

**EFEKTIVITAS EKSTRAK BIJI KOPI ROBUSTA (*Coffea canephora*)
TERHADAP PERTUMBUHAN *Candida albicans* SECARA IN VITRO**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



Oleh:

Cyntia Putri Widyasari

NIM 155070100111023

**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

MALANG

2018

**EFEKTIVITAS EKSTRAK BIJI KOPI ROBUSTA (*Coffea canephora*)
TERHADAP PERTUMBUHAN *Candida albicans* SECARA IN VITRO**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



Oleh:

**Cyntia Putri Widyasari
NIM 155070100111023**

**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

MALANG

2018

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Cyntia Putri Widyasari

NIM : 155070100111023

Program Studi : Sarjana Kedokteran Fakultas Kedokteran

Universitas Brawijaya

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini adalah hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya sendiri.

Apabila di kemudian hari dapat dibuktikan bahwa Tugas Akhir ini adalah hasil plagiat, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, Desember 2018

Yang membuat pernyataan,

(Cyntia Putri Widyasari)

NIM. 155070100111023

KATA PENGANTAR

Segala puji hanya bagi Allah SWT yang telah memberi petunjuk dan hidayah-Nya sehingga kami dapat menyelesaikan Tugas Akhir dengan judul

“Efektivitas Ekstrak Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* Secara *In Vitro*”. Dengan selesainya Tugas Akhir

ini, kami ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. **Dr. dr. Sri Andarini, M.Kes** selaku dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
2. **dr. Triwahju Astuti, M.Kes, Sp.P(K)** selaku Ketua Program Studi Sarjana Kedokteran Universitas Brawijaya.
3. **Dr. dr. Wisnu Barlianto, M.Si.Med, Sp.A (K)** selaku penguji yang telah meluangkan waktu untuk menguji serta memberi masukan dan koreksi kepada kami.
4. **dr. Dewi Erikawati, M.Si** selaku pembimbing I yang dengan sabar selalu memberikan bimbingan, bantuan serta masukan kepada kami. Semoga Allah SWT senantiasa memberikan perlindungan serta kesehatan kepada dr. Dewi beserta keluarga.
5. **dr. Elly Mayangsari, M.Biomed** selaku pembimbing II yang dengan sabar memberikan bimbingan serta masukan kepada kami. Semoga Allah SWT senantiasa memberikan perlindungan serta kesehatan kepada dr. Elly beserta keluarga.
6. Segenap anggota **Tim Tugas Akhir** yang telah mengelola dan membantu seluruh mahasiswa dalam pengerjaan Tugas Akhir.

7. Segenap analis dan pengelola laboratorium Mikrobiologi **Ibu Uci, Bapak Slamet, Bapak Ali, Mbak Mega, Mas Andri dan Mbak Fitri** yang telah sangat banyak membantu serta mengarahkan kami dalam pengerjaan penelitian kami.

8. Kedua orangtua yang saya cintai, **Suyoto dan Lies Widayati** yang selalu mendukung serta mendoakan dan memberi semangat tanpa putus, memberi saran serta menenangkan kami. Semoga ayah dan mama selalu diberi kesehatan dan perlindungan oleh Allah SWT.

9. Kedua kakak yang saya sayangi, **Adde Bagus Suwidya dan Bagus Putra Wiratama** yang selalu memberi semangat dan memberi dorongan untuk segera menyelesaikan Tugas Akhir ini.

10. **Adinda, Arika, Dea, Khairunnisa, Sheila, dan Putry** yang selalu memberi semangat dan dukungan. Semoga kita bisa menyelesaikan pendidikan dengan baik dan semoga pertemanan kita tetap terjaga serta membawa kebaikan untuk kita.

11. **Arika, Khairunnisa dan Nurul** yang telah berjuang bersama. Terima kasih sudah selalu menjadi pengingat dan penyemangat. Semoga pertemanan kita bisa selalu terjaga dan semangat dengan apapun jalan yang akan kita tempuh kedepannya.

12. **Mas Nando, Mbak Laras, Mbak Bunga, Koko Benny dan Mas Fajar** sebagai senior yang tidak pernah lelah memberi arahan dan semangat. Semoga selalu dilancarkan segala urusannya dan semakin sukses.

13. **Medical Division** serta **PDA 2015** yang telah berjuang bersama. Semangat menjalani pendidikan kedepannya.

14. Semua pihak yang terlibat dalam proses penelitian serta penulisan Tugas

Akhir kami yang tidak bisa disebutkan satu persatu.

Kami menyadari bahwa Tugas Akhir ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu kami membuka diri untuk segala saran dan kritik. Semoga Tugas Akhir ini bisa bermanfaat.

Malang, Desember 2018

Cyntia Putri Widyasari
NIM. 155070100111023



ABSTRAK

Widyasari, Cyntia Putri. 2018. **Efektivitas Ekstrak Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* Secara *In Vitro***. Tugas akhir, Program Studi S1 Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) dr. Dewi Erikawati, M.Si. (2) dr. Elly Mayangsari, M.Biomed.

Jamur banyak menimbulkan berbagai penyakit infeksi pada manusia. Pertumbuhan jamur didukung oleh pola hidup yang kurang sehat dan didukung iklim tropis dengan kelembaban udara tinggi di Indonesia. *Candida albicans* adalah suatu jamur uniseluler yang merupakan flora normal rongga mulut, usus besar dan vagina. Kandidiasis merupakan salah satu kasus infeksi jamur yang paling sering terjadi pada manusia. Penyakit kandidiasis tergolong infeksi oportunistik. Sebagian besar sediaan antijamur sintesis memiliki berbagai keterbasatan. Oleh karena itu, perlu dicari alternatif pengobatan lain yang lebih aman seperti biji kopi karena mengandung senyawa nonvolatile. Tujuan penelitian ini yaitu untuk membuktikan bahwa ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*) memiliki efek antijamur terhadap *Candida albicans* secara *in vitro* dengan metode dilusi agar. Metode dilusi agar adalah dengan mengukur Kadar Hambat Minimum (KHM) pada *plate* dengan konsentrasi ekstrak yang berbeda-beda yaitu 0% sebagai kontrol negatif, 0,5%; 1%; 1,5% dan 2%. Dari hasil penelitian yang dilakukan, Kadar Hambat Minimum (KHM) dari ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*) sebagai antijamur terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans* adalah konsentrasi 1,5%. Sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*) memiliki efek antijamur terhadap *Candida albicans* secara *in vitro*.

Kata Kunci: *Candida albicans*, biji kopi robusta (*Coffea canephora*), antijamur, metode dilusi agar.

ABSTRACT

Widyasari, Cyntia Putri. 2018. **Effectivity of Robusta Coffee Beans (*Coffea canephora*) Extract On The Growth of *Candida albicans* in vitro.**

Final Assignment, Medical Program, Faculty of Medicine Brawijaya University. Advisors: (1) dr. Dewi Erikawati, M.Si. (2) dr. Elly Mayangsari, M.Biomed.

Fungi cause many infectious diseases in humans. Fungi growth is supported by an unhealthy lifestyle and is supported by a tropical climate with high air humidity in Indonesia. *Candida albicans* is an unicellular fungus which is the normal flora of the oral cavity, large intestine and vagina. Candidiasis is one of the most common cases of fungal infections in humans. Candidiasis is classified as an opportunistic infection. Most synthetic antifungal preparations have various limitations. Therefore, it is necessary to look for other treatment alternatives that are safer such as coffee beans because they contain nonvolatile compounds. The purpose of this study is to prove that Robusta coffee extract (*Coffea canephora*) has an antifungal effect on *Candida albicans* in vitro with agar dilution method. The agar dilution method is to measure the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) on a plate with different extract concentrations, which is 0% as a negative control; 0.5%; 1%; 1.5% and 2%. From the results of the research conducted, the Minimum Inhibition Concentration (MIC) of Robusta coffee extract (*Coffea canephora*) as an antifungal against the growth of fungi *Candida albicans* was a concentration of 1.5%. So it can be concluded that the extract of Robusta coffee beans (*Coffea canephora*) has an antifungal effect on *Candida albicans* in vitro.

Keywords: *Candida albicans*, Robusta coffee beans (*Coffea canephora*), antifungal, agar dilution method.

DAFTAR ISI

Judul	i
Halaman Pengesahan	ii
Pernyataan Keaslian Tulisan	iii
Kata Pengantar	iv
Abstrak	vii
Abstract	viii
Daftar Isi	ix
Daftar Gambar	xiii
Daftar Tabel	xiv
Daftar Lampiran	xv
Daftar Singkatan	xvi

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan Umum	4
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.4.1 Manfaat Umum	5
1.4.2 Manfaat Khusus	5

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kopi Robusta (<i>Coffea canephora</i>)	6
2.1.1 Klasifikasi Kopi Robusta	6
2.1.2 Kopi Robusta (<i>Coffea canephora</i>) di Masyarakat	7
2.1.3 Karakteristik dan Morfologi	7
2.1.4 Kandungan Kimiawi Kopi Robusta (<i>Coffea canephora</i>)	8
2.1.4.1 Fenol	8
2.1.4.2 Asam Klorogenat	9
2.1.4.3 Flavonoid	10
2.1.5 Manfaat dan Kegunaan biji kopi robusta (<i>Coffea canephora</i>)	10

2.2	<i>Candida albicans</i>	12
2.2.1	Epidemiologi.....	12
2.2.2	Morfologi.....	12
2.2.3	Faktor Virulensi.....	13
2.2.4	Manifestasi Klinis.....	15
2.3	Uji Kepekaan Kuman terhadap Antimikroba.....	19
2.3.1	Dilusi Agar.....	19
2.3.1.1	Metode Difusi Sumuran.....	20
2.3.1.2	Metode Difusi Cakram.....	20
2.3.2	Metode Dilusi Cair atau Padat.....	21
2.4	Tinjauan Antijamur.....	22
2.4.1	Mekanisme Kerja Antijamur.....	22
2.4.2	Mekanisme Resistensi Antijamur.....	23

BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1	Kerangka Konsep Penelitian.....	24
3.2	Hipotesis Penelitian.....	25

BAB 4. METODOLOGI PENELITIAN

4.1	Desain Penelitian.....	26
4.2	Sampel Penelitian.....	26
4.2.1	Jumlah Sampel.....	26
4.2.2	Jumlah Pengulangan.....	27
4.3	Lokasi dan Waktu Penelitian.....	27
4.3.1	Lokasi Penelitian.....	27
4.3.2	Waktu Penelitian.....	28
4.4	Variabel Penelitian.....	28
4.4.1	Variabel Bebas.....	28
4.4.2	Variabel Tergantung.....	28
4.5	Definisi Operasional.....	28
4.6	Alat dan Bahan.....	29
4.6.1	Alat.....	29
4.6.1.1	Pembuatan Ekstrak.....	29
4.6.1.2	Pewarnaan Gram.....	30

4.6.1.3 Uji Vitek II	31
4.6.1.4 Pembuatan Suspensi Jamur.....	31
4.6.1.5 Dilusi Agar	31
4.6.2 Bahan	31
4.6.2.1 Pembuatan Ekstrak.....	31
4.6.2.2 Penanaman di Media SDA.....	32
4.6.2.3 Pewarnaan Gram	32
4.6.2.4 Pewarnaan KOH	32
4.6.2.5 Suspensi Jamur	32
4.7 Prosedur Penelitian.....	32
4.7.1 Persiapan Biji Kopi Robusta	32
4.7.1.1 Proses Ekstraksi	32
4.7.2 Identifikasi <i>Candida albicans</i>	33
4.7.2.1 Pewarnaan Gram	33
4.7.2.2 Pewarnaan KOH	34
4.7.2.3 Uji Vitek II	34
4.7.3 Pembuatan Suspensi Uji <i>Candida albicans</i>	36
4.7.4 Metode Pengujian Efek Antimikroba (Tes Dilusi Agar)	36
4.8 Alur Kerja Penelitian.....	38
4.9 Analisa Statistik.....	39
4.10 Jadwal Kegiatan.....	40

BAB 5. HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Penelitian	41
5.1.1 Hasil Ekstrak Biji Kopi Robusta.....	41
5.1.2 Identifikasi <i>Candida albicans</i>	41
5.1.2.1 Pewarnaan Gram	42
5.1.2.2 Pewarnaan KOH.....	42
5.1.2.3 Penanaman Pada Media SDA	43
5.1.2 Hasil Pendahuluan Menggunakan Metode Dilusi Agar	43
5.1.3 Hasil Inti Menggunakan Metode Dilusi Agar	47
5.2 Hasil Analisis Data.....	50

BAB 6. PEMBAHASAN

6.1 Pembahasan Penelitian	54
---------------------------------	----

BAB 7. PENUTUP

7.1 Kesimpulan	59
----------------------	----

7.2 Saran	59
-----------------	----

DAFTAR PUSTAKA	60
-----------------------------	----

LAMPIRAN	65
-----------------------	----



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Buah Kopi Robusta.....	6
Gambar 2.2 Pewarnaan gram <i>Candida albicans</i>	13
Gambar 3.1 Kerangka Konsep.....	24
Gambar 5.1 Ekstrak Biji Kopi Robusta	41
Gambar 5.2 Jamur <i>Candida albicans</i> pada pengecatan Gram dengan perbesaran 400x.....	42
Gambar 5.3 Identifikasi <i>Candida albicans</i> dengan pewarnaan KOH.....	42
Gambar 5.4 <i>Candida albicans</i> pada SDA	43
Gambar 5.5 Hasil Penelitian Pendahuluan	45
Gambar 5.6 Hasil Penelitian Pendahuluan (Perapatan).....	46
Gambar 5.7 Hasil Penelitian Inti Dilusi Agar ekstrak biji kopi robusta (<i>Coffea canephora</i>).....	47

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1	Tabel Jadwal Kegiatan	40
Tabel 5.1	Pertumbuhan Koloni Jamur <i>Candida albicans</i> dalam Berbagai Konsentrasi Ekstrak Biji Kopi Robusta (<i>Coffea canephora</i>)	49
Tabel 5.2	Hasil Uji <i>Mann-Whitney</i> signifikansi dalam beberapa konsentrasi Ekstrak Biji Kopi Robusta (<i>Coffea canephora</i>)	53



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Determinasi Biji Kopi Robusta.....	65
Lampiran 2 Hasil Uji Vitek II.....	66
Lampiran 3 Uji Statistik.....	67



DAFTAR SINGKATAN

C	: <i>Celcius</i>
CFU	: <i>Colony Forming Unit</i>
H_0	: Hipotesis 0
H_1	: Hipotesis 1
KBM	: Kadar Bunuh Minimum
KHM	: Kadar Hambat Minimum
ml	: mililiter
mm	: milimeter
R	: koefisien korelasi
SDA	: <i>Saburoud Dextrose Agar</i>
SPSS	: <i>Statistical Product of Service Solution</i>
UPT	: Unit Pelaksana Teknis

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Jamur banyak menimbulkan berbagai penyakit infeksi pada manusia. Pertumbuhan jamur didukung oleh pola hidup yang kurang sehat dan didukung iklim tropis dengan kelembaban udara tinggi di Indonesia. *Candida albicans* adalah suatu jamur uniseluler yang merupakan flora normal rongga mulut, usus besar dan vagina. Dalam kondisi tertentu, *Candida albicans* dapat tumbuh berlebih dan melakukan invasi sehingga menyebabkan penyakit sistemik progresif pada penderita yang cenderung lemah atau mengalami penekanan kekebalan (Pratiwi, 2008). *Candida albicans* dapat menyebabkan keputihan, sariawan, infeksi kulit, infeksi kuku, infeksi paru-paru dan organ lain serta kandidiasis mukokutan menahun (Tortora, 2004).

Kandidiasis merupakan salah satu kasus infeksi jamur yang paling sering terjadi pada manusia. Penyakit kandidiasis tergolong infeksi oportunistik yang disebabkan oleh pertumbuhan jamur genus *Candida* yang berlebihan, 70% dari infeksi *Candida sp.* disebabkan oleh *Candida albicans* (Harahap, 2012). Di dalam tubuh manusia, jamur *Candida* mampu hidup sebagai parasit atau saprofit baik di dalam mulut, saluran pernafasan, saluran pencernaan, ataupun vagina (Siregar, 2004).

Sediaan antijamur yang paling sering digunakan untuk mengobati kandidiasis adalah amphoteterisin B, 5-fluorositosin, nistatin, klotrimazol, mikonazol, dan ketokonazol (Siswandoyo dan Soekardjo, 2000). Sebagian besar sediaan antijamur sintesis memiliki berbagai keterbatasan, seperti efek samping yang

besar, penetrasi yang buruk pada jaringan tertentu, dan resistensi terhadap jamur tertentu. Penelitian mengenai obat-obat baru yang menjanjikan perlu dikembangkan, dievaluasi dan diuji secara klinis untuk mengatasi permasalahan yang timbul karena antijamur sintetis (Jawetz, *et al.*, 2007).

Obat topikal yang selama ini digunakan untuk mengobati kandidiasis kulit meliputi Nistatin, Klotrimazol, Mikonazol, dan golongan Azol lainnya. Akan tetapi obat-obat antijamur tersebut memiliki keterbatasan, seperti efek samping yang berat, spektrum antijamur yang sempit, penetrasi yang buruk pada jaringan tertentu, dan munculnya jamur yang resisten (Setyowati, 2013). Oleh karena itu, perlu dicari alternatif pengobatan lain yang lebih aman.

Kopi robusta (*Coffea canephora*) banyak ditanam di Afrika, India dan Indonesia, komoditas kopi robusta di Indonesia sendiri sangat tinggi hingga menguasai pasar nasional, tapi hanya menguasai 30% pasar dunia jika dibandingkan dengan komoditas kopi arabika yang menguasai 70% pasar dunia (Yaqin dan Nurmilawati, 2015). Kopi robusta dan kopi arabika memiliki perbedaan rasa serta aroma, perbedaan pada kedua jenis kopi ini tentu berhubungan dengan komposisi kimia yang ada didalamnya. Ekstrak biji kopi robusta mengandung beberapa zat kimia antara lain *chlorogenic acid* (CGA), kafein, flavonoid, fenol dan *trigonelline* (Luo, *et al.*, 2011).

Asam klorogenat merupakan senyawa aktif yang dibuktikan mampu menghambat mikroba gram positif maupun negatif. Asam klorogenat meningkatkan permeabilitas membran luar dan membran plasma secara signifikan, yang menyebabkan menurunnya fungsi pertahanan serta kebocoran dari nukleotida (Luo, *et al.*, 2011) Disebutkan pada penelitian Maheswari, *et al.*, 2011 dengan konsentrasi asam klorogenat yang sedikit, ekstrak biji kopi robusta

mampu menghambat pertumbuhan koloni bakteri plak mulai dari konsentrasi terkecil yaitu 1,56 %. Sedangkan kafein disebutkan memiliki sifat fungistatik terhadap *Candida albicans* dengan kadar hambar minimum 12,5 mM (Raut, *et al.*, 2013).

Senyawa flavonoid berperan sebagai antifungi (Wiryowidagdo, 2008). Selain itu, flavonoid berperan sebagai antivirus, antibakteri, antiradang, dan antialergi. Sebagai antifungi, flavonoid berfungsi menghambat pembelahan atau proliferasi sel. Senyawa ini mengikat protein mikrotubulus dalam sel dan mengganggu fungsi mitosis gelendong sehingga menimbulkan penghambatan pertumbuhan jamur. Flavonoid menunjukkan toksisitas rendah pada mamalia sehingga beberapa flavonoid digunakan sebagai obat bagi manusia (Siswandono dan Soekardjo, 2000).

Pengaruh senyawa fenol terhadap *Candida albicans* adalah mendenaturasi ikatan protein pada membran sel sehingga membran sel lisis dan mungkin fenol dapat menembus ke dalam inti sel. Masuknya fenol ke dalam inti sel inilah yang menyebabkan jamur tidak berkembang (Sulistyawati & Mulyati, 2009). Sedangkan *trigonelline* pada beberapa penelitian lebih banyak efeknya sebagai antibakteri seperti hasil penelitian Nuhu, *et al.*, 2013 yang menyebutkan bahwa *trigonelline* yang terkandung pada ekstrak biji kopi robusta berkorelasi positif terhadap penurunan formasi *biofilm* oleh *Streptococcus mutans* melalui aksi bakteriostatiknya.

Penelitian tentang efektivitas ekstrak biji kopi robusta terhadap pertumbuhan *Candida albicans* ini perlu dilakukan guna mengetahui Kadar Hambat Minimum (KHM) ekstrak biji kopi robusta dalam menghambat *Candida albicans*. Pentingnya penelitian ini juga didukung oleh belum adanya publikasi

tentang efektivitas ekstrak biji kopi robusta sebagai antijamur khususnya jamur *Candida albicans*. Beberapa sumber menunjukkan penelitian mengenai efektivitas ekstrak biji kopi robusta sebagai antibakteri atau efektivitas dari bagian lain kopi robusta selain bijinya sebagai antijamur. Sehingga atas dasar latar belakang tersebut maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang efektivitas ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*) terhadap *Candida albicans* secara *in vitro*.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*) berpotensi sebagai antijamur terhadap *Candida albicans* secara *in vitro*?

1.3 Tujuan

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui efek ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*) terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans*.

1.3.2 Tujuan Khusus

Untuk mengetahui Kadar Hambat Minimum (KHM) ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*) yang dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans*.

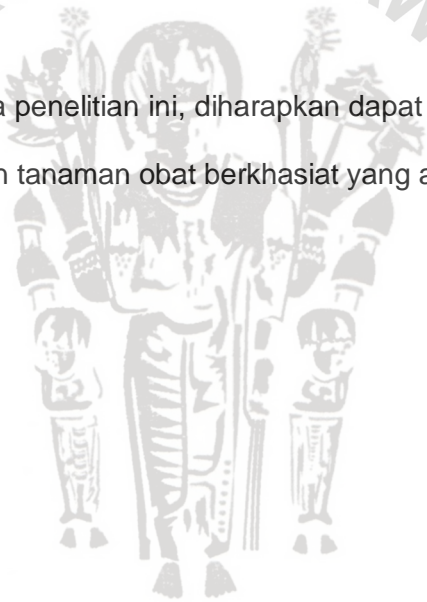
1.4 Manfaat

1.4.1 Manfaat Umum

1. Mendapatkan informasi baru terkait studi efek antijamur terhadap *Candida albicans*
2. Mengembangkan ilmu pengetahuan dalam bidang kesehatan mengenai penggunaan bahan alam sebagai bahan antijamur.

1.4.2 Manfaat Khusus

1. Memberi informasi kepada masyarakat tentang penggunaan ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*) sebagai terapi alternatif infeksi *Candida albicans*
2. Dengan adanya penelitian ini, diharapkan dapat mengembangkan potensi pendayagunaan tanaman obat berkhasiat yang ada di Indonesia.



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kopi Robusta (*Coffea canephora*)

2.1.1 Klasifikasi Kopi Robusta

Berikut adalah klasifikasi kopi robusta (Rahardjo, 2012):

Kingdom : *Plantae*
Subkingdom : *Tracheobionta*
Class : *Magnoliopsida*
Ordo : *Rubiales*
Family : *Rubiaceae*
Genus : *Coffea L.*
Species : *Coffea canephora*



Gambar 2.1 Buah Kopi Robusta (*Coffea canephora*) (Panggabean, 2011)

2.1.2 Kopi Robusta (*Coffea canephora*) di Masyarakat

Kopi Robusta (*Coffea canephora*) yang banyak ditanam di Afrika, India dan Indonesia terkenal memiliki banyak manfaat di bidang kesehatan. Biji tumbuhan dari kopi robusta mengandung asam klorogenat yang memiliki potensi sebagai antibakteri, antijamur, antiviral, antioksidan, dan aktivitas biologis lainnya (Karunanidhi *et al.*, 2012). Selain di bidang kesehatan, pada bidang perekonomian, Indonesia dikenal sebagai produsen dan eksportir kopi terbesar kedua setelah Vietnam. Hasil proyeksi produksi kopi di tahun 2020 mencapai 692.906 ton. Lebih dari 80% dari luas areal pertanaman kopi Indonesia saat ini merupakan jenis kopi Robusta (PDSIP, 2016).

2.1.3 Karakteristik dan Morfologi

Coffea canephora saat ini lebih dikenal dengan nama *Coffea robusta* atau kopi robusta. *Coffea canephora* merupakan nama asli kopi robusta. Penamaan Kopi robusta menjadi sangat populer sehingga para pedagang masih menggunakan namanya dengan tidak mengetahui nama asli kopi tersebut bahkan sampai hari ini. Tanaman ini memiliki akar dangkal dan tumbuhan semak sampai sekitar 10 m tingginya. Tanaman ini berbunga, membutuhkan waktu kurang lebih 10 hingga 11 bulan untuk proses pematangan pada biji kopi, yang akan menghasilkan biji-bijian berbentuk oval (Fattouch *et al.*, 2007).

Kopi Robusta memiliki perbedaan diantaranya iklim pertumbuhan, bentuk fisik, serta komposisi kimia didalamnya (Dagoon, 2005). Pada daerah seperti Afrika dan Asia, dengan keadaan yang lembab, pertumbuhan kopi arabika tidak berkembang dengan baik, berbeda dengan kopi robusta. Golongan asam pada kopi seperti asam klorogenat, asam amino, dan asam organik, akan mempengaruhi aroma dan rasa yang khas pada kopi tersebut. Asam yang

dominan pada biji kopi adalah asam klorogenat yaitu sekitar 8 % pada biji kopi atau 4,5 % pada kopi sangrai (Farah, 2012).

2.1.4 Kandungan Kimiawi Kopi Robusta (*Coffea canephora*)

2.1.4.1 Fenol

Senyawa yang kandungannya menduduki peringkat terendah dari biji kopi robusta (*Coffea canephora*) ialah fenol. Fenol didefinisikan secara kimia sebagai

adanya paling tidak satu cincin aromatik yang membawa satu (fenol) atau lebih (polifenol) gugus hidroksil. Polifenol adalah kelompok zat kimia yang ditemukan

pada tumbuhan. Zat ini memiliki tanda khas yakni memiliki banyak gugus fenol dalam molekulnya. Turunan polifenol sebagai antioksidan dapat menstabilkan

radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas.

Mekanisme senyawa polifenol sebagai antioksidan adalah dengan mendonorkan hidrogen dari gugus hidroksilnya. Mekanisme antimikroba senyawa fenolik adalah

mengganggu kerja di dalam membrane sitoplasma termasuk diantaranya adalah mengganggu transport aktif dan kekuatan proton (Hattenschwiler, 2000). Sebagai

antijamur fenol dapat merusak membran sel sehingga terjadi perubahan permeabilitas sel yang dapat mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel atau

matinya sel jamur (Shahzad, *et al.*, 2014). Senyawa fenol juga dapat mendenaturasi protein sel dan mengerutkan dinding sel sehingga dapat melisiskan

dinding sel jamur (Shu, 2016). Selain itu senyawa fenol dapat berdifusi pada membran sel jamur dan mengganggu jalur metabolik seperti sintesis ergosterol,

glukan, kitin, protein, dan glukosamin di jamur. Senyawa fenol akan berikatan dengan ergosterol yang merupakan penyusun membran sel jamur sehingga

menyebabkan terbentuknya suatu pori pada membran sel. Terbentuknya pori

tersebut menyebabkan komponen sel jamur seperti asam amino, asam karboksilat, fosfat anorganik dan ester fosfat keluar dari sel hingga menyebabkan kematian sel jamur.

2.1.4.2 Asam Klorogenat

Asam klorogenat adalah senyawa alami polifenol yang umum terdapat pada bahan tanaman seperti apel, biji kopi, anggur, dan daun teh (Fattouch *et al.*, 2007). Asam klorogenat adalah suatu senyawa yang termasuk kedalam komponen fenolik, mempunyai sifat yang larut dalam air. Biji kopi hijau robusta paling banyak mengandung asam klorogenat dibandingkan dengan biji kopi lainnya. Dengan dilakukannya proses penyangraian, asam klorogenat dapat terurai menjadi derivat fenol dan dapat menyebabkan nilai kandungannya menjadi berkurang di dalam biji kopi tersebut (Farhaty dan Muchtaridi, 2017).

Asam klorogenat memiliki banyak manfaat kesehatan termasuk antibakteri, antijamur, antiviral, antioksidan, dan aktivitas biologis lainnya (Karunanidhi *et al.*, 2012). Secara *in vitro* terlihat reaksi aktivitas antimikroba baik pada bakteri patogen gram positif maupun gram negatif (Ayaz *et al.*, 2008). Antibiotik klasik menargetkan reaksi spesifik, sedangkan antimikroba alami seperti polifenol tanaman menghambat beberapa biomolekul sehingga menginhibisi pelekatan bakteri. Salah satu aksi mekanisme pada senyawa ini adalah meningkatkan permeabilitas plasma membran bagian luar, yang menyebabkan hilangnya fungsi perlindungan pada sel mikroba. Kebocoran sitoplasma pada mikroba dapat diamati oleh mikroskop elektron. Asam klorogenat terikat pada membran luar, mengganggu membran dan merusak makromolekul pada sitoplasma, yang menyebabkan kematian sel (Luo *et al.*, 2011).

2.1.4.3 Flavonoid

Salah satu kadar kandungan yang tertinggi dari biji kopi robusta (*Coffea canephora*), khususnya pada bagian kulit adalah senyawa flavonoid. Senyawa flavonoid merupakan senyawa polifenol yang mengandung 15 atom karbon, terdiri dari dua cincin benzena yang dihubungkan menjadi satu oleh rantai linier yang terdiri dari tiga atom karbon. Senyawa-senyawa flavonoid adalah senyawa 1,3 diaril propane, senyawa isoflavonoid adalah senyawa 1,2 diaril propane, sedangkan senyawa-senyawa neoflavonoid adalah 1,1 diaril propana (Doloksaribu, 2011). Senyawa fenol biasanya terdapat dalam berbagai jenis sayuran, buah-buahan dan tanaman. Turunan senyawa fenol merupakan metabolit sekunder terbesar yang diproduksi oleh tanaman. Senyawa ini diproduksi dalam tanaman melalui jalur sikimat dan metabolisme fenil propanoid. Senyawa fenol dapat memiliki aktivitas antioksidan, antitumor, antiviral, dan antibiotik. Flavonoid terbagi menjadi 7 kelompok, yaitu antosianin, proantosianin, isoflavon, flavonon, flavonol, flavanol, dan flavon. Flavonoid memiliki aktivitas antioksidan di dalam tubuh sehingga disebut bioflavonoid (Apak, *et al.*, 2007). Flavonoid mampu membentuk kompleks dengan protein membran dan merusak membran sel dengan cara mendenaturasi ikatan protein pada membran sel, sehingga membran sel menjadi lisis dan menembus ke dalam inti sel menyebabkan jamur tidak berkembang (Sulistiyawati, *et al.*, 2009).

2.1.5 Manfaat dan Kegunaan biji kopi robusta (*Coffea canephora*)

Menurut Dr. J. Murdoch Ritchie dalam "The Pharmacological Basis of Therapeutic", kafein yang terkandung dalam 1-2 cangkir kopi dapat meningkatkan detak jantung, menambah kecepatan berpikir dan inspirasi, menyembuhkan rasa kantuk dan kelelahan, peningkatan sensor stimulli dan reaksi motorik, mendorong

aliran sekresi cairan maupun sekresi padat dari dalam tubuh, sehingga badan terasa lebih segar (Ramanaviciene *et al.*, 2003).

Dalam jumlah yang wajar kafein dapat membantu pikiran, pekerjaan dan pergaulan. Jumlah yang tepat berbeda untuk setiap orang dan efek kafein pada tiap orang berbeda. Secara umum mengkonsumsi 2 sampai 4 cangkir kopi setiap hari memiliki banyak manfaat bagi kesehatan. Kafein banyak memiliki manfaat dan telah banyak digunakan dalam bidang obat-obatan dalam dunia medis. Kafein berfungsi untuk merangsang aktivitas susunan saraf dan meningkatkan kerja jantung sehingga jika dikonsumsi dalam jumlah berlebihan akan bersifat racun dengan menghambat mekanisme susunan saraf manusia. Kafein didalam kopi Robusta komposisinya 1,6-2,4%, memiliki peran penting dalam pengembangan pertahanan tubuh melawan bakteri dengan meningkatkan konsentrasi beberapa sel imunokompeten dan memperkuat aktivitas lisozim. Kandungan asam klorogenik dan asam kafein yang merupakan asam organik non-volatil mampu mencegah pertumbuhan bakteri Gram positif dan negatif, senyawa antibakteri tersebut bekerja dengan cara masuk ke dalam sel dan merusak struktur dinding sel bakteri (Ramanaviciene *et al.*, 2003). Sistem kekebalan tubuh yang kuat merupakan suatu keharusan untuk menjaga kesehatan dan mencegah timbulnya penyakit. Fenol juga dapat meningkatkan sirkulasi darah dan meningkatkan kesehatan jantung sehingga menurunkan risiko penyakit jantung dan penyakit kardiovaskular (Prindle *et al.*, 2000).

2.2 *Candida albicans*

2.2.1 Epidemiologi

C. albicans merupakan flora normal pada saluran pencernaan, saluran pernafasan, vagina, uretra, selaput mukosa, kulit dan dibawah jari-jari kuku tangan dan kaki. *C. albicans* sebagai spesies ragi yang dominan di dalam rongga mulut dan merupakan suatu mikroorganisme yang pleomorfik dengan bentuk pertumbuhan yang berbeda, yaitu berbentuk ragi (blastospora), hifa atau pseudohifa dan klamidospora. *C. albicans* merupakan organisme komensalisme dan merupakan bagian dari flora normal rongga mulut. Sifat komensal ini dapat menjadi patogen bila terdapat faktor predisposisi yang dapat berasal dari faktor endogen maupun eksogen (Johnson, 2005).

2.2.2 Morfologi

C. albicans memiliki karakteristik berbentuk bulat telur (ovoid) atau sferis dengan diameter 3-5 μm dan dapat memproduksi pseudohifa. Spesies *C. albicans* memiliki dua jenis morfologi, yaitu berbentuk khamir dan berbentuk hifa. Fenotipe dari mikroorganisme ini dapat berubah warna dari berwarna putih dan rata menjadi kerut tidak beraturan, berbentuk bintang, lingkaran dan tidak tembus cahaya. *C. albicans* merupakan jamur dimorfik karena memiliki kemampuan untuk tumbuh dalam dua bentuk yang berbeda yaitu sebagai sel tunas yang akan berkembang menjadi blastospora dan pseudohifa (Simatupang, 2009).

Klasifikasi *Candida albicans* adalah:

Divisi : Eurycophyta

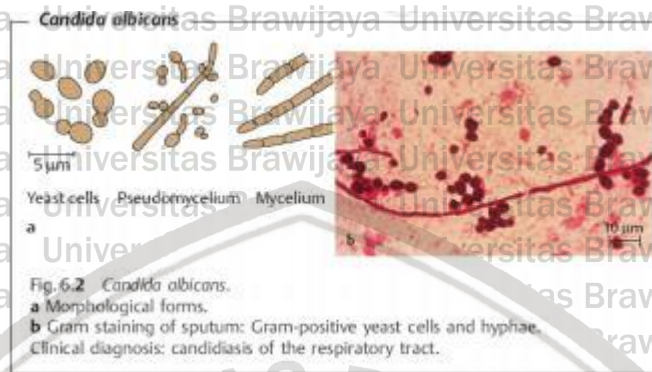
Kelas : Deuteromycetes

Ordo : Cryptococcaceae

Famili : Candidoidea

Genus : *Candida*

Spesies : *Candida albicans* (Simatupang, 2009)



Gambar 2.2 Pewarnaan gram *Candida albicans* (Jawetz, et al., 2007)

2.2.3 Faktor Virulensi

Selain penurunan faktor pertahanan *host*, faktor virulen juga bertanggung jawab menyebabkan suatu penyakit. Faktor virulen *Candida albicans* terdiri dari *phenotypic switching*, dimorfisme morfologi, adhesi, sekresi enzim hidrolitik dan lainnya.

1. *Phenotypic Switching*

Phenotypic Switching merupakan bagian yang sangat penting pada jamur untuk beradaptasi terhadap perubahan lingkungan selama invasi pada *host*.

Kemampuan untuk menginfeksi beberapa jaringan sangat penting dalam keberhasilan invasi dan penyebaran pada *host*. Kadang-kadang beberapa subpopulasi sel *Candida albicans* dapat berubah secara morfologi hingga metabolisme untuk menjadi lebih virulen dan lebih efektif selama infeksi. Proses *phenotypic switching* secara molekuler, karena *rearrangement* kromosom dan regulasi gen SIR2 (*Silent Information Regulator*) dalam proses ini. *Phenotypic switching* kemungkinan besar merupakan sinyal proses perubahan beberapa sifat molekuler dan biokimia pada pathogen, yang berguna untuk pertahanan hidup jamur dalam organisme *host* (Kuleta, et al., 2009).

2. Dimorfisme Morfologi

Kemampuan untuk berubah bentuk antara sel *yeast* uniseluler dengan sel berbentuk filamen yang disebut hifa dan pseudohifa dikenal sebagai dimorfisme morfologi. Transisi diantara bentuk morfologi yang berbeda ini merupakan respon terhadap rangsangan yang beragam dan sangat penting bagi patogenisitas jamur (Chaffin, *et al.*, 2010). Sel *yeast* dianggap bertanggung jawab untuk penyebaran ke dalam lingkungan dan menemukan *host* baru, sedangkan hifa diperlukan untuk merusak jaringan dan invasi. Proses molekuler pada dimorfisme morfologi *Candida albicans* masih kurang jelas. Penelitian terbaru menunjukkan bahwa faktor transkripsi *Cph1p* dan *Efg1p* diperlukan untuk membentuk hifa selama infeksi (Kuleta, *et al.*, 2009).

3. Adhesi

Perlekatan pada sel *host* dan jaringan sangat penting untuk *Candida albicans* dalam memulai invasi, kemudian penyebaran ke dalam organisme *host*. Kemampuan *Candida* untuk menginvasi pada lingkungan yang berbeda dalam organisme *host* merupakan hasil adaptasi jamur. Selain itu karena adanya *adhesin* yang memfasilitasi perlekatan dengan permukaan sel *host*, yang penting pada tahap pertama infeksi. *Adhesin* ini meliputi familia protein *Als* (*Agglutinin-like sequence*), *Hwp1p* (*Hyphae specific adhesion*), *Eap1p* (*Enhanced adhesion to polystyrene*), *Chs1p* (*Contribution of cell surface hydrophobicity protein*) dan reseptor permukaan sel lainnya yang kurang dikenal. Semua reseptor yang telah dikenal berhubungan dengan dinding sel jamur. (Slutsky, *et al.*, 2011).

4. Sekresi Enzim Hidrolitik

Produksi dan sekresi enzim hidrolitik seperti protease, lipase dan fosfolipase merupakan faktor virulensi yang sangat penting. Enzim ini berperan

dalam nutrisi tetapi juga merusak jaringan, penyebaran dalam organisme *host*, dan sangat berkontribusi terhadap patogenesis jamur. Aktivitas fosfolipase sangat tinggi terjadi selama invasi jaringan, karena enzim ini bertanggung jawab untuk menghidrolisis ikatan ester dalam gliserofosfolipid yang menyusun membrane sel.

Sel-sel *Candida albicans* yang diisolasi dari darah menunjukkan aktivitas fosfolipase ekstraseluler lebih tinggi daripada *strain* komensial (Ibrahim, *et al.*, 2007).

2.2.4 Manifestasi Klinis

Candida albicans menimbulkan suatu keadaan yang disebut kandidiasis, dimana proses awal berkembangnya infeksi yaitu menempelnya mikroorganisme dalam jaringan sel *host*. Setelah terjadi proses penempelan, *Candida albicans* berpenetrasi ke dalam sel epitel mukosa. Sel ragi (Blastospora) yang telah menempel pada sel epitel mukosa akan berkembang menjadi hifa semu dan tekanan dari hifa semu tersebut merusak jaringan, sehingga invasi ke dalam jaringan. Enzim-enzim yang berperan sebagai faktor virulensi adalah enzim-enzim hidrolitik seperti proteinase, lipase, dan fosfolipase (Tjampakasari, 2006).

Kandidiasis dapat dibagi menjadi beberapa jenis:

1. Kandidiasis Mukosa

- Kandidiasis Oral/orofaringeal

Kandidiasis orofaringeal atau thrush merupakan kandidiasis yang berkembang di mulut atau tenggorokan (CDC, 2016). Kandidiasis ini tampak sebagai bercak putih diskret yang dapat menjadi konfluen pada mukosa bukal, lidah, palatum, dan gusi (Klenk, *et al.*, 2003).

- **Kandidiasis Vulvovaginal**

Kandidiasis vulvovaginal, kadang disebut sebagai infeksi jamur (ragi) vagina, merupakan infeksi yang umum terjadi ketika terdapat pertumbuhan berlebih dari jamur kandida. Kandida selalu ada di dalam dan permukaan tubuh dalam jumlah yang kecil. Akan tetapi, ketika terjadi ketidakseimbangan, seperti perubahan keasaman vagina atau perubahan hormonal, kandida dapat bermultiplikasi. Ketika hal tersebut terjadi, gejala kandidiasis dapat muncul (CDC, 2016). Pasien biasanya memiliki keluhan sangat gatal atau pedih disertai keluar cairan yang putih mirip krim susu/keju, kuning tebal, tetapi dapat cair seperti air atau tebal homogen dan tampak pseudomembran abu-abu putih pada mukosa vagina (Richardson, et al., 2003).

- **Balanitis / Balanopostitis Kandidiasis**

Balanitis kandidiasis merupakan kandidiasis yang teri pada glans penis, sedangkan balanopostitis mengenai glans penis dan prepusium pada laki-laki yang belum disirkumsisi. Gambaran klinis tampak erosi merah superfisial dan pustul berdinding tipis di atas glans penis, sulkus koronarius (balanitis) dan pada prepusium penis yang tidak disirkumsisi (balanopostitis) (Hay, et al., 2010).

2. **Kandidiasis Kutis**

Kandidiasis kutis merupakan penyakit infeksi pada kulit yang disebabkan oleh jamur genus kandida. Gambaran klinis kandidiasis kutis berdasarkan tempat yang terkena dibagi menjadi: kandidiasis kutis intertriginosa, kandidiasis paronikia dan onikomikosis, kandidiasis kutis

generalisata, kandidiasis kutis granulomatosa, dan *diaper rash* (Ramali, 2004).

- Kandidiasis Kutis Intertrigo

Kandidiasis intertrigo merupakan infeksi pada kulit yang disebabkan oleh *Candida albicans*, khususnya terletak di antara lipatan intertriginosa kulit yang berdekatan. Gambaran klinis tampak sebuah bercak merah yang gatal, diawali dengan vesikulopustul yang membesar dan pecah, menyebabkan maserasi dan membentuk fisura pada area intertrigo yang terlibat. Lesi satelit biasanya dijumpai dan dapat menyatu dan meluas menjadi lesi yang lebar (Scheinfeld, 2016).

- Kandidiasis Mukokutaneus Kronik

Kandidiasis mukokutaneus kronik adalah infeksi heterogen pada rambut, kuku, kulit, dan selaput lendir yang terus berlanjut meskipun dengan terapi, ditandai dengan infeksi kronik dari kandida, yang terbatas pada permukaan mukosa, kulit, dan kuku. Munculnya penyakit biasanya dimulai pada masa bayi atau dalam dua dekade pertama kehidupan. Kondisi ini mungkin ringan dan terbatas pada area tertentu dari kulit atau kuku (Edward, 2008).

- Kandidiasis Paronikia

Kandidiasis paronikia merupakan inflamasi pada lipatan kuku, yang disebabkan oleh *Candida albicans*. Tampak daerah lipatan kuku menjadi eritem, bengkak, dan lunak, dengan discharge sesekali. Terdapat warna kehijauan dengan akumulasi cairan hyponychial yang mungkin terjadi yang merupakan hasil dari infeksi kandida (Scheinfeld, 2016).

- **Kandidiasis Onikomikosis**

Gejala yang paling umum dari infeksi jamur kuku adalah kuku menjadi menebal dan berubah warna menjadi putih, hitam, kuning atau hijau. Saat infeksi berlangsung kuku bisa menjadi rapuh. Jika tidak diobati, kulit bisa menjadi meradang dan nyeri di bawah dan di sekitar kuku. Mungkin juga timbul bercak putih atau kuning pada kuku atau kulit menjadi bersisik disekitar kuku dan berbau busuk (NHS, 2015).

- **Kandidiasis Kutaneus Kongenital**

Kandidiasis kutaneus kongenital merupakan kondisi kulit pada bayi baru lahir yang disebabkan oleh ketuban pecah dini yang bersamaan dengan jalan lahir yang terinfeksi *Candida albicans*. Biasanya bermanifestasi sebagai erupsi makulopapular eritematosa yang mengenai badan dan ekstremitas, akan sembuh setelah deskuamasi yang luas. (Scheinfeld, 2016).

- **Diaper Rash**

Diaper rash kandidiasis merupakan sebuah infeksi oleh *Candida albicans* pada area diaper pada anak. Infeksi perineum yang umum pada bayi, pustular dan eritem (Edward, 2008). Maserasi dari mukosa anal dan kulit perianal sering merupakan manifestasi klinis pertama. Erupsi khas dimulai dengan papula bersisik yang bergabung dan membentuk lesi yang jelas. Kemudian lesi terkikis dengan perbatasan bergerigi (Scheinfeld, 2016).

- **Kandidiasis Kutis Generalisata**

Lesi terdapat pada glabrous skin, biasanya juga di lipat payudara, intergluteal, dan umbilicus. Sering disertai glossitis, stomatitis, dan

paronikia. Lesi berupa ekzematoid, dengan vesikel-vesikel dan pustul-pustul (Scheinfeld, 2016).

- **Kandidiasis *Unspecified***

Kondisi dimana *Candida albicans*, tumbuh diluar kendali di daerah kulit yang lembab. Biasanya merupakan akibat dari sistem kekebalan tubuh yang lemah, tetapi dapat pula akibat dari efek samping kemoterapi atau terapi antibiotik. Dikatakan kandidiasis *unspecified* ketika seseorang mengalami kandidiasis mukokutan kronik, atau kandidiasis kutis, atau kandidiasis oral, atau monilial vaginitis secara bersamaan (ICD 10, 2016).

2.3 Uji Kepekaan Kuman terhadap Antimikroba

Banyaknya kuman yang telah resisten terhadap obat tertentu membuat uji kepekaan kuman terhadap antimikroba sangat penting dilakukan. Ada dua macam metode untuk uji sensitivitas yaitu metode difusi sumuran dan metode dilusi cair atau padat.

2.3.1 Dilusi Agar

Metode dilusi agar memiliki prinsip yang sama dengan dilusi tabung, namun yang membedakan adalah pada dilusi agar menggunakan medium padat.

Antimikroba dicampurkan ke dalam cawan petri berisi agar, kemudian agar dibiarkan mengeras. Setelah itu, agar disimpan pada refrigerator suhu 5°C hingga siap untuk digunakan. Kemudian inokulum mikroba ditetaskan pada agar sebanyak 0,001 ml menggunakan pipet. Inkubasi cawan petri pada suhu 35°C selama 16-18 jam dan kemudian dapat dilihat hasilnya terdapat pertumbuhan mikroba atau tidak (Forbers *et al.*, 2007).

2.3.1.1 Metode Difusi Sumuran

Metode difusi sumuran/ well diffusion digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antimikroba dari tanaman atau ekstrak mikroba. Pada metode ini, suspensi mikroba dicampurkan secara merata bersama media agar sehingga seluruh bagian agar mengandung mikroba uji. Media agar kemudian dilubangi dengan perforator steril berdiameter 6 mm untuk diisi dengan agen antimikroba atau larutan ekstrak dengan volume 20-100 μL dengan konsentrasi yang sudah ditentukan. Media agar kemudian diinkubasi dalam kondisi yang sesuai untuk pertumbuhan mikroorganisme uji. Agen antimikroba akan berdifusi dalam media agar dan menghambat pertumbuhan mikroba. Kerja antimikroba pada difusi sumuran dilihat dengan terbentuknya zona inhibisi di sekitar sumuran, yang menunjukkan adanya hambatan pertumbuhan mikroba (Balouiri *et al.*, 2016).

Ukuran daerah hambat yang dihasilkan pada uji aktivitas dapat dipengaruhi oleh kepadatan atau viskositas media biakan, kecepatan difusi bahan uji, konsentrasi dan volume bahan uji pada lubang, sensitivitas organisme terhadap bahan uji, dan interaksi bahan uji dengan media (Harmita & Radji, 2008). Metode sumuran memiliki kelebihan dibandingkan dengan metode penyebaran yang lain, diantaranya pelaksanaannya lebih mudah, sederhana dan relatif murah. Lubang pada media agar mampu menampung bahan uji lebih banyak dan difusi dapat terjadi lebih mudah. Metode sumuran memungkinkan pengujian hingga 5-6 bahan uji dalam satu cawan petri (Berghe dan Vlietknck, 2010).

2.3.1.2 Metode Difusi Cakram

Metode yang paling luas digunakan adalah uji difusi cakram. Cakram kertas filter yang mengandung sejumlah tertentu obat ditempatkan di atas medium padat yang telah diinkubasi pada permukaan dengan organisme uji. Setelah diinkubasi

37°C selama 18-24 jam, kemudian amati diameter zona jernih inhibisi di sekitar cakram diukur sebagai ukuran kekuatan inhibisi obat melawan organisme uji tertentu (Dzen *et al.*, 2003).

2.3.2 Metode Dilusi Cair atau Padat

Metode dilusi dibuat dengan cara larutan uji diencerkan hingga diperoleh beberapa konsentrasi, kemudian masing-masing konsentrasi larutan uji ditambahkan suspensi jamur dalam media. Pada dilusi padat, tiap konsentrasi larutan uji dicampurkan ke dalam media agar. Setelah padat kemudian ditanami jamur (Rahmawati, 2014).

Metode dilusi biasanya digunakan untuk menentukan kadar hambat minimum (KHM) dan kadar bunuh minimum (KBM) dari bahan antimikroba. Prinsip dari metode dilusi menggunakan satu seri tabung reaksi yang diisi medium cair dan sejumlah tertentu sel mikroba yang diuji. Selanjutnya masing-masing tabung diisi dengan bahan antimikroba yang telah diencerkan secara serial, kemudian seri tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam dan diamati terjadinya kekeruhan konsentrasi terendah bahan antimikroba pada tabung yang ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih (tidak ada pertumbuhan jamur merupakan konsentrasi hambat minimum). Biakan dari semua tabung yang jernih ditumbuhkan pada medium agar padat, diinkubasi selama 24 jam, dan diamati ada tidaknya koloni jamur yang tumbuh. Konsentrasi terendah bahan antimikroba pada biakan medium padat yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan jamur merupakan konsentrasi bunuh minimum bahan antimikroba terhadap jamur uji (Tortora *et al.*, 2001).

Uji ini tidak praktis dan jarang digunakan bila pengenceran harus dibuat dalam tabung reaksi, namun uji ini mempunyai keuntungan yaitu memungkinkan

adanya suatu hasil kuantitatif yang menunjukkan jumlah obat yang diperlukan untuk menghambat mikroorganisme yang diperiksa (Jawetz *et al.*, 2005)

2.4 Tinjauan Antijamur

Antijamur adalah antibiotik yang mampu menghambat hingga mematikan pertumbuhan jamur. Antijamur mempunyai dua pengertian yaitu fungisidal dan fungistatik. Fungisidal didefinisikan sebagai suatu senyawa yang dapat membunuh jamur, sedangkan fungistatik dapat menghambat pertumbuhan jamur tanpa mematikannya. Tujuan utama pengendalian jamur adalah untuk mencegah penyebaran penyakit dan infeksi, membasmi jamur pada inang yang terinfeksi, dan mencegah pembusukan dan perusakan oleh jamur. Ada beberapa hal yang harus dipenuhi oleh suatu bahan antimikroba, seperti mampu mematikan mikroorganisme, mudah larut dan bersifat stabil, tidak bersifat racun bagi manusia dan hewan (Pelezar dan Chan, 2002).

2.4.1 Mekanisme Kerja Antijamur

Zat antijamur dalam melakukan efeknya, harus dapat mempengaruhi bagian-bagian vital sel seperti membran sel, enzim-enzim dan protein struktural.

Mekanisme antijamur dapat dikelompokkan menjadi:

1. Gangguan pada membran sel

Gangguan ini terjadi karena adanya ergosterol dalam sel jamur. Ergosterol adalah komponen sterol yang sangat penting sehingga mudah diserang oleh antibiotik turunan polien. Kompleks polien-ergosterol yang terjadi dapat membentuk suatu pori dan melalui pori tersebut konstituen esensial sel jamur seperti ion K, fosfat anorganik, asam karboksilat, asam amino dan ester fosfa bocor keluar hingga menyebabkan kematian sel jamur. Contoh: Nistatin.

Amfoterisin B dan Kandisidin (Siswandono dan Soekardjo, 2000).

2. Penghambatan biosintesis ergosterol dalam sel jamur

Mekanisme ini merupakan mekanisme yang disebabkan oleh senyawa turunan imidazole karena mampu menimbulkan ketidakteraturan membran sitoplasma jamur dengan cara mengubah permeabilitas membran dan mengubah fungsi membrane dalam proses pengangkutan senyawa-senyawa esensial yang dapat menyebabkan ketidakseimbangan metabolik sehingga menghambat pertumbuhan atau menimbulkan kematian sel jamur. Contoh: ketokonazol, klortinazol, mikonazol, bifonazole (Siswandono dan Soekardjo, 2000).

3. Penghambatan sintesis asam nukleat dan protein jamur

Mekanisme ini merupakan mekanisme yang disebabkan oleh senyawa turunan pirimidin. Efek antijamur terjadi karena senyawa turunan pirimidin mampu mengalami metabolisme dalam sel jamur menjadi suatu antimetabolik. Metabolik antagonis tersebut kemudian bergabung dengan asam ribonukleat dan kemudian menghambat sintesis asam nukleat dan protein jamur (Siswandono dan Soekardjo, 2000).

4. Penghambatan mitosis jamur

Efek anti jamur ini terjadi karena adanya senyawa antibiotik Griseofulvin yang mampu mengikat protein mikrotubuli dalam sel, kemudian merusak struktur *spindle mitotic* dan menghentikan metafase pembelahan sel jamur (Siswandono dan Soekardjo, 2000).

2.4.2 Mekanisme Resistensi Antijamur

Komponen resistensi obat antijamur secara klinis dihubungkan dengan faktor-faktor dari pejamu, obat dan jamur. Faktor pejamu yang paling penting untuk melawan infeksi adalah status imunitas pejamu, lokasi infeksi, keparahan penyakit,

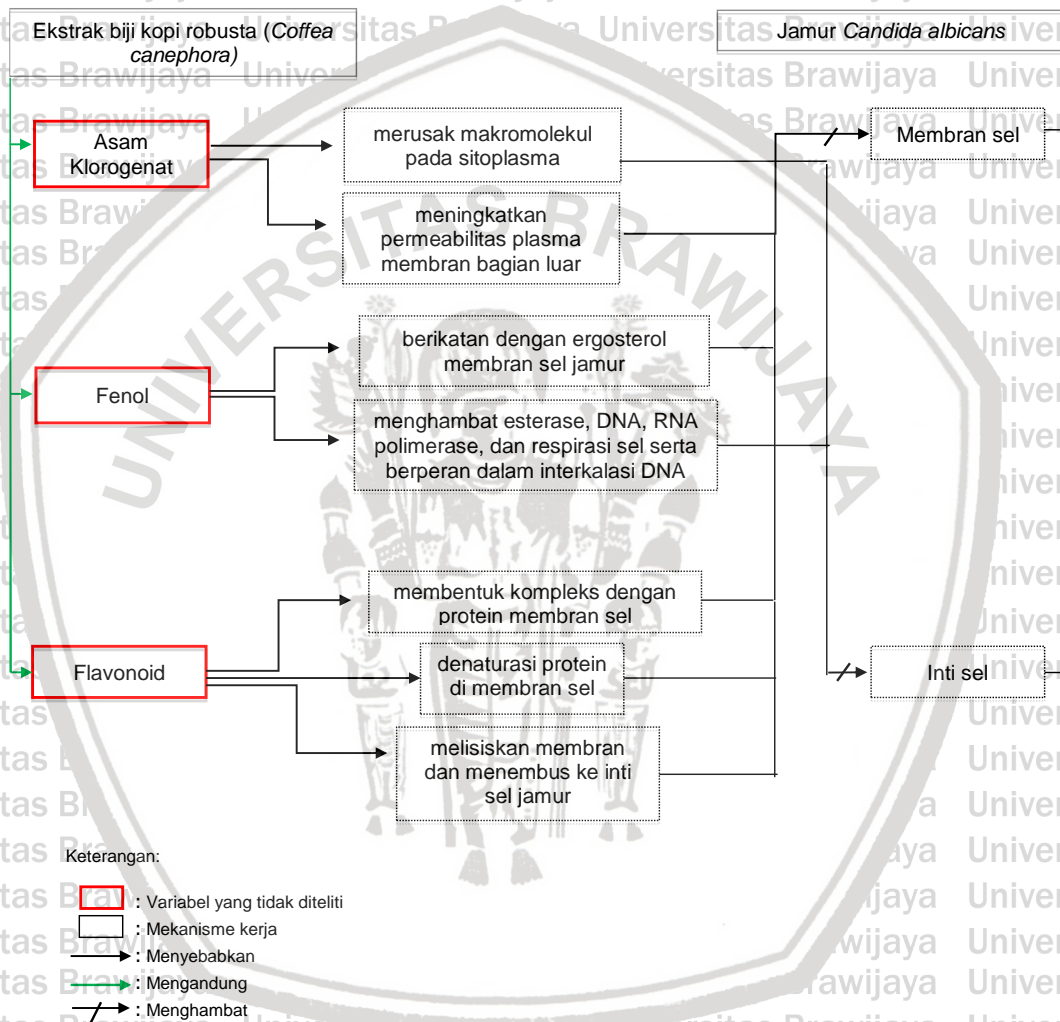
terdapat alat yang terpasang dalam tubuh pejamu (kateter, gigi palsu atau katup jantung buatan) serta ketidakpatuhan pasien. Obat fungistatik akan lebih mempercepat resistensi dibandingkan dengan obat fungisidal. Dosis obat antijamur, termasuk kuantitas, frekuensi, jadwal pemberian, dan dosis kumulatif juga dapat berperan dalam keberhasilan pengobatan infeksi jamur. Pemberian obat antijamur bersamaan dengan obat lain juga dapat mengubah efektivitas obat antijamur. Beberapa jamur juga mempunyai biofilm yang dapat menyebabkan jamur tersebut kurang peka terhadap obat-obat antijamur (Miftah, *et al.*, 2009).

Resistensi antijamur didefinisikan sebagai adaptasi atau penyesuaian sel jamur yang stabil akibat dari obat-obat antijamur, sehingga mengakibatkan sensitivitas terhadap antijamur tersebut berkurang dibandingkan dengan keadaan normal (Loeffler dan Stevens, 2003). Secara umum, jamur dapat mengalami resistensi secara intrinsik terhadap obat-obat antijamur (resistensi primer) atau resistensi dapat terjadi sebagai respons terhadap pajanan obat antijamur selama pengobatan (resistensi sekunder) (Parea dan Patterson, 2002).

BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 3.1 Kerangka Konsep

Ekstrak biji kopi robusta mengandung asam klorogenat, fenol dan juga flavonoid. Asam klorogenat mampu merusak sitoplasma pada membran sel dan juga meningkatkan permeabilitas plasma membran bagian luar. Fenol dapat merusak membran sel sehingga terjadi perubahan permeabilitas sel yang menyebabkan terhambatnya pertumbuhan sel atau matinya sel jamur. Selain fenol, terdapat didalamnya senyawa alkaloid yang mampu menghambat esterase, DNA, RNA polimerase, dan respirasi sel serta berperan dalam interkalasi DNA begitu juga berikatan kuat dengan ergosterol membentuk lubang yang mengakibatkan kebocoran pada membran sel jamur sehingga menyebabkan kerusakan menetap pada sel dan kematian sel jamur. Berbeda dengan kedua senyawa diatas, flavonoid mampu membentuk kompleks dengan protein membran dan merusak membran sel dengan cara mendenaturasi ikatan protein pada membran sel, sehingga membran sel menjadi lisis dan menembus ke dalam inti sel menyebabkan jamur tidak berkembang. Maka dari itu, pemberian ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*) diharapkan dapat menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*.

3.2 Hipotesis

Ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*) memiliki efek antijamur terhadap jamur *Candida albicans* secara *in vitro*.

BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Desain penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboris dengan rancangan *True Experimental- The post test only Control Group Design* yaitu dilakukan pengukuran atau pengamatan pada kelompok kontrol dan perlakuan pada waktu yang telah ditentukan setelah diberi suatu perlakuan.

Penelitian ini ditujukan untuk membuktikan bahwa ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*) memiliki efek antijamur terhadap *Candida albicans* secara *in vitro*. Proses pengestrakan biji kopi robusta menggunakan metode maserasi yaitu dengan ditambahkan pelarut etanol, sedangkan pengujian ekstrak biji kopi robusta sebagai antijamur menggunakan metode dilusi agar.

4.2 Sampel Penelitian

Menggunakan *Candida albicans* sebagai sampel yang didapat dari stok jamur Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

4.2.1 Jumlah Sampel

Ekstrak yang digunakan menggunakan konsentrasi 0% , 0,5%, 1%, 1,5%, 2%.

4.2.2 Jumlah Pengulangan

Jumlah pengulangan yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan

Rumus Federer :

$$p(n-1) \geq 15$$

Keterangan

p = jumlah perlakuan yang dilakukan

n = jumlah pengulangan tiap perlakuan

(Solimun, 2001)

Dalam penelitian ini digunakan 7 konsentrasi berbeda dari ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*) yaitu 0% sebagai kontrol negatif; 0,5%; 1%; 1,5% dan 2% maka :

$$p(n-1) \geq 15$$

$$4(n-1) \geq 15$$

$$4n - 4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4,75$$

Jumlah perlakuan ulang (n) yang digunakan dalam penelitian ini adalah 4 kali pengulangan.

4.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

4.3.1 Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Brawijaya Malang.

4.3.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Agustus hingga Oktober tahun 2018.

4.4 Variabel Penelitian

4.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*) dengan konsentrasi 0% sebagai kontrol negatif; 0,5%; 1%; 1,5% dan 2% yang didapat dari studi pendahuluan.

4.4.2 Variabel Tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah jumlah koloni *Candida albicans* yang tumbuh dan dihitung.

4.5 Definisi Operasional

1. Biji kopi robusta (*Coffea canephora*) yang digunakan dalam penelitian ini adalah bagian biji sebelum dilakukan proses *roasting* dan didapatkan dari PTPN XII Bangelan Wonosari dan dideterminasi di UPT Batu Materia Medica.
2. Biji kopi robusta (*Coffea canephora*) dalam bentuk serbuk simplisia kemudian diekstrak di Laboratorium Teknik Kimia Politeknik Negeri Malang dengan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Menjadi bentuk cair dan berwarna coklat kehitaman.
3. Jamur *Candida albicans* yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.

4. Uji kepekaan antimikroba metode dilusi agar adalah uji kepekaan yang dilakukan secara *in vitro* dengan mencampur bahan antimikroba yang diuji dengan perbenihan cair yang telah mengandung jamur dengan jumlah yang telah distandardisasi (10^4 CFU/ml).
5. Kadar Hambat Minimal (KHM) adalah kadar atau konsentrasi minimal ekstrak etanol biji kopi robusta yang mampu menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* yang ditandai dengan tidak ada pertumbuhan koloni jamur yang terlihat pada medium SDA.
6. Penilaian pertumbuhan dengan menghitung jumlah koloni pada cawan petri, yakni: (Hadioetomo, 2000)
 - 0 : tidak ada pertumbuhan koloni jamur
 - +1 : pertumbuhan koloni jamur sebanyak 1 - ≤ 20
 - +2 : pertumbuhan koloni jamur sebanyak 21 - 30
 - +3 : pertumbuhan koloni jamur sebanyak 31 - 40
 - +4 : pertumbuhan koloni jamur sebanyak > 40
7. Konsentrasi ekstrak biji kopi robusta yang digunakan adalah 0% sebagai kontrol negatif; 0,5%; 1%; 1,5% dan 2% didapatkan dari penelitian pendahuluan.

4.6 Alat dan Bahan

4.6.1 Alat

4.6.1.1 Pembuatan Ekstrak

- Blender
- Penimbang
- Kertas Saring

- Tabung ekstraksi
- Pengaduk
- Rotary evaporator
- Alat pemanas air
- Labu penampung hasil evaporasi
- Tabung pendingin
- Pompa sirkulasi air dingin
- Bak penampung air dingin
- Pipa plastik
- Pipa vakum
- Penampung hasil penguapan
- Oven
- Waterbath
- Labu elenmeyer
- *Vacuum evaporator*
- Timbangan analisis, gelas ukur, kertas saring, dan *shaker*.
- Corong gelas
- Pipet
- *Water pump*

4.6.1.2 Pewarnaan Gram

- Bunsen
- *Object glass*
- Mikroskop
- Pipet
- Ose

- Wadah pewarnaan

4.6.1.3 Uji Vitek II

- *Vitek 2 compact*
- Tabung reaksi steril

4.6.1.4 Pembuatan Suspensi Jamur

- Tabung reaksi
- Cawan petri
- Mikropipet
- Inkubator

- Pinset steril

4.6.1.5 Dilusi Agar

- Ose
- Mikro Pipet
- Cawan petri
- Autoklaf
- Inkubator
- Hasil ekstrasi biji kopi robusta
- SDA
- Spirtus

4.6.2 Bahan

4.6.2.1 Pembuatan Ekstrak

- Biji kopi robusta yang telah dikeringkan dan dihaluskan menjadi bentuk bubuk dan ditimbang seberat 50 gram
- Aquades steril
- Pelarut etanol 96%



4.6.2.2 Penanaman di media SDA

- Suspensi jamur *Candida albicans*
- *Sabouraud Dextrosa Agar*

4.6.2.3 Pewarnaan Gram

- kultur *Candida albicans*
- Bahan pewarnaan gram : Kristal violet, lugol, alkohol 90%, safranin
- Akuades steril
- Kertas penghisap dan *tissue*

4.6.2.4 Pewarnaan KOH

- KOH 10%
- Gelas objek
- Koloni jamur *Candida albicans*

4.6.2.5 Suspensi Jamur

- Koloni jamur *Candida albicans*
- Medium Cair NaCl 0,9%

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Persiapan Biji Kopi Robusta

4.7.1.1 Proses Ekstraksi

1. Bubuk biji kopi robusta ditimbang menggunakan timbangan sebanyak 500 gram, kemudian dimasukkan dalam gelas Erlenmeyer ukuran 1 liter.
2. Kemudian direndam dalam larutan etanol 96% sebanyak 900 ml dan dikocok sampai benar-benar tercampur (± 30 menit). Selanjutnya dibiarkan selama 1 malam sampai mengendap.

3. Proses evaporasi dimulai dengan mengambil lapisan atas campuran etanol 96% dengan zat aktif yang sudah terambil kemudian dimasukkan dalam labu evaporasi 1 liter.
4. Memasang labu evaporasi pada evaporator dan mengisi *water bath* dengan air sampai penuh.
5. Memasang semua rangkaian alat, termasuk rotator, evaporator, *water bath* (hingga mencapai 90°C), menyambungkan dengan aliran listrik
6. Membiarkan larutan etanol memisah dengan zat aktif yang sudah ada dalam labu dan menunggu sampai aliran etanol ekstraksi dimasukkan dalam botol plastik atau kaca (konsentrasi ekstrak dianggap 100%) dan disimpan dalam kulkas.

4.7.2 Identifikasi *Candida albicans*

4.7.2.1 Pewarnaan Gram

1. Gelas objek dibersihkan dengan kapas, kemudian dilewatkan di atas api dan dibiakkan dingin
2. Satu ose aquades steril ditetaskan pada gelas objek ditambah sedikit biakan jamur yang diambil menggunakan ose selanjutnya disuspensikan dengan aquades pada gelas objek dan diratakan. Sedangkan sediaan cair tidak perlu di suspensikan dengan aquades.
3. Sediaan dikeringkan di udara lalu difiksasi dengan melewati sediaan di atas api
4. Sediaan pada gelas objek ditetesi dengan kristal violet selama 1 menit. Sisa kristal violet dibuang dan dibilas dengan air
5. Sediaan ditetesi dengan lugol selama 1 menit. Sisa lugol dibuang dan dibilas dengan air.

6. Sediaan ditetesi dengan alcohol 96% selama 5-10 detik. Sisa alcohol dibuang dan dibilas dengan air
7. Sediaan ditetesi safranin selama 30 detik, sisa safranin dibuang dan dibilas dengan air
8. Sediaan pada *object glass* dikeringkan dengan kertas penghisap
9. Sediaan dilihat dibawah mikroskop dengan lensa objektif perbesaran 400x, perbesaran tersebut dianggap cukup untuk mengamati jamur *Candida albicans*
10. Dikatakan positif jika *Candida albicans* tercat warna ungu (Gram positif), berbentuk oval (Harmawati, 2012)

4.7.2.2 Pewarnaan KOH

1. Bersihkan *object glass* dan kemudian dipanaskan di atas spiritus.
2. Membuat sediaan hapusan jamur pada *object glass*.
3. Meneteskan 1 tetes KOH di spesimen kemudian tutup dengan menggunakan *cover glass*.
4. Panaskan secara hati-hati menggunakan *Bunsen brunner*
5. Lalu tetesi dengan minyak emersi dan dilihat dibawah mikroskop dengan perbesaran lensa objektif 10-4-x. Pada *Candida albicans* memperlihatkan gambaran pseudohifa apabila ditambahkan serum mamalia.

4.7.2.3 Uji Vitek II

1. Hidupkan system *Vitek 2 compact*. Tekan tombol ON pada conditioner, UPS, instrument *Vitek 2 compact*, dan computer
2. Masukkan username dan password
3. Selama beberapa menit awal instrument dinyalakan akan berada pada status *warning*. Tunggu instrument hingga menunjukkan status OK.

4. Untuk menyiapkan sampel, gunakan isolat bakteri/yeast yang muda dan koloni murni
5. Siapkan masing-masing 2 tabung untuk setiap isolat
6. Setiap tabung diisi dengan 3 ml larutan NaCl 0,45% pH 5,0
7. Ambil koloni jamur, buat suspensi larutan NaCl dan lakukan homogenisasi
8. Untuk kekeruhan inokulum dengan menggunakan alat *Densicheck* dengan cara:
 - Tabung inokulum yang akan diukur dibersihkan terlebih dahulu pada bagian luarnya dengan *tissue*
 - Masukkan ke lubang pengukuran pada *Densicheck*, putar 360° selama 2 detik
 - Angka hasil pengukuran akan muncul dalam satuan *McFarland*
Bakteri Gram negatif dan positif = 0,5 – 0,63 *McFarland* Yeast = 1,8 – 2,2 *McFarland*
 - jika kekeruhan kurang maka tambahkan koloni bakteri/yeast.
 - Jika kekeruhan berlebih, maka ambil sejumlah volume inokulum dan encerkan dengan menambahkan larutan NaCl.
9. Saat memasukkan ke ruang pengisian, masukkan *cassette* terlebih dahulu
10. Tekan “*START FILL*”, pengisian akan memerlukan waktu beberapa menit
11. Jika selesai, maka alarm akan berbunyi, tanda inkubator akan berkedip-kedip dan *cassette* segera dipindahkan ke inkubator.
12. Proses inkubator akan berlangsung beberapa jam dan hasil akan tercetak secara otomatis.

4.7.3 Pembuatan Suspensi Uji *Candida albicans*

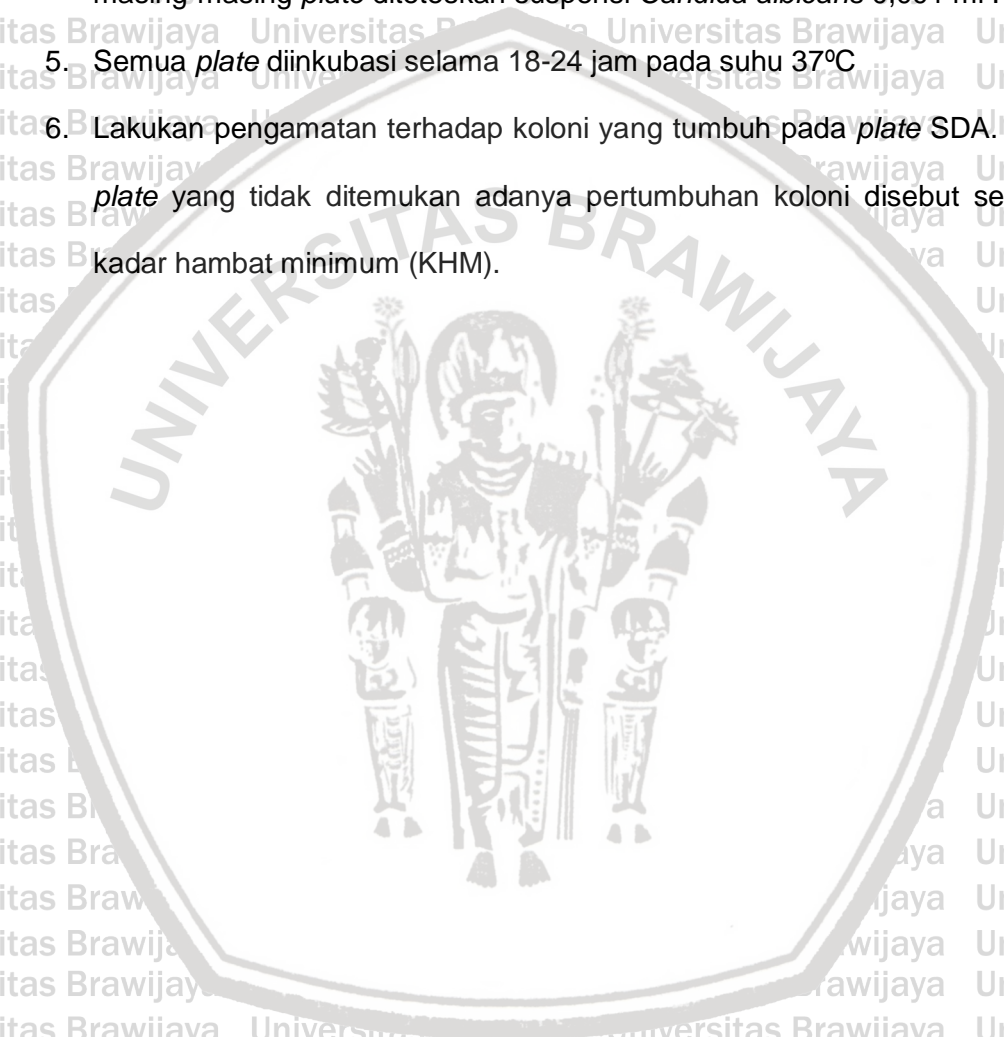
1. Persiapkan jamur *Candida albicans* dari SDA yang telah diuji konfirmasi
2. Ambil 2 koloni ($d \geq 1\text{mm}$) dengan ose kemudian dimasukkan ke dalam 5 ml NaCl 0,85% steril. Kemudian diukur *optical density* (OD) atau kepadatan optisnya dengan spektrofotometri pada maks=520 nm. Dari hasil yang diperoleh dibuat suspensi sel yang mengandung 10^6 CFU/mL dengan rumus $n_1 \times v_1 = n_2 \times v_2$ (Murray *et al.*, 2007)
3. Untuk mendapatkan suspensi sel yang mengandung 10^4 CFU/mL dilakukan dengan mengambil 1 ml (dari tabung yang mengandung 10^6 CFU/ml. Proses dilanjutkan hingga mencapai konsentrasi jamur yang digunakan untuk tes, yaitu 10^4 CFU/mL (Murray *et al.*, 2007).

4.7.4 Metode Pengujian Efek Antimikroba (Tes Dilusi Agar)

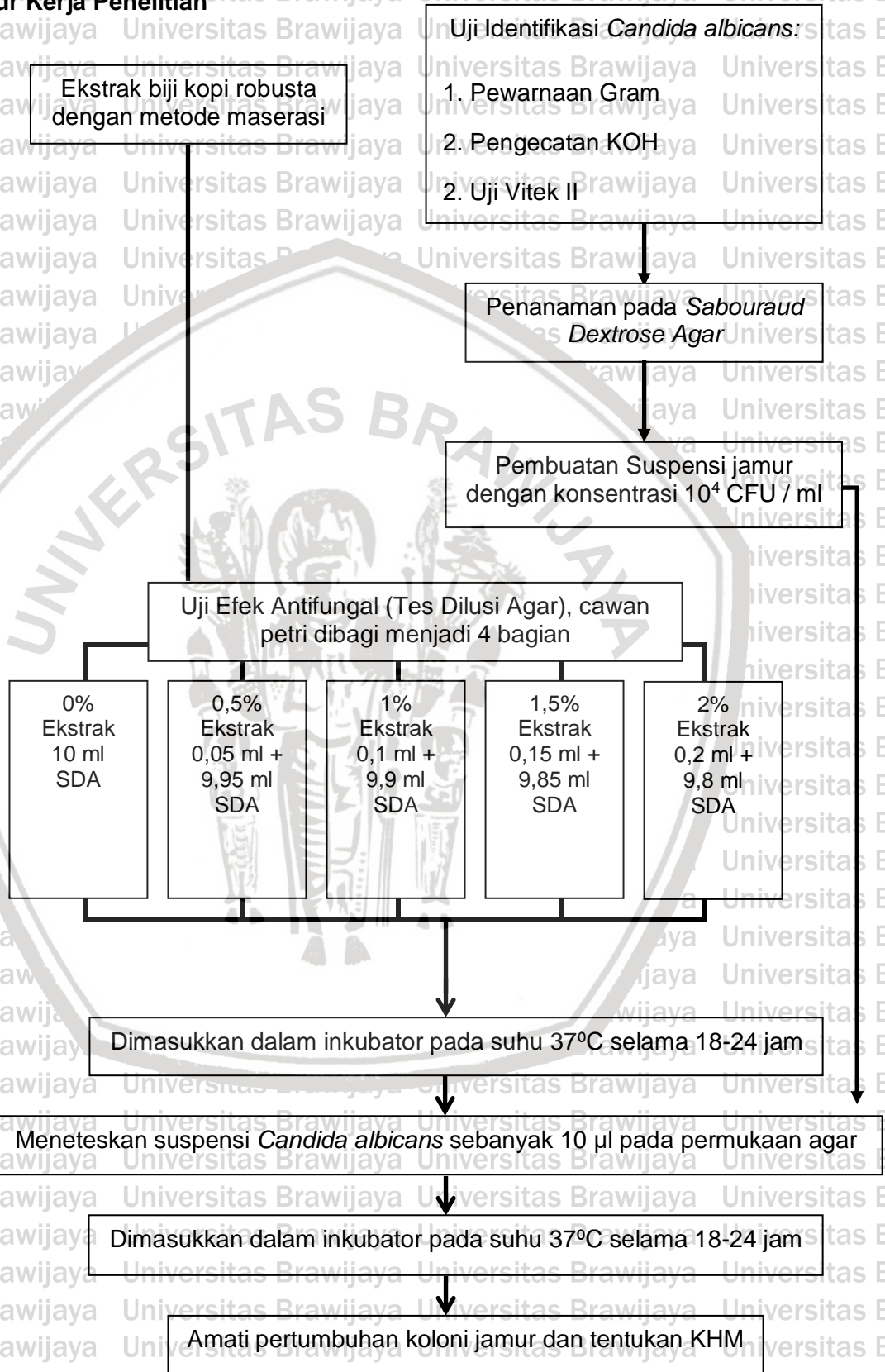
Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah dilusi agar dengan mengamati kadar hambat minimum yang ditunjukkan oleh pertumbuhan bakteri pada cawan petri berisi campuran SDA dan ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*). Langkah-langkah uji efektivitas antijamur ekstrak biji kopi robusta :

1. Disediakan *plate* yang masing-masing diisi dengan campuran SDA dan ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*) dengan konsentrasi 0%; 0,5%; 1%; 1,5%; dan 2% (berdasarkan uji eksplorasi).
2. Volume yang dipakai dalam setiap *plate* adalah 10 ml. Dengan perhitungan sebagai berikut:
 - Konsentrasi 0% : 10 ml SDA
 - Konsentrasi 0,5% : 0,05 ml ekstrak 100% + 9,95 ml SDA
 - Konsentrasi 1% : 0,1 ml ekstrak 100% + 9,9 ml SDA
 - Konsentrasi 1,5% : 0,15 ml ekstrak 100% + 9,85 ml SDA

- Konsentrasi 2% : 0,2 ml ekstrak 100% + 9,8 ml SDA
3. Setelah dicampur merata antara ekstrak dan SDA, ditunggu hingga media mengeras dan dingin.
 4. Kemudian masing-masing *plate* dibagi menjadi empat bagian dan pada masing-masing *plate* ditetaskan suspensi *Candida albicans* 0,001 ml.
 5. Semua *plate* diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C
 6. Lakukan pengamatan terhadap koloni yang tumbuh pada *plate* SDA. Pada *plate* yang tidak ditemukan adanya pertumbuhan koloni disebut sebagai kadar hambat minimum (KHM).



4.8 Alur Kerja Penelitian



4.9 Analisa Statistik

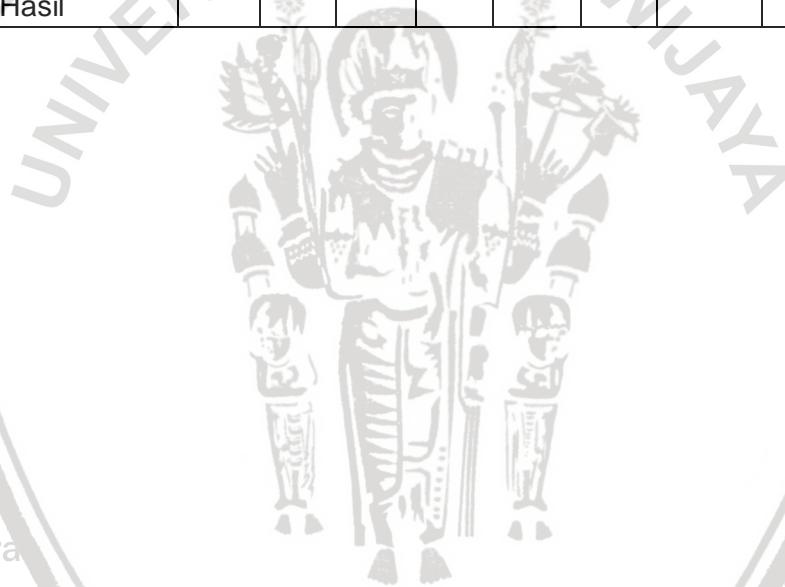
Data terlebih dahulu dilakukan uji normalitas menggunakan uji *Shapiro-Wilk*. Data yang akan dianalisis berupa data ordinal sehingga digunakan analisis non-parametrik. Uji Statistik yang digunakan adalah uji *Kruskal Wallis*, uji Korelasi *Spearman*, dan uji *Mann-Whitney*. Uji statistic non-parametrik *Kruskal Wallis* dengan kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$) digunakan untuk mengetahui adanya perbedaan pertumbuhan koloni jamur *Candida albicans* pada setiap perlakuan yang diberi berbagai variasi konsentrasi ekstrak biji kopi robusta terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Uji *Mann-Whitney* digunakan untuk membandingkan antara dua kelompok. Analisa data penelitian ini menggunakan program SPSS ver 20.



4.10 Jadwal Kegiatan

Tabel 4.1 Tabel Jadwal Kegiatan

No	Kegiatan	Des	Jan	Feb	Mei	April	Jun	Agust	Oct	Nov	Des
1	Penyusunan Proposal										
2	Seminar Proposal										
3	Pengujian Data										
4	AnalisisData										
5	Penyusunan Tugas Akhir										
6	Seminar Hasil										



BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Penelitian

5.1.1 Hasil Ekstrak Biji Kopi Robusta



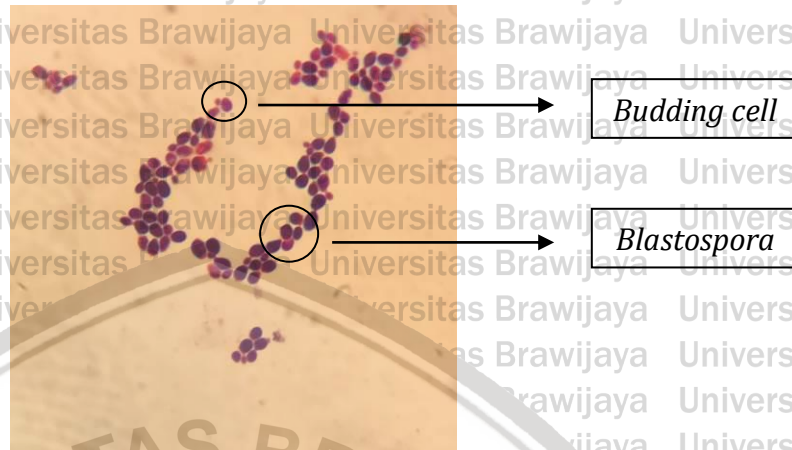
Gambar 5.1 Ekstrak Biji Kopi Robusta

Gambar 5.1 menunjukkan hasil ekstraksi biji kopi robusta yang berwarna hitam dan keruh dengan konsistensi encer. Proses ekstraksi dilakukan di Laboratorium Teknik Kimia Politeknik Negeri Malang 250 gram menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%.

5.1.2 Identifikasi *Candida albicans*

Jamur *Candida albicans* yang digunakan berasal dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Sebelum digunakan untuk penelitian, bakteri tersebut terlebih dahulu diidentifikasi dengan pewarnaan Gram, pewarnaan KOH, dan penanaman pada media *Sabouroud Dextrose Agar*.

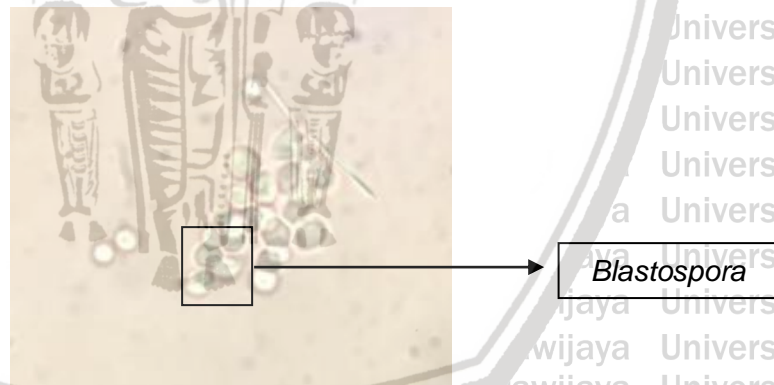
5.1.2.1 Pewarnaan Gram



Gambar 5.2 Jamur *Candida albicans* pada pengecatan Gram dengan perbesaran 400x

Pada pengecatan Gram ditemukan gambaran sel ragi (*blastospora*) berbentuk oval serta gambaran *budding cell* yang berwarna keunguan yang menunjukkan sifat Gram positif seperti pada gambar 5.2.

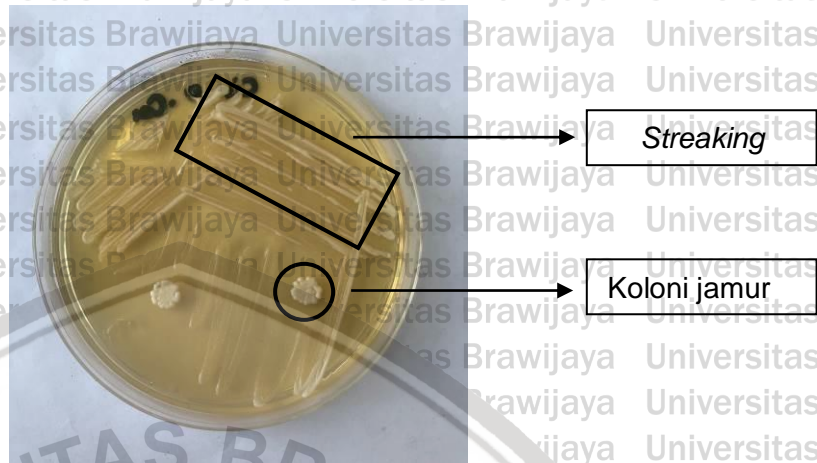
5.1.2.2 Pewarnaan KOH



Gambar 5.3 Identifikasi *Candida albicans* dengan pewarnaan KOH

Pada identifikasi dengan pewarnaan KOH didapatkan gambaran blastospora atau sel ragi, menandakan bahwa sel jamur ini merupakan *Candida sp.*

5.1.2.3 Penanaman Pada Media SDA



Gambar 5.4 *Candida albicans* pada SDA

Sediaan isolat koloni *Candida albicans* yang berasal dari laboratorium dibiakkan terlebih dahulu dengan melakukan *streaking* pada medium SDA (*Saboraud Dextrose Agar*) dan diinkubasi selama 18-24 jam pada inkubator dengan suhu 37°C.

Hasil kultur menunjukkan semua isolat jamur *Candida albicans* menghasilkan koloni yang berbentuk bulat, berukuran kecil dan berwarna putih susu dengan permukaan yang sedikit cembung serta berbau seperti susu basi atau ragi seperti yang terlihat pada gambar 5.4.

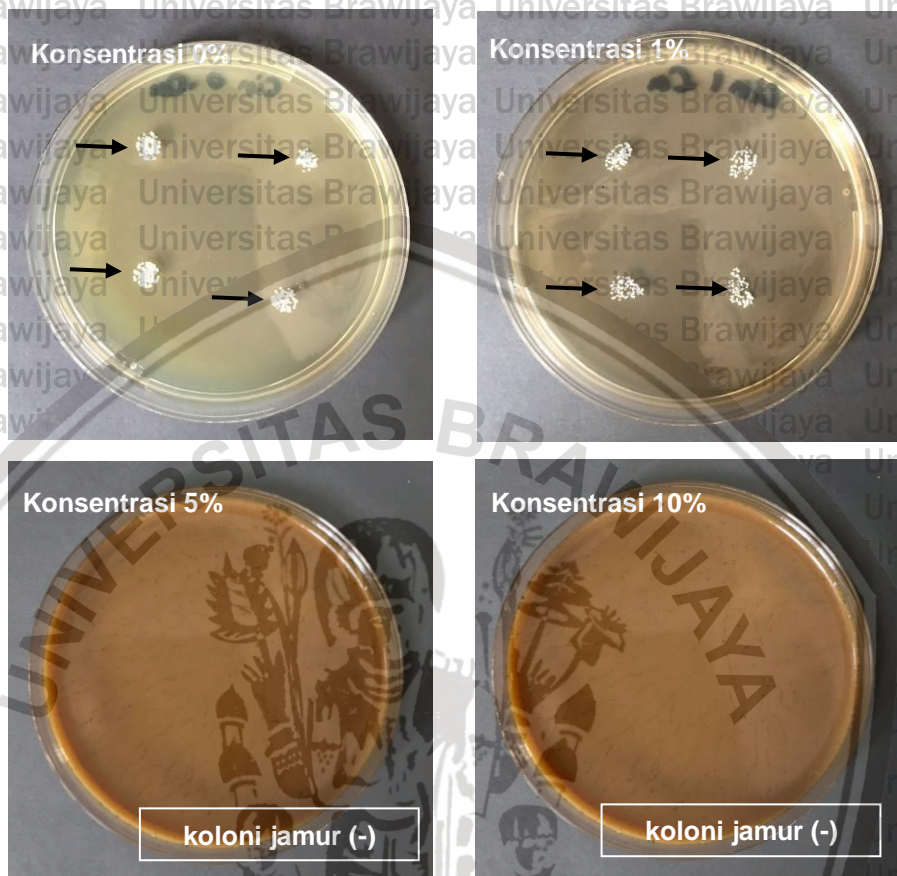
5.1.2 Hasil Pendahuluan Menggunakan Metode Dilusi Agar

Tujuan melakukan penelitian pendahuluan adalah untuk mengetahui rentang konsentrasi ekstrak biji kopi robusta yang akan digunakan dalam penelitian dilusi agar. Konsentrasi yang digunakan pada penelitian pendahuluan adalah 0%, 1%, 5%, dan 10%. Hasil penelitian menunjukkan pertumbuhan jamur hanya terdapat pada konsentrasi 0% dan konsentrasi 1%, sedangkan pada konsentrasi 5% dan konsentrasi 10% sudah tidak didapatkan adanya jamur yang tumbuh. Pertumbuhan jamur *Candida albicans* pada konsentrasi 0% (kontrol

negatif) menunjukkan bahwa suspensi jamur yang digunakan pada kelompok perlakuan benar-benar mengandung jamur *Candida albicans*. Setelah itu dilakukan perapatan dengan pengulangan sebanyak 4 kali.

Hasil pengamatan pada media agar SDA dilakukan setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Pada penelitian pendahuluan ini didapatkan koloni jamur yang tumbuh di konsentrasi 0% dan konsentrasi 1% dengan ketebalan yang sedikit berbeda. Pada konsentrasi 0% terlihat koloni jamur lebih rapat dan tebal. Sedangkan pada konsentrasi 1% sudah terlihat koloni jamur yang mulai renggang apabila dibandingkan dengan koloni jamur pada konsentrasi 0%. Namun pada konsentrasi 5% dan konsentrasi 10% sudah tidak didapatkan adanya koloni jamur yang tumbuh sehingga dilanjutkan dengan perapatan antara konsentrasi 0% hingga konsentrasi 5%. Untuk perapatan, digunakan konsentrasi 0%, 1%, 2%, 3%, 4% dan 5%. Pada perapatan ini, didapatkan pertumbuhan koloni jamur di konsentrasi 0% dan 1%, sedangkan di konsentrasi 2%, 3%, 4% dan 5% sudah tidak didapatkan pertumbuhan koloni jamur. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak biji kopi robusta maka semakin sedikit pertumbuhan koloni jamur yang dapat diamati.

Berdasarkan hasil penelitian pendahuluan ini, dapat dikatakan bahwa pemberian konsentrasi ekstrak biji kopi robusta yang bervariasi menunjukkan pengaruh yang berbeda.



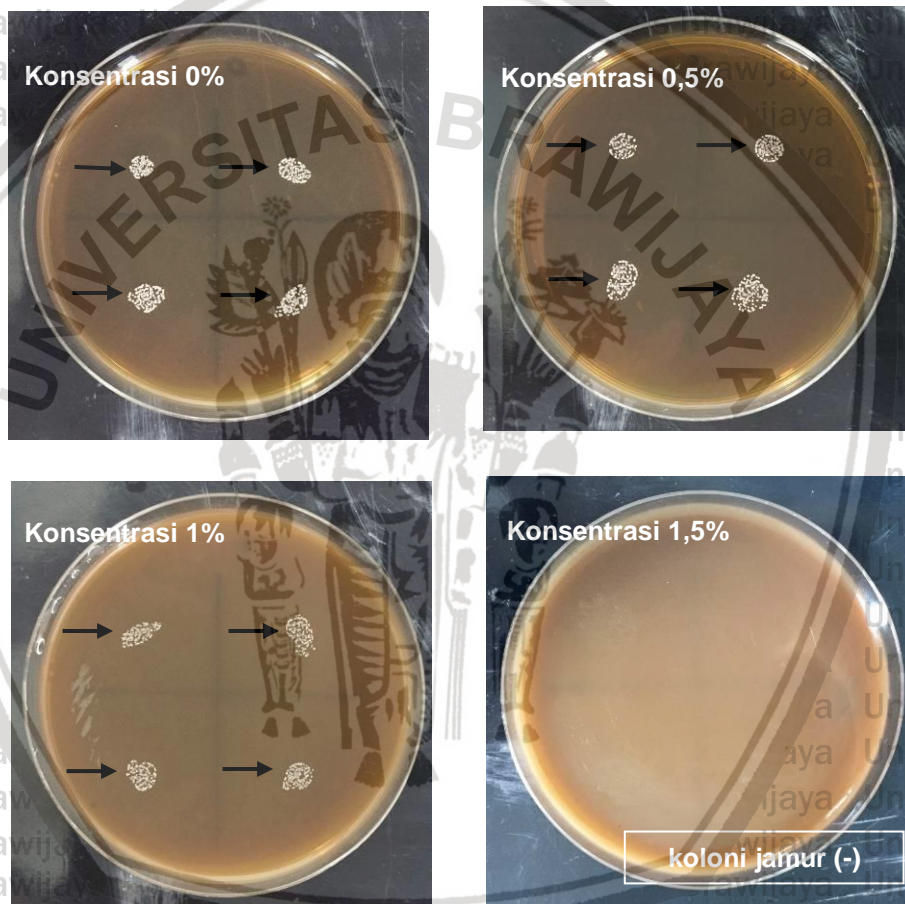
Gambar 5.5 Hasil Penelitian Pendahuluan



5.6 Hasil Penelitian Pendahuluan (Perapatan)

5.1.3 Hasil Inti Menggunakan Metode Dilusi Agar

Berdasarkan hasil dari penelitian pendahuluan, maka dilakukanlah penelitian inti dengan menggunakan ekstrak biji kopi robusta dengan konsentrasi 0% sebagai kontrol negatif ; 0,5% ; 1% ; 1,5% dan 2%. Penentuan hasil dilakukan dengan cara mengamati pertumbuhan koloni secara langsung. Hasil penelitian dapat dilihat pada Gambar 5.7.





Gambar 5.7 Hasil Penelitian Inti Dilusi Agar ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*)

Hasil pengamatan pada media agar SDA dilakukan setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Telah didapatkan koloni jamur pada konsentrasi 0% ; 0,5% dan 1%. Pada konsentrasi ekstrak biji kopi robusta sebesar 0% terlihat koloni jamur yang cukup tebal sedangkan koloni jamur pada konsentrasi ekstrak sebesar 0,5% terlihat lebih sedikit dan pada konsentrasi ekstrak 0,5% terlihat koloni jamur yang lebih sedikit. Dimulai pada konsentrasi 1,5% hingga 2% sudah tidak didapatkan adanya koloni jamur yang tumbuh pada *plate*. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak biji kopi robusta maka semakin sedikit pertumbuhan koloni jamur yang dapat dilihat.

Berdasarkan hasil tersebut, dapat dikatakan bahwa pemberian konsentrasi ekstrak biji kopi robusta yang bervariasi menunjukkan pengaruh yang berbeda.

Hasil pengamatan uji coba efek antijamur dengan menggunakan ekstrak biji kopi robusta dapat dilihat pada tabel 5.1.

Tabel 5.1 Pertumbuhan Koloni Jamur *Candida albicans* dalam Berbagai Konsentrasi Ekstrak Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*)

Konsentrasi		Pengulangan				Rata-rata
		1	2	3	4	
0%	A	+3	+3	+3	+3	+3
	B	+3	+3	+3	+3	
	C	+3	+3	+3	+3	
0.5%	A	+2	+2	+3	+3	+2
	B	+2	+2	+2	+3	
	C	+2	+2	+2	+3	
1%	A	+1	+1	+1	+1	+1
	B	+1	+1	+1	+1	
	C	+1	+1	+1	+1	
1.5%	A	0	0	0	0	0
	B	0	0	0	0	
	C	0	0	0	0	
2%	A	0	0	0	0	0
	B	0	0	0	0	
	C	0	0	0	0	

Keterangan:

A: Pengamatan dilakukan oleh peneliti

B: Pengamatan dilakukan oleh analis laboratorium Mikrobiologi FKUB

C: Pengamatan dilakukan oleh non peneliti dan non analis

+3: Pertumbuhan koloni jamur sebanyak 31-40

+2: Pertumbuhan koloni jamur sebanyak 21-30

+1: Pertumbuhan koloni jamur sebanyak 11-20

+0: Tidak didapatkan adanya pertumbuhan koloni jamur

(Hadioetomo, 2000)

5.2 Hasil Analisis Data

Hasil penelitian dianalisis dengan software SPSS Ver 20 dan *output* hasil analisis dapat dilihat pada lembar lampiran. Data yang didapat dari penelitian ini merupakan data ordinal, sehingga digunakan analisis non-parametrik. Uji statistik yang dilakukan adalah sebagai berikut:

1. Uji Normalitas

Uji normalitas dilakukan untuk mengetahui sebaran distribusi suatu data apakah normal atau tidak. Uji normalitas data berupa uji *Kolmogorov-Smirnov* digunakan apabila besar sampel >50 sedangkan uji *Saphiro-Wilk* digunakan apabila besar sampel ≤ 50 . Distribusi normal baku adalah data yang telah ditransformasikan ke dalam bentuk p dan diasumsikan normal. Jika nilai p diatas 0,05 maka distribusi data dinyatakan normal dan dinyatakan memenuhi asumsi normalitas dan jika nilai p dibawah 0,05 maka data diasumsikan tidak normal. Penelitian ini menggunakan uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* dikarenakan jumlah sampel yang digunakan lebih dari 50, yaitu 60 sampel. Didapatkan nilai signifikansi 0,02 ($p < 0,05$) yang menunjukkan distribusi data tidak normal sehingga digunakan uji analisis non-parametrik. Hasil uji normalitas dapat dilihat pada lampiran.

2. Uji Non-Parametrik *Kruskal-Wallis*

Perbedaan pertumbuhan koloni jamur *Candida albicans* pada setiap perlakuan yaitu media agar yang diberi berbagai variasi konsentrasi ekstrak biji kopi robusta. Hipotesis ditegakkan melalui H_0 dan H_1 , H_0 diterima bila nilai signifikansi yang didapatkan lebih dari 0,05 ($p > 0,05$), sedangkan H_0 ditolak apabila nilai signifikansi uji normalitas kurang dari 0,05 ($p < 0,05$). H_0 berdasarkan penelitian ini adalah tidak ada perbedaan efek antijamur pada setiap pemberian

konsentrasi ekstrak biji kopi robusta terhadap pertumbuhan koloni jamur *Candida albicans*. H_1 merupakan hipotesis akan adanya perbedaan efek antijamur pada setiap konsentrasi ekstrak biji kopi robusta terhadap pertumbuhan koloni jamur *Candida albicans*. Hasil Uji Non-Parametrik *Kruskal-Wallis* pada penelitian ini memiliki nilai signifikansi sebesar 0.007, sehingga hipotesis H_0 ditolak dan H_1 diterima dengan interpretasi adanya perbedaan efek antijamur pada setiap pemberian konsentrasi ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*) terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans*.

3. Uji *Mann-Whitney*

Uji *Mann-Whitney* digunakan untuk mengetahui perbandingan antara jumlah koloni jamur *Candida albicans* yang tumbuh pada media SDA dengan pemberian konsentrasi ekstrak biji kopi robusta atau yang biasa disebut dengan *multiple comparison*. Pertumbuhan koloni jamur *Candida albicans* pada media SDA kelompok konsentrasi 0% memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok yang diberi ekstrak biji kopi robusta konsentrasi 0,5% ; 1% ; 1,5% dan 2% ($p < 0,05$). Pertumbuhan koloni jamur *Candida albicans* yang dihasilkan pada media SDA kelompok konsentrasi 0,5% memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok yang diberi ekstrak biji kopi robusta konsentrasi 1% ; 1,5% dan 2% ($p < 0,05$). Pertumbuhan koloni jamur *Candida albicans* yang dihasilkan pada media SDA kelompok konsentrasi 1% memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok yang diberi ekstrak biji kopi robusta konsentrasi 1,5% dan 2% ($p < 0,05$). Pertumbuhan koloni jamur *Candida albicans* pada media SDA kelompok konsentrasi 1,5% tidak memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok yang diberi ekstrak biji kopi robusta konsentrasi 2% ($p > 0,05$). Hasil penelitian dapat dilihat pada lampiran.

4. Uji Korelasi Spearman

Uji Korelasi *Spearman* digunakan untuk mengetahui kekuatan hubungan dari pemberian ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*) sebagai antijamur terhadap pertumbuhan koloni jamur *Candida albicans*. Hasil uji korelasi *Spearman* dapat dilihat pada lampiran.

Berdasarkan hasil uji korelasi *Spearman*, dapat diketahui bahwa pemberian ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*) berakibat pada penurunan pertumbuhan koloni jamur *Candida albicans*.

Koefisien korelasi sebesar $-0,975$ menunjukkan bahwa kontribusi pemberian ekstrak biji kopi robusta dalam menurunkan pertumbuhan koloni jamur *Candida albicans* sebesar $95,06\%$ didapatkan dari $R^2 \times 100\%$, sedangkan sisa sebesar $4,94\%$ disebabkan oleh faktor-faktor lain yang tidak diteliti. Faktor-faktor tersebut dapat diakibatkan dari lama penyimpanan ekstrak atau akibat resistensi jamur *Candida albicans*.

Tabel 5.2 Hasil Uji Mann-Whitney signifikansi dalam beberapa konsentrasi ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*)

	0%	0.5%	1%	1.5%	2%
0%		0.025	0.025	0.025	0.025
0.5%			0.025	0.025	0.025
1%				0.025	0.025
1.5%					1.000
2%					

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Pembahasan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini ialah untuk mengetahui efektivitas antijamur ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*) terhadap *Candida albicans* secara *in vitro*. Metode yang dipilih adalah dilusi agar karena ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*) berwarna gelap, keruh, dan sedikit encer sehingga sulit diamati menggunakan metode dilusi tabung. Hasil penelitian ini diperoleh dengan cara mengukur Kadar Hambat Minimal (KHM) pertumbuhan jamur pada cawan petri dengan campuran SDA dan konsentrasi ekstrak biji kopi robusta yang bervariasi. Kadar Hambat Minimal (KHM) dilihat dari pertumbuhan jamur pada cawan petri. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang dicampurkan maka akan semakin sedikit pertumbuhan jamur pada cawan petri.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji kopi robusta yang telah melalui proses ekstrak maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96%.

Sedangkan, jamur yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Identifikasi jamur *Candida albicans* dilakukan dengan empat macam cara, untuk memastikan bahwa koloni jamur adalah *Candida albicans*. Pertama dilakukan pembiakan pada *Sabouroud Dextrose Agar* (SDA) karena media tersebut mengandung nutrisi yang sesuai untuk pembiakan jamur *Candida albicans*. Kedua dilakukan identifikasi dengan pewarnaan Gram yang bertujuan untuk membuktikan *Candida albicans* bersifat gram positif ditunjukkan dengan adanya *budding cell* dan tercat berwarna ungu. Ketiga dilakukan pewarnaan

KOH, dimana didapatkan gambaran blastospora dan pseudohifa yang menandakan bahwa sel jamur ini adalah *Candida sp.* Keempat, dengan menggunakan uji Vitek II yang membedakan *Candida albicans* dengan spesies *Candida* lainnya. Pada penelitian ini, hasil identifikasi jamur *Candida albicans* yang didapatkan sesuai dengan morfologi jamur *Candida albicans*.

Penelitian ini menggunakan metode dilusi agar yang dilakukan dengan cara pencampuran antara agar dan ekstrak, dilakukan ketika keduanya dalam bentuk cair yang kemudian akan mengeras menjadi satu media padat berupa agar. Diharapkan, distribusi ekstrak dapat merata dan homogen di dalam media pembiakan sehingga dapat diketahui secara pasti efek antijamur yang dihasilkan oleh ekstrak terhadap jamur *Candida albicans*. Melalui uji dilusi agar akan diketahui Kadar Hambat Minimal (KHM) dari ekstrak biji kopi robusta tersebut.

Pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan beberapa macam konsentrasi ekstrak biji kopi robusta dengan variasi konsentrasi 0% ; 0,5% ; 1% ; 1,5% dan 2%. Besarnya konsentrasi tersebut ditentukan berdasarkan penelitian pendahuluan (eksplorasi) yang sebelumnya sudah dilakukan oleh peneliti.

Berdasarkan hasil uji yang telah dilakukan dalam penelitian ini maka Kadar Hambat Minimal (KHM) yang diperoleh adalah 1,5% karena pada konsentrasi tersebut sudah tidak terdapat pertumbuhan koloni jamur. Pada penelitian ini juga menunjukkan semakin tinggi konsentrasi ekstrak biji kopi robusta maka semakin rendah pertumbuhan jamur *Candida albicans*.

Faktor penurunan pertumbuhan jamur *Candida albicans* dalam penelitian ini diduga karena ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*) memiliki efek untuk menghambat jamur *Candida albicans* dengan senyawa-senyawa kimia aktif yang dimilikinya seperti fenol, asam klorogenat dan flavonoid. Fenol sebagai antijamur

dapat merusak membran sel sehingga terjadi perubahan permeabilitas sel yang dapat mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel atau matinya sel jamur (Shahzad *et al.*, 2014). Dikatakan dalam penelitian Dewi (2015) tentang pengaruh ekstrak biji kopi robusta terhadap daya fagositosis sel monosit yang dipapar *Candida albicans* bahwa asam klorogenat dalam perannya sebagai antijamur adalah dengan menetralsasi enzim yang terkait dalam invasi jamur, merusak membran sel jamur dan menghambat sistem enzim jamur sehingga mengganggu terbentuknya ujung hifa dan mempengaruhi sintesis asam nukleat dan protein. Senyawa kimia aktif lain yang bertindak sebagai antijamur yaitu gugus flavonoid, karena dapat mendenaturasi protein dan dapat merusak membran sel yang bersifat *irreversible* (tidak dapat diperbaiki lagi) yang telah diteliti pada pemanfaatan ekstrak buah pare belut (*Trichosanthes anguina*) sebagai antijamur (Dewi, 2009). Zat tersebut juga diduga menghambat aktivitas membran sitoplasma DNA, menurunkan aktivitas enzim ATPase yang membuat sintesa DNA menjadi terhambat (Cushnie dan Lamb, 2005). Sehingga dapat disimpulkan bahwa senyawa aktif di dalam ekstrak yang digunakan pada beberapa penelitian di atas terbukti memiliki mekanisme sebagai antijamur seperti senyawa aktif yang terkandung pada biji kopi robusta (*Coffea canephora*).

Uji statistik penelitian ini awalnya dilakukan uji normalitas untuk melihat distribusi data normal atau tidak. Hasil uji normalitas menggunakan *Kolmogorov-Smirnov* sebab besar sampel penelitian ini ≥ 50 . Dari uji ini didapatkan nilai signifikansi 0,02 ($p < 0,05$) sehingga dapat diinterpretasikan bahwa biji kopi robusta efektif dalam menurunkan pertumbuhan koloni jamur *Candida albicans*.

Kemudian dilanjutkan dengan uji non-parametrik *Kruskal-Wallis*, dengan hasil memiliki nilai signifikansi sebesar 0.007, sehingga hipotesis H_0 ditolak dan H_1

diterima dengan interpretasi adanya perbedaan efek antijamur pada setiap pemberian konsentrasi ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*) terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Pada hasil uji korelasi *Spearman* didapatkan koefisien korelasi sebesar $-0,975$ menunjukkan bahwa adanya korelasi yang kuat pemberian ekstrak biji kopi robusta dalam menurunkan pertumbuhan koloni jamur *Candida albicans* sebesar $95,06\%$ yang didapatkan dari $R^2 \times 100\%$, sedangkan sisa sebesar $4,94\%$ disebabkan oleh faktor-faktor lain yang tidak diteliti.

Uji *Mann-Whitney* digunakan untuk mengetahui perbandingan antara jumlah koloni jamur *Candida albicans* yang tumbuh pada media SDA dengan pemberian konsentrasi ekstrak biji kopi robusta. Pertumbuhan koloni jamur *Candida albicans* pada media SDA kelompok konsentrasi 0% memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok yang diberi ekstrak biji kopi robusta konsentrasi $0,5\%$; 1% ; $1,5\%$ dan 2% ($p < 0,05$). Pertumbuhan koloni jamur *Candida albicans* yang dihasilkan pada media SDA kelompok konsentrasi $0,5\%$ memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok yang diberi ekstrak biji kopi robusta konsentrasi 1% ; $1,5\%$ dan 2% ($p < 0,05$). Pertumbuhan koloni jamur *Candida albicans* yang dihasilkan pada media SDA kelompok konsentrasi 1% memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok yang diberi ekstrak biji kopi robusta konsentrasi $1,5\%$ dan 2% ($p < 0,05$). Pertumbuhan koloni jamur *Candida albicans* pada media SDA kelompok konsentrasi $1,5\%$ tidak memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok yang diberi ekstrak biji kopi robusta konsentrasi 2% ($p > 0,05$). Uji statistik terakhir yaitu uji *Spearman* untuk melihat korelasi antara pemberian ekstrak biji kopi robusta terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Koefisien korelasi sebesar $-0,975$ menunjukkan bahwa kontribusi

pemberian ekstrak biji kopi robusta dalam menurunkan pertumbuhan koloni jamur *Candida albicans* sebesar 95,06% didapatkan dari $R^2 \times 100\%$, sedangkan sisa sebesar 4,94% disebabkan oleh faktor-faktor lain yang tidak diteliti. Sehingga dapat diartikan bahwa signifikansi memiliki arah korelasi negatif dan korelasi yang kuat.

Kekurangan dari penelitian ini adalah tidak didahului dengan penelitian pendahuluan dengan metode lain seperti difusi sumuran ataupun dilusi tabung sehingga tidak dapat mengetahui mekanisme ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*) dalam menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* melalui Kadar Bunuh Minimal (KBM) dan zona hambat pertumbuhan jamur. Kekurangan lainnya adalah tidak dilakukan uji kandungan senyawa kimia aktif secara langsung dalam ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*) untuk mengetahui senyawa kimia aktif mana yang memiliki efek antijamur paling kuat sehingga dibutuhkan penelitian lebih lanjut untuk hal tersebut. Lama waktu penyimpanan ekstrak juga kemungkinan mempengaruhi efek kepada antijamurnya, baik itu menurunkan ataupun menaikkan efektifitas ekstrak sehingga diperlukan penelitian mengenai lama waktu penyimpanan ekstrak. Selain itu, penelitian ini juga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pada hewan coba (*in vivo*) untuk meneliti sifat farmakokinetik, farmakodinamik, efek toksik, dosis infeksi dan memperkecil risiko penelitian pada manusia. Pengujian pada manusia (uji klinis) dan uji toksisitas juga dapat dilakukan untuk memastikan keamanan dan gambaran efek samping yang dapat ditimbulkan dari pemakaiannya pada manusia sehingga ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*) ini benar-benar aman untuk dapat dipakai di masyarakat untuk pengobatan infeksi *Candida albicans*.

BAB 7 PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Kesimpulan berdasarkan dari penelitian yang sudah dilakukan adalah:

1. Ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*) memiliki efek antijamur terhadap *Candida albicans* secara *in vitro*.
2. Kadar Hambat Minimum dari ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*) sebagai antijamur terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans* adalah konsentrasi 1,5%.

7.2 Saran

Saran yang dapat saya berikan berdasarkan penelitian ini adalah:

1. Perlu dilakukan penelitian tentang efek antijamur biji kopi robusta (*Coffea canephora*) terhadap bakteri *Candida albicans* secara *in vitro* dengan menggunakan metode selain dilusi agar untuk mengetahui Kadar Bunuh Minimum dan zona hambat pertumbuhan.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai kandungan bahan-bahan aktif yang memiliki efek antijamur terkuat, dosis pasti dan efek samping untuk penggunaan ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*) sebagai antijamur terhadap *Candida albicans*.
3. Perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui persentase kandungan senyawa kimia aktif dalam ekstrak biji kopi robusta.
4. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai hubungan lama penyimpanan ekstrak terhadap efek antijamur yang ditimbulkan oleh

ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*).

5. Perlu dilakukan penelitian mengenai efek ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*) lebih lanjut secara *in vivo* maupun uji klinis pada manusia.



DAFTAR PUSTAKA

- Amalia, S., Sri W., dan Eka k. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi n-Heksan Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus* Britton & Rose) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *Journal of Traditional Medicine* 19 (2) :89-94.
- Apak. et al. 2007. *Comparative Evaluation of Various Total Antioxidant Capacity Assay Applied to Phenolic Compounds with the CUPRAC Assay*. *Molecules*. 12:1496-1547
- Ayaz, A., Nagavarma, B.V.N., Yadav, H.K.S., Vasudha, L.S, Shikumar, H.G. 2008. *Different Techniques for Preparation of Polymeric Nanoparticles-a Riview*. *Asian J Pharm Clin Res*. 5(3):16-23.
- Balouri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S. K. 2016. *Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review*. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71-79
- Berghe, D.A.V, dan Vlietinck, A.J. 2010. *Screening Methods for Antibacterial and Antiviral Agent from Higher Plants*. In: *Method Plant Biochemistry*. Volume 6. London: Harcourt Brace-Javonovich. Halaman: 103-110
- CDC. 2016. *Candidiasis*. *Centers for Disease Control and Prevention*. Diakses pada tanggal 24 Desember 2018 dari <https://www.cdc.gov/fungal/disease/candidiasis/>
- Chaffin, W.L., Lopez-Ribot J.L., Casanova M., Gozalbo D., Martínez J.P. 2010. *Cell Wall and Secreted Proteins of Candida Albicans: Identification, Function, and Expression*. *Microbiol Mol Biol*. 62: 130–180.
- Chamidah, Shofyanatul. 2012. *Daya Antibakteri Ekstrak Biji Kopi Robusta (Coffea canephora) Terhadap Pertumbuhan Porphyomonas gingivalis*. Jember. Universitas Jember.
- Cushnie, T. P. & Lamb, A. J. 2005. *Antimicrobial activity of flavonoids*, *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26, 343–356.
- Dewi, Arum Kartika. 2015. *Pengaruh Ekstrak Biji Kopi Robusta Terhadap Daya Fagositosis Sel Monosit Yang Dipapar Candida albicans*. Jember. Universitas Jember.
- Dewi, Retno Candra. 2009. *Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Buah Pare Belut (Trichosanthes anguina L.)*. Surakarta. Universitas Sebelas Maret.
- Doloksaribu, Rianto. 2011. *Isolasi Senyawa Flavonoid dari Daun Timbuan Harimonting (Rhodomyrtus tomentosa W.ait.)* Universitas Sumatera Utara. Institutional Repository. Sumatera Utara
- Dzen, S. M., 2003. *Bakteriologi Medik*. Malang: Bayumedia.
- Edward, John E.. 2008. *Candidiasis*. In Harrison's Internal Medicine (17th Ed.). USA : McGraw – Hill.

Farhaty, N. dan Mughtaridi. 2017. *Tinjauan Kimian dan Aspek Farmakologi Senyawa Asam Klorogenat Pada Biji Kopi: Review.*

Fattouch, S., Caboni, P., Coroneo, V., Tuberoso, C.I., Angioni, A., Dessi, S., Marzouki, N., Cabras, P. 2007. *Antimicrobial Activity of Tunisian Quince (Cynodia Oblonga Miller) Pulp and Peel Polyphenolic Extracts.*

Forbes, B.A., Sahn, D.F., Weissfeld, A.S. 2007. *Laboratory methods and strategies for antimicrobial susceptibility testing. In: Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology, (12th ed.).* Mosby Inc., Elsevier. St.Louis, Missouri, USA. p. 187.

Forssten, S. D., Bjorkland. M, & Ouwehand, A. C. 2010. *Streptococcus mutans, Caries and Simulation Models, Nutrients. American Journal of Applied Sciences (2):* 290-298.

Hadioetomo, Ratna Siri. 2000. *Mikrobiologi Dalam Praktek.* Jakarta : PT. Gramedia

Harahap, H. I. 2012. *Daya Hambat Ekstrak Etanol Bunga Rosella (Hibiscus sabdarifa L.) terhadap Pertumbuhan Jamur Candida albicans secara In Vitro.* Skripsi. Banda Aceh: Universitas Syiah Kuala.

Harmita dan Radji, M. 2008. *Buku Ajar Analisis Hayati.* Edisi 3. Jakarta: EGC. Halaman 2.

Hattenschwiler, S dan Vitousek, P. M. 2000. *The Role of Polyphenols Interrestrial Ecosystem Nutrient Cycling.* Review PII: S0169- 5347(00)01861-9 TREE vol. 15. 6 Juni 2000

Hay RJ and Ashbee HR. 2010. Mycology. In Rook's Texbook of Dermatology (8th ed.). Oxford : Wiley-Blackwell; p. 36.5 – 36.56.

Hugo, W.B. and Russel, A.D. 2001. *Pharmaceutical Microbiology.* 6th edition. London: Blackwell Science.

ICD 10. 2016. *Candidiasis Unspecified.* Diakses pada tanggal 29 Desember 2018 dari www.icd10.com

Ibrahim, A.S., Mirbod F., Filler S.G., Banno Y., Cole G.T., Kitajima Y., Edwards J.J., Nozawa Y., Ghannoum M.A. 2007. *Evidence Implicating Phospholipase as A Virulence Factor of Candida albicans, Infect Immun.* 63-98.

Jawetz E, Melnick J, & Adelberg E. 1996. *Mikrobiologi Kedokteran.* Diterjemahkan oleh Edi Nugroho & Maulany RF. Edisi 20. Jakarta.

Jawetz, et al. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran 2.* Jakarta: Salemba Medika

Jawetz, E., Melnick, J.L., dan Adelberg, E.A. 2007. *Mikrobiologi Kedokteran.* Edisi 23. Jakarta : BUKU Kedokteran EGC. Halaman : 657-658.

Johnson, Bennet. 2005. *The parasexual cycle has been characterized in C. albicans.*

- Klenk, Alison S., Ann G Martin, Michael P Heffernan. 2003. *Fitzpatrick's dermatology in general medicine*. USA : McGraw-Hill.
- Kuleta, J.K., Maria R.K., and Andrzej K. 2009. *Fungi Pathogenic To Humans: Molecular Bases of Virulence of Candida Albicans, Cryptococcus Neoformans and Aspergillus Fumigates*, Acta Biochim. 56: 211-224.
- Lamonthe, R. G., Mitchell, G., Gattuso, M., Diarra, M.S dan Malouin, F. 2009. *Plant Antimicrobial Agents and Their Effects on Plant and Human Pathogens. International Journal of Molecular Sciences*. 10:3400-3419.
- Loeffler, J. and Stevens, D. A. 2003. *Antifungal drug resistance, Clinical Infectious Diseases*. Vol. 36, no. 1, pp. S31–S41.
- Luo, Z., Wang, H., Zhu, S., Ma, C., Wang, Z. 2011. *Antibacterial Activity and Mechanism of Action of Chlorogenic Acid*. J, Food Sci. 76, M398-M403.
- Miftah A, Kurniati, Rinasari U, Ervianti E. *Resistensi dan uji kepekaan antijamur terhadap Candida spp*. Berkala. 2009; 21(2): 140-8
- Murray, Rosenthal, Kobayashi, dan Pfaller. 2007. *Medicinal Microbiology*. Fourth edition. USA: Mosby Inc.
- Mycek, M.J. 2001. *Farmakologi Ulasan Bergambar*. Edisi 2. Jakarta: Widya Media.
- NHS. 2015. *Symptoms of fungal nail infection*. United Kingdom. Diakses pada tanggal 24 Desember 2018, dari [http://www.nhs.uk/Condition /Fungal-nailinfection/Pages/Introduction.aspx](http://www.nhs.uk/Condition/Fungal-nailinfection/Pages/Introduction.aspx).
- Noble, S. and Johnson, A.D. 2005. *Strains and Strategies for large-scale Gene Deletion Studies of the Diploid Human Fungal Pathogen, Candida albicans. Eukaryote. Cell*. 4:298-309
- Nuhu, Abdulmumin. 2013. *Bioactive Micronutrient in Coffee : Recent Analytical Approaches for Characterization and Quantification*. Hindawi Publishing Corporation *ISRN Nutrition* vol. 2014 , article ID 384230. Nigeria, pp 1-13
- Panggabean, Edy. 2011. *Buku Pintar Kopi*. Jakarta: PT. AgroMedia Pustaka.
- Perea, S., Gonzales, & Patterson, T. F. 2002, *In Vitro Interaction of Caspofungin Acetate with Voriconazole against Clinical Isolates of Aspergillus spp., Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 46 (9)
- Pelezar, M. J., Chan, E. C. S. 2002. *Dasar-Dasar Mikrobiologi 2*. Penerjemah: R. S. Hadioetomo, T. Imas, S. S. Tjitrosomo. Jakarta.
- Pratiwi, ST., 2008. *Mikrobiologi Farmasi*, Erlangga, Jakarta
- Rahardjo, Pudji. 2012. *Kopi: Panduan Budi Daya dan Pengolahan Kopi Arabika dan Robusta*. Jakarta: Penebar Swadaya.

Rahmawati, R. 2014. *Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sisik naga (Drymoglossum piloselloid (L.) Pesl) dan binahong (Anredera cordifolia (Ten.) Steenis) terhadap bakteri Streptococcus mutans*. Skripsi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Malang.

Ramali LM. 2004. *Kandidiasis kutan dan mukokutan. Dalam : Budimulja U, Kuswadi, Bramono K, Menaldi SL, Dwihastuti P, Widaty S, editor. Dermatomikosis superfisialis (Edisi ke-2)*. Jakarta : Balai Penerbit FKUI.

Ramanaviciene, Almira, Mostovojus, Viktoras, Bachmatova, Iriana and Ramanavicius, 2003. *Anti-bacterial Effect of Caffeine on Escherichia coli and Pseudomonas fluorescens*. *Acta Medica Lituanica*. Vol. 10 (4): 185-188.

Raut, Jayant S; Chauhan, Nitin M; Shinde, Ravikumar B; Karuppaiyil, S. Mohan. 2013. *Inhibition of Planktonic and biofilm growth of Candida albicans reveals novel antifungal activity of caffeine*. *Academic Journals. Journal of Medicinal Plants Research*. Vol. 7(13).

Richardson MD, Warnock DW. 2003. *Fungal infection*. (3rd Ed.). Oxford : Blackwell Publication

Scheinfeld, Noah S. (2016). *Cutaneous candidiasis clinical presentation*. Medscape. Diakses 29 Desember 2018, dari <http://emedicine.medscape.com/article/1090632-clinical#b4>.

Setiabudy, R dan Bahry, B. 2007. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi 5. Jakarta: Fakultas Kedokteran USU. Sumatera Utara.

Setyowati, H., Hananun, Z. H., dan Rr Putri, N. 2013. *Krim Kulit Buah Durian (Durio zibethinus L.) Sebagai Obat Herbal Pengobatan Infeksi Jamur Candida albicans*. *Media Farmasi Indonesia*, 8 (2): 1-7.

Shahzad, M., Sherry, L., Rajendran, R., Edwards, C. A., Combet, E., & Ramage, G. 2014. *Utilising polyphenols for the clinical management of Candida albicans biofilms*. *International journal of antimicrobial agents*, 44(3), 269-273.

Shu, C., Sun, L., & Zhang, W. 2016. *Thymol has antifungal activity against Candida albicans*. *Immunologic research*, 64(4), 1013-1024.

Simatupang, M. 2009. *Candida albicans*. Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran USU. Sumatera Utara.

Siregar, R. S. 2004. *Penyakit Jamur Kulit Edisi 2*. Jakarta: EGC.

Siswandono dan Soekardjo, B. 2000. *Kimia Medisinal*. Edisi 2. Surabaya.

Slutsky, B., Buffo J., Soll D.R. 2011. *High Frequency Switching of Colony Morphology in Candida Albicans*, *Science*. 230: 666-69.

Sovia Lenny. 2006. *Senyawa Flavonoida, Fenil Propanoida, Alkaloida*. *USU Repository*. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/phenil/flavonoida_hl=21docsum. Diakses pada tanggal 29 November 2017

Sulistiyawati, Dewi dan Sri Mulyati. 2009. *Uji Aktivitas Antijamur Infusa Daun Jambu Mete (Anacardium occidentale, L) terhadap Candida albicans*. *Biomedika*, Vol. 2, No. 1 : 47 – 50.

Tjampakasari, CR. 2006. *Karakteristik Candida akbicans*. *Cermin Dunia Kedokteran*. 151: 33-36.

Tortora Gerard J., et al. 2001. *Microbiology : An Introduction*. 7th edition. Pearson Education, USA.

Tortora, 2004, *Microbiology an Introduction 8th Edition*, 573-574, Pearson Education, Inc, San Fransisco.

Wiyowidagdo, S. 2008. *Kimia dan Farmakologi Bahan Alam*. Edisi Kedua. Jakarta.

Wolff K, Goldsmith LA, Katz SI, Gilchrest BA, Paller AS, Leffell DJ. 2008. *Fitzpatrick's dermatology in general medicine*. Edisi ke-7. New York: MacGraw-Hill, p. 21137-2142.

Yaqin, M. A., dan Nurmilawati, M. 2015. *Pengaruh Ekstrak Kopi Robusta (Coffea robusta) sebagai Penghambat Pertumbuhan Staphylococcus aureus*. Surakarta: Pendidikan Biologi FKIP UNS.