

Pemanfaatan Kulit Buah Kakao sebagai Antibakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Mashuni¹, La Ode Kadidae¹, M. Jahiding¹, Muh. Aksan Dermawan¹, Fitri Handayani Hamid¹

¹Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Halu Oleo, Kendari, Sulawesi Tenggara

E-mail Corresponding : mashuni2696@gmail.com

Diterima : 12 Oktober 2019 – Disetujui : 05 November 2019

© 2019 Jurusan Biologi FMIPA Universitas Halu Oleo Kendari

Abstrak

Kulit buah kakao (KBK) merupakan limbah hasil olahan buah kakao, mengandung biomassa lignoselulosa yang dapat dipirolysis menghasilkan asap cair. Tujuan penelitian ini untuk mendapatkan zat antibakteri dari asap cair dengan metode pirolisis KBK. Metode penelitian ini meliputi: preparasi dengan pengeringan bahan baku KBK selama 5-7 hari kemudian dilakukan pencacahan sampel KBK kering. Selanjutnya, Proses pirolisis dilakukan pada suhu 385-500°C dengan kecepatan alir pemanasan 6°C/menit. Crude asap cair yang diperoleh difiltrasi dan didestilasi fraksinasi untuk menghasilkan asap cair yang lebih jernih. Analisis Total Phenolic Content (TPC) asap cair dilakukan dengan metode Folin-Ciocalteu (FC) menggunakan standar asam galat dan instrumen spektrofotometer Ultraviolet-Visible pada panjang gelombang maksimum (λ_{maks}) 765 nm. Uji antibakteri asap cair KBK dilakukan menggunakan metode dilusi dengan variasi konsentrasi asap cair yaitu 5, 7, 10 dan 15%. TPC asap cair KBK sebesar 1,035 g/L. Analisis spectrogram Gas Chromatography-Mass spectroscopy (GC-MS) asap cair KBK menunjukkan adanya senyawa : asam asetat, metil glioksal, piridin, 4-metil-piridin, 4-[2 (metilamino) etil]-fenol. Hasil analisis konsentrasi hambat minimum (KHM) asap cair KBK terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* didapatkan pada konsentrasi 15%. Studi ini menunjukkan bahwa ekstraksi pirolisis dapat digunakan sebagai teknik untuk memperoleh ekstrak senyawa fenolik dari CPH dan menjanjikan untuk bahan antibakteri yang aman.

Kata kunci : KBK, asap cair, pirolisis, fenolik, antibakteri.

Abstract

The Cocoa pod husk (CPH) is a processed cocoa fruit waste, containing lignocellulosic biomass which can be pyrolysis to produce liquid smoke. The purpose of this study was to obtain antibacterial material from liquid smoke using the CPH pyrolysis method. This research method includes: preparation by drying the CPH raw materials for 5-7 days and then chopping the CPH sample dry. Furthermore, the pyrolysis process is carried out at 385-500 °C with a heating flow rate of 6 °C/min. The liquid smoke crude obtained is filtered and distilled fractionated to produce clearer liquid smoke. Analysis of Total Phenolic Content (TPC) of liquid smoke was carried out by the Folin-Ciocalteu (FC) method using gallic acid standards and Ultraviolet-Visible spectrophotometer instruments at maximum wave length (λ_{max}) 765 nm. The CPH liquid smoke antibacterial test was carried out using a dilution method with variations in liquid smoke concentrations of 5, 7, 10 and 15%. The TPC of CPH liquid smoke is 1.035 g / L. The spectrogram analysis of Gas Chromatography-Mass spectroscopy (GC-MS) of CPH liquid smoke shows the presence of compounds: acetic acid, Methyl glyoxal, Pyridine, 4-methyl- pyridine, 4-[2(methyl amino) ethyl]- Phenol. The results of the analysis of the minimum inhibitory concentration (MIC) of CPH liquid smoke against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* bacteria were obtained at a concentration of 15%. This study shows that pyrolysis extraction can be used as a technique for obtaining extracts of phenolic compounds from CPH and is promising for safe antibacterial agents.

