

**PENGARUH PERBEDN KONSENTRASI EKSTRAK METANOL BIJI
KAKAO (*Theobroma cacao*) TERHADAP AKTIVITAS
ANTIBAKTERI PADA BACTERI *Propionibacterium acnes* DAN
Staphylococcus epidermidis SECARA IN VITRO**

**DIFFERENT CONCENTRATION OF METHANOL COCOA BEAN EXTRACT
EFFECTS AGAINST ANTIBACTERIAL ACTIVITY IN VITRO ON
Propionibacterium acnes AND *Staphylococcus epidermidis* BACTERIA**

Kevin¹, Lilih Riniwasih Kadiwijati^{2*}

^{1,2}Fakultas Farmasi, Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta,

Jl. Sunter Permai Raya, Jakarta Utara, 14350, Indonesia

*E-mail: lilih.kadiwijati@yahoo.com

Abstrak

Jerawat merupakan gangguan kulit yang ditandai dengan adanya peradangan yang diikuti oleh penyumbatan pada saluran kelenjar minyak dalam kulit serta peradangan yang umumnya dipicu oleh bakteri *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Staphylococcus aureus*. Jerawat parah dapat menyakitkan dan dapat menimbulkan jaringan parut yang permanen. Tanaman kakao (*Theobroma cacao*) diketahui memiliki banyak manfaat di bidang kesehatan. Senyawa polifenol yang terdapat pada biji kakao seperti flavonoid, katekin dan tannin merupakan salah satu bahan bioaktif pada biji kakao yang diduga dapat dimanfaatkan dalam menghambat proses pertumbuhan bakteri. Kontrol positif yang digunakan adalah klindamisin, sedangkan kontrol negatif yang digunakan dalam penelitian ini adalah pelarut DMSO 10%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak biji kakao memiliki daya antibakteri terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*. Konsentrasi yang bekerja paling efektif dalam penelitian ini adalah 75 mg/mL, dimana pada konsentrasi tersebut menunjukkan diameter zona hambat terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis* sebesar 8,71 mm dan 11,95 mm.

Kata kunci: Jerawat; Biji Kakao (*Theobroma cacao*); *Propionibacterium acnes*; *Staphylococcus epidermidis*; Antibakteri

Abstract

Acne is a skin disorder which is characterized by inflammation and followed by blockage of oil gland which is generally triggered by *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermidis*, and *Staphylococcus aureus* bacteria. Severe acne could be painful and could cause a permanent scar. Cocoa (*Theobroma cacao*) are known to have many benefits in health sector. Polyphenol compounds which is found at cocoa beans like flavonoid, catechins, and tannin are one of many bioactive compounds that were contain at cocoa beans which is suspected could be useful in inhibiting the bacterial growth. Clindamycin are being used as positive control, while DMSO 10% are being used as negative control. The result of study showed that cocoa beans have an antibacterial activity against *Propionibacterium acnes* and *Staphylococcus epidermidis* bacteria. The most effective concentration from this study was 75mg/mL, which is shown from the inhibition zone diameter for *Propionibacterium acnes* and *Staphylococcus epidermidis* bacteria are 8,71mm and 11,95 mm.

Keywords: Acne; Cocoa beans (*Theobroma cacao*); *Propionibacterium acnes*; *Staphylococcus epidermidis*; Antibacterial

PENDAHULUAN

Kulit merupakan anggota tubuh terluar dan langsung bersentuhan dengan lingkungan. Kulit dapat menjadi kering, kusam dan mengalami penuaan dini yang merupakan salah satu efek buruk dari radikal bebas[1].

Radikal bebas diartikan sebagai molekul yang mempunyai satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan di orbit terluarnya sehingga relatif tidak stabil. Sedangkan senyawa yang mampu menghilangkan, membersihkan, menahan efek radikal disebut antioksidan[2].

Sekarang telah banyak dikembangkan pemanfaatan bahan-bahan alam sebagai sumber antioksidan dalam sediaan kosmetika[3]. Bahan alam yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan adalah limbah kulit buah pisang nangka (*Musa AAB*). Menurut Jami'ah[4] kulit buah pisang memiliki aktivitas senyawa antioksidan lebih tinggi dibandingkan daging buahnya, karena mengandung senyawa golongan flavonoid maupun senyawa fenolik yang mampu menangkal efek dari radikal bebas. Hasil penelitian Enein[5] menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit buah pisang memiliki kandungan total flavonoid 18,52 dan memiliki nilai IC_{50} 75,34 ppm.

