

EFEK ANTIMIKROBA EKSTRAK KOPI (*Coffea arabica*) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* DENGAN METODE DILUSI AGAR

TUGAS AKHIR

Untuk Memenuhi Persyaratan

Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Umum



Oleh:

Dyah Lukito Hayuningrum

0910710061

PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2012

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR
EFEK ANTIMIKROBA EKSTRAK KOPI (*Coffea arabica*) TERHADAP
BAKTERI *Staphylococcus aureus* DENGAN METODE DILUSI AGAR

Oleh:

Dyah Lukito Hayuningrum

NIM: 0910710061

Telah diuji pada

Hari : Kamis

Tanggal : 4 Oktober 2012

dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji I

dr Indriati Dwi Rahayu, M. Kes

NIP. 19760519 200501 2 001

Penguji II

dr Roekistiningsih, DMM, MS, SpMK

NIP. 19490206 197803 2 001

Penguji III

dr Widodo, M.Kes

NIP. 130 809 132

Mengetahui:

Ketua Program Studi

Prof. Dr. Dr. Teguh Wahyu Sardjono, DTM&H, M.Sc, Sp.Par.K

19520410 198002 1 001

KATA PENGANTAR

Dengan mengucapkan puji syukur kehadiran Allah SWT atas limpahan rahmat, taufiq, serta hidayahNya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan Tugas Akhir berjudul “Efek Antimikroba Ekstrak Kopi (*Coffea arabica*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dengan Metode Dilusi Agar” ini dengan lancar. Tugas akhir ini disusun untuk memenuhi persyaratan menyelesaikan studi di Program Pendidikan Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

Selama penyelesaian Tugas Akhir ini penulis dibantu oleh berbagai pihak, sehingga dalam kesempatan ini penulis sampaikan penghargaan dan rasa terima kasih yang tak terhingga kepada:

1. Ayahku dan Ibuku atas dukungan dalam berbagai bentuk, curahan kasih sayang, serta doa yang diberikan kepada penulis.
2. Dr.dr. Karyono Mintaroem, SpPA selaku dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
3. dr Roekistiningsih, DMM, MS, SpMK selaku dosen pembimbing pertama yang dengan sabar dan penuh kasih sayang telah memberikan bimbingan, pengarahan, dan motivasi, sehingga Tugas Akhir ini dapat terselesaikan dengan baik.
4. dr Widodo, M.Kes. selaku dosen pembimbing kedua yang dengan sabar telah memberikan masukan, bimbingan dan motivasi sehingga Tugas Akhir ini dapat terselesaikan dengan baik.
5. dr Indriati Dwi Rahayu, M.Kes selaku dosen penguji satu atas segala saran dan kritik sehingga Tugas Akhir ini dapat menjadi lebih baik.

6. Mbak Uci, Bu Yati, Mas Henry, dan Mas Andre selaku analis dan petugas administrasi Laboratorium Mikrobiologi atas semua bentuk bantuannya dalam pelaksanaan penelitian ini
7. Sahabat-sahabatku satu angkatan yang tidak dapat disebutkan satu persatu atas segala dukungan, semangat, dan hiburan yang diberikan selama ini.
8. Teman-teman kosku Inike, dan Lia atas segala bentuk bantuan dan dukungan kepada penulis selama menyelesaikan Tugas Akhir ini.
9. Semua pihak yang telah membantu menyelesaikan Tugas Akhir ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa Tugas Akhir ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, kritik dan saran penulis harapkan agar dapat menjadi bahan penyempurnaan pada penelitian lainnya di masa yang akan datang. Semoga penelitian ini bisa bermanfaat bagi berbagai pihak.

Malang, Oktober 2012

Penulis

ABSTRAK

Hayuningrum, Dyah Lukito. 2012. **Efek Antimikroba Ekstrak Kopi (*Coffea arabica*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* In Vitro**. Tugas Akhir, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) dr. Roekistiningsih, MS., SpMK (2) dr Widodo, M.Kes.

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif dari famili Staphylococcaceae yang bisa menyebabkan infeksi supuratif ringan sampai berat, abses internal, dan sepsis. Kopi (*Coffea arabica*) memiliki kandungan senyawa polifenol berupa *chlorogenic acid* dan senyawa alkaloid berupa kafein. Senyawa aktif tersebut bermanfaat sebagai antimikroba untuk *Staphylococcus aureus* yang dibuktikan pada penelitian ini dengan menggunakan desain eksperimental. Metode dilusi agar digunakan untuk mengetahui nilai Kadar Hambat Minimal (KHM). Konsentrasi ekstrak ethanol kopi yang digunakan adalah 0%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, dan 10%. Dari penelitian didapatkan KHM ekstrak kopi terhadap *Staphylococcus aureus* dalam tiga pengulangan adalah 9%, sedangkan pada pengulangan keempat nilai KHM ekstrak kopi adalah 10%. Hasil penelitian ini menunjukkan secara signifikan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak kopi maka semakin rendah pertumbuhan *Staphylococcus aureus* (Kruskall Wallis= $p < 0,05$; korelasi Spearman= -0,897). Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak kopi memiliki efek antimikroba terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara in vitro.

Kata Kunci: Ekstrak kopi, *Staphylococcus aureus*, antimikroba, dilusi agar.

ABSTRACT

Hayuningrum, Dyah Lukito. 2012. ***The Antimicrobial Effect of Coffee (Coffea arabica) on Staphylococcus aureus with Agar Dilution Method.*** Final Assignment, Medical Faculty of Brawijaya University. Supervisors: (1) dr. Roekistiningsih, MS.,Sp.MK (2) dr. Widodo,M.Kes.

Staphylococcus aureus is a Gram positive bacteria of Staphylococcaceae family that causes mild to severe suppurative infection, internal abscess, and sepsis. Coffee (*Coffea arabica*) contains polyphenol substances including *chlorogenic acid* and alkaloid substances in the form of caffeine, which have antimicrobial effect. This research is done to prove that coffee extract has antimicrobial effects towards *Staphylococcus aureus*. The experiment of this research was a laboratory experimental study using *agar dilution* method to determine the Minimal Inhibitory Concentration (MIC). The tested concentrations coffee extract used in this research were 0%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, and 10%. The MIC for 3 repetition was 9%. However the MIC in 1 repetition was 10%. The results showed significantly that the higher concentration of coffee extract, the lower the growth of *Staphylococcus aureus* (Kruskall Wallis= $p < 0,05$; korelasi Spearman= -0,897). This research proves that coffee extract has an antimicrobial effect against *Staphylococcus aureus* in vitro.

Keywords: Coffee extract, *Staphylococcus aureus*, antimicrobe, Agar Dilution

DAFTAR ISI

Halaman

Halaman Judul

Lembar Persetujuan

Halaman Pengesahan

Kata Pengantar..... i

Abstrak..... iii

Abstract..... iv

Daftar Isi..... v

Daftar Gambar..... ix

Daftar Tabel..... x

Daftar Lampiran xi

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang..... 1

1.2 Rumusan Masalah 3

1.3 Tujuan Penelitian 3

1.3.1 Tujuan Umum..... 3

1.3.2 Tujuan Khusus..... 3

1.4 Manfaat Penelitian 3

1.4.1 Manfaat Ilmiah 3

1.4.2 Manfaat Aplikasi 4

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kopi (<i>Coffea arabica</i>).....	5
2.1.1 Taksonomi Tanaman Kopi.....	5
2.1.2 Kopi dalam Masyarakat.....	6
2.1.3 Proses Pembuatan Kopi.....	6
2.1.4 Kandungan Kopi.....	7
2.1.5 Kegunaan Kopi sebagai Antimikroba	8
2.1.5.1 Kopi sebagai Antifungal	8
2.1.5.2 Kopi sebagai Antimikroba	9
2.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	10
2.2.1 Taksonomi.....	11
2.2.2 Morfologi, Sifat Pewarnaan, Struktur Dinding Sel, dan faktor Virulensi.....	12
2.2.2.1 Morfologi dan Sifat Pewarnaan.....	12
2.2.2.2 Struktur Dinding Sel	14
2.2.2.3 Faktor Virulensi.....	13
2.2.3 Karakteristik Biakan.....	14
2.2.4 Identifikasi <i>Staphylococcus aureus</i>	16
2.1.5 Epidemiologi dan Transmisi Penyakit	17
2.1.6 Patogenesisa	18
2.1.7 Manifestasi Klinis	18
2.1.8 Mekanisme Resistensi	19
2.3 Tes Kepekaan Kuman terhadap Antimikroba <i>In Vitro</i>	20
2.3.1 Metode Dilusi	20
2.3.2 Metode Difusi Cakram	22

BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep	24
3.2 Hipotesis Penelitian	26

BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian	27
4.2 Sampel	27
4.3 Tempat dan Waktu Penelitian	27
2.3.1 Tempat Penelitian	27
2.3.2 Waktu Penelitian	27
4.4 Jumlah Pengulangan	28
4.5 Variabel Penelitian	28
4.5.1 Variabel Bebas	28
4.5.2 Variabel Tergantung	28
4.6 Definisi Operasional	29
4.7 Alat dan Bahan	29
4.7.1 Alat	29
4.7.2 Bahan	31
4.8 Prosedur Penelitian	31
4.8.1 Pembuatan Bahan Uji	31
4.8.2 Identifikasi Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	32
4.8.3 Suspensi Bakteri Uji	34
4.8.4 Uji Antimikroba Ekstrak Kopi (<i>Coffea arabica</i>) terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> (Tes Dilusi Agar)	34
4.9 Skema Prosedur	36

4.10 Analisis Data	36
--------------------------	----

BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA

5.1 Data Hasil Penelitian	38
5.1.1 Identifikasi <i>Staphylococcus aureus</i>	38
5.1.2 Hasil Penentuan KHM	38
5.2 Analisa Data	42
5.2.1 Uji Kruskal Wallis	43
5.2.2 Uji Mann Whitney	44
5.2.3 Uji Korelasi Spearman	46

BAB 6 PEMBAHASAN 48

BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan	53
7.2 Saran	53

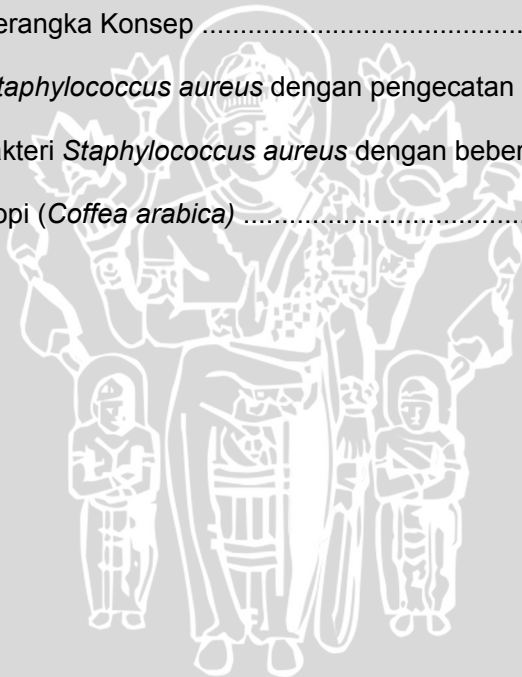
Daftar Pustaka.....	55
---------------------	----

Lampiran.....	60
---------------	----

Surat Pernyataan Keaslian Tulisan.....	75
--	----

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Buah Tanaman <i>Coffea arabica</i>	5
Gambar 2.2 Bagan Proses Pengolahan Buah Kopi Menjadi Biji Kopi.....	7
Gambar 2.3 Pewarnaan Gram <i>Staphylococcus aureus</i>	11
Gambar 2.4 Pewarnaan Gram <i>Staphylococcus aureus</i> pada Eksudat Pustular.....	12
Gambar 2.5 Struktur Dinding Sel <i>Staphylococcus aureus</i>	13
Gambar 2.6 Faktor Virulensi <i>Staphylococcus aureus</i>	14
Gambar 3.1 Bagan Kerangka Konsep	24
Gambar 5.1 bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dengan pengecatan Gram	38
Gambar 5.2 Koloni bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dengan beberapa perbedaan konsentrasi ekstrak kopi (<i>Coffea arabica</i>)	39



DAFTAR TABEL

Tabel 5.1 Pertumbuhan koloni <i>Staphylococcus aureus</i> dalam beberapa konsentrasi ekstrak kopi (<i>Coffea arabica</i>).....	41
Tabel 5.2 Ringkasan Hasil Uji Kruskal Wallis	43
Tabel 5.3 Hasil Uji Mann Whitney	45
Tabel 5.4 Hasil Uji Korelasi Spearman	47



DAFTAR LAMPIRAN

LAMPIRAN 1 Statistika Deskriptif.....	60
LAMPIRAN 2 Hasil Uji Kruskal Wallis.....	62
LAMPIRAN 3 Hasil Uji Mann Whitney.....	63
LAMPIRAN 4 Hasil Uji Korelasi Spearman.....	74

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Penyakit infeksi merupakan salah satu masalah kesehatan yang sedang dihadapi baik di negara maju ataupun di negara berkembang seperti Indonesia. Penyebab penyakit infeksi adalah organisme parasit yang berkembang dan menimbulkan gangguan dalam tubuh manusia. Organisme penyakit tersebut bisa berupa bakteri, virus, parasit, dan jamur (WHO,2011).

Salah satu bakteri penyebab penyakit infeksi bakteri adalah *Staphylococcus aureus*. Infeksi *Staphylococcus aureus* merupakan infeksi tersering pada manusia karena bakteri ini bersifat patogen oportunistik. Bakteri ini dapat menyebabkan infeksi supuratif ringan seperti furunkel hingga berat seperti *toxic shock syndrome*. Biasanya infeksi *Staphylococcus aureus* dilokalisir menurut *portal of entry* oleh pertahanan tubuh manusia. Namun infeksi *Staphylococcus aureus* bisa menimbulkan konsekuensi serius bila bakteri menyerang aliran darah. Kondisi bakterimia menyebabkan abses internal pada paru-paru, ginjal, otot skeletal, atau meningen (Todar, 2011).

Langkah pengobatan untuk penyakit infeksi ini adalah dengan pemberian obat antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan dan atau membunuh mikroba yang menginfeksi. Sebagai konsekuensinya, penggunaan antimikroba pada penyakit-penyakit infeksi menjadi tidak efektif digunakan karena banyaknya mikroba yang resisten dan efek sampingnya merugikan penderita (Oancea dan Stoia, 2010). Oleh karena itu pencarian antimikroba baru yang lebih efektif dan

aman menjadi perlu untuk terus dilakukan, terutama yang berasal dari bahan alam.