Keywords : CPH, liquid smoke, pyrolysis, Phenolic, antibacterial.

PENDAHULUAN

Provinsi Sulawesi Tenggara merupakan salah satu daerah penghasil kakao terbesar di Indonesia dengan luas area 251.730 Ha dan produksinya mencapai 15.537 ton. Wilayah perkebunan kakao terluas di Sulawesi Tenggara terletak di Kabupaten Kolaka Utara dengan luas tanaman perkebunan 79.475 Ha dengan produksi mencapai 51.297 ton per tahun (BPS SULTRA, 2016). Tingginya produksi kakao berbanding lurus dengan limbah kulit buah kakao (KBK) yang dihasilkan. Keberadaan limbah KBK sering kali tidak dimanfaatkan secara baik dan kadang dibiarkan begitu saja menjadi sampah pertanian. Limbah KBK yang dihasilkan dalam jumlah banyak akan menjadi masalah jika tidak ditangani.

KBK merupakan limbah lignoselulosa yang mengandung komponen utama berupa lignin 20-27,95%, selulosa 36,23% dan hemiselulosa 1,14%. Selulosa dan hemiselulosa merupakan polimer dari rangkaian monomer monosakarida yang dapat diubah menjadi gula dalam kondisi tertentu. Sedangkan lignin merupakan heteropolimer amorf yang terdiri dari tiga unit fenilpropan (p-coumaryl, coniferil dan sinapyl alkohol) yang terikat dengan ikatan yang berbeda (Purnamawati dan Budi, 2014).

Lignin pada jaringan tanaman sulit didegradasi karena mempunyai struktur

yang kompleks dan heterogen yang berikatan dengan selulosa dan hemiselulosa (Chen, 2015). Fungsi utama lignin adalah memperkuat struktur tanaman dalam menahan terhadap serangan mikroba dan tekanan oksidasi, menyatakan bahwa lignin merupakan polimer aromatik yang dapat dikonversi menjadi senyawa fenolik (Hendriks dan Zeeman, 2009).

Kandungan senyawa dari biomassa KBK dapat diekstraksi dengan beberapa metode. Metode ekstraksi konvensional memiliki beberapa kekurangan salah satunya masih menggunakan pelarut bahan kimia dalam jumlah yang relatif banyak sehingga penggunaan metode tersebut masih menggunakan biaya yang cukup tinggi dan juga berdampak negatif bagi kesehatan manusia (Mashuni, et al., 2017). Oleh karena itu, penelitian ini menggunakan metode pirolisis karena ekonomis dan aman bagi kesehatan karena tidak membutuhkan pelarut bahan.

Pirolisis merupakan proses dekomposisi biomassa dengan thermal dengan oksigen terbatas sehingga dari proses tersebut didapatkan gas, cairan dan arang yang jumlahnya dipengaruhi oleh jenis bahan, metode dan kondisi dari pirolisisnya (Ifa, et al., 2018). Metode pirolisis dilakukan pemanasan pada suhu tinggi dan tanpa menggunakan pelarut organik. Pada proses pirolisis energi panas mendorong terjadinya oksidasi sehingga molekul karbon yang kompleks terurai sebagian besar menjadi karbon

atau arang dan sisanya berupa asap cair (Hidayat dan Qomaruddin, 2015).

Pemanfaatan asap cair menjadi kajian yang menarik karena dapat diaplikasikan sebagai biopestisida dan pengawet karena mengandung senyawa kimia (Rachmawaty, et al., 2018). Antara lain senyawa turunan fenol dan asam organik yang dapat menekan pertumbuhan jamur dan bakteri (Mashuni, et al., 2019). Penelitian ini melakukan kajian efektivitas asap cair dari pirolisis KBK dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

METODE PENELITIAN

Preparasi Sampel

Sampel KBK diperoleh dari Desa Puday, Kabupaten Konawe. Buah kakao dibersihkan dan dipisahkan dari daging buah kakao. KBK yang telah dibersihkan, selanjutnya dicacah hingga ukuran 2-3 cm. Kemudian, KBK dikeringkan di bawah sinar matahari selama 5-7 hari.

