



## Phytochemical Analysis and Determination of MIC and MFC of Cacao Leaves Extract (*Theobroma cacao* L.) against *Malassezia furfur*

Analisis Fitokimia dan Penentuan KHM, serta KBM Ekstrak Daun Cokelat (*Theobroma cacao* L.) terhadap *Malassezia furfur*

Siti Marwah Lestari<sup>1\*</sup>, Leonyta Camelia<sup>1</sup>, Widya Twini Rizki<sup>1</sup>, Septa Pratama<sup>1</sup>, Chindiana Khutami<sup>1</sup>, Amraini Amelia<sup>1</sup>, Rahmadevi<sup>1</sup>, Yuni Andriani<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Undergraduate Pharmacy Study Program, Faculty of Health Sciences, Adiwangsa Jambi University, Sergeant Muslim Street No.RT 24, The Hok, South Jambi District, Jambi City, Jambi, Indonesia

\*Corresponding author: [sitimarwahlestari@gmail.com](mailto:sitimarwahlestari@gmail.com); (+62)81994745553

Received February 10, 2024; Accepted February 23, 2024; Available online May 03, 2024

### ABSTRACT

Pityriasis versicolor is a disease caused by *Malassezia furfur*. One of the plants that can potentially act as antifungal is cacao leaves (*Theobroma cacao* L.), which contain several secondary metabolite compounds, including alkaloids, flavonoids, tannins, quinones, terpenoids, and saponins. This study aims to determine the phytochemical analysis and the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Fungicidal Concentration (MFC) of cacao leaves ethanolic extract against *M. furfur*. Extracts were obtained by maceration using 70% ethanol and phytochemicals analysis using Herborne's method. Furthermore, the extracts were made into concentrations' variations of 3.125%; 6.25%; 12.5%; 25%; 50%; and 100% for testing antifungal activity, with 10% DMSO as negative control and 2% Ketoconazole and Itraconazole as positive controls. MIC was performed with liquid macrodilution method, and MFC was performed with spread method. The results of phytochemical analysis showed that the extract contained alkaloids, flavonoids, phenols, tannins, quinones, terpenoids and saponins. MIC value was obtained at concentration of 50% and MFC value was obtained at 100%. Cacao leaves ethanolic extract with concentration of 50% can inhibit *M. furfur*'s growth and with 100% can eliminate *M. furfur*.

**Keywords:** Ethanolic extract of cacao leaves, *Malassezia furfur*, minimum fungicidal concentration (MFC), minimum inhibitory concentration (MIC), pityriasis versicolor.

### ABSTRAK

Panu adalah penyakit yang disebabkan oleh jamur *Malassezia furfur*. Salah satu tanaman yang dapat berpotensi sebagai antijamur adalah Daun Cokelat (*Theobroma cacao* L.) yang diketahui mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder, seperti alkaloid, flavonoid, tanin, kuinon, terpenoid, dan saponin. Penelitian ini bertujuan untuk menguji analisis fitokimia dan menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak etanol daun cokelat terhadap *M. furfur*. Ekstrak diperoleh dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70% dan diuji fitokimianya menggunakan metode Harborne. Selanjutnya ekstrak dibuat variasi konsentrasi 3,125%; 6,25%; 12,5%; 25%; 50%; dan 100% untuk pengujian aktivitas antijamur, dengan pelarut DMSO 10% sebagai kontrol negatif, serta Ketokonazol dan Itrakonazol 2% sebagai kontrol positif. Uji KHM dilakukan dengan metode makrodilusi cair, dan uji KBM dilakukan dengan metode sebar (*spread*). Hasil analisis fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak mengandung alkaloid, flavonoid, fenol, tanin, kuinon, terpenoid dan saponin. Nilai KHM didapatkan pada konsentrasi 50% dan nilai KBM didapatkan pada konsentrasi 100%. Ekstrak etanol daun cokelat dengan konsentrasi 50% mampu menghambat pertumbuhan *M. furfur* dan dengan konsentrasi 100% mampu membunuh *M. furfur*.

**Kata Kunci:** Ekstrak etanol daun cokelat, *Malassezia furfur*, konsentrasi bunuh minimum (KBM), konsentrasi hambat minimum (KHM), panu.

## PENDAHULUAN

*Malassezia furfur* merupakan salah satu jamur yang menyerang kulit manusia dan dapat menyebabkan infeksi dermatofitosis seperti ketombe, panu, dermatitis seboroik, dan dermatitis atopik (Saunte et al., 2020). Prevalensi penyebaran penyakit kulit ini bervariasi sesuai dengan perbedaan geografis dan sosio-ekonomi, di mana kondisi tempat tinggal yang ramai, dekat dengan hewan, sanitasi dan higienitas yang rendah, serta iklim yang hangat dan lembab di daerah tropis seperti Indonesia meningkatkan potensi penyebaran *M. furfur* (Urban et al., 2021).

Terdapat tiga golongan antijamur, yaitu golongan azol, ekinokadin, dan polien, di mana diketahui golongan azol seperti ketokonazol dan itrakonazol memberikan efek aktivitas fungistatik yang lebih tinggi dibanding golongan lain terhadap *M. furfur* (Park et al., 2020), tetapi penyakit kulit yang disebabkan *M. furfur* memiliki tingkat kekambuhan yang tinggi dan pemakaian antijamur berulang dan dalam jangka panjang berpotensi menimbulkan resistensi (Dylağ et al., 2020). Oleh karena itu, alternatif pengobatan untuk infeksi kulit dicari dan diteliti, salah satunya adalah cokelat (*Theobroma cacao* L.) yang merupakan tanaman yang terdistribusi luas di negara-negara tropis seperti Indonesia (Febrianto et al., 2022a).

Bersumber pada penelitian-penelitian yang pernah dilakukan, tanaman cokelat memiliki aktivitas sebagai antijamur. Beberapa di antaranya meliputi penelitian yang menggunakan ekstrak kulit biji cokelat terhadap jamur *Trichophyton rubrum* (Hutasoit et al., 2020), ekstrak kulit buah cokelat terhadap jamur *Fusarium oxysporum* (Rachmawaty et al., 2018), dan ekstrak daun cokelat terhadap jamur *Candida albicans* (Permataningrum et al., 2019), di mana ketiga penelitian ini membuktikan bahwa bagian tanaman *Theobroma cacao* yang dibuat sebagai ekstrak memiliki potensi sebagai antijamur. *Candida albicans* dan *Trichophyton rubrum* merupakan jamur Gram-positif (Prastiyanto et al., 2021) sama halnya dengan *M. furfur*.

Daun cokelat dapat digunakan sebagai antijamur karena mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder, seperti alkaloid yang dapat menghambat sintesis dinding sel jamur (Permataningrum et al., 2019), flavonoid yang dapat merusak pembentukan dinding sel jamur (Aboody & Mickymaray, 2020), dan terpenoid yang dapat menghambat pertumbuhan

jamur (Bawa dan Perbhawa, 2020). Berdasarkan berbagai hal yang telah dipaparkan di atas, meliputi dampak yang ditimbulkan infeksi jamur, efek penggunaan jangka panjang obat sintetik, banyaknya populasi pohon cokelat di Indonesia, serta potensi kemampuan daun cokelat sebagai antijamur menjadi alasan perlu dilakukannya pengujian untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder serta nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) dari ekstrak daun cokelat sebagai antijamur, terutama terhadap jamur *M. furfur*.

## METODE

### 1. Alat dan Bahan

Daun Cokelat diperoleh dari kebun yang terletak di Kecamatan Kota Baru, Kota Jambi, Indonesia dan dideterminasi di Herbarium Jatinangor, Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Jurusan Biologi FMIPA Universitas Padjajaran (UNPAD). Alat-alat yang digunakan meliputi blender (Miyako), ayakan 60 mesh, autoklaf (GEA), *hotplate* (MS-H280-Pro), inkubator (Mettler IN55), kapas bulat steril (Medisoft), kasa steril (Hexa Husada), kertas cakram (Macherey-Nagel), labu ukur (Pyrex), *laminar air flow* (LAF), mikroskop binokuler (XSZ 107BN), pipet mikro (Topette Pipettor), *rotary vacuum evaporator* (Biobase), spektrofotometer UV-Vis (BEL photonics), *waterbath*, dan alat-alat gelas.

