

Antibacterial Activity of Cocoa Husk Liquid Smoke (*Theobroma cacao* L.) Against *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*

Andreas Hananto Pratomo Ursam¹, Ulviana Himpatoli², Haerana Malla¹, Wulandari¹, Eka Pratiwi Tenriawaru^{1*}

¹Program Studi Biologi, Fakultas Sains, Universitas Cokroaminoto Palopo, Kota Palopo, Indonesia;

²Program Studi Kimia, Fakultas Sains, Universitas Cokroaminoto Palopo, Kota Palopo, Indonesia;

Article History

Received : August 16th, 2026

Revised : September 22th, 2026

Accepted : October 01th, 2026

*Corresponding Author: **Eka Pratiwi Tenriawaru**, Program Studi Biologi Fakultas Sains Universitas Cokroaminoto Palopo, Palopo, Indonesia; Email: epa86@gmail.com

Abstract: Infectious diseases caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteria are categorised as a priority AMR by WHO. This condition is exacerbated by the limited development of antibiotics and other treatment options, and needs an alternative antibacterial. Cocoa husk liquid smoke has long been shown to have antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*, but its efficacy against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) has not yet been tested. This study aims to determine the inhibitory activity of cocoa husk liquid smoke against MRSA bacteria through in vitro testing. In vitro test used a completely randomized design with three replications. The variations in cocoa husk liquid smoke concentrations were 1%, 2.5%, 5%, 10%, 20%, 40%, 70%, and 100%, as well as the positive control was vancomycin, and the negative control was sterile distilled water. The data obtained were analyzed using one-way ANOVA followed by a Tukey post-hoc test at a 5% significance level. The results showed that the diameter of the inhibition zone increased from 2.5% to 100%. However, treatments at 1% to 20% did not differ significantly from sterile distilled water ($p > 0.05$). The 100% concentration treatment showed a significant difference ($p > 0.05$) from the other cocoa pod husk liquid smoke concentrations and was categorized as strong, although its inhibition zone remained lower than that of the vancomycin positive control. Under the conditions tested, the 100% treatment produced the largest inhibition zone against the tested isolate. These findings need to be further developed to determine the safety of cocoa pod husk liquid smoke as an MRSA antibacterial and to address the issue of post-harvest cocoa waste.

Keywords: Antibacterial; Cocoa husk liquid smoke; Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; Superbug.

Pendahuluan

Penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri patogen merupakan salah satu masalah kesehatan utama di tingkat global maupun di Indonesia. *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu bakteri penyebab infeksi yang umum ditemukan. Bakteri ini merupakan bakteri Gram positif yang dapat memicu infeksi pada jaringan kulit maupun infeksi sistemik yang fatal seperti sepsis dan pneumonia. Infeksi akibat bakteri *Staphylococcus aureus* umumnya dapat ditangani dengan antibiotik. Akan tetapi, penggunaan antibiotik yang tidak tepat dalam jangka panjang serta berbagai faktor

pendukung telah memicu munculnya strain yang resisten (*superbug*), yaitu *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), yang resisten terhadap agen antibiotik golongan β -laktam. Bakteri ini dapat memicu infeksi sistemik fatal, seperti infeksi aliran darah yang menyebar ke berbagai organ tubuh (Syahniar, 2024).

Mekanisme resistensi *Staphylococcus aureus* terhadap antibiotik golongan β -laktam disebabkan oleh gen *penicillin-binding protein* (PBP2a) yang disandikan oleh gen *mecA* dan memiliki afinitas yang jauh lebih rendah terhadap antibiotik golongan β -laktam. Kehadiran PBP2a ini memungkinkan biosintesis dinding sel target β -laktam dapat

terus diproduksi meskipun terpapar antibiotik golongan β -laktam (Lade & Kim, 2023). Terdapat 3 strain bakteri MRSA, yaitu *healthcare-associated* MRSA (HA-MRSA), *community associated* MRSA (CA-MRSA), dan *livestock-associated* (LA-MRSA) (Abebe & Birhanu, 2023; Li *et al.*, 2025). Resistensi ini menghadirkan hambatan besar dalam terapi klinis akibat resistensinya yang luas sehingga ditetapkan sebagai salah satu bakteri patogen prioritas tinggi oleh WHO.

Berdasarkan data WHO tanggal 22 Oktober 2025 yang diperoleh melalui system pengawasan AMR global (GLASS) menunjukkan bahwa terjadi peningkatan persentase infeksi bakteri MRSA secara global dalam kurun waktu 2017-2023. Data bakteri MRSA tersebut diperoleh dari hasil uji sensitivitas antimikroba bakteri patogen dalam darah sesuai prosedur standar internasional. Sementara itu, prevalensi di Indonesia menunjukkan fluktuasi yang mengkhawatirkan dengan lonjakan signifikan mencapai 40,1% pada tahun 2023 (WHO, 2025). Surveilans pada delapan rumah sakit rujukan nasional menunjukkan prevalensi infeksi antara 25-65% (Syahniar, 2024). Wijayanto & Silviani (2026) juga melaporkan bahwa dari seluruh pasien terduga sepsis di RSUD Ir. Soekarno Sukoharjo pada periode Januari 2024-November 2025 ditemukan 1 orang pasien yang terinfeksi bakteri MRSA pada sampel darahnya.

Meningkatnya resistensi serta terbatasnya pengembangan antibiotik baru membuat infeksi ini kian sulit diobati, sehingga vancomycin tetap menjadi salah satu pilihan terapi meski resistensinya perlahan mulai muncul. Keterbatasan opsi pengobatan lain seperti linezolid, ceftaroline, dan daptomycin memaksa penggunaan terapi kombinasi serta pengawasan ketat untuk mencegah kekebalan lebih lanjut (Salsabil *et al.*, 2022). Hal ini mempertegas urgensi penemuan bahan antibakteri alternatif yang baru, aman, efektif, dan tidak memicu resistensi lanjutan (Abebe & Birhanu, 2023).

Bahan alam mengandung berbagai senyawa bioaktif yang berpotensi menjadi antibiotik alternatif dengan mekanisme kerja baru. Studi IJTb menunjukkan bahwa bahan alam dapat menghasilkan aktivitas antibakteri yang terukur melalui uji difusi cakram, tetapi

besarnya zona hambat dipengaruhi oleh karakteristik bahan dan proses produksinya (Hadi *et al.*, 2026). Wang *et al.* (2024) mengemukakan bahwa senyawa fenolik mampu merusak sel MRSA melalui mekanisme peningkatan permeabilitas membran serta memicu produksi ROS interseluler. Salah satu bahan alam yang mengandung senyawa fenolik adalah kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.). Untuk mengoptimalkan ekstraksi senyawa aktif dalam kulit buah kakao dapat dilakukan melalui proses ekstraksi dengan pelarut methanol dan n-heksana (Purnama *et al.*, 2025), ekstraksi dengan metode *ultrasonic assisted extraction* (UAE) dan soxhletasi (Putri, Setyaningrum, Fauziah, 2023), serta proses pirolisis untuk menghasilkan asap cair. Hasil uji GC-MS pada asap cair kulit kakao dengan lama penyimpanan 6 hari menunjukkan adanya 9 jenis senyawa fenolik dan 6 jenis asam organik (Alia *et al.*, 2026).

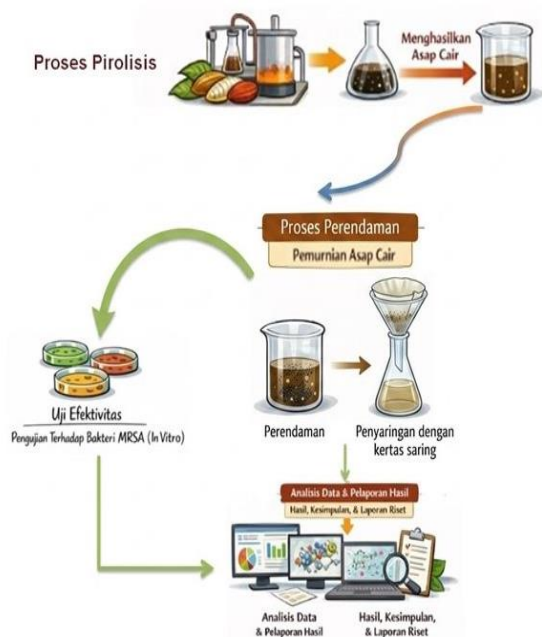
Kemampuan asap cair kulit buah kakao sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* telah dilaporkan oleh Mashuni (2019), Budaraga & Putra (2019), Suryani *et al.* (2023). Akan tetapi, penelitian yang secara spesifik memfokuskan pada uji daya hambat asap cair kulit buah kakao terhadap varian bakteri MRSA masih terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya hambat asap cair kulit buah kakao terhadap bakteri MRSA melalui uji *in vitro*. Pemanfaatan limbah ini diharapkan dapat memberikan nilai tambah (*waste-to-value*) bagi sektor pertanian sekaligus menjadi alternatif bahan pengobatan alami yang mutakhir.

Bahan dan Metode

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen dengan konsentrasi asap cair kulit kakao sebagai variabel bebas dan diameter zona hambat sebagai variabel terikat. Desain penelitian menggunakan rancangan acak lengkap (RAL). Konsentrasi asap cair terdiri atas 8 variasi konsentrasi, yaitu 1%, 2,5%, 5%, 10%, 20%, 40%, 70%, dan 100%. Setiap konsentrasi diuji dengan 3 kali pengulangan sehingga total unit percobaan adalah 24 unit. Pengacakan dilaksanakan untuk posisi penempatan cawan Petri di dalam inkubator. Antibiotik

vancomycin digunakan sebagai kontrol positif dan akuades steril sebagai kontrol negatif untuk memvalidasi hasil zona hambat ekstrak.

Penelitian ini dilaksanakan pada Mei–Juli 2026. Limbah kulit buah kakao diperoleh dari Desa Kalotok, Kecamatan Sabbang Selatan, Kabupaten Luwu Utara, Sulawesi Selatan. Proses ekstraksi, pemurnian asap cair, dan uji *in vitro* dilaksanakan di Laboratorium Sel dan Jaringan, Universitas Cokroaminoto Palopo.



Gambar 1. Tahapan penelitian

Pembuatan dan pemurnian asap cair kulit buah kakao

Kulit buah kakao segar disiapkan melalui pencucian dan penjemuran matahari selama 7–10 hari hingga kulit kakao mengering. Kulit kakao kering selanjutnya dipotong menjadi ukuran 5 × 5 cm. Sampel seberat 1 kg kemudian dimasukkan ke dalam reaktor pirolisis bersistem kondensasi pada suhu ± 400 °C. Metode ini menghasilkan arang, tar, dan asap cair secara simultan (Wijaya *et al.*, 2025). Setelah pemanasan selama ± 2 jam atau saat asap cair tidak lagi menetes, proses dihentikan. Proses ini menghasilkan 300 mL asap cair.

Pemurnian asap cair dari kulit buah kakao dilakukan melalui beberapa tahapan, diawali dengan proses adsorpsi menggunakan perendaman arang aktif sebanyak 3,5% selama 15 menit yang dilanjutkan dengan penyaringan awal (Budaraga, *et al.*, 2016). Selanjutnya, asap cair diendapkan selama 3 hari untuk

memisahkan endapan partikel, lalu disaring kembali secara bertahap menggunakan kertas saring Whatman No. 1 dan No. 42 untuk memperoleh asap cair yang lebih murni dan jernih.

