

**POTENSI ANTIMIKROBA EKSTRAK DAUN KOPI ROBUSTA
(*Coffea canephora*) TERHADAP BAKTERI *Pseudomonas
aeruginosa* SECARA IN VITRO**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



Oleh:

**Safira Aulia Febianti
NIM 185070101111048**

**PROGRAM STUDI SARJANA KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2021**

**POTENSI ANTIMIKROBA EKSTRAK DAUN KOPI ROBUSTA
(*Coffea canephora*) TERHADAP BAKTERI *Pseudomonas
aeruginosa* SECARA IN VITRO**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



Oleh:

**Safira Aulia Febianti
NIM 185070101111048**

**PROGRAM STUDI SARJANA KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2021**

HALAMAN PERSETUJUAN UJIAN

TUGAS AKHIR

POTENSI ANTIMIKROBA EKSTRAK DAUN KOPI ROBUSTA (*Coffea canephora*) TERHADAP BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa* SECARA IN VITRO

Untuk memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran

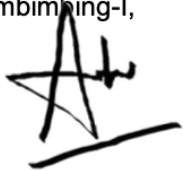
Oleh:

Safira Aulia Febianti

NIM 185070101111048

Menyetujui untuk diuji:

Pembimbing-I,



dr. Andrew William Tulle, M.Sc
NIK. 140783648

Pembimbing-II,



dr. Herwindo Dicky Putranto, Sp.M
NIP. 198108152014101001

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

POTENSI ANTIMIKROBA EKSTRAK DAUN KOPI ROBUSTA (*Coffea canephora*) TERHADAP BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa* SECARA IN VITRO

Oleh :

Safira Aulia Febianti

NIM : 185070101111048

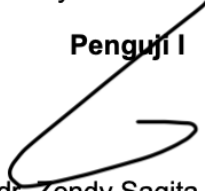
Telah diuji pada

Hari : Jumat

Tanggal : 3 Desember 2021

Dan dinyatakan lulus oleh :

Penguji I


dr. Zendy Sagita, Sp.M
NIK. 2018118801201001

Pembimbing I / Penguji II

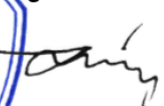

dr. Andrew William Tulle, M.Sc
NIK. 140783648

Pembimbing II / Penguji III


dr. Herwindo Dicky Putranto, Sp.M
NIP. 198108152014101001

Mengetahui,
Ketua Program Studi Pendidikan Dokter




dr. Triwahju Astuti, M.Kes., Sp.P(K)
NIP. 1963102219960

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Safira Aulia Febianti

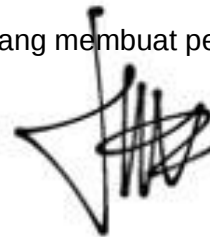
NIM : 185070101111048

Program Studi : Kedokteran, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya,

menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini benar-benar hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya. Apabila di kemudian hari dapat dibuktikan bahwa Tugas Akhir ini adalah hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang,

Yang membuat pernyataan,



Safira Aulia Febianti
NIM. 185070101111048

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur dipanjatkan hanya kepada Allah SWT yang telah memberikan petunjuk serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir dengan judul “Potensi Antimikroba Ekstrak Daun Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Secara In Vitro”.

Dengan selesainya Tugas Akhir ini, penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada semua pihak yang terlibat membantu dalam menyelesaikan Tugas Akhir ini, Terutama kepada :

1. Dr. dr. Wisnu Barlianto, Msi. Med, Sp.A(K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang yang telah memberi penulis kesempatan untuk menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
2. dr. Triwahju Astuti, M.Kes., Sp.P(K) selaku ketua Program Studi Sarjana Kedokteran yang telah membimbing penulis menuntut ilmu di PS Sarjana Kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya
3. dr. Andrew William Tulle, M.Sc selaku pembimbing pertama yang telah memberikan banyak bantuan pada penelitian Laporan Tugas Akhir ini, dengan sabar membimbing untuk dapat menulis dengan baik dan senantiasa memberikan semangat, sehingga penulis dapat menyelesaikan Laporan Tugas Akhir ini.
4. dr. Herwindo Dicky Putranto, Sp.M selaku dosen pembimbing kedua yang telah membantu dalam penelitian dan membimbing penulis dalam pengerjaan Laporan Tugas Akhir ini, serta senantiasa memberikan semangat sehingga penulis dapat menyelesaikan Laporan Tugas Akhir ini.

5. dr. Zendy Sagita, Sp.M selaku Ketua Tim Penguji Ujian Tugas Akhir yang telah memberikan masukan untuk menyempurnakan naskah Tugas Akhir.
6. Segenap anggota Tim Pengelola Tugas Akhir FKUB yang telah membantu penulis dalam melaksanakan Tugas Akhir dengan lancar.
7. Kepala Laboratorium dan jajaran staff di Laboratorium Mikrobiologi FKUB, Khususnya Ibu Uchi selaku analis yang telah membantu penulis dalam melakukan penelitian untuk Laporan Tugas Akhir ini.
8. Kepala Laboratorium dan jajaran staff di Laboratorium Farmakologi FKUB Khususnya Ibu Ferrida atas bantuan dalam penelitian untuk Laporan Tugas Akhir.
9. Kepada Orangtua penulis, Bapak Roy dan Ibu Ariyanti serta Kakak penulis Aditya dan Sofi, terimakasih atas segala kasih sayang, dukungan dan perhatian serta doa kepada penulis.
10. Kepada sahabat satu penelitian penulis Melina Suhartono terimakasih atas segala hal yang telah dilewati bersama serta kepada Shafira, Bella, Mela dan teman-teman angkatan PD 2018 yang selalu memberikan semangat.
11. Dan kepada semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan Tugas Akhir ini.

Penulis menyadari bahwa Tugas Akhir ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, penulis membuka diri untuk kritik dan saran yang membangun dari semua pihak. Semoga Tugas Akhir ini dapat bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang,

Penulis

ABSTRAK

Febianti, Safira Aulia. 2021. **Potensi Antimikroba Ekstrak Daun Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Secara In Vitro**. Tugas akhir, Program Studi S1 Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) dr Andrew William Tulle, M.Sc. (2) dr. Herwinda dicky Putranto, Sp.M

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri Gram negatif yang dapat menjadi patogen oportunistik dan menyebabkan infeksi nosokomial. Bakteri ini menjadi patogen saat masuk ke tubuh seseorang dengan gangguan fungsi pertahanan tubuh. Resistensi *Pseudomonas aeruginosa* terhadap beberapa kelas antibiotik menyulitkan pemberian terapi kepada pasien yang telah terinfeksi. Daun Kopi Robusta (*Coffea canephora*) diketahui memiliki senyawa aktif yang bersifat antibakteri seperti alkaloid, saponin, flavonoid dan asam klorogenat. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi ekstrak etanol daun kopi robusta (*Coffea canephora*) sebagai antimikroba terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* secara In Vitro. Metode yang digunakan adalah metode difusi sumuran dengan konsentrasi ekstrak etanol daun kopi robusta (*Coffea canephora*) sebesar 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, serta kontrol negatif berupa akuades dan kontrol positif berupa antibiotik *Ceftazidim* konsentrasi 0.095 µg/ml dengan pengulangan sebanyak empat kali untuk tiap konsentrasi. Hasil penelitian menunjukkan terbentuknya zona hambat pada pemberian ekstrak daun kopi robusta pada konsentrasi 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% dan kontrol negatif dengan rata – rata zona hambat secara berurutan sebesar 8 mm, 8,625 mm, 9,775 mm, 10,75 mm, 12,125 mm, 13,15 mm dan 6 mm. Sedangkan pada kontrol positif dengan *Ceftazidim* didapatkan diameter zona hambat sebesar 7.8 mm. Hasil uji *One-way ANOVA* didapatkan nilai $p < 0.05$ menunjukkan perbedaan signifikan antara seluruh kelompok perlakuan terhadap rerata diameter zona hambat. Dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun kopi robusta memiliki potensi sebagai antimikroba terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* secara In Vitro.

Kata Kunci : *Pseudomonas aeruginosa*, Ekstrak daun kopi robusta, antimikroba

ABSTRACT

Febianti, Safira Aulia. 2021. **Antimicrobial Potential of Robusta Coffee (*Coffea canephora*) Leaf Extract Against *Pseudomonas aeruginosa* Bacteria In Vitro**. Final Assignment, Medical Program, Faculty of Medicine, Brawijaya University. Supervisors : (1) dr Andrew William Tulle, M.Sc. (2) dr. Herwindo Dicky Putranto, Sp.M

Pseudomonas aeruginosa is a Gram negative bacteria that can act as an opportunistic pathogen and cause nosocomial infections. These bacteria become pathogenic when they enter the body of a person with immunocompromised. *Pseudomonas aeruginosa* resistance against several classes of antibiotics cause difficulty in choosing therapy for patients who have been infected. Robusta coffee leaves (*Coffea canephora*) are known to have antibacterial active compounds such as alkaloids, saponins, flavonoids and chlorogenic acid. The purpose of this study was to determine the potential of ethanol extract of robusta coffee (*Coffea canephora*) leaves as an antimicrobial against *Pseudomonas aeruginosa* bacteria in vitro. The study used the well diffusion method with a concentration of ethanol extract of robusta coffee (*Coffea canephora*) leaves of 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, aquadest as a negative control and 0.095 µg/ml antibiotic Cefotaxime as a positive control. Each treatment was repeated four times. The results showed the presence of inhibition zones at each concentration with average diameter at the concentrations of 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% and negative control were 8 mm, 8.625 mm, 9.775 mm, 10.75 mm, 12.125 mm, 13.15 mm and 6 mm respectively. Meanwhile, the positive control showed an inhibition zone with diameter 7.8 mm. The p value of the One-way ANOVA test was <0.05, indicating a significant difference between all treatment groups to the average diameter of the inhibition zone. As conclusion, the ethanolic extract of robusta coffee leaves has potential as antimicrobial against *Pseudomonas aeruginosa* bacteria in vitro.

Key words : *Pseudomonas aeruginosa*, Robusta coffee leaf extract, antimicrobial

DAFTAR ISI

Halaman Judul	i
Halaman Persetujuan	ii
Halaman Pengesahan	iii
Pernyataan Keaslian Tulisan	iv
Kata Pengantar	v
Abstrak	vii
Abstract	viii
Daftar Isi	ix
Daftar Gambar	xiv
Daftar Tabel	xv
Daftar Lampiran	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 Akademik	5
------------------------------	---

1.4.2 Manfaat Praktis	5
-----------------------------	---

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6
---	---

2.1.1 Taksonomi	6
-----------------------	---

2.1.2 Morfologi <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7
---	---

2.1.3 Media Pembenihan dan Karakteristik Pertumbuhan	7
--	---

2.1.4 Patogenisitas	9
---------------------------	---

2.1.5 Manifestasi Klinis	11
--------------------------------	----

2.1.6 Mekanisme Resistensi	12
----------------------------------	----

2.1.7 Pengobatan	13
------------------------	----

2.2 Kopi Robusta (<i>Coffea canephora</i>)	14
--	----

2.2.1 Tinjauan Umum	14
---------------------------	----

2.2.2 Taksonomi	14
-----------------------	----

2.2.3 Morfologi	15
-----------------------	----

2.2.4 Kandungan Kopi Robusta	16
------------------------------------	----

2.2.5 Uji kepekaan Bakteri sebagai Antimikroba	19
--	----

BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep	21
---------------------------	----

3.2 Keterangan Kerangka Konsep	22
--------------------------------------	----

3.3 Hipotesis Penelitian	23
--------------------------------	----

BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian	24
--------------------------------	----

4.2 Populasi dan Sampel Penelitian	24
--	----

4.3 Pengulangan	25
-----------------------	----

4.4 Waktu dan Tempat Penelitian	26
---------------------------------------	----

4.5 Variabel Penelitian	26
-------------------------------	----

4.5.1 Variabel Terikat atau Dependent variable	26
--	----

4.5.2 Variabel Bebas atau Independent Variable	26
--	----

4.6 Definisi Operasional	27
--------------------------------	----

4.7 Bahan dan Alat Penelitian	28
-------------------------------------	----

4.7.1 Alat dan Bahan untuk Identifikasi Bakteri	28
---	----

4.7.2 Alat dan Bahan untuk Metode Difusi Sumuran	29
--	----

4.7.3 Alat dan Bahan untuk Metode Maserasi	30
--	----

4.8 Prosedur penelitian	31
-------------------------------	----

4.8.1 Identifikasi Bakteri	31
----------------------------------	----

4.8.2 Pembuatan Pembenihan Cair Bakteri Kepadatan 10^8 CFU/ml	35
---	----

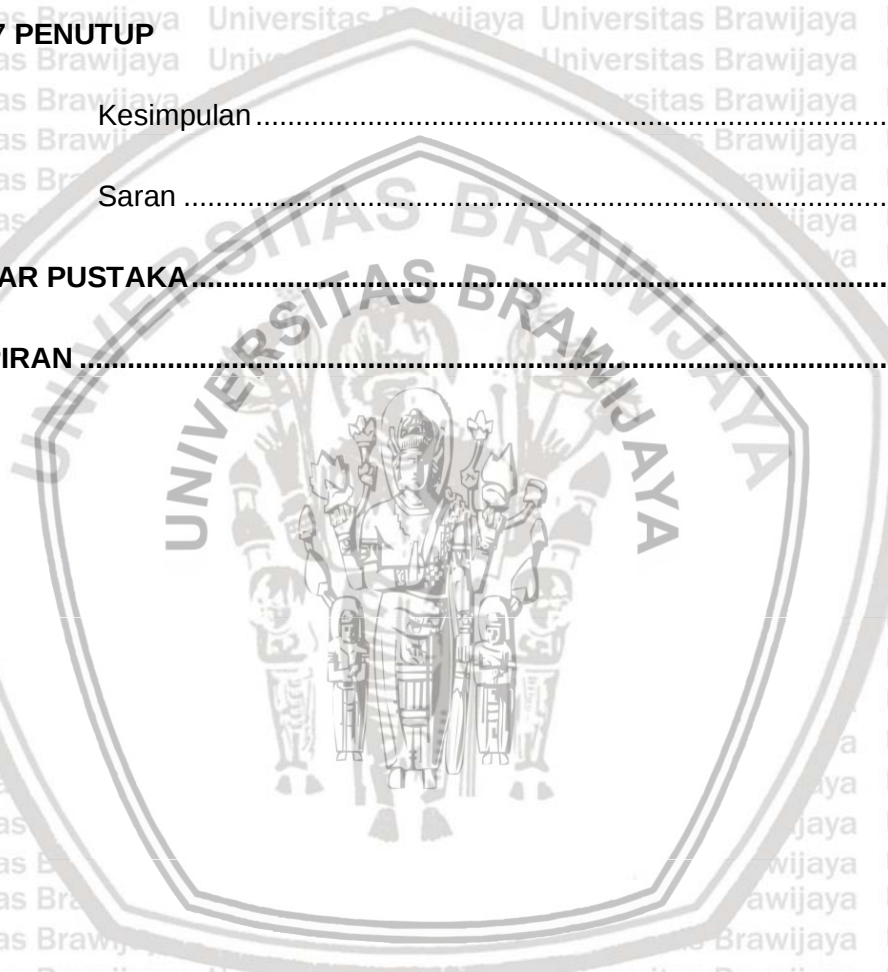
4.8.3 Pembuatan Ekstrak Daun Kopi Robusta	36
---	----

4.8.4 Pengujian Efek Antimikroba Ekstrak Etanol Daun Kopi Robusta	37
---	----

4.8.5 Pengamatan dan Pengukuran	42
---------------------------------------	----

4.8.6 Skema Prosedur Penelitian	43
4.9 Analisis Data	44
4.9.1 Uji Normalitas	44
4.9.2 Uji Homogenitas	44
4.9.3 Uji Komparasi	44
4.9.4 Uji Post Hoc Tukey	45
4.9.5 Uji Korelasi	45
4.9.6 Uji Regresi	45
4.10 Jadwal Kegiatan	46
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA	
5.1 Hasil Penelitian	47
5.1.1 Hasil Identifikasi Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	47
5.1.2 Hasil Ekstrak Etanol Daun Kopi Robusta	50
5.1.3 Hasil Penelitian Pendahuluan Menggunakan Metode Difusi Sumuran	51
5.1.4 Hasil Penelitian Inti Menggunakan Metode Difusi Sumuran	52
5.1.5 Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri	54
5.2 Analisis Data	58
5.2.1 Hasil Uji Normalitas dan Homogenitas	58
5.2.2 Hasil Uji <i>One-way</i> ANOVA	60
5.2.3 Hasil Uji <i>Post-Hoc</i> Tukey	61

5.2.4 Hasil Uji Korelasi.....	62
5.2.5 Hasil Uji Regresi.....	64
BAB 6 PEMBAHASAN	66
BAB 7 PENUTUP	75
7.1 Kesimpulan	75
7.2 Saran	76
DAFTAR PUSTAKA.....	77
LAMPIRAN.....	83



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2. 1 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> pada pewarnaan gram.....	7
Gambar 2. 2 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> pada media Muller Hinton agar.....	9
Gambar 2. 3 Tanaman Kopi Robutsa.....	15
Gambar 2. 4 Daun Kopi Robusta	16
Gambar 4. 1 Pengukuran Diameter Zona Inhibisi.....	42
Gambar 5. 1 Hasil Uji Oksidase Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Positif.....	47
Gambar 5. 2 Hasil Pewarnaan Gram	48
Gambar 5. 3 Kultur Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> pada Nutrient Agar.....	49
Gambar 5. 4 Uji Biokimia VITEK Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	50
Gambar 5. 5 Hasil Ekstrak Etanol Daun Kopi Robusta.....	51
Gambar 5. 6 Hasil Penelitian Pendahuluan	52
Gambar 5. 7 Hasil Penelitian Inti.....	54
Gambar 5. 8 Grafik Hasil Pengukuran Rerata Diameter Zona Hambat terhadap Pemberian Ekstrak Etanol Daun Kopi Robusta.....	56
Gambar 5. 9 Grafik Hasil Pengukuran Rerata Diameter Zona Hambat terhadap Pemberian Antibiotik Ceftazidim	57
Gambar 5. 10 Grafik Korelasi Jumlah Perlakuan Terhadap Diameter Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri.....	64

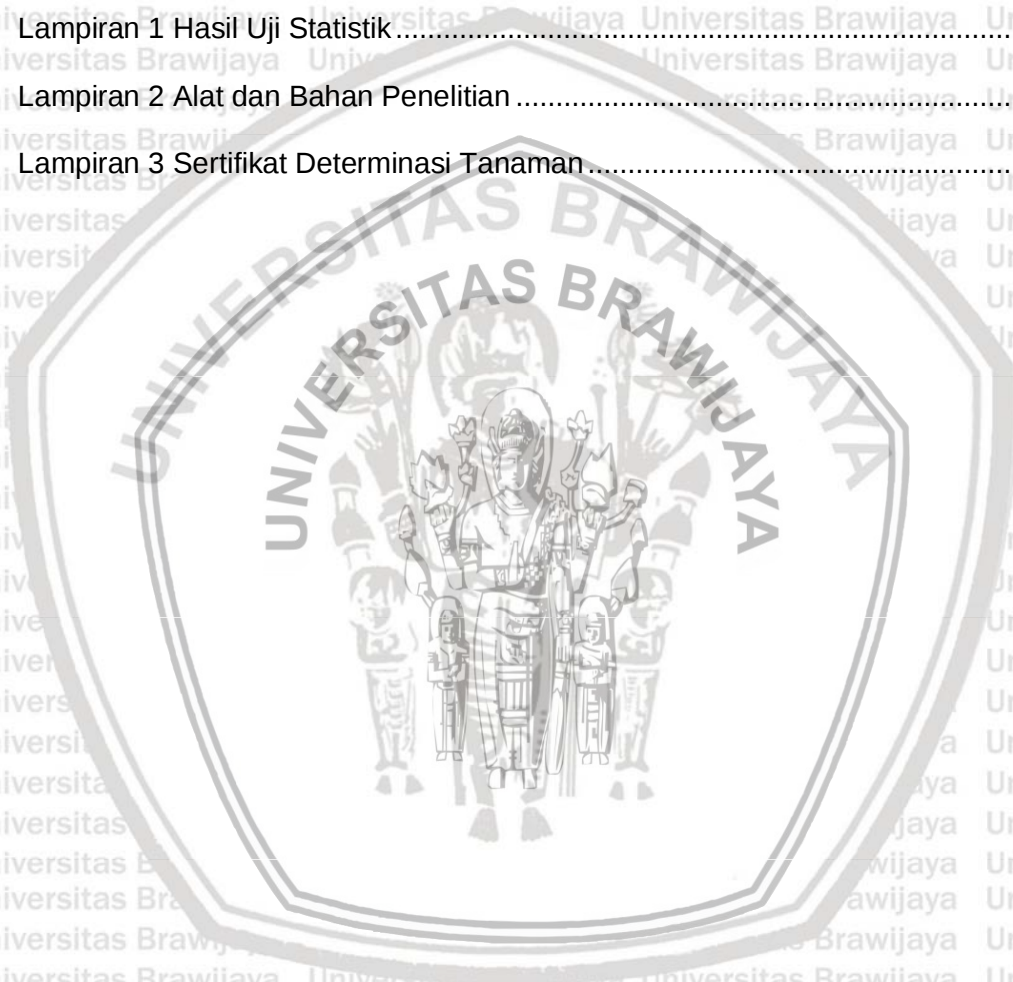
DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 5. 1 Hasil Perhitungan Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol Daun Kopi	55
Tabel 5. 2 Hasil Perhitungan Diameter Zona Hambat Antibiotik Ceftazidim	57
Tabel 5. 3 Nilai Signifikansi Uji Normalitas <i>Saphiro-Wilk</i>	59
Tabel 5. 4 Nilai Signifikansi Hasil Uji Homogenitas <i>Levene</i>	60
Tabel 5. 5 Nilai signifikansi Hasil Uji <i>One-way ANOVA</i>	61
Tabel 5. 6 Nilai Signifikansi Hasil Uji <i>Post-Hoc Tukey</i>	62
Tabel 5. 7 Hasil Uji Korealsi <i>Person</i>	63
Tabel 5. 8 Hasil Uji Regresi	65
Tabel 6. 1 Hasil Pengamatan Aktivitas Ekstrak Daun Kopi Robusta.....	72