Kopi merupakan minuman yang digemari oleh masyarakat Indonesia maupun negara lain walaupun sebagian orang takut untuk mengonsumsi kopi. Dibalik kegemaran minum kopi, terdapat banyak manfaat salah satunya efek antimikroba

Kopi mengandung senyawa-senyawa kompleks diantaranya *chlorogenic acid* dan kafein. *Cholorogenic acid* merupakan salah satu jenis senyawa polifenol dalam bentuk asam. Kafein merupakan senyawa alkaloid (Lelyana, 2008). Secara umum, *cholorogenic acid* dan kafein berperan penting sebagai antimikroba dengan cara merusak membran sel dan mengganggu struktur DNA bakteri.

Untuk menjadikan kopi sebagai antiseptik dan antimikroba, yang perlu dilakukan adalah dengan melakukan proses pengekstrakan terhadap biji kopi yang belum dipanggang.

Lebih lanjut untuk maksud tersebut diperlukan adanya penelitian mengenai potensi ekstrak kopi yang diperoleh dari spesies *Coffea arabica* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara in vitro.

1.2. Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

Apakah ekstrak kopi (*Coffea arabica*) mempunyai efek antimikroba terhadap kuman *Staphylococcus aureus* secara in vitro?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Tujuan umum dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efek antimikroba ekstrak kopi (*Coffea arabica*) terhadap *Staphylococcus aureus*.

1.3.2. Tujuan Khusus

1. Mengetahui nilai kadar hambat minimum dari ekstrak kopi terhadap *Staphylococcus aureus*
2. Mengetahui hubungan antara peningkatan konsentrasi ekstrak kopi dengan penurunan jumlah koloni kuman *Staphylococcus aureus*.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Ilmiah

1. Dapat digunakan sebagai dasar penelitian lain untuk menguji efek antimikroba ekstrak kopi terhadap kuman selain *Staphylococcus aureus*.
2. Dapat digunakan sebagai dasar penelitian lebih lanjut mengenai manfaat ekstrak kopi selain sebagai antimikroba.

1.4.2. Manfaat Aplikasi

1. Sebagai pengobatan alternatif untuk penyakit infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* terutama pada infeksi kulit.

Menambah koleksi antimikroba bagi dunia kedokteran.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kopi (*Coffea arabica*)

2.1.1 Taxonomi Tanaman Kopi

Menurut silsilah kekerabatan dalam dunia tumbuh-tumbuhan, tanaman

Coffea Arabica termasuk dalam

Kingdom : Plantae

Ordo : Gentianales

Famili : Rubiaceae

Genus : *Coffea*

Spesies : *Coffea arabica*

(Anonymous, 2011)



Gambar 2.1 Buah Tanaman *Coffea arabica* (Balzer, 2006)

2.1.2 Kopi dalam Masyarakat

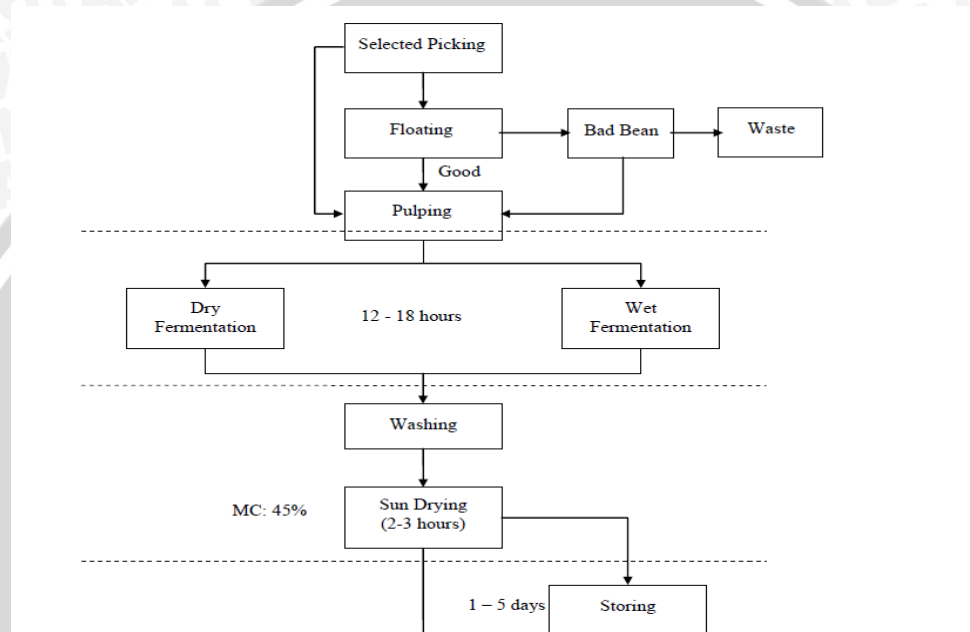
Tanaman kopi (*Coffea sp.*) yang menurut sejarah mulai dikenal sejak abad ketujuh pertama kali tumbuh di Ethiopia sebagai tanaman liar. Kopi pertama kali dikenal dunia sejak bangsa Arab mulai mengkonsumsinya sebagai minuman. Tanaman ini mulai ditanam di Indonesia sejak Belanda membawa tanaman ini pada tahun 1669 (*National Geographic*, 1999). *Coffea arabica* dikenal sejak abad ke 13, sedangkan *Coffea robusta* baru dikenal akhir abad ke 19 (Lelyana, 2008).

Kopi merupakan salah satu alternatif minuman pilihan yang sangat digemari oleh masyarakat Indonesia maupun negara lain selain teh. Kegemaran mengkonsumsi kopi sudah dilakukan turun temurun sejak jaman nenek moyang, bahkan dalam setiap jamuan makan baik acara formal maupun non formal, sajian kopi hampir tidak pernah dilupakan. Kondisi ini sama dengan di luar negeri, di Amerika misalnya, sebagian besar masyarakat menyukai kopi, sehingga istilah *coffee break* sampai saat ini masih digunakan dan menjadi ikon untuk menyatakan waktu istirahat dan jam makan telah siap (Anonymous, 2009).

2.1.3 Proses Pembuatan Kopi

Pada dasarnya buah kopi mengalami proses *picking, floating, pulping, fermentation, washing, drying, pulping*, dan *drying* untuk menjadi biji kopi. Di perkebunan, biji kopi yang matang harus segera dipetik (*picking*) agar buah kopi tidak jatuh ke tanah. Buah kopi yang jatuh ke tanah membuat biji kopi berbau tanah. Setelah dipetik buah kopi kemudian mengalami proses *floating*. Pada proses ini, buah kopi yang baik akan tenggelam ke dalam air sedangkan buah kopi yang buruk akan mengambang di dalam air. Buah kopi yang baik kemudian mengalami proses *pulping* untuk memisahkan buah kopi dengan bijinya. Biji kopi

kemudian difermentasikan selama 12-14 jam (satu malam). Setelah difermentasi, biji kopi kemudian dicuci ulang (*washing*) untuk membersihkan sisa buahnya lalu dijemur (*drying*). Biji kopi yang sudah melewati semua tahap tersebut akan berwarna putih tulang kehijauan sampai kebiruan (Susila, 2005).



Gambar 2.2 Bagan Proses Pengolahan Buah Kopi Menjadi Biji Kopi (Susila, 2005)

Biji kopi kering kemudian akan mengalami proses pemanggangan. Proses ini bisa berlangsung di rumah untuk konsumsi rumah tangga maupun di pabrik untuk konsumsi umum. Setelah dipanggang biji kopi akan digiling menjadi serbuk kopi. Serbuk kopi inilah yang diolah menjadi berbagai macam minuman kopi.

2.1.4 Kandungan Kopi

Kopi mengandung senyawa-senyawa kompleks di antaranya *cholorogenic acid* dan kafein. Selain itu kopi juga mengandung senyawa-

senyawa polifenol lain, seperti *quinic acid*, dan *caffeic acid* dalam jumlah kandungan yang tidak sebesar jumlah kandungan *chlorogenic acid* dan kafein (Lelyana, 2008).

Chlorogenic acid adalah sebuah ester yang dibentuk oleh *quinic acid* dan *caffeic acid*. Senyawa ini adalah senyawa polifenol terbesar yang terkandung di dalam kopi. Selain pada kopi, *chlorogenic acid* dapat juga ditemukan di buah-buahan dan daun-daunan (Lelyana, 2008).

Kafein disebut juga sebagai trimethylxanthine. Trimethylxanthine (nama sistematis 1, 3, 7- trimethylxanthine atau 3, 7- dihydro- 1, 3, 7- trimethyl- 1H-purine- 2, 6-dione) disebut juga *caffeine*, theine, mateine, guaranine, atau methyltheobromine (Helmenstine, 2001). Selain pada kopi kafein bisa ditemukan pada teh, dan coklat. Kafein juga dapat ditemukan pada komposisi umum dari *soft drink* seperti *cola* (Haskell, 2006).

2.1.5 Kegunaan Kopi sebagai Antimikroba

2.1.5.1 Kopi sebagai Antifungal

Kopi menunjukkan efek antifungal terhadap jamur kayu busuk (*D. concentrica*, *P. radiata* dan *P. palustris*). Efek antifungal yang ditimbulkan oleh kopi, berdasarkan penelitian tersebut, lebih baik daripada efek antifungal yang ditimbulkan oleh teh hitam (Arora dan Ohlan, 2007).

Dalam sebuah penelitian disebutkan bahwa *chlorogenic acid*, yang terkandung dalam kopi, memiliki efek antifungi. Pada metode *MTT assay* (*Microculture Tetrazolium Assay*), *chlorogenic acid* menunjukkan daya hambat terhadap *Candida albicans*, *T. beigeli*, dan *M. furfur*. Mekanismenya melalui

pengangguhan struktur membran sel dari jamur-jamur tersebut (Sung dan Lee, 2010).

2.1.5.2 Kopi sebagai Antimikroba

Kopi mengandung senyawa-senyawa kompleks di antaranya *chlorogenic acid* dan kafein (Lelyana, 2008). *Chlorogenic acid* berperan sebagai agen antimikroba pada kopi dengan mekanisme meningkatkan permeabilitas membran luar dan membran plasma sehingga fungsi pembatas dari membran hilang. *Chlorogenic acid* berikatan dengan membran, mengganggu struktur membran, menghilangkan potensial intraseluler, dan melepaskan makromolekul dari sitoplasma yang menyebabkan sel mengalami kematian (Lou *et all*, 2011). Kafein berperan sebagai agen antimikroba pada kopi dengan cara mengganggu struktur DNA bakteri. Kafein mengganggu fungsi biokimia normal dari cincin purin dengan cara memblok reseptor adenosine pada cincin purin secara kompetitif, menghambat sintesis phosphodiesterase enzyme sehingga mencegah terjadinya aktivasi siklik AMP, dan menghambat aktivitas enzim RNA-dependent DNA polymerase (Badaway, 1998).

Beberapa penelitian menunjukkan efek antimikroba dari kopi. Pada sebuah penelitian disebutkan kopi dapat menghambat pertumbuhan *Serratia marcescens* dan *Enterobacter cloacae* pada metode *disc diffusion* dengan menggunakan ekstrak kopi. Perbedaan pH dan warna pada kandungan kopi seperti kafein dan *chlorogenic acid* tidak terlalu berpengaruh karena tidak menimbulkan perbedaan yang signifikan. Pada penelitian ini kafein dan *chlorogenic acid* menunjukkan efek antimikroba yang kuat terhadap *Serratia marcescens* dan *Enterobacter cloacae* (Almeida *et all*, 2006). Ekstrak kopi juga

menunjukkan zona inhibisi pada *cup plate method* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (Nayeem *et all*, 2011).

Selain itu, pada sebuah penelitian, kopi hitam instant diindikasikan sebagai agen antimikroba pada *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus mutans*. Berdasarkan penelitian ini suasana asam pada kopi panggang bertanggungjawab terhadap efek antimikroba pada minuman kopi (Daglia *et all*, 1997).

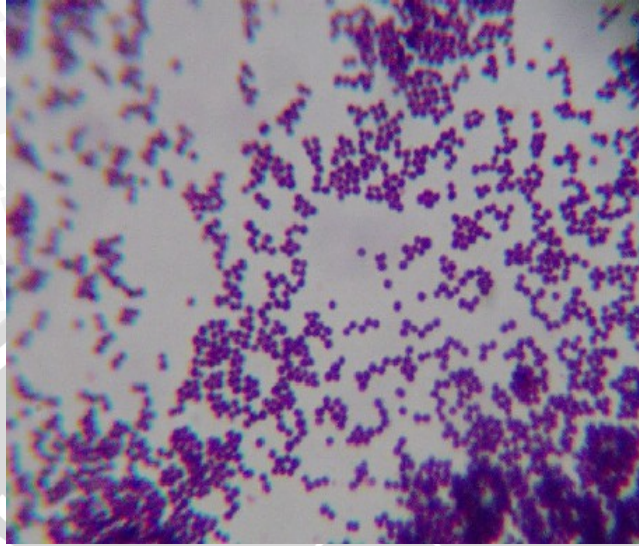
Sebuah penelitian analisis data sekunder yang dilakukan *National Health and Nutrition Examination Survey* tahun 2003-2004 untuk mengetahui hubungan antara konsumsi kopi, teh, dan soft drink terhadap MRSA pada hidung menunjukkan jika pengonsumsi kopi memiliki resiko lebih rendah terkena MRSA hidung (Matheson *et all*, 2011).