Uji Konfirmasi bakteri MRSA

Isolat bakteri MRSA diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas STeM, Universitas Brawijaya, Malang. Konfirmasi bakteri MRSA (*Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*) diperoleh dengan membandingkan karakter fisio-biokimia isolat uji yang digunakan. Uji konfirmasi meliputi uji katalase, uji karakter pada medium *Mannitol Salt Agar* (MSA), uji koagulasi (Mushore & Matuvhunya, 2013; Husniah, Ningtyas, & Soleha, 2023), dan uji karakter pada agar darah. Koloni *Staphylococcus aureus* menghasilkan gelembung udara setelah ditetesi pada uji katalase (Husniah *et al.*, 2023) dan mengubah warna media MSA dari merah menjadi kuning akibat fermentasi mannitol (Khairullah *et al.*, 2022). Bakteri *S. aureus* juga menunjukkan penggumpalan pada uji koagulasi dan β -hemolisis. Uji konfirmasi dilanjutkan dengan pengujian resistensi antibiotik dengan meletakkan cakram antibiotik cefoxitin 30 μ g pada kultur bakteri. Bakteri MRSA ditandai dengan diameter zona bening ≤ 21 mm (CLSI, 2026).

Pengujian daya hambat

Isolat MRSA terlebih dahulu ditumbuhkan kembali pada media Mueller–Hinton Agar (MHA) steril selama 24 jam. Isolat MRSA usia 24 jam dipindahkan ke dalam tabung reaksi berisi NaCl fisiologis steril dan dihomogenkan. Kekakuan NaCl fisiologis diatur dengan cara menambahkan isolat sedikit demi sedikit hingga kekeruhannya menyamai standar McFarland 0,5 (Giri, 2025). Kepadatan sel yang setara dengan standar McFarland 0,5 adalah $1,5 \times 10^8$ CFU/mL.

Media MHA dituangkan sebanyak 6 mL (ketebalan agar 0,25 cm) ke dalam cawan Petri berdiameter 6 cm secara aseptis. Berdasarkan studi Mashuni *et al.* (2019), suspensi bakteri yang telah disetarakan dengan standar kekeruhan McFarland 0,5 disebarkan pada media agar segera setelah mencapai kekeruhan yang setara dengan standar McFarland 0,5, diikuti dengan peletakan kertas cakram berdiameter 6 mm yang

telah dijenuhkan (volume 20 µL) dalam larutan ACKBK pada konsentrasi 1%, 2,5%, 5%, 10%, 20%, 40%, 70%, dan 100% (modifikasi dari Mashuni *et al.* 2019). Uji ini menggunakan vancomycin sebagai kontrol positif serta akuades steril sebagai kontrol negatif. Setiap variasi perlakuan dilaksanakan dalam 3 kali pengulangan. Pengujian dilaksanakan pada hari yang sama dan pengulangan dilakukan pada cawan Petri yang berbeda. Setiap cawan Petri berisi 1 kertas cakram sehingga total cawan Petri yang digunakan adalah 30 unit. Setelah masa inkubasi selama 24 jam pada suhu 35°C (Giri, 2025), efektivitas antimikroba ditentukan berdasarkan diameter zona hambat yang terukur melalui bantuan jangka sorong.

Analisis data

Data hasil pemurnian asap cair kulit kakao meliputi warna, bahan terapung, dan pH dibandingkan dengan SNI 8985:2021 untuk menentukan tingkatan kualitas asap cair yang diperoleh. Data karakter isolat dibandingkan dengan karakter bakteri *Staphylococcus aureus* berdasarkan studi literatur.

Data hasil uji *in vitro*, yaitu diameter zona bening (mm), dibandingkan antar-konsentrasi asap cair kulit buah kakao dan kontrol sebagai dasar penilaian aktivitas antimikroba. Signifikansi hasil dari perbandingan antar-kelompok ini kemudian divalidasi secara statistik melalui prosedur *One-Way ANOVA* selanjutnya divalidasi dengan uji lanjut Tukey untuk melihat perbedaan rata-ratanya. Analisis data dilakukan dengan bantuan program SPSS versi 20.0. Potensi sebagai antibakteri juga dikategorikan berdasarkan diameter zona hambatnya, yaitu 0-6 mm (tidak aktif), <12 mm (lemah), 12-20 mm (sedang), dan >20 mm (kuat) (Odilia *et al.*, 2022).

Hasil dan Pembahasan

Asap cair kulit kakao hasil pirolisis dan pemurnian

Hasil ekstraksi kulit buah kakao menggunakan metode pirolisis pada penelitian ini menghasilkan produk asap cair dengan karakteristik visual berwarna agak kemerahan dan disertai sedikit corak hitam (Gambar 1a). Proses pemurnian asap cair dilakukan melalui serangkaian tahapan fisik dan kimia untuk memisahkan senyawa pengotor. Pada tahap

awal, perendaman dengan arang aktif yang dilanjutkan dengan penyaringan awal berhasil mengadsorpsi partikel makro dan menghilangkan corak/noda hitam (tar, abu, dan komponen pengotor lainnya). Kualitas fisik asap cair meningkat secara signifikan setelah melalui proses purifikasi bertahap yang ditandai dengan hilangnya noda hitam pada asap cair dan asap cair menjadi lebih jernih (Gambar 1b). Derajat keasaman (pH) asap cair yang diperoleh setelah pemurnian adalah pH 4.



Gambar 2. Asap cair kulit buah kakao hasil ekstraksi pirolisis: (a) asap cair yang masih mengandung tar, (b) asap cair yang telah dimurnikan

Uji konfirmasi bakteri MRSA

Berdasarkan hasil pengujian, uji konfirmasi isolat bakteri menggunakan media Mannitol Salt Agar (MSA) menunjukkan hasil positif untuk *Staphylococcus aureus*, yang ditandai dengan perubahan warna media dari merah menjadi kuning. Hasil uji konfirmasi disajikan pada tabel 1.

