



Efektifitas Kulit Buah Kakao (*Theobroma Cacao L*) Sebagai Biosorben Terhadap Logam Pb dan Cd dan Anti Bakteri Terhadap *Staphylococcus Aureus*

Dicky Prasetyo¹✉, La Ifa¹, Setyawati Yani¹

⁽¹⁾Teknik Kimia, Universitas Muslim Indonesia

DOI: 10.31004/jutin.v8i3.48742

✉ Corresponding author:

dicky.prasetyo@gmail.com

Article Info

Abstrak

Kata kunci:

Anti Bakteri;

Staphylococcus Aureus;

Kulit Buah Kakao;

Biosorben;

Merasi;

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi biosorben kulit buah kakao (*Theobroma Cacao L*) terhadap penurunan Logam Pb & Cd dalam Air Limbah buangan AAS dan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi ekstrak kulit buah kakao dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus Aureus* (*S. Aureus*). Biosorben kulit buah kakao diaktivasi dengan HNO_3 0,6 N. Biosorben dengan massa 5 gram, 10 gram dan 15 gram mampu menyerap logam Pb dan Cd pada limbah yaitu masing-masing menyerap sebesar 1,7703 mg/L, 2,1428 mg/L dan 2,4868 mg/L dari konsentrasi awal limbah yaitu 3,0069 mg/L. Sehingga diperoleh efektifitas penyerapan yaitu masing-masing sebesar 58,87%, 71,26% dan 82,70% dimana penyerapan terbesar dengan penambahan biosorben sebanyak 15 gram dan logam Cd pada limbah yaitu masing-masing menyerap sebesar 2,0100 mg/L, 2,3538 mg/L dan 2,6499 mg/L dari konsentrasi awal limbah yaitu 3,0024 mg/L. Sehingga diperoleh efektifitas penyerapan yaitu masing-masing sebesar 66,94%, 78,35% dan 88,25%, dimana penyerapan terbesar dengan penambahan biosorben sebanyak 15 gram.

Abstract

Keywords:

Antibacterial;

Staphylococcus Aureus;

Cocoa Fruit Peel;

Biosorbent;

Maceration;

*This study aims to determine the effect of the concentration of cocoa peel biosorbent (*Theobroma Cacao L*) on the decrease of Pb & Cd Metals in AAS wastewater and to determine the effect of cocoa peel extract concentration in inhibiting the growth of *Staphylococcus Aureus* (*S. Aureus*) bacteria. Cocoa peel biosorbents were activated with HNO_3 0.6 N. Biosorbents with masses of 5 grams, 10 grams and 15 grams were able to absorb Pb and Cd metals in the waste, which absorbed 1.7703 mg/L, 2.1428 mg/L and 2.4868 mg/L respectively from the initial concentration of waste which was 3.0069 mg/L. So that the absorption effectiveness was obtained at 58.87%, respectively. 71.26% and 82.70% where the largest absorption was with the addition of 15 grams of biosorbent and metal Cd in the waste, which were absorbed by 2.0100 mg/L, 2.3538 mg/L and 2.6499 mg/L respectively from the initial*

concentration of waste, which was 3.0024 mg/L. So that the absorption effectiveness was obtained which was 66.94%, 78.35% and 88.25%, respectively, where the largest absorption was with the addition of biosorbents of 15 grams.

1. PENDAHULUAN

Seiring dengan perkembangan industri di Indonesia, maka pencemaran oleh industri pun akan mengalami peningkatan secara tajam. Aktifitas yang berlangsung pada industri, menyebabkan tingginya tingkat pembuangan air limbah ke lingkungan menyebabkan terjadinya permasalahan lingkungan yang fatal. Salah satu masalah utama yang dihadapi oleh masyarakat adalah pencemaran air, karena jika limbah cair tidak ditangani dengan baik dapat mengurangi kualitas air yang merupakan sumber utama bagi semua makhluk hidup. Oleh karena itu, pemeliharaan akan kualitas dan kuantitas air sangatlah penting demi suatu kelestarian lingkungan yang berkelanjutan (Hayati et al, 2017).

Pencemaran lingkungan sangat merugikan kehidupan makhluk hidup. Pencemaran dapat terjadi pada atmosfer, tanah dan perairan. Adapun beberapa jenis bahan pencemar yang biasa ditemukan adalah bahan kimia dan bahan mikrobiologi. Salah satu cemaran mikrobiologi adalah bakteri-bakteri yang pathogen. Beberapa bakteri dapat menyebabkan timbulnya penyakit pada manusia. Salah satu bakteri pathogen adalah *Staphylococcus Aureus* yang dapat menyebabkan penyakit infeksi, bakteri tersebut memproduksi enterotoksin yang dapat mencemari makanan, pada umumnya makanan tercemar dibawah suhu 4oC sehingga mengakibatkan keracunan (Aprilia et al , 2016).

Polusi air meningkat dari hari ke hari disebabkan beberapa faktor antara lain kontaminasi ion logam berat, racun, pewarna, dan limbah. Alasan utama pencemaran ini adalah pelepasan limbah yang belum diproses dan tidak diolah. Di antara faktor tersebut, kontaminasi logam berat sangat berbahaya dan menimbulkan risiko yang sangat berbahaya bagi ekosistem, pertanian dan kesehatan manusia. Banyak ion logam berat ini hadir di lingkungan secara alami dan juga dalam tubuh manusia sebagai zat gizi mikro, tetapi logam berat seperti Kadmium (Cd), merkuri (Hg), timah (Sn), kromium (Cr), timbal (Pb), dan arsenik (As) sangat beracun dan berbahaya bagi lingkungan ketika terakumulasi (Samprot et al., 2019). Logam-logam tertentu dalam konsentrasi tinggi akan sangat berbahaya bila ditemukan di dalam lingkungan (air, tanah dan udara). Salah satu contoh logam berat yang sangat berbahaya adalah logam kadmium (Cd) dan timah (Pb).