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1 Hasil Uji Statistik	83
Lampiran 2 Alat dan Bahan Penelitian	89
Lampiran 3 Sertifikat Determinasi Tanaman	89



DAFTAR SINGKATAN

µg	: Mikrogram
ADP	: Adenosin Difosfat
CFU/ml	: <i>Coloni Forming Unit/millimeter</i>
CNS	: <i>Central Nervous System</i>
DNA	: Asam Deoksiribonukleat
EF-2	: <i>Elongation Factor-2</i>
ICU	: <i>Intensive Care Unit</i>
IL-8	: Interleukin-8
K (-)	: Kontrol Negatif
K (+)	: Kontrol Positif
KBM	: Kadar Bunuh Minimal
KHM	: Kadar Hambat Minimum
ml	: Mililiter
mm	: Milimeter
NAD	: Nikotinamida Adenina Dinukleotida
NHSN	: <i>National Healthcare Safety Network</i>
PBP	: <i>Protein Binding Penicilin</i>
ppm	: <i>Parts per million</i>
RNA	: Asam Ribonukleat
SPSS	: <i>Statistic Product of Service Solution</i>

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit infeksi masih merupakan penyakit yang paling banyak diderita di negara berkembang, termasuk Indonesia. Infeksi disebabkan oleh mikroorganisme patogen yang salah satunya adalah bakteri (Radji, 2011). Salah satu bakteri penyebab infeksi ialah bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang merupakan bakteri oportunistik dan dapat menyebabkan infeksi nosokomial. Prevalensi infeksi nosokomial berdasarkan data WHO yaitu lebih dari 4 juta pasien terkena setiap tahun di Eropa dan 1,7 juta pasien yang terkena di Amerika Serikat (WHO, 2010). Angka insiden infeksi nosokomial yang disebabkan oleh bakteri *Pseudomonas aeruginosa* terjadi sekitar 10-15% di dunia dan sekitar 10-20% pada unit perawatan intensif (ICU) (Biswal, et al., 2014) Menurut data dari *National Healthcare Safety Network (NHSN)*, saat ini *Pseudomonas aeruginosa* berada pada urutan kelima di antara bakteri yang paling umum menyebabkan infeksi nosokomial di rumah sakit di Amerika Serikat dan berada pada urutan kedua diantara bakteri Gram negatif yang menjadi penyebab utama infeksi (Ranjan, et al., 2010). Tingkat infeksi sangat tinggi terjadi pada pasien yang dirawat di *Intensive Care Unit (ICU)* dan pasien yang membutuhkan *Long-Term Acute Care Hospital* (Riedel, et al., 2019). Pasien di *Intensive Care Unit (ICU)* mempunyai risiko besar mengalami infeksi karena pertahanan tubuh yang menurun,

Pemantauan secara invasif, ditambah paparan berbagai macam antibiotik dan kolonisasi bakteri yang telah resisten (Noer, 2011).

Pseudomonas aeruginosa tersebar luas di alam dan sering ditemukan di lingkungan yang lembab di rumah sakit. *Pseudomonas aeruginosa* dapat bersifat patogen bila masuk ke tubuh seseorang dengan gangguan fungsi pertahanan tubuh, misalnya pada membran mukosa dan kulit yang robek. Hal tersebut dapat disebabkan karena kerusakan jaringan langsung seperti pada kasus luka bakar, maupun pada pemakaian kateter intravena, dan pada neutropenia pada penyakit kanker yang dilakukan kemoterapi. Bakteri yang menempel dan membentuk koloni pada mukosa atau kulit kemudian masuk ke dalam tubuh secara lokal dan menyebar, sehingga menyebabkan infeksi sistemik (Riedel, et al., 2019). Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dapat menyebabkan banyak penyakit infeksi seperti dermatitis, otitis eksterna, folikulitis, infeksi mata, dan infeksi pada luka bakar. Selain itu *Pseudomonas aeruginosa* juga dapat menyebabkan infeksi saluran napas bagian bawah, saluran kemih, dan organ lain. Prevalensi terbesar bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ditemukan di bangsal luka bakar atau unit perawatan penyakit kanker yaitu mencapai lebih dari 30% (Radji, 2011).

Resistensi *Pseudomonas aeruginosa* terhadap beberapa kelas antibiotik telah menyulitkan pemberian terapi pada pasien yang terinfeksi bakteri ini (Stacey et al., 2003). Secara umum, mekanisme utama resistensi *Pseudomonas aeruginosa* dapat diklasifikasikan menjadi resistensi intrinsik, didapat dan adaptif. *Pseudomonas aeruginosa* secara intrinsik resisten melalui proses restriksi permeabilitas membran luar, sistem pompa *efflux* dan produksi enzim yang menonaktifkan antibiotik seperti β -

laktamase. Mekanisme resistensi yang didapat diperoleh melalui transfer horizontal materi gen resistensi dan atau proses mutasi (Pang, et al., 2019). Beberapa antibiotik yang sudah resisten meliputi florokuinolon, makrolida, ampicilin, amoksisilin, amoksisilin klavulanat, sefalosporin generasi pertama dan kedua serta seftriakson dan sefotaksim (Riedel, et al., 2019). Para peneliti berusaha melakukan berbagai upaya untuk mengatur penggunaan antibiotik serta melakukan berbagai penelitian untuk mengetahui mekanisme resistensi bakteri secara genetik dan juga berupaya menemukan obat baru, baik yang diperoleh secara sintetik maupun dari alam (Karadi dkk., 2011).

Kopi merupakan salah satu komoditi hasil perkebunan yang mempunyai peran cukup penting dalam kegiatan perekonomian di Indonesia. Selain peluang ekspor yang semakin terbuka, pasar kopi di dalam negeri masih cukup besar (Ditjenbun, 2019). Penduduk Indonesia biasanya mengolah biji kopi sebagai bahan baku minuman, sedangkan ampas sisanya dibuang. Beberapa penelitian mengatakan bahwa ampas kopi mengandung senyawa aktif yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri. Selain ampas biji kopi, daun kopi robusta diketahui juga memiliki senyawa aktif yang bersifat antibakteri. Senyawa-senyawa aktif dalam daun kopi yang memiliki efek antibakteri yaitu alkaloid, saponin, flavonoid dan polifenol. Walaupun daun kopi ini tersedia sepanjang tahun, namun belum dimanfaatkan secara maksimal dan setelah proses pemanenan daun kopi hanya menjadi limbah (Hartati, 2019).

Penelitian yang telah dilakukan sebelumnya membuktikan bahwa ekstrak methanol daun kopi memiliki kandungan antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, dan *Escherichia coli* (Nayeem, 2011). Penelitian yang lain

oleh Dephinto, menunjukkan bahwa ekstrak daun kopi robusta memiliki kemampuan terbaik dalam menghambat pertumbuhan bakteri pada konsentrasi 1000 ppm. Efek tersebut ditunjukkan terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan efektifitas antibakterinya sebesar 0,549 dibandingkan dengan Tetrasiklin sebagai kontrol positif (Dephinto dan Muslim, 2017).

Dengan adanya penelitian-penelitian terdahulu yang menunjukkan adanya efek anti bakteri pada daun kopi robusta, serta belum terdapat penelitian yang menguji efek antimikroba pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* maka penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek antimikroba ekstrak daun kopi robusta (*Coffea canephora*) terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* secara *In Vitro*.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah Ekstrak Daun Kopi Robusta (*Coffea canephora*) memiliki potensi antimikroba terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* secara *In Vitro*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui potensi Ekstrak Etanol Daun Kopi Robusta (*Coffea canephora*) sebagai antimikroba terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* secara *In Vitro*.

1.3.2 Tujuan Khusus

Mengetahui konsentrasi efektif ekstrak daun kopi robusta (*Coffea canephora*) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan metode difusi sumuran.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

Hasil penelitian ini diharapkan dapat dipergunakan sebagai ilmu pengetahuan tambahan dalam bidang kedokteran dan sebagai dasar untuk pengembangan penelitian selanjutnya khususnya tentang potensi pengobatan infeksi *Pseudomonas aeruginosa* menggunakan ekstrak etanol daun kopi robusta (*Coffea canephora*).

1.4.2 Manfaat Praktis

1. Hasil penelitian ini diharapkan dapat membantu pengobatan infeksi yang disebabkan oleh *Pseudomonas aeruginosa* yang efektif dan tidak resisten.
2. Hasil penelitian ini diharapkan dapat membuka peluang dikembangkannya ekstrak daun kopi robusta sebagai bahan untuk pengembangan antibiotik berskala industri.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa tersebar luas di alam dan sering ditemukan di lingkungan yang lembab di rumah sakit. *Pseudomonas aeruginosa* merupakan patogen utama dalam grup *Pseudomonas*. Bakteri ini dapat membentuk koloni pada berbagai lokasi di tubuh manusia, dan bertindak sebagai saprofit. Bakteri ini dapat menyebabkan penyakit bila masuk ke tubuh seseorang dengan gangguan fungsi pertahanan tubuh (Riedel, et al., 2019). *Pseudomonas aeruginosa* merupakan patogen oportunistik yang menyebabkan infeksi saluran kemih, infeksi saluran pernafasan, dermatitis, infeksi jaringan lunak, bakteremia dan bermacam-macam infeksi sistemik terutama pada penderita luka bakar berat, kanker dan penderita AIDS (Mayasari, 2006).

2.1.1 Taksonomi

Taksonomi dari bakteri *Pseudomonas aeruginosa* adalah sebagai berikut (Peix, 2009) :

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Proteobacteria
Ordo	: Pseudomonadales

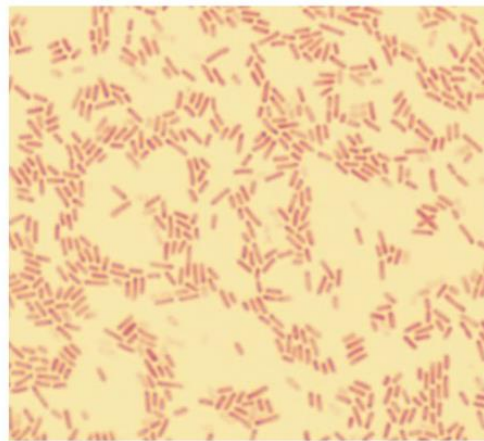
Family : Pseudomonadaceae

Genus : *Pseudomonas*

Spesies : *Pseudomonas aeruginosa*

2.1.2 Morfologi *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri berbentuk batang, motil dan berukuran sekitar 0,6 x 2 mm. Bakteri ini termasuk ke dalam bakteri gram negatif dan dapat terlihat dalam bentuk tunggal, berpasangan atau kadang-kadang dalam bentuk rantai pendek (Riedel, et al., 2019). *Pseudomonas aeruginosa* dapat bergerak aktif dengan satu atau lebih flagel yang terletak pada kedua ujungnya. Bakteri ini tidak berspora dan tidak berselubung (Mishnadiarly dan Djajaningrat, 2014).



Gambar 2. 1 *Pseudomonas aeruginosa* pada pewarnaan gram (Riedel, et al., 2019).

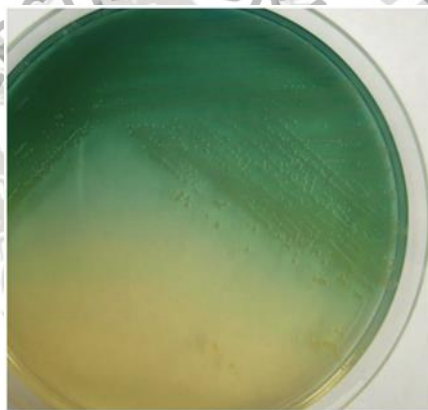
2.1.3 Media Pembenihan dan Karakteristik Pertumbuhan

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri bersifat obligat aerob yang tumbuh dengan mudah pada berbagai jenis media pembiakan. *Pseudomonas aeruginosa* menghasilkan aroma yang manis dan berbau seperti anggur atau jagung,

dengan beberapa strain mampu menghemolisis darah. Bakteri ini menghasilkan pigmen kebiruan tidak berfluoresensi disebut piosianin yang berdifusi ke dalam agar. Selain itu, mampu pula menghasilkan pigmen pioverdin berfluoresensi yang memberikan warna kehijauan pada agar. Beberapa strain juga menghasilkan pigmen piorubin yang berwarna merah gelap atau pigmen piomelanin berwarna hitam. Pada media *Muller Hinton*, koloni *Pseudomonas aeruginosa* menghasilkan gambaran berwarna kehijauan yang merupakan produksi dari pigmen piosianin dan pioverdin secara bersamaan (Riedel, et al., 2019). *Pseudomonas aeruginosa* tumbuh baik pada suhu 37°-42°C. Bakteri ini bersifat oksidase positif dan tidak memfermentasi karbohidrat. Pembeda bakteri ini dengan spesies *Pseudomonas* yang lain dalam kelompok fluoresensi ialah kemampuannya tumbuh dengan baik pada suhu 42°C (Riedel, et al., 2019).

Pseudomonas aeruginosa dapat tumbuh dengan cepat pada berbagai jenis media pembiakan sederhana seperti Nutrient Agar. Bakteri ini tidak memiliki kebutuhan nutrisi yang rumit dan dapat tumbuh menggunakan molekul sederhana seperti amonia dan karbondioksida (Ahmad et al., 2014). Umumnya media Nutrient agar dan MacConkey digunakan pada penelitian di Laboratorium. Pada media *MacConkey* koloni *Pseudomonas aeruginosa* berbentuk koloni yang jernih atau pucat, hal ini dikarenakan bakteri bersifat tidak meragikan laktosa. Nutrient agar merupakan medium yang mengandung banyak nutrisi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri, dalam medium ini *Pseudomonas aeruginosa* tampak koloni berwarna kehijauan karena produksi pigmen pyoverdin disertai bau manis yang khas (Batra, 2018).

Pseudomonas aeruginosa membentuk biofilm sebagai bentuk pertahanan saat membentuk koloni di paru-paru manusia. Biofilm merupakan kumpulan koloni sel-sel mikroba yang menempel pada suatu permukaan, seperti kateter intravena, atau jaringan paru. Keberadaan alginat memungkinkan *Pseudomonas aeruginosa* untuk membentuk biofilm. Alginat juga dapat melindungi bakteri dari pertahanan tubuh inang, seperti limfosit, fagosit, silia di saluran pernafasan, antibodi, dan komplemen. Alginat berbentuk gel kental di sekeliling bakteri yang merupakan suatu eksopolisakarida polimer dari glucuronic acid dan mannuronic acid (Madigan, 2003).



Gambar 2. 2 *Pseudomonas aeruginosa* pada media Muller Hinton agar (Riedel, et al., 2019).

2.1.4 Patogenisitas

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri yang dapat menginfeksi sistem jaringan atau organ pada inang dengan kondisi *immunocompromised*. Bakteri ini merupakan penyebab paling umum kejadian infeksi pada pasien di rumah sakit. Manifestasi klinis yang dihasilkan tergantung pada sistem organ yang terinfeksi. (Roosjen, 2006). *Pseudomonas aeruginosa* menjadi patogen bila masuk ke tubuh seseorang dengan gangguan fungsi pertahanan tubuh, misalnya pada membran

mukosa dan kulit yang robek. Hal ini dapat terjadi akibat kerusakan jaringan langsung seperti pada kasus luka bakar, maupun pada pemakaian kateter intravena, dan pada neutropenia penyakit kanker yang mendapatkan kemoterapi. Bakteri yang menempel dan membentuk koloni pada mukosa atau kulit akan masuk ke dalam tubuh secara lokal dan menyebar, sehingga menyebabkan infeksi sistemik (Riedel, et al., 2019).

Pseudomonas aeruginosa merupakan patogen oportunistik. Faktor - faktor yang berpengaruh pada patogenitas bakteri ini yaitu produksi eksotoksin A yang dapat membunuh sel inang dengan menghambat sintesis protein. Eksotoksin A mengkatalisis pemindahan sebagian ADP-ribosil dari NAD kepada EF-2 menghasilkan kompleks ADP-ribosil-EF-2 yang dapat menginaktivasi sintesis protein, sehingga mengacaukan fungsi fisiologi sel normal (Riedel, et al., 2019). Selain itu, eksoenzim S dan T dapat mempengaruhi sitoskeleton dan memproduksi enzim protease seperti elastase dan hemolisin, seperti phospholipase C yang dapat menghancurkan sel dan jaringan (Tille, 2016).

Pseudomonas aeruginosa memiliki struktur pada permukaan berbentuk pili yang dapat membantu memperkuat perlekatan pada sel inang. Beberapa strain menghasilkan alginat yang dapat menghambat fagositosis serta melindungi bakteri dari dehidrasi dan aktivitas antibiotik (Tille, 2016). Lipopolisakarida yang ada dalam berbagai immunotipe bertanggung jawab terhadap sebagian besar dari sifat endotoksin. *Pseudomonas aeruginosa* dapat digolongkan jenisnya berdasarkan pada immunotipe lipopolisakarida dan kerentanannya pada piosin (bakteriosin). Pada *Pseudomonas aeruginosa* yang berasal dari infeksi klinis menghasilkan enzim ekstraseluler, termasuk elastase, protease, dan dua hemolisin yaitu fosfolipase C

yang tidak tahan panas dan glikolipid yang tahan panas. Selain itu, piosianin yang dihasilkan oleh *Pseudomonas aeruginosa* bertanggung jawab pada produksi hidrogen peroksida dan superoksida serta merangsang pelepasan IL-8 yang berfungsi sebagai atraktan untuk neutrophil. Lipopolisakarida berperan dalam menyebabkan demam, syok, oliguria, leukositosis dan leukopenia, serta koagulasi intravaskular diseminata dan sindrom gangguan pernapasan pada orang dewasa (Riedel, et al., 2019).

2.1.5 Manifestasi Klinis

Pseudomonas aeruginosa dapat menimbulkan manifestasi klinis pada semua jaringan atau organ yang dijangkiti. Individu yang paling beresiko ialah individu dengan gangguan pertahanan tubuh. Manifestasi klinis dapat berupa infeksi lokal maupun sistemik. Secara lokal *Pseudomonas aeruginosa* dapat menimbulkan manifestasi klinis yang bervariasi sesuai dengan organ yang dijangkiti. Infeksi pada mata dapat menyebabkan bakterial keratitis dan endophtalmitis, Infeksi pada telinga dapat menyebabkan otitis eksterna atau *swimmer's ear* dan otitis eksterna invasif. Sedangkan infeksi pada kulit dapat menyebabkan luka infeksi, pyoderma dan dermatitis (Cornelissen, et al., 2013).