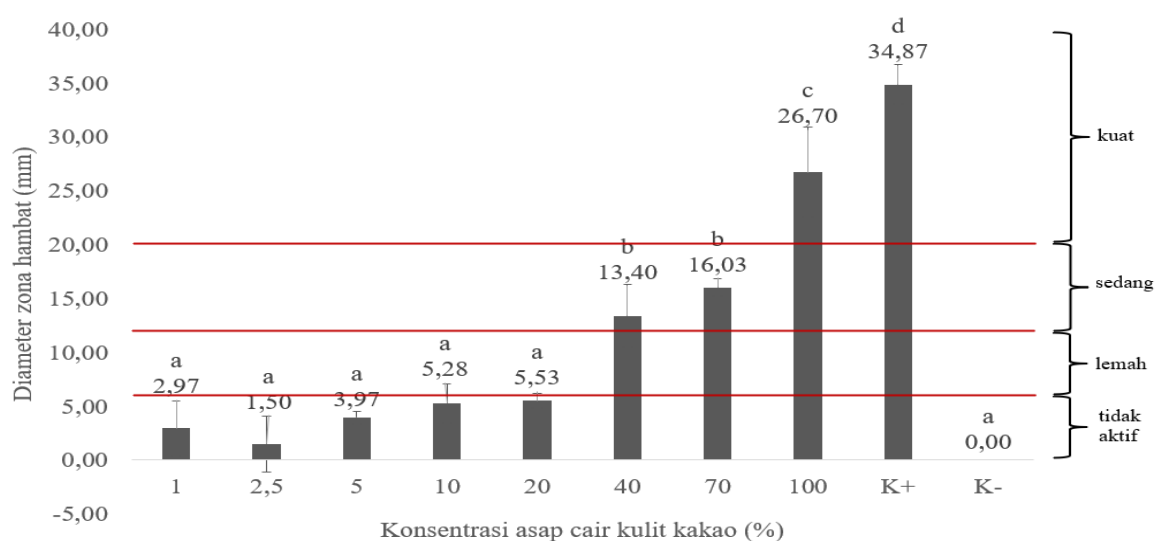
Tabel 1. Karakter fisio-biokimia isolat uji yang digunakan

No	Parameter	Hasil	Interpretasi
1.	Warna koloni pada medium Mannitol salt agar (MSA)	Kuning pucat	+
2.	Warna media MSA	Kuning	+
3.	Uji koagulasi	+	+
4.	Uji hemolisis	β-hemolisis	+
5.	Uji antibiotik golongan β-laktam (cefotaxime)	Tidak Diameter zona bening 13,2 mm	+

Uji penghambatan asap cair terhadap pertumbuhan MRSA

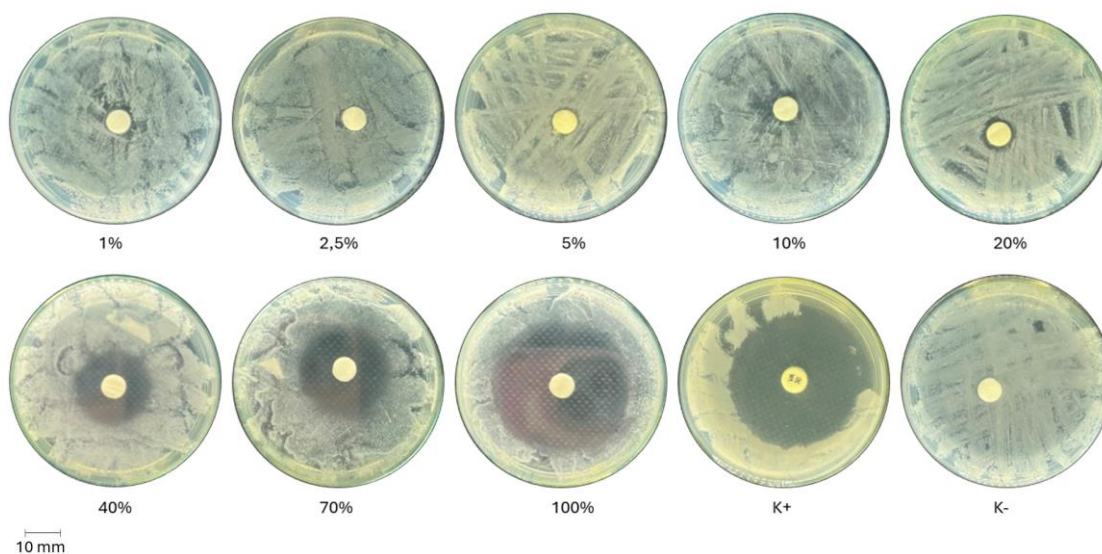
Hasil pengujian penghambatan asap cair terhadap pertumbuhan MRSA disajikan pada Gambar 2. Hasil tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi asap cair kulit buah kakao yang menunjukkan penghambatan tertinggi terhadap pertumbuhan bakteri MRSA adalah konsentrasi 100% dan berada pada kategori aktivitas kuat. Akan tetapi, kemampuan penghambatan tersebut masih lebih rendah dibandingkan antibiotik vancomycin (K+) yang ditandai dengan perbedaan notasi antara diameter zona hambat

vancomycin dan asap cair kulit kakao konsentrasi 100% ($p < 0,05$). Konsentrasi 40% dan 70% menunjukkan aktivitas penghambatan kategori sedang karena berada pada rentang diameter zona hambat 12-20 mm. Kedua konsentrasi tersebut juga menunjukkan perbedaan nilai rata-rata yang signifikan dibandingkan antibiotik vancomycin dan akuades steril ($p < 0,05$). Sementara itu, perlakuan asap cair kulit kakao 1% hingga 20% menunjukkan aktivitas antibiotik kategori tidak aktif dan nilai rata-rata diameter zona hambat yang tidak berbeda nyata dengan akuades steril.



Gambar 3. Diameter zona hambat asap cair kulit kakao pada berbagai konsentrasi.

K+ menunjukkan kontrol positif (vancomycin) dan K- menunjukkan kontrol negatif (akuades steril). Garis di atas *bar* menunjukkan standar deviasi, nilai pada setiap *bar* menunjukkan rata-rata, notasi huruf menunjukkan perbedaan rata-rata berdasarkan uji statistik ($p < 0,05$), garis merah menunjukkan batas kategori aktivitas penghambatan



Gambar 4. Zona hambat asap cair kulit kakao pada berbagai konsentrasi

Pembahasan

Karakteristik asap cair kulit kakao hasil pirolisis dan pemurnian

Karakter asap cair kulit kakao pada Gambar 1 menunjukkan warna kemerahan, baik pada hasil pirolisis dan pemurnian. Warna tersebut mengindikasikan tingginya kandungan senyawa fenol, asam, dan karbonil yang terbentuk dari degradasi termal komponen lignin dan selulosa bahan baku (Suryani, et al., 2023; Alia et al., 2026). Akan tetapi, tingginya kandungan senyawa tersebut perlu dibuktikan melalui analisis kadar dan kandungan senyawa aktif dalam asap cair. Warna asap cair juga dipengaruhi oleh jenis bahan baku yang digunakan (Snehanath et al., 2026).