2.2 *Staphylococcus aureus*

2.2.1 Taxonomi

Domain : Bacteria
Kingdom : Bacteriae
Filum : Firmicutes
Famili : Staphylococcaceae
Genus : *Staphylococcus*
Spesies : *Staphylococcus aureus*

(Modrick, 2011)



Gambar 2.3 Pewarnaan Gram *Staphylococcus aureus*

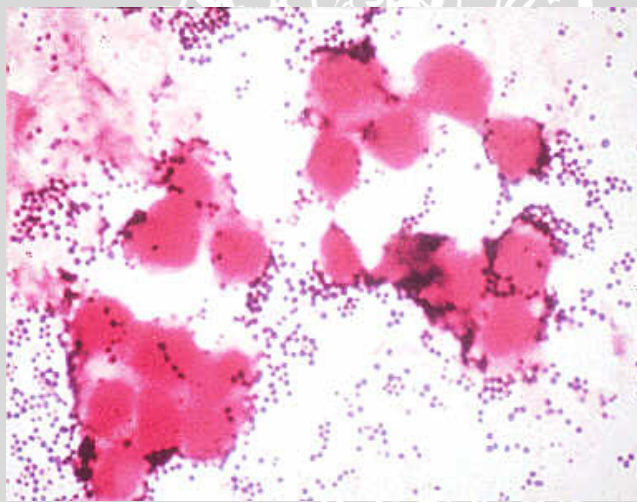
Pada dasarnya bakteri dari genus *Staphylococcus* seperti *Staphylococcus aureus* adalah bakteri coccus gram postif, tidak berspora, dan tidak bergerak. Bila diamati di bawah mikroskop, bakteri ini akan terlihat sebagai organisme individu yang berpasangan dan tidak teratur seperti anggur. Nama *Staphylococcus* berasal dari bahasa Yunani yang berarti satu bundel anggur. Kuman ini mudah tumbuh pada berbagai perbenihan dan metabolismenya aktif dengan meragikan pigmen krem-kuning sampai jingga. Dinding selnya mengandung *peptidoglican* dan *teichoic acid*. Organisme ini resisten terhadap suhu tinggi (50° C), konsentrasi garam tinggi, dan kekeringan (Tolan, 2011). *Staphylococcus aureus* merupakan patogen utama pada manusia. Kuman ini mempunyai kemampuan untuk membekukan plasma. Pada keadaan normal kuman ini dapat ditemukan pada rongga hidung, saluran napas, rongga mulut, dan traktus gastrointestinal (Todar, 2011).

2.2.2 Morfologi, Sifat Pewarnaan, Struktur Dinding Sel, dan Faktor Virulensi

Bakteri

2.2.2.1 Morfologi dan Sifat Pewarnaan

Staphylococcus adalah sel berbentuk bola, dengan diameter 1,0 μm dan tersusun dalam kelompok-kelompok tidak beraturan. Pada biakan cair tampak pula *coccus* tunggal, berpasangan, berbentuk tetrad, dan berbentuk rantai. *Coccus* memberikan pewarnaan gram positif yang kuat. Proses penuaan pada *coccus* ini menyebabkan banyak sel menjadi gram negatif. *Staphylococcus* merupakan kuman gram positif, tidak berspora, tidak bergerak, dan tidak berkapsul (Jawetz, 2008).



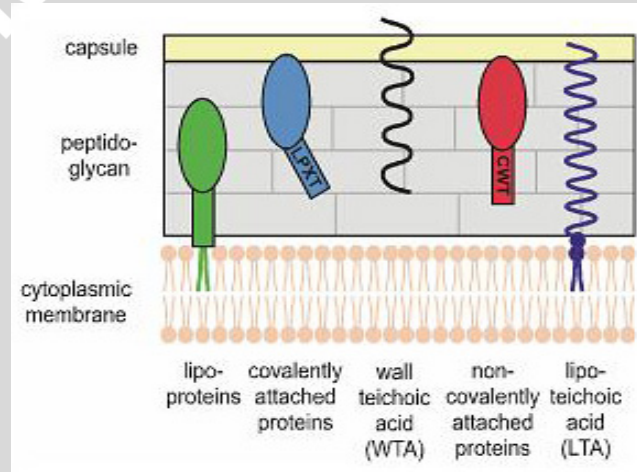
Gambar 2.4 Pewarnaan Gram *Staphylococcus aureus* pada Eksudat Pustular (Todar, 2011)

2.2.2.2 Struktur Dinding Sel

Dinding sel bakteri mengandung polimer-polimer yang berikatan silang yang disebut *peptidoglikan*. Ikatan silang tersebut dipertahankan oleh rantai

peptida sebagai akibat reaksi transpeptida yang dikatalisis oleh berbagai enzim (Katzung, 2004).

Dinding sel *Staphylococcus aureus* terdiri dari 3 lapisan. Lapisan terluar adalah kapsul, lapisan kedua adalah lapisan peptidoglikan, dan lapisan terdalam adalah membran sitoplasma. Pada struktur ini *teichoic acid* tertanam dan menonjol di dinding sel pada bagian luarnya membentuk *fuzzy coat*. Kapsul bakteri ini tipis dan hanya dapat terlihat di bawah mikroskop electron (Modric, 2011).



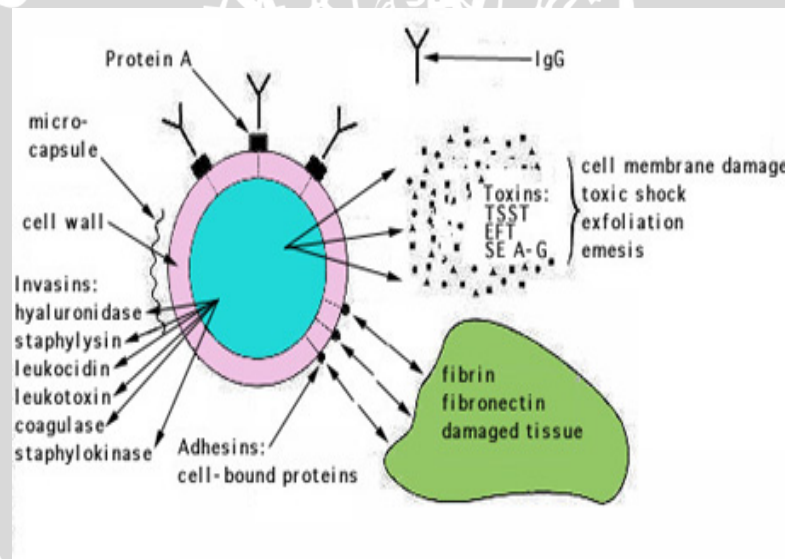
Gambar 2.5 Struktur Dinding Sel *Staphylococcus aureus* (Mordick, 2011)

2.2.2.3 Faktor Virulensi

Faktor virulensi yang diekspresikan oleh *Staphylococcus aureus*, antara lain:

- Protein permukaan yang menyebabkan kolonisasi dengan sel permukaan
- Invasin yang menyebabkan bakteri menyebar dalam jaringan (*leucocidin*, *kinase*, dan *hyaluronidase*)

- Faktor-faktor permukaan yang menghambat *phagocytic engulfment* (kapsul, protein A)
- Properti biokimia yang meningkatkan ketahanan hidup mereka dalam fagosit (*caretonoid*, produksi katalase)
- Penyamaran imunologis (protein A, koagulasi)
- *Membrane-damaging toxin* yang dapat melisiskan membrane sel eukariotik (hemolisin, leukotoxin, *leucocidin*)
- Exotoxin yang dapat merusak jaringan sel host atau memprovokasi gejala penyakit (SEA-G, TSST, ET)
- Resistensi antimikroba, baik didapat maupun diturunkan (Todar, 2011)



Gambar 2.6 Faktor Virulensi *Staphylococcus aureus* (Todar, 2011)

2.2.3 Karakteristik Biakan

Staphylococcus berkembang pada medium bakteriologis dalam kondisi aerobik atau mikroaerofilik. Pada *rich medium*, *Staphylococcus aureus* membentuk koloni besar berwarna kuning keemasan. *Staphylococcus aureus*

sering menghemolisiskan darah pada *blood agar*. Bakteri ini bersifat anaerob fakultatif dengan respirasi aerobik atau dengan fermentasi ragi. *Staphylococcus aureus* bisa hidup pada rentangan suhu 15°C sampai 45°C dan konsentrasi NaCl 15% (Todar, 2011). Pada suhu 37°C bakteri ini berkembang dengan baik dan pada suhu kamar bakteri ini menghasilkan pigmen dengan baik. Pigmen tidak dihasilkan pada keadaan aerobik atau kaldu (Jawetz, 2008).

Pada dasarnya *Staphylococcus aureus* dapat berkembang pada media bakteriologis, seperti:

1. *Nutrient Agar Plate* (NAP)

NAP penting untuk mengetahui pembentukan pigmen oleh *Staphylococcus aureus*. Pada media ini *Staphylococcus aureus* akan membentuk pigmen kuning keemasan. Koloninya akan tumbuh berbentuk bulat dengan diameter 1-2 mm, konveks, tepi rata, permukaan lunak, dan konsistensinya lunak (Dzen *et al*, 2003)

2. *Blood Agar Plate* (BAP)

Pada media ini koloni *Staphylococcus aureus* akan nampak lebih besar. Pada galur yang ganas akan nampak zona hemolisa yang jernih di sekitar koloni yang mirip dengan koloni *Streptococcus β -hemolyticus* (Dzen *et al*, 2003)

Media tumbuh selektif untuk *Staphylococcus aureus* adalah media *Mannitol Salt Agar* (MSA). MSA merupakan *nutrient agar* berupa *salt media* yang mengandung *mannitol*. Pada MSA, konsentrasi yang garam tinggi menyebabkan *Staphylococcus aureus* dapat bertahan hidup dan pertumbuhan bakteri lain terhambat. *Mannitol* pada MSA menyebabkan *Staphylococcus aureus* dapat bertahan hidup sedangkan *Staphylococcus epidermidis* tidak, sebab

Staphylococcus aureus dapat menfermentasikan *mannitol*. MSA digunakan untuk mendapatkan kultur *Staphylococcus aureus* yang berasal dari feces, makanan, debu, pakaian, dan barang-barang lain yang mungkin terkontaminasi bakteri lain (Todar, 2011).

Selain itu, *Staphylococcus aureus* juga bisa tumbuh di media *Broth*. Pada media ini didapatkan gambaran kekeruhan yang seragam dengan endapan seperti bubuk pada dasar tabung (Jawetz, 2008).

2.2.4 Identifikasi *Staphylococcus aureus*

Tes katalase dapat digunakan untuk membedakan *Staphylococcus* dengan *Streptococcus*. Pada tes ini *Staphylococcus* memberikan hasil positif, sedangkan *Streptococcus* memberikan hasil negatif (Jawetz, 2008).

Ada 2 genus *Staphylococcus* yang paling sering dijumpai sebagai patogen oportunistik, yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*. Kedua bakteri ini dapat diidentifikasi melalui:

1. Tes koagulase

Tes sederhana ini digunakan untuk menunjukkan kemampuan suatu organisme untuk menghasilkan enzim koagulase. *Staphylococcus aureus* menunjukkan hasil positif pada tes ini, sedangkan *Staphylococcus epidermidis* menunjukkan hasil negatif (Herriman, 2011).

2. Morfologi koloni

Pada BAP *Staphylococcus aureus* membentuk koloni besar, halus, sedikit mengangkat, dan terkadang menghasilkan β -hemolisis. Ada pula koloni kuman ini yang membentuk pigmen kuning keemasan. *Staphylococcus*

epidermidis membentuk koloni yang lebih kecil, berwarna abu-abu hingga putih, dan non-hemolitik (Herriman, 2011).

3. Faktor virulensi

Staphylococcus aureus tidak hanya memproduksi koagulase tetapi juga memproduksi enzim lain, hemolisin, dan toxin. Faktor virulensi utama *Staphylococcus epidermidis* adalah kemampuannya membentuk lendir (Herriman, 2011).

4. Resistensi terhadap antibiotik

Staphylococcus aureus bisa mengalami resistensi terhadap antibiotic tertentu. Pada *Staphylococcus epidermidis* resistensi ini tidak terjadi (Herriman, 2011).

2.2.5 Epidemiologi dan Transmisi Penyakit

Semua manusia merupakan karier dari *Staphylococcus aureus* sehingga sumber infeksi terkadang sulit ditentukan. Pada banyak kasus, sumbernya kemungkinan autogenus yaitu berasal dari kulit penderita itu sendiri. Penyebaran dari satu orang ke orang lain dapat terjadi secara kontak langsung dan tidak langsung. Petugas kesehatan yang bekerja dengan pasien yang terinfeksi oleh *Staphylococcus aureus* harus menggunakan prosedur yang seaseptis mungkin untuk menghindari transmisi penyakit ke pasien lain. Perawat atau dokter yang menjadi karier atau yang memiliki lesi pada kulit dapat juga menginfeksi pasien. Perawatan harus dilakukan pada tangan petugas kesehatan atau alat-alat yang terkontaminasi agar tidak terdapat penyebaran penyakit dari satu pasien ke pasien lain (Tolan, 2011). *Staphylococcus aureus* seringkali menjadi patogen

penyebab infeksi nosokomial. Strain tertentu diketahui menyebabkan epidemic rumah sakit (Kayser *et al*, 2005).

Bakterimia karena *Staphylococcus aureus* dapat digolongkan ke dalam tiga kategori: *healthcare-associated hospital onset (nosocomial, community-acquired*, dan *healthcare-associated community onset (non-nosocomial)* (misalnya, pada fasilitas perawatan jangka panjang (Friedman *et al*, 2002).

2.2.6 Patogenesis

Staphylococcus aureus, yang dapat ditemukan pada rongga hidung, saluran napas, rongga mulut, dan traktus gastrointestinal, adalah bakteri yang patogen oportunistik di mana bakteri tersebut sering menginfeksi jaringan dan bagian tubuh yang memiliki imunitas yang rendah, misalnya kulit dan membrane mukosa yang rusak. Strain *Staphylococcus* yang patogen dilengkapi dengan enzim (koagulase, lipase esterase) dan toxin untuk dapat hidup dan bertahan pada jaringan *host*. Lesi yang disebabkan oleh *Staphylococcus* dikarenakan invasi pada folikel rambut dan kelenjar lemak oleh enzim lipase esterase, koagulase, α toxin dan *leucocysin* yang melawan reaksi *host* dan fagositosis. Bahkan setelah fagositosis, destruksi intraseluler yang difasilitasi oleh komplemen berlangsung tidak sempurna. Resistensi ini dapat menyebabkan penyakit kronis (Tolan, 2011).

2.2.7 Manifestasi Klinis

Staphylococcus aureus adalah penyebab terbanyak dari infeksi akut supuratif dengan manifestasi klinis yang beragam.

Manifestasi klinis yang beragam tersebut seperti:

- Infeksi kulit
- *Skin and Soft-tissue infection* (impetigo) (Tolan, 2011)
- *Scalded skin syndrome* (Tolan, 2011)
- Folikulitis, furunkel, dan karbunkel (Tolan, 2011).
- Infeksi tulang (osteomyelitis) (Tolan, 2011).
- *Septic arthritis* (Tolan, 2011)
- Endokarditis (Herchline, 2011).
- *Toxic shock syndrome* (Tolan, 2011).
- Pneumonia (Herchline, 2011).
- Tromboplebitis (Tolan, 2011)
- Abses dan infeksi *deep-tissue* (Tolan, 2011)
- *Food poisoning* (Herchline, 2011).