Logam Cd mempunyai penyebaran yang sangat luas di alam. Kadmium memiliki dampak negatif dalam tubuh manusia yaitu dapat menghambat kerja paru- paru, bahkan mengakibatkan kanker paru-paru, mual, muntah, diare, kram, anemia, kerusakan ginjal dan hati. Berdasarkan Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No.492/ Menkes/ Per/ 2010 ambang batas kandungan kadmium dalam air minum adalah 0,003 mg/L (Maylani, 2015). Pb (II) adalah Timbal atau timah hitam yang digolongkan sebagai bahan pencemar berbahaya karena memiliki toksitas tinggi. Menurut keputusan Kep. Men. Neg. L.H. No.: KEP-1/MENLH/10/1995 tentang baku mutu limbah cair bagi kegiatan Industri logam, timbal yang diijinkan untuk dibuang ke lingkungan adalah sebesar 0,1 mg/L, sementara itu baku mutu maksimal logam timbal adalah sebesar 0,05-1 mg/L. (KepmenLH)

Beberapa teknologi telah dikembangkan untuk menghilangkan logam berat dalam perairan, seperti presipitasi, filtrasi membran, pertukaran ion, serta kopresipitasi. Namun metode tersebut memiliki beberapa kekurangan seperti penghilangan logam yang tidak sempurna, peralatan yang mahal, serta kerugian yang disebabkan oleh produksi endapan kimia yang beracun dan pengolahan limbah menjadi tidak ramah lingkungan. Biosorpsi merupakan metode alternatif untuk menghilangkan logam berat dari perairan karena menggunakan bahan biomaterial yang mudah didapatkan, ramah lingkungan dan biayanya relatif murah (Yetri et al, 2018).

Beberapa biomaterial yang sangat berpotensi sebagai antibakteri dan penyerap logam berat umumnya berasal dari limbah pertanian. Buah coklat (*Theobroma cacao L*) merupakan salah satu hasil perkebunan yang menghasilkan limbah berupa kulit dengan jumlah yang besar. Kulit buah kakao mengandung senyawa aktif flavonoid atau tanin terkondensasi atau terpolimerisasi, seperti antosianidin, katekin, dan leukoantosianidin yang banyak terikat dengan glukosa. Senyawa-senyawa bioaktif tersebut diketahui memiliki sifat antibakteri. Keberadaan senyawa tersebut di dalam kulit buah kakao diduga menjadi salah satu penyebab tidak ditemukannya penyakit pada tanaman kakao yang disebabkan oleh bakteri (Mulyatni et al, 2012). Selain sebagai antibakteri, kulit buah coklat (*Theobroma cacao L*) juga mengandung selulosa, pektin, dan lignin yang berpotensi mengikat logam berat seperti logam Pb dan Cd dari larutan (Malimongan et al, 2014).

Limbah cair adalah buangan yang dihasilkan dari suatu proses produksi baik industri maupun domestik (rumah tangga), yang lebih dikenal sebagai sampah, yang kehadirannya pada suatu saat dan tempat tertentu tidak dikehendaki lingkungan karena tidak memiliki nilai ekonomis. Selain itu, dengan konsentrasi dan kuantitas tertentu, kehadiran limbah dapat berdampak negatif terhadap lingkungan, salah satu jenis limbah yang sangat berbahaya adalah limbah yang mengandung logam berat. Dimana logam berat adalah logam yang tidak bisa didegradasi oleh mikroorganisme, sehingga apabila tidak segera dilakukan pengolahan terhadap limbah tersebut, maka limbah tersebut akan terus-menerus menumpuk di lingkungannya dan akan menimbulkan pencemaran (Azura Afrina, et al 2018)

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Husna et al, 2021 tentang kemampuan kulit buah kakao (*Theobroma Cacao*) sebagai biosorben terhadap logam Cd menunjukkan bahwa kulit buah kakao (*Theobroma cacao*) dapat dijadikan adsorben dengan aktivator menggunakan Asam Nitrat (HNO₃) dan penelitian yang dilakukan oleh Mulyatni et al, 2012 menunjukkan bahwa ekstrak konsentrat kulit buah kakao mempunyai potensi sebagai bahan antibakteri terhadap *E. coli*, *B. subtilis*, dan *S. aureus*. Dimana ekstrak konsentrat kulit buah kakao paling efektif menghambat pertumbuhan *S. aureus* dengan konsentrasi hambat minimum (KHM) 8% (g/mL) dan *E. coli* dengan KHM berturut-turut sebesar 16% (g/mL) dan 32% (g/mL). Sehingga berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Husna et al, 2021 menunjukkan kulit buah kakao dapat menurunkan kadar logam Cd dengan aktivator Asam Nitrat dengan efisiensi maksimum 76,45%, sedangkan penelitian yang dilakukan Mulyatni et al, 2012 menunjukkan bahwa kulit buah kakao mempunyai potensi sebagai antibakteri terhadap *S. aureus* dengan KHM 8 % (g/mL) dengan diameter daya hambat 2,33 mm.

Berkaitan dengan kedua penelitian yang telah dilakukan, maka dilakukan penelitian tentang "Efektifitas Kulit Buah Kakao (*Theobroma Cacao* L) sebagai Biosorben terhadap Logam Pb dan Cd dan Anti Bakteri terhadap *Staphylococcus Aureus*", adapun limbah yang digunakan adalah limbah buangan dari Alat Atomic Absorption Spectrophotometer, dengan harapan penyerapan logam timbal dan Kadmium oleh biosorben kulit buah kakao dapat diketahui dengan tepat, sehingga dapat diaplikasikan pada limbah-limbah industri maupun limbah domestik.

2. METODE

Lokasi dan Waktu Penelitian

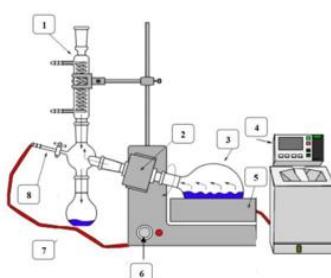
Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Balai Besar Standarisasi Pelayanan Jasa Industri Hasil Perkebunan Mineral Logam dan Maritim, Makassar pada tanggal 29 Mei s/d 29 Juli 2024.

Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit buah kakao (*Theobroma Cacao* L), Air Limbah Buangan Atomic Absorption Spectrophotometer, HNO₃ p.a, Kalium Iodida, Iodium, Mg(SO)₄, HCl p.a, BPA (baird parker agar) atau Buffer Fosfat, media BHIB (brain heart infusion broth), Rabit plasma, akuades, akuabides, etanol 96%, kertas pH universal, aluminium foil, dan kertas saring whatman 41.

Alat Penelitian

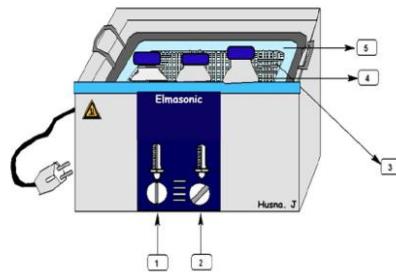
Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik, gelas piala, spektrofotometer Serapan Atom (SSA), magnetik stirrer, sonicator, oven, incubator, autoclave, Laminar Air Flow, ayakan 50 mesh, corong pisah, penyaring vakum, rotary evaporator Heidolph Hei-Vap Value dan vortex.



Gambar 1 Rangkaian alat Rotary evaporator pada proses evaporasi

Keterangan:

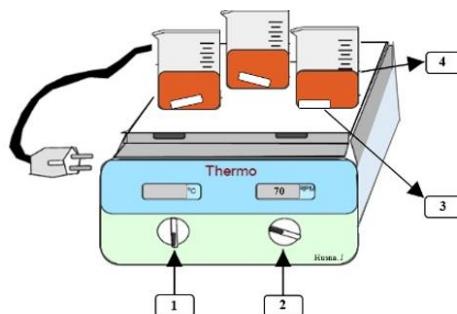
- | | |
|------------------------------|-----------------------|
| 1. Perangkap dingin | 5. Water Bath |
| 2. Pemutar labu evaporasi | 6. Pengatur suhu |
| 3. Wadah Sampel | 7. Wadah sisa pelarut |
| 4. Pengatur Suhu dan Tekanan | 8. Sambungan Vakum |



Gambar 2 Alat Sonikator

Keterangan:

1. Pengatur Waktu
2. Pengatur Suhu
3. Rak Penyangga Sampel
4. Wadah Sampel
5. Wadah penampungan



Gambar 3 Rangkaian alat pada Proses Adsorbsi

Keterangan:

1. Pengatur Suhu (oC)
2. Pengatur Kecepatan (rpm)
3. Magnetic Stirrer
4. Sampel dan adsorben

Variabel Penelitian

1. Variabel Tetap
 - a. Jenis bahan baku : Kulit buah kakao
 - b. Suhu Evaporasi : 50oC
 - c. Suhu Oven : 50oC
2. Variabel Berubah
 - a. Konsentrasi biosorben : 5 gram, 10 gram dan 15 gram
 - b. Konsentrasi antibakteri : 25%, 50% dan 75%

Prosedur Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan dua metode, yaitu pada proses pembuatan ekstrak kulit buah kakao sebagai antibakteri dan pembuatan biosorben kulit buah kakao yang akan diaplikasikan pada limbah yang mengandung logam Kadmium. Adapun tahap-tahapannya adalah sebagai berikut:

Ekstraksi Kulit Buah Kakao Sebagai Antibakteri.

Sterilisasi Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian uji antibakteri ini disterilkan terlebih dahulu. Alat-alat gelas disterilkan dalam oven pada suhu 150°C selama ± 2 jam, jarum ose dan pinset dibakar dengan pembakaran diatas api langsung dan media disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit

Isolasi *Staphylococcus Aureus*

Secara aseptis pindahkan 1 ml dari setiap pengenceran 101 ,102 , dst. masukkan dalam 3 cawan masing masing (0,4 ml; 0,3 ml; 0,3 ml) yang sudah berisi media Baird Parker Agar. Ratakan inokulum pada permukaan agar dengan menggunakan batang gelas bengkok dan biarkan inokulum sampai terserap ke dalam media kira kira 10 menit dalam media Baird Parker Agar kering. Bila inokulum belum terserap, letakkan cawan dalam inkubator dengan posisi menghadap ke atas sekitar 1 jam. Balik cawan Petri dan inkubasi selama 45 jam - 48 jam pada suhu (35 ± 1) °C. Koloni *Staphylococcus aureus* pada Baird Parker Agar mempunyai ciri-ciri: koloni bundar, licin/halus, cembung, diameter 2 mm - 3 mm, warna abu - abu hingga kehitaman, sekeliling tepi koloni bening (terbentuk halo). Koloni-koloni mempunyai konsistensi berlemak dan lengket bila diambil dengan jarum inokulasi.

Preparasi Ekstrak konsentrat kulit biji kakao

Kulit buah kakao hibrida yang sudah masak diekstrak dengan metode Maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Sebelum proses ekstraksi kulit buah kakao dikeringkan dan dihaluskan hingga menjadi serbuk halus. Sebanyak 500 mg bubuk kulit buah kakao dimasukkan ke dalam gelas kimia dan ditambahkan pelarut etanol 96% dengan perbandingan (1 : 2,5). Perendaman dilakukan selama 5 hari dan setiap hari dilakukan pengadukan. Pada hari ke lima dilakukan penyaringan sehingga diperoleh filtrat 1 dan dimasukkan ke dalam botol mikro steril dan disimpan dalam kulkas. Sedangkan rafinat kembali dimasukkan ke dalam gelas kimia dan ditambahkan pelarut etanol 96%, selanjutnya dimerasi selama 5 hari. Hasil ekstrak kembali disaring diperoleh filtrat 2, kemudian dimasukkan ke dalam botol mikro steril dan disimpan dalam kulkas. Rafinat yang diperoleh kembali dimasukkan ke dalam gelas kimia dan ditambahkan larutan etanol 96%, selanjutnya dimerasi selama 5 hari. Hasil ekstraksi kembali disaring diperoleh filtrat 3. Filtrat 1, filtrat 2 dan filtrat 3 digabungkan menjadi satu, selanjutnya dievaporasi pada tekanan rendah dan suhu 50°C diperoleh ekstrak konsentrat kulit buah kakao dalam bentuk semi padat. Estrak kulit buah kakao dibuat beberapa seri konsentrasi yaitu 0%, 25%, 50% dan 75% (b/v).