Corak hitam yang teramati (Gambar 1a) merupakan fraksi tar berat (*heavy tar*) yang ikut terkondensasi bersama uap cairan (Londoño-Larrea et al., 2022). Hilangnya corak hitam (tar, abu, dan komponen pengotor lainnya) pada penyaringan awal membuktikan efektivitas arang aktif dalam mengadsorpsi pengotor serta senyawa hidrokarbon berat. Selanjutnya, proses pengendapan selama tiga hari memberikan waktu bagi sisa fraksi tar berat (*heavy tar*) yang terdispersi untuk turun dan mengendap di dasar botol akibat perbedaan massa jenis. Ini menunjukkan bahwa sebagian tar yang tersuspensi masih memerlukan waktu untuk terpisah secara gravitasi (Afrah et al., 2024). Untuk memastikan tingkat kemurnian yang lebih tinggi, dilakukan penyaringan bertahap menggunakan kertas saring Whatman No. 1 dan No. 42. Penyaringan bertahap ini bertujuan untuk mempercepat proses penyaringan, sedangkan penggunaan kertas saring Whatmann No. 42 bertujuan untuk menyaring partikel abu dan debu.

Proses filtrasi mikro ini secara efektif menahan partikel tersuspensi dan koloid halus, sehingga diperoleh produk akhir berupa asap cair berwarna merah jernih. Adapun nilai pH 4 yang terukur pada produk akhir menunjukkan bahwa asap cair ini bersifat asam, yang utamanya dikontaminasi oleh kandungan asam organik terlarut seperti asam asetat hasil pirolisis biomassa. Proses pemurnian dengan arang aktif menghasilkan warna kemerahan, tidak terdapat bahan terapung, dan pH yang berada pada rentang 2,76-4,50. Karakter asap cair tersebut telah memenuhi 3 dari 6 karakter mutu dalam 8985:2021. Nilai pH merupakan pembeda mutu utama selain asam asetat. Nilai

This article is licensed under a [Creative Commons Attribution 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

pH tersebut juga menegaskan bahwa asap cair dari kulit buah kakao telah memenuhi standar mutu SNI 8985:2021 kategori mutu 2.

Hasil uji konfirmasi isolat bakteri MRSA

Karakter fisio-biokimia isolat bakteri pada Tabel 1 menunjukkan bahwa isolat bakteri yang diuji merupakan bakteri MRSA. Bakteri *Staphylococcus aureus* mampu memfermentasi manitol dalam media MSA dan menghasilkan asam. Keberadaan asam tersebut kemudian menurunkan pH media sehingga indikator phenol red berubah menjadi kuning (Khairullah et al., 2022).

Hasil pengujian resistensi antibiotik cefoxitin menunjukkan diameter zona bening di sekitar kertas cakram adalah 13,2 mm (≤ 21 mm). Diameter zona bening di bawah 21 mm ini menjadi indikator utama bahwa bakteri tersebut mampu bertahan hidup dari paparan antibiotik beta-laktam sehingga mengonfirmasi status MRSA pada isolat yang digunakan (Egbule & Iweriebor, 2024). Antibiotik cefoxitin bekerja dengan mengikat dan menghambat *penicillin binding protein* (PBP) normal pada bakteri *Staphylococcus aureus* sehingga ikatan antar peptidoglikan menjadi terhambat dan dinding sel menjadi rapuh. Akan tetapi, bakteri MRSA dapat menghasilkan protein baru, yaitu PBP2a yang tidak dapat diikat dan dihambat oleh antibiotik cefoxitin sehingga dinding sel bakteri MRSA dapat tetap terbentuk dengan baik (Liang et al., 2022). Selain itu, beberapa bakteri MRSA juga dapat memproduksi enzim beta-laktamase (dikode oleh gen *blaZ*) yang mampu menghidrolisis cincin beta-laktam pada antibiotik sehingga antibiotik menjadi inaktif (Lade & Kim, 2023).

Daya hambat asap cair kulit kakao terhadap pertumbuhan bakteri MRSA

Diameter zona hambat pada Gambar 3 dan 4 menunjukkan bahwa asap cair kulit kakao menunjukkan aktivitas penghambatan in-vitro terhadap isolat yang diuji, dengan zona hambat terbesar pada konsentrasi 100% (26,70 mm). Hal ini diduga disebabkan oleh konsentrasi 100% yang memiliki kandungan senyawa aktif paling tinggi. Zona bening yang diperoleh pada penelitian ini lebih tinggi daripada hasil yang telah dilaporkan oleh Suryani et al. (2023) dengan zona bening sebesar 8,87 mm pada bakteri *S. aureus* FNCC 0047. Perbedaan ini diduga disebabkan oleh perbedaan suhu pirolisis, perlakuan terhadap asap cair, dan jenis

isolat yang digunakan. Asap cair kulit kakao yang digunakan oleh Suryani *et al.* (2023) menggunakan suhu 525 °C, pemurnian dengan cara pengendapan tar selama 24 jam, dan menggunakan isolat *S. aureus* FNCC 0047, sedangkan pada penelitian ini menggunakan suhu ± 400 °C, pemurnian dengan pengendapan tar selama 3 hari dan penggunaan arang aktif, serta menggunakan isolat bakteri MRSA. Budaraga *et al.* (2016) melaporkan bahwa perbedaan metode pemurnian memengaruhi komposisi senyawa aktif dalam asap cair sehingga aktivitas antibakteri juga berbeda. Putri *et al.* (2019) juga melaporkan bahwa perbedaan suhu pirolisis memengaruhi senyawa bioaktif dalam asap cair yang dihasilkan.