Infeksi *Pseudomonas aeruginosa* biasanya terjadi pada pasien rawat inap yang menjalani kateterisasi saluran kemih, pembedahan atau transplantasi ginjal.

Bakteri ini juga dapat menginfeksi pasien yang diintubasi atau menggunakan ventilator selama beberapa hari. *Pseudomonas aeruginosa* dapat menyebabkan pneumonia pada individu dengan penyakit paru kronis, gagal jantung kongestif, atau infeksi fibrosis kistik. Infeksi *Pseudomonas aeruginosa* pada gastrointestinal dapat menyebabkan penyakit diare ringan hingga berat, menyebabkan enterocolitis nekrosis

pada bayi dan pasien neutropenik. Pada CNS infeksi *Pseudomonas aeruginosa* dapat menyebabkan meningitis dan abses otak terutama pada pasien dengan trauma, riwayat pembedahan atau tumor di kepala atau leher. Infeksi lokal memiliki potensi menjadi infeksi yang dapat menyebar (Cornelissen, et al., 2013).

Infeksi *Pseudomonas aeruginosa* secara sistemik menyebabkan terjadinya bakteremia, pneumonia sekunder, infeksi tulang dan sendi, infeksi sistem saraf pusat dan infeksi kulit serta jaringan lunak. Infeksi sistemik ditemukan pada pasien pengguna narkoba injeksi intravena atau pasien dengan infeksi saluran kemih atau juga pada pasien dengan katup jantung prostetik (Cornelissen, et al., 2013)

2.1.6 Mekanisme Resistensi

Pseudomonas aeruginosa mengalami peningkatan resistensi terhadap antibiotik diakibatkan oleh penggunaan antibiotik yang tidak rasional atau *overuse* pada bakteri penghasil biofilm (Gunardi, 2016). Resistensi yang dimiliki bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dapat melalui beberapa mekanisme, yaitu melalui mekanisme resistensi intrinsik, didapat dan adaptif. Resistensi intrinsik dari *Pseudomonas aeruginosa* bekerja melalui permeabilitas membran luar yang rendah, ekspresi *efflux pump* yang memompa antibiotik keluar dan produksi enzim yang menonaktifkan antibiotik seperti β -laktamase. Pada mekanisme pompa efflux ekspresi meAX-oprM, mexXY-oprM, mexCD-oprJ dan mexEF-oprN menyebabkan semua jenis antibiotik ditolak kecuali *polymyxin*. Resistensi *Pseudomonas aeruginosa* terhadap antibiotik β -laktam disebabkan karena adanya kombinasi mutasi yang menyebabkan inaktivasi OprD, hiperproduksi AmpC dan overekspresi *efflux pump*. Modifikasi ekspresi gen PBP1a juga berdampak pada resistensi terhadap β -laktam (Gunardi, 2016).

Mekanisme resistensi yang didapat dari *Pseudomonas aeruginosa* dicapai dengan transfer horizontal materi gen resisten dan atau proses mutasi (Breidenstein et al., 2011). Sedangkan resistensi adaptif *Pseudomonas aeruginosa* melibatkan pembentukan biofilm pada paru-paru pasien yang terinfeksi. Biofilm yang terbentuk dapat menjadi penghalang yang membatasi akses antibiotik ke sel bakteri, sehingga dapat menyebabkan infeksi yang berkepanjangan dan berulang pada pasien (Drenkard, 2003).

2.1.7 Pengobatan

Infeksi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* secara klinis tampak berat dan sulit diobati. Infeksi *Pseudomonas aeruginosa* tidak boleh diobati dengan terapi obat tunggal melainkan dengan kombinasi karena bakteri ini dapat menjadi resisten dengan cepat. Pilihan terapi infeksi bakteri ini yaitu Penisilin, tetrasiklin atau piperasilin dikombinasi dengan aminoglikosida, biasanya tobramisin. Pilihan obat lainnya yang aktif melawan bakteri ini meliputi aztreonam, imipenem, meropenem, siprofloksasin, golongan sefalosporin, seftazidim, dan sefepim. Pada pasien neutropenia terapi utamanya yaitu dengan Seftazidim bersama aminoglikosida (Riedel, et al., 2019).

Pseudomonas aeruginosa merupakan organisme yang banyak mengalami resistensi terhadap banyak antimikroba. Beberapa antimikroba yang resisten meliputi florokuinolon, makrolida, ampicilin, amoksisilin, amoksisilin klavulanat, sefalosporin generasi pertama dan kedua serta seftriakson dan sefotaksim. (Ahmad, et al., 2014)

2.2 Kopi Robusta (*Coffea canephora*)

2.2.1 Tinjauan Umum

Kopi merupakan tanaman hasil perkebunan. Tanaman kopi berasal dari negara Ethiopia di Benua Afrika, tepatnya pada abad ke-9. Tanaman ini mulai dikenal dunia pada abad ke-17 di India dan menyebar ke Benua Eropa. Selanjutnya oleh seseorang berkebangsaan Belanda, tanaman kopi dibawa masuk ke Indonesia (Panggabean, 2011). Untuk di Indonesia, kopi merupakan komoditas rakyat yang sudah lama dibudidayakan. Sebagian besar tanaman kopi yang dibudidayakan di Indonesia adalah kopi robusta (90%) dan sisanya kopi arabika (Rahardjo, 2012).

2.2.2 Taksonomi

Kopi merupakan suatu kelompok tumbuhan yang termasuk dalam genus *Coffea* dari famili Rubiaceae. Genus *Coffea* memiliki hampir 70 spesies namun hanya 2 spesies yang dibudidayakan dalam skala luas di seluruh dunia, yaitu kopi arabika (*Coffea arabica*) dan kopi robusta (*Coffea canephora* var. *robusta*). Berikut merupakan sistem taksonomi kopi robusta (Rahardjo, 2017) :

Kingdom : Plantae

Subkingdom : Tracheobionta

Super Divisi : Spermatophyta

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Sub Kelas : Asteridae

Ordo : Rubiales

Famili : Rubiaceae

Genus : *Coffea*

Spesies : *Coffea canephora* var. *robusta*

2.2.3 Morfologi

Tanaman kopi merupakan tanaman berkeping dua (dikotil) yang memiliki akar tunggang. Bunga tanaman kopi memiliki mahkota berwarna putih serta kelopak berwarna hijau dan mulai muncul setelah berumur dua tahun. Buah kopi berwarna hijau saat masih mentah dan ketika matang akan berwarna merah. Bagian dalam buah kopi terdapat daging dan biji kopi, dengan kulit tanduk buah kopi yang membungkus biji kopi memiliki tekstur keras (Anshori, 2014). Tanaman kopi robusta memiliki tajuk yang lebar, perwatakan besar, daun berpangkal tumpul dan ukurannya lebih lebar dibandingkan dengan daun kopi arabika (Najiyati & Danarti, 2012).



Gambar 2. 3 Tanaman Kopi Robutsa (Haryanto, 2016)

Kopi robusta memiliki daun berbentuk bulat telur dengan bagian ujung meruncing. Daun kopi robusta memiliki permukaan atas daun yang mengkilat, tepi rata, dan berpangkal tumpul. Panjang daun kopi robusta berkisar 5-15 cm, lebar 4-6,5 cm dengan pertulangan menyirip (Pertiwi, 2015).



Gambar 2. 4 Daun Kopi Robusta (Pertiwi, 2015)

2.2.4 Kandungan Kopi Robusta

Masyarakat sudah mengenal dan memanfaatkan kopi secara luas. Kopi tidak hanya dikenal sebagai makanan dan minuman karena rasa dan aromanya saja, namun karena memiliki kandungan yang bermanfaat bagi tubuh. Kopi merupakan tumbuhan yang kaya akan senyawa aktif seperti asam tanat (tannin), asam nikotinat, trigonelin, asam quinolinat, dan kafein. Kopi juga menghasilkan senyawa golongan polifenol, diantaranya asam kafeat, asam klorogenat, asam koumarat, asam ferulat, dan asam sinapat. Kandungan senyawa polifenol memiliki sifat sebagai antioksidan (Hečimović, 2011). Kopi juga mengandung beberapa komponen gizi seperti protein, asam amino, mineral dan karbohidrat. Mineral yang terkandung dalam kopi seperti magnesium, besi, natrium dan kalium. Kadar mineral pada kopi akan berpengaruh terhadap warna dan rasa kopi (Rahardjo, 2012).

2.2.4.1 Kandungan Antibakteri Daun Kopi Robusta

Daun kopi mengandung senyawa-senyawa aktif yang bersifat antibakteri. Menurut hasil penelitian Nayeem tahun 2011, daun kopi memiliki kandungan antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, dan *Escherichia*

coli. Senyawa-senyawa aktif dalam daun kopi yang diduga memiliki efek antibakteri, meliputi alkaloid, saponin, flavonoid dan polifenol yaitu asam klorogenat (Pertiwi, 2015).

Alkaloid memiliki kemampuan antibakteri karena memiliki gugus basa. Gugus basa ini apabila mengalami kontak dengan bakteri akan bereaksi dengan asam amino yang menyusun sel dan DNA bakteri. Reaksi ini mengakibatkan perubahan susunan rantai asam amino pada DNA yang akan menimbulkan perubahan keseimbangan genetik, sehingga DNA bakteri mengalami kerusakan. Kerusakan DNA pada inti sel bakteri akan menimbulkan terjadinya lisis pada inti sel bakteri yang lama kelamaan akan membuat sel-sel bakteri tidak mampu melakukan metabolisme. Dengan demikian bakteri akan menjadi inaktif dan hancur (Gunawan, 2009). Mekanisme lain senyawa alkaloid yaitu mampu mengganggu integritas komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri yang merupakan komponen penyusun dinding sel bakteri. Adanya gangguan tersebut mengakibatkan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel (Cushnie dan Lamb, 2005).

Senyawa lain yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri ialah Saponin. Mekanisme kerja saponin yaitu dengan menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri, sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar (Nuria et al, 2009). Saponin berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan kemudian mengikat membran sitoplasma dan mengganggu serta mengurangi kestabilan membran sel. Hal ini menyebabkan sitoplasma bocor keluar dari sel dan mengakibatkan kematian sel (Cavalieri et al, 2005).

Flavanoid merupakan suatu senyawa fenol terbesar di alam. Senyawa ini dapat ditemukan pada semua tumbuhan hijau (Suradikusumah, 1989). Mekanisme flavonoid sebagai antimikroba yaitu dapat menghambat fungsi membran sel dengan cara membentuk ikatan senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler yang bersifat larut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Nuria et al, 2009). Flavanoid juga menghambat sintesis asam nukleat melalui cincin B yang memiliki peran dalam interkalasi (ikatan) hidrogen dengan menumpuk basa asam nukleat sehingga terjadi hambatan pembentukan DNA dan RNA (Cushnie dan Lamb, 2005). Flavonoid berinteraksi dengan DNA bakteri menyebabkan rusaknya permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom dan lisosom (Suwandi, 2012). Selain itu, flavonoid dapat menghambat metabolisme energi dengan cara menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri. Senyawa ini akan menghambat sitokrom C reduktase menyebabkan pembentukan metabolisme energi terhambat. Energi digunakan bakteri untuk biosintesis makromolekul (Cushnie dan Lamb, 2005).

Kopi merupakan sumber polifenol, salah satu diantaranya ialah asam klorogenat. Asam klorogenat merupakan suatu senyawa yang termasuk dalam komponen fenolik, bersifat larut dalam air dan terbentuk dari hasil esterifikasi asam quinic dan asam transcinnamic. Asam klorogenat diketahui memiliki aktivitas sebagai anti bakteri, anti mutagenik, anti tumor, anti virus, anti analgesik, anti piretik, anti radang, dan anti jamur (Pertiwi, 2015). Asam klorogenat bekerja sebagai antibakteri dengan meningkatkan permeabilitas membran plasma sehingga menurunkan fungsi pertahanan sel bakteri dan menyebabkan kebocoran dari nukleotida dan isi sitoplasma bakteri (Amalia, 2020).

2.2.5 Uji kepekaan Bakteri sebagai Antimikroba

Uji kepekaan suatu bakteri terhadap bahan yang memiliki efek antibakteri perlu dilakukan. Hal ini bertujuan untuk mengetahui potensi antibakteri bahan tersebut terhadap mikroorganisme. Uji ini membutuhkan organisme uji standart yang tepat dan sampel obat tertentu sebagai perbandingan (Riedel, et al., 2019). Aktivitas antibakteri ditentukan oleh spektrum kerja (spektrum luas dan spektrum sempit), cara kerja (bakterisidal dan bakteriostatik), konsentrasi hambat minimum (KHM) serta potensi pada konsentrasi hambat minimum (KHM). Suatu antibakteri dikatakan memiliki potensi yang tinggi apabila pada kadar antibakteri yang rendah mampu membunuh bakteri atau menunjukkan daya hambat yang besar. Metode yang umum digunakan untuk menguji daya antibakteri yaitu metode difusi sumuran, difusi cakram, difusi tabung, dan difusi agar (Ngaisah, 2010).

2.2.5.1 Metode Difusi Sumuran

Metode difusi sumuran atau disebut well diffusion digunakan untuk mengetahui ada atau tidaknya aktivitas antibakteri pada sampel yang digunakan. Metode ini dilakukan dengan cara mensuspensikan bakteri ke dalam media agar kemudian dibuat sumuran-sumuran pada agar yang sudah padat dengan diameter 6-8 mm. Sumuran-sumuran tersebut diisi dengan zat yang akan diuji aktivitasnya lalu medium agar diinkubasi pada suhu 37° selama 18-27 jam. Aktivitas antibakteri dapat diamati dari terbentuknya daerah bening yang mengelilingi lubang perforasi (Ngaisah, 2010).

2.2.5.2 Metode Difusi Cakram

Metode difusi cakram dilakukan dengan menggunakan cakram kertas filter yang mengandung sejumlah obat. Cakram tersebut ditempatkan di atas permukaan medium padat yang diinokulasi dengan organisme uji. Setelah dilakukan inkubasi, diukur diameter zona jernih inhibisi di sekitar cakram, sebagai ukuran kekuatan inhibisi obat melawan organisme uji tertentu (Riedel, et al., 2019).

2.2.5.3 Metode Dilusi Agar

Langkah awal dari metode ini adalah dengan membuat pembenihan cair bakteri. Isolat diinokulasikan ke dalam nutrient broth dan diinkubasi selama 18-24 jam sampai terjadi kekeruhan. Kemudian diambil dan diteteskan pada permukaan agar. Setelah itu dilakukan inkubasi semalam dan diamati pertumbuhan koloni bakteri yang tumbuh. Tujuan akhirnya adalah untuk menilai kadar hambat minimal (KHM) namun pada metode ini tidak dapat menilai kadar bunuh minimal (KBM) (Baron et al, 1994).

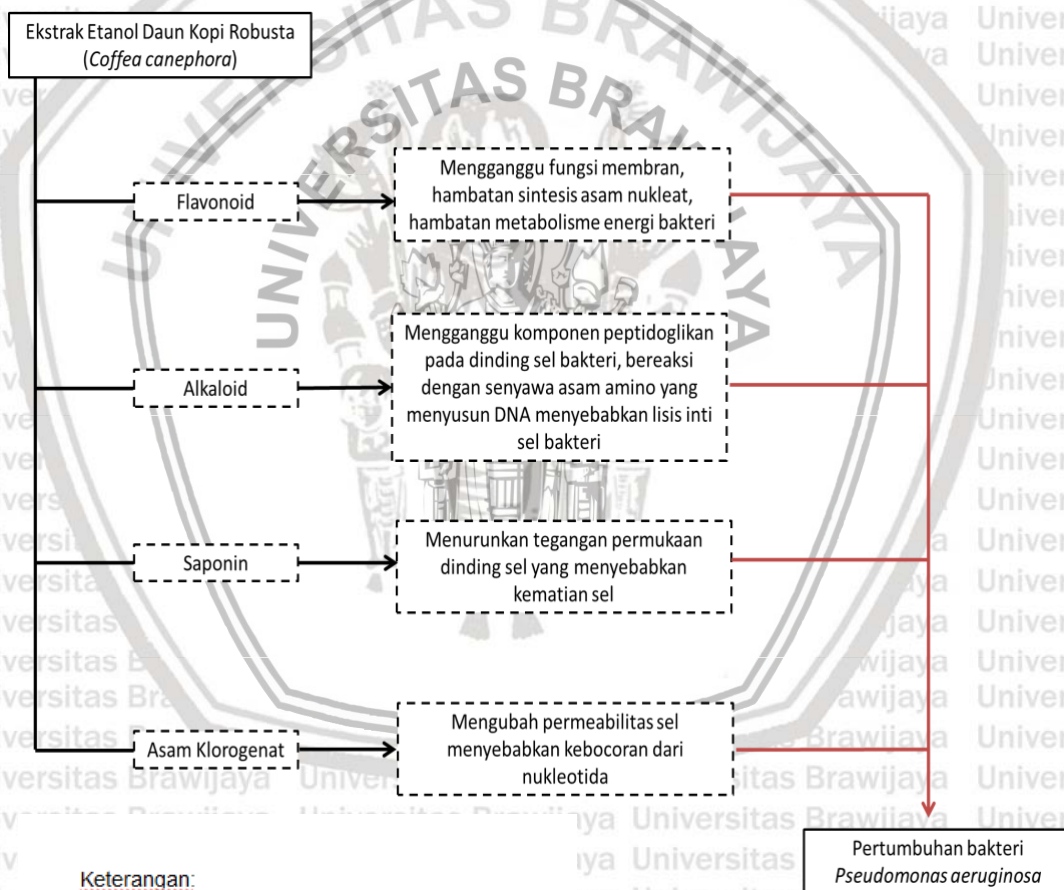
2.2.5.4 Metode Dilusi Tabung

Metode dilusi tabung dilakukan dengan tujuan untuk menentukan kadar hambat minimal (KHM) dan kadar bunuh minimal (KBM). Prinsip metode ini dengan cara mengisi satu seri tabung reaksi dengan media cair dan bakteri uji. Kemudian antibakteri dimasukkan ke dalam masing-masing tabung dan diinkubasi. Tabung yang terlihat jernih pada konsentrasi terendah obat menunjukkan nilai KHM dari obat. Selanjutnya biakan pada tabung yang jernih diinokulasikan pada media agar padat untuk diamati ada tidaknya koloni mikroba yang tumbuh. KBM adalah konsentrasi terendah obat pada biakan yang tidak ditemukan pertumbuhan koloni mikroba (Winarsih, 2016).

BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Keterangan:

- : Variabel diteliti
- : variable tidak diteliti
- : Hambatan pertumbuhan
- : Mengandung bahan aktif
- : Mekanisme kerja antimikroba

3.2 Keterangan Kerangka Konsep

Ekstrak daun kopi robusta memiliki beberapa senyawa penting yang diketahui memiliki potensi sebagai antimikroba. Beberapa senyawa yang terkandung di dalam ekstrak daun kopi robusta yaitu, alkaloid, flavonoid, saponin, dan asam klorogenat (Pertiwi, 2015).

Kandungan senyawa alkaloid pada ekstrak daun kopi robusta mempunyai aktifitas antibakteri. Aktifitas antibakteri ini berhubungan dengan kemampuannya mengganggu integritas komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Cushnie dan Lamb, 2005). Selain itu, alkaloid mempunyai kemampuan antibakteri karena memiliki gugus basa yang mampu berinterkalasi dengan asam amino yang menyusun DNA, yang akan menimbulkan perubahan keseimbangan genetik, sehingga DNA bakteri mengalami kerusakan. Kerusakan DNA pada inti sel bakteri akan menimbulkan terjadinya lisis pada inti sel bakteri yang lama kelamaan akan membuat sel-sel bakteri tidak mampu melakukan metabolisme. Dengan demikian bakteri akan menjadi inaktif dan hancur (Gunawan, 2009).

Sebagai antibakteri, senyawa flavonoid memiliki 3 mekanisme, yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energi. Mekanisme kerja flavonoid dalam menghambat sintesis asam nukleat dilakukan melalui cincin B pada flavonoid yang mempunyai peranan penting dalam proses interkalasi atau ikatan hidrogen dengan menumpuk basa asam nukleat yang menghambat sintesis DNA dan RNA (Cushnie dan Lamb, 2005). Flavonoid menghambat fungsi membran sel bakteri melalui ikatan kompleks

dengan protein ekstraseluler yang bersifat larut, sehingga dapat mengganggu integritas membran sel bakteri (Nuria et al, 2009). Selain itu, penghambatan metabolisme energi bakteri oleh flavonoid terjadi dengan cara menghambat proses respirasi bakteri, sehingga adanya energi yang dihambat akan berpengaruh terhadap aktivitas penyerapan metabolit dan biosintesis makromolekul bakteri (Cushnie dan Lamb, 2005).

Mekanisme kerja antibakteri saponin yaitu dengan menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri, sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel. Proses ini akan mengakibatkan senyawa intraseluler keluar yang berakhir dengan kematian sel (Nuria et al, 2009). Ekstrak daun kopi robusta juga mengandung senyawa asam klorogenat. Senyawa ini bekerja sebagai antibakteri dengan meningkatkan permeabilitas membran plasma, sehingga menurunkan fungsi pertahanan sel bakteri dan menyebabkan kebocoran dari nukleotida dan isi sitoplasma bakteri (Amalia, 2020).

3.3 Hipotesis Penelitian

Ekstrak Daun Kopi Robusta (*Coffea canephora*) memiliki potensi sebagai antimikroba terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode *true experimental* dengan desain *post test control group experimental*. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh antimikroba ekstrak daun kopi robusta (*Coffea canephora*) terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Prosedur penelitian menggunakan metode difusi sumuran untuk menentukan zona inhibisi yang terbentuk di sekitar lubang sumuran.

4.2 Populasi dan Sampel Penelitian

Penelitian ini menggunakan daun kopi robusta yang didapat dari perkebunan milik salah satu warga di daerah Banyuwangi. Kemudian daun kopi diproses di UPT Materia Medika Kota Batu menjadi bentuk simplisia dan proses ekstraksi dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Sampel bakteri uji yang digunakan dalam penelitian adalah *Pseudomonas aeruginosa* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

4.3 Pengulangan

Jumlah pengulangan yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan rumus sebagai berikut (Trisia et.al., 2018):

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

keterangan :

n = jumlah pengulangan

t = jumlah perlakuan

Dalam penelitian ini sebelumnya dilakukan terlebih dahulu penelitian pendahuluan dengan menggunakan konsentrasi 6.25%, 12.5%, 25%, 50%, 75% dan satu kontrol negatif konsentrasi 0%. Konsentrasi tersebut dipilih untuk memastikan bahwa penelitian pendahuluan telah meliputi konsentrasi rendah (kurang dari 10%) dan konsentrasi tinggi (100%). Berdasarkan hasil penelitian pendahuluan, maka dalam menguji potensi antimikroba ekstrak daun kopi (*Coffea canephora*) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* digunakan 8 macam konsentrasi yaitu 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, dan 80%, serta kontrol negatif berupa akuades, dan kontrol positif berupa *Ceftazidim*, sehingga estimasi besar sampel adalah:

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

$$(8-1) (n-1) \geq 15$$

$$7 (n-1) \geq 15$$

$$7n - 7 \geq 15$$

$$2n \geq 15 + 7$$

$$n \geq 22 : 7$$

$$n \geq 3.14 \text{ (dibulatkan menjadi 4)}$$

Jumlah perlakuan ulang (n) yang digunakan dalam penelitian ini adalah 3.14 yang kemudian dibulatkan menjadi 4 kali pengulangan.

4.4 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang dari bulan Maret hingga Mei 2021. Penelitian ini menggunakan ekstrak daun kopi robusta (*Coffea canephora*) yang diperoleh dari perkebunan di Banyuwangi kemudian diproses menjadi bentuk simplisia di UPT Materia Medika Kota Batu, dan dilakukan proses ekstraksi di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

4.5 Variabel Penelitian

4.5.1 Variabel Terikat atau Dependent variable

Variabel terikat adalah variabel yang akan dipengaruhi oleh variabel bebas. Variabel terikat pada penelitian ini adalah hambatan pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* yang ditunjukkan dengan besarnya zona inhibisi.

4.5.2 Variabel Bebas atau Independent Variable

Variabel bebas adalah variabel yang apabila diubah dapat mengubah variabel terikat. Variabel bebas pada penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak daun kopi robusta (*Coffea canephora*).

4.6 Definisi Operasional

1. *Pseudomonas aeruginosa* adalah bakteri batang Gram negatif yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
2. Daun kopi robusta (*Coffea canephora*) yang digunakan adalah daun segar yang didapat dari perkebunan milik salah satu warga di daerah Banyuwangi.
3. Ekstrak etanol daun kopi robusta (*Coffea canephora*) adalah daun kopi robusta yang diproses menjadi bentuk simplisia di UPT Materia Medika Kota Batu, dan diekstraksi dengan metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96% yang dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
4. Kelompok perlakuan penelitian pendahuluan pada penelitian adalah kelompok yang diberikan perlakuan dengan ekstrak etanol daun kopi robusta (*Coffea canephora*) sebesar 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, 75% dan satu kontrol negatif (konsentrasi 0%).
5. Kelompok perlakuan penelitian inti adalah kelompok yang diberikan perlakuan dengan ekstrak etanol daun kopi robusta (*Coffea canephora*) dengan konsentrasi sebesar 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, dan 80%.
6. Kelompok kontrol adalah kelompok dengan pemberian akuades sebagai kontrol negatif dan pemberian antibiotik *Ceftazidim* sebagai kontrol positif.
7. Uji efektivitas ekstrak etanol sebagai antimikroba dinilai dengan pengujian zona inhibisi menggunakan metode sumuran

8. Zona inhibisi adalah zona bening yang tampak di sekeliling lubang sumuran.

Zona inhibisi menunjukkan bahwa bahan antimikroba dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Semakin lebar zona inhibisi maka semakin rentan bakteri tersebut terhadap ekstrak daun kopi robusta. Zona inhibisi diukur dengan menggunakan penggaris.

4.7 Bahan dan Alat Penelitian

4.7.1 Alat dan Bahan untuk Identifikasi Bakteri

a. Alat

1. Tabung reaksi
2. Ose
3. Lampu spiritus dan Bunsen
4. Inkubator
5. Spektrofotometer
6. Korek api
7. Label
8. Kertas strip
9. Larutan reagen tetramethyl p-phenylenediamine dichloride 1%
(Kovac's reagen)
10. Obyek glass dan kaca penutup
11. Mikroskop
12. Mesin VITEK® 2
13. VITEK® 2 GN-card (bioMérieux, USA)
14. Blue Tip

15. Yellow Tip

16. Tabung Reaksi

17. DensiCheck digital

b. Bahan

1. Biakan *Pseudomonas aeruginosa*

2. Suspensi bakteri dari *Muller-Hinton Broth (MH Broth)*

3. Bahan pewarnaan Gram : Kristal violet, lugol, alkohol 96%, safranin

4. Akuades steril

5. Kertas penghisap atau tisu

6. Minyak imersi

7. NaCl 0,45%

4.7.2 Alat dan Bahan untuk Metode Difusi Sumuran

a. Alat

1. Cawan petri

2. Pelubang sumuran (perforator)

3. Pipet mikro

4. Inkubator

5. Bunsen burner

6. Korek api

7. Penggaris

b. Bahan

1. Ekstrak etanol daun kopi robusta (*Coffea canephora*)

2. Suspensi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* 10^8 CFU/ml

3. Akuades

4. Agar Muller Hinton

5. Antibiotik Cefotaxime

4.7.3 Alat dan Bahan untuk Metode Maserasi

a. Alat

1. Toples Tertutup
2. Corong Gelas
3. Timbangan Analitik
4. Gelas Ukur
5. Botol
6. Erlenmeyer
7. Rotatory Evaporator
8. Beaker glass
9. Shaker Digital

b. Bahan

1. Simplisia daun kopi robusta (*Coffea canephora*)
2. Etanol 96%
3. Kertas saring

4.8 Prosedur penelitian

4.8.1 Identifikasi Bakteri

a. Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram bertujuan untuk mengetahui bentuk dan sifat pewarnaan bakteri yang diteliti, dapat bersifat Gram positif atau Gram negatif.

Prosedur pewarnaan Gram ialah sebagai berikut:

1. Gelas obyek dibersihkan menggunakan kapas steril, kemudian dilewatkan di atas api lalu dibiarkan dingin.
2. Satu tetes akuades steril ditetaskan pada gelas obyek.
3. Dengan ose jarum yang steril, ambil sedikit koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang tumbuh pada medium padat, kemudian disuspensikan dengan satu tetes akuades steril yang sudah ditetaskan terlebih dahulu pada gelas obyek. Buat hapusan yang tipis.
4. Hapusan dibiarkan kering di udara. Setelah kering, hapusan difiksasi dengan cara melewatkan sediaan sebanyak tiga sampai lima kali di atas api. Sediaan siap untuk diwarnai.
5. Sediaan ditetesi dengan Kristal violet dan ditunggu selama satu menit. Kemudian sisa Kristal violet dibuang dan dibilas dengan air mengalir perlahan-lahan.
6. Sediaan dituangi dengan lugol dan ditunggu selama satu menit. Setelah itu sisa lugol dibuang dan dibilas dengan air mengalir perlahan-lahan.
7. Sediaan dituangi dengan alkohol 96% dan ditunggu 5-10 detik. Kemudian sisa alkohol dibuang dan dibilas dengan air mengalir perlahan-lahan.

8. Sediaan dituangi safranin dan ditunggu selama 30 detik, kemudian sisa safranin dibuang dan dibilas dengan air.

9. Sediaan dikeringkan dengan kertas penghisap, dan diamati di bawah mikroskop dengan lensa objektif dengan pembesaran 100x dan ditetesi dengan minyak imersi.

10. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* di bawah mikroskop tampak sebagai bakteri Gram negatif, berbentuk batang, dan berwarna merah.

b. Tes Oksidase

Kultur pada MacConkey diambil satu ose untuk dilakukan tes oksidase.

Pada tes oksidase, *Pseudomonas aeruginosa* akan menunjukkan hasil positif.

Prosedur tes oksidase adalah sebagai berikut:

1. Pada penelitian ini dilakukan tes oksidase metode strip.
2. Kertas strip dibasahi dengan larutan reagen tetramethyl p-phenylenediamine dichloride 1%.
3. Bakteri yang diperiksa, digoreskan dengan ose platina/batang gelas pada kertas strip.
4. Tes positif apabila warna goresan tersebut menjadi ungu sampai hitam dalam kurun waktu 10 detik.

c. Kultur untuk Identifikasi Bakteri

Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dapat diidentifikasi dengan melakukan kultur pada beberapa media berikut:

1. Pada penelitian ini dilakukan tes identifikasi *Pseudomonas aeruginosa* dengan melakukan streaking (penggoresan) bakteri pada medium *Nutrient agar*
2. Setelah itu, diinkubasi dengan suhu 37° – 42°C selama 18-24 jam dan diamati penampakan koloni bakteri pada medium.
3. Koloni *Pseudomonas aeruginosa* pada medium *Nutrient Agar* berwarna hijau karena produksi dari pigmen piosianin.

d. Uji VITEK

VITEK®2 Compact adalah suatu system identifikasi otomatis untuk mikroorganisme. Alat ini digunakan untuk mengidentifikasi jenis bakteri.

Prosedur uji VITEK®2, sebagai berikut:

1. Menggunakan isolat koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* murni yang berumur 18-72 jam.
2. Siapkan masing-masing 2 tabung untuk setiap isolat.
3. Setiap tabung diisi dengan 3 ml larutan NaCl 0,45% pH 5,0.
4. Ambil koloni bakteri, kemudian buat suspensi larutan NaCl dan lakukan homogenisasi
5. Untuk mengetahui kekeruhan inokulum menggunakan alat *Densicheck* dengan cara:

- a. Tabung inokulum yang akan diukur dibersihkan terlebih dahulu pada bagian luarnya dengan tissue
 - b. Masukkan tabung ke lubang pengukuran pada *Densicheck*, putar 360° selama 2 detik
 - c. Angka hasil pengukuran akan muncul dalam satuan McFarland. Bakteri Gram negatif dan positif = 0,5 – 0,63 McFarland.
 - d. Jika kekeruhan kurang maka tambahkan koloni bakteri
 - e. Jika kekeruhan berlebih, maka ambil sejumlah volume inokulum dan encerkan dengan menambahkan larutan NaCl
6. Untuk tes sensitifitas antibiotik ambil 145 µl untuk bakteri gram negatif atau 280 µl untuk bakteri gram positif dari tabung inokulum pertama ke tabung kedua dengan menggunakan mikropipet dan tip yang steril
 7. Susun tabung pertama untuk diidentifikasi kemudian tabung kedua untuk tes sensitifitas antibiotik pada cassette.
 8. Letakkan kartu VITEK®2, sesuai dengan urutan untuk identifikasi dan untuk sensitivitas antibiotik.
 9. Kartu Vitek untuk identifikasi dengan selang berwarna biru dan Vitek untuk sensitifitas dengan selang berwarna abu-abu.
 10. Masukan cassette ke mesin VITEK®2
 11. Pembacaan hasil dilakukan dengan alat bantu komputer. Hasil uji identifikasi akan muncul di monitor yang terhubung dengan VITEK® MS (bioMérieux, USA) dan VITEK®2 (bioMérieux, USA) berupa nama spesies

hingga subspecies bakteri yang diuji. Kemudian hasil identifikasi akan dicatat.

4.8.2 Pembuatan Pembenihan Cair Bakteri Kepadatan 10^8 CFU/ml

Pembuatan suspensi uji *Pseudomonas aeruginosa* (10^8 CFU/ml) adalah sebagai berikut:

1. Beberapa koloni *Pseudomonas aeruginosa* diambil dari lempeng Mueller-Hinton Agar kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril yang berisi Nutrient Broth.
2. Tabung reaksi diinkubasi selama 18-24 jam dalam inkubator pada suhu 37°C .
3. Dilakukan spektrofotometri dengan panjang gelombang 625 nm untuk mengetahui Optical Density (OD).
4. Untuk mendapatkan konsentrasi bakteri sebesar 10^8 CFU/ml atau yang setara dengan OD=0.1 maka dilakukan perhitungan sebagai berikut:

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

Keterangan :

N_1 = Nilai absorbansi suspensi (hasil spektrofotometri)

V_1 = Volume bakteri yang akan ditambah pengencer

N_2 = Optical Density (0.1 setara 10^8 CFU/ml)

V_2 = Volume suspensi bakteri uji (10ml)

5. Berdasarkan hasil perhitungan tersebut, diperoleh volume bakteri yang akan ditambah pengencer untuk mendapat kepadatan 10^8 CFU/ml sebanyak 10 ml.

4.8.3 Pembuatan Ekstrak Daun Kopi Robusta

1. Cuci bersih daun kopi robusta yang akan dikeringkan kemudian potong kecil-kecil.
2. Hasil potongan kemudian dikeringkan selama 3 hari dengan suhu 40°C .
3. Daun kopi robusta yang telah kering, kemudian ditimbang dan dihaluskan dengan blender, setelah itu diayak hingga mendapatkan simplisia.
4. Letakkan hasil simplisia ke dalam gelas *Erlenmeyer* ukuran 1 liter dan tuangkan etanol 96% untuk merendam simplisia, kemudian diamkan selama satu jam dalam suhu ruang.
5. Massa dipindahkan ke toples secara hati-hati, kemudian ditambahkan etanol 96%. Tutup toples dengan rapat selama 48 jam dan *dishaker* diatas *shaker* digital rpm 50.
6. Saring ekstrak cair dengan penyaring kain. Tampung ekstrak dalam *Erlenmeyer*.
7. Lakukan remaserisasi pada ampas sebanyak satu kali dengan cara dimasukkan kembali ke dalam toples dan ditambahkan dengan pelarut etanol 96% sampai terendam (minimal 5 cm diatas permukaan simplisia). Kemudian dibiarkan semalam atau 8 jam di atas *shaker*.

8. Hasil ekstrak cair pertama sampai dengan terakhir dijadikan satu dan diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator*. Diperlukan waktu 3 jam 30 menit untuk evaporasi.
9. Ekstrak cair yang dihasilkan kemudian di evaporasi atau diuapkan kembali di atas waterbath selama 2 jam untuk menghilangkan etanol. Untuk memastikan apakah kandungan etanol masih terdapat pada ekstrak dapat dilakukan dengan memasukan ekstrak pada tisu, apabila menguap maka masih terdapat etanol.
10. Setelah evaporasi selesai, ekstrak kemudian dioven kembali dengan suhu 60° C selama 2 jam, untuk menghilangkan sisa etanol 96% yang mungkin masih tersisa dalam ekstrak.
11. Hasil ekstraksi diletakkan dalam botol plastik atau kaca warna gelap lalu disimpan di dalam freezer.

4.8.4 Pengujian Efek Antimikroba Ekstrak Etanol Daun Kopi Robusta

Uji ini dilakukan dengan menggunakan metode difusi sumuran. Metode ini untuk mengetahui seberapa besar potensi antimikroba ekstrak daun kopi robusta (*Coffea canephora*) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Perlakuan pada uji ini menggunakan beberapa konsentrasi, meliputi 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, dan 80%, dan akuades sebagai kontrol. Tahapan yang dilakukan adalah sebagai berikut:

1. Alat dan bahan disiapkan.
2. Suspensi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dicampurkan dengan agar cair *Mueller Hinton* 10⁸CFU/ml sebanyak 15 ml dalam cawan petri.

3. Cawan petri kemudian digoyang-goyangkan hingga campuran tercampur dengan baik, lalu didiamkan beberapa saat hingga mengeras.

4. Setelah medium mengeras, dibuat 7 lubang sumuran dengan diameter 6 mm pada cawan petri menggunakan pelubang sumuran.

5. Hasil ekstraksi daun kopi robusta (*Coffea canephora*) yang disimpan di dalam freezer merupakan ekstrak yang konsentrasinya masih 100% kemudian dilakukan pengenceran ekstrak daun kopi robusta (*Coffea canephora*) untuk 1 ml larutan terdiri dari:

a. Pengenceran 80% murni ekstrak daun kopi robusta (*Coffea canephora*)

$$N1.V1 = N2.V2$$

$$100\%.V1 = 80\% \times 1$$

$$V1 = 80\% : 100\%$$

$$V1 = 0.8 \text{ ml}$$

(0.8 ml ekstrak daun kopi robusta, 0.2 ml akuades)

b. Pengenceran 70% ekstrak daun kopi robusta (*Coffea canephora*)

$$N1.V1 = N2.V2$$

$$100\%.V1 = 70\% \times 1$$

$$V1 = 70\% : 100\%$$

$$V1 = 0.7 \text{ ml}$$

(0.7 ml ekstrak daun kopi robusta, 0.3 ml akuades)

c. Pengenceran 60% ekstrak daun kopi robusta (*Coffea canephora*)

$$N1.V1 = N2.V2$$

$$100\% \times V1 = 60\% \times 1$$

$$V1 = 60\% : 100\%$$

$$V1 = 0,6 \text{ ml}$$

(0.6 ml ekstrak daun kopi robusta, 0.4 ml akuades)

d. Pengenceran 50% ekstrak daun kopi robusta (*Coffea canephora*)

$$N1.V1 = N2.V2$$

$$100\% \times V1 = 50\% \times 1$$

$$V1 = 50\% : 100\%$$

$$V1 = 0.5 \text{ ml}$$

(0.5 ml ekstrak daun kopi robusta, 0.75 ml akuades)

e. Pengenceran 40% ekstrak daun kopi robusta (*Coffea canephora*)

$$N1.V1 = N2.V2$$

$$100\% \times V1 = 40\% \times 1$$

$$V1 = 40\% : 100\%$$

$$V1 = 0.4 \text{ ml}$$

(0.4 ml ekstrak daun kopi robusta, 0.6 ml akuades)

f. Pengenceran 30% ekstrak daun kopi robusta (*Coffea canephora*)

$$N1.V1 = N2.V2$$

$$100\% \times V1 = 30\% \times 1$$

$$V1 = 30\% : 100\%$$

$$V1 = 0.3 \text{ ml}$$

(0.3 ml ekstrak daun kopi robusta, 0.7 ml akuades)

6. Lubang sumuran pertama berisi 50 μ l akuades sebagai kontrol negatif, lubang sumuran kedua sampai ke tujuh secara berurutan berisi larutan ekstrak daun kopi robusta (*Coffea canephora*) dengan konsentrasi 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, dan 80%. Langkah ini kemudian diulang sebanyak 3 kali pada cawan petri yang berbeda sehingga mewakili 4 kali pengulangan.
7. Antibiotik *Ceftazidim* kemudian diencerkan dengan 10 mL akuades sehingga didapatkan konsentrasi antibiotik sebesar 1 gr/10 mL. Kemudian diencerkan 100x, sehingga mendapat konsentrasi antibiotik sebesar 1 mg/mL yang setara dengan 1000 μ g/ml dan diencerkan lagi sebanyak 100x, sehingga mendapat 10 μ g/ml dan dilakukan pengenceran antibiotik untuk 1 ml dari :

- a. Pengenceran 0.095 μ g/ml antibiotik ceftazidim

$$N1.V1 = N2.V2$$

$$10.V1 = 0.095 .1$$

$$V1 = 0.095 : 10$$

$$V1 = 0.0095 \text{ ml}$$

(0.0095 ml antibiotik *Ceftazidim* , 0.9905 ml akuades)

- b. Pengenceran 0.105 μ g/ml antibiotik *Ceftazidim*

$$N1.V1 = N2.V2$$

$$10.V1 = 0.105 .1$$

$$V1 = 0.105 : 10$$

$$V1 = 0.0105 \text{ ml}$$

(0.0105 ml antibiotik *Ceftazidim* , 0.9895 ml akuades)

c. Pengenceran 0.115 µg/ml antibiotik *Ceftazidim*

$$N1.V1 = N2.V2$$

$$10.V1 = 0.115 .1$$

$$V1 = 0.115 : 10$$

$$V1 = 0.0115 \text{ ml}$$

(0.0115 ml antibiotik *Ceftazidim* , 0.9885 ml akuades)

d. Pengenceran 0.125 µg/ml antibiotik *Ceftazidim*

$$N1.V1 = N2.V2$$

$$10.V1 = 0.125 .1$$

$$V1 = 0.125 : 10$$

$$V1 = 0.0125 \text{ ml}$$

(0.0125 ml antibiotik *Ceftazidim* , 0.9875 ml akuades)

8. Masing-masing lubang sumuran pada cawan petri diisi konsentrasi antibiotik *Ceftazidim* yang berbeda dan masing-masing diberi label serta dilakukan pengulangan. Lubang sumuran pertama berisi 0.095µg/ml

Ceftazidime, lubang sumuran kedua hingga keempat secara berurutan

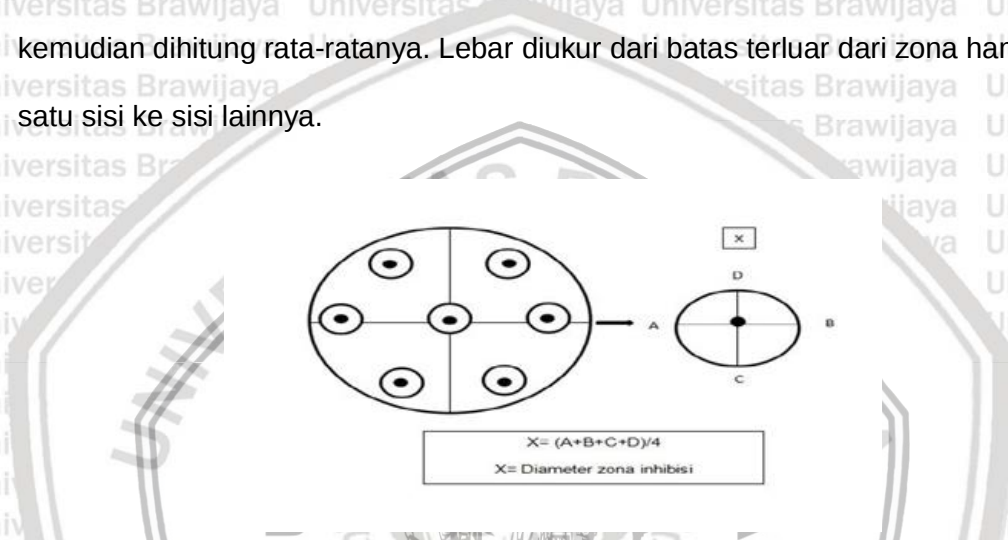
berisi konsentrasi *Ceftazidim* 0.105 µg/ml, 0.115 µg/ml, 0.125 µg/ml.

9. Cawan petri dimasukkan ke dalam inkubator selama 18-24 jam dengan suhu 37°C.

10. Setelah inkubasi, ukur zona hambat yang terbentuk disekitar lubang sumuran dengan menggunakan penggaris.

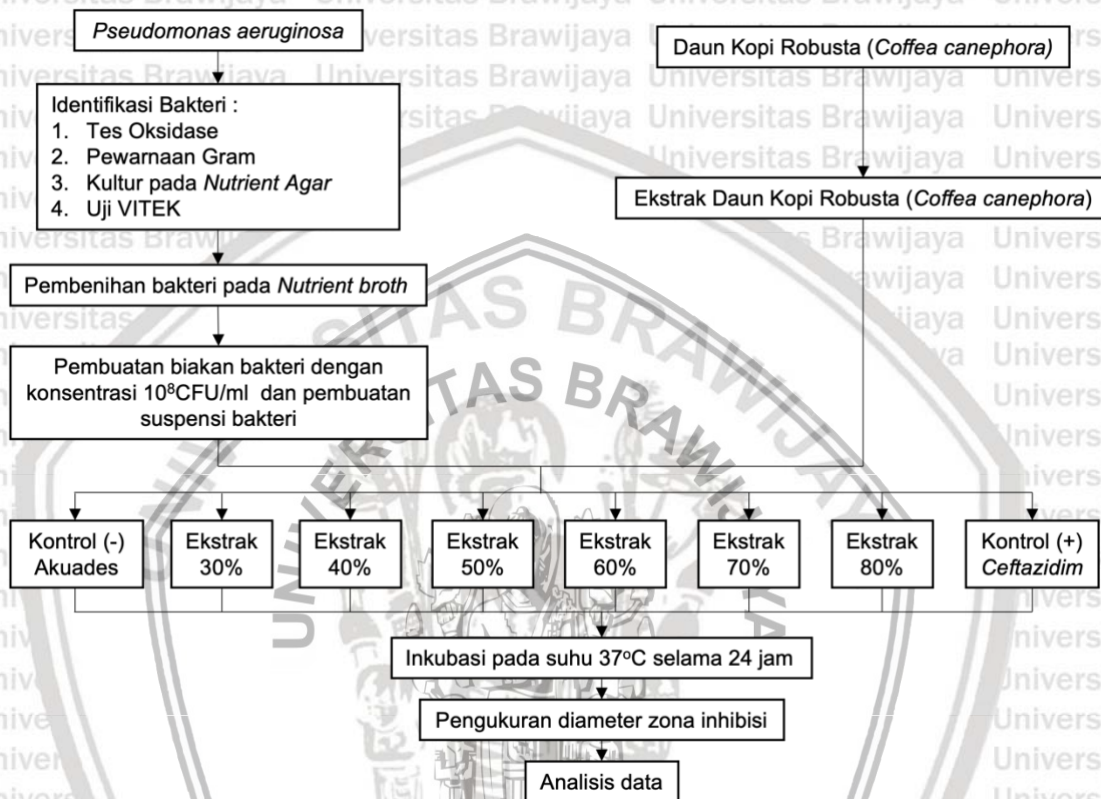
4.8.5 Pengamatan dan Pengukuran

Zona hambat yang terbentuk mempunyai bentuk lingkaran dan diukur menggunakan penggaris dengan satuan milimeter (mm). Pengukuran lebar zona hambat dilakukan sebanyak 4 kali yaitu arah vertikal, horizontal, dan dua arah diagonal, kemudian dihitung rata-ratanya. Lebar diukur dari batas terluar dari zona hambat dari satu sisi ke sisi lainnya.



Gambar 4. 1 Pengukuran Diameter Zona Inhibis (Lima-Filho et a.,2014)

4.8.6 Skema Prosedur Penelitian



4.9 Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan menggunakan program SPSS (*Statistical Product of Service Solution*) untuk windows versi 24.

4.9.1 Uji Normalitas

Uji normalitas digunakan untuk mengetahui apakah sebaran data hasil penelitian normal. Uji normalitas data dilakukan dengan Shapiro Wilk-Homogeneity Test karena memenuhi syarat yaitu sampel berjumlah kurang dari 50. Uji normalitas merupakan syarat untuk uji parametrik.

4.9.2 Uji Homogenitas

Uji homogenitas *Levene Test* digunakan untuk mengetahui apakah sebaran data hasil penelitian homogen atau sama. Uji homogenitas digunakan pada uji prametrik yang menguji perbedaan antara kedua kelompok atau lebih yang berbeda subjek atau sumber datanya. Uji homogenitas diperlukan sebagai syarat uji ANOVA.

4.9.3 Uji Komparasi

Uji komparasi dilakukan untuk mengetahui adanya pengaruh pemberian ekstrak etanol daun kopi robusta (*Coffea canephora*) terhadap pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*. Uji komparasi dilakukan dengan menggunakan metode *One-Way ANOVA*. Uji ini dipilih karena pada penelitian ini terdapat lebih dari 2 kelompok variabel, yaitu bermacam-macam variabel konsentrasi. Uji *One-Way ANOVA* hanya dapat dilakukan apabila data berdistribusi normal ($p > 0.05$) dan data berdistribusi homogen ($p > 0.005$).

Jika data tidak terdistribusi normal atau data tidak homogen, maka digunakan metode *Kruskal Wallis* untuk mengetahui perbedaan ukuran zona inhibisi yang terbentuk disekitar lubang sumuran pada setiap perlakuan pemberian ekstrak etanol daun kopi robusta (*Coffea canephora*).

4.9.4 Uji Post Hoc Tukey

Uji *Post Hoc Tukey* dilakukan untuk mengetahui kelompok sampel yang memberikan perbedaan signifikan dan tidak signifikan. Kelompok sampel dalam hal ini adalah berbagai konsentrasi ekstrak.

4.9.5 Uji Korelasi

Uji korelasi dilakukan untuk mengetahui hubungan antara tingkat pertumbuhan koloni *Pseudomonas aeruginosa* sebagai variabel dependen dan pemberian ekstrak daun kopi robusta (*Coffea canephora*) sebagai variabel independen. Jika data parametrik maka dilakukan Uji Korelasi *Pearson*, sedangkan data non parametrik akan diuji dengan Uji Korelasi *Spearman*.

4.9.6 Uji Regresi

Uji regresi dilakukan untuk mengetahui seberapa besar potensi ekstrak daun kopi robusta (*Coffea canephora*) terhadap pertumbuhan dari koloni *Pseudomonas aeruginosa* yang dievaluasi dari zona inhibisi yang dihasilkan oleh pemberian ekstrak.

4.10 Jadwal Kegiatan

No	Kegiatan	Maret 2021	April 2021	Mei 2021	Juni 2021	Juli 2021	Agustus 2021	September 2021
Tahap Persiapan								
1.	Mengurus perijinan penelitian							
2.	Mengurus perijinan laboratorium							
3.	Belanja alat dan bahan penelitian							
4.	Membuat ekstrak daun kopi robusta							
5.	Membiakkan dan identifikasi bakteri							
Tahap Pelaksanaan								
1.	Melaksanakan penelitian pendahuluan							
2.	Melaksanakan penelitian inti							
3.	Induksi kontrol negatif, perlakuan, dan kontrol positif							
4.	Pengamatan zona inhibisi							
Tahap Penyelesaian								
1.	Analisis data							
2.	Penyusunan laporan akhir							

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

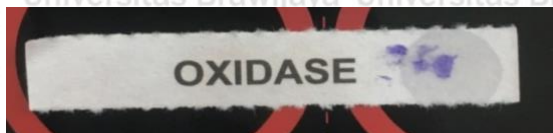
5.1 Hasil Penelitian

5.1.1 Hasil Identifikasi Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Penelitian ini menggunakan isolat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang diperoleh dan diidentifikasi di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Sebelum bakteri digunakan, uji identifikasi dilakukan terlebih dahulu yang meliputi tes Oksidase, pewarnaan Gram, Kultur bakteri dengan menggunakan media Nutrient Agar dan Uji VITEK.

5.1.1.1 Uji Oksidase

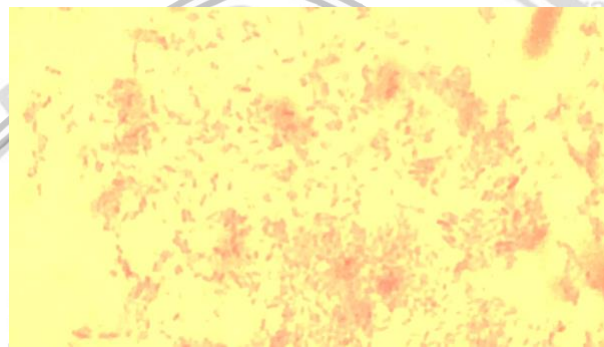
Uji identifikasi yang pertama dilakukan adalah uji oksidase. Uji oksidase dilakukan dengan menggoreskan koloni bakteri uji pada strip oksidase. Hasil positif diperoleh jika dalam waktu 10 detik goresan berubah menjadi berwarna ungu. Bakteri yang diuji menunjukkan hasil uji oksidase positif karena menunjukkan perubahan warna ungu pada strip oksidase. Hasil uji oksidase dapat diamati pada gambar 5.1.



Gambar 5. 1 Hasil Uji Oksidase Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Positif

5.1.1.2 Pewarnaan Gram

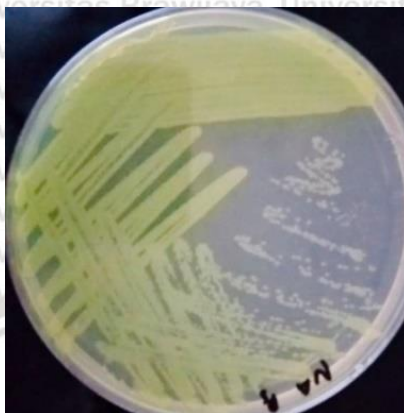
Pada pengamatan mikroskopis hasil pewarnaan Gram dengan perbesaran lensa objektif 100x, tampak bakteri bentuk batang berwarna merah. Gambaran tersebut merupakan gambaran dari bakteri Gram negatif, dimana *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri Gram negatif. Hasil pewarnaan Gram dapat diamati pada Gambar 5.2.



Gambar 5. 2 Hasil Pewarnaan Gram

5.1.1.3 Kultur Bakteri pada Nutrient Agar

Pada kultur menggunakan medium Nutrient agar bakteri uji tampak sebagai koloni berwarna kehijauan dengan ukuran 2 mm, seperti tampak pada Gambar 5.3. Gambaran tersebut merupakan gambaran dari bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang memproduksi pigmen pyoverdine, sehingga memberikan pigmen warna kehijauan. Nutrient agar merupakan medium kultur dengan kebutuhan nutrient sederhana. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* tidak membutuhkan nutrisi yang rumit sehingga dapat tumbuh dengan mudah pada medium tersebut.



Gambar 5. 3 Kultur Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada Nutrient Agar

5.1.1.4 Uji VITEK

Uji identifikasi selanjutnya adalah uji menggunakan VITEK. Uji ini dilakukan untuk mengidentifikasi bakteri melalui sistem identifikasi otomatis. Berdasarkan hasil uji VITEK didapatkan nilai probabilitas sebesar 97% bahwa bakteri yang diujikan merupakan isolat bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Pada hasil uji VITEK juga tampak bahwa isolat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang digunakan resisten terhadap beberapa antibiotik meliputi Ampisillin, Ampisillin/Sulbaktam, Sefazolin, Siprofloksasin, Tigesiklin, Nitrofurantoin, serta Trimetoprim/Sulfametoksazol. Hasil Uji VITEK dapat dilihat pada Gambar 5.4.

bioMérieux Customer: RS dr SYAIFUL ANWAR MALANG
Microbiology Chart Report Printed Feb 7, 2018 06:23 CST

Patient Name: _____ Patient ID: _____
Location: R9 Physician: _____
Lab ID: _____ Isolate Number: 1

Organism Quantity: _____
Selected Organism: *Pseudomonas aeruginosa*

Source: U Collected: _____

Comments: _____

Identification Information	Analysis Time: 5.25 hours	Status: Final
Selected Organism	97% Probability <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
ID Analysis Messages	Blonumber: 0043051043500240	

Susceptibility Information	Analysis Time: 12.75 hours	Status: Final			
Antimicrobial	MIC	Interpretation	Antimicrobial	MIC	Interpretation
ESBL			Ertapenem		
Ampicillin	>= 32	R	Meropenem	0.5	S
Ampicillin/Sulbactam	>= 32	R	Amikacin	<= 2	S
Piperacillin/Tazobactam	<= 4	S	Gentamicin	<= 1	S
Cefazolin	>= 64	R	Ciprofloxacin	>= 4	R
Ceftazidime	4	S	Tigecycline	>= 8	R
Ceftriaxone			Nitrofurantoin	>= 512	R
Cefepime	2	S	Trimethoprim/Sulfamethoxazole	>= 320	R
Aztreonam	8	S			

+= Deduced drug * = AES modified ** = User modified

AES Findings	
Confidence:	Consistent

Gambar 5. 4 Uji Biokimia VITEK Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

5.1.2 Hasil Ekstrak Etanol Daun Kopi Robusta

Daun kopi Robusta diproses menjadi simplisia di UPT Materia Medika Kota Batu. Sedangkan proses ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Hasil ekstrak etanol daun kopi Robusta memiliki konsistensi kental, warna hitam, dan keruh seperti tampak pada Gambar 5.5.

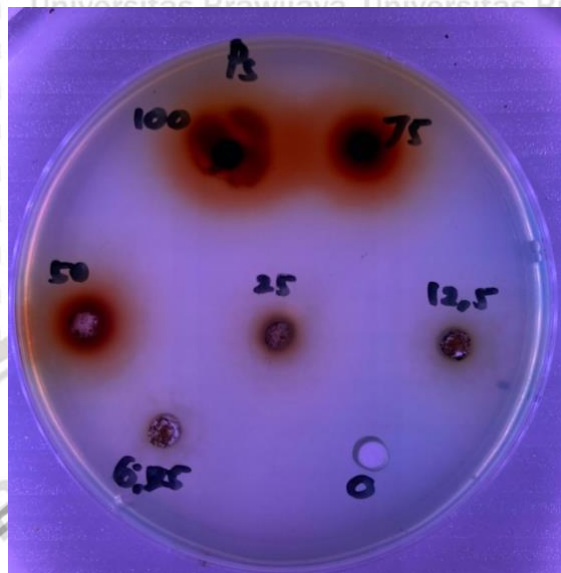


Gambar 5. 5 Hasil Ekstrak Etanol Daun Kopi Robusta

5.1.3 Hasil Penelitian Pendahuluan Menggunakan Metode Difusi Sumuran

Pada penelitian ini dilakukan penelitian pendahuluan dengan menggunakan beberapa konsentrasi ekstrak etanol daun kopi Robusta. Konsentrasi tersebut meliputi 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, 75% dan satu kontrol negatif yaitu lubang sumuran yang diberi akuades tanpa diberi ekstrak etanol daun kopi Robusta (konsentrasi 0%). Hasil penelitian pendahuluan menunjukkan bahwa zona hambat terbentuk pada konsentrasi 50%, dan 75%. Hasil tersebut dapat diamati pada Gambar 5.6.

Berdasarkan hasil dari penelitian pendahuluan didapatkan interval konsentrasi ekstrak yang lebih rapat, sehingga konsentrasi ekstrak etanol daun kopi Robusta yang akan digunakan pada penelitian inti meliputi 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, dan 80%, serta kontrol negatif berupa akuades dan kontrol positif berupa antibiotik *Ceftazidim*.



Gambar 5. 6 Hasil Penelitian Pendahuluan Menggunakan Metode Difusi Sumuran

Keterangan gambar:

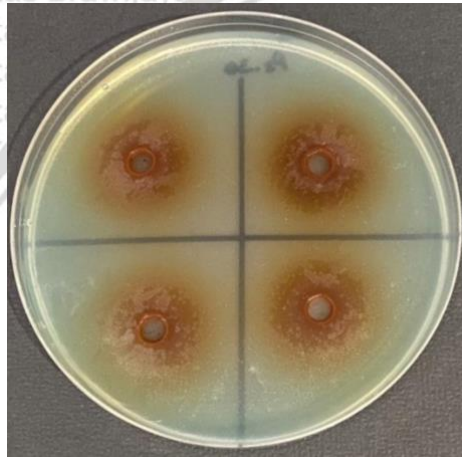
1. Konsentrasi ekstrak etanol daun kopi Robusta 75% dengan rerata zona hambat 10mm
2. Konsentrasi ekstrak etanol daun kopi Robusta 50% dengan rerata zona hambat 9mm
3. Konsentrasi ekstrak etanol daun kopi Robusta 25% dengan rerata zona hambat 0mm
4. Konsentrasi ekstrak etanol daun kopi Robusta 12,5% dengan rerata zona hambat 0mm
5. Konsentrasi ekstrak etanol daun kopi Robusta 6,25% dengan rerata zona hambat 0mm
6. Konsentrasi ekstrak etanol daun kopi Robusta 0% dengan rerata zona hambat 0mm

5.1.4 Hasil Penelitian Inti Menggunakan Metode Difusi Sumuran

Berdasarkan hasil penelitian pendahuluan, penelitian ini menggunakan ekstrak etanol daun kopi Robusta dengan konsentrasi 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, dan 80%. Selain itu, dilakukan juga perlakuan kontrol negatif perlakuan kontrol negatif berupa akuades dan kontrol positif berupa antibiotik *Ceftazidim* dengan konsentrasi

0.125 µg/ml, 0.115 µg/ml, 0.105 µg/ml, 0.095 µg/ml. Uji efektivitas ekstrak daun kopi

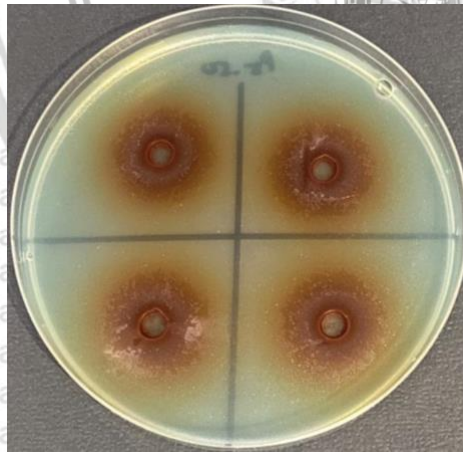
Robusta pada penelitian ini menggunakan metode difusi sumuran dengan mengamati diameter zona hambat yang terbentuk disekitar lubang sumuran. Hal tersebut menunjukkan kemampuan ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Hasil penelitian difusi sumuran dapat diamati pada Gambar 5.7.



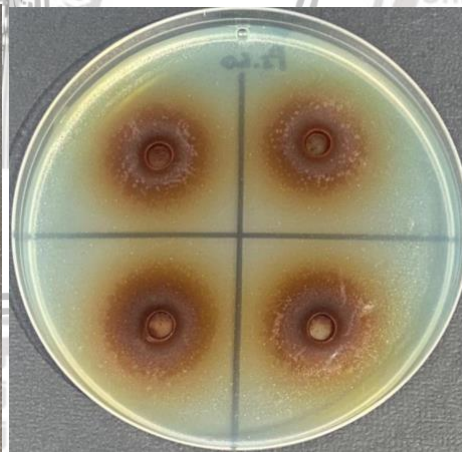
Konsentrasi 30%



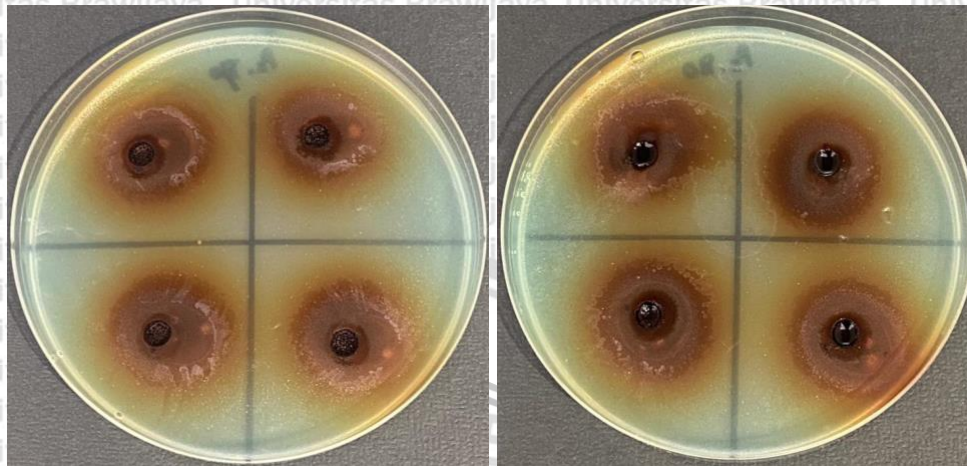
Konsentrasi 40%



Konsentrasi 50%

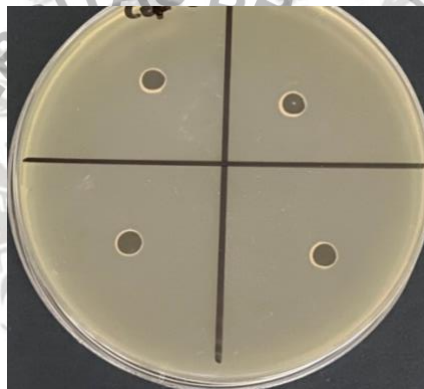


Konsentrasi 60%



Konsentrasi 70%

Konsentrasi 80%



Kontrol Negatif / Konsentrasi 0%

Gambar 5. 7 Hasil Penelitian Inti Menggunakan Metode Difusi Sumuran

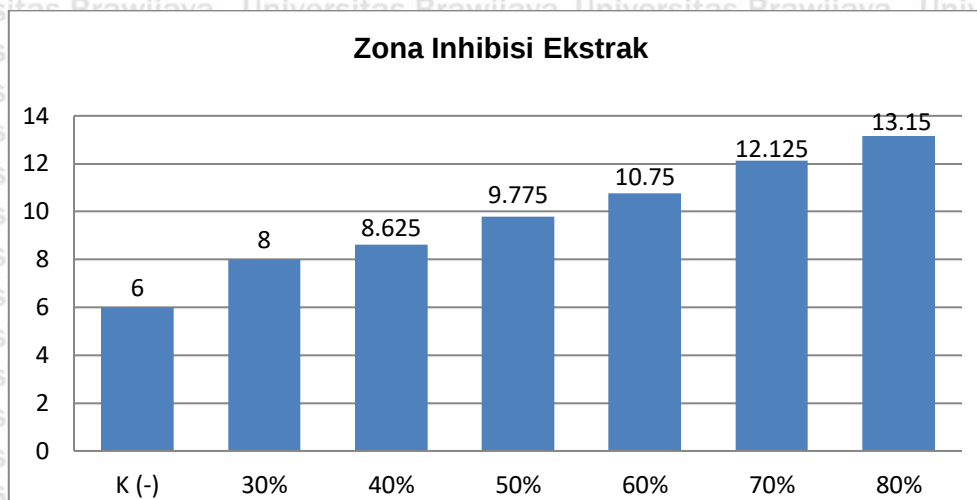
5.1.5 Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri

Pada pengamatan *plate* yang telah diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam, tampak terbentuk zona hambat pada konsentrasi ekstrak etanol daun kopi Robusta 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, dan 80%, serta pada kontrol positif. Sedangkan pada kelompok kontrol negatif tidak terbentuk zona hambat. Diameter zona hambat yang terbentuk tampak semakin meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak. Pengukuran zona hambat dilakukan menggunakan penggaris pada arah

vertikal dan horizontal kemudian dihitung reratanya. Hasil perhitungan diameter zona hambat tiap konsentrasi ekstrak etanol daun kopi Robusta didapatkan rerata diameter untuk konsentrasi 30%, 40%, 50%, 60%, 70% dan 80 % sebesar 8 mm, 8.625 mm, 9.775 mm, 10.75 mm, 12.125 mm dan 13.15 mm secara berurutan. Hasil pengukuran dapat diamati pada Tabel 5.1. Sedangkan grafik pengaruh konsentrasi ekstrak etanol daun kopi Robusta terhadap diameter zona hambat yang terbentuk disajikan pada Gambar 5.8.

Tabel 5. 1 Hasil Perhitungan Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol Daun Kopi

Konsentrasi (%)	Zona Hambat Ekstrak Daun Kopi Robusta				Rerata (mm)	Standar Deviasi
	Pengulangan (mm)					
	I	II	III	IV		
K (-)	6 mm	6 mm	6 mm	6 mm	6	0.00000
30%	8 mm	8.2 mm	7.7 mm	8.1 mm	8	0.21602
40%	8.8 mm	8.1 mm	9.2 mm	8.4 mm	8.625	0.47871
50%	10 mm	9.4 mm	9.8 mm	9.9 mm	9.775	0.26300
60%	11 mm	10.3 mm	10.6 mm	11.1 mm	10.75	0.36968
70%	12.5 mm	12.3 mm	12,1 mm	11.6 mm	12.125	0.38622
80%	12.8 mm	13 mm	13.2 mm	13.6 mm	13.15	0.34157



Gambar 5. 8 Grafik Hasil Pengukuran Rerata Diameter Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* terhadap Pemberian Ekstrak Etanol Daun Kopi Robusta

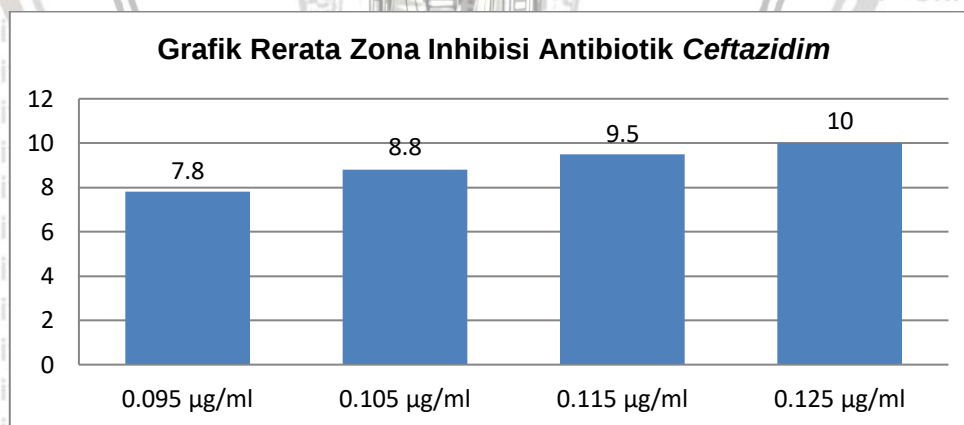
Pada kelompok kontrol positif dilakukan perlakuan dengan pemberian antibiotik *Ceftazidim*. Hasil pengamatan menunjukkan adanya zona hambat yang masih dalam rentang diameter zona hambat yang dibentuk oleh ekstrak etanol daun kopi Robusta. Konsentrasi *Ceftazidim* yang digunakan yaitu 0.095 µg/ml, 0.105 µg/ml, 0.115 µg/ml, 0.125 µg/ml. Pada analisis data hanya diambil satu sampel dari kontrol positif yaitu konsentrasi 0.095 µg/ml. Konsentrasi 0.095 µg/ml dipilih karena konsentrasi tersebut berada di bawah *minimum inhibitory concentration* (MIC) *Ceftazidim* terhadap *Pseudomonas aeruginosa* yaitu 2 µg/ml (Malekzadegan, 2019). Selain itu, berdasarkan hasil perhitungan diameter zona hambat antibiotik *Ceftazidim* konsentrasi tersebut merupakan konsentrasi antibiotik terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Hasil perhitungan diameter zona hambat tiap konsentrasi antibiotik *Ceftazidim* dapat dilihat pada Tabel

5.2. Sedangkan grafik rerata zona hambat antibiotik *Ceftazidim* disajikan pada

Gambar 5.9.

Tabel 5. 2 Hasil Perhitungan Diameter Zona Hambat Antibiotik Ceftazidim terhadap *Pseudomonas aeruginosa*

Konsentrasi (%)	Zona Hambat <i>Ceftazidim</i>				Rerata (mm)	Standar Deviasi
	Pengulangan (mm)					
	I	II	III	IV		
0.095 µg/ml	8.2 mm	7.5 mm	7.5 mm	8 mm	7.8	0.35590
0.105 µg/ml	8.5 mm	9.2 mm	9 mm	8.5 mm	8.8	0.35590
0.115 µg/ml	9.7 mm	10 mm	9.2 mm	9.1 mm	9.5	0.42426
0.125 µg/ml	10.1 mm	9.7 mm	10 mm	10.2 mm	10	0.21602



Gambar 5. 9 Grafik Hasil Pengukuran Rerata Diameter Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* terhadap Pemberian Antibiotik *Ceftazidim*

5.2 Analisis Data

Analisis data hasil perhitungan zona hambat pertumbuhan bakteri dilakukan dengan menggunakan program SPSS Versi 26. Uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas *Levene Statistic* dilakukan terlebih dahulu untuk memastikan data tersebut telah berdistribusi normal ($p > 0.05$) dan homogen ($p > 0.005$) sebagai syarat untuk melakukan uji parametrik *One-Way ANOVA*. Setelah dilakukan uji *One-Way ANOVA* apabila nilai signifikansi < 0.05 , maka analisis data dapat dilanjutkan dengan uji Post-hoc, uji korelasi dan uji regresi.

5.2.1 Hasil Uji Normalitas dan Homogenitas

Uji normalitas dilakukan dengan *Shapiro-Wilk Homogeneity Test* untuk menguji apakah sampel penelitian merupakan sampel yang berdistribusi normal. Hasil uji normalitas terhadap data dari perlakuan pemberian ekstrak etanol daun kopi Robusta konsentrasi 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% dan kontrol positif diperoleh nilai signifikansi $p > 0.05$, yang dapat diamati pada tabel 5.3. Hasil tersebut menunjukkan bahwa data zona hambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* berdistribusi normal.

Tabel 5. 3 Nilai Signifikansi Uji Normalitas Saphiro-Wilk

Kelompok	Statistik	df	Sig.
Tanpa Pemberian Ekstrak		4	
Pemberian Antibiotik	0.838	4	0.189
Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 30%	0.927	4	0.577
Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 40%	0.984	4	0.925
Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 50%	0.887	4	0.369
Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 60%	0.927	4	0.574
Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 70%	0.949	4	0.712
Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 80%	0.971	4	0.850

Uji homogenitas dilakukan dengan uji *Levene Test* untuk mendeteksi apakah sampel dalam penelitian merupakan sampel yang homogen. Uji *Levene* menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0.058 ($p > 0.05$) yang dapat diamati pada tabel 5.4. Hasil tersebut menunjukkan bahwa variasi tiap sampel homogen, sehingga dapat disimpulkan bahwa data berdistribusi normal dan homogen. Berdasarkan uji normalitas dan homogenitas data zona hambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* memenuhi syarat untuk dilakukan uji *One-Way ANOVA*.

Tabel 5. 4 Nilai Signifikansi Hasil Uji Homogenitas Levene

Kelompok	Rata-rata Diameter Zona Hambat	Sig.
Tanpa Pemberian Ekstrak	6.0000	0.058
Pemberian Antibiotik	7.8000	
Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 30%	8.0000	
Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 40%	8.6250	
Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 50%	9.7750	
Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 60%	10.7500	
Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 70%	12.1250	
Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 80%	13.1500	

5.2.2 Hasil Uji *One-way* ANOVA

Uji *One-way* ANOVA seperti tampak pada Tabel 5.5 menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0.000 ($p < 0.05$). Hasil tersebut menandakan bahwa terdapat pengaruh yang bermakna pada penambahan ekstrak etanol daun kopi Robusta dengan konsentrasi 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, akuades sebagai kontrol negatif dan antibiotik *Ceftazidim* sebagai kontrol positif terhadap diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

Tabel 5. 5 Nilai Signifikansi Hasil Uji *One-way ANOVA*

Kelompok	Rata-rata Diameter	Sig.
	Zona Hambat	
Tanpa Pemberian Ekstrak	6.0000	0.000
Pemberian Antibiotik	7.8000	
Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 30%	8.0000	
Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 40%	8.6250	
Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 50%	9.7750	
Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 60%	10.7500	
Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 70%	12.1250	
Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 80%	13.1500	

5.2.3 Hasil Uji *Post-Hoc Tukey*

Uji *Post-Hoc Tukey* dilakukan untuk mengetahui antar kelompok mana saja yang menunjukkan adanya perbedaan secara signifikan ($p < 0.05$). Pada Tabel 5.6 menunjukkan pada hasil uji *Post-Hoc Tukey* bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada semua sampel ($p < 0.05$) kecuali hubungan antara kelompok ekstrak daun kopi Robusta konsentrasi 30% dan 40% yang memiliki nilai signifikansi sebesar 0.179 ($p > 0.05$). Sedangkan hubungan antara kelompok kontrol positif dengan kelompok ekstrak daun kopi Robusta konsentrasi 30% tampak tidak berbeda secara signifikan dengan nilai signifikansi 0.987 ($p > 0.05$).

Tabel 5. 6 Nilai Signifikansi Hasil Uji *Post-Hoc Tukey* Antar Tiap Kelompok Perlakuan

	K-	K+	30%	40%	50%	60%	70%	80%
K-		0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
K+	0,000*		0,987	0,031*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
30%	0,000*	0,987		0,179	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
40%	0,000*	0,031*	0,179		0,001*	0,000*	0,000*	0,000*
50%	0,000*	0,000*	0,000*	0,001*		0,007*	0,000*	0,000*
60%	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,007*		0,000*	0,000*
70%	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*		0,004*
80%	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,004*	

Keterangan Tabel: *= Terdapat perbedaan signifikan

5.2.4 Hasil Uji Korelasi

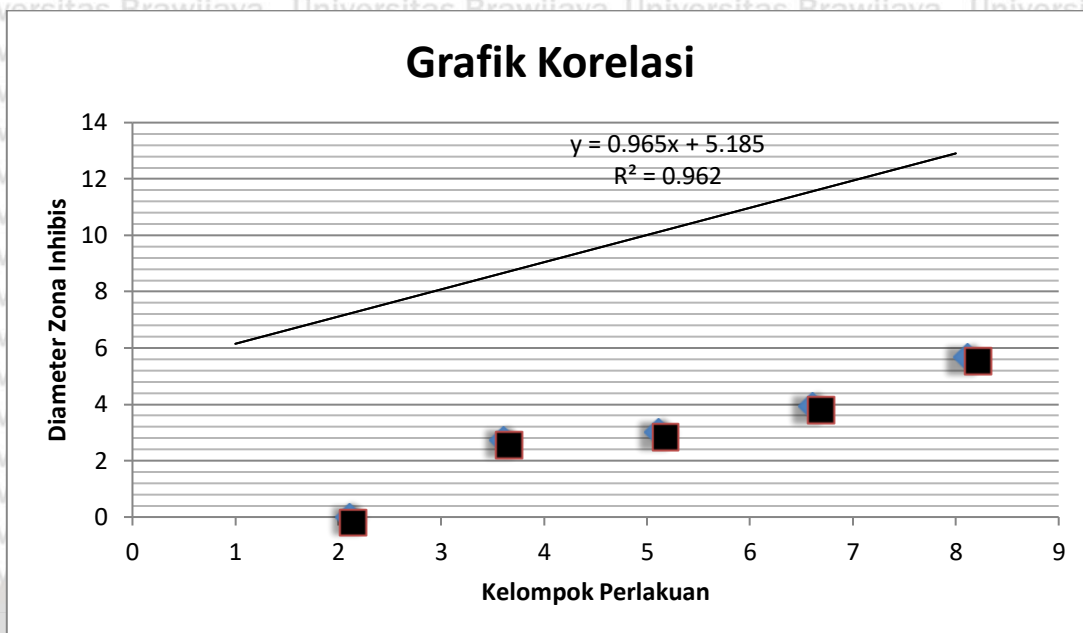
Uji korelasi dilakukan untuk mengetahui hubungan antara diameter zona hambat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* sebagai variabel dependen dengan pemberian berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun kopi Robusta sebagai variabel independen. Berdasarkan hasil uji Korelasi *Pearson* pada Table 5.7, didapatkan nilai signifikansi (*2-tailed*) sebesar 0.000 ($p < 0.05$), yang artinya terdapat hubungan yang signifikan antara variabel diameter zona hambat dengan variabel konsentrasi ekstrak etanol daun kopi Robusta. Berdasarkan hasil nilai *Pearson correlation* diperoleh nilai sebesar 0.981 yang artinya terdapat hubungan positif yang sangat kuat antara diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan

konsentrasi ekstrak etanol daun kopi Robusta. Tanda korelasi nilai positif menunjukkan bahwa bentuk hubungan kedua variabel adalah berbanding lurus. Hal tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol daun kopi Robusta maka semakin besar pula diameter zona hambat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang terbentuk.