Peningkatan penelitian formula kosmetika bertujuan untuk mencari bentuk sediaan kosmetika yang tahan lama, praktis dan stabil[6]. *Facial spray gel* merupakan salah satu sediaan kosmetik yang mempunyai kelebihan dari sediaan topikal lainnya yaitu lebih aman, lebih praktis dan mudah dicuci[7].

Berdasarkan latar belakang di atas, perlu dilakukan penelitian mengenai pengaruh formulasi sediaan *facial spray gel* ekstrak etanol 70% kulit buah pisang nangka (*Musa AAB*) terhadap sifat fisik, stabilitas fisik dan aktivitas antioksidan.

METODE

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian yaitu Blender, kulkas, ayakan nomor 10, maserator, botol coklat, botol timbang, rotary evaporator, penangas air, cawan uap, tabung reaksi, vial, spatel logam, oven, Erlenmeyer, timbangan analitik, kompor listrik, corong, beaker glass, piknometer, magnetic stirrer, lampu spiritus, staining dish, autoklaf, vortex, inkubator, Laminar Air Flow, sengkeli/ose, object glass, mikroskop, labu ukur, pinset, pipet tetes, sudip, aluminium foil, cawan petri, pipet ukur, ball pipet, pipet mikro, mikro tips, korek api, pinset, jangka sorong, masker, sarung tangan.

Bahan yang digunakan untuk penelitian adalah biji kakao (*Theobroma cacao*) sebanyak 2 kg, etanol 70%, metanol, aquadest, $FeCl_3$, NH_4OH , $CHCl_3$, asam asetat anhidrat, H_2SO_4 pekat, HCl pekat, logam Mg, amil alkohol, NH_3 , reagen Fehling A, Fehling B, Mayer, Dragendorff, Bouchardat, bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Propionibacterium acnes*, media TSA, MHA, Blood Agar Base Powder, reagen gram stain, sol. lugol, karbol fuchsin, oil immersion, natrium klorida, Mc. Farland 0,5, lysol, kertas saring Whatman, cotton bud, kapas, kertas cakram kosong, disc antibiotik Klindamisin 2 μg

Pembuatan Simplisia

Biji kakao segar segera dilakukan sortasi basah, setelah itu simplisia dicuci dan dikeringkan selama tiga hari untuk mendapatkan simplisia yang kering, selanjutnya dilakukan sortasi kering untuk memisahkan simplisia dari kotoran. Kemudian simplisia dihaluskan dan diayak dengan menggunakan ayakan nomor 10 (Dirjen POM, 2000).

Pembuatan Ekstrak

Ekstrak metanol biji kakao (*Theobroma cacao*) dilakukan dengan metode maserasi dengan pelarut methanol sebanyak 1500 mL dalam 500 gram serbuk kering biji kakao

(Theobroma cacao). Masukkan ke dalam wadah kaca gelap ukuran 5 L, lalu simplisia direndam dengan pelarut metanol selama 3 x 24 jam. Lakukan pengadukan berputar tanpa membuka botol kaca 1 x 6 jam, Setelah 3 hari simplisia tersebut disaring menggunakan kertas saring. Ampas diambil untuk proses remaserasi sebanyak 3 kali. Semua maserat simplisia divakum menggunakan dalam botol kaca gelap yang lainnya. Maserat berupa ekstrak cair yang kemudian diuapkan dengan alat rotary evaporator pada suhu 30-40°C hingga diperoleh ekstrak agak kental. Ekstrak biji kakao yang diperoleh diuapkan lagi di penangas air pada suhu 60-70°C dan diperoleh ekstrak kental berwarna coklat kehitaman yang sangat pekat.

Pengujian Karakteristik Ekstrak

Pengujian karakteristik ekstrak meliputi rendemen, uji organoleptis, susut pengeringan, kadar air, kadar abu, dan sisa pelarut.

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia untuk biji kakao (*Theobroma cacao*) meliputi identifikasi alkaloid, flavanoid, gula pereduksi, saponin, steroid dan triterpenoid serta tanin.

Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 2 atm selama 30 menit digunakan untuk bahan-bahan tidak tahan panas serta alat-alat gelas berskala yang sebelumnya telah dicuci bersih dan dikeringkan, lalu dibungkus dengan kertas roti. Kemudian untuk bahan-bahan cair kecuali larutan ekstrak, harus ditutup dengan rapat mulut wadah kaca dengan kapas dan dibungkus dengan kertas roti. Sedangkan bahan cair seperti ekstrak cukup dengan perlakuan aseptis dalam Laminar Air Flow (LAF). Untuk bahan logam seperti pinset dapat disterilkan menggunakan oven dengan suhu 150°C selama 2 jam dan untuk sengkeliit/ose dapat disterilkan dengan lampu spiritus hingga kawat sengkeliit berpijar merah membara. Lalu untuk sterilisasi alat Laminar Air Flow (LAF) dapat dilakukan dengan cara menyemprotkan seluruh bagian LAF dengan alkohol 70% dan disinari dengan lampu UV selama 30-60 menit (Mun'im, 2004).

Inokulasi Biakan Bakteri

Bakteri murni (*Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*) yang akan digunakan untuk pengujian aktivitas antibakteri, diinokulasikan menggunakan sengkeliit/ose dalam media agar miring TSA secara aseptis di dalam Laminar Air Flow (LAF). Kemudian diinkubasikan dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam.

Pewarnaan Gram Bakteri

Suspensi bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis* diambil sebanyak 1 sampai 2 ose, masing-masing diletakkan di atas kaca objek, bentuk lingkaran dengan diameter \pm 1 cm, kemudian difiksasi dengan melewatkannya di atas api. Teteskan 1

tetes larutan karbol kristal violet, dibiarkan selama 5 menit, cuci dengan air suling. Teteskan larutan lugol, biarkan selama 1 menit, cuci dan dibilas dengan etanol (95%) selama 30 detik, lalu cuci dengan air. Kemudian teteskan larutan fuchsin, biarkan mengering, cuci dengan air, dan keringkan. Teteskan minyak Oil immersion di atas preparat. Bentuk dan warna sel bakteri diamati dengan menggunakan mikroskop pada perbesaran 1000x. Apabila warna preparat yang didapat merah, hal ini menandakan bakteri tersebut bersifat gram negatif, sedangkan jika preparat berwarna biru atau ungu, hal ini menandakan bakteri tersebut bersifat gram positif.

Pembuatan Larutan Uji Ekstrak

Larutan ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao*) konsentrasi 75mg/mL merupakan konsentrasi dari ekstrak kental metanol sebanyak 750 mg yang dilarutkan dengan menggunakan DMSO 10% sebanyak 10 mL tanpa penambahan pelarut aquadest. Begitu juga untuk konsentrasi 62,5; 50; 37,5 dan 25 mg/mL didapatkan dari proses pembuatan larutan dengan cara yang sama. Untuk pembuatan larutan uji ekstraknya adalah sebagai berikut:

1. Ambil 750 mg ekstrak kental biji kakao (*Theobroma cacao*), larutkan dalam DMSO 10% hingga tanda batas labu ukur 10 mL sehingga didapatkan konsentrasi 75 mg/mL.
2. Ambil 625 mg ekstrak kental biji kakao (*Theobroma cacao*), larutkan dalam DMSO 10% hingga tanda batas labu ukur 10 mL sehingga didapatkan konsentrasi 62,5 mg/mL.
3. Ambil 500 mg ekstrak kental biji kakao (*Theobroma cacao*), larutkan dalam DMSO 10% hingga tanda batas labu ukur 10 mL sehingga didapatkan konsentrasi 50 mg/mL.
4. Ambil 375 mg ekstrak kental biji kakao (*Theobroma cacao*), larutkan dalam DMSO 10% hingga tanda batas labu ukur 10 mL sehingga didapatkan konsentrasi 37,5 mg/mL.
5. Ambil 250 mg ekstrak kental biji kakao (*Theobroma cacao*), larutkan dalam DMSO 10% hingga tanda batas labu ukur 10 mL sehingga didapatkan konsentrasi 25 mg/mL.

Pengujian Kekeruhan Bakteri

Bakteri dari hasil pembiakan diambil dengan menggunakan ose secukupnya, lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 5 mL larutan NaCl 0,9% untuk mendapatkan suspensi bakteri. Kemudian kocok suspensi bakteri dengan alat vortex sampai homogen dan bandingkan kekeruhan bakteri dibandingkan dengan larutan standar McFarland 0,5. Apabila suspensi belum setara kekeruhannya dengan McFarland 0,5 ambil lagi bakteri biakan kocok dan bandingkan hingga larutan suspensi benar-benar memiliki kekeruhan yang sama dengan larutan McFarland 0,5.