Kemampuan penghambatan asap cair kulit kakao konsentrasi 100% terhadap bakteri MRSA dalam penelitian ini juga lebih tinggi daripada kemampuan ekstrak air kopi torabika 100% dengan diameter 14,25 mm (Hanifah, Yuwono, & Perdana, 2024) dan oleh fungi AVM BT 4.2 yang diisolasi dari *Avicenna marina* yang menghasilkan zona penghambatan 15,77 mm (Mulyani *et al.*, 2026). Hal ini menunjukkan bahwa asap cair kulit kakao memiliki potensi besar sebagai kandidat antibakteri MRSA.

Penurunan daya hambat pada konsentrasi 40% dan 70% diduga disebabkan oleh berkurangnya kandungan senyawa aktif akibat tergantikan oleh porsi akuades (pelarut). Akan tetapi, hasil uji pada Gambar 3 dan 4 menunjukkan bahwa pada konsentrasi tersebut, asap cair kulit kakao masih dapat bekerja dengan baik sehingga kemampuannya berada pada kategori sedang. Sedangkan pada konsentrasi 1% hingga 20% tidak terjadi peningkatan kemampuan antibakteri yang signifikan dan secara statistik menunjukkan daya hambat yang serupa dengan perlakuan kontrol negatif. Hasil penelitian ini berbeda dengan hasil yang dilaporkan oleh Budaraga & Putra (2019), yaitu daya hambat asap cair kulit kakao terhadap *S. aureus* pada konsentrasi 10% dan 20% berturut-turut adalah 32,6 mm (kategori kuat) dan 24,7 mm (kategori kuat). Hal ini diduga disebabkan karena adanya perbedaan strain bakteri *S. aureus* yang digunakan.

Kemampuan asap cair kulit kakao dalam menghambat pertumbuhan bakteri MRSA disebabkan oleh kandungan senyawa fenolik di dalamnya. Senyawa fenolik dalam asap cair

kulit kakao berfungsi sebagai antioksidan melalui mekanisme transfer atom hidrogen (Suryani *et al.*, 2023; Alia *et al.*, 2026). Senyawa fenolik dilaporkan dapat mengganggu permeabilitas membran sel bakteri MRSA serta menembus dan menghambat sistem pompa efluks MRSA yang berfungsi untuk mengeluarkan racun atau antibiotik (Skovranova *et al.*, 2022). Menurut Kurniasari *et al.* (2022), senyawa fenolik dapat merusak membran sitoplasma pada konsentrasi rendah dan menggumpalkan protein seluler MRSA. Selain senyawa fenolik, asap cair juga mengandung berbagai asam organik yang dapat menurunkan stabilitas membran, menurunkan pH sitoplasma bakteri, serta menghambat sintesis enzim dan makromolekul dalam sel (Suryani *et al.*, 2023).

Mekanisme penghambatan pertumbuhan bakteri MRSA oleh asap cair kulit kakao berbeda dari antibiotik vancomycin yang digunakan sebagai kontrol positif dalam penelitian ini. Vancomycin bekerja dengan mengikat langsung ujung D-alanil-D-alanin pada prekursor peptidoglikan (Lipid II), sehingga menghalangi proses transglikosilasi dan transpeptidasi dalam pembentukan dinding sel (Rose *et al.*, 2022; Purja *et al.*, 2024). Dengan demikian, asap cair kulit kakao dan vancomycin bekerja tanpa melibatkan PBP2a sehingga mekanisme resistensi *mecA* pada MRSA tidak berlaku dan menghasilkan aktivitas antibakteri yang cukup besar (kategori kuat). Oleh karena itu, asap cair kulit kakao pada konsentrasi 100% yang diperoleh melalui tahapan pirolisis pada suhu ± 400 °C dan pemurnian asap cair menggunakan arang aktif tempurung kelapa berpotensi besar untuk digunakan sebagai kandidat antibakteri selain vancomycin.

Pemanfaatan asap cair sebagai antibakteri MRSA berdasarkan hasil uji *disc diffusion* telah menggambarkan potensinya sebagai kandidat obat alternatif selain vancomycin. Meskipun demikian, penelitian ini hanya menggunakan akuades steril sebagai kontrol negatif sehingga belum dapat menggambarkan pengaruh asam organik dan senyawa fenolik dalam asap cair kulit kakao secara terpisah. Penelitian ini dapat dilanjutkan dengan mengidentifikasi senyawa aktif dalam asap cair kulit kakao menggunakan metode GC-MS ataupun LS-MS, pengujian mekanisme penghambatan melalui simulasi *docking*, pengujian MIC dan MBC untuk

memperoleh konsentrasi minimal untuk pengendalian bakteri MRSA, uji toksisitas, serta pengujian kadar senyawa fenolik dan asam organik.

Kesimpulan

Asap cair kulit kakao menunjukkan aktivitas penghambatan *in vitro* terhadap isolate *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 40%, 70% dan 100%, dengan diameter zona hambat tertinggi pada konsentrasi 100%. Hasil penelitian ini dapat menjadi dasar awal untuk penelitian lanjutan mengenai kandidat antibakteri berbasis limbah kulit kakao, tetapi belum dapat ditafsirkan sebagai alternatif terapi klinis. Selain itu, pemanfaatan asap cair kulit kakao juga dapat menjadi solusi atas masalah lingkungan yang disebabkan oleh penumpukan limbah pascapanen kulit kakao. Akan tetapi, penggunaan asap cair kulit kakao pada manusia masih membutuhkan pengkajian lebih lanjut.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih ditujukan kepada Direktorat Pembelajaran dan Kemahasiswaan, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan Tinggi, Sains, dan Teknologi Republik Indonesia sebagai penyandang dana utama kegiatan Program Kreativitas Mahasiswa–Riset Eksakta Tahun 2026. Ucapan terima kasih juga ditujukan kepada Universitas Cokroaminoto Palopo yang telah memberikan kesempatan untuk mengikuti Program Kreativitas Mahasiswa Tahun 2026, menyediakan fasilitas, dan memberikan bantuan publikasi, serta kepada petani kakao yang telah menyediakan sampel penelitian.