Tabel 5. 7 Hasil Uji Korealsi *Person* antara Peningkatan Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Kopi Robusta terhadap Diameter Zona hambat Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Correlations			
		Diameter Zona Inhibisi	Kelompok Perlakuan
Diameter Zona Inhibisi	Pearson Correlation	1	.981**
	Sig. (2-tailed)		.000
	N	32	32
Kelompok Perlakuan	Pearson Correlation	.981**	1
	Sig. (2-tailed)	.000	
	N	32	32

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).



Gambar 5. 10 Grafik Korelasi Jumlah Perlakuan Terhadap Diameter Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri

5.2.5 Hasil Uji Regresi

Uji regresi dilakukan untuk mengetahui seberapa besar pengaruh ekstrak etanol daun kopi Robusta terhadap zona hambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Hasil uji regresi pada Tabel 5.8 didapatkan nilai R Square (R²) sebesar 0.962, yang menunjukkan bahwa pengaruh variabel ekstrak etanol daun kopi Robusta terhadap zona hambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* adalah sebesar 96.2%, sedangkan sisanya 3.8% dapat disebabkan oleh faktor lain yang tidak diteliti. Model regresi yang menunjukkan hubungan antara kenaikan konsentrasi ekstrak etanol daun kopi Robusta terhadap zona hambat yang terbentuk dapat dinyatakan dalam rumus $Y = A + BX$. Y merupakan diameter zona hambat, sedangkan X adalah konsentrasi ekstrak etanol daun kopi Robusta. A adalah nilai konstanta,

sedangkan B adalah nilai koefisien regresi. Angka koefisien dari A dan B didapat dalam uji regresi (Lampiran 1) A sebesar 5.185 dan B sebesar 0.965, sehingga bila dimasukkan ke dalam rumus menjadi $Y = 5.185 + 0.965X$. Hal ini mempunyai makna bahwa terdapat hubungan yang positif yaitu, semakin besar konsentrasi ekstrak etanol daun kopi Robusta maka semakin besar zona hambat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang terbentuk.

Tabel 5. 8 Hasil Uji Regresi

Model Summary^b

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.981 ^a	.962	.961	.45170

a. Predictors: (Constant), Kelompok Perlakuan

b. Dependent Variable: Diameter Zona Inhibisi

BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui potensi antimikroba ekstrak etanol daun kopi Robusta (*Coffea canephora*) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* secara *In Vitro*. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah difusi sumuran. Metode difusi sumuran berguna untuk mengetahui potensi ekstrak etanol daun kopi Robusta (*Coffea canephora*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan mengukur zona hambat yang terbentuk di sekitar lubang sumuran. Zona hambat dapat diketahui dengan mengamati daerah bening yang terbentuk di sekitar lubang sumuran. Metode difusi sumuran memiliki keunggulan karena merupakan metode yang sederhana dan mudah untuk diinterpretasikan (Luc, 2015). Namun, metode ini tidak dapat membedakan efek bakterisidal dan bakteriostatik karena pada metode difusi sumuran tidak dapat menentukan Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) (Balouiri, 2016).

Isolat bakteri yang digunakan berasal dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pada awal penelitian, terlebih dahulu dilakukan uji identifikasi bakteri untuk mengetahui bahwa bakteri yang digunakan adalah bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Uji Identifikasi yang dilakukan meliputi pewarnaan Gram, tes oksidase, kultur bakteri dengan media Nutrient Agar dan uji VITEK. Berdasarkan hasil pewarnaan Gram didapatkan gambaran bentuk batang (basil) berwarna merah.

Gambaran tersebut merupakan gambaran bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, yang merupakan bakteri Gram negatif (Riedel, et al., 2019). Pada uji selanjutnya yaitu uji oksidase, didapatkan hasil positif yang ditandai dengan perubahan warna goresan menjadi ungu pada strip oksidase. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri yang bersifat oksidase positif. Bakteri dengan oksidase positif menghasilkan *cytochrome c oxidase* yang akan mengoksidasi reagen tetra-metil-p-fenilendiamin dihidroklorida. Reagen teroksidasi akan menghasilkan senyawa berwarna biru keunguan (Aryal, 2015). Pada uji kultur menggunakan media Nutrient Agar tampak koloni berwarna kehijauan dengan ukuran 2 mm. Gambaran tersebut merupakan gambaran bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang koloninya berwarna kehijauan disebabkan oleh produksi pigmen pyoverdine. Berdasarkan hasil uji VITEK, didapatkan nilai probabilitas sebesar 97% bahwa bakteri yang diujikan merupakan *Pseudomonas aeruginosa*. Selain itu, uji VITEK juga menunjukkan bahwa bakteri tersebut diketahui resisten terhadap beberapa antibiotik meliputi antibiotik Ampisillin, Ampisillin/Sulbaktam, Sefazolin, Siprofloksasin, Tigesiklin, Nitrofurantoin, serta Trimetoprim/Sulfametoksazol. Seluruh hasil uji Identifikasi menunjukkan bahwa bakteri uji yang digunakan merupakan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

Pada penelitian ini dilakukan pemberian beberapa konsentrasi ekstrak etanol daun kopi Robusta (*Coffea canephora*) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Konsentrasi ekstrak yang digunakan meliputi konsentrasi 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, dan 80% serta kontrol negatif berupa akuades dan kontrol positif berupa antibiotik *Ceftazidim*. Berdasarkan hasil pengukuran didapatkan rata-rata zona inhibisi pada konsentrasi 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% dan kontrol negatif secara berurutan

adalah 8 mm, 8,625 mm, 9,775 mm, 10,75 mm, 12,125 mm, 13,15 dan 6 mm.

Diameter pada kontrol negatif merupakan diameter lubang sumuran karena tidak terbentuk zona inhibisi di sekitar sumuran. Sedangkan pada kontrol positif diberi perlakuan pemberian antibiotik *Ceftazidim* dengan konsentrasi 0.095 µg/ml didapatkan rerata zona inhibisi sebesar 7.8 mm. Konsentrasi tersebut dipilih karena konsentrasi tersebut berada di bawah nilai MIC *Ceftazidim* terhadap *Pseudomonas aeruginosa* yaitu sebesar 2 µg/ml (Malekzadegan, 2019) dan merupakan konsentrasi paling rendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada penelitian ini. Pengukuran diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* menunjukkan perbedaan konsentrasi ekstrak menghasilkan zona hambat dengan diameter yang berbeda.

Uji normalitas dan uji homogenitas dalam penelitian ini dilakukan sebagai syarat untuk melakukan uji parametrik *One-Way ANOVA*. Hasil kedua uji tersebut menunjukkan bahwa sampel berdistribusi normal dan homogen, sehingga dapat dilanjutkan dengan uji parametrik *One-Way ANOVA*. Pada uji *One-Way ANOVA* didapatkan nilai signifikansi sebesar 0.000 ($p < 0.5$). Hasil tersebut menunjukkan bahwa terdapat efek yang signifikan pada pemberian ekstrak etanol daun kopi Robusta dengan konsentrasi yang berbeda dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Hasil tersebut ditunjang dengan hasil Uji *Post-hoc Tukey* yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada semua sampel kelompok pemberian ekstrak daun kopi Robusta dibandingkan dengan kelompok kontrol positif dan kelompok kontrol negatif, kecuali pada pemberian ekstrak dengan konsentrasi 30% dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Hal tersebut

menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kopi Robusta (*Coffea canephora*) memiliki efek yang signifikan sebagai antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Namun pada pemberian ekstrak dengan konsentrasi 30% terdapat efek yang tidak signifikan dengan kontrol positif karena memiliki efektivitas antibakteri yang setara dengan kontrol positif.

Uji korelasi *Pearson* dilakukan untuk mengetahui karakteristik hubungan dari pemberian ekstrak etanol daun kopi Robusta (*Coffea canephora*) dengan berbagai konsentrasi terhadap besar diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Berdasarkan uji tersebut didapatkan nilai signifikansi sebesar 0.000 ($p < 0.05$) dan nilai R sebesar 0.981 positif. Menurut Sugiyono tahun 2013, nilai R sebesar 0.981 bila dilihat dari klasifikasi nilai korelasi *Pearson* termasuk ke dalam rentang korelasi yang sangat kuat (Sugiyono, 2013). Sedangkan nilai positif menunjukkan peningkatan konsentrasi ekstrak etanol daun kopi Robusta berbanding lurus dengan besarnya diameter zona hambat yang terbentuk. Hasil tersebut menunjukkan terdapat hubungan yang sangat kuat antara pemberian ekstrak etanol daun kopi Robusta (*Coffea canephora*) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Pada uji regresi didapatkan hasil nilai R Square (R^2) sebesar 0.962. Nilai tersebut menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun kopi Robusta memberikan pengaruh sebesar 96.2% terhadap hambatan pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Berdasarkan hasil analisis data dari beberapa uji statistik maka dapat dikatakan bahwa ekstrak etanol daun kopi Robusta (*Coffea canephora*) memiliki potensi sebagai antimikroba terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Hal tersebut menunjukkan bahwa hipotesis pada penelitian ini yang menyatakan bahwa ekstrak etanol daun kopi

Robusta (*Coffea canephora*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* secara *In Vitro* dapat diterima.

Hambatan pada pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dikarenakan daun kopi Robusta memiliki senyawa-senyawa aktif yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Senyawa aktif yang terkandung di dalam daun kopi Robusta antara lain alkaloid, saponin, flavonoid dan asam klorogenat (Pertiwi, 2015). Alkaloid dapat mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada dinding sel bakteri dan memiliki gugus basa yang mampu berinterkalasi dengan asam amino yang menyusun DNA bakteri sehingga menyebabkan lisis pada inti sel bakteri. (Cushnie dan Lamb, 2005; Gunawan, 2009). Saponin memiliki mekanisme kerja antibakteri dengan menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri, sehingga menyebabkan naiknya permeabilitas dan keluarnya senyawa intraseluler sel, berakhir dengan kematian sel bakteri (Nuria et al, 2009). Flavonoid memiliki beberapa mekanisme yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri yaitu dengan menghambat sintesis asam nukleat dan mengganggu fungsi membran bakteri, sehingga menyebabkan gangguan metabolisme energi bakteri (Cushnie dan Lamb, 2005). Sedangkan Asam klorogenat bekerja sebagai antibakteri dengan meningkatkan permeabilitas membran plasma sehingga menurunkan fungsi pertahanan sel bakteri dan menyebabkan kebocoran dari nukleotida dan isi sitoplasma bakteri sehingga pertumbuhan bakteri menjadi terhambat (Amalia, 2020).

Penelitian mengenai aktivitas antimikroba menggunakan senyawa alam lainnya terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* telah dilakukan oleh Prasetyaji yaitu uji efektivitas ekstrak etanol daun Kamboja Putih (*Plumeria acuminata*) terhadap

bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Penelitian tersebut menggunakan konsentrasi ekstrak etanol daun Kamboja Putih (*Plumeria acuminata*) sebesar 60%, 70%, 80%, 90% dan 100% dengan rerata diameter zona hambat yang terbentuk secara berurutan sebesar 7.63 mm, 8.45 mm, 9.28 mm, 10.39 mm dan 11.47 mm (Prasetyaji, 2020). Jika hasil tersebut dibandingkan dengan perhitungan diameter zona hambat konsentrasi ekstrak etanol daun kopi Robusta (*Coffea canephora*) pada penelitian ini, tampak ada kesamaan yaitu ada peningkatan diameter zona hambat seiring dengan semakin meningkatnya kadar konsentrasi ekstrak. Berdasarkan hasil perbandingan tersebut tampak bahwa ekstrak etanol daun kopi Robusta memiliki efektivitas antimikroba yang lebih tinggi terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Hal tersebut tampak dari rerata zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi 60%, 70% dan 80% ekstrak daun kopi Robusta yang menghasilkan diameter zona hambat lebih besar.

Pada pemberian kontrol positif dengan antibiotik *Ceftazidim* konsentrasi 0.095 µg/ml didapatkan rerata diameter zona hambat sebesar 7.8 mm. Sedangkan pada pemberian ekstrak daun kopi Robusta konsentrasi 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% didapatkan diameter zona inhibisi yang lebih besar yaitu sebesar 8 mm, 8.625 mm, 9.775 mm, 10.75 mm, 12.125 mm dan 13.15 mm. Pada hasil tersebut tampak bahwa ekstrak daun kopi Robusta konsentrasi 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang lebih besar dibandingkan dengan pemberian *Ceftazidim* yang merupakan antibiotik pilihan yang poten untuk bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

Hasil penelitian lain yang mendukung penelitian ini dilakukan oleh Nayeem pada tahun 2011. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa ekstrak daun kopi Robusta dapat menghambat aktifitas bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* yang merupakan bakteri Gram positif, serta bakteri *Eschericia coli* dan *Klebsiella penumoniae* yang merupakan bakteri Gram negatif (Nayeem, 2011). Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun kopi Robusta memiliki efek antimikroba *broadspectrum*, karena dapat memberikan hambatan yang efektif terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif. Hasil penelitian oleh Nayeem (2011) dapat dilihat pada Tabel 6.1.

Tabel 6. 1 Hasil Pengamatan Aktivitas Ekstrak Daun Kopi Robusta (Nayeem, 2011)

Sampel	Konsentrasi	Diameter Zona Hambat (mm)			
		SA	BS	EC	KP
Ekstrak	200 mcg/ml	19	18	23	15
Daun Kopi Robusta	100mcg/ml	10	10	13	-

Keterangan : - tidak terdapat zona hambat; SA- *Staphylococcus aureus*, BS- *Bacillus subtilis*, EC- *Eschericia coli*, KP- *Klebsiella penumoniae*

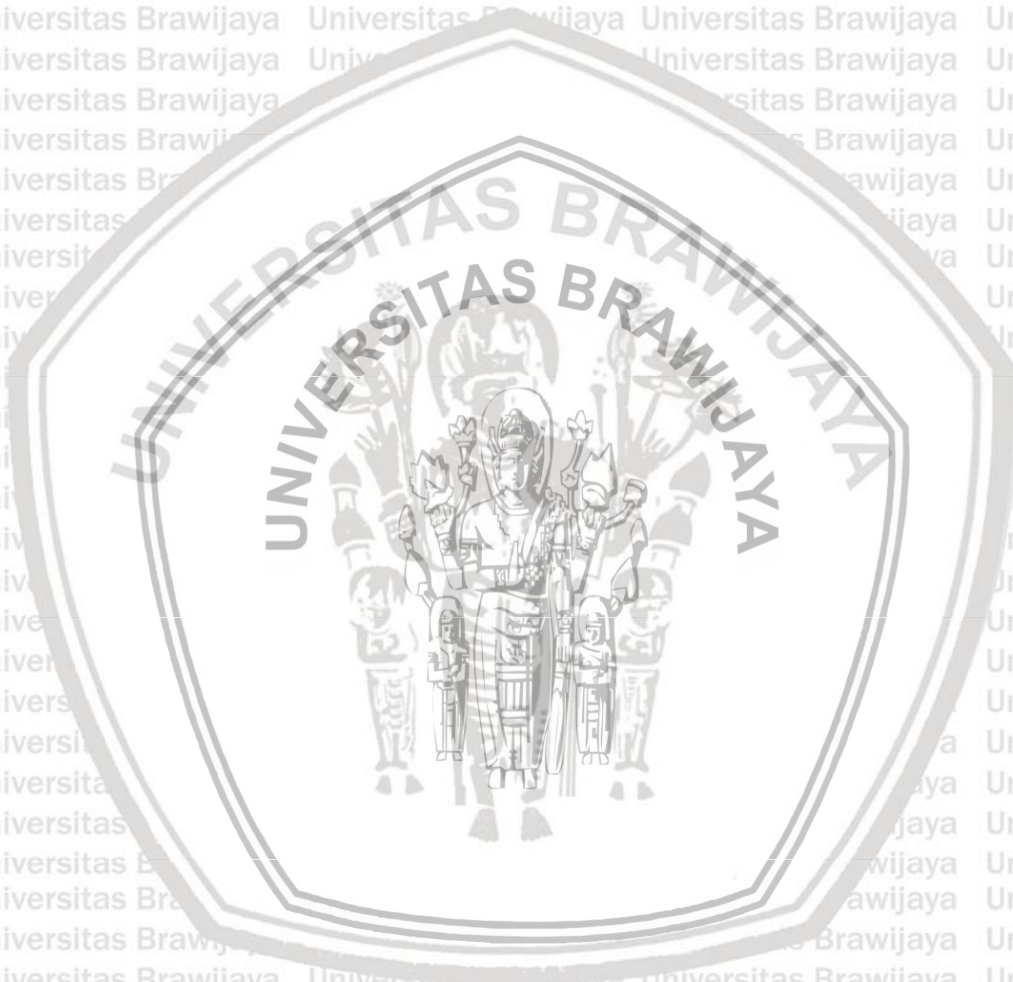
Pada penelitian ini ditemukan beberapa keterbatasan diantaranya adalah belum diketahui secara pasti komponen-komponen aktif yang terkandung pada ekstrak etanol daun kopi Robusta (*Coffea canephora*) yang memiliki peran lebih besar dalam penelitian ini. Penelitian ini hanya terbatas untuk mengetahui aktivitas

antibakteri pada ekstrak etanol daun kopi Robusta (*Coffea canephora*) tanpa dilakukan pemeriksaan pendahuluan untuk mengetahui presentase komponen-komponen aktif yang terkandung dalam ekstrak, sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut. Pada penelitian ini juga tidak terdapat standarisasi pembuatan ekstrak bahan alam, metode ekstraksi dan penyimpanan ekstrak. Pada penelitian lebih lanjut perlu ditetapkan standarisasi yang baik supaya tidak ada perbedaan efektivitas ekstrak sebagai antimikroba.

Keterbatasan lainnya pada penelitian ini adalah antibiotik Ceftazidim yang digunakan sebagai kontrol positif termasuk ke dalam antibiotik yang restriksi, sehingga sulit untuk mendapatkan antibiotik ini secara umum. Selain itu, penelitian ini hanya menggunakan satu metode yaitu metode difusi sumuran yang hanya dapat mengetahui ada atau tidaknya zona hambat pertumbuhan bakteri yang terbentuk oleh karena pemberian berbagai konsentrasi ekstrak. Metode ini tidak dapat menilai Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM), sehingga perlu penelitian lebih lanjut dengan menggunakan metode lainnya selain metode difusi sumuran.

Penelitian lebih lanjut secara *In Vitro* maupun secara *In Vivo* juga perlu dilakukan untuk mengetahui dosis efektif dan toksisitas, serta efek samping yang dapat ditimbulkan oleh ekstrak daun kopi Robusta (*Coffea canephora*). Hal tersebut penting untuk dilakukan sebelum digunakan sebagai terapi alternatif pada manusia untuk mengobati infeksi yang diakibatkan oleh *Pseudomonas aeruginosa*. Penelitian lain dengan menggunakan strain *Pseudomonas aeruginosa* yang didapatkan dari spesimen klinis maupun penggunaan bakteri Gram positif atau Gram negatif lain dapat dilakukan untuk memperluas hasil penelitian serta mengetahui efek antimikroba pada

bakteri yang lain. Hal ini dapat menunjukkan bahwa ekstrak daun kopi Robusta (*Coffea canephora*) memiliki efek antimikroba yang *broad spectrum*.



BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Ekstrak etanol daun kopi Robusta (*Coffea canephora*) memiliki potensi sebagai antimikroba terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* secara *In Vitro*.
2. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun kopi Robusta (*Coffea canephora*) yang digunakan, semakin besar pula diameter zona hambat yang dihasilkan di sekitar lubang sumuran.
3. Konsentrasi ekstrak etanol daun kopi Robusta (*Coffea canephora*) yang efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* adalah sebesar 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% karena memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang lebih besar dari Ceftazidim 0.095 µg/ml.

7.2 Saran

Adapun saran yang dapat diberikan pada penelitian ini adalah :

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai ekstrak etanol daun kopi Robusta (*Coffea canephora*) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan menggunakan metode lain seperti dilusi tabung untuk mengetahui Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM).
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efektifitas ekstrak etanol daun kopi Robusta (*Coffea canephora*) sebagai antimikroba terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang didapatkan dari spesimen klinis maupun bakteri lain selain *Pseudomonas aeruginosa*.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek antimikroba ekstrak etanol daun kopi Robusta (*Coffea canephora*) secara *In Vitro* maupun *In Vivo* untuk mengetahui dosis efektif, toksisitas dan efek samping yang dapat ditimbulkan oleh ekstrak sebagai alternatif pengobatan terhadap infeksi bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.
4. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai kadar senyawa-senyawa aktif yang terkandung di dalam ekstrak etanol daun kopi Robusta (*Coffea canephora*) agar dapat diketahui senyawa yang paling banyak dan yang memiliki efek antimikroba paling besar.