Analisis Kadar Air Kulit Buah Kakao (KBK)

Cawan kosong yang digunakan sebagai wadah sampel ditimbang terlebih dahulu. KBK lalu dimasukkan 10 gram sampel KBK dan ditimbang bersama cawan kosong (M_1), selanjutnya dipanaskan dalam oven pada temperatur 105 °C selama 1 jam kemudian dimasukkan ke dalam desikator untuk didinginkan, setelah itu ditimbang, proses ini dilakukan berulang sampai didapatkan bobot sampel KBK dalam cawan yang

tetap (M_2). Selanjutnya dihitung kadar air sampel dengan rumus sebagai berikut (Vogels, 1989):

$$\text{Kadar air} = \frac{M_1 - M_2}{M_1} \times 100\%$$

Keterangan:

M_1 = berat awal sampel (gram)

M_2 = berat akhir sampel setelah dipanaskan (gram)

Pirolisis

Sampel KBK yang telah kering ditimbang sebanyak 1500 gram dan dimasukkan ke dalam reaktor pirolisis yang dilengkapi dengan rangkaian kondensor. Reaktor dilengkapi dengan *thermokopel* yang dihubungkan dengan *read out meter*. Pipa penyalur asap terbuat dari besi berdiameter 2 inci dengan panjang 120 cm, yang terhubung antara reaktor dengan kondensor. Kondensor atau pendingin dibuat dari bahan yang sama dengan reaktor berukuran tinggi 86 cm dan diameter 60 cm.

Pemanas listrik berbentuk selubung reaktor dengan besar arus 10 A. Sampel KBK dipirolysis pada temperatur 385-500 °C selama ± 4-5 jam. Pirolisis dihentikan setelah tidak ada asap cair yang menetes ke penampungan.

Pemurnian Asap Cair

Crude asap cair yang diperoleh dari pirolisis disaring menggunakan kain kasa dan kertas saring *whatmann* untuk memisahkan asap cair dari tar, selanjutnya didestilasi fraksinasi pada suhu 60-150°C.

Penetapan Total Phenolic Content (TPC) Asap Cair

Analisis TPC dilakukan dengan metode Folin-Ciocalteu (FC) menggunakan alat Spektrofotometri UV-Vis dan larutan standar asam galat. Sebanyak 3 mL larutan masing-masing sampel dan larutan standar asam galat (5, 10, 30, 50, 70 dan 90 mg/L) dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya, larutan ditambahkan 15 mL reagen FC 10%, dikocok hingga homogen kemudian ditambahkan larutan 12 mL Na₂CO₃ 7,5% dikocok hingga homogen dan didiamkan selama 60 menit. Absorban larutan sampel dan larutan standar diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang absorban maksimum 765 nm (Pallawagau, et al., 2019).

Analisis Asap Cair dengan Gas Chromatography-Mass spectroscopy (GC-MS)

Identifikasi senyawa kimia dilakukan dengan menggunakan GC-MS. Asap cair hasil filtrasi dan distilasi kemudian diinjeksikan sebanyak 1 µL ke dalam alat GC-MS Thermo Scientific Trace 1300 GC/ISQ dengan jenis pengion EI (*Electron Impact*) 70 eV dan dipanaskan suhu kolom 70°C sampai 280°C, panjang kolom 30 m, diameter dalam kolom 25 mm, kenaikan suhu 5°C permenit, gas pembawa helium 100 kPa, laju aliran 60 mL/menit.

Uji Antibakteri Asap Cair

Media yang digunakan pada penelitian yaitu media cair *Nutrient Broth* (NB), dibuat dengan menimbang NB

sebanyak 2,88 gram dalam 120 mL aquades, dipanaskan menggunakan *hot plate* hingga larut sempurna. Setelah itu didiamkan dan disterilkan. Pembuatan larutan Mc.Farland 0,5 dibuat dengan komposisi H₂SO₄ 1% dan BaCl₂ 1%. Larutan H₂SO₄ 1% dipipet sebanyak 9,95 mL dicampurkan dengan BaCl₂ 1% sebanyak 0,05 mL dalam Erlenmeyer. Kemudian dikocok sampai terbentuk larutan yang keruh. Larutan standar Mc.Farland 0,5 setara dengan kepadatan bakteri 1,5 × 10⁸ CFU/mL. Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) asap cair terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dilakukan pada konsentrasi 5, 7, 10 dan 15%.

