badan Pengawas Obat Dan Makanan*, 1–25.
- Farmakope Herbal Indonesia. 2017. *Edisi II*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Hafsari, A. R., Cahyanto, T., Sujarwo, T., & Rahayu Indri Lestari. (2015). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea indica (L.) LESS.*) Terhadap *Propionibacterium acnes* Penyebab Jerawat. *Jurnal Ilmu Alam Dan Lingkungan*, IX(1), 141–161.
- Kariem. V. El, & Maesaroh, I. (2022). Standarisasi Mutu Simplisia Jahe (*Zingiber Officinale Roscoe*) Dengan Pengeringan Sinar Matahari Dan Oven. *Herbapharma. Journal of Herb Pharmacological*, 4(1), 1–10.
- Khopkar, S.M., 2003. *Konsep dasar Kimia Analitik*. Jakarta: UI press.
- Kurniawati, E. (2015). Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Tunas Bambu Apus Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Jurnal Wiyata*, 2(2), 193–199.
- Lestari, H. D., Asri, M. T., Biologi, J., Matematika, F., Pengetahuan, I., Universitas, A., & Surabaya, N. (2021). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao L.*) Terhadap *Staphylococcus epidermidis*. *Jurnal Unesa*. 10, 302–308.

- Makalunsenge., M. O. A. Y. E. M. R. (2022). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Dan Fraksi Dari *Callyspongia aerizusa*. *Jurnal Pharmacon*, 11(November), 1679–1684.
- Maulana, M. (2018). Profil Kromatografi Lapis Tipis (Klt) Ekstrak Daun Bidara Arab (*Ziziphus Spina Cristi*. L) Berdasarkan Variasi Pelarut. *Journal Of Controlled Release*, 11(2), 430–439.
- Monica Sandy, Siska Wardani, T., & Dwi Septiarini, A. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak, Fraksi N-Heksan, Fraksi Etil Asetat, Fraksi Air Daun Pegagan (*Centella asiatica (L.) Urb*) Terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922. *Media Farmasi Indonesia*, 16(2), 1683–1692.
- Najib, A., Malik, A., Ahmad, A. R., Handayani, V., Syarif, R. A., & Waris, R. (2018). Standardisasi Ekstrak Air Daun Jati Belanda Dan Daun Jati Hijau. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 4(2), 241–245.
- Ngajow. M., Abidjulu, J. and Kamu, V. S. (2013). Antibacterial Effect of Matoa Stem (*Pometia pinnata*) peels Extract to *Staphylococcus aureus* Bacteria In Vitro. *Jurnal MIPA UNSRAT*, 2(2), pp. 128–132.
- Niah. R., & Baharsyah, R. N. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Buah Naga Merah Super (*Hyclocereus costaricensis*). *Jurnal Pharmascience*. 5(1), 14–21.
- Permatasari, D. A. (2020). Aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi daun jambu mete (*Anacardium occidentale* Linn.) terhadap *Propionibacterium acnes* menggunakan metode sumuran. *Skripsi* Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, 19.
- Pratiwi S., 2016, Uji Efektivitas Ekstrak Daun Cincau Hijau Rambut (*Cyclea barbata* Miers.) Sebagai Antibakteri Terhadap *Bacillus cereus* dan *Shigella dysenteriae* Secara In Vitro Dengan Metode Difusi. *Skripsi*. Jakarta: Universitas Pembangunan Nasional “Veteran”.
- Retnaningtyas, Y., Kristiningrum, N., Renggani, H. D., & Narindra, N. P. (2016). Karakteristik Simplisia dan Teh Herbal Daun Kopi Arabika (*Coffea arabica*). *Farmasi Jember*, 1(1), 46–54.
- Rukmawati. Y. E. A., Hartini, S., & Cahyanti, M. N. (2017). Isoterm Sorpsi Air pada Tepung Ubi Jalar Terfermentasi dengan Angkak. *Jurnal Kimia Valensi*. 3(1), 71–78.
- Sopiah. B., Muliastari, H., & Yuanita, E. (2019). Skrining Fitokimia dan Potensi Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Hijau dan Daun Merah Kastuba. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 17(1).
- Setyowati, W. A. E., Ariani, S. R. D., Ashadi, Mulyani, B., & Rahmawati, C. P. (2014). *Skrining Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (Durio zibethinus Murr.) Varietas Petruk*. Seminar Nasional Kimia Dan Pendidikan Kimia, VI, 271–280.
- Tivani, I., Amananti, W., & Putri, A. R. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Handwash Ekstrak Daun Turi (*Sesbania grandiflora L*) Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 7(1), 86–91.
- Utami, Y. P., Umar, A. H., Syahrini, R., & Kadullah, I. (2017). Standardisasi Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Leilem (*Clerodendrum*). *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences*, 2(1), 32–39.
- Warnis, M., Aprilina, L. A., & Maryanti, L. (2020). Pengaruh Suhu Pengeringan

- Simplisia Terhadap Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera L.*). *Seminar Nasional Kahuripan (SNapan) 2020*, 264–268.
- Widiastuti, R., Nurhaeni, F, Marfuah, D. L, & Wibowo, G. S. (2016). Potensi Antibakteri dan Anticandida Ekstrak Etanol Daun Pegagan (*Centella asiatica*). *Jurnal Ilmu Kesehatan Bhakti Setya Medika*. 4(L), 23–30.