Uji Aktivitas Antibakteri

Prinsip metode difusi cakram ini adalah mengukur zona hambatan pertumbuhan bakteri yang terjadi akibat difusi zat yang bersifat sebagai antibakteri di dalam media padat. Sebanyak 15-20 mL pada media Muller Hilton agar yang sudah disiapkan dan steril dalam Erlenmeyer, biarkan hingga suhu 45-50°C. Bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis* yang telah disuspensi sebelumnya sebanyak 1-2 ose dari biakan murni bakteri dengan menggunakan NaCl 0,9% sesuai dengan standar McFarland (1×10^5 CFU/mL) kemudian disebar diatas media Muller Hilton agar dengan menggunakan kapas lidi

steril (cotton bud steril), lakukan usapan ke seluruh permukaan cawan petri yang berisi Muller Hilton agar.

Pengujian dilakukan dengan cara menggunakan kertas cakram yang sudah di teteskan ekstrak biji kakao dari berbagai konsentrasi (75; 62,5; 50; 37,5; 25 mg/mL) dengan mikro pipet. Untuk kontrol negatif digunakan DMSO 10% dan antibiotik Klindamisin 2 µg sebagai kontrol positifnya. Kemudian ditempelkan pada permukaan Muller Hilton agar yang telah dioleskan dengan bakteri. Selanjutnya masukkan media tersebut ke dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam. Setelah itu dilakukan pengukuran diameter zona hambat dengan menggunakan jangka sorong dengan ketelitian 0,01 mm dan daerah zona hambat diukur sesuai dengan metode pengukuran. Pengujian ini dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan.

Analisis Data

Data pada penelitian di dapat dengan cara pengamatan secara visual dan mengukur hasil rata-rata zona hambat di sekitar cakram berisi larutan dari beberapa konsentrasi ekstrak terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*. Data yang diperoleh kemudian diuji dengan menggunakan uji normalitas metode Shapiro-Wilk dan di uji homogenitas dengan metode Levene.

Apabila data yang diperoleh menunjukkan distribusi normal dan homogen, maka digunakan uji parametrik. Pembuktian dilakukan dengan uji statistik menggunakan statistical package for the social sciences (SPSS) dengan metode Teknik Analisis of Varians (ANOVA). Teknik yang digunakan adalah ANOVA satu arah (One Way ANOVA) dengan nilai α 0,05 dan tingkat kepercayaan 95%. Apabila terdapat perbedaan, akan dilanjutkan dengan uji perbandingan berganda menggunakan metode Least Significant Difference (LSD). Uji ANOVA ini dilakukan untuk mendapatkan data yang valid dan mengetahui ada atau tidaknya perbedaan pengaruh pemberian larutan uji dari beberapa konsentrasi terhadap efek antimikroba (Subana, 2000).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi Tanaman

Biji kakao yang digunakan dalam penelitian ini telah dideterminasi di Pusat Konservasi Tumbuhan Kebun Raya – LIPI. Hasil determinasi menunjukkan bahwa daun tanaman yang digunakan pada penelitian adalah biji kakao (*Theobroma cacao*) dari famili Malvaceae.

Ekstraksi

Bagian yang digunakan untuk ekstraksi pada penelitian ini adalah biji kakao (*Theobroma cacao*) yang telah dideterminasi terlebih dahulu. Sebelum proses ekstraksi dilakukan, simplisia harus di rajang dan di haluskan terlebih dahulu menjadi serbuk. Proses ekstraksi dengan metode maserasi dilakukan dengan cara menimbang bobot serbuk simplisia sebesar 500 gram dan kemudian di rendam dalam pelarut etanol 70% sebanyak 1,5 L.

Penggunaan metode ekstraksi maserasi ini dilakukan dengan tujuan untuk menghindari rusaknya beberapa kandungan senyawa kimia yang ada dalam simplisia. Pelarut metanol dianggap sebagai pelarut yang cocok karena etanol merupakan pelarut polar yang memiliki kemampuan penarikan senyawa kimia yang lebih baik dibanding dengan etanol. Pelarut metanol mampu menarik senyawa non-polar sampai dengan senyawa polar, sehingga penggunaan pelarut ini diharapkan mampu menyari metabolit sekunder seperti flavanoid,

tanin dan saponin yang terkandung dalam biji kakao (Saifudin dkk., 2011). Hasil ekstraksi secara maserasi ini didapatkan ekstrak kental sebanyak 51,30 gram.