Bakteri hasil pembiakan murni pada *Nutrient Agar* miring yang setelah diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C diinokulasi dalam 5 mL *Nutrient Broth* (NB) dan selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Setelah itu disetarkan kekeruhannya dengan larutan 0,5 Mc. Farland atau sebanding dengan jumlah bakteri 1 × 10⁸ CFU/mL (CFU: *Colony Forming Unit*) atau 250-300 koloni dalam media padat. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode dilusi cair dan sebagai kontrol(+) tetrasiklin 1% dan kontrol (-) media NB. Proses penghambatan yang terjadi diamati melalui adanya kekeruhan pada media cair yang dihasilkan. Komposisi media pengujian KHM disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi Media pada Pengujian KHM

Perlakuan	Volume (mL)		
	Media NB	Asap Cair	Bakteri uji
Asap cair 15%	5	4	1
Asap cair 10%	5	4	1
Asap cair 7%	5	4	1
Asap cair 5%	5	4	1
Kontrol (+)	8 + 1 (antibiotik)	-	1
Kontrol (-)	9	-	1

Keterangan : Kontrol + (Tetrasiklin 1%)
Kontrol – (Media NB)

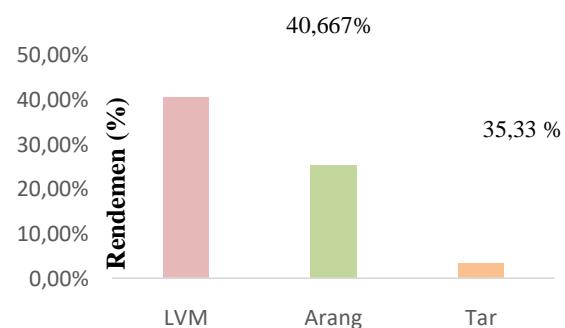
Pengukuran *Optical Density* (OD) larutan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 480 nm. Selanjutnya larutan uji diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan diukur kembali OD dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. KHM ditentukan pada tabung yang tidak mengalami kekeruhan yang diketahui dengan melihat nilai absorbansi. KHM ditentukan dengan membandingkan OD_2 setelah perlakuan inkubasi dengan OD_1 sebelum perlakuan inkubasi ΔOD , *Optical Density* (OD) bakteri adalah ≤ 0 (Dewi dan Wahyunitisari, 2018).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi pengeringan dan pencacahan sampel KBK dilakukan sebelum masuk ke dalam alat pirolisis dimaksudkan untuk menghilangkan kadar air dan memperbesar luas permukaan sehingga dapat menambah jumlah hasil ekstrak asap cair. Berdasarkan uji kadar air sampel KBK memiliki kadar air sebesar 21,08%.

Rendemen Asap Cair

Pirolisis merupakan penguraian komponen kimia dengan cara pemanasan suhu tinggi dengan oksigen terbatas sehingga terjadi pembakaran tidak sempurna (Xu, et al., 2018). Rendemen hasil pirolisis KBK pada temperatur 386-500 °C dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Rendemen hasil pirolisis KBK

Berdasarkan hasil pengamatan pada Gambar 1, terlihat bahwa jumlah produk terbanyak yang dihasilkan adalah asap cair dengan rendemen 40,667%, kemudian disusul arang sebanyak 35,33 % dan tar 3,33 %. Dari rendemen tersebut, dapat diperkirakan bahwa jumlah zat yang terbuang menjadi gas sebanyak 20,67%. Rendemen yang diperoleh dari proses pirolisis bergantung pada jenis bahan baku yang digunakan, suhu saat pirolisis, dan sistem kondensasi yang digunakan (Haji, 2013).

Pemurnian Asap Cair

Campuran asap cair dan tar merupakan salah satu hasil dari proses pirolisis. Untuk mendapatkan asap cair murni, campuran tersebut disaring terlebih dahulu untuk memisahkan tar dari asap cair menggunakan kain kasa dan kertas saring. Kemudian asap cair yang telah terpisah, disaring menggunakan zeolit dan karbon aktif untuk mengurangi senyawa berbahaya seperti *benzopyrene*. Selanjutnya asap cair dimurnikan kembali menggunakan destilasi fraksinasi untuk mengurangi bau asap dan memurnikan warna dari asap cair. Dari hasil destilasi terlihat asap cair lebih jernih dan berwarna kekuningan yang menandakan bahwa senyawa yang tidak diinginkan telah berkurang (Darmadji, 2002).

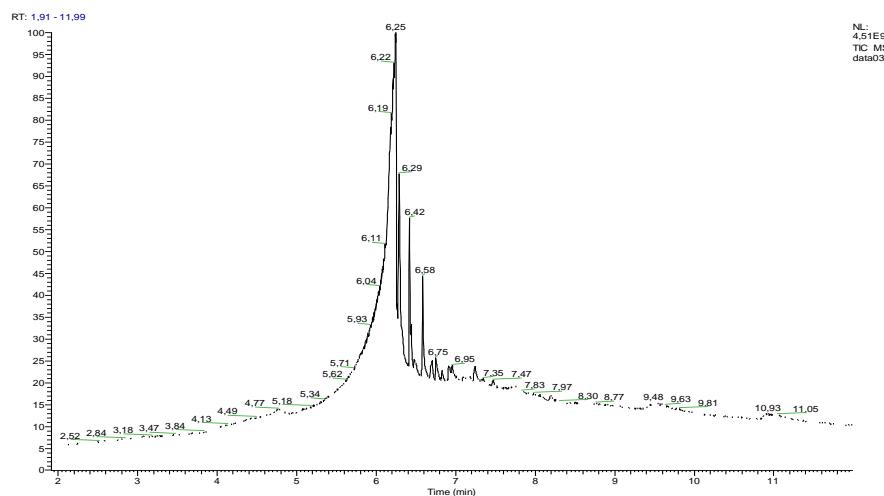
Analisis Total Phenolic Content (TPC) Asap Cair KBK

Analisis TPC pada sampel asap cair KBK dengan metode Folin-Ciocalteu (FC) menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum (λ_{maks}) 765 nm. Ion fenolat dibentuk melalui disosiasi proton senyawa fenolik, namun reaksi ini berjalan lambat, oleh karena itu perlu adanya larutan pembawa suasana basa agar reaksi berlangsung cepat, sehingga digunakan natrium karbonat sebagai pembawa suasana basa. Ion fenolat ketika bereaksi dengan reagen Folin-Ciocalteu membentuk kompleks molybdenum-tungsten berwarna

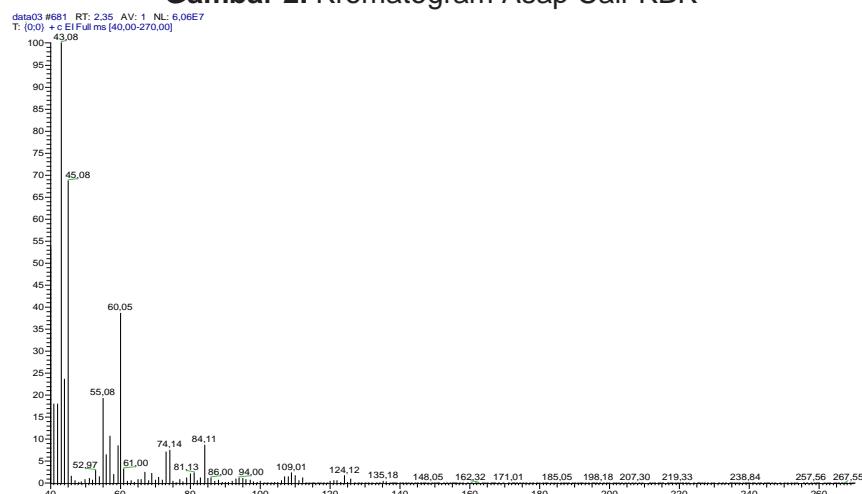
biru yang dapat dideteksi dengan spektrofotometer (Pallawagau, et al., 2019). Berdasarkan hasil perhitungan dari persamaan regresi diperoleh TPC asap cair KBK sebesar 1,035 g/L.

