



**DAYA HAMBAT EKSTRAK DAUN KOPI ROBUSTA (*Coffea canephora*)
TERHADAP PERTUMBUHAN *Streptococcus mutans***

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi Pendidikan Dokter Gigi (S1) dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran Gigi

Oleh

Silvitalia Putri

NIM 141610101083

**BAGIAN MIKROBIOLOGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER**

2018

PERSEMBAHAN

Dengan setulus hati skripsi ini saya persembahkan untuk :

- a. Bangsa dan Negara serta Almamater Universitas Jember.
- b. Kedua orang tua tercinta, Bapak Yudi Permana, S.Hut dan Ibu Dewi Puspita. Terima kasih yang tak terhingga atas segala doa, dukungan, usaha, jerih payah, cinta, kasih sayang, dan nasehat yang selalu diberikan. Bapak dan ibu selama ini selalu menjadi sumber semangat bagi saya. Semoga saya dapat menjadi anak yang selalu membanggakan dan membahagiakan keluarga. Amiin.
- c. Adik-adikku tercinta, Yuda Muhammad Azis dan Hapis Fadila dan seluruh keluarga. Terima kasih telah menjadi sumber semangat untuk segera mewujudkan cita-cita.
- d. Sahabat-sahabatku yang selalu memberikan dukungan dan bantuan serta motivasi.

MOTO

Sesungguhnya beserta kesulitan itu ada kemudahan. Sebab itu apabila engkau mempunyai waktu, bekerja keraslah dan kepada Tuhanmu tunjukkanlah pengharapan. (terjemahan Q.S. Al-Insyirah : 6-8)

Belajarlah mengucap syukur dari hal-hal baik dihidupmu dan belajarlah menjadi pribadi yang kuat dengan hal-hal buruk di hidupmu.

(Prof. Dr. Bacharuddin Jusuf Habibie)

Visi adalah awal dari keberhasilan.

(Anonim)

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Silvitalia Putri

NIM : 141610101083

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi saya yang berjudul “Daya Hambat Ekstrak Daun Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*” adalah benar-benar hasil karya saya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggungjawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi. Dengan demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 13 Maret 2018

Yang menyatakan,

Silvitalia Putri

NIM 141610101083

SKRIPSI

**DAYA HAMBAT EKSTRAK DAUN KOPI ROBUSTA (*Coffea canephora*)
TERHADAP PERTUMBUHAN *Streptococcus mutans***

Oleh

Silvitalia Putri

NIM 141610101083

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : drg. Hengky Bowo Ardhianto, MDSc

Dosen Pembimbing Pendamping : drg. Amandia Dewi Permana Shita, M.Biomed

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Daya Hambat Ekstrak Daun Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada :

hari, tanggal : Selasa, 13 Maret 2018

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Penguji Ketua,

Penguji Anggota,

drg. Achmad Gunadi, M.S., Ph.D.

NIP195606121983031002

drg. Tantin Ermawati, M.Kes

NIP198003222008122000

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

drg. Hengky Bowo A, MDSc

NIP 197905052005011005

drg. Amandia Dewi Permana Shita, M.Biomed

NIP 198006032006042002

Mengesahkan ,

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi

Universitas Jember,

drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes, Sp.Prof

NIP 196901121996011001

RINGKASAN

Daya Hambat Ekstrak Daun Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*; Silvitania Putri, 141610101083, 2018; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Karies ditandai dengan pembentukan plak yang diawali oleh deposisi pelikel pada permukaan gigi, kemudian terjadi kolonisasi bakteri pada pelikel, terutama *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) dalam kurun waktu 24 jam. Pertumbuhan *S. mutans* ini perlu dicegah supaya proses karies tidak berlanjut. Beberapa bahan kimia biasanya dipakai oleh masyarakat untuk mencegah karies. Namun mengingat adanya efek samping yang dapat ditimbulkan, peneliti ingin mencari bahan herbal alternatif dengan menggunakan ekstrak daun kopi robusta (*Coffea canephora*) karena mengandung senyawa antibakteri dan antioksidan tinggi antara lain alkaloid, flavonoid, saponin dan polifenol seperti asam klorogenat. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui daya hambat ekstrak daun kopi robusta (*Coffea canephora*) terhadap pertumbuhan *S. mutans*.

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *the post-test only control group design* yang dilakukan di Laboratorium *Bioscience*, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember dan dilaksanakan pada bulan Oktober - Desember 2018. Bakteri ditumbuhkan pada media dalam *petridish*, kemudian pada permukaan media diletakkan kertas cakram yang telah diberi perlakuan atau ditetesi dengan povidon iodine sebagai kontrol positif, akuades steril sebagai kontrol negatif, ekstrak daun kopi robusta konsentrasi 25% (P1), 50% (P2), 75% (P3) dan 100% (P4). Pengamatan dilakukan dengan mengukur zona hambat disekitar kertas cakram menggunakan jangka sorong yang dilakukan oleh tiga orang dan kemudian diambil rata-ratanya.

Hasil uji ekstrak daun kopi robusta terhadap pertumbuhan *S. mutans* menunjukkan bahwa ekstrak daun kopi robusta konsentrasi 25% memiliki

diameter zona hambat sebesar 5,77 mm dengan nilai efektifitas adalah 1. Konsentrasi 50%, 75% dan 100% tidak memiliki zona hambat di sekitar kertas cakram dengan nilai efektifitas adalah 0. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$), yaitu antara K+ dengan K- