

Daya Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao L.*) sebagai Alternatif Bahan Irrigasi Saluran Akar terhadap *Streptococcus viridans*

(The Antibacterial Potency of Cacao Pod Shell Extract (*Theobroma cacao L.*) as an Alternative of Root Canal Irrigation Againsts *Streptococcus viridans*)

Yola Widya Putri Damania¹, Dwi Warna Aju Fatmawati², Dyah Setyorini³

¹ Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember, Indonesia.

² Bagian Konservasi Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember, Indonesia.

³ Bagian Pedodontia, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember, Indonesia

Abstrak

Streptococcus viridans adalah bakteri Gram-positif anaerob fakultatif yang bersifat patogen opportunistik yang paling sering ditemukan dalam saluran akar yang terinfeksi. Tahap preparasi biomekanik memerlukan bahan irrigasi saluran akar karena berfungsi sebagai pembersihan maupun sebagai antibakteri. NaOCl 2,5% bahan irrigasi yang sering digunakan karena keefektifannya, namun masih terdapat beberapa kekurangan. Kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) adalah limbah hasil perkebunan yang dinilai memiliki banyak senyawa antibakteri yang diharapkan dapat menjadi alternatif pengganti kekurangan NaOCl. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya antibakteri ekstrak limbah kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) terhadap *S.viridans*. Jenis penelitian ini adalah posttest only group control dengan menggunakan metode broth dilution untuk menentukan efektifitas antibakteri. Hasil uji Kolmogorov-Smirnov dan uji Levene didapatkan data tidak normal dan tidak homogen, dilanjutkan uji nonparametrik menggunakan Kruskal-wallis didapatkan $p < 0,5$ berarti terdapat perbedaan antar semua kelompok penelitian. Ekstrak kulit buah kakao konsentrasi 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,56%; 0,78% mempunyai daya antibakteri. Konsentrasi minimal dalam menghambat *S.viridans* yaitu 0,78%. Pada konsentrasi 12,5% dan 25% setara dengan NaOCl 2,5%.

Kata kunci: Irrigasi Saluran Akar, Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao L.*), *Streptococcus viridans*

Abstract

Streptococcus viridans is a Gram-positive facultative anaerobe that most commonly found in infected root canals. The biomechanical preparation of root canal treatment requires root canal irrigation as it functions not only used to cleanser but also antibacterial agent. NaOCl 2,5% is the most commonly used Endodontic irrigant, however it is still considered to have several disadvantages. Cocoa pod shell (*Theobroma cacao L.*) are industrial plantation waste which has a source of antibacterial compounds that expected to be an alternative to substitute NaOCl's drawbacks. This study aim to examine the antibacterial effectiveness of cocoa pod shell extract against *S.viridans*. The research is posttest only group control design and the method use broth dilution to examine the antibacterial effectiveness. The results of Kolmogorov-Smirnov test and Levene's test showed that data set which exhibited both non-normally distributed and non-homogeneous, continued with the nonparametric test using the Kruskal-wallis test, it was found that $p < 0,5$ meant there were significantly differences between all study groups. 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,56%; 0,78% concentration of cocoa pod shell extract has antibacterial activity against *S.viridans*. The Minimum Inhibitory Concentration to against *S.viridans* is cocoa pod shell extract concentration 0,78%. Cocoa pod shell extract concentration 12,5% and 25% equal to NaOCL 2,5%.

Keywords: Cocoa Pod Shell (*Theobroma cacao L.*), Root Canal Irrigation, *Streptococcus viridans*

Korespondensi (Correspondence) : Yola Widya Putri Damania, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Jl. Kalimantan No.37, Kampus Tegalboto, Jember, Jawa Timur. Email: yolawid@gmail.com

Nekrosis pulpa adalah kematian pulpa sebagian atau seluruhnya yang dapat disebabkan oleh injuri pulpa langsung maupun tidak langsung. Infeksi mikroorganisme juga mempunyai peranan penting terhadap terjadinya nekrosis pulpa. *Streptococcus viridans* adalah bakteri Gram-positif anaerob fakultatif yang bersifat patogen opportunistik yang ditemukan dalam saluran akar yang terinfeksi sebanyak 82%.¹ *S.viridans* mampu menginvasi dan berkoloni pada pulpa maupun apikal gigi sehingga dapat menimbulkan reinfeksi saluran akar gigi dan mampu menjadi penyebab utama endokarditis apabila masuk ke dalam peredaran darah.^{2,3}

Perawatan saluran akar (Endodontic Treatment) merupakan salah satu upaya untuk mereduksi infeksi mikroorganisme pada saluran akar.⁴ Tahapan perawatan saluran akar (Triad

Endodontic) terdiri atas tahap preparasi biomekanik, sterilisasi, dan obturasi. Tahap preparasi biomekanik diperlukan larutan irrigasi karena berfungsi untuk mengeluarkan debri, jaringan nekrotik, melarutkan smear layer dan sebagai pelumas. Irrigasi saluran akar juga berfungsi penting sebagai antibakteri sehingga sangat dibutuhkan dalam perawatan saluran akar.^{5,6,7}

Sodium hipoklorit (NaOCl) 2,5% merupakan bahan irrigasi saluran akar yang sering digunakan di bidang kedokteran gigi. Sodium hipoklorit memiliki sifat disinfektan dan pembersihan yang sangat baik sehingga mampu membuat saluran akar menjadi steril. Sodium hipoklorit juga memiliki kelemahan yaitu bersifat toksik dan iritatif bila terdorong ke jaringan periapikal serta mempunyai aroma yang tidak enak. Kelemahan bahan irrigasi sintetik ini, diperlukan suatu alternatif lain dari

bahan alami yang dinilai lebih aman daripada bahan sintetik.^{5,8,9,10}

Kakao (*Theobroma cacao L.*) adalah salah satu tanaman yang dibudidayakan sebagai komoditi perkebunan dengan nilai produksi tinggi di Kabupaten Jember. Bagian kakao yang banyak dimanfaatkan untuk kepentingan industri pengolahan coklat adalah bagian bijinya. Produksi dan pengolahan biji kakao menghasilkan limbah kulit kakao, cairan pulpa, dan kulit biji kakao.¹¹ Kulit buah kakao merupakan limbah industri perkebunan yang mempunyai sumber senyawa antibakteri yang diharapkan dapat menjadi alternatif untuk memperbaiki kelemahan NaOCl.¹²

Berdasarkan fitokimianya, ekstrak kulit buah kakao mempunyai senyawa kimia kompleks antara lain flavonoid, alkaloid, saponin, terpenoid dan tanin yang berpotensi sebagai antimikroba.¹³ Nugroho menyatakan bahwa ekstrak kulit buah kakao 6,25% memiliki daya antibakteri bakteri yang lebih besar dibandingkan dengan NaOCl 2,5% terhadap bakteri *Streptococcus sanguinis*.¹⁴ Hasil penelitian Nurrezki persentase koloni bakteri pada ekstrak kulit buah kakao dengan konsentrasi 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,58%; 0,78% memiliki konsentrasi hambat minimal terhadap *Streptococcus sanguinis* pada konsentrasi 3,125%. Berdasarkan latar belakang tersebut, peneliti ingin mengetahui daya antibakteri ekstrak limbah kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) terhadap *Streptococcus viridans*.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian yang akan dilakukan adalah penelitian eksperimental laboratoris secara *in vitro* dengan menggunakan rancangan penelitian *post test-only control group design*. Metode yang digunakan untuk mengetahui efektivitas antibakteri yaitu menggunakan metode *broth dilution* dan ditentukan dengan cara menghitung jumlah koloni *S.viridans* yang tumbuh pada media BHI-A menggunakan *colony counter*. Limbah kulit buah kakao yang berasal dari satu lokasi tanam yaitu PUSLIT Kopi dan Kakao Jember. Kulit buah yang digunakan yaitu kakao Lindak (*Theobroma cacao L.*) dalam penyimpanan <6 jam. Kulit buah kakao yang berwarna hijau kekuningan dengan permukaan masih halus dan beralur berdasarkan Standar Mutu Kakao SNI 2323: 2008.

Tahap awal pembuatan ekstrak limbah kulit buah kakao yaitu limbah kulit buah kakao sebanyak 5 kg dibersihkan dan dipotong kecil-kecil lalu dikeringkan dengan sinar matahari 3-4 hari pukul 09.00-15.00 dengan ditutup menggunakan kain hitam. Kulit buah kakao yang telah mengering dihaluskan menggunakan blender. Simplisia kulit buah kakao diekstrak menggunakan metode

maserasi ultrasonik. Serbuk ditambahkan larutan etanol 70% dengan perbandingan 1:7 dalam beaker glass kemudian aduk dan masukkan ke dalam ultrasonic homogenizer dengan kecepatan 70 rpm selama 10 menit. Filtrat yang telah disaring diuapkan menggunakan rotary evaporator. Hasil filtrat yang telah diuapkan dipindahkan kedalam cawan dan dimasukan kedalam oven dengan suhu 50°C selama 2 hari. Ekstrak 100% dilakukan pengenceran serial bertingkat menjadi 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,56%; 0,78% dengan menggunakan aquades.^{2,18}

Tahap pembuatan suspensi *S.viridans* dilakukan dengan cara campur 1 ose *S.viridans* dari galur murni dengan mendekatkan tabung reaksi diatas lampu spiritus kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi media BHI-B 2 ml. Tabung reaksi dimasukkan dessicator kemudian diletakkan dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam. *S.viridans* dikocok dengan thermolyne dan diukur tingkat kekeruhannya pada spectrophotometer menggunakan larutan standart 0,5 Mc.Farland (1,5 x 108 CFU/ml). Pengenceran suspensi bakteri *S.viridans* dilakukan sebanyak 10⁻³ yaitu dengan cara tabung yang akan dilakukan pengenceran diambil 1 ml kemudian masukkan ke dalam tabung 1 yang berisi 9 ml aquades.¹⁸

Tahap pengujian dilakukan dengan cara falcon yang telah diberi label diisikan 750 µl hasil pengenceran 10⁻³ bakteri dan 750 µl kelompok ekstrak dan kelompok kontrol lalu divibrasi menggunakan thermolyne. Hasil broth dilution tersebut diinokulasikan menggunakan metode streak-plate dengan swab steril pada media BHI-A yang telah memadati. Pada tahap pengamatan uji daya antibakteri dilakukan oleh 3 pengamat yang berbeda sehingga menghasilkan 3 perhitungan koloni setiap sampelnya kemudian hasil dirata-rata. Perhitungan koloni bakteri *S.viridans* menggunakan colony counter.

Hasil penelitian yang didapatkan diuji normalitas menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov dan uji homogenitas varian menggunakan uji levene untuk menguji ragam populasi. Jika data homogen dan normal, maka dilakukan uji parametrik One Way Anova. Jika data tidak terdistribusi normal dan tidak homogen, maka dilanjutkan dengan uji statistik non parametrik Kruskal-Wallis.

HASIL

Hasil dari penelitian yang telah dilakukan, diperoleh data mengenai daya antibakteri ekstrak limbah kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) pertumbuhan *Streptococcus viridans* berupa hasil perhitungan rata-rata jumlah koloni bakteri dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil perhitungan rata-rata jumlah koloni *S. viridans* dari semua kelompok penelitian (CFU)

Kelompok	Konsentrasi	Rata-rata Jumlah koloni <i>S. viridans</i> (CFU)
K-	Aquades	265 ± 2,94
K+	NaOCl 2,5%	0
K1	0,78%	192,25 ± 6,24
K2	1,56%	153,75 ± 8,34
K3	3,125%	95,5 ± 11,39
K4	6,25%	58,250 ± 8,66
K5	12,5%	0
K6	25%	0

Daya antibakteri ekstrak limbah kulit buah kakao terhadap *S. viridans* berdasarkan hasil dari Tabel 1. didapatkan bahwa ekstrak limbah kulit buah kakao yang menghasilkan daya antibakteri yang terbesar hingga yang terkecil adalah 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,56%; 0,78%. Pada konsentrasi 0,78%; 1,56%; 3,125%; 6,25% terdapat pertumbuhan koloni bakteri tetapi jumlah koloni yang tumbuh lebih sedikit jika dibandingkan kontrol negatif (aquades) dan lebih banyak jika dibandingkan NaOCl 2,5%. Pada konsentrasi 12,5% dan 25% tidak terdapat pertumbuhan koloni bakteri. Berdasarkan Tabel 1. menunjukkan bahwa ekstrak limbah kulit buah kakao konsentrasi 0,78%; 1,56%; 3,125%; 6,25%; 12,5%; 25% dan NaOCl 2,5% mempunyai daya hambat terhadap *S. viridans*. Ekstrak limbah kulit buah kakao konsentrasi 0,78% dapat ditentukan sebagai daya hambat minimal terhadap *S. viridans*.

Hasil uji normalitas dan uji homogenitas menunjukkan nilai signifikansi $p < 0,05$ maka disimpulkan bahwa memiliki sebaran data yang tidak normal dan tidak homogen. Hasil uji Kruskal Wallis didapatkan $p = 0,000$ berarti $p < 0,05$ maka jumlah koloni kelompok ekstrak dan kelompok kontrol (aquades dan NaOCl 2,5%) terhadap *S. viridans* mempunyai perbedaan yang signifikan.

Hasil analisis statistik menggunakan uji Mann-Whitney menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna ($p > 0,05$) pada ekstrak limbah kulit buah kakao konsentrasi 12,5% (K5); 25% (K6) terhadap NaOCl 2,5%. Ekstrak limbah kulit buah kakao konsentrasi 0,78% (K1); 1,56% (K2); 3,125% (K3); 6,25% (K4) terhadap aquades (K-) menunjukkan ada perbedaan bermakna ($p < 0,05$).

PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui daya antibakteri ekstrak limbah kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) terhadap pertumbuhan *S. viridans* dengan menghitung jumlah koloni *S. viridans*. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa ekstrak limbah kulit buah kakao pada konsentrasi 0,78%; 1,56%; 3,125%; 6,25%; 12,5%; 25% mempunyai kemampuan untuk menghambat

koloni *S. viridans*. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak limbah kulit buah kakao, semakin tinggi juga kemampuan untuk menghambat *S. viridans*.¹⁷ Konsentrasi minimal ekstrak limbah kulit buah kakao dalam menghambat *S. viridans* adalah 0,78%. Hal tersebut dimungkinkan karena adanya kandungan bioaktif pada ekstrak limbah kulit buah kakao.

Hasil uji fitokimia berdasarkan penelitian Kayaputri ekstrak kulit buah kakao menggunakan pelarut etanol 70% dibuktikan bahwa menunjukkan kandungan yang lebih kompleks yaitu senyawa alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin, terpenoid dan steroid.¹¹ Senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan triterpenoid ini menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah kakao berpotensi sebagai antimikroba.¹² Flavonoid yang terkandung dalam ekstrak kulit kakao merupakan senyawa fenolik yang memiliki ikatan glikosida dan berfungsi sebagai agen antibakteri karena mampu berinteraksi dengan protein membran sel bakteri. Senyawa tanin dalam ekstrak kulit buah kakao berpotensi sebagai antimikroba karena mampu mengikat protein dan menghentikan aktivitas enzim sehingga metabolisme sel bakteri terhenti. Alkaloid dapat menyebabkan koagulasi protein sel bakteri sehingga menyebabkan terhambatnya pertumbuhan bakteri. Koagulasi protein sel bakteri akan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan dalam sel bakteri yang menyebabkan lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh, sehingga menyebabkan kematian sel bakteri.¹¹

Pemanfaatkan kulit buah kakao sebagai antibakteri sangat berpotensi untuk dikembangkan. Aktivitas antibakterial ekstrak kulit buah kakao pada *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, dan *Staphylococcus aureus* yang juga merupakan beberapa bakteri penyebab infeksi saluran akar telah dibuktikan pada penelitian Mulyatni.¹⁴ Yumas juga mengemukakan bahwa kulit buah kakao berpotensi sebagai sumber antibakteri *Streptococcus mutans*.¹⁵

Penelitian ini menggunakan NaOCl 2,5% sebagai kontrol positif karena NaOCl 2,5% sering digunakan sebagai bahan disinfektan karena memiliki efek antibakteri yang baik.¹⁶ Hasil penelitian pada Gambar & Tabel 1. menunjukkan bahwa NaOCl 2,5% mempunyai daya antibakteri yang kuat karena tidak ada pertumbuhan koloni bakteri *S. viridans*, namun ekstrak kulit buah kakao konsentrasi 1,56% terdapat pertumbuhan koloni bakteri *S. viridans*. Ekstrak kulit buah kakao konsentrasi 12,5% dan 25% merupakan konsentrasi yang mempunyai kemampuan antibakteri setara dengan NaOCl 2,5% terhadap *S. viridans*. Dalam hal ini NaOCl 2,5% memiliki kandungan bahan kimia lebih aktif dibandingkan ekstrak kulit buah kakao konsentrasi 1,56%.

Sodium hipoklorit mempunyai cara kerja antibakteri dengan reaksi saponifikasi, reaksi neutralisasi, dan reaksi kloraminasi. Reaksi

saponifikasi pada sodium hipoklorit ini mampu melarutkan lemak pada dinding sel bakteri sehingga terjadi disfungsi permeabilitas selektif dinding sel bakteri. Reaksi neutralisasi pada sodium hipoklorit mampu mendenaturasi membran protein sel bakteri sehingga membran sel bakteri menjadi lisis. Reaksi kloraminasi pada sodium hipoklorit antara klorin dan group amino akan membentuk kloramin yang mempengaruhi metabolisme sel bakteri. Klorin merupakan oksidator kuat yang mampu menghasilkan efek antimikroba dengan cara menghambat enzim-enzim bakteri.^{5,17}

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan ekstrak limbah kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) pada konsentrasi 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,56%; 0,78% memiliki daya antibakteri terhadap pertumbuhan *Streptococcus viridans*. Ekstrak limbah kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) konsentrasi 0,78% merupakan konsentrasi hambat minimal terhadap pertumbuhan *Streptococcus viridans*. Ekstrak limbah kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) konsentrasi 12,5% dan 25% setara dengan NaOCl 2,5%. Perlu penelitian lebih lanjut secara *in-vitro* atau *in-vivo* ekstrak limbah kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) sebagai bahan irigasi saluran akar yang aman dalam menghambat pertumbuhan mikroba patogen lainnya dalam rongga mulut terutama mikroba saluran akar. Perlu penelitian lebih lanjut mengenai toksitas dan kemampuan dalam menghilangkan smear layer ekstrak limbah kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) sebagai bahan irigasi saluran akar.

DAFTAR PUSTAKA

1. Yuanita T. Propolis pada Imunopatobiologi Penyembuhan Periodontitis Apikalis Kronis. 1st ed. Surabaya: Airlangga University Press. 2017
2. Tria F, Ermawati T, dan Aju DW. 2014. Daya Hambat Ekstrak Kulit Buah Apel (*Malus sylvestris* Mill.) Varietas Manalagi Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus viridians*. Stomatognatic Jurnal Kedokteran Gigi. 2014;11(1): 23-6.
3. Harini PM, Sham SB, Sundeep HK. Comparative Evaluation of Bactericidal Potential of Four Root Canal Filling Materials against Microflora of Infected Non -Vital Primary Teeth. Journal Clinical Pediatric Dentistry. 2010; 35(1): 23-30.
4. Narayanan LL dan Vaishnavi C. Endodontic Microbiology. Journal of Conservative Dentistry. 2010;13(4): 233-9.
5. Grossman LI, Gopikrishna V dan Chandra BS. Endodontic Practice. 13th ed. New Delhi: Wolters Kluwer (India) Pvt. Ltd. 2014
6. Pasril Y dan Yuliasanti A. Daya Antibakteri Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum*) terhadap Bakteri *Entrococcus faecalis* sebagai Bahan Medikamen Akar dengan Metode Dilusi. Inisiva Dental Journal.2014; 3(1): 88-95.
7. Bachtiar ZA. Perawatan Saluran Akar pada Gigi Permanen Anak dengan Bahan Gutta Percha. Jurnal PDGI, 2016; 65(2): 60-7.
8. Retamozo B, Shabahang S, Johnson N, Arecio R, Torabinejad M. Minimum Contact Time and Concentration of Sodium Hypochlorite Required to Eliminate *Enterococcus faecalis*. Journal of Endodontics.2010; 36(3): 520-3.
9. Tanumihardja M. Larutan Irigasi Saluran Akar. Dentofasial, 2010;9(02): 108-15.
10. Haninah, Lestari PE dan Wahyukundari MA. Daya Antibakteri Ekstrak Daun Sisik Naga (*Drymoglossum piloselloides* [L.] Presl.) terhadap *Streptococcus viridans*. Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa. 2014;1-6.
11. Kayaputri I, Djali M, Sukri M dan Fazaryasti RH. The Antimicrobial Effectiveness of Cacao Shell and Cacao Husk Combination on Inhibition of Pathogenic Bacteria in Food Products. International Conference on Food and Bio-Industry.2020: 1-9.
12. Sukatik, Yetri Y, Hidayati R, Putra RT dan Paramitha R. Kajian Manfaat Senyawa Aktif dalam Ekstrak Kulit Buah Coklat (*Theobroma Cacao*). Jurnal Ilmiah Poli Rekayasa, 2020;15(2): 13-19.
13. Rachmawaty AM dan Hasri. Analisis Fitokimia Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao L.*) sebagai Kandidat Antimikroba. Makassar, Proceeding of National Seminar Research and Community Service Institute Universitas Negeri Makassar. 2017
14. Mulyawati E. Peran Bahan Disinfeksi pada Perawatan Saluran Akar. Majalah Kedokteran Gigi. 2011;18(2): 205-9.
15. Yumas M. Pemanfaatan Limbah Kulit Ari Biji Kakao (*Theobroma cacao L.*) sebagai Sumber Antibakteri *Streptococcus mutans*. Jurnal Industri Hasil Perkebunan. 2017;12(2): 7-20.

16. Kusumawardhani T, Sukaton dan Sudirman A. Perbedaan Khasiat Antibakteri Bahan Irrigasi Larutan Propolis dan Sodium Hypochlorite terhadap Bakteri *Streptococcus viridans*. *Conservative Dentistry Journal*. 2018;8(1): 42-8.
17. Ma'rifah, Miswan, Nur A. Efektivitas Ekstrak Limbah Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao L.*) sebagai Antibakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Garuda Ristekdikti*, 2018: 289-198.
18. Mahanani R, Praharani D, dan Puwanto. Daya Antibakteri Ekstrak Daun Pare (*Momordica charantia*) dalam Menghambat Pertumbuhan *Streptococcus viridans*. *Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa*.2012: 1-7