Pemeriksaan senyawa alkaloid dan flavonoid

Uji alkaloid pada penelitian ini dilakukan menggunakan pereaksi Bouchardat. Pereaksi tersebut dibuat dengan melarutkan 4 g kalium iodida ke dalam 20 mL akuades dan ditambahkan 2 g iodium kemudian dikocok sampai homogen. Volume pereaksi ditepatkan 100 mL dengan penambahan akuades. Sebanyak 2 mL ekstrak konsentrat kulit buah kakao ditambahkan 1 mL pereaksi Bouchardat dan dikocok. Alkaloid dianggap positif jika timbul endapan berwarna putih. Uji senyawa flavonoid dilakukan dengan cara menambahkan serbuk Mg dan HCl pekat ke dalam ekstrak konsentrat kulit buah kakao. Apabila terbentuk warna orange, merah, atau kuning, berarti positif flavonoid.

Uji aktivitas antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode inokulasi koloni. Inokulasi koloni terduga (*Staphylococcus Aureus*) ke dalam 2 mL BHI Broth. Kertas saring Whatman no. 41 berdiameter 1 cm dicelupkan pada cairan ekstrak hasil pengenceran beberapa konsentrasi yaitu pada konsentrasi 25%, 50% dan 75% dan pada akuades steril sebagai kontrol. Kertas saring tersebut diletakkan secara teratur di atas biakan cawan, diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam dan kemudian dihitung diameter zona hambat yang muncul di sekitar kertas saring dengan menggunakan penggaris.

Penentuan konsentrasi hambat minimum (KHM)

Berdasarkan diameter zona hambat yang dihasilkan, selanjutnya ditentukan persentase konsentrasi ekstrak terkecil. Parameter yang diamati adalah diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar kertas saring (mm).

Biosorbsi Kulit Buah Kakao

Preparasi Biosorben Kulit Buah Kakao

Pada tahap preparasi ini, kulit buah kakao dipotong kecil-kecil, dicuci dengan air mengalir dan aquades agar kulit kakao benar-benar bersih. Kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari selama 8 jam . Setelah kering

dioven pada suhu 50°C selama 24 jam, dan dihaluskan terlebih dahulu menggunakan lumpang dan alu, kemudian dihaluskan menggunakan blender, lalu diayak dengan ayakan 50 mesh sehingga diperoleh serbuk kulit buah kakao dengan warna coklat muda, tekstur halus dan berukuran seragam. Aktivasi adsorben dilakukan dengan cara mencampur adsorben sebanyak 60 gram dengan 396 mL HNO₃ 0,6 M, kemudian dihomogenkan menggunakan alat sonikator selama 30 menit. Kemudian, campuran disaring dan padatan dikeringkan dalam oven pada suhu 50°C selama 24 jam, kemudian suhu dinaikkan menjadi 100°C lalu didinginkan. Selanjutnya padatan tersebut direndam dalam aquades panas selama 30 menit untuk menghilangkan kelebihan asam kemudian disaring dan dikeringkan pada suhu 50°C selama 24 jam sehingga diperoleh adsorben kulit buah kakao yang kering dan berwarna coklat tua.

Pembuatan Larutan Baku Pb dan Cd

Dipipet dengan teliti larutan baku Pb dan Cd(NO₃)₂ 1000 ppm sebanyak 10 mL, dan diencerkan sampai volume 100 mL untuk membuat larutan baku 100 ppm. Kemudian diencerkan menjadi 10 ppm yang akan dibuat menjadi deret standar.

Pembuatan Air limbah

Limbah dibuat dengan melakukan spike larutan Timbal Kadmium dan bakteri ke dalam aquadest kemudian diencerkan hingga volume 1000 mL dan dihimpitkan hingga tanda batas kemudian dihomogenkan. Setelah pembuatan limbah, kemudian dilakukan pengukuran awal konsentrasi logam Pb dan Cd dalam limbah tersebut dengan menggunakan AAS.

Penentuan Kadar Logam Pb dan Cd pada penambahan Biosorben Kulit Buah Kakao

Serbuk kulit buah coklat (*Theobroma cacao*) yang bersih dan kering dimasukkan masing-masing sebanyak 0, 5, 10 dan gram ke dalam 4 buah gelas kimia ukuran 250 mL dan ditambahkan 50 mL air limbah dan diaduk dengan menggunakan magnetic stirrer pada kecepatan 70 rpm, selama 30 menit. Kemudian campuran disaring dan filtratnya ditampung untuk diukur absorbansinya.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemeriksaan senyawa alkaloid dan flavonoid

Ekstrak kulit buah kakao yang diperoleh kemudian diuji secara fitokimia, yaitu dengan melaukukan uji senyawa aktif alkaloid dan flavonoid. Hasil pemeriksaan fitokimia terhadap ekstrak menunjukkan hasil yang positif terdeteksi adanya senyawa alkaloid maupun senyawa flavonoid. Endapan berwarna putih menunjukkan adanya senyawa alkaloid. Dirjen POM 1995 melaporkan bahwa alkaloid dianggap positif jika terjadi endapan ketika ekstrak direaksikan dengan salah satu dari pereaksi Dragendorf, Bouchardat, atau Mayer. Pemeriksaan flavonoid menunjukkan hasil yang positif dengan terjadinya perubahan warna ekstrak menjadi kemerahan setelah ditambahkan dengan serbuk Mg dan HCl pekat. Uji senyawa alkaloid pada ekstrak kulit buah kakao dilakukan dengan mereaksikan ekstrak dengan pereaksi Bouchrat dan menghasilkan perubahan warna menjadi keruh dan terdapat endapan, hal ini menunjukkan ekstrak kulit buah kakao positif mengandung senyawa alkaloid yang ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna putih. Sedangkan pada uji senyawa flavonoid dilakukan pada ekstrak konentrat kulit buah kakao menghasilkan larutan berwarna orange, hal ini menunjukkan ekstrak positif mengandung senyawa flavonoid, yaitu apabila terbentuk warna orange, merah, atau kuning, berarti positif flavonoid.



Gambar 4 Uji alkaloid dan flavonoid

Tabel 1 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak kulit buah kakao

Analisis	Hasil Uji
	Page 3550 of 3556

Alkaloid	+
Flavanoid	+

Pada tabel 4.1 diperoleh hasil positif pada uji alkaloid dan flavonoid pada ekstrak kulit buah kakao, yang menandakan ekstrak kulit buah kakao mengandung zat aktif alkaloid dan flavonoid. Senyawa alkaloid merupakan senyawa organik yang memiliki atom nitrogen dan bersifat basa (alkali) dan dapat menyebabkan koagulasi protein sel bakteri, sehingga menyebabkan penghambatan pertumbuhan bakteri. Koagulasi protein akan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri yang menyebabkan lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh, sehingga menyebabkan kematian sel bakteri. Flavonoid pada ekstrak kulit kakao termasuk golongan senyawa fenolik yang mempunyai ikatan glikosida. Senyawa fenolik akan berinteraksi dengan protein membran sel bakteri melalui proses adsorbsi dengan cara terikat pada bagian hidrofilik membran sel. Senyawa fenolik selanjutnya akan masuk ke dalam membran sel dan menyebabkan presipitasi protein sel. Hal tersebut mengganggu permeabilitas membran sel, sehingga membran sel dapat mengalami lisis (Christalina I et al, 2018)

Penyiapan bakteri *Staphylococcus Aureus*

Biakan bakteri *S.Aureus* dari kultur murni *S.Aureus*, disuspensikan ke dalam media NA miring dan diinkubasi pada suhu 36°C selama 2x24 jam. Untuk uji penegasan biakan *S.Aureus* pada media NA, dilakukan inokulasi pada media BHI Broth 2 mL dan diinkubasi pada suhu 36°C selama 1x 24 jam, kemudian pindahkan 0,2 mL - 0,3 mL kedalam tabung reaksi dan tambahkan koagulasi plasma yang telah ditambahkan EDTA aduk, dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 36°C, sehingga diperoleh hasil pengamatan sebagai berikut:

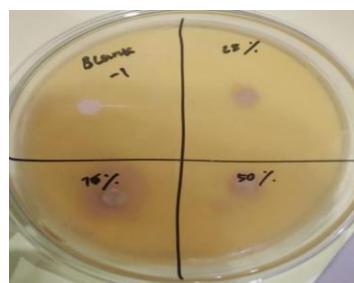


Gambar 5 Bakteri *S.Aureus* pada media BHI Broth

Pada uji penegasan bakteri *S.Aureus*, dihasilkan sebuah koagulan secara padat / solid yang tidak jatuh apabila tabung dibalik dan terdapat buih maka hasil tersebut dinyatakan positif bakteri *Staphylococcus Aureus*.

Uji Antibakteri ekstrak Kulit buah kakao

Hasil pengamatan aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah kakao dengan konsentrasi 25%, 50% dan 75% terhadap biakan *Staphylococcus Aureus*, menunjukkan terdapat pengaruh nyata dari konsentrasi ekstrak terhadap aktivitas penghambatan masing-masing bakteri uji, yang ditandai dengan adanya perbedaan diameter zona hambat yang terbentuk.

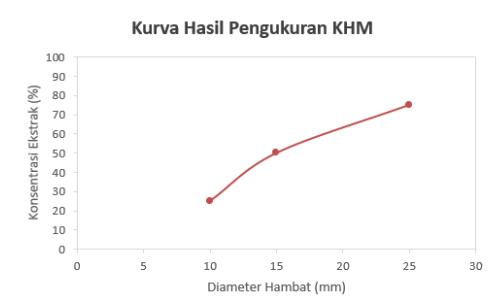


Gambar 6 Zona hambat bakteri *E.Coli*

Pada Gambar 4.3 menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah kakao dapat menghambat pertumbuhan *S.Aureus* pada konsentrasi ekstrak 25%, 50% dan 75%, dengan diameter 10 mm, 15 mm dan 30 mm. Analisis uji statistik menunjukkan bahwa diameter zona hambat pada konsentrasi tersebut berbeda nyata, hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak tersebut berpengaruh nyata terhadap aktivitas penghambatan *S.Aureus* (Mulyatni, Budiani and Taniwiriyono, 2012). Hasil penelitian menunjukkan terjadinya penghambatan ekstrak kulit buah kakao terhadap pertumbuhan bakteri uji *S.Aureus* yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat di sekitar kertas saring yang mengandung ekstrak kulit buah kakao. Penghambatan pertumbuhan bakteri oleh ekstrak kulit buah kakao diduga berasal dari aktifitas senyawa bioaktif yang terlarut, di antaranya adalah senyawa alkaloid dan flavonoid.

Daya hambat ditunjukkan dengan adanya zona hambat pertumbuhan bakteri disekitar sampel yang diujikan dan diukur kemampuannya dengan diameter daya hambat (DDH). Diameter daya hambat menunjukkan sifat dari antibakteri dengan beberapa tingkatan yaitu, pada diameter >20 mm menunjukkan daya hambat sangat kuat, diameter 10-20 mm menunjukkan daya hambat kuat, sedangkan 5-10 mm menunjukkan daya hambat cukup (medium), sedangkan diameter <5 mm menunjukkan daya hambat lemah (Rini and Nugraheni, 2018).

Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah kakao terhadap masing-masing bakteri uji, terbukti bahwa aktivitas penghambatan dipengaruhi oleh konsentrasi ekstrak pada kertas saring. Aktivitas antibakteri semakin meningkat, dengan semakin tingginya konsentrasi ekstrak. Banyaknya kandungan senyawa aktif dalam ekstrak menyebabkan senyawa aktif akan lebih mudah untuk merusak sel bakteri. Selain itu senyawa aktif akan mampu menghambat pertumbuhan bakteri lebih banyak yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat di sekitar kertas saring, yaitu pada konsentrasi ekstrak 25% menghasilkan zona hambat 10 mm yang menunjukkan daya hambat cukup, pada konsentrasi 50% menghasilkan zona hambat 15 mm menunjukkan daya hambat kuat, sedangkan pada konsentrasi 75% menghasilkan zona hambat 25 mm menunjukkan daya hambat sangat kuat. Tidak terbentuknya zona hambat pada blanko atau konsentrasi 0% disebabkan karena pada kertas saring tersebut tidak mengandung senyawa aktif, sehingga bakteri tidak terganggu oleh senyawa aktif dapat tumbuh. Hal ini ditandai dengan tidak terbentuknya zona hambat di sekitar kertas saring. Hasil pengukuran KHM ekstrak kulit buah kakao dengan konsentrasi 0%, 25%, 50% dan 75% dapat kita lihat pada kurva berikut



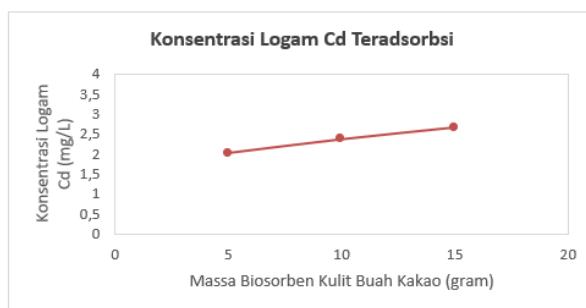
Gambar 7 Kurva Hasil pengukuran zona hambat ekstrak kulit buah kakao

Pada Gambar 4.4 dapat dilihat, kurva hasil pengukuran menunjukkan semakin tinggi konsentrasi ekstrak kulit buah kakao yang ditambahkan, semakin tinggi pula daya antibakteri yang dihasilkan, hal ini disebabkan karena semakin tinggi konsentrasi ekstrak, semakin banyak pula senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak tersebut. Senyawa aktif alkaloid ini merupakan senyawa organik yang memiliki atom nitrogen dan bersifat basa (alkali) dan dapat menyebabkan koagulasi protein sel bakteri (Mulyani et al, 2012) , sehingga menyebabkan penghambatan pertumbuhan bakteri yang terlihat jelas pada konsentrasi tinggi yaitu pada 75%. Koagulasi protein akan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri yang menyebabkan lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh, sehingga menyebabkan kematian sel bakteri, yang dapat dilihat dari zona hambat yang terbentuk, sedangkan flavonoid pada ekstrak kulit kakao termasuk golongan senyawa fenolik yang mempunyai ikatan glikosida. Senyawa fenolik akan berinteraksi dengan protein membran sel bakteri melalui proses adsorbsi dengan cara terikat pada bagian hidrofilik membran sel. Senyawa fenolik selanjutnya akan masuk ke dalam membran sel dan menyebabkan presipitasi protein sel. Hal tersebut mengganggu permeabilitas membran sel, sehingga membran sel dapat mengalami lisis, sehingga semakin tinggi zat flavonoid pada ekstrak,

semakin tinggi pula zona hambat yang terbentuk, yang dapat dilihat pada masing-masing konsentrasi 25%, 50% dan 75%.

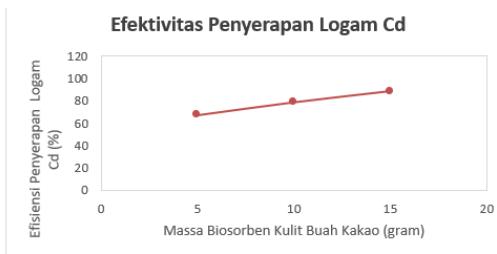
Pengaruh konsentrasi biosorben kulit buah kakao terhadap penurunan kadar logam Cd dalam air.

Biosorben kulit buah kakao dihasilkan dari serbuk kulit buah kakao kering yang telah diaktifasi menggunakan HNO_3 0,6 M. Proses aktivasi dilakukan dengan menambahkan 60 gram serbuk kulit buah kakao ke dalam 396 ml HNO_3 0,6 M. Untuk mengetahui pengaruh biosorben kulit buah kakao terhadap logam Cd, maka dilakukan variasi konsentrasi yang ditambahkan ke dalam air yang terkontaminasi logam Cd. Air yang digunakan pada penelitian ini adalah air yang sebelumnya telah di spike logam cadmium dengan konsentrasi tertentu, dan dilakukan pengukuran awal terlebih dahulu untuk mengetahui konsentrasi sebenarnya pada air itu. Pada hasil pengukuran dengan menggunakan AAS, diperoleh kadar Cd dalam limbah adalah 3,0024 mg/L. Limbah air yang digunakan dibuat demikian dengan harapan dapat mengetahui dengan pasti efektifitas biosorben kulit buah kakao terhadap logam cadmium dalam air. Sehingga diperoleh hasil pengukuran seperti pada tabel berikut :



Gambar 7 Pengaruh massa biosorben terhadap konsentrasi Cd

Pada Gambar 4.5 menunjukkan bahwa pada konsentrasi biosorben kulit buah kakao dengan massa sebesar 5 gram, 10 gram dan 15 gram diperoleh hasil pengukuran logam Cd yang teradsorbsi adalah masing-masing yaitu sebesar 2,0100 mg/L, 2,3538 mg/L dan 2,6499 mg/L dari konsentrasi awal limbah yaitu 3,0024 mg/L. Sehingga diperoleh efektifitas penyerapan yaitu masing-masing sebesar 66,94%, 78,35% dan 88,25%. Efektifitas penyerapan logam cadmium oleh biosorben dapat dilihat pada kurva berikut :