Bahan yang digunakan meliputi daun cokelat, air suling (Merck), amil alkohol (Merck), asam asetat anhidrat (Merck), asam klorida (Merck), asam sulfat pekat (Merck), barium klorida 1% (Arrow Fine Chemicals), daun cokelat segar, dimetil sulfoksida (Merck), etanol 70% (PT Indo Classica), gelatin (Eurotade World Commerce), jamur *Malassezia furfur* ATCC 14521 (ThermoScientific), kloroform, *lactophenol cotton blue* (LPCE) (HiMedia), media uji *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) (HiMedia), media uji *Sabouraud Dextrose Broth* (SDB) (HiMedia), minyak zaitun (*olive oil*) (Textron), natrium hidroksida (Merck), natrium klorida (Merck), kloroform (Merck), larutan besi klorida (FeCl<sub>3</sub>) 1% (Devam ChemTech), larutan NaCl 0,9% (PHARMCO), pereaksi Bouchardat (Merck), pereaksi Mayer (Merck), pereaksi Wagner (Merck), serbuk Magnesium (Merck), tablet Itrakonazol (Bernofarm), dan tablet Ketokonazol (HexPharm Jaya).

## 2. Pembuatan Simplisia

Daun cokelat segar dikumpulkan sebanyak 2000 g, kemudian disortasi basah, dicuci, kemudian dijemur selama 24-48 jam yang ditutupi dengan kain hitam. Daun cokelat yang telah kering kemudian disortasi kering sebelum dihaluskan menjadi serbuk simplisia daun cokelat menggunakan blender, yang diayak menggunakan ayakan Mesh 60 (Mandhaki et al., 2021; Sartika, 2022).

## 3. Ekstraksi Daun Cokelat (*Theobroma cacao* L.)

Ekstraksi daun cokelat menggunakan metode maserasi. Sebanyak 500 g serbuk kering simplisia daun cokelat dimasukkan ke dalam maserator, kemudian ditambahkan 2.500 mL pelarut etanol 70% dan direndam sambil sesekali diaduk selama 6 jam pertama, lalu diamkan selama 18 jam. Maserat dipisahkan dengan cara filtrasi, kemudian diulangi proses penyarian dengan jenis pelarut yang sama dan jumlah volume pelarut sebanyak setengah kali jumlah volume pelarut pada penyarian pertama hingga diperoleh maserat yang agak jernih. Setelah itu, semua maserat dikumpulkan dan diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 40°C-60°C hingga diperoleh ekstrak kental (Kementerian Kesehatan RI, 2017).

## 4. Skrining Fitokimia

Larutan uji fitokimia dibuat dengan cara melarutkan 200 mg sampel dengan 25 mL etanol 70%, kemudian tiap pengujian direplikasi sebanyak 3 kali (Isnaini et al., 2021; Putra et al., 2018).

## 5. Identifikasi Alkaloid

Larutan uji sebanyak 2 mL diuapkan, kemudian residu dilarutkan dalam 4 mL HCl 2N, lalu larutan dibagi ke dalam 4 tabung reaksi yang diberi label A, B, C, dan D. Tabung A sebagai blanko, tabung B ditambahkan pereaksi Mayer sebanyak 3 tetes, tabung C ditambahkan pereaksi Wagner sebanyak 3 tetes, dan tabung D ditambahkan pereaksi Bouchardat sebanyak 3 tetes. Terbentuknya endapan putih pada tabung B, endapan cokelat muda hingga kuning pada tabung C, dan endapan cokelat kehitaman pada tabung D menandakan adanya alkaloid.

## 6. Identifikasi Flavonoid

Sebanyak 2 mL larutan uji diuapkan hingga diperoleh filtrat yang kemudian ditambahkan 0.1 g

serbuk Magnesium, 5 mL HCl, dan 4 mL amil alkohol. Campuran dikocok dan dibiarkan memisah. Terbentuknya warna kuning hingga merah menandakan adanya flavonoid yang dapat ditarik dengan amil alkohol.

## 7. Identifikasi Polifenol dan Tanin

Sebanyak 3 mL larutan uji dibagi ke dalam 3 bagian yaitu tabung A, B, dan C. tabung A digunakan sebagai blanko, tabung B ditambahkan larutan NaCl-gelatin (larutan gelatin 1% dalam larutan NaCl 10%), dan tabung C direaksikan dengan larutan besi (III) klorida 1%. Hasil positif polifenol golongan tanin ditunjukkan dengan terbentuknya endapan putih yang terbentuk pada tabung B, dan warna biru tua yang menunjukkan adanya tanin terhidrolisis atau warna hitam kehijauan yang menunjukkan adanya tanin terkondensasi pada tabung C.

## 8. Identifikasi Kuinon

Sebanyak 3 mL larutan uji dimasukkan ke dalam 10 mL air panas, kemudian dipanaskan sampai mendidih selama 5 menit, kemudian ditambahkan 3 tetes NaOH. Terbentuknya endapan berwarna merah menunjukkan adanya senyawa kuinon.

## 9. Identifikasi Steroid dan Terpenoid

Larutan uji sebanyak 2 mL diuapkan, residu dilarutkan dengan 0.5 mL kloroform, ditambahkan 0.5 mL asam asetat anhidrat. Ditambahkan 2 mL asam sulfat P melalui dinding tabung. Terbentuknya cincin biru kehijauan menandakan adanya steroid dan cincin kecokelatan atau violet menandakan adanya terpenoid.

## 10. Identifikasi Saponin

Larutan uji sebanyak 10 mL dikocok vertikal dalam tabung reaksi selama 10 detik kemudian dibiarkan selama 10 detik. Pembentukan busa setinggi 1-10 cm yang stabil akan terbentuk selama tidak kurang dari 10 menit. Setelah itu ditambahkan 1 tetes HCl 2N, jika busa tersebut tidak hilang menunjukkan adanya saponin.

## 11. Identifikasi Jamur *Malassezia furfur*

Morfologi jamur *M. furfur* diidentifikasi secara makroskopis dengan mengamati warna, bentuk, dan tekstur jamur, dan secara mikroskopis dengan mengamati struktur pembentuk jamur yang diletakkan di atas kaca objek yang telah diberi pewarna *lactophenol cotton blue* (LPCE) dan

diencerkan dengan satu tetes etanol 70%. Kaca preparat kemudian diletakkan di atas gelas objek, kemudian diamati menggunakan mikroskop dengan pembesaran 100x (Alsohaili & Bani-Hasan, 2018).

## 12. Uji Pendahuluan Aktivitas Antijamur *M. furfur*

Larutan uji ekstrak daun coklat dibuat dengan konsentrasi 100%, 80%, 60%, 40%, dan 20% yang dibuat masing-masing sebanyak 5 mL. Dilakukan uji pendahuluan untuk menentukan konsentrasi larutan uji. Inokulum *M. furfur* diusap menggunakan *cotton swab* pada cawan petri yang berisi media SDA dan minyak zaitun. Kertas cakram dengan ukuran diameter 6 mm direndam dalam larutan uji selama 15 menit, kemudian diletakkan di atas media uji. Cakram Ketokonazol dan Itrakonazol dengan konsentrasi 2% berperan sebagai kontrol positif, sementara kontrol negatif dalam pengujian ini adalah larutan DMSO 10%. Cawan petri kemudian diinkubasi selama 48 jam dengan suhu 37°C, lalu diameter zona hambat yang muncul di sekeliling kertas cakram diukur dan dievaluasi sebagai aktivitas antijamur (Intan et al., 2021; Permataningrum et al., 2019).

## 13. Penetapan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Uji aktivitas antijamur menggunakan metode makrodilusi cair. Disiapkan sebanyak 6 tabung reaksi yang setiap tabung berisi 0.5 mL larutan uji dengan konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12.5%, 6.25%, dan 3.125%, kemudian ditambahkan 4 mL media *Sabouraud Dextrose Broth* (SDB) yang sebelumnya telah ditambahkan minyak zaitun. Kemudian sebanyak 0.5 mL suspensi *M. furfur* dimasukkan ke dalam setiap tabung dan diinkubasi selama 48 jam dengan suhu 37°C. Percobaan ini direplikasi sebanyak 3 kali (Fitriana et al., 2019; Yanthi et al., 2022). Larutan diukur nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometer sebelum dan sesudah inkubasi dengan panjang gelombang 600 nm, untuk menghitung nilai *optical density* (OD) dengan rumus:

$$\text{Nilai OD} = A \text{ sesudah inkubasi} - A \text{ sebelum inkubasi}$$

di mana A merupakan nilai absorbansi dan nilai KHM dapat ditentukan dari nilai OD yang mendekati nol (Agustina et al., 2021; Angiolella et al., 2018).