Analisis Kandungan Senyawa Asap Cair dengan Gas Cromatography -Mass Spectroscopy (GC-MS)

Sampel asap cair yang telah dimurnikan diidentifikasi kandungan senyawanya dengan menggunakan instrumen GC-MS. Instrumen GC-MS merupakan salah satu instrumen yang dapat mendeteksi suatu keberadaan senyawa kimia dalam sampel ekstrak cair dengan teliti (Ma, et al., 2016). Sampel yang diinjeksikan ke dalam Kromatografi Gas akan diubah menjadi fasa uap dan dialirkan melewati kolom kapiler dengan bantuan gas pembawa. Sampel diinjeksikan 1 μ L ke dalam alat GC-MS Thermo Scientific Trace 1300 GC/ISQ dengan suhu kolom dijaga atau diprogram agar meningkat secara bertahap yaitu 70°C selama 1 menit sampai 280°C dengan tingkat kenaikan suhu 5°C/menit. Molekul akan terionisasi akibat penembakan elektron 70 eV berenergi tinggi dan akan menghasilkan ion dengan muatan positif. Gas pembawa dalam alat GC-MS tersebut gas pembawa helium 100 kPa, laju aliran 60 mL/menit. Berikut gambar 2 dan 3 adalah kromatogram dan spektrum hasil analisis GC-MS asap cair KBK yang telah difiltrat dan didistilasi fraksinasi.



Gambar 2. Kromatogram Asap Cair KBK



Gambar 3. Spektrum Asap Cair KBK

Berdasarkan kromatogram dan spektrum asap cair KBK diperoleh kandungan senyawa kimia yang dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Kandungan senyawa dalam Asap Cair KBK

No	Waktu Retensi	% area	Senyawa yang diduga	Massa molekul	Rumus molekul
1	6,25	40,97	Acetic acid	60	C ₂ H ₄ O ₂
2	6,29	6,78	Methyl glyoxal	72	C ₃ H ₄ O ₂
3	6,42	5,94	Pyridine	79	C ₅ H ₅ N
4	6,58	3,54	4-methyl- pyridine	93	C ₆ H ₇ N
5	0,04	1,07	4-[2(methylamino)ethyl]- Phenol	151	C ₉ H ₁₃ NO

Kandungan senyawa dalam asap cair KBK yang diperlihatkan dari analisis GC-MS menunjukkan adanya komponen turunan asam karboksilat, piridin, dan

senyawa fenol yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Komponen senyawa tersebut merupakan hasil dari degradasi lignoselulosa dalam reaktor pirolisis.

Uji Efektivitas Antibakteri Asap Cair

Pengujian efektivitas antibakteri asap cair KBK dilakukan untuk mengetahui konsentrasi yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Pengujian antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode *dilusi* (Astuti, 2015).

Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) merupakan konsentrasi terendah suatu zat antibakteri dalam menghambat

pertumbuhan bakteri dalam waktu inkubasi tertentu. Nilai KHM didapatkan dengan melihat pertumbuhan bakteri pada tabung reaksi dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Bakteri yang tumbuh dan mati dapat diamati dengan melihat selisih absorbansi dari sebelum inkubasi dengan sesudah inkubasi yang disebut dengan perubahan *Optical Density* (ΔOD). Hasil uji KHM untuk bakteri *E.coli* dan bakteri *S.aureus* dapat dilihat pada Tabel 3 dan Tabel 4.