Uji Karakteristik

Berikut ini adalah hasil pengujian karakteristik ekstrak metanol biji kakao (*Theobroma cacao*) yang dapat dilihat pada tabel 1 sebagai berikut:

Tabel 1. Hasil Uji Karakteristik Ekstrak

No	Parameter	Keterangan
1	Rendemen	5,13%
2	Organoleptis	Kental, berbau khas, rasanya pahit, dan berwarna coklat kehitaman
3	Susut Pengeringan	4,41%
4	Kadar Air	0,7%
5	Kadar Abu	4,5%
6	Sisa Pelarut	0,65%

Skrining Fitokimia

Hasil skrining fitokimia ekstrak metanol biji kakao (*Theobroma cacao*) dapat dilihat pada tabel 2 sebagai berikut:

Tabel 2. Hasil Uji Karakteristik Ekstrak

No	Golongan Senyawa	Hasil
1	Alkaloid	(+)
2	Flavanoid	(+)
3	Gula Pereduksi	(+)
4	Saponin	(+)
5	Steroid	(-)
6	Tanin	(+)
7	Triterpenoid	(+)

Perwarnaan Gram Bakteri

Hasil pengamatan kedua bakteri baik *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis* dengan mikroskop terlihat jelas bentuk morfologi dan warna bakteri. Apabila warna preparat yang didapat merah, hal ini menandakan bakteri tersebut bersifat gram negatif, sedangkan jika preparat berwarna biru atau ungu, hal ini menandakan bakteri tersebut bersifat gram positif. Pada bakteri *Propionibacterium acnes* memiliki ukuran batang tunggal dan berwarna ungu. Warna ungu disini karena *Propionibacterium acnes* bertipe gram positif. Sedangkan pada bakteri *Staphylococcus epidermidis* memiliki bentuk bulat-bulat bergerombol seperti anggur dan berwarna ungu. Warna ungu pada bakteri *Staphylococcus epidermidis* menandakan bakteri ini bertipe gram positif.

Uji Aktivitas Antibakteri

Ekstrak metanol biji kakao (*Theobroma cacao*) yang diperoleh dilakukan uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis* menggunakan metode difusi cakram. Hal ini bertujuan untuk mengetahui diameter zona hambat yang dihasilkan oleh larutan uji ekstrak terhadap pertumbuhan bakteri dalam waktu 24 jam. Uji aktivitas antibakteri menggunakan larutan uji ekstrak biji kakao (*Theobroma cacao*) dengan konsentrasi sebesar 75; 62,5; 50; 37,5 dan 25 mg/mL. Hasil uji aktivitas antibakteri berupa diameter zona hambat dapat dilihat pada tabel 3 sebagai berikut:

Tabel 3. Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol 70% Daun Kersen

Kelompok Perlakuan	Diameter Zona Hambat			Rata-rata
	1	2	3	
Bakteri <i>Propionibacterium acnes</i>				
KKP	27,60	27,73	27,49	27,60 ± 0,12
KKN	0	0	0	0
25 mg/mL	0	0	0	0
37,5 mg/mL	6,42	6,73	6,55	6,56 ± 0,15
50 mg/mL	7,23	7,11	7,18	7,17 ± 0,06
62,5 mg/mL	7,55	7,61	7,73	7,63 ± 0,09
75 mg/mL	8,78	8,64	8,75	8,71 ± 0,07
Bakteri <i>Staphylococcus epidermidis</i>				
KKP	30,84	30,69	30,75	30,76 ± 0,07
KKN	0	0	0	0
25 mg/mL	0	0	0	0
37,5 mg/mL	7,05	6,89	6,98	6,97 ± 0,08
50 mg/mL	7,45	7,61	7,68	7,58 ± 0,12
62,5 mg/mL	8,87	9,07	9,02	8,98 ± 0,1
75 mg/mL	11,96	12,06	11,83	11,95 ± 0,11

Keterangan:

KKP = Kelompok Kontrol Positif (Klindamisin 2 µg)

KKN = Kelompok Kontrol Negatif (DMSO 10%)

Berdasarkan data hasil pengujian antibakteri, pada konsentrasi tertinggi larutan uji ekstrak 75 mg/mL mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis* dengan diameter zona hambat masing-masing sebesar 8,71 mm dan 11,95 mm. Sedangkan pada konsentrasi terendah larutan uji ekstrak 25 mg/mL tidak membentuk diameter zona hambat.