2.2.8 Mekanisme Resistensi

Resistensi *Staphylococcus aureus* dibagi menjadi beberapa kelas:

1. Resistensi terhadap penisilin yang berhubungan dengan frekuensi *Staphylococcus aureus* memproduksi β -laktamase yang dikendalikan oleh plasmid (Jawetz, 2008).
2. Resistensi terhadap nafsilin yang berhubungan dengan gen *mecA* yang terdapat pada kromosom sehingga mempengaruhi *protein binding* (Jawetz, 2008).
3. Resistensi terhadap vankomisin yang berhubungan dengan peningkatan sintesis dinding sel serta perubahan struktur dinding sel *Staphylococcus aureus*. Mekanisme resistensi ini tidak

berhubungan dengan gen *van* pada *Streptococcus* (Jawetz, 2008).

4. Resistensi yang diperantai plasmin seperti resistensi terhadap tetrasiklin, eritromisin, dan aminoglikosida (Jawetz, 2008).
5. Resistensi akibat efek toleransi. Efek toleransi menyebabkan kurangnya aktivasi enzim autolitik pada dinding sel *Staphylococcus aureus* (Jawetz, 2008).

2.3 Tes Kepekaan Kuman terhadap Antimikroba *in Vitro*

Uji kepekaan terhadap antimikroba secara *in vitro* bertujuan untuk mengetahui kepekaan suatu bahan terhadap bakteri tertentu. Pada dasarnya uji ini dapat dilakukan dengan 2 cara, yaitu metode dilusi dan metode difusi cakram (Dzen *et al*, 2003)

2.3.1 Metode Dilusi

Metode dilusi ada 2 cara:

- a. Dilusi Tabung

Metode ini digunakan untuk mengetahui:

- KHM (Kadar Hambat Minimal) dari antimikroba, yaitu: konsentrasi antimikroba terendah yang mampu menghambat pertumbuhan kuman yang ditandai dengan tidak adanya kekeruhan pada tabung uji (Dzen *et al*, 2003). KHM menggambarkan efek bakteriostatik suatu antibiotik terhadap suatu kuman (Levison, 2004).
- KBM (Kadar Bunuh Minimal) dari antimikroba, yaitu: konsentrasi antimikroba terendah yang mampu membunuh kuman yang

ditandai dengan tidak terdapatnya pertumbuhan koloni kuman pada media agar (Dzen *et all*, 2003). KBM menggambarkan efek bakterisidal suatu antibiotik terhadap suatu kuman (Levison, 2004).

Tes ini dikerjakan dengan menggunakan satu seri tabung reaksi yang diisi media cair dan sejumlah tertentu sel mikroba yang diuji. Kemudian masing-masing tabung diisi dengan bahan yang telah diencerkan secara serial. Selanjutnya, seri tabung diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam dan diamati terjadinya kekeruhan pada tabung. Selanjutnya biakan dari semua tabung yang jernih diinokulasikan pada media agar padat, diinkubasikan dan keesokan harinya diamati ada tidaknya koloni mikroba yang tumbuh (Dzen *et all*, 2003).

b. Dilusi Agar

Uji kepekaan antimikroba yang lain adalah menggunakan metode dilusi agar. Metode dilusi agar digunakan untuk menentukan konsentrasi minimum yang dibutuhkan oleh suatu bahan antimikroba untuk menghambat atau membunuh mikroorganisme. Dengan mengetahui konsentrasi hambat minimum suatu bahan antimikroba tersebut, resistensi terhadap suatu bahan antimikroba tertentu dapat dicegah (Levison, 2004).

Selain itu cara dilusi agar ini memiliki kelebihan dibanding metode lainnya karena fleksibilitasnya, yaitu:

- Dapat digunakan untuk mendapatkan hasil tes yang akurat terhadap bakteri yang tidak dapat dites dengan metode difusi cakram
- Dapat menguji obat-obatan antibiotik yang berbentuk bubuk

- Format hasil uji kepekaan antimikroba dengan metode dilusi agar dapat berupa hasil kuantitatif (KHM dalam satuan microgram per millimeter), dalam bentuk kategori (*susceptible*, *moderately susceptible*, atau *resistant*), atau dapat menggunakan keduanya.
- Dapat mendeteksi berbagai pola resistensi yang mungkin tidak terdeteksi oleh metode difusi cakram (Baron *et al.*, 1986).

Metode dilusi agar telah distandardisasi dan dapat dipercaya sehingga sering digunakan untuk mengevaluasi akurasi metode pengujian lainnya. Dengan metode ini kita dapat menguji beberapa mikroba sekaligus dan kontaminasi oleh kuman lain dapat dideteksi.

Kerugian metode ini adalah lamanya waktu yang dibutuhkan dan ketergantungan terhadap tenaga ahli yang mampu melakukan prosedur pengujian mulai dari persiapan alat-alat, pembuatan medium hingga proses inokulasi (Baron *et al.*, 1986).

2.3.2 Metode Difusi Cakram

Metode difusi cakram merupakan suatu tes kepekaan antimikroba yang menggunakan cakram kertas saring yang mengandung bahan antimikroba yang telah ditentukan kadarnya. Cakram tersebut kemudian ditempatkan pada media padat yang telah diberi bakteri uji. Setelah diinkubasi, diameter area hambatan dihitung sebagai daya hambat terhadap bakteri uji. Area hambatan yang terbentuk ditunjukkan sebagai daerah yang tidak memperlihatkan adanya pertumbuhan bakteri di sekitar cakram kertas saring (Tim Mikrobiologi FKUB, 2003).

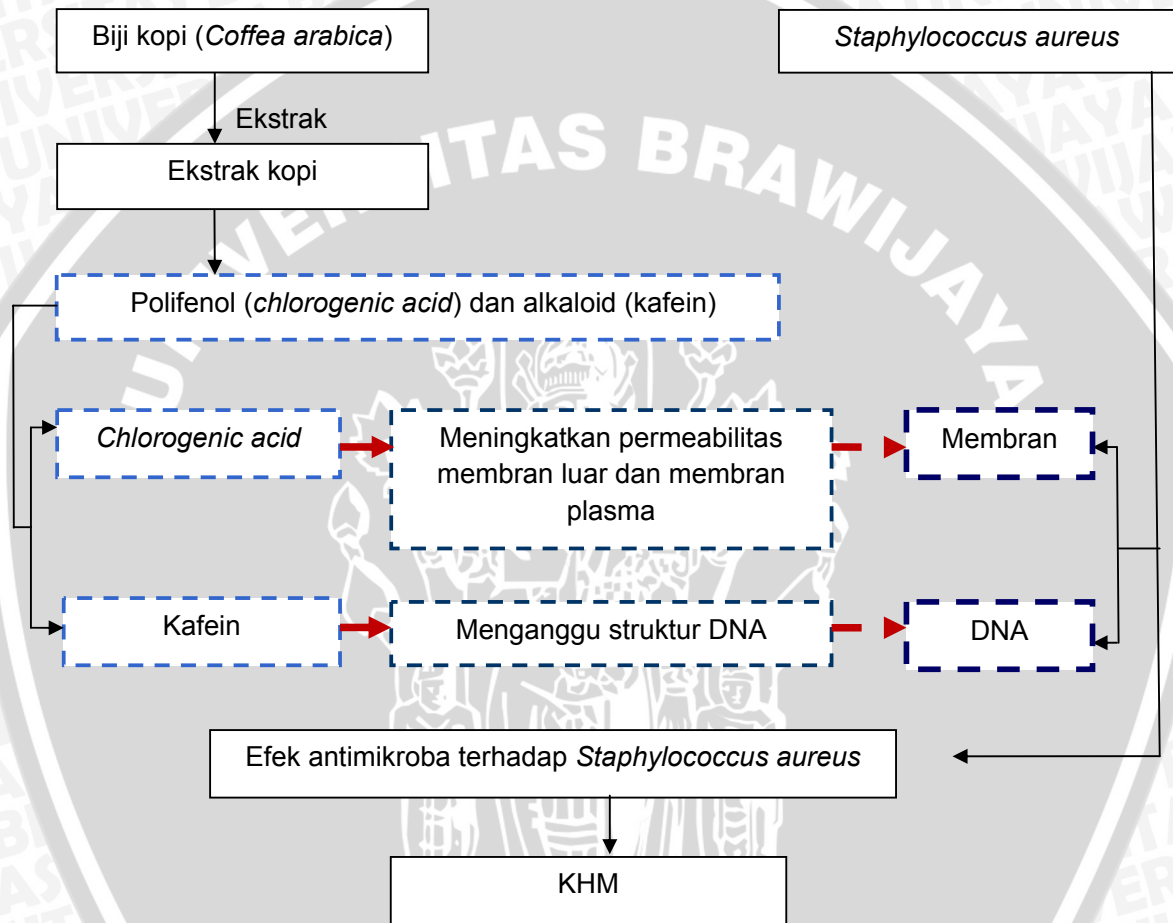
Analisis hasil uji kepekaan tersebut dapat dilakukan melalui 2 cara, sebagai berikut:

1. Cara Kirby Bauer, yaitu dengan cara membandingkan diameter dari area jernih (zona hambatan) di sekitar cakram dengan table standar yang dibuat oleh NCCLS (*National Committee for Clinical Laboratory Standard*). Dengan table NCCLS ini dapat diketahui kriteria sensitif, sensitif intermediet, dan resisten.
2. Cara Joan-Stokes, yaitu dengan cara membandingkan radius zona hambatan yang terjadi antara bakteri kontrol yang sudah diketahui kepekaannya terhadap obat tersebut dengan isolate bakteri yang diuji. Pada cara Joan-Stokes, prosedur uji kepekaan untuk bakteri kontrol dan bakteri uji dilakukan bersama-sama dalam satu piring agar. Kriteria metode Joan-Stokes adalah sebagai berikut:
 - Sensitif: yaitu radius zona inhibisi kuman tes lebih luas , sama dengan atau lebih kecil tetapi tidak lebih dari 3 mm terhadap kontrol.
 - Intermediet: yaitu radius zona inhibis kuman tes lebih besar dari 3 mm, tetapi dibanding kontrol lebih kecil dari 3 mm.
 - Resisten: yaitu radius zona inhibisi kurang atau sama dengan 3 mm (Dzen *et all.*, 2003).

BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



- Penguhubung skema
- - - Bahan aktif
- - - Mekanisme bahan aktif terhadap *Staphylococcus aureus*
- - - Lokasi kerja bahan aktif terhadap *Staphylococcus aureus*
- Efek
- - - Tempat kerja

Gambar 3.1 Bagan Kerangka Konsep

Zat dalam kopi (*Coffea arabica*) yang mempunyai aktivitas antimikroba adalah *chlorogenic acid* (polifenol) dan kafein (alkaloid).

Chlorogenic acid adalah sebuah ester yang dibentuk oleh *quinic acid* dan *caffeic acid*. Senyawa ini adalah senyawa polifenol terbesar yang terkandung di dalam kopi. Selain pada kopi, *chlorogenic acid* dapat juga ditemukan di buah-buahan dan daun-daunan (Lelyana, 2008). *Chlorogenic acid* berperan sebagai antimikroba dengan cara meningkatkan permeabilitas membran luar dan membran plasma sehingga fungsi pembatas dari membran hilang. Hal ini mengakibatkan sel menjadi bocor. Mekanismenya *chlorogenic acid* berikatan dengan membran, mengganggu struktur membran, menghilangkan potensial intraseluler sehingga melepaskan makromolekul dari sitoplasma yang menyebabkan sel mengalami kematian (Lou *et al*, 2011).

Kafein disebut juga sebagai trimethylxanthine. Trimethylxanthine (nama sistematis 1, 3, 7- trimethylxanthine atau 3, 7- dihydro- 1, 3, 7- trimethyl- 1H-purine- 2, 6-dione) disebut juga *caffeine*, theine, mateine, guaranine, atau methyltheobromine (Helmenstine, 2001). Methylxanthines dikenal sebagai antimikroba dengan cara mengontrol dan menghambat jumlah bakteri. Kafein (methylxanthine) memiliki aktivitas penting, seperti menghambat enzim yang diperlukan untuk sintesis DNA, contohnya, dengan menghambat penggabungan adenin dan timidin selama proses DNA (Okoye, 2008).

Kafein berperan sebagai agen antimikroba pada kopi dengan cara mengganggu struktur DNA bakteri. Kafein mengganggu fungsi biokimia normal dari cincin purin dengan cara memblok reseptor adenosine pada cincin purin secara kompetitif, menghambat sintesis phosphodiesterase enzyme sehingga mencegah

terjadinya aktivasi siklik AMP, dan menghambat aktivitas enzim RNA-dependent DNA poly-merase (Badaway, 1998)

3.2 Hipotesis Penelitian

Ekstrak kopi (*Coffea arabica*) memiliki efek antimikroba terhadap *Staphylococcus aureus* secara in vitro.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Pada penelitian ini digunakan metode *true experimental design* dengan *post test only control group design*. Dalam penelitian ini dilakukan uji laboratorium yang bertujuan untuk mengetahui dan membuktikan efek antimikroba dari ekstrak kopi (*Coffea arabica*) terhadap pertumbuhan koloni *Staphylococcus aureus* secara in vitro. Adapun uji kepekaan antimikroba yang dipakai untuk menentukan KHM adalah uji kepekaan antimikroba dengan metode dilusi agar karena KHM tidak dapat diketahui melalui metode *tube dilution test*.

4.2 Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah bakteri *Staphylococcus aureus* yang diambil dari *stock culture* milik Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

4.3 Tempat dan Waktu Penelitian

4.3.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Brawijaya Malang.

4.3.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 8 Mei 2012 sampai 9 Juni 2012.

4.4 Jumlah Pengulangan

Untuk menghitung jumlah pengulangan dapat diketahui dengan rumus:

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

Keterangan:

n = jumlah pengulangan

p = jumlah perlakuan

karena jumlah perlakuan (p) adalah 7, maka:

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

$$7n - 7 \geq 15$$

$$7n \geq 15 + 7$$

$$7n \geq 22$$

$$n \geq 3,14 \approx 4$$

Berdasarkan perhitungan di atas, maka setiap perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 4.

4.5 Variabel Penelitian

4.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak kopi (*Coffea arabica*) yaitu 0%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, dan 10%.

4.5.2 Variabel Tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah tingkat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* untuk menentukan KHM.

4.6 Definisi Operasional

Di dalam penelitian ini ada beberapa hal yang perlu diketahui, yaitu:

- a. Sediaan ekstrak kopi (*Coffea arabica*) diperoleh dari hasil ekstrak biji kopi yang belum dipanggang dan diekstrak melalui metode maserasi dengan etanol.
- b. *Staphylococcus aureus* yang digunakan di dalam penelitian ini adalah bakteri *Staphylococcus aureus* yang dimiliki oleh Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
- c. Konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah 0%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, dan 10%.
- d. Hasil penelitian dinyatakan dalam bentuk scoring, yaitu +3, +2, +1, 0, yang berarti +3 adalah koloni tumbuh tebal dan tidak terhitung, +2 adalah koloni tumbuh tipis dan tidak terhitung, +1 adalah koloni tumbuh tipis dan terhitung, dan 0 berarti tidak ada pertumbuhan.
- e. Kadar Hambat Minimal (KHM) yaitu konsentrasi terendah dari antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan metode dilusi agar yang ditandai dengan tidak ada pertumbuhan koloni (*scoring*0) (Hendriksen, 2003).

4.7 Alat dan Bahan

4.7.1 Alat

Alat yang digunakan dalam pembuatan ekstrak kopi (*Coffea arabica*), yaitu:

- Blender

- Penimbang
- Kertas saring
- Tabung ekstraksi
- Pengaduk
- *Rotary evaporator*
- Alat pemanas air
- Labu penampung hasil evaporasi
- Tabung pendingin
- Pompa sirkulasi air dingin
- Bak penampung air dingin
- Pipa plastik
- Pipa vakum
- Penampung hasil penguapan
- Oven
- Labu penampung ekstraksi

Alat yang digunakan dalam mengidentifikasi *Staphylococcus aureus*, yaitu:

- Bunsen
- *Object glass*
- Mikroskop
- Minyak emersi
- Kertas penghisap

Alat yang digunakan untuk uji ekstrak kopi, yaitu:

- Tabung reaksi
- Mikropipet steril ukuran 10 µl

- Incubator
- Vortex
- Bunsen
- Korek api
- Ose
- Penggaris
- *Plate* kosong dan steril
- Kapas

4.7.2 Bahan

- Ekstrak kopi
- Aquades
- Alkohol 96%
- Bakteri *Staphylococcus aureus*
- Bahan pewarna pewarnaan gram: crystal violet, Lugol's iodine, 96% alkohol, safranin
- Media dilusi agar

4.8 Prosedur Penelitian

4.8.1 Pembuatan Bahan Uji

Bahan uji diperoleh melalui proses ekstraksi, sebagai berikut:

- 500 gram biji kopi (*Coffea arabica*) yang tidak dipanggang dihaluskan menggunakan blender. Setelah halus, ditimbang lalu dibungkus menggunakan kertas saring. Biji kopi didapatkan dari pasar tradisional.

- Kertas saring yang berisi serbuk kopi dimasukkan ke dalam tabung ekstraktor.
- Menuangkan etanol ke dalam tabung ekstraksi sampai tumpah ke dalam labu lalu ditambah lagi etanol setengahnya.
- Labu yang telah berisi pelarut etanol dipanaskan hingga mendidih dengan suhu 78,5°C.
- Proses terjadinya sirkulasi kontinyu pelarut etanol diamati hingga semua ekstraksi dianggap telah terekstraksi.
- Hasil ekstraksi lalu dievaporasi. Dari proses tersebut didapatkan 40 ml ekstrak kopi.

4.8.2 Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus*

Sebelum digunakan dalam penelitian, *Staphylococcus aureus* yang akan digunakan harus diidentifikasi ulang. Identifikasi yang dilakukan meliputi pewarnaan Gram, kultur differensiasi pada media *Manitol Salt Agar* (MSA) dengan konsentrasi garam NaCl 7,5-10% untuk mengetahui sifat fermentasi terhadap manitol, uji katalase, dan uji koagulase ulang.

A. Prosedur pewarnaan Gram

1. Mengambil isolat bakteri yang telah dipreparasi sebelumnya ke atas permukaan objek glass kemudian dikeringkan dan dilakukan fiksasi dengan api.
2. Sediaan ditetesi dengan kristal violet dan ditunggu selama 1 menit. Sisa kristal violet dibuang dan dibilas dengan air.
3. Sediaan ditetesi lagi dengan larutan lugol kemudian ditunggu selama 1 menit. Sisa lugol dibuang dan dibilas dengan air.

4. Alkohol 96% dituang ke atas sediaan dan dibiarkan selama 5-10 detik. Sisa alkohol dibuang dan dibilas dengan air.
5. Kemudian safranin dituang di atas sediaan dan dibiarkan selama 30 detik. Sisa safranin dibuang dan dibilas dengan air.
6. Sediaan dikeringkan dengan kertas penghisap, ditetesi minyak emersi dan dapat dilihat di bawah mikroskop dengan pembesaran 100x. Dicari adanya sel bakteri bersifat Gram positif, berbentuk coccus dan bergerombol.

B. Prosedur penanaman pada medium MSA (*Manitol Salt Agar*)

1. Bakteri yang akan diuji *distreaking* pada medium *Manitol Salt Agar* sehingga dihasilkan koloni yang terpisah dan diinkubasi selama 24-48 jam.
2. Dari koloni tersebut diamati sifat fermentasi manitol berupa adanya daerah terang (halo) berwarna kuning di sekitar koloni *Staphylococcus aureus*.

C. Tes katalase

1. Menyediakan perbenihan cair kuman pada gelas obyek.
2. Sediaan tersebut ditetesi dengan larutan H_2O_2 3%.
3. Memperhatikan ada tidaknya gelembung udara yang terjadi. Bila terjadi gelembung udara, maka katalase positif.

D. Tes koagulase

1. Mengambil dan membersihkan gelas obyek
2. Suspensi kuman dibuat di atas gelas obyek dari 1 tetes larutan salin/ aquades steril dengan 1 koloni kuman dari biakan padat (NAP).

3. Satu tetes plasma darah ditetaskan pada suspensi kuman dan diusahakan agar tercampur dengan cara menggosokkan gelas objek dalam arah melingkar dalam waktu 5-10 detik.
4. Memperhatikan keberadaan gumpalan putih (*clumping*) pada sediaan tersebut, bila tampak gumpalan putih, maka koagulasi positif.

4.8.3 Suspensi Bakteri Uji

Bakteri dipindahkan ke dalam tabung yang berisi *NA broth* dan diinkubasi dalam inkubator pada suhu optimum 35-37°C selama 18-24 jam. Setelah itu, dilakukan pengenceran dengan media kultur cair bakteri sampai konsentrasi bakteri 10^8 / ml didapat.

1 ml kultur (dari konsentrasi bakteri 10^8 / ml) ditambahkan ke dalam 9 ml NaCl untuk mendapatkan konsentrasi bakteri 10^7 /ml. Lalu proses pengenceran diulang lagi dengan menambahkan 1 ml kultur (dari konsentrasi bakteri 10^7 /ml) ke dalam 9 ml NaCl untuk mendapatkan pengenceran akhir yang mengandung konsentrasi bakteri 10^6 /ml. Konsentrasi bakteri 10^6 /ml tersebut yang digunakan dalam penelitian.

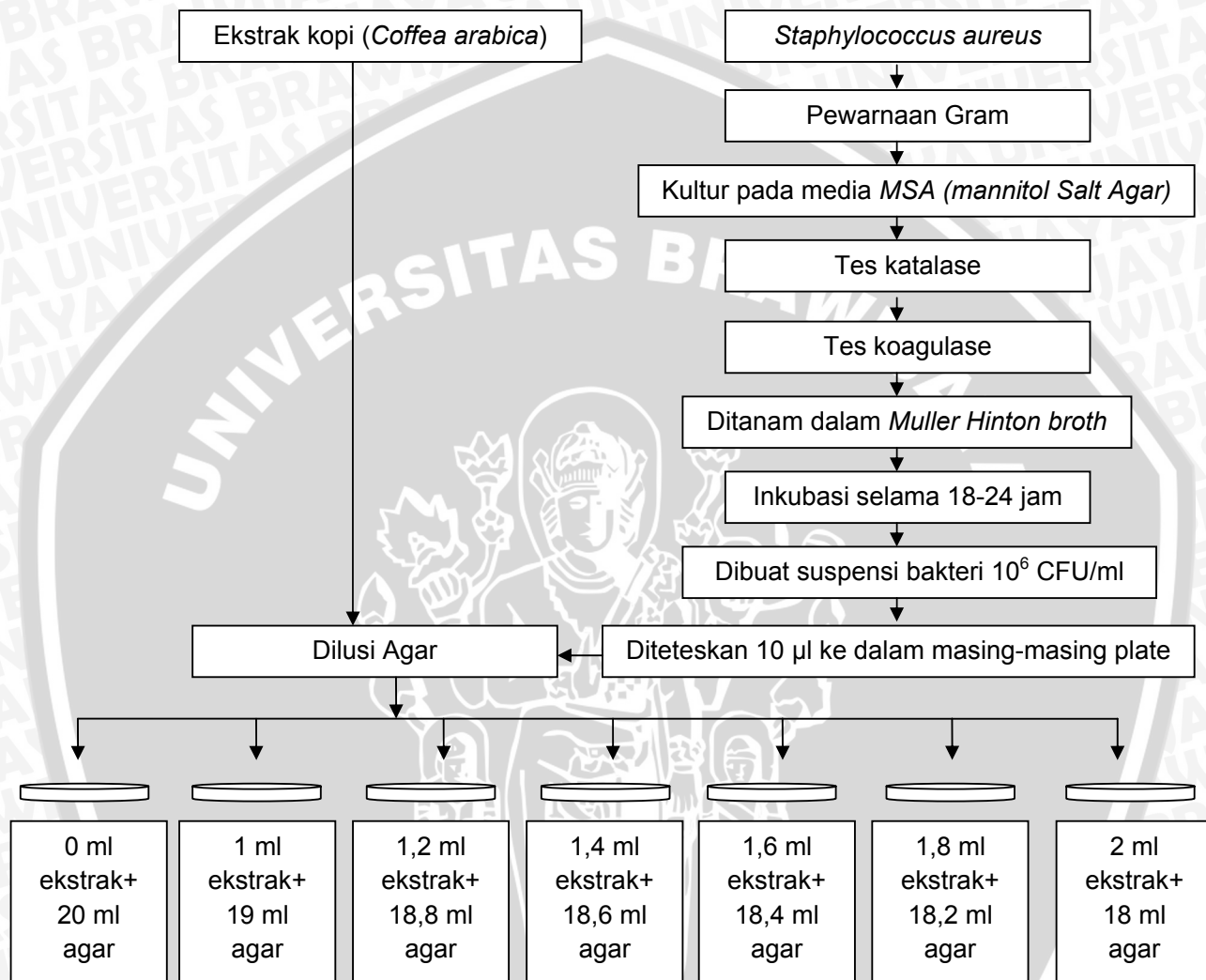
4.8.4 Uji Antimikroba Ekstrak Kopi (*Coffea arabica*) terhadap *Staphylococcus aureus* (Tes Dilusi Agar)

Tes dilusi agar dilakukan untuk menentukan KHM yang tidak dapat diketahui menggunakan metode dilusi tabung. Hal ini disebabkan ekstrak kopi (*Coffea arabica*) berwarna keruh dan menggumpal sehingga mengganggu visualisasi untuk menentukan KHM.

Prosedur tes dilusi agar:

1. Disediakan 6 *plate* steril berdiameter 9 cm dan telah diberi tanda berdasarkan persentase larutan ekstrak yang dicampur dalam dilusi agar, yaitu 0%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, dan 10%. Setelah dicampur larutan ekstrak agar kemudian dipanaskan, lalu ditunggu hingga agarnya dingin.
2. Volume yang dipakai dalam setiap *plate* untuk mencampur agar adalah 20 ml, jadi volume ekstrak yang dimasukkan ke dalam *plate* 0%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, dan 10% adalah berturut-turut 0 ml, 1 ml, 1,2 ml, 1,4 ml, 1,6 ml, 1,8 ml, dan 2 ml. Sedangkan sisanya adalah volume agar yang telah dipanaskan.
3. Bakteri uji yang dipakai adalah bakteri yang diencerkan sampai 10^6 CFU/ml.
4. Setelah agar dingin, setiap *plate* tersebut ditandai menjadi menjadi 4 bagian yang pada setiap bagian ditetesi bakteri uji sebanyak 10^4 bakteri/10 μ l. Kemudian semua *plate* diinkubasikan selama 18-24 jam.
5. Setelah itu koloni yang tumbuh pada agar *plate* dibaca. Konsentrasi ekstrak pada dilusi agar *plate* yang tidak ditemukan adanya pertumbuhan koloni dapat disebut sebagai KHM larutan ekstrak.

4.9 Skema Prosedur



4.10 Analisis Data

Data yang diperoleh adalah data kualitatif dari hasil pertumbuhan koloni *Staphylococcus aureus* pada agar plate yang telah diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam berupa data konsentrasi ekstrak kopi (*Coffea arabica*) dan pertumbuhan koloni bakteri. Analisis yang digunakan adalah uji statistik Kruskal Wallis untuk mengetahui perbedaan pengaruh dari berbagai konsentrasi

ekstrak kopi terhadap *Staphylococcus aureus* sehingga dapat disimpulkan apakah ekstrak kopi mempunyai pengaruh antimikroba yang signifikan terhadap *Staphylococcus aureus*, uji Mann Whitney yang digunakan untuk mengetahui perbedaan pengaruh pemberian ekstrak kopi sebagai antimikroba terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* pada setiap konsentrasi yang diberikan, dan uji korelasi Spearman untuk mengetahui besarnya keeratan hubungan pemberian perlakuan terutama yang disebabkan oleh pemberian ekstrak kopi dengan pertumbuhan koloni bakteri *Staphylococcus aureus*. Dalam penelitian ini, besar kepercayaan yang dipakai adalah 0,95 untuk tingkat signifikansi (α) = 0,05.



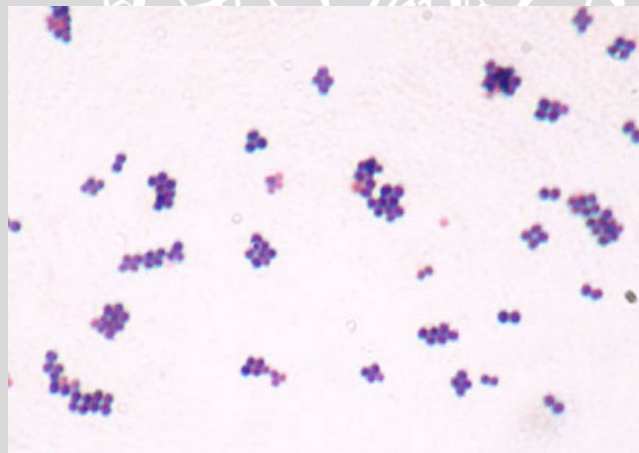
BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA

5.1 Data Hasil Penelitian

5.1.1 Identifikasi *Staphylococcus aureus*

Dalam penelitian ini sampel yang digunakan adalah bakteri *Staphylococcus aureus* dari yang dimiliki oleh Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Namun sebelum dilakukan penelitian telah dilakukan identifikasi ulang, meliputi pewarnaan gram, penanaman pada medium MSA, tes koagulase, dan tes katalase. Dari pewarnaan gram didapatkan sel bakteri bentuk *coccus* gram positif berwarna ungu, penanaman pada medium MSA +, tes koagulase +, dan tes katalase +.

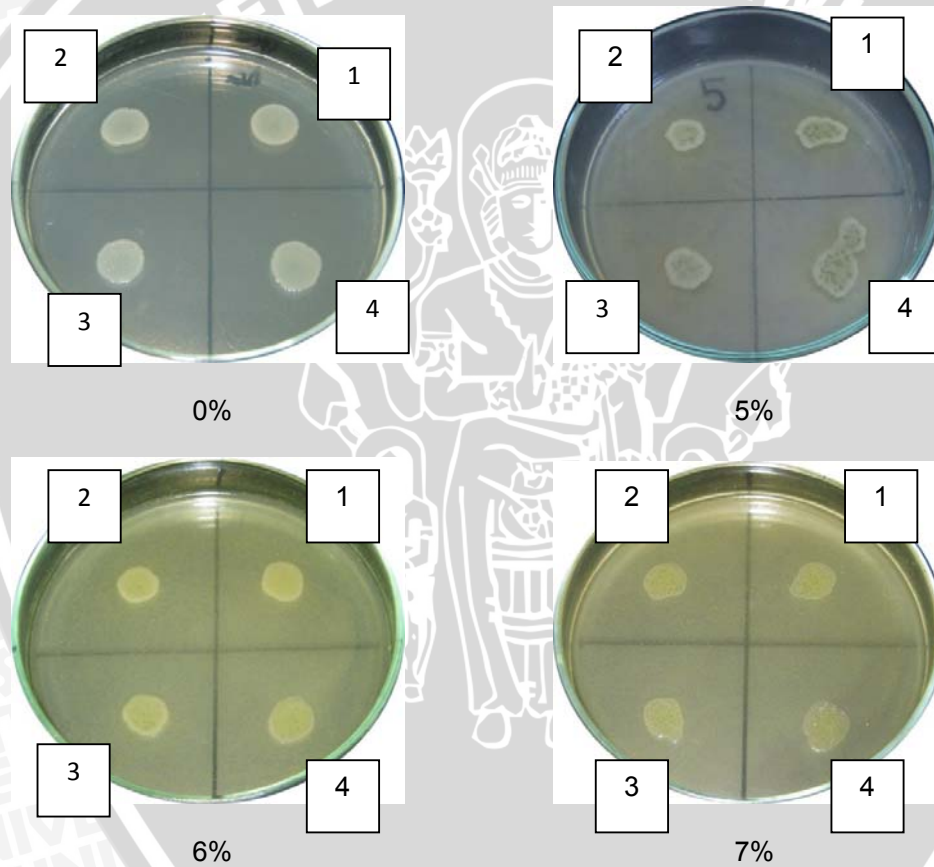


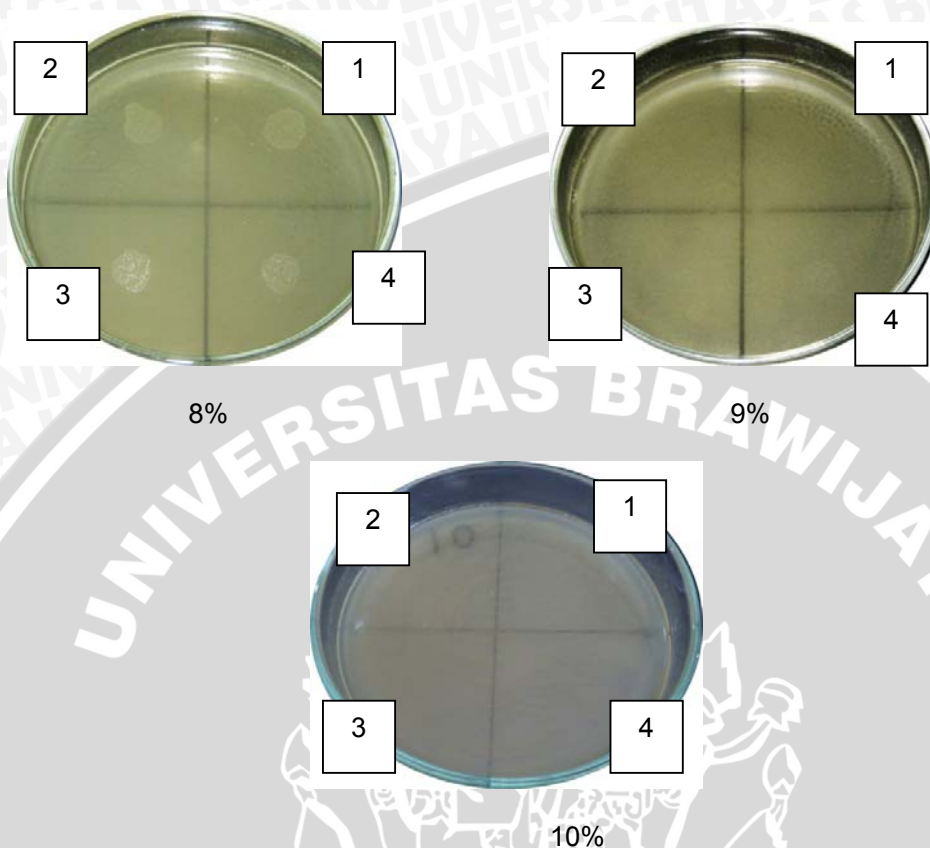
Gambar 5.1 bakteri *Staphylococcus aureus* dengan pengecatan Gram

5.1.2 Hasil Penentuan KHM

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan beberapa macam konsentrasi ekstrak kopi (*Coffea arabica*) dari hasil eksplorasi dengan variasi konsentrasi 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10% serta 1 kelompok kontrol tanpa diberi

konsentrasi ekstrak kopi (*Coffea arabica*) (konsentrasi 0%). Pengamatan pertumbuhan koloni untuk menentukan KHM dilakukan secara langsung dengan mata telanjang. Konsentrasi ekstrak terendah yang dilarutkan pada medium agar dengan *scoring* 0 menunjukkan Kadar Hambat Minimal (KHM) dari ekstrak kopi terhadap *Staphylococcus aureus*. Hasil penentuan KHM dapat dilihat pada gambar 5.2.





Gambar 5.2 Koloni bakteri *Staphylococcus aureus* dengan beberapa perbedaan konsentrasi ekstrak kopi (*Coffea arabica*)

Pada gambar 5.2 terlihat bahwa koloni bakteri tumbuh paling tebal pada kontrol positif yang berarti bahwa suspensi bakteri yang digunakan pada kelompok perlakuan benar-benar mengandung bakteri. Hasil pengamatan pada plate setelah diinkubasi pada suhu 35°C selama 18-24 jam menunjukkan bahwa semakin tinggi pemberian dosis ekstrak kopi (*Coffea arabica*) maka semakin sedikit pertumbuhan koloni yang dapat dilihat pada tiap *spot* atau titik-titik tempat penetesan inokulasi bakteri. Hasil pengamatan dari uji coba perlakuan dengan menggunakan ekstrak kopi (*Coffea arabica*) dapat dilihat pada tabel 5.1 berikut.

Tabel 5.1 Pertumbuhan koloni *Staphylococcus aureus* dalam beberapa konsentrasi ekstrak kopi (*Coffea arabica*)

Konsentrasi	PengulanganBakteri			
	1	2	3	4
0%	+++	+++	+++	+++
5%	+++	+++	+++	+++
6%	+++	+++	+++	+++
7%	+++	+++	+++	+++
8%	++	++	++	++
9%	0	0	0	+
10%	0	0	0	0

Sumber : Data primer yang diolah

Keterangan : +++ : koloni tumbuh tebal dan tidak terhitung

++ : koloni tumbuh tipis dan tidak terhitung

+

0 : tidak ada pertumbuhan

Berdasarkan hasil pengamatan terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Staphylococcus aureus* pada agar plate dalam beberapa konsentrasi ekstrak kopi pada tabel 5.1 menunjukkan hasil yang bervariasi. Berdasarkan tabel tersebut pengaruh ekstrak kopi terhadap koloni bakteri adalah semakin tinggi konsentrasi ekstrak semakin sedikit pertumbuhan bakteri. Konsentrasi terendah yang ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri didefinisikan sebagai kadar hambat minimal ekstrak kopi sebagai antimikroba. Dari tabel dapat dijelaskan bahwa kadar hambat minimal (KHM) pada pengulangan 1, 2, dan 3 adalah pada konsentrasi 9% (*scoring*0), sedangkan pada pengulangan 4 di konsentrasi 9%masih didapatkan pertumbuhan (*scoring* +1). Hal ini mungkin diakibatkan oleh

tingginya tingkat resistensi yang ditimbulkan bakteri tersebut. Pada pengulangan 4 kadar hambat minimal bakteri (KHM) adalah pada konsentrasi 10%. Berdasarkan data tersebut, dapat disimpulkan secara kualitatif bahwa bahan aktif yang terkandung dalam ekstrak kopi (*Coffea arabica*) mempunyai efek sebagai antimikroba terhadap bakteri *S. aureus* dibandingkan dengan yang tidak diberi ekstrak (konsentrasi 0%).

Hasil penelitian tersebut kemudian dianalisis menggunakan beberapa uji statistik, di antaranya uji Kruskal, uji Mann Whitney, serta pengujian dengan uji korelasi Spearman.

5.2 Analisa Data

Pada penelitian ini, pemberian ekstrak kopi pada media agar merupakan variabel bebas. Sementara variabel tergantung adalah tingkat pertumbuhan koloni kuman *Staphylococcus aureus* pada media dilusi agar yang mengandung ekstrak kopi. Analisis data yang digunakan adalah uji hipotesis komparatif dan uji hipotesis korelatif. Uji hipotesis komparatif bertujuan untuk mengetahui adanya perbedaan pertumbuhan koloni kuman *Staphylococcus aureus* pada dilusi agar plate dengan ekstrak kopi dibandingkan dengan dilusi agar plate tanpa ekstrak. Variabel ordinal pada penelitian ini adalah tingkat pertumbuhan koloni bakteri dan variabel bebas pada penelitian ini tidak berpasangan, sehingga uji hipotesis komparatif yang digunakan adalah uji non parametrik Kruskal Wallis dan Mann Whitney. Sedangkan uji hipotesis korelatif yang digunakan adalah uji Spearman. Analisis data pada penelitian ini diolah dengan program SPSS 16.

5.2.1 Uji Kruskal Wallis

Penelitian ini menggunakan variabel numerik dengan satu faktor yang ingin diketahui, yaitu perbedaan dari pertumbuhan koloni bakteri *S.aureus* yang dihasilkan pada agar plate pada setiap perlakuan pemberian ekstrak kopi dalam beberapa konsentrasi.

Berdasarkan hasil penelitian berupa pertumbuhan koloni bakteri *S.aureus* pada *agar dilution test* yang ditampilkan pada lembar lampiran kemudian diolah dan dianalisis untuk mengetahui adanya perbedaan pengaruh dari beberapa konsentrasi ekstrak terhadap pertumbuhan koloni bakteri *S.aureus* pada dilusi agar plate dengan menggunakan uji Kruskal Wallis. Hipotesis ditentukan melalui H_0 diterima bila nilai signifikansi yang diperoleh $\geq \alpha 0,05$, sedangkan H_0 ditolak jika nilai signifikansi yang diperoleh $< \alpha 0,05$. H_0 dari penelitian ini adalah tidak ada perbedaan efek antimikroba pada pemberian ekstrak kopi (*Coffea arabica*) antara setiap perlakuan terhadap pertumbuhan koloni bakteri *S.aureus* pada dilusi agar plate. Adapun H_1 dalam penelitian ini adalah terdapat perbedaan efek antimikroba pada pemberian ekstrak kopi (*Coffea arabica*) antara setiap perlakuan terhadap pertumbuhan koloni bakteri *S.aureus* pada dilusi agar plate. Di bawah ini adalah uji Kruskal Wallis dari pertumbuhan koloni bakteri *S.aureus* pada setiap perlakuan.

Tabel 5.2 Ringkasan Hasil Uji Kruskal Wallis
Test Statistics^{a,b}

	Pertumbuhan Koloni Bakteri
Chi-Square	26.777
df	6
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

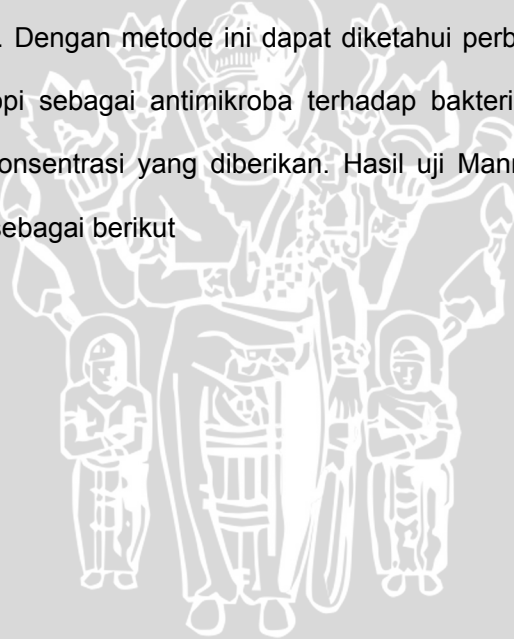
b. Grouping Variable: konsentrasi ekstrak

Sumber: data primer yang diolah

Berdasarkan hasil analisis ragam pada tabel 5.2. menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0.000($p < 0,05$), sehingga H_0 ditolak, dan dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan efek antimikroba pada pemberian ekstrak kopi (*Coffea arabica*) terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Staphylococcus aureus*.

5.2.2 Uji Mann Whitney

Uji Mann Whitney digunakan sebagai uji pembandingan berganda (*multiple comparison*) untuk data yang berskala ordinal dalam penelitian ini yaitu data kualitatif mengenai pertumbuhan koloni bakteri *S.aureus* yang dihasilkan pada dilusi agar plate. Dengan metode ini dapat diketahui perbedaan pengaruh pemberian ekstrak kopi sebagai antimikroba terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* pada setiap konsentrasi yang diberikan. Hasil uji Mann Whitney dapat dilihat pada tabel 5.3 sebagai berikut



Tabel 5.3 Hasil Uji Mann Whitney

Pembandingan antar perlakuan		Mann Whitney	Z	Sig.	Keputusan
0%	5%	8.000	0.000	1.000	Tidak berbeda signifikan
	6%	8.000	0.000	1.000	Tidak berbeda signifikan
	7%	8.000	0.000	1.000	Tidak berbeda signifikan
	8%	0.000	-2.646	0.029	Berbeda signifikan
	9%	0.000	-2.530	0.029	Berbeda signifikan
	10%	0.000	-2.468	0.029	Berbeda signifikan
5%	6%	8.000	0.000	1.000	Tidak berbeda signifikan
	7%	8.000	0.000	1.000	Tidak berbeda signifikan
	8%	0.000	-2.646	0.029	Berbeda signifikan
	9%	0.000	-2.530	0.029	Berbeda signifikan
	10%	0.000	-2.468	0.029	Berbeda signifikan
6%	7%	8.000	0.000	1.000	Tidak berbeda signifikan
	8%	0.000	-2.646	0.029	Berbeda signifikan
	9%	0.000	-2.530	0.029	Berbeda signifikan
	10%	0.000	-2.468	0.029	Berbeda signifikan
7%	8%	0.000	-2.646	0.029	Berbeda signifikan
	9%	0.000	-2.530	0.029	Berbeda signifikan
	10%	0.000	-2.468	0.029	Berbeda signifikan
8%	9%	0.000	-2.530	0.029	Berbeda signifikan
	10%	0.000	-2.646	0.029	Berbeda signifikan
9	10%	6.000	-1.000	0.680	Tidak berbeda signifikan

Sumber : data primer yang diolah

Dari hasil uji perbandingan berganda antara setiap perlakuan, pada tabel 5.3, menunjukkan bahwa pertumbuhan koloni bakteri *Staphylococcus aureus* pada kelompok kontrol (konsentrasi 0%) berbeda signifikan dengan kelompok 8%, 9%, dan 10% ($p < 0.05$), namun tidak berbeda signifikan pada konsentrasi 5%, 6%, dan 7% ($p > 0.05$). Pertumbuhan koloni pada konsentrasi 5% berbeda signifikan dengan konsentrasi 8%, 9%, dan 10%, namun tidak berbeda signifikan dengan konsentrasi 6% dan 7%. Pertumbuhan koloni pada konsentrasi 6% berbeda signifikan dengan konsentrasi 8%, 9%, dan 10%, tetapi tidak berbeda signifikan dengan konsentrasi 7%. Pertumbuhan koloni 7% berbeda signifikan dengan 8%, 9%, dan 10%. Pertumbuhan koloni konsentrasi 8% berbeda signifikan dengan konsentrasi 9% dan 10%, namun pertumbuhan koloni antara konsentrasi 9% dengan 10% tidak berbeda signifikan.

Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa sebagian besar dari setiap perlakuan pada penelitian ini berbeda secara signifikan terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* yang dihasilkan pada difusi agar plate. Pertumbuhan koloni antara konsentrasi 9% dan 10% tidak berbeda signifikan, namun berbeda signifikan dengan konsentrasi kontrol (0%). Dari kesimpulan ini dapat dianalisis bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak kopi yang diberikan mempengaruhi tingkat pertumbuhan koloni bakteri *Staphylococcus aureus* dan mempunyai efek sebagai antimikroba pada konsentrasi tertentu.

5.2.3 Uji Korelasi Spearman

Untuk mengetahui besarnya hubungan dari pemberian ekstrak kopi terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Staphylococcus aureus* pada dilusi agar

plate yang berskala ordinal, maka digunakan uji Korelasi Spearman, dengan hasil pada tabel 5.3 berikut

Tabel 5.4 Hasil Uji Korelasi Spearman

			konsentrasi ekstrak	koloni
Spearman's rho	konsentrasi ekstrak	Correlation Coefficient	1.000	-.897**
		Sig. (2-tailed)	.	.000
		N	28	28
	koloni	Correlation Coefficient	-.897**	1.000
		Sig. (2-tailed)	.000	.
		N	28	28

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

Sumber: data primer

Berdasarkan hasil analisis pada tabel 5.2.3 di atas dapat diketahui bahwa pemberian ekstrak kopi (*Coffea arabica*) sebagai antimikroba terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ($r = -0.897$, $p = 0.000$) mempunyai hubungan yang signifikan ($p < 0.05$) dengan arah korelasi yang negatif (karena koefisien korelasi bernilai negatif). Artinya peningkatan konsentrasi ekstrak kopi (*Coffea arabica*) akan cenderung menurunkan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang dihasilkan pada *agar plate* dibandingkan dengan konsentrasi yang lebih rendah.

BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk membuktikan efek antimikroba dari ekstrak kopi (*Coffea arabica*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode dilusi agar. Metode ini digunakan untuk mengetahui KHM karena pada penelitian terdahulu KHM tidak dapat ditentukan dengan metode *tube dilution test*. Penentuan KHM dilakukan dengan membandingkan pertumbuhan koloni bakteri *Staphylococcus aureus* yang diinokulasikan pada medium dilusi agar pada temperatur 37°C selama 18-20 jam. Pada metode ini KBM tidak dapat ditentukan.

Isolat bakteri *Staphylococcus aureus* yang digunakan berasal dari bakteri yang dimiliki Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Brawijaya Malang. Sebelum digunakan bakteri diidentifikasi dulu dengan pengecatan gram, tes koagulase, dan tes katalase. Dari hasil pengecatan didapatkan bakteri gram positif, berbentuk *coccus*, bergerombol, dan berwarna ungu (Gram positif). Dari tes koagulase didapatkan hasil positif yang ditandai dengan terbentuknya gumpalan-gumpalan putih (*clumping*) pada gelas objek yang ditetesi plasma darah dan suspensi kuman. Hal ini sesuai dengan sifat kuman *Staphylococcus aureus* yang mampu menghasilkan enzim koagulase dan membedakan kuman ini dengan kuman *Staphylococcus sp.* yang lain. Sedangkan dari tes katalase juga didapatkan hasil positif yang ditandai dengan timbulnya gelembung udara pada suspensi larutan kuman yang ditetesi larutan H₂O₂ 3%. Hal ini juga sesuai dengan sifat kuman *Staphylococcus aureus* yang mampu menghasilkan enzim katalase, yang mampu membedakan kuman ini dengan kuman *Streptococcus sp.*

Konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak kopi dengan variasi 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, dan 1 kelompok kontrol tanpa diberi ekstrak kopi (konsentrasi 0%). Besarnya konsentrasi tersebut ditentukan berdasarkan pada penelitian pendahuluan yang dilakukan sebelumnya menggunakan dilusi agar plate.

Dari penelitian terdahulu Kadar Hambat Minimal (KHM) dari ekstrak kopi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* tidak dapat ditentukan menggunakan *tube dilution test*. Hal ini dikarenakan bahan ekstrak kopi keruh seiring dengan bertambahnya konsentrasi dan menggumpal walaupun sudah divortex *mixer*. Bahan ekstrak yang menggumpal dalam *tube dilution test* menyebabkan bakteri *Staphylococcus aureus* bersembunyi dibalik gumpalan ekstrak dan zat aktif dalam ekstrak tidak menyebar secara merata.

Senyawa aktif ekstrak kopi (*Coffea arabica*) didapatkan melalui proses ekstraksi dengan cara maserasi dari 500 gram serbuk kopi hijau yang tidak dipanggang dan menggunakan pelarut etanol. Etanol digunakan sebagai bahan pelarut karena senyawa aktif yang terkandung di dalam kopi bersifat larut etanol, dengan adanya kesamaan salah satu strukturnya, yaitu adanya gugus -OH. Meskipun menggunakan etanol, efek antimikroba ekstrak kopi terhadap *Staphylococcus aureus* diperkirakan bukan disebabkan etanol, karena dalam proses pembuatannya ekstrak telah mengalami proses evaporasi dan dioven pada suhu 80°C sedangkan titik didih etanol adalah 78°C, sehingga dengan demikian dapat diasumsikan seluruh pelarut etanol sudah menguap. Hasil ekstrak yang didapatkan dari proses ekstraksi dan evaporasi berupa 40 ml cairan pekat berwarna coklat muda dan berbau kopi.

Bakteri *Staphylococcus aureus* yang digunakan dalam penelitian ini setelah diidentifikasi dengan pengecatan gram, ditanam pada *Muller Hinton Broth* dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam dan kemudian distandardisasi menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 610 nm untuk mendapatkan jumlah koloni sebesar 10^8 CFU/ml.

Dalam menentukan KHM, nilai yang diamati adalah jumlah pertumbuhan koloni pada medium agar diteteskan 10^4 bakteri/10µl bakteri *Staphylococcus aureus* dan diinkubasi selama 18-24 jam kemudian dilihat jumlah koloninya. Nilai KHM dari ekstrak kopi pada penelitian ini didefinisikan sebagai konsentrasi di mana bakteri *Staphylococcus aureus* tidak tumbuh (scoring 0) (Hendriksen, 2003). Dari hasil pengamatan didapatkan bakteri tidak tumbuh di konsentrasi 9% pada pengulangan 1, 2, dan 3, sedangkan di konsentrasi 10% bakteri tidak tumbuh pada keempat pengulangan.

Dari keempat pengulangan yang dilakukan, didapatkan 1 pengulangan pada konsentrasi 9% yang menunjukkan penyimpangan nilai. Hal ini disebabkan karena tingginya tingkat resistensi yang ditimbulkan bakteri karena bakteri mengubah permeabilitas membran selnya, sehingga kandungan ekstrak kopi yang bekerja mengganggu permeabilitas membran (*chlorogenic acid*) dan mengganggu struktur DNA (kafein) tidak bekerja secara maksimal.

Pertumbuhan koloni bakteri *Staphylococcus aureus* cenderung semakin menurun dengan semakin tingginya konsentrasi ekstrak kopi menunjukkan hubungan yang erat antara pemberian ekstrak kopi terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Berdasarkan penilaian secara deskriptif menurut penilaian kualitatif terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Staphylococcus aureus* yang dihasilkan

pada medium agar, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak kopi mempunyai efek sebagai antimikroba terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dibandingkan kelompok kontrol (konsentrasi 0%). Data-data dari pertumbuhan koloni yang didapat dalam penelitian ini kemudian dilakukan uji statistik dengan menggunakan Uji Kruskal Wallis, Uji Mann Whitney, dan Uji Korelasi Spearman. Dari hasil uji statistik tersebut dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan dari pemberian berbagai konsentrasi ekstrak kopi meskipun pada beberapa konsentrasi menunjukkan tidak ada perbedaan atau relatif sama perlakuan. Dari hasil korelasi Spearman ($r = -0.897$, $p = 0.000$) didapatkan hubungan yang signifikan ($p < 0.05$) dengan arah korelasi yang negatif (karena koefisien korelasi bernilai negatif). Hal tersebut menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak kopi akan cenderung menurunkan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang dihasilkan pada dilusi agar plate dibandingkan dengan konsentrasi yang lebih rendah.

Efek hambat ekstrak kopi (*Coffea arabica*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* diperankan oleh kandungan *chlorogenic acid* dan kafein yang merupakan kandungan terbesar yang terdapat pada kopi. *Chlorogenic acid* pada kopi merupakan kandungan senyawa polifenol terbesar dalam kopi yang terbentuk dari senyawa ester oleh *quinic acid* dan *caffeic acid*, sedangkan kafein pada kopi merupakan senyawa alkaloid (Lelyana, 2008).

Chlorogenic acid meningkatkan permeabilitas membran luar dan membrane plasma sehingga fungsi pembatas dari membrane hilang. *Chlorogenic acid* berikatan dengan membran, mengganggu struktur membran, menghilangkan potensial intraseluler, dan melepaskan makromolekul dari sitoplasma yang menyebabkan sel mengalami kematian (Lou *et al*,

2011). Berbeda dengan *Chlorogenic acid*, kafein mengganggu struktur DNA bakteri. Kafein mengganggu fungsi biokimia normal dari cincin purin dengan cara memblokir reseptor adenosine pada cincin purin secara kompetitif, menghambat sintesis fosfodiesterase enzyme sehingga mencegah terjadinya aktivasi siklik AMP, dan menghambat aktivitas enzim RNA-dependent DNA polimerase (Badaway, 1998). Oleh karena itu secara garis besar dapat dikatakan bahwa *chlorogenic acid* mempunyai efek bakterisidal dengan cara melakukan gangguan membran sel bakteri, sedangkan kafein mempunyai efek bakterisidal dengan cara mengganggu struktur DNA bakteri.

Dengan melihat fakta hasil penelitian ini yang didapatkan efek hambat pertumbuhan koloni *Staphylococcus aureus* seiring dengan peningkatan konsentrasi perlakuan, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak kopi (*Coffea arabica*) terbukti memiliki efek antimikroba terhadap *Staphylococcus aureus* secara in vitro.

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan dalam penelitian ini dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak kopi (*Coffea arabica*) mempunyai efek antimikroba terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Staphylococcus aureus*.
2. Nilai Kadar Hambat Minimal (KHM) dari ekstrak kopi (*Coffea arabica*) sebagai antimikroba terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* adalah 9%-10%.
3. Jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* yang tumbuh semakin rendah dengan semakin tingginya konsentrasi ekstrak kopi (*Coffea arabica*) yang digunakan.

7.2 Saran

Adanya berbagai kekurangan dalam penelitian ini maka perlu diadakan penelitian lebih lanjut antara lain:

- Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menguji potensi antimikroba ekstrak kopi dan/atau serbuk kopi jenis lain terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan strain yang berbeda
- Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menguji potensi antimikroba serbuk kopi jenis *Coffea arabica* dalam bentuk selain ekstrak terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan/atau bakteri lain.

- Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menguji potensi antimikroba ekstrak kopi dan/atau serbuk kopi jenis lain terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan/atau bakteri lain
- Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan metode lain, misalnya dengan difusi cakram untuk mengetahui kemampuan ekstrak kopi (*Coffea arabica*) sebagai antimikroba terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* atau bakteri lain.
- Perlu diadakan penelitian secara *in vivo* untuk mengetahui dosis efektif, dosis letal, efek samping, serta dilanjutkan dengan pengujian pada manusia agar mendapatkan efek antimikroba dari ekstrak kopi (*Coffea arabica*) sebelum digunakan untuk keperluan pengobatan medis pada masyarakat luas, khususnya dalam pencucian luka atau perawatan infeksi kulit akibat *Staphylococcus aureus*.