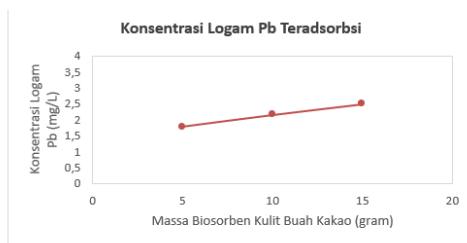


Gambar 8 Persentase penyerapan logam Cd terhadap variasi massa biosorben

Kurva di atas menunjukkan semakin besar massa biosorben yang digunakan, maka efisiensi penyerapan terhadap ion logam semakin besar. Bertambahnya berat sebanding dengan bertambahnya jumlah partikel dan luas permukaan sehingga menyebabkan jumlah tempat mengikat ion logam juga bertambah dan efisiensi penyerapan pun meningkat (Abidin, Kalla and Yani, 2020). Pada penambahan masing-masing 5 gram, 10 gram dan 15 gram diperoleh efektifitas penyerapan yaitu masing-masing sebesar 66.40%, 78,35% dan 88,25%. Terjadinya peningkatan penyerapan ini disebabkan oleh bertambahnya jumlah adsorben yang berinteraksi dengan logam cadmium.. Kandungan selulosa, pektin, dan lignin pada kulit buah coklat (*Theobroma cacao*) berpotensi mengikat logam berat seperti logam Cd dari larutan (Malimongan, Nafie and Taba, 2014). Hal ini juga terjadi karena pengaruh kerapatan sel adsorben dalam larutan sehingga menghasilkan interaksi yang cukup efektif antara pusat aktif dinding sel adsorben dengan ion logam Cd, sehingga semakin banyak zat penyerap maka semakin banyak pusat aktif yang bereaksi. Oleh sebab itu, pada saat jumlah adsorben diperbesar, perbandingan tersebut tidak lagi dipenuhi, sehingga berpengaruh terhadap aktifitas penyerapan ion logam Cd oleh adsorben, yang terlihat pada penambahan 5 gram, 10 gram dan 15 gram diperoleh efektifitas tertinggi pada penambahan 15 gram yaitu sebesar 88,25%.

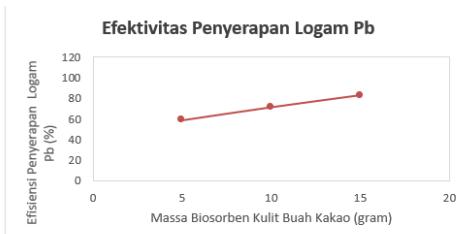
Pengaruh konsentrasi biosorben kulit buah kakao terhadap penurunan kadar logam Pb dalam air.

Biosorben kulit buah kakao dihasilkan dari serbuk kulit buah kakao kering yang telah diaktifasi menggunakan HNO_3 0,6 M. Proses aktivasi dilakukan dengan menambahkan 60 gram serbuk kulit buah kakao ke dalam 396 ml HNO_3 0,6 M. Untuk mengetahui pengaruh biosorben kulit buah kakao terhadap logam Pb, maka dilakukan variasi konsentrasi yang ditambahkan ke dalam air yang terkontaminasi logam Pb. Air yang digunakan pada penelitian ini adalah air yang sebelumnya telah di spike logam timbal dengan konsentrasi tertentu, dan dilakukan pengukuran awal terlebih dahulu untuk mengetahui konsentrasi sebenarnya pada air itu. Pada hasil pengukuran dengan menggunakan AAS, diperoleh kadar Pb dalam limbah adalah 3,0120 mg/L. Limbah air yang digunakan dibuat demikian dengan harapan dapat mengetahui dengan pasti efektifitas biosorben kulit buah kakao terhadap logam cadmium dalam air. Sehingga diperoleh hasil pengukuran seperti pada tabel berikut :



Gambar 9 Pengaruh massa biosorben terhadap konsentrasi Pb

Pada Gambar 4.7 menunjukkan bahwa pada konsentrasi biosorben kulit buah kakao dengan massa sebesar 5 gram, 10 gram dan 15 gram diperoleh hasil pengukuran logam Pb yang teradsorbsi adalah masing-masing yaitu sebesar 1,7703 mg/L, 2,1428 mg/L dan 2,4868 mg/L dari konsentrasi awal limbah yaitu 3,0069 mg/L. Sehingga diperoleh efektifitas penyerapan yaitu masing-masing sebesar 58,87%, 71,26% dan 82,70%. Efektifitas penyerapan logam cadmium oleh biosorben dapat dilihat pada kurva berikut:



Gambar 10 Persentase penyerapan logam Pb terhadap variasi massa biosorben

Kurva di atas menunjukkan semakin besar massa biosorben yang digunakan, maka efisiensi penyerapan terhadap ion logam semakin besar. Bertambahnya berat sebanding dengan bertambahnya jumlah partikel dan luas permukaan sehingga menyebabkan jumlah tempat mengikat ion logam juga bertambah dan efisiensi penyerapan pun meningkat (Abidin, Kalla and Yani, 2020). Pada penambahan masing-masing 5 gram, 10 gram dan 15 gram diperoleh efektifitas penyerapan yaitu masing-masing sebesar 58,87%, 71,26% dan 82,70%. Terjadinya peningkatan penyerapan ini disebabkan oleh bertambahnya jumlah adsorben yang berinteraksi dengan logam timbal. Kandungan selulosa, pektin, dan lignin pada kulit buah coklat (*Theobroma cacao*) berpotensi mengikat logam berat seperti logam timbal dari larutan (Malimongan, Nafie and Taba, 2014). Hal ini juga terjadi karena pengaruh kerapatan sel adsorben dalam larutan sehingga menghasilkan interaksi yang cukup efektif antara pusat aktif dinding sel adsorben dengan ion logam Pb, sehingga semakin banyak zat penyerap maka semakin banyak pusat aktif yang bereaksi. Oleh sebab itu, pada saat jumlah adsorben diperbesar, perbandingan tersebut tidak lagi dipenuhi, sehingga berpengaruh terhadap aktifitas penyerapan ion logam Cd oleh adsorben,