Tabel 3. Hasil uji KHM terhadap bakteri *Escherichia coli*

Konsentrasi LVM (%)	<i>OpticalDensity(OD)</i>		ΔOD
	Sebelum	Sesudah	
5	0,374	0,844	0,47
7	0,375	0,712	0,337
10	0,307	0,322	0,015
15	0,392	0,326	-0,066
K+	0,423	0,34	-0,083
K-	0,463	1,084	0,621

Tabel 4. Hasil uji KHM terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Konsentrasi LVM (%)	<i>OpticalDensity(OD)</i>		ΔOD
	Sebelum	Sesudah	
5	0,415	1,237	0,822
7	0,369	1,036	0,667
10	0,387	0,731	0,344
15	0,414	0,395	-0,019
K+	0,428	0,353	-0,075
K-	0,457	1,481	1,024

Ket: ΔOD = perubahan *OpticalDensity*

K+ = Tetrasiklin 1%

K- = Media NB

Berdasarkan Tabel 3 dan 4, terlihat bahwa tiga konsentrasi LVM yang menunjukkan ΔOD bernilai positif yaitu pada konsentrasi 5, 7 dan 10%. Hal ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi tersebut masih mengalami pertumbuhan bakteri, dengan melihat adanya

peningkatan absorbansi setelah masa inkubasi 24 Jam. Berdasarkan hal tersebut, komponen senyawa pada konsentrasi asap cair KBK 5, 7 dan 10% belum mampu untuk menembus dinding sel pada bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Sedangkan

konsentrasi asap cair KBK 15% diduga sudah dapat menembus dinding sel pada kedua bakteri tersebut dan mampu menekan pertumbuhannya ditandai dengan ΔOD yang bernilai negatif yaitu -0,019. Hal ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi tersebut pertumbuhan bakteri terhambat, yang ditandai dengan terjadinya penurunan ΔOD setelah masa inkubasi.

PENUTUP

Kesimpulan

Pirolisis merupakan metode yang menjanjikan untuk menghasilkan ekstrak senyawa aktif dari limbah lignoselulosa. Asap cair KBK yang diperoleh dari pirolisis pada suhu 385-500°C dengan kecepatan alir pemansan 6°C/menit setelah difiltrasi dan distilasi fraksinasi memiliki TPC sebesar 1,035 g/L. Analisis GC-MS asap cair KBK menunjukkan adanya senyawa: asam asetat, metil glioksal, piridin, 4-metilpiridin, 4-[2(metilamino) etil]-fenol. Hasil analisis konsentrasi hambat minimum (KHM) asap cair KBK terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* didapatkan pada konsentrasi 15%. Studi ini menunjukkan bahwa ekstraksi pirolisis dapat digunakan sebagai teknik untuk memperoleh ekstrak senyawa fenolik dari CPH dan menjanjikan untuk bahan antibakteri yang aman.

Saran

Analisis antibakteri dari asap cair KBK perlu dilanjutkan untuk memperoleh

konsentrasi bunuh minimum (KBM) sehingga dapat diperoleh konsentrasi yang tepat untuk aplikasi antibakteri pada produk pangan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada Direktur Riset Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat, Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi bekerjasama dengan Universitas Halu Oleo (UHO) yang telah mendanai riset ini melalui Program Penelitian Terapan.

DAFTAR PUSTAKA

- Astuti, H. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Dan Ekstrak Air Daun Bandotan (*Ageratum conyzoides*, L.) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Majalah Farmaseutik, **11**(1) : 290-293.
- Badan Pusat Statistik (BPS) Sultra, 2016. *Potensi Kakao di Sulawesi Tenggara*.<http://regionalinvestment.bkpm.go.id> (diakses pada 27 April 2016).
- Chen, H. 2015. *Chemical composition and structure of natural lignocellulosic Lignocellulose Biorefinery Engineering*. Woodhead Publishing, Cambridge.
- Darmadji, P. 2002. Optimasi pemurnian asap cair dengan metode redistilasi. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, **8**(3): 267-271.
- Dewi, F.I., Wahyunitisari, M.R. 2018. Aktivitas Daya Hambat Ekstrak Jahe Merah (*Zingiber officinale* var *Rubrum*) Terhadap Pertumbuhan Kuman *Staphylococcus Aureus*. *Journal of Vocational Health Studies*, **1**: 113–116.
- Haji, A.G. 2013. Komponen Kimia Asap Cair Hasil Pirolisis