DAFTAR PUSTAKA

- Almeida, Ana Amelia P., Farah, Adriana, Silva, Daniela A.M., Nunan, Elziria A., Gloria, M. Beatriz A. 2006. *Antibacterial Activity of Coffee Extracts and Selected Coffee Chemical Compounds against Enterobacteria*. (Abstract). J. Agric. Food Chem., 2006, 54 (23), pp 8738-8743.
- Anonymous. 2009. *Coffee Break- The Science and History of Coffee Break*. (Online) (http://www.talkaboutcoffee.com/coffee_break.html diakses pada 10 November 2011 pukul 19.00 WIB).
- Anonymous, 2011. *Taxonomy of Coffee*. (Online) (<http://medicinalplants-india.blogspot.com/2011/03/coffee-arabica-taxonomy-classification.html> diakses pada 10 November 2011 pukul 19.00 WIB).
- Arora, D. S., Ohlan, D. 2007. *In Vitro Studies on Antifungal Activity of Tea (Camellia sinensis) and Coffee (Coffea arabica) Against Wood-rotting Fungi*. (Abstract). 10.1002/jobm.3620370302.
- [Badaway, Mohammed A.](#), 1998. *Method of Enhancing The Antimicrobial Properties of Antibacterial Antibiotics to Massively Control and Prevent Bacterial, Fungal, and Viral Diseases in Plants*. Warner et al. C.A. vol 96. (1982) 96: 97143s.
- Balzer, Andreas. 2006. *Coffea arabica Bean*. (Online) (<http://www.flickr.com/photos/andreasbalzer/169092459/> diakses pada 11 November 2011 pukul 19.00 WIB)

Baron, E.J., S.M. Finegold. 1986. *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology 7th Ed.* USA: CV Mosby Company.

CDC. 2010. *Laboratory Detection of: Oxacilin/ Methicillin-resistant Staphylococcus aureus.* (Online) (http://www.cdc.gov/HAI/settings/lab/lab_mrsa.html diakses pada 1 November 2011 pukul 19.00 WIB).

Daglia, Maria, Papetti, Adele, Dacarro, Cesare, dan Gazzani, Gabriela. 1997. *Isolation of an Antibacterial Component from Roasted Coffee.* (Abstract). *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 18 (1998) 219-225.

Friedman, N.D., Kaye, K.S., Stout, J.E. 2002 *Health Care-Associated Bloodstream Infections in Adults: A Reason to Change The Accepted Definition of Community-Acquired Infections.* *Ann Intern Med*; 137:791.

Haskell, C. F.; Kennedy, DO; Wesnes, KA; Milne, AL; Scholey, AB. 2007. *A double-blind, placebo-controlled, multi-dose evaluation of the acute behavioural effects of guarana in humans.* *J Psychopharmacol* 21 (1): 65-70. doi: [10.1177/ 0269881106063815](https://doi.org/10.1177/0269881106063815). PMID 16533867.

Hendriksen, Rene S. 2003. *Laboratory Protocols Level 2 Training Course MIC Susceptibility Testing of Salmonella and Campylobacter 4th edition.* Diakses pada 28 Juli 2012 pukul 16.00 WIB.

Herchline, Thomas E. 2011. *Staphylococcal Infections Clinical Presentation.* (Online) (<http://emedicine.medscape.com/article/228816-overview> diakses pada 29 Oktober 2011 pukul 20.00 WIB).

Herriman, Robert. 2011. *What is the Difference Between Staphylococcus aureus and Staph epidermis.* (Online)

(http://www.ehow.com/facts_5849334_difference-staphylococcus-aureus-staph-epidermis.html#ixzz1fge6rF7V diakses pada 29 Oktober 2011 pukul 19.00 WIB)

Jawetz, Melnick, Adelberg. 2008. *Jawetz Melnick & Adelberg's Medical Microbiology, 24th Edition by Vishal.* USA: Mx Graw Hill.

Katzung, Betram G. 2004. *Basic and Clinical Pharmacology 11th Edition.* USA: Prentice Hall International Inc.

Kayser, H.F., Bienz, K.A., Eckert, J., Zinkernagel, M.R. 2005. *Medical Microbiology.* New York: Stuttgart Thiene.

Lelyana, Rosa. 2008. *Pengaruh Kopi terhadap Kadar Asam Urat Darah.* Tidak diterbitkan, Program Pascasarjana Magister Ilmu Biomedik Universitas Diponegoro, Semarang.

Levison, Mathew, MD. 2004. *Pharmacodynamic of Antimicrobial Drugs.* Infect Dis Clin N Am 18 (2004) 451–465

Lou, Zaixiang, Wang, Hongxin, Zhu, Song, Ma, Chaoyang, dan Wang, Zhouping. 2011. *Antibacterial Activity and Mechanism of Action of Chlorogenic Acid.* (Abstract). Journal of Food Science, M398, 10.1111/j. 1750-3841.2011.02213.x.

Matheson, Eric M., Mainous, Arch G., Everett, Charles J., King, Dana E. 2011. *Tea and Coffee Consumption and MRSA Nasal Carriage.* Annals of Family Medicine, Vol. 9, No. 4, July/ August 2011.

Modric, Jan. 2011. *What is Staphylococcus aureus?* (Online)

([http://www.healthhype.com/staphylococcus-aureus.html#taxonomy-of-](http://www.healthhype.com/staphylococcus-aureus.html#taxonomy-of-staphylococcus-aureus)

[staphylococcus-aureus](http://www.healthhype.com/staphylococcus-aureus.html#taxonomy-of-staphylococcus-aureus) diakses pada 29 Oktober 2011 pukul 19.00 WIB)

National Geographic. 1999. *Coffee.* (Online)

(<http://www.nationalgeographic.com/coffee/> diakses pada 5 November

2011 pukul 19.00 WIB).

Nayeem, Naira, Denny, Gladsy, dan Mehta, Shalini Kapoor. 2011. *Comparative Phytochemical Analysis, Antimicrobial and Antioxidant Activity of the Methanolic Extracts of the Leaves of Coffea arabica and Coffea robusta.* Der Pharmacia Lettre, 2011, 3 (1): 292-297.

Oancea, Simona dan Mihaela Stoia. 2010. *Antibiotic Resistance of Bacterial Pathogens: The Magnitude of The Problem from Two Perspectives-Romanian and Worlwide.* Romanian: Romanian Biotechnological Letters.

Sung, Woo Sang, Lee, Dong Gun. 2010. *Antifungal Action of Chlorogenic Acid Against Pathogenic Fungi, Mediated by Membrane Disruption.* Pure Appl. Chem., Vol 82, No.1, pp. 219-226-2010.

Susila, Wayan R. 2005. *Targeted Study of the Arabica Coffee Production Chain in North Sumatra (The Mandheling Coffee).* Jakarta: Food Agriculture Organization United Nations.

Tim Mikrobiologi FKUB. 2003. *Bakteriologi Medik.* Malang: Bayumedia Publishing.

Tolan, Robert W. ,Jr. 201. *Staphylococcus aureus* Infection. (Online)

(<http://emedicine.medscape.com/article/971358-overview#showall>)

diakses pada 29 Oktober 2011 pukul 19.00 WIB).

Todar, Kenneth. 2011. *Staphylococcus aureus and Staphylococcal Disease*.

(Online) (<http://www.textbookofbacteriology.net/staph.html>) diakses pada

29 Oktober 2011 pukul 19.00 WIB).

WHO. 2011. *Infectious Diseases*. (Online) (<http://www.who.int/topics/infectious>)

[diseases/en/](http://www.who.int/topics/infectious) diakses pada 29 Oktober 2011 pukul 19.00 WIB).



LAMPIRAN

LAMPIRAN 1

Statistika Deskriptif

Statistics

	konsentrasi ekstrak	pertumbuhan koloni bakteri
N Valid	28	28
Missing	0	0

Tabel Frekuensi

Konsentrasi Ekstrak

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid 0%	4	14.3	14.3	14.3
5%	4	14.3	14.3	28.6
6%	4	14.3	14.3	42.9
7%	4	14.3	14.3	57.1
8%	4	14.3	14.3	71.4
9%	4	14.3	14.3	85.7
10%	4	14.3	14.3	100.0
Total	28	100.0	100.0	

Pertumbuhan Koloni Bakteri

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	0	7	25.0	25.0	25.0
	1	1	3.6	3.6	28.6
	2	4	14.3	14.3	42.9
	3	16	57.1	57.1	100.0
	Total	28	100.0	100.0	



LAMPIRAN 2

Hasil Uji Kruskal Wallis

NPar Tests

Kruskal-Wallis Test

Ranks

	konsentrasi ekstrak	N	Mean Rank
pertumbuhan koloni bakteri	0%	4	20.50
	5%	4	20.50
	6%	4	20.50
	7%	4	20.50
	8%	4	10.50
	9%	4	5.00
	10%	4	4.00
	Total	28	

Test Statistics^{a,b}

	pertumbuhan koloni bakteri
Chi-Square	26.777
df	6
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: konsentrasi ekstrak

LAMPIRAN 3

Hasil Uji Mann Whitney

Ranks				
konsentrasi ekstrak		N	Mean Rank	Sum of Ranks
koloni	0%	4	4.50	18.00
	5%	4	4.50	18.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	koloni
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	18.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^a

Ranks				
	konsentrasi ekstrak	N	Mean Rank	Sum of Ranks
koloni	0%	4	4.50	18.00
	6%	4	4.50	18.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	koloni
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	18.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^a

Ranks

konsentrasi ekstrak	N	Mean Rank	Sum of Ranks
koloni 0%	4	4.50	18.00
7%	4	4.50	18.00
Total	8		

Test Statistics^b

	koloni
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	18.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^a

Ranks

	konsentrasi ekstrak	N	Mean Rank	Sum of Ranks
koloni	0%	4	6.50	26.00
	8%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.646
Asymp. Sig. (2-tailed)	.008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

Ranks

	konsentrasi ekstrak	N	Mean Rank	Sum of Ranks
koloni	0%	4	6.50	26.00
	9%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.530
Asymp. Sig. (2-tailed)	.011
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

Ranks

	konsentrasi ekstrak	N	Mean Rank	Sum of Ranks
koloni	0%	4	6.50	26.00

10%	4	2.50	10.00
Total	8		

Test Statistics^b

	strain
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.646
Asymp. Sig. (2-tailed)	.008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

Ranks

	konsentrasi ekstrak	N	Mean Rank	Sum of Ranks
koloni	5%	4	4.50	18.00
	6%	4	4.50	18.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	koloni
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	18.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^a

Ranks

	konsentrasi ekstrak	N	Mean Rank	Sum of Ranks
koloni	5%	4	4.50	18.00
	7%	4	4.50	18.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	koloni
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	18.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^a

Ranks

	konsentrasi ekstrak	N	Mean Rank	Sum of Ranks
koloni	5%	4	6.50	26.00
	8%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.646
Asymp. Sig. (2-tailed)	.008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

Ranks

	konsentrasi ekstrak	N	Mean Rank	Sum of Ranks
koloni	5%	4	6.50	26.00
	9%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.530
Asymp. Sig. (2-tailed)	.011
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

Ranks

	konsentrasi ekstrak	N	Mean Rank	Sum of Ranks
koloni	5%	4	6.50	26.00
	10%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	strain
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.646
Asymp. Sig. (2-tailed)	.008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

Ranks

	konsentrasi ekstrak	N	Mean Rank	Sum of Ranks
koloni	6%	4	4.50	18.00
	7%	4	4.50	18.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	koloni
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	18.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^a

Ranks

	konsentrasi ekstrak	N	Mean Rank	Sum of Ranks
koloni	6%	4	6.50	26.00
	8%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.646
Asymp. Sig. (2-tailed)	.008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

Ranks

	konsentrasi ekstrak	N	Mean Rank	Sum of Ranks
koloni	6%	4	6.50	26.00
	9%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.530
Asymp. Sig. (2-tailed)	.011
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

Ranks

	konsentrasi ekstrak	N	Mean Rank	Sum of Ranks
koloni	6%	4	6.50	26.00
	10%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	strain
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.646
Asymp. Sig. (2-tailed)	.008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

Ranks

	konsentrasi ekstrak	N	Mean Rank	Sum of Ranks
koloni	7%	4	6.50	26.00
	8%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.646
Asymp. Sig. (2-tailed)	.008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

Ranks

	konsentrasi ekstrak	N	Mean Rank	Sum of Ranks
koloni	7%	4	6.50	26.00
	9%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.530
Asymp. Sig. (2-tailed)	.011
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

Ranks

	konsentrasi ekstrak	N	Mean Rank	Sum of Ranks
koloni	7%	4	6.50	26.00
	10%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	strain
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.646
Asymp. Sig. (2-tailed)	.008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

Ranks

	konsentrasi ekstrak	N	Mean Rank	Sum of Ranks
koloni	8%	4	6.50	26.00
	9%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	strain bakteri
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.530
Asymp. Sig. (2-tailed)	.011
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

Ranks

	konsentrasi ekstrak	N	Mean Rank	Sum of Ranks
koloni	8%	4	6.50	26.00
	10%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	strain
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.646
Asymp. Sig. (2-tailed)	.008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

Ranks

	konsentrasi ekstrak	N	Mean Rank	Sum of Ranks
koloni	9%	4	5.00	20.00
	10%	4	4.00	16.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	strain
Mann-Whitney U	6.000
Wilcoxon W	16.000
Z	-1.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	.317
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.686 ^a



LAMPIRAN 4

Hasil Uji Korelasi Spearman

Nonparametric Correlations

Correlations

			konsentrasi ekstrak	pertumbuhan koloni bakteri
Spearman's rho	konsentrasi ekstrak	Correlation	1.000	-.897**
		Coefficient		
		Sig. (2-tailed)		
		N		
	pertumbuhan koloni bakteri	Correlation	-.897**	1.000
		Coefficient		
		Sig. (2-tailed)		
		N		

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

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang tersebut di bawah ini

Nama : Dyah Lukito Hayuningrum

NIM : 0910710061

Judul Skripsi/Tugas Akhir : Efek Antimikroba Ekstrak Kopi (*Coffea arabica*)
terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dengan Metode Dilusi Agar

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

Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan tugas akhir ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 4 Oktober 2012

Yang membuat pernyataan,

Dyah Lukito Hayuningrum
NIM 0910710061