Referensi

- Abebe, A. A., & Birhanu, A. G. (2023). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: molecular mechanisms underlying drug resistance development and novel strategies to combat. *Infection and Drug Resistance*, 16: 7641-7662. DOI: <https://doi.org/10.2147/IDR.S428103>.
- Afrah, B. D., Riady, M. I., Payomthip, P., Ramadhanty, R. V., Rizki, F., & Alfayyadh, M. L. (2024). Analysis of liquid smoke grade characteristics from coconut shells and palm kernel shell waste through a slow pyrolysis process. *Journal of Engineering and Technological Sciences*, 56(4): 545-558. DOI: <https://doi.org/10.5614/j.eng.technol.sci.2024.56.4.10>
- Alia, N., Ursam, A. H. P., Fitriani, M., Juniantari, D. M., Tiara, T., & Tenriawaru, E. P. (2026). Stability and effectiveness of cocoa husk liquid smoke in varied storage times as a control agent for *Phytophthora palmivora* infection. *Biogenesis: Jurnal Ilmiah Biologi*, 14(1): 102-111. DOI: <https://doi.org/10.24252/bio.v14i1.62116>
- Budaraga, I. K., & Pramana Putra, D. (2019). Liquid smoke antimicrobial test of cocoa fruit peel against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* bacteria. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 365: 1-10. DOI:10.1088/1755-1315/365/1/012049.
- Budaraga, I. K., Arnim, A., Marlinda, Y., & Bulain, U. (2016). Antibacterial Properties of Liquid Smoke from the Production of Cinnamon How Purification and Concentration of Different. *International Journal of Thesis Projects and Dissertations (IJTPD)*, 4(2): 265-274.
- Egbule, O.S., & Iweriebor, B.C. (2024). Biofilm formation of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* on hospital environmental surfaces as potential sources of infection among hospitalized patients. *Microbes and Infectious Diseases*, 6(4): 6310-6317. DOI: 10.21608/mid.2024.310810.2144.
- Fitrandi, M., Salasia, S. I. O., Sianipar, O., Dewananda, D. A., Arjana, A. Z., Aziz, F., ... & Santosa, C. M. (2023). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates derived from humans and animals in Yogyakarta, Indonesia. *Veterinary World*, 16(1): 239. DOI: 10.14202/vetworld.2023.239-245
- Giri, D. (2025). CLSI 2025: Antibiotic Selection and Zone Interpretation Criteria for *Staphylococcus aureus*. <https://laboratorytests.org/elis-2025-antibiotic-selection-zone-interpretation-criteria-staphylococcus-aureus/> (Accessed

- on July 27th, 2026).
- Hadi, H. S. P., Sarkono, Kusuma, A. A. N. N., & Kholidi, M. A. (2026). Comparison of antibacterial activity and physicochemical characteristics of VCO (Virgin Coconut Oil) with different manufacturing methods. *Indonesian Journal of Tropical Biology*, 2(1): 33–39. <https://doi.org/10.65622/ijtb.v2i1.279>
- Hanifah, R., Yuwono, H. S., & Perdana, R. (2024). Perbandingan efek antibakteri ekstrak air kopi arabika dengan ekstrak air dark chocolate pada kultur bakteri methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Bandung Conference Series: Medical Science*, 4(1): 359-366. <https://doi.org/10.29313/bcsms.v4i1.10880>.
- Husniah, I., Retno, N., & Soleha, T. U. (2023). Uji Daya Hambat Ekstrak Kulit Nanas Madu (*Ananas comosus* [L] Merr.) terhadap Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*. *Medical Profession Journal of Lampung*, 13(4): 516-520. DOI: <https://doi.org/10.53089/medula.v13i4.676>
- Joshua, M., & Takudzwa, M. (2013). Antibacterial properties of *Mangifera indica* on *Staphylococcus aureus*. *African journal of clinical and experimental microbiology*, 14(2): 62-74. DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/ajcem.v14i2.4>
- Khairullah, A. R., Sudjarwo, S. A., Effendi, M. H., Ramandinianto, S. C., Gelolodo, M. A., Widodo, A., ... & Rehman, S. (2022). Profile of Multidrug Resistance and Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) on dairy cows and risk factors from farmer. *Biodiversitas: Journal of Biological Diversity*, 23(6): 2853-2858. DOI: 10.13057/biodiv/d230610.
- Kovranova, G., Culenova, M., Treml, J., Dzuricka, L., Marova, I., & Sychrova. (2022). Prenylated phenolics from *Morus alba* against MRSA infections as a strategy for wound healing. *Frontiers in Pharmacology*, 30(13): 1068371. DOI: 10.3389/fphar.2022.1068371.
- Kurniasari, P. N. I., Roeswandono, W., Wibisono, F. J., & Kurnianto, A. (2022). Efektivitas antibakteri ekstrak daun sisik naga (*Drymoglossum piloselloides*) terhadap bakteri *Methicillin resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dan *Escherichia coli*. *Jurnal Vitek Bidang Kedokteran Hewan*, 12(2): 80-89. DOI: <https://doi.org/10.30742/jv.v12i2.112>.
- Lade, H., & Kim, J. S. (2023). Molecular determinants of β -lactam resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): an updated review. *Antibiotics*, 12(9), 1362. DOI: <https://doi.org/10.3390/antibiotics12091362>
- Li, J., Cheng, F., Wei, X., Bai, Y., Wang, Q., Li, B., Zhou, Y., Zhai, B., Zhuo, X., Wang, W., & Zhang, J. (2025). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): resistance, prevalence, and coping strategies. *Antibiotics*, 14(771): 1-19. DOI: <https://doi.org/10.3390/antibiotics14080771>.
- Liang, B., Xiong, Z., Liang, Z., Zhang, C., Cai, H., Long, Y., Gao, F., Wang, J., Deng, Q., Zhong, H., Xie, Y., Huang, L., Gong, S., & Zhou, Z. (2022). Denomic basis of occurrence of cryptic resistance among oxacillin- and cefoxitin-susceptible *mecA*-positive *Staphylococcus aureus*. *Microbiology Spectrum*, 10(3): 1-10. DOI: <https://doi.org/10.1128/spectrum.00291-22>.
- Londoño-Larrea, P., Villamarin-Barriga, E., García, A. N., & Marcilla, A. (2022). Study of cocoa pod husks thermal decomposition. *Applied Sciences*, 12(18): 9318. DOI: <https://doi.org/10.3390/app12189318>
- Mashuni, M., Kadidae, L. O., Jahiding, M., Dermawan, M. A., & Hamid, F. H. (2019). Pemanfaatan kulit buah kakao sebagai antibakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Penelitian Biologi*, 6(2): 1017-1026.
- Mulyani, Y., Dewi, A. A., Annisa, N., Khaerunnisa, N. A., Sautraja, g. G., Aziz, A. M., & Pangkerego, A. A. (2026). Antibacterial potential of endophytic fungi from *Avicenna marina* against pathogenic bacteria methicillin resistant *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Jurnal Biologi Tropis*, 26(3): 1125-1138. DOI: <http://doi.org/10.29303/jbt.v26i3.12106>.