DAFTAR PUSTAKA

Ahmad, N. et al., 2014. Sherris Medical Microbiology. 6th Edition ed. s.l.:McGraw-Hill Education.

Amalia, F. F., 2020. Aktivitas Antibakteri Kopi Robusta Dalam Mempercepat Kejadian Penyembuhan Luka Pada Ulkus Diabetikum. *Healthy Tadulako Journal (Jurnal Kesehatan Tadulako)*, 6(1), 1-6.

Anshori, M.F., 2014. Analisis Keragaman Morfologi Koleksi Tanaman Kopi Arabika dan Robusta Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar Sukabumi. *Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor*.

Aryal S. 2015. MacConkey Agar-Composition, Principle, Uses, Preparation and Colony Morphology, (online), (<https://microbiologyinfo.com>, diakses 10 Oktober 2021)

Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibensouda, S. K., 2016. Methods for *in vitro* evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of pharmaceutical analysis*, 6(2), 71–79.

Batra S., 2018. Morphology and Culture Characteristic of *Pseudomonas aeruginosa*, (online), (<https://paramedicsworld.com>, diakses 9 Desember 2021)

Baron EJ, Peterson LR, Finegold SM., 1994. Methods for testing antimicrobial effective-ness. In: Bailey and Scott's diagnostic microbiology, 9th ed. (pp 168–193). St. Louis: Mosby-Year Book, Inc.

Biswal, I., Arora, B. S., & Dimple Kasana, N., 2014. Incidence of multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn patients and environment of teaching institution. *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR*, 8(5), DC26

Breidenstein, E. B., de la Fuente-Núñez, C., & Hancock, R. E., 2011. *Pseudomonas aeruginosa*: all roads lead to resistance. *Trends in microbiology*, 19(8), 419–426.

Cavalieri, S.J., I.D. Rankin., R.J. Harbeck., R.S. Sautter., Y.S. McCarter., S.E. Sharp., J.H. Ortiz., dan C.A., 2005. Manual of Antimicrobial Susceptibility Testing. *American Society for Microbiology, USA.*

Cornelissen, C. N., Fisher, B. & Harvey, R., 2013. *Microbiology*. s.l.:Lippincott Williams & Wilkins.

Cushnie, T.P.T., dan A.J. Lamb., 2005. Antimicrobial Activity of Flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 26: 343 – 356

Dephinto, Y. and Muslim, Z., 2018. Perbandingan Efektivitas Antimikroba Ekstrak Daun Kopi Robusta (*Coffea Canephora*) dengan Variasi Pengeringan Terhadap *Staphylococcus aureus*. *UNES Journal of Sciencetech Research*, 3(1), pp.076-080.

Direktorat Jendral Perkebunan, Kementrian Pertanian., 2019. *Statistik Perkebunan Indonesia 2018-2020 : Kopi*. Jakarta: Ditjen. Perkebunan.

Drenkard E., 2003. Antimicrobial resistance of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Microbes and infection*, 5(13), 1213–1219.

Gunardi, W.D., 2016. Mekanisme Biomolekuler *Pseudomonas aeruginosa* dalam Pembentukan Biofilm dan Sifat Resistensi terhadap Antibiotika. *Jurnal Kedokteran Meditek*.

Gunawan, I.W.A., 2009. *Potensi Buah Pare (Momordica Charantia L) Sebagai Antibakteri Salmonella typhimurium*. Denpasar: Program Studi Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Mahasaraswati.

Hartati, H. and Putri, S.E., 2019. Perbedaan aktivitas antimikroba dari ekstrak etanol dan etil asetat daun kopi (*Coffea canephora*). Makalah disajikan dalam Seminar Nasional LP2M UNM.

Haryanto, B., Thohar, A., Basri, H., Widodo, D., Murdani, & Mulyono, S., 2016. *Kurikulum Nasional dan Modul Pelatihan Budi Daya Berkelanjutan (Good Agriculture Practices-GAP) dan Pascapanen (Post-Harvest) Kopi Robusta*. Jakarta: Badan Penyuluhan dan Pengembangan SDM Pertanian, Kementerian Pertanian Republik Indonesia.

Hečimović, I., Belščak-Cvitanović, A., Horžić, D., & Komes, D., 2011. Comparative study of polyphenols and caffeine in different coffee varieties affected by the degree of roasting. *Food chemistry*, 129(3), 991-1000.

Karadi, R. V., Shah, A., Parekh, P., dan Azmi, P., 2011. Antimicrobial Activities of *Musa paradisiaca* and *Cocos nucifera*. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*. 2: 264 – 267.

Lima-Filho J.V., de Aguiar Cordeiro R., 2014. In Vitro and In Vivo Antibacterial and Antifungal Screening of Natural Plant Products: Prospective Standardization of Basic Methods. In: Albuquerque U., Cruz da Cunha L., de Lucena R., Alves R. (eds) *Methods and Techniques in Ethnobiology and Ethnoecology. Springer Protocols Handbooks. Humana Press*, New York, NY

Luc, M., 2015. *A comparison of disc diffusion and microbroth dilution methods for the detection of antibiotic resistant subpopulations in Gram negative bacilli* (Doctoral dissertation).

Madigan M T, Martinko J M, Parker J. 2003. *Brock Biology of Microorganisms*, 10th Edition. Southem Illinois University Carbondale. Pearson Education. Upper Saddle River, NJ 2003: 370,633-37,673,745.

Malekzadegan, Y., Abdi, A., Heidari, H., Moradi, M., Rastegar, E., & Ebrahim-Saraie, H. S., 2019. In vitro activities of colistin, imipenem and ceftazidime against drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* isolates in the south of Iran. *BMC research notes*, 12(1), 1-5.

Mayasari E., 2006. *Pseudomonas aeruginosa; karakteristik, infeksi, dan penanganan*. Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara.

Misnadiarly, AS.APU., Djajaningrat, H. 2014. *Mikrobiologi Untuk Klinik dan Laboratorium*. Jakarta: Rineka Cipta.

Najiyati, S. & Danarti, 2012. *Kopi, Budidaya dan Penanganan Lepas Panen*. Jakarta: Penebar Swadaya.

Nayeem, N., Denny, G., Mehta, S.K., 2011. Comparative phytochemical analysis, antimicrobial and anti oxidant activity of the methanolic extracts of the leaves of *cofea arabica* and *cofea robusta*. *Der Pharmacia Lettre* 3, 292–297.

Ngaisah, S., 2010. Identifikasi dan uji aktivitas antibakteri minyak atsiri daun sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) asal Magelang.

Noer, S.F., 2011. Pola Bakteri dan Resistensinya terhadap Antibiotik yang ditemukan pada Air dan Udara Ruang Instalasi Rawat Khusus RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar. Universitas Islam Makassar.

Nuria, M.C., A. Faizatun., dan Sumantri., 2009. Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha cuircas* L) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Salmonella typhi* ATCC 1408. *Jurnal Ilmu – ilmu Pertanian*. 5: 26 – 37.

Pang, Z., Raudonis, R., Glick, B. R., Lin, T. J., & Cheng, Z., 2019. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies. *Biotechnology advances*, 37(1), 177–192.

Panggabean, I.E., 2011. *Buku pintar kopi*. AgroMedia.

Peix, A., Ramírez-Bahena, M. H., & Velázquez, E., 2009. Historical evolution and current status of the taxonomy of genus *Pseudomonas*. *Infection, genetics and evolution : journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases*, 9(6), 1132–1147.

Pertiwi, N.P., 2015. *Validasi metode dan penetapan kadar asam klorogenat pada ekstrak daun kopi robusta (cofea canephora) dengan metode klt densitometri* (Doctoral dissertation).

Prasetyaji, IMN Wiranta., 2020. *Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Kamboja Putih (Plumeria acuminata) Terhadap Bakteri Pseudomonas aeruginosa Secara IN VITRO*. Sarjana thesis, Universitas Brawijaya.

Radji, M. 2011. *Mikrobiologi*. Buku Kedokteran ECG, Jakarta.

Rahardjo, P. 2012. *Panduan Budi Daya dan Pengolahan Kopi Arabika dan Robusta*. Jakarta: Penebar Swadaya.

Rahardjo, P. 2017. *Berkebun Kopi*. Jakarta: Penebar Swadaya.

Ranjan, K. P., Ranjan, N., Bansal, S. K., & Arora, D. R. (2010). Prevalence of *Pseudomonas aeruginosa* in post-operative wound infection in a referral hospital in Haryana, India. *Journal of laboratory physicians*, 2(02), 074-077.

Riedel, S., Hobden, J.A., Miller, S., 2019. *Jawetz, Melnick and Adelberg's Medical Microbiology*: 28th Edition, in: *Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology*. p. chapter 32.

Roosjen A, Henk J B, Willem N, Henny C., 2006. Bacterial factors influencing adhesion of *Pseudomonas aeruginosa* strains to poly (ethylene oxide) brush. *Microbiology* 52: 2673-2682

Stacey L Knobler, Stanley M Lemon, Marjan Najafi, and Tom Burroughs., 2003. *The Resistance Phenomenon in Microbes and Infectious Disease Vectors: Implications for Human Health and Strategies for Containment*. Washington (DC): National Academies Press (US).

Sugiyono. 2013. *Metode Penelitian Kombinasi (Mixed Methods)*. Alfabeta. Bandung

Suradikusumah E. 1989. *Kimia Tumbuhan*. PAU-IPB, Bogor.

Suwandi, T., 2012. *Pengembangan potensi antibakteri kelopak bunga Hibiscus sabdariffa L. (Rosela) terhadap Streptococcus Sang Penginduksi Gingivitis Menuju Obat Herb Terstandart*, Patent No. 066171.

Tille, P. M., 2016. *Bailey & Scott's diagnostic microbiology*. s.l.:Elsevier Health Sciences.

Trisia, A., Philyria, R. and Toemon, A.N., 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kalanduyung (*Guazuma ulmifolia* Lam.) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan Metode Difusi Cakram (Kirby-Bauer). *Anterior Jurnal*, 17(2), pp.136-143

World Health Organization, 2011. *Report on the burden of endemic health care-associated infection worldwide*

Winarsih., 2016. *Bakteriologi Medik, Bakteri Bentuk Kokus, Edisi Kedua*, Laboratorium Mikrobiologi FKUB, Malang, hal 108 – 111.



Lampiran 1

Hasil Uji Statistik

1. Uji Normalitas dan Homogenitas

Tests of Normality

	Kelompok Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Diameter Zona Inhibisi	Tanpa Pemberian Ekstrak	.	4	.	.	4	.
	Pemberian Antibiotik	.300	4	.	.838	4	.189
	Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 30%	.250	4	.	.927	4	.577
	Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 40%	.181	4	.	.984	4	.925
	Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 50%	.288	4	.	.887	4	.369
	Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 60%	.251	4	.	.927	4	.574
	Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 70%	.224	4	.	.949	4	.712
	Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 80%	.192	4	.	.971	4	.850

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Diameter Zona Inhibisi	Based on Mean	2.324	7	24	.058
	Based on Median	1.978	7	24	.101
	Based on Median and with adjusted df	1.978	7	17.310	.118
	Based on trimmed mean	2.303	7	24	.060

2. One-Way ANOVA

ANOVA

Diameter Zona Inhibisi

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	160.002	7	22.857	209.182	.000
Within Groups	2.622	24	.109		
Total	162.625	31			

3. Post Hoc Tukey Test

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Diameter Zona Inhibisi

Tukey HSD

(I) Kelompok Perlakuan	(J) Kelompok Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Tanpa Pemberian Ekstrak	Pemberian Antibiotik	-1.80000*	.23374	.000	-2.5741	-1.0259
	Konsentrasi Ekstrak	-2.00000*	.23374	.000	-2.7741	-1.2259
	Daun Kopi Robusta 30%					
	Konsentrasi Ekstrak	-2.62500*	.23374	.000	-3.3991	-1.8509
	Daun Kopi Robusta 40%					
	Konsentrasi Ekstrak	-3.77500*	.23374	.000	-4.5491	-3.0009
	Daun Kopi Robusta 50%					
	Konsentrasi Ekstrak	-4.75000*	.23374	.000	-5.5241	-3.9759
	Daun Kopi Robusta 60%					
Pemberian Antibiotik	Konsentrasi Ekstrak	-6.12500*	.23374	.000	-6.8991	-5.3509
	Daun Kopi Robusta 70%					
	Konsentrasi Ekstrak	-7.15000*	.23374	.000	-7.9241	-6.3759
Pemberian Antibiotik	Daun Kopi Robusta 80%					
	Tanpa Pemberian Ekstrak	1.80000*	.23374	.000	1.0259	2.5741

	Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 30%	-2.20000	.23374	.987	-.9741	.5741
	Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 40%	-.82500*	.23374	.031	-1.5991	-.0509
	Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 50%	-1.97500*	.23374	.000	-2.7491	-1.2009
	Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 60%	-2.95000*	.23374	.000	-3.7241	-2.1759
	Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 70%	-4.32500*	.23374	.000	-5.0991	-3.5509
	Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 80%	-5.35000*	.23374	.000	-6.1241	-4.5759
Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 30%	Tanpa Pemberian Ekstrak	2.00000*	.23374	.000	1.2259	2.7741
	Pemberian Antibiotik	.20000	.23374	.987	-.5741	.9741
	Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 40%	-.62500	.23374	.179	-1.3991	.1491
	Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 50%	-1.77500*	.23374	.000	-2.5491	-1.0009
	Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 60%	-2.75000*	.23374	.000	-3.5241	-1.9759
	Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 70%	-4.12500*	.23374	.000	-4.8991	-3.3509
	Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 80%	-5.15000*	.23374	.000	-5.9241	-4.3759
Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 40%	Tanpa Pemberian Ekstrak	2.62500*	.23374	.000	1.8509	3.3991
	Pemberian Antibiotik	.82500*	.23374	.031	.0509	1.5991
	Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 30%	.62500	.23374	.179	-.1491	1.3991
	Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 50%	-1.15000*	.23374	.001	-1.9241	-.3759
	Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 60%	-2.12500*	.23374	.000	-2.8991	-1.3509

	Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 70%	-3.50000*	.23374	.000	-4.2741	-2.7259
	Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 80%	-4.52500*	.23374	.000	-5.2991	-3.7509
Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 50%	Tanpa Pemberian Ekstrak	3.77500*	.23374	.000	3.0009	4.5491
	Pemberian Antibiotik	1.97500*	.23374	.000	1.2009	2.7491
	Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 30%	1.77500*	.23374	.000	1.0009	2.5491
	Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 40%	1.15000*	.23374	.001	.3759	1.9241
	Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 60%	-.97500*	.23374	.007	-1.7491	-.2009
	Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 70%	-2.35000*	.23374	.000	-3.1241	-1.5759
	Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 80%	-3.37500*	.23374	.000	-4.1491	-2.6009
	Tanpa Pemberian Ekstrak	4.75000*	.23374	.000	3.9759	5.5241
Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 60%	Pemberian Antibiotik	2.95000*	.23374	.000	2.1759	3.7241
	Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 30%	2.75000*	.23374	.000	1.9759	3.5241
	Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 40%	2.12500*	.23374	.000	1.3509	2.8991
	Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 50%	.97500*	.23374	.007	.2009	1.7491
	Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 70%	-1.37500*	.23374	.000	-2.1491	-.6009
	Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 80%	-2.40000*	.23374	.000	-3.1741	-1.6259
	Tanpa Pemberian Ekstrak	6.12500*	.23374	.000	5.3509	6.8991
	Pemberian Antibiotik	4.32500*	.23374	.000	3.5509	5.0991
Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 70%	Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 30%	4.12500*	.23374	.000	3.3509	4.8991

	Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 40%	3.50000*	.23374	.000	2.7259	4.2741
	Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 50%	2.35000*	.23374	.000	1.5759	3.1241
	Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 60%	1.37500*	.23374	.000	.6009	2.1491
	Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 80%	-1.02500*	.23374	.004	-1.7991	-.2509
	Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 80% Ekstrak	7.15000*	.23374	.000	6.3759	7.9241
	Pemberian Antibiotik	5.35000*	.23374	.000	4.5759	6.1241
	Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 30%	5.15000*	.23374	.000	4.3759	5.9241
	Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 40%	4.52500*	.23374	.000	3.7509	5.2991
	Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 50%	3.37500*	.23374	.000	2.6009	4.1491
	Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 60%	2.40000*	.23374	.000	1.6259	3.1741
	Konsentrasi Ekstrak Daun Kopi Robusta 70%	1.02500*	.23374	.004	.2509	1.7991

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

4. Uji Korelasi Pearson

Correlations

		Diameter Zona Inhibisi	Kelompok Perlakuan
Diameter Zona Inhibisi	Pearson Correlation	1	.981**
	Sig. (2-tailed)		.000
	N	32	32
Kelompok Perlakuan	Pearson Correlation	.981**	1
	Sig. (2-tailed)	.000	
	N	32	32

**.. Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

5. Uji Regresi

Model Summary^b

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.981 ^a	.962	.961	.45170

a. Predictors: (Constant), Kelompok Perlakuan

b. Dependent Variable: Diameter Zona Inhibisi

ANOVA^a

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	156.504	1	156.504	767.052	.000 ^b
	Residual	6.121	30	.204		
	Total	162.625	31			

a. Dependent Variable: Diameter Zona Inhibisi

b. Predictors: (Constant), Kelompok Perlakuan

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	5.185	.176		29.462	.000
	Kelompok Perlakuan	.965	.035	.981	27.696	.000

a. Dependent Variable: Diameter Zona Inhibisi

Lampiran 2

Alat dan Bahan Penelitian



Akuades



Bunsen Burner



Cawan Petri



Inkubator



Mikropipet



Ose



H₂O₂



Mikroskop



Penggaris



Inkubator



Pewarna Gram



Spektrofotometer



Tip Mikropipet



Lampiran 3

Sertifikat Determinasi Tanaman



PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT LABORATORIUM HERBAL MATERIA MEDICA BATU
Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396, e-mail: materiamedicabatu@jatimprov.go.id
KOTA BATU 65313

Nomor : 074/ 219/ 102.7-A/ 2021
Sifat : Biasa
Perihal : **Determinasi Tanaman Kopi Robusta**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : SAFIRA AULIA FEBIANTI
NIM : 185070101111048
Fakultas : FAKULTAS KEDOKTERAN, UNIVERSITAS BRAWIJAYA

1. Perihal determinasi tanaman kopi robusta

Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas : Dicotyledonae
Bangsa : Rubiales
Suku : Rubiaceae
Marga : Coffea
Jenis : *Coffea canephora* Pierre ex A.Froehner
Sinonim : *C. canephora* var. *robusta* (L. Linden) A. Chev. = *C. robusta* (L.) Linden
Nama umum : Kopi robusta.
Kunci Determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14b-16a-239b-243b-244b- 248b-249b-250a-251a-252b-1b-3b-4b-5b-6b-7a-1a

2. Morfologi : Habitus: Perdu, tahunan, tinggi $\pm$ 5 m. Batang: Berkayu, keras, tegak, putih keabuan. Daun: Tunggal, bulat telur, mengkilat, ujung runcing, tepi rata, pangkal tumpul, panjang 5-15 cm, lebar 4-6.5 cm, pertulangan menyirip, tangkai panjang 0.5-1 cm, hijau, pangkal daun membulat. Bunga: Majemuk, bentuk payung, di ketiak **daun, kelopak** berbagi lima, hijau, mahkota bentuk bintang, putih, benang sari lima, tangkai sari putih, kepala sari hitam, panjang putik $\pm$ 3 cm, kepala putik coklat, putih. Buah: Bulat telur, diameter $\pm$ 5 mm, masih muda hijau setelah tua merah. Biji: Bulat telur, berbelah dua, keras, putih kotor. Akar: Tunggang, kuning muda.

3. Bagian yang digunakan : Daun.

4. Penggunaan : Penelitian.

5. Daftar Pustaka

- Syamsuhidayat, Sri Sugati dan Hutapea, Johny Ria. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia I*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Badan Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan.
- Van Steenis, C.G.G.J. 2008. *FLORA, untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.

Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 05 Maret 2021

KEPALA UPT LABORATORIUM HERBAL
MATERIA MEDICA BATU



ACHMAD MABRUR, SKM, M.Kes.
NIP. 19680203 199203 1 004