## 14. Penetapan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)

Media yang digunakan dalam pengujian adalah *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) yang mengandung minyak zaitun. Pada media dituang larutan hasil uji KHM sebanyak 100 µL yang diratakan menggunakan *spreader*. KBM dinilai dari konsentrasi larutan uji yang tidak memperlihatkan pertumbuhan koloni pada media padat (Albab et al., 2020; Singh Parihar et al., 2019).

## 15. Analisis Data

Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali kemudian dihitung nilai rata-rata dan standar deviasinya. Analisis data berupa nilai *optical density* (OD) yang menunjukkan nilai KHM pada penelitian ini dilakukan secara analitik komparatif numerik lebih dari dua kelompok tidak berpasangan, yang dianalisis menggunakan Uji Shapiro-Wilk menggunakan aplikasi JAMOWI versi 2.4.8 untuk melihat data terdistribusi normal atau tidak. Jika terdapat data yang berdistribusi tidak normal, maka dilakukan uji non-parametrik Kruskal-Wallis yang kemudian dilanjutkan dengan uji *Post-Hoc* Dunn, dan jika data berdistribusi normal, maka dilakukan uji parametrik *One-Way* ANOVA dengan signifikansi  $p < 0.05$  yang kemudian dilanjutkan dengan uji *Post-Hoc* Tukey.

## HASIL & PEMBAHASAN

### 1. Rendemen Ekstrak Etanol Daun Cokelat (*Theobroma cacao* L.)

Rendemen adalah perbandingan ekstrak yang dihasilkan dengan berat serbuk simplisia. Nilai rendemen yang tinggi menunjukkan banyaknya komponen bioaktif yang terkandung di dalamnya. Semakin tinggi rendemen ekstrak, maka semakin tinggi kandungan zat yang tertarik (Senduk et al., 2020). Nilai rendemen pada penelitian ini adalah 43.038% (b/b). Pada penelitian lain yang menggunakan ekstrak etanol daun coklat (*Theobroma cacao* L.), hasil rendemen yang didapatkan cukup bervariasi, yaitu 6.8% setelah dimaserasi selama lima hari dalam pelarut 96% (Mandhaki et al., 2021), dan 10.74% setelah dimaserasi selama lima hari dalam pelarut etanol 70% (Hasanah, 2016). Meski kedua penelitian melakukan maserasi dengan jumlah hari yang sama, hasil rendemen yang didapatkan berbeda. Hal ini dikarenakan perbedaan konsentrasi pelarut yang

digunakan akan memengaruhi tingkat kepolarannya, di mana semakin banyak air yang terkandung di dalam pelarut etanol, kepolaran pelarut akan semakin tinggi. Pelarut dengan kepolaran tinggi memiliki kemampuan mengekstraksi jenis senyawa yang lebih banyak, karena sebagian besar senyawa metabolit sekunder larut dalam air, sehingga etanol 70% yang lebih polar dibandingkan etanol 96% akan lebih banyak menyari senyawa yang terkandung dalam suatu simplisia, dan persentase rendemen yang dihasilkan akan lebih besar (Fauziyah et al., 2022; Hikmawanti et al., 2021; Riwanti et al., 2020).

Banyak faktor yang memengaruhi nilai persentase rendemen, dimulai dari faktor pola tanam, faktor manusia sebagai pelaku, dan faktor metode ekstraksi yang diterapkan. Faktor pola tanam dapat meliputi luas lahan, iklim dan cuaca, penggunaan pupuk dan pestisida, dan varietas yang digunakan. Faktor manusia meliputi waktu pemetikan daun dan cara pengolahan simplisia dan pembuatan ekstrak. Adapun faktor metode yang dimaksud adalah metode ekstraksi yang dipilih, serta lama waktu metode ekstraksi tersebut, di mana semakin lama waktu ekstraksi yang digunakan, maka rendemen yang dihasilkan semakin tinggi (Ananta et al., 2021; Tranggono et al., 2023).

## 2. Skrining Fitokimia

Penambahan HCl pada sampel dalam skrining alkaloid bertujuan untuk mengekstraksi senyawa alkaloid yang bersifat basa, sehingga dengan adanya penambahan asam akan memicu pembentukan garam alkaloid. Ketika garam alkaloid direaksikan dengan reagen tertentu seperti Mayer, Wagner, dan Bouchardat, endapan akan terbentuk. Alasan digunakannya tiga pereaksi dalam pengujian dikarenakan ketiga pereaksi mengandung ion logam yang tidak sama, yang dapat membentuk endapan ketika bereaksi dengan garam-garam alkaloid. Hasil positif alkaloid dengan pereaksi Mayer ditandai dengan pembentukan endapan kompleks kalium-alkaloid berwarna putih. Komposisi Pereaksi Mayer terdiri dari merkuri klorida ( $\text{HgCl}_2$ ) dan kalium iodida (KI) yang dapat bereaksi membentuk endapan merah merkuri iodida ( $\text{HgI}_2$ ). Penambahan kalium iodida yang berlebih akan membentuk kalium tetraiodomerkurat(II). Sementara itu, alkaloid mengandung atom-atom nitrogen yang memiliki pasangan elektron bebas, yang dapat membentuk ikatan kovalen koordinasi dengan ion logam. Ketika direaksikan dengan pereaksi Mayer, atom nitrogen

yang dimiliki alkaloid bereaksi dengan ion logam kalium ( $\text{K}^+$ ) dalam kalium tetraiodomerkurat(II) membentuk kompleks kalium-alkaloid (Fatmawati et al., 2022; Hanifa et al., 2021; Sabdoningrum et al., 2021).

Hasil positif alkaloid dengan pereaksi Wagner dan Bouchardat ditandai dengan pembentukan endapan kalium-alkaloid berwarna coklat muda hingga kuning. Pereaksi Wagner dibuat dari mereaksikan iodin ( $\text{I}_2$ ) dengan ion  $\text{I}^-$  dalam kalium iodida (KI) sehingga terbentuk ion  $\text{I}_3^-$  yang berwarna coklat. Dalam pengujian, ion logam  $\text{K}^+$  akan membentuk ikatan kovalen koordinasi dengan nitrogen dalam alkaloid, yang menyebabkan pembentukan endapan berwarna kuning dengan pereaksi Wagner atau coklat dengan pereaksi Bouchardat. Meski pereaksi Wagner dan pereaksi Bouchardat memiliki komposisi yang sama, secara kuantitas pereaksi Bouchardat mengandung lebih banyak kalium iodida dibandingkan pereaksi Wagner, sehingga warna endapan yang dihasilkan lebih gelap dan pekat (Hanifa et al., 2021; Sabdoningrum et al., 2021; Sadik & Zulfian Disi, 2023; Viogenta et al., 2023).

Hasil positif flavonoid dengan uji Shinoda ditandai dengan terbentuknya larutan berwarna merah. Serbuk magnesium (Mg) mereduksi inti benzopiron pada flavonoid dan membentuk garam flavilium. Sementara itu, penambahan asam klorida (HCl) menyebabkan terhidrolisisnya senyawa flavonoid menjadi aglikon O-glikosil, dan suasana asam yang terbentuk setelahnya dapat memicu tereduksinya garam flavinium sehingga menyebabkan perubahan warna larutan menjadi merah (Marwati et al., 2020; Parbuntari et al., 2018; Ramayani et al., 2020; Supriadin et al., 2021).

Hasil positif tanin dengan penambahan gelatin ditandai dengan terbentuknya endapan putih. Gelatin dan tanin dapat membentuk ikatan kopolimer stabil yang tidak larut dalam air, sehingga protein yang tidak larut akan mengkristal dan membentuk endapan putih. Penambahan larutan NaCl dapat meningkatkan kadar garam dalam larutan tanin-gelatin, sehingga uji ini akan menjadi lebih sensitif dan endapan putih protein akan lebih banyak terbentuk (Sabdoningrum et al., 2021).