- Odilia, M. R., Putri, D. T. Z. A., Rosetyadewi, A. W., Wijayanti, A. D., Budiyanto, A., Jadi, A. R., & Pratama, A. M. (2022). Identification of antinutritional, antioxidant, and antimicrobial activity of plants that cause livestock poisoning in Bojonegoro Regency, Indonesia. *Veterinary World*, 15(9): 2131. DOI: 10.14202/vetworld.2022.2131-2140.
- Purja, S., Kim, M., Elghanam, Y., Shim, H. J., & Kim, E. (2024). Efficacy and safety of vancomycin compared with those of alternative treatments for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections: An umbrella review. *Journal of Evidence-Based Medicine*, 17(4): 729-739. DOI: <https://doi.org/10.1111/jebm.12644>.
- Purnama, A., Ginting, B., Yahya, M., Afifi, M. R., Maghfirah, r., Farida, M., & Hamdiyati. (2025). Aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi N-heksana kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.). *Lantanida Journal*, 13(1): 72-84. DOI: <http://dx.doi.org/10.22373/lj.v13i1.29989>.
- Putri, N. P. D. P., Setyaningrum, L., & Fauziah, D. T. (2023). Uji aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. *Skripsi*. Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi.
- Putri, R. E., Kasim, A., & Asben, A. (2019, September). Pyrolysis and characterization of liquid smoke from cacao pod husks. *IOP Conference Series. Earth and Environmental Science*, 327(1). DOI: 10.1088/1755-1315/327/1/012011.
- Rose, W., Volk, C., Dilworth, T. J., & Sakoulas, G. (2022). Approaching 65 years: is it time to consider retirement of vancomycin for treating methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* endovascular infections?. *Open Forum Infectious Diseases*, 9(5): ofac137. DOI: <https://doi.org/10.1093/ofid/ofac137>
- Salsabil, A. D., Rochmanti, M., & Widodo, A. D. W. (2021). Vancomycin Monotherapy vs Alternative Antibiotics for MRSA Patients: A Systematic Review. *International Journal of Research Publications*, 92(1): 124-35. DOI: 10.47119/10.47119/IJRP100921120222689
- Snehanath, Swift, S., Liu, T., Carson, D., Young, B., & Baroutian, S. (2026). Liquid smoke as a food additive: critical review of functionality, applications, and toxicological concern. *Food and Bioprocess Technology*, 19(253), 1-27. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11947-026-04339-5>.
- SNI 8985:2021. Crude asap cair lignoselulosa sebagai bahan baku. Badan Standarisasi Nasional. Jakarta.
- Suryani, R., Rizal, W. A., Prasetyo, D. J., Apriyana, W., Anwar, M., & Wahono, S. K. (2023). Physicochemical characteristics, antioxidant and antibacterial activities of liquid smoke derived from mixed sawdust and cocoa pod husks biomass. *Trends in Sciences*, 20(6): 4985-4985. DOI: <https://doi.org/10.48048/tis.2023.4985>.
- Syahniar, R., Farsida, F., Setyani, R. L., Malayanti, M., Siswanti, R. T., Asmawati, W. O., & Farida, I. (2024). Edukasi Pencegahan dan Tatalaksana MRSA pada Tenaga Kesehatan. *Jurnal Abdimas Kedokteran dan Kesehatan*, 2(1): 42-47. DOI: <https://doi.org/10.24853/jaras.2.1.42-47>.
- Wang, Y., Liu, X., Song, L., Chen, K., Shi, C., Peng, C., ... & Li, Z. (2024). Antibacterial and antibiofilm activities of protocatechualdehyde and its synergy with ampicillin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Frontiers in Microbiology*, 15: 1366400. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1366400>.
- WHO (2023). Bloodstream infection due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), proportion (%). <https://www.who.int/data/gho/data/indicators/indicator-details/GHO/sdg-3.d.2-amr-infect-mrsa> (Accessed on July 27th, 2026).
- Wijaya, M., Wiharto, M., Anwar, M., & Alam, M. N. (2025). Eksplorasi Limbah Kulit Buah Kakao Wilayah Sulselbar: Analisis Komposisi, Pirolisis, dan Potensinya sebagai Bio-fertiliser. *JST (Jurnal Sains dan Teknologi)*, 14(1): 13-24. DOI: <https://doi.org/10.23887/jstundiksha.v14i1.90408>.

Wijayanto, M. T., & Silviani, Y. (2026).
Distribution and selected beta-lactam
susceptibility of *Escherichia coli* and
Staphylococcus aureus in Suspected

Sepsis Patients at RSUD Ir. Soekarno
Sukoharjo. *Jurnal Biologi Tropis*, 26(3):
131-137.DOI: 10.29303/jbt.v26i3.12055