yang terlihat pada penambahan 5 gram, 10 gram dan 15 gram diperoleh efektifitas tertinggi pada penambahan 15 gram yaitu sebesar 82,70%.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa: 1). Ekstrak kulit buah kakao mempunyai potensi sebagai bahan antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus Aureus* (*S.Aureus*). Ekstrak konsentrat buah kakao paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus Aureus* dengan konsentrasi hambat minimum (KHM) adalah 75% (g/mL). 2). Efektivitas Kulit buah kakao dalam mengadsorpsi logam Pb dan Cd mencapai titik tertinggi pada penambahan massa biosorben sebanyak 15 gram. Efisiensi penyerapan logam Pb dengan konsentrasi penambahan massa biosorben 5 gram, 10 gram dan 15 gram masing - masing sebesar 58,87%, 71,26% dan 82,70%. Sedangkan Efisiensi penyerapan logam Cd dengan konsentrasi penambahan massa biosorben 5 gram, 10 gram dan 15 gram masing - masing sebesar 66,94%, 78,35% dan 88,25%.

5. REFERENSI

- Abidin, Z., Kalla, R., & Yani, S. (2020). Zeolit dan silika sekam padi sebagai adsorben untuk ion logam pada limbah cair industri smelter nikel. ILTEK: Jurnal Teknologi, 15(02), 73-77.
- 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.
- Akbar, S. A. I. F. U. L. (2017). Fitoremediasi tanaman paku pakis (*Pteris vittata*) dengan penambahan karbon aktif eceng gondok (*Eichhornia crassipes*) terhadap limbah merkuri (Hg). Skripsi S1, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Alauddin.
- Etanol, K. E. D. A. E. (2015). Tunas Bambu Apus Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. J Wiyata, 2(2), 193-9.
- Hayati, U. P., & Sawir, H. (2017). Pemanfaatan limbah kulit buah kakao sebagai adsorben untuk penyerapan ion logam kromium (vi) pada limbah elektroplating di Bukittinggi. Jurnal Sains dan Teknologi: Jurnal Keilmuan dan Aplikasi Teknologi Industri, 17(1), 36-42.
- Ifa, L., Agus, M. A., Kasmudin, K., & Artiningsih, A. (2019). Pengaruh penambahan volume kitosan dari cangkang bekicot terhadap penurunan kadar tembaga air lindi. Jurnal Teknik: Media Pengembangan Ilmu dan Aplikasi Teknik, 18(2), 109-113.
- Ifa, L., Pakala, F. R., Burhan, R. W., Jaya, F., & Majid, R. A. (2020). Pemanfaatan Sabut Kelapa Sebagai Bioadsorben Logam Berat Pb (II) Pada Air Limbah Industri. Journal of Chemical Process Engineering, 5(1), 54-60.
- Ifa, L., Pakala, F. R., Jaya, F., & Majid, R. A. (2020). Pemanfaatan sabut kelapa sebagai bioadsorben logam berat Pb (II) pada air limbah industri. Journal of Chemical Process Engineering, 5(1), 54-60.
- Jaida, H., Sabara, Z., & Yani, S. (2021). Efektifitas Kulit Buah Kakao (*Theobroma Cacao L.*) Sebagai Antibakteri Terhadap *Escherichia Coli* (*E. Coli*) dan Biosorben Terhadap Logam Cd dalam Air Menggunakan Aktivator Asam Nitrat (HNO₃). Jurnal Geomine, 9(2), 168-178.
- Jaida, H., Sabara, Z., & Yani, S. (2021). Efektifitas Kulit Buah Kakao (*Theobroma Cacao L.*) Sebagai Antibakteri Terhadap *Escherichia Coli* (*E. Coli*) dan Biosorben Terhadap Logam Cd dalam Air Menggunakan Aktivator Asam Nitrat (HNO₃). Jurnal Geomine, 9(2), 168-178.
- Jaida, H., Sabara, Z., & Yani, S. (2021). Efektifitas Kulit Buah Kakao (*Theobroma Cacao L.*) Sebagai Antibakteri Terhadap *Escherichia Coli* (*E. Coli*) dan Biosorben Terhadap Logam Cd dalam Air Menggunakan Aktivator Asam Nitrat (HNO₃). Jurnal Geomine, 9(2), 168-178.
- Kurniawati, E. (2017). Daya antibakteri ekstrak etanol tunas bambu apus terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* secara in vitro. Jurnal Wiyata: Penelitian Sains dan Kesehatan, 2(2), 193-199.
- Lubis, B. O., & Salim, A. (2018, December). Aplikasi Penentuan Mustahik Menggunakan Global Extreme Programming (Studi Kasus: Badan Amil Zakat dan Sedekah Dewan Kemakmuran Masjid Jakarta). In Seminar Nasional Industri dan Teknologi (pp. 247-258).
- Malimongan, M., Nafie, N. L., & Taba, P. (2016). Pemanfaatan Kulit Buah Coklat (*Theobroma cacao*) Sebagai Biosorben Ion Logam Ni (II).
- Mulyatni, A. S., Budiani, A., & Taniwiryo, D. (2012). Aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) terhadap *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, dan *Staphylococcus aureus*. Menara Perkebunan, 80(2).
- Obike, A. I., Igwe, J. C., Emeruwa, C. N., & Uwakwe, K. J. (2018). Equilibrium and kinetic studies of Cu (II), Cd (II), Pb

- (II) and Fe (II) adsorption from aqueous solution using cocoa (*Theobroma cacao*) pod husk. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*, 22(2), 182-190.
- Rini, E. P. (2017). Uji daya hambat berbagai merek hand sanitizer gel terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.