Analisis Data

Berdasarkan hasil analisa data pada uji normalitas metode Shapiro-Wilk pada kedua bakteri diperoleh Sig. > α (0,05) yang menunjukkan data terdistribusi normal. Sedangkan pada uji homogenitas metode Levene pada kedua bakteri diperoleh Sig. > α (0,05) yang menunjukkan data terdistribusi homogen. Karena data tersebut terdistribusi normal dan homogen, maka dilanjutkan analisa data selanjutnya yaitu uji parametrik ANOVA.

Hasil uji ANOVA menunjukkan nilai Sig. (0,000) < α (0,05) menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antar masing-masing kelompok perlakuan terhadap pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*. Kemudian analisa data dilanjutkan dengan Post Hoc Tests metode LSD yang menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara kelompok perlakuan satu terhadap kelompok perlakuan lainnya. Kesimpulan dari data yang didapat adanya pengaruh konsentrasi ekstrak terhadap pertumbuhan bakteri, dimana konsentrasi ekstrak berbanding lurus terhadap zona hambat yang terbentuk yaitu semakin tinggi konsentrasi larutan uji ekstrak, semakin besar pula zona hambat yang terbentuk. Hasil pengolahan data menggunakan SPSS v.23.0. adalah sebagai berikut :

Tabel 4. Hasil Analisa Data SPSS Aktivitas Antibakteri

Uji Statistik	Bakteri	Hasil	Kesimpulan
Uji Normalitas (Shapiro-Wilk)	<i>Propionibacterium acnes</i>	Sig. > 0,05	Data terdistribusi normal
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Sig. > 0,05	Data terdistribusi normal
Uji Homogenitas (Levene Test)	<i>Propionibacterium acnes</i>	Sig. > 0,05	Data terdistribusi homogen
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Sig. > 0,05	Data terdistribusi homogen
Uji Parametrik (One-Way ANOVA)	<i>Propionibacterium acnes</i>	Sig. < 0,05	Ada perbedaan pengaruh pemberian kelompok perlakuan terhadap diameter zona hambat yang terbentuk
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Sig. < 0,05	Ada perbedaan pengaruh pemberian kelompok perlakuan terhadap diameter zona hambat yang terbentuk
Uji Post Hoc (LSD)	<i>Propionibacterium acnes</i>	Sig. < 0,05	Ada perbedaan pengaruh pemberian antar kelompok perlakuan terhadap diameter zona hambat yang terbentuk
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Sig. < 0,05	Ada perbedaan pengaruh pemberian antar kelompok perlakuan terhadap diameter zona hambat yang terbentuk

DAFTAR PUSTAKA

1. Adrianto, K., 2012, Efek Antibakteri Polifenol Biji Kakao pada *Streptococcus mutans*, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Jember.
2. Aziz, N. A., 2010, Pengaruh Cara dan Kebiasaan Membersihkan Wajah terhadap Pertumbuhan Jerawat, Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara, Medan.
3. Dirjen POM. 2000. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat.. Jakarta: Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
4. Mun'im, A. 2004. Penuntun Praktikum Mikrobiologi Farmasi. Depok: Departemen Farmasi FMIPA UI.
5. Oprica, C., 2004, Antibiotic Resistant *Propionibacterium acnes* on The Skin of Patient with Moderate to Severe Acne, *Journal of Pharmacology*, 10(3), 155-164.
6. Ray, C. et al., 2013, Review Article: Acne and Its Treatment Lines. *Int Jou Res in Pharm Bios*, 3(1): 1-16.
7. Saifudin, A., Rahayu, V., & Teruna, H.Y. 2011. Standardisasi Bahan Obat Alam. Yogyakarta: Graha Ilmu.
8. Subana. 2000. Statistik Pendidikan. Bandung: Pustaka setia.

9. Zakaria, Soekamto, N. H., Syah, Y. M., Firdaus, 2017, Aktivitas Antibakteri Dari Fraksi *Artocarpus integer* (Thunb.) Merr. Dengan Metode Difusi Agar, *Jurnal Industri Hasil Perkebunan.*, 12(2): 4.