- Limbah Padat Kelapa Sawit. *Jurnal Rekayasa Kimia dan Lingkungan*. **9**(3) :109 – 116, ISSN 1412-5064
- Hendriks, A.T.W.M.dan Zeeman, G.2009. Pre-treatment to Enhance the Digestibility of Lignocellulose Biomass, *Biores Tech.*,**8**: 10-18.
- Hidayat, T., and Qomaruddin. 2015. Analisa Pengaruh Temperatur Pirolisis dan Bahan Biomassa Terhadap Kapasitas Hasil pada Alat Pembuat Asap Cair. *Prosiding SNS ke-6 Tahun*, Fakultas Teknik, Universitas Wahid Hasyim, Semarang. pp 29-34.
- Ifa, L., Setiawati, Y., Mandasini, Zakir, S., Nurjannah, dan Andi, R. 2018. Production of Phenol From Liquid Smoke Resulted by the Pyrolysis of Cashew Nut Shells, *Earth and Env. Sci.*, 175, 1-5.doi:10.1088/1755-1315/175/1/012033.
- Ma, Z., Sun, Q., Ye, J., Yao, Q. and Zhao, C. 2016. Study on the thermal degradation behaviors and kinetics of alkali lignin for Production of phenolic-rich bio-oil using TGA-FTIR and Py-GC/MS Journal of Analytical and Applied Pyrolysis, **117** : 116–124.
- Mashuni, Jahiding M., Kurniasih, and Zulkaidah. 2017. Characterization of Preservative and Pesticide as Potential of Bio Oil Compound from Pyrolysis of Cocoa Shell Using Gas Chromatograph, *International Conference on Chemistry, Chemical Process and Engineering* 1823(1), 1-8.doi: 10.1063/1.4978081.
- Mashuni, Kadidae, L.O., Lewi, M., Yanti, N. A., Jahiding, M. and Hamid, F.H. 2019. The Chemical Compounds Analysis of Bio-oil and Char from Cocoa Pod Husks Waste Pyrolysis by GC-MS/FTIR and its Potential as Biofungicide. Proceeding ICOST, DOI 10.4108/eai.2-5-2019.2284694.
- Mashuni, Yanti, N.A., Jahiding, M. and Muhamad, E. 2017. Validation of UV-Vis Spectrophotometric Method for Determination of Bio oil Total Phenolic Content from Pyrolysis of Cashew Nut Shell, *RJPBC*,**8** (3) : 1745-1752.
- Pallawagau, M.,Yanti, N.A., Jahiding, M., Kadidae, L.O., Asis, W.A. and Hamid, F.H. 2019. Penentuan Kandungan Fenolik Total *Liquid Volatile Matter* dari Pirolisis Kulit Buah Kakao dan Uji Aktivitas Antifungi terhadap *Fusarium oxysporum*. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, ISSN 1412-4092, e ISSN 2443-4183.
- Purnamawati, H. and Budi, U. 2014. Pemanfaatan Limbah Kulit Buah kakao (*Theobroma cocoa L.*) Sebagai Absorben Zat Warna Rhodamin B. *Seminar Nasional Fisika dan Pendidikan Fisika*,**5**(1) : 12-18.
- Rachmawaty, Mu'nisa, A., Hasri, Halifah P., Hartati, and Zulkifli, M. 2018. Active Compounds Extraction of Cocoa Pod Husk (*Thebroma Cacao L.*) and Potential as Fungicides. *Journal of Physics* 1028, 1-8. doi :10.1088/1742-6596/1028/1/012013.
- Vogel's. 1989. Quantitative Chemical Analysis, 5th ed. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Xu, F.,Wang, B., Yang, D.,Hao, J.,Qiao, Y. and Tian, Y. 2018. Thermal degradation of typical plastics under high heating rate conditions by TG-FTIR: Pyrolysis behaviors and kinetic analysis. *Energy Convers. Manag.*, 171 (4): 1106–1115.