Hasil positif polifenol dengan penambahan  $\text{FeCl}_3$  ditandai dengan perubahan warna larutan menjadi gelap, yang disebabkan akibat terjadinya reduksi ion  $\text{Fe}^{3+}$  menjadi  $\text{Fe}^{2+}$  ketika polifenol direaksikan dengan  $\text{FeCl}_3$ . Warna biru tua menandakan larutan memiliki senyawa metabolit tanin terhidrolisis,

sedangkan warna hijau kehitaman menandakan larutan memiliki senyawa metabolit tanin terkondensasi (Fatmawati et al., 2022). Setelah direaksikan, larutan uji memiliki warna hijau kehitaman, menandakan ekstrak etanol daun coklat positif mengandung tanin terkondensasi.

Hasil positif kuinon dengan penambahan aquadest panas dan NaOH ditandai dengan perubahan warna larutan menjadi kuning hingga merah. Penambahan NaOH 1N dapat mendeprotonasi gugus fenol yang dimiliki kuinon, sehingga ion enolat akan terbentuk. Ion enolat mampu menyerap cahaya dan memberi warna kuning atau merah pada larutan uji (Kusumo et al., 2022). Pada pengujian, larutan ekstrak etanol daun coklat memberikan warna merah yang menandakan positif mengandung kuinon.

Hasil positif steroid dengan pereaksi Lieberman-Buchard (asam asetat anhidrat ((CH<sub>3</sub>CO)<sub>2</sub>O) dan asam sulfat (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) ditandai dengan terbentuknya cincin biru kehijauan, dan hasil positif terpenoid ditandai dengan terbentuknya cincin kecokelatan atau violet. Pada pengujian, larutan ekstrak etanol daun coklat memperlihatkan hasil berupa terbentuknya cincin kecokelatan, yang menandakan positif mengandung terpenoid. Residu larutan uji dilarutkan dalam kloroform terlebih dahulu untuk melarutkan senyawa non-polar seperti steroid/terpenoid, yang akan mengalami asetilasi gugus hidroksil ketika ditambahkan asam asetat

anhidrat. Penambahan asam sulfat menyebabkan terjadinya eliminasi gugus asetil dan hidrogen, sehingga terbentuk ikatan rangkap terkonjugasi. Munculnya warna cincin tertentu pada larutan uji disebabkan karena senyawa metabolit steroid/terpenoid mengalami reaksi oksidasi yang menghasilkan gugus kromofor (karbon tak jenuh terkonjugasi) (Asmara, 2017; Rustiani et al., 2021).

Hasil positif saponin ditandai dengan busa yang terbentuk dengan kisaran tinggi 1-10 cm yang tidak hilang selama sepuluh menit, dan busa tidak menghilang setelah diberikan asam klorida (HCl). Saponin adalah senyawa yang memiliki gugus hidrofilik yang berikatan dengan air, dan gugus hidrofobik yang berikatan dengan udara sehingga busa terbentuk ketika dikocok. Busa yang terbentuk menandakan adanya glikosida yang terhidrolisis menjadi glukosa dan aglikon-aglikonnya. Terbentuknya busa disebabkan saponin yang mengandung senyawa polar dan non-polar yang membentuk misel, di mana misel-misel tersebut menyebabkan senyawa polar muncul di permukaan, sedangkan senyawa non-polar menghadap ke dalam. Penambahan HCl 2N dimaksudkan untuk meningkatkan kepolaran, sehingga gugus hidrofilik memiliki ikatan yang lebih kuat dan busa yang terbentuk menjadi lebih stabil (Dewi et al., 2019; Fatmawati et al., 2022; Sabdoningrum et al., 2021). Hasil skrining fitokimia pada penelitian ini dapat dilihat pada **Tabel 1**.

**Tabel 1.** Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Cokelat (*Theobroma cacao* L.)

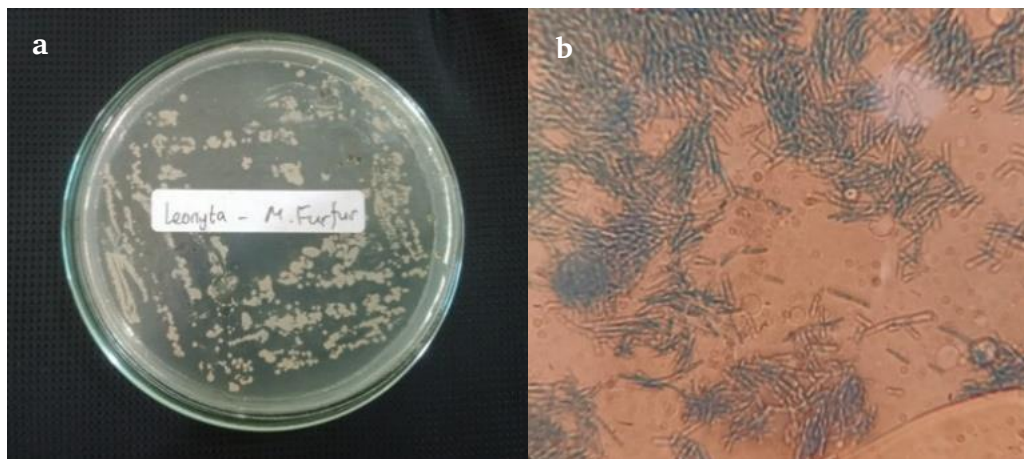
Skrining	Pereaksi	Hasil
Alkaloid	HCl 2N + Mayer	+ (Endapan putih)
	HCl 2N + Wagner	+ (Endapan kuning)
	HCl 2N + Boucharlat	+ (Endapan coklat)
Flavonoid	Serbuk Mg + HCl + amil alkohol	+ (Warna dan terbentuk cincin merah)
Polifenol dan Tanin	Larutan gelatin 10%	+ (Endapan putih)
	Larutan gelatin 1% dalam NaCl 10%	
	FeCl <sub>3</sub> 1%	+ (Larutan hitam kehijauan, tanin terkondensasi)
Kuinon	Aquadest panas + NaOH	+ (Endapan merah)
Steroid/ Terpenoid	CHCl <sub>3</sub> + (CH <sub>3</sub> CO) <sub>2</sub> O + H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> pekat	+ terpenoid (Cincin kecokelatan)
Saponin	HCl 2N	+ (Tinggi busa ± 1.2 cm)

Keterangan: (+) mengandung senyawa yang diuji dan (-) senyawa yang diuji tidak terdeteksi

### 3. Identifikasi Jamur *M. furfur*

Jamur *M. furfur* diidentifikasi secara makroskopik dan mikroskopik setelah diinokulasikan. Secara makroskopik, *M. furfur*

berbentuk bulat cembung dan berwarna putih kekuningan. Ketika diamati secara mikroskopik, morfologi sel jamur *M. furfur* berbentuk lonjong, memanjang, dan bertunas pendek (**Gambar 1**).



**Gambar 1.** Morfologi Jamur *M. furfur*

Keterangan: Jamur *M. furfur* secara Makroskopik (a); Jamur *M. furfur* secara Mikroskopik menggunakan Pewarna *Lactophenol Cotton Blue* (LPCE) dengan Perbesaran 100x (b)

#### 4. Uji Pendahuluan Aktivitas Antijamur *M. furfur*

Uji pendahuluan aktivitas antijamur ditujukan untuk menentukan konsentrasi larutan uji yang akan digunakan dalam pengujian KHM. Uji yang digunakan adalah metode difusi cakram. Hasil uji aktivitas antijamur ekstrak daun cokelat (*Theobroma cacao* L.) dengan variasi konsentrasi 100%, 80%, 60%, 40%, dan kontrol positif ketokonazol dan itrakonazol membentuk zona hambat di sekitar kertas cakram setelah diinkubasi. Alasan digunakannya dua kontrol positif adalah karena telah banyak ditemukan kasus resistensi ketokonazol terhadap varian *M. furfur*, karena ketokonazol merupakan antijamur yang paling umum digunakan untuk mengatasi panu ( *pityriasis versicolor*). Maka dari itu, digunakan kontrol positif kedua yaitu itrakonazol untuk melihat apakah *M. furfur* yang diujikan dalam penelitian ini telah resisten terhadap ketokonazol dan/atau golongan azol lainnya (Muslimin et al., 2018).

Terbentuknya zona hambat menunjukkan adanya hambatan pertumbuhan jamur, yang hasilnya dapat dilihat pada **Tabel 2**. Berdasarkan data pada **Tabel 2**, kontrol negatif tidak memberikan aktivitas antijamur, ditandai dengan tidak terbentuknya zona bening. Kontrol negatif yang digunakan dalam penelitian ini ditujukan untuk membuktikan bahwa zona hambat yang terbentuk pada kontrol positif ataupun konsentrasi uji tidak dipengaruhi oleh pelarut yang digunakan untuk melarutkan sampel, tetapi berasal dari senyawa aktif yang terkandung di dalam ekstrak daun cokelat (Septiani et al., 2021). Dalam penelitian ini, kontrol negatif yang digunakan

adalah DMSO 10% dan kontrol positif yang digunakan adalah Ketokonazol 2% dan Itrakonazol 2%. Alasan dipilihnya DMSO 10% sebagai pelarut adalah karena DMSO merupakan pelarut yang mampu melarutkan senyawa yang bersifat non polar seperti ketokonazol dan itrakonazol, maupun senyawa yang bersifat polar seperti ekstrak etanol daun cokelat (*Theobroma cacao* L.) (Febrianto et al., 2022b). Ketokonazol dan itrakonazol adalah obat antijamur golongan azol yang efektif terhadap ragi dan dermatofit (Santoso et al., 2020). Berdasarkan hasil pengukuran, zona hambat itrakonazol lebih besar dibandingkan dengan zona hambat ketokonazol dengan konsentrasi dan pelarut yang sama, sesuai dengan sebuah penelitian yang menyatakan bahwa itrakonazol lebih efektif dibandingkan dengan ketokonazol dalam menghambat pertumbuhan *M. furfur* (Wang et al., 2020).

Pada uji antijamur, konsentrasi ekstrak 100% memiliki diameter zona hambat terbesar, sedangkan konsentrasi ekstrak 20% tidak menunjukkan adanya zona hambat, sesuai dengan pernyataan bahwa daya hambat yang terjadi semakin besar (Maulana et al., 2022). Hal ini dipengaruhi oleh keberadaan metabolit sekunder yang memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan jamur dalam pengujian. Selain senyawa aktif, difusi dalam media juga dipengaruhi oleh jumlah jamur yang diujikan, kecepatan tumbuh jamur, dan tingkat sensitivitas jamur terhadap aktivitas senyawa aktif antijamur yang dimiliki ekstrak (Santoso et al., 2020; Septiani et al., 2021).

**Tabel 2.** Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol Daun Cokelat (*Theobroma cacao* L.) terhadap Jamur *M. furfur*

Sampel	Rata-rata Diameter Zona Hambat (mm) $\pm$ SD	Keterangan
Kontrol negatif (-)	0 $\pm$ 0	Tidak menghambat
Kontrol + (Ketokonazol)	21.73 $\pm$ 1.09	Sangat kuat
Kontrol + (Itrakonazol)	31.31 $\pm$ 1.04	Sangat kuat
Ekstrak 20%	0 $\pm$ 0	Tidak menghambat
Ekstrak 40%	4.38 $\pm$ 0.36	Lemah
Ekstrak 60%	7.57 $\pm$ 0.95	Lemah
Ekstrak 80%	7.78 $\pm$ 0.72	Lemah
Ekstrak 100%	10.96 $\pm$ 0.34	Sedang

Selain senyawa aktif, difusi dalam media juga dipengaruhi oleh jumlah jamur yang diujikan, kecepatan tumbuh jamur, dan tingkat sensitivitas jamur terhadap aktivitas senyawa aktif antijamur yang dimiliki ekstrak (Santoso et al., 2020; Septiani et al., 2021). Menurut hasil skrining fitokimia sebelumnya, ekstrak daun cokelat mengandung senyawa metabolit alkaloid, flavonoid, tanin, kuinon, terpenoid, dan saponin. Mekanisme kerja alkaloid sebagai antijamur adalah mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel, sehingga menyebabkan lapisan dinding sel jamur tidak terbentuk secara utuh dan mengakibatkan kematian sel. Mekanisme kerja flavonoid sebagai antijamur adalah mendenaturasi protein dengan mengganggu lapisan lipid dan mengakibatkan kerusakan dinding sel, mengganggu permeabilitas membran sel, merusak struktur protein yang mengakibatkan sel jamur menjadi lisis. Mekanisme kerja tanin sebagai antijamur adalah mampu memperkecil dinding sel jamur dengan menghambat proses sintesis kitin, sehingga pertumbuhan jamur menjadi terhambat. Mekanisme kerja kuinon sebagai antijamur adalah menghasilkan radikal bebas yang stabil dan membentuk kompleks ireversibel dengan asam amino nukleofilik pada protein, sehingga protein kehilangan fungsinya. Mekanisme kerja terpenoid sebagai antijamur adalah berikatan dengan molekul protein dan lipid yang dapat menurunkan permeabilitas membran sel jamur. Mekanisme kerja saponin sebagai antijamur adalah melisis sel jamur dengan gugus monosakarida yang dapat mengganggu stabilitas membran sel jamur (Hersila et al., 2023; Komala et al., 2019; Permataningrum et al., 2019).

Berdasarkan uji statistik, nilai signifikansi pada uji parametrik *One-Way ANOVA* adalah  $< 0.001$  ( $p < 0.05$ ), sehingga dinyatakan hasil pengujian

bersifat signifikan. Uji parametrik ini dilanjutkan dengan uji *Post-Hoc Tukey* untuk melihat signifikansi antar kelompok uji. Uji *Post-Hoc Tukey* menyatakan antar seluruh kelompok uji selain kelompok uji konsentrasi ekstrak 60% dan 80% bersifat signifikan. Akan tetapi, respons hambatan pertumbuhan jamur diklasifikasikan berdasarkan diameter zona hambat menjadi empat kategori, yaitu  $< 10$  mm (lemah), 10-15 mm (sedang); 16-20 mm (kuat); dan  $> 20$  mm (sangat kuat), dan hasil pengujian ekstrak tiap konsentrasi tidak terlalu berbeda secara signifikan karena kelompok ekstrak daun cokelat (*Theobroma cacao* L.) dengan konsentrasi 40%, 60%, dan 80% masih dalam kategori lemah, dan konsentrasi 100% masuk ke dalam kategori sedang (Alioes et al., 2018; Santoso et al., 2020).

## 5. Penetapan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Setelah uji pendahuluan dilakukan menggunakan metode difusi cakram, uji KHM ekstrak etanol daun cokelat (*Theobroma cacao* L.) terhadap *M. furfur* dilakukan dengan menggunakan pengenceran bertingkat dengan perbandingan 1:2 bobot/volume (w/v) yaitu 100%; 50%; 25%; 12.5%; 6.25%; dan 3.125%. Pada penelitian ini, hasil diamati secara kualitatif dengan melihat kekeruhan secara visual (turbidimetri) sesudah inkubasi, dan secara kuantitatif dengan mengukur nilai absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis sebelum dan sesudah inkubasi (Tabel 3, Gambar 2). Setelah diinkubasi selama 48 jam dengan suhu 37°C, dilakukan uji turbidimetri terlebih dahulu terhadap sampel. Secara visual, baik larutan uji maupun larutan kontrol positif terlihat keruh. Hal ini disebabkan oleh salah satu kelemahan dari metode turbidimetri, yaitu mata manusia saat melakukan pengamatan kekeruhan tidak bisa membedakan



antara sel jamur hidup dengan sel jamur mati, serta larutan bisa saja mencapai warna yang pekat. Larutan kontrol positif dan larutan uji memiliki warna yang keruh saat dilarutkan dalam DMSO 10%, sehingga tidak dapat diketahui dengan pasti penyebab kekeruhan larutan. Oleh sebab itu, diperlukan pengamatan secara kuantitatif dengan mengukur nilai absorbansi menggunakan alat spektrofotometer (Ramschie et al., 2017; Rori et al., 2018).

Berdasarkan Tabel 3 dan Gambar 2, pada pengujian menggunakan metode spektrofotometer, terjadi kenaikan nilai rata-rata absorbansi pada konsentrasi 25%; 12.5%; 6.25%, dan 3.125%. Hal ini menandakan bahwa suspensi jamur yang diujikan pada konsentrasi tersebut masih mengalami pertumbuhan dan konsentrasi ekstrak tidak mampu menghambat pertumbuhan tersebut. Sementara itu, rata-rata absorbansi pada konsentrasi 50% dan 100% mengalami penurunan yang menandakan bahwa

kedua konsentrasi ini dapat menghambat pertumbuhan jamur (Assauqi et al., 2023; Mere et al., 2021). Setelah dilakukan pengukuran absorbansi dan perhitungan nilai *optical density* (OD), data nilai OD dianalisis secara statistika menggunakan uji parametrik *One-Way ANOVA* dan *Post-Hoc Tukey*. Hasil uji statistika menunjukkan aktivitas penghambatan jamur ekstrak daun cokelat (*Theobroma cacao* L.) terhadap *M. furfur* antar kontrol berbeda secara nyata, karena nilai signifikansi  $< 0.001$  ( $p < 0.05$ ).

Berdasarkan hasil analisis pengamatan dan perbandingan nilai absorbansi, ekstrak daun cokelat (*Theobroma cacao* L.) dengan konsentrasi 50% ditetapkan sebagai nilai KHM, karena konsentrasi tersebut merupakan konsentrasi terendah di mana terjadi penurunan nilai absorbansi sesudah dilakukannya inkubasi, yang menunjukkan penghambatan pertumbuhan jamur telah terjadi.

**Tabel 3.** Hasil Pengujian Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Ekstrak Etanol Daun Cokelat (*Theobroma cacao* L.) terhadap *M. furfur* Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Sampel	Rata-rata Hasil Absorbansi ± SD		Optical Density (OD)
	Sebelum	Sesudah	
Kontrol -	0.15 ± 0.00038	1.27 ± 0.00209	1.12
Kontrol + (Ketokonazol)	1.01 ± 0.00076	0.89 ± 0.00096	-0.12
Kontrol + (Itrakonazol)	1.24 ± 0.0008	0.78 ± 0.00076	-0.46
Ekstrak 100%	1.29 ± 0.00074	0.99 ± 0.00228	-0.39
<b>Ekstrak 50% (KHM)</b>	<b>0.94 ± 0.00082</b>	<b>0.88 ± 0.0015</b>	<b>-0.06</b>
Ekstrak 25%	0.57 ± 0.00216	0.69 ± 0.0106	0.12
Ekstrak 12.5%	0.52 ± 0.00254	0.61 ± 0.00107	0.09
Ekstrak 6.25%	0.50 ± 0.00156	0.84 ± 0.00029	0.34
Ekstrak 3.125%	0.48 ± 0.00035	0.79 ± 0.00137	0.31

### 6. Penetapan Nilai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)

Nilai KBM ditentukan dengan membuat variasi konsentrasi sampel 25%, 50%, dan 100% ke dalam media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA). Metode yang digunakan adalah *spread plate*, yaitu mengambil sampel yang sudah dilakukan uji KHM sebanyak 100 µL lalu dituangkan ke dalam media dan diratakan menggunakan *spreader* yang sudah disterilisasi. Alasan pemilihan konsentrasi 50% dan 100% adalah karena kedua konsentrasi tersebut menunjukkan penghambatan pertumbuhan jamur pada uji KHM, sementara konsentrasi 25% juga diujikan sebagai kontrol negatif (Br. Tarigan et al., 2021). Setelah diamati sesudah diinkubasi dalam waktu 48 jam

pada suhu 37°C secara visual, uji KBM menghasilkan data yaitu pada media yang berisi larutan hasil uji KHM konsentrasi ekstrak 25% sebagai kontrol negatif menunjukkan pertumbuhan jamur. Pada konsentrasi ekstrak 50% memperlihatkan adanya pertumbuhan jamur, tetapi secara visual, koloni yang terbentuk lebih sedikit bila dibandingkan dengan koloni yang tumbuh pada media dengan konsentrasi ekstrak 25%. Hal ini sejalan dengan suatu pernyataan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak, maka koloni yang tumbuh semakin sedikit (Muchtarmah et al., 2020). Pada media yang mengandung larutan hasil uji konsentrasi 100%, pada salah satu replikasi memperlihatkan pertumbuhan jamur. Hal ini kemungkinan disebabkan karena terjadinya kontaminasi eksternal dari lingkungan pada saat

pengujian, yang dapat muncul 2-3 hari setelah penanaman. Sumber kontaminasi eksternal berasal dari alat dan bahan yang tidak steril, mikroorganisme lain yang masuk ke dalam suspensi jamur uji, dan dari udara (Andriani & Heriansyah, 2021). Berdasarkan hasil tersebut, disimpulkan bahwa konsentrasi ekstrak daun coklat 100% merupakan nilai KBM terhadap *M. furfur*.

## KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun coklat (*Theobroma cacao* L.) mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, kuinon, terpenoid, dan saponin. Selain itu, konsentrasi ekstrak etanol daun coklat terendah yang memperlihatkan efek fungistatik (menghambat pertumbuhan jamur) dalam uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) adalah konsentrasi 50%, dan konsentrasi ekstrak terendah yang memperlihatkan efek fungisidal (membunuh jamur) dalam uji Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) adalah konsentrasi 100%.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terima kasih pada Universitas Adiwangsa Jambi yang telah menyediakan fasilitas untuk penelitian ini, serta Rahmayuni Faddilah R. dan Becek Hamisah selaku laboran laboratorium biologi dan mikrobiologi Prodi Farmasi Universitas Adiwangsa Jambi.

## DAFTAR PUSTAKA

Aboudy, M. S. Al, & Mickymaray, S. (2020). Anti-fungal efficacy and mechanisms of flavonoids. Dalam *Antibiotics* (Vol. 9, Nomor 2). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9020045>

Agustina, E., Andiarna, F., Hidayati, I., & Kartika, V. F. (2021). Uji aktivitas antijamur ekstrak black garlic terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans*. *Bioma: Jurnal Ilmiah Biologi*, 10(2), 143–157. <https://doi.org/10.26877/bioma.v10i2.6371>

Albab, L. U., Husin, U. A., Azhali, B. A., Respati, T., & Astuti, R. D. I. (2020). Efek Antibakteri Ekstrak Aquades Buah Kurma (*Phoenix dactylifera* L.) Varietas Ajwa terhadap *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Jurnal Integrasi Kesehatan & Sains*, 2(2), 135–139. <https://doi.org/10.29313/jiks.v2i2.5769>

Alioes, Y., Kartika, A., Zain, A., & Azzura, V. (2018). Uji potensi antijamur *Candida albicans* ekstrak Daun Gelinggang (*Cassia alata* L.) dibandingkan dengan sediaan Daun Sirih yang beredar di pasaran secara in vitro. *Jurnal Kimia Riset*, 3(2), 108–115.

Alsohaili, S. A., & Bani-Hasan, B. M. (2018). Morphological and Molecular Identification of Fungi Isolated from Different Environmental Sources in the Northern Eastern Desert of Jordan. *Jordan Journal of Biological Sciences*, 11(3), 329–337.

Ananta, D. A., Putra, G. P. G., & Arnata, I. W. (2021). Pengaruh suhu dan waktu maserasi terhadap aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.). *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 9(2), 186–197.

Andriani, D., & Heriansyah, P. (2021). Identifikasi Jamur Kontaminan pada Berbagai Eksplan Kultur Jaringan Anggrek Alam (*Bromheadia finlaysoniana* (Lind.) Miq. *Agro Bali: Agricultural Journal*, 4(2), 192–199. <https://doi.org/10.37637/ab.v4i2.723>

Angiolella, L., Leone, C., Rojas, F., Mussin, J., Angeles Sosa, M. de los, & Giusiano, G. (2018). Biofilm, adherence, and hydrophobicity as virulence factors in *Malassezia furfur*. *Medical Mycology*, 56(1), 110–116. <https://doi.org/10.1093/mmy/myx014>

Asmara, A. P. (2017). Uji Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Dalam Ekstrak Metanol Bunga Turi Merah (*Sesbania grandiflora* L. Pers). *Al-Kimia*, 5(1), 48–59.

Assauqi, N. F., Hafshah, M., & Latifah, R. N. (2023). Penentuan Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) Ekstrak Etanol Daun Pandan (*Pandanus amaryllifolius* Roxb) Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*. *JC-T (Journal Cis-Trans): Jurnal Kimia dan Terapannya*, 7(1), 1–8. <https://doi.org/10.17977/um0260v7i12023p001>

Bawa, I. G. A. G., & Perbhawa, I. G. A. G. C. A. (2020). Analisis senyawa terpenoid antijamur pada fraksi aktif ekstrak Kulit Kayu Cempaka Putih (*Michelia alba*) dengan metode gas chromatography-mass spectroscopy. *Jurnal Kimia*, 142. <https://doi.org/10.24843/jchem.2020.v14.i02.p06>

Br. Tarigan, B. M. C., Lelyana, S., & Sugiaman, V. K. (2021). Kadar hambat minimum dan kadar bunuh minimum ekstrak etanol Daun Oregano terhadap pertumbuhan *Candida albicans*. *Jurnal Ilmiah dan Teknologi Kedokteran Gigi FKG UPDM (B)*, 17(2), 55–62.

Dewi, R., Febriani, A., & Wenas, D. M. (2019). Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Metanol Daun Sirih (Piper betle L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Propionibacterium acnes* dan Khamir *Malassezia furfur*. Dalam *Sainstech Farma* (Vol. 12, Nomor 1).

Dyląg, M., Leniak, E., Gnat, S., Szepletowski, J. C., & Kozubowski, L. (2020). A case of anti-pityriasis versicolor therapy that preserves healthy mycobiome. *BMC Dermatology*, 20(1). <https://doi.org/10.1186/s12895-020-00106-x>

Fatmawati, S., Sjahid, L. R., Utami, N. M., & Kartini, K. (2022). Total Phenolic, Total Flavonoid Content and in vitro Sun Protection Factor test of Arabica Coffee Leaves Extract (*Coffea arabica* L.). *Journal of Science and Technology Research for Pharmacy*, 1(2), 57–66. <https://doi.org/10.15294/jstrp.v1i2.51374>

Fauziyah, N., Widiasanti, A., & Sutresna, Y. (2022). Kajian Pengaruh Konsentrasi Etanol Terhadap Karakteristik Oleoresin Ampas Jahe Merah (*Zingiber officinale* Roscoe) Limbah Penyulingan. *TEKNOTAN*, 16(3), 169–176. <https://doi.org/10.24198/jt.vol16n3.6>

- Febrianto, N. A., Wang, S., & Zhu, F. (2022a). Chemical and biological properties of cocoa beans affected by processing: a review. Dalam *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* (Vol. 62, Nomor 30, hlm. 8403–8434). Taylor and Francis Ltd. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1928597>
- Febrianto, N. A., Wang, S., & Zhu, F. (2022b). Chemical and biological properties of cocoa beans affected by processing: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(30), 8403–8434. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1928597>
- Fitriana, Y. A. N., Fatimah, V. A. N., & Fitri, A. S. (2019). Aktivitas Anti Bakteri Daun Sirih: Uji Ekstrak KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bakterisidal Minimum). *SAINTEKS*, 16(2), 101–108.
- Hanifa, N. I., Wirasisya, D. G., Muliani, A. E., Utami, S. B., & Sunarwidhi, A. L. (2021). Phytochemical Screening of Decoction and Ethanolic Extract of *Amomum dealbatum* Roxb. Leaves. *Jurnal Biologi Tropis*, 21(2), 510–518. <https://doi.org/10.29303/jbt.v21i2.2758>
- Hasanah, M. (2016). Analisis Golongan Senyawa Kimia dan Uji Potensi Antioksidan dari Ekstrak Daun Cokelat (*Theobroma cacao* L.) Hasil Ekstraksi Maserasi. *Jurnal Ilmiah Bakti Farmasi*, 1(2), 43–48.
- Hersila, N., Chatri, M., Vauzia, & Irdawati. (2023). Senyawa metabolit sekunder (tanin) pada tanaman sebagai antifungi. *Jurnal Embrio*, 15(1), 16–22.
- Hikmawanti, N. P. E., Fatmawati, S., & Asri, A. W. (2021). The effect of ethanol concentrations as the extraction solvent on antioxidant activity of Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) leaves extracts. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 755(1), 1–8. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/755/1/012060>
- Hutasoit, C. M. D., Setyaningsih, Y., & Pramono, A. (2020). Antifungal effectiveness of cacao bean shells extract (*Theobroma cacao* L.) on *Trichophyton rubrum* growth in vitro. *Biomedika*, 12(2), 65–71. <https://doi.org/10.23917/biomedika.v12i2.10176>
- Intan, K., Diani, A., & Nurul, A. S. R. (2021). Kativitas antibakteri kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kesehatan Perintis*, 8(2), 121–127.
- Isnaini, Biworo, A., Khatimah, H., Gufron, K. M., & Puteri, S. R. (2021). Aktivitas Antibakteri dan Antijamur Ekstrak Galam (*Melaleuca cajuputi* subsp. Cumingiana (Turcz.) Barlow) terhadap Bakteri *E.coli* dan Jamur *C. albicans*. *Journal of Agromedicine and Medical Sciences*, 7(2), 79–83.
- Kementerian Kesehatan RI. (2017). *Farmakope Herbal Indonesia Edisi II: Vol. II*.
- Komala, O., Yulianita, & Siwi, F. R. (2019). Aktivitas antijamur ekstrak etanol 50% dan etanol 96% Daun Pacar Kuku *Lawsonia inermis* L. terhadap *Trichophyton mentagrophytes*. *Ekologia: Jurnal Ilmiah Ilmu Dasar dan Lingkungan Hidup*, 19(1), 12–19.
- Kusumo, D. W., Susanti, Ningrum, E. K., & Makayasa, C. H. A. (2022). Skrining fitokimia senyawa metabolit sekunder pada ekstrak etanol Bunga Pepaya (*Carica papaya* L.). *Journal of Current Pharmaceutical Sciences*, 5(2), 478–483.
- Mandhaki, N., Huda, C., & Putri, A. E. (2021). Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 3(2), 188–193. <https://doi.org/10.25026/jsk.v3i2.269>
- Marwati, A. D., Yulianto, A. N., & Setiyabudi, L. (2020). Formulasi dan evaluasi sifat fisik tablet hisap kombinasi ekstrak Daun Bakau Hitam (*Rhizophora mucronata*) dan Vitamin C sebagai antioksidan. *Jurnal Ilmiah Jophus: Journal of Pharmacy UMUS*, 2(1), 21–27.
- Maulana, I., Hasanah, A. U., Tyas, R., & Rizkita, A. D. (2022). Uji Efektivitas Sediaan Obat Kumur Dari Ekstrak Etanol Daun Prasman (*Eupatorium Triplinerve* Vahl) Terhadap *Streptococcus mutans*. *Jurnal Kesehatan Mahardika*, 9(1), 28–34. <https://doi.org/10.54867/jkm.v9i1.96>
- Mere, J. K., Bintang, M., & Safithri, M. (2021). Antibacterial Effectiveness of *Syzygium cumini* (L.) Skeels Leaves to *Escherichia coli* pBR322. *Indo. J. Chem. Res.*, 9(1), 8–14. <https://doi.org/10.30598/ijcr.2020.9-jan>
- Muchtaromah, B., Safitri, E. S., Fitriasari, P. D., & Istiwandhani, J. (2020). Antibacterial activities of *Curcuma mangga* val. extract in some solvents to *staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *AIP Conference Proceedings*, 2231, 1–7. <https://doi.org/10.1063/5.0002490>
- Muslimin, C., V. R., Yogiswara, W. D., Septiningrum, A., Budiastuti, A., & S., I. K. (2018). In vitro antifungal susceptibility of *Malassezia* spp. to azole drugs. *Journal of Pakistan Association of Dermatologists*, 28(4), 502–506.
- Parbuntari, H., Prestica, Y., Gunawan, R., Nurman, M. N., & Adella, F. (2018). Preliminary Phytochemical Screening (Qualitative Analysis) of Cacao Leaves (*Theobroma Cacao* L.). *EKSAKTA*, 19(2), 40–45. <https://doi.org/10.24036/eksakta/vol19-iss02/142>
- Park, M., Cho, Y. J., Lee, Y. W., & Jung, W. H. (2020). Genomic Multiplication and Drug Efflux Influence Ketoconazole Resistance in *Malassezia restricta*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00191>
- Permataningrum, N. I., Dewi, L. R., & Prihanti, A. M. (2019). Daya hambat ekstrak Daun Kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap pertumbuhan *Candida albicans*. *e-Journal Pustaka Kesehatan*, 7(3), 142–146.
- Prastiyanto, M. E., Rohmah, N., Efendi, L., Arifin, R., Wardoyo, F. A., Wilson, W., Mukaromah, A. H., Dewi, S. S., & Darmawati, S. (2021). Antifungal activities of the rhizome extract of five member zingiberaceae against *candida albicans* and *trichophyton rubrum*. *Biodiversitas*, 22(3), 1509–1513. <https://doi.org/10.13057/BIODIV/D220355>
- Putra, G. M. D., Satriawati, D. A., Astuti, N. K. W., & Yadnya-putra, A. A. G. R. (2018). Standarisasi dan skrining fitokimia ekstrak etanol 70% Daun Jeruk (*Citrus amblycarpa* (Hassk.) Osche). *Jurnal Kimia*, 12(2), 187–194.
- Rachmawaty, Mu'Nisa, A., Hasri, Pagarra, H., Hartati, & Maulana, Z. (2018). Active Compounds Extraction of Cocoa Pod Husk (*Thebroma Cacao* l.) and Potential as Fungicides. *Journal of Physics: Conference Series*, 1028(1). <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1028/1/012013>
- Ramayani, S. L., Sandiyani, R. P., & Dinastyantika, V. O. (2020). Pengaruh perbedaan bagian tanaman terhadap kadar total fenolik dan kadar total flavonoid ekstrak talas (*Colocasia esculenta* L.). *Media Farmasi Indonesia*, 15(2), 1611–1616.

- Ramschie, L. M. L., Suling, P. L., & Siagian, K. V. (2017). Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Ekstrak Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhadap *Candida albicans* Secara In Vitro. *Jurnal e-Gigi (eG)*, 5(2), 184–189.
- Riwanti, P., Izazih, F., & Amaliyah. (2020). Artikel Penelitian Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Etanol pada Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 50,70 dan 96% *Sargassum polycystum* dari Madura. *J-PhAM Journal of Pharmaceutical Care Anwar Medika*, 82(2), 2654–8364.
- Rori, B. N. D., Khoman, J. A., & Supit, A. S. R. (2018). Uji Konsentrasi Hambat Minimum Ekstrak Daun Gedi (*Abelmoschus manihot* L. Medik) terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *Jurnal e-Gigi (eG)*, 6(2), 83–90.
- Rustiani, E., Fitriani, A., & Wardatun, S. (2021). Analysis of Flavonoids and Terpenoids in Ethanol Extract of *Colocasia esculenta* L. (Schoot) Stalk and Leaves. *Journal of Tropical Pharmacy and Chemistry*, 5(4), 359–364. <https://doi.org/10.25026/jtpc.v5i4.349>
- Sabdoningrum, E. K., Hidanah, S., Chusniati, S., & Soeharsono. (2021). Characterization and Phytochemical Screening of Meniran (*Phyllanthus niruri* Linn) Extract's Nanoparticles Used Ball Mill Method. *Pharmacognosy Journal*, 13(6), 1568–1572. <https://doi.org/10.5530/pj.2021.13.200>
- Sadik, F., & Zulfian Disi, M. A. (2023). Standarisasi Parameter Spesifik Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha Curcas* L.) sebagai Vasorelaxan. *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*, 5(1), 54–62. <https://doi.org/10.37311/jsscr.v5i1.18187>
- Santoso, U., Utari, M., & Marpang, M. P. (2020). Aktivitas antibakteri dan antijamur ekstrak Batang Akar Kuning (*Fibraurea chloroleuca* Miers) terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu Keperawatan, Analis Kesehatan dan Farmasi*, 20(2), 194–208.
- Sartika, G. P. (2022). Pengaruh variasi konsentrasi gula terhadap derajat keasaman dan aktivitas antioksidan Kombucha Daun Kakao (*Theobroma cacao* L.). *Jurnal Inovasi Pendidikan dan Sains*, 3(2), 37–40.
- Saunte, D. M. L., Gaitanis, G., & Hay, R. J. (2020). Malassezia-Associated Skin Diseases, the Use of Diagnostics and Treatment. Dalam *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* (Vol. 10). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00112>
- Senduk, T. W., Montolalu, L. A. D. Y., & Dotulong, V. (2020). Rendemen ekstrak air rebusan Daun Tua Mangrove (*Sonneratia alba*). *Jurnal Perikanan dan Kelautan Tropis*, 11(1), 9–15. <https://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/JPKT/index>
- Septiani, D. A., Prabowo, W. C., & Rusli, R. (2021). Aktivitas antibakteri ekstrak Daun Lintut (*Hemigraphis* sp) terhadap bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Salmonella typhi*. *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, 62–67.
- Singh Parihar, A., Kumar, V., Sinha, A., Sharma, S., & Ambika Singh Parihar, C. (2019). Characterization of *Malassezia furfur* and its control by using plant extracts. *International Journal of Chemical Studies*, 550(5), 550–553.
- Supriadin, A., Juliani, H., & Tanyela, N. (2021). Isolation flavonoid compound chrysoeriol from ethyl acetate extract of zaitun leaves (*Olea europaea*). *Journal of Physics: Conference Series*, 1869(1), 1–7. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1869/1/012052>
- Tranggono, Firnanda, L. A., Nurfiyanti, W. P., As Zahara, A. F., Angelina, V., & Nagara, N. P. (2023). Faktor-faktor yang mempengaruhi rendemen Tebu yang masih belum memenuhi kebutuhan gula nasional. *AZZAHRA Scientific Journal of Social Humanities*, 1(1), 63–71.
- Urban, K., Chu, S., Scheufele, C., Giesey, R. L., Mehrmal, S., Uppal, P., & Delost, G. R. (2021). The global, regional, and national burden of fungal skin diseases in 195 countries and territories: A cross-sectional analysis from the Global Burden of Disease Study 2017. *JAAD International*, 2, 22–27. <https://doi.org/10.1016/j.jdin.2020.10.003>
- Viogenta, P., Susanti, L., & Megasari, L. (2023). Antibacterial Activity and Bioautography of the Chloroform Fraction of Morel Berry (*Physalis angulata* L.) Root Against *Staphylococcus epidermidis* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Multidisciplinary Applied Natural Science*, 3(1), 90–99. <https://doi.org/10.47352/jmans.2774-3047.148>
- Wang, K., Cheng, L., Li, W., Jiang, H., Zhang, X., Liu, S., Huang, Y., Qiang, M., Dong, T., Li, Y., Wang, J., Feng, S., & Li, H. (2020). Susceptibilities of *Malassezia* strains from pityriasis versicolor, *Malassezia* folliculitis and seborrheic dermatitis to antifungal drugs. *Heliyon*, 6(6), 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04203>
- Yanthi, V., Mahyarudin, M., & Rialita, A. (2022). Antifungal Activity of Endophytic Bacteria isolated from Pegagan (*Centella asiatica* L.) for Inhibition the Growth of *Malassezia furfur*. *Jurnal Biologi UNAND*, 10(1), 23. <https://doi.org/10.25077/jbioua.10.1.23-32.2022>

**Citation Format:** Lestari, S. M., Camelia, L., Rizki, W. T., Pratama, S., Khutami, C., Amelia, A., Rahmadevi, & Andriani, Y. (2024). Phytochemical Analysis and Determination of MIC and MFC of Cacao Leaves Extract (*Theobroma cacao* L.) against *Malassezia furfur*. *Jurnal Jamu Indonesia*, 9(2), 55–66. <https://doi.org/10.29244/jji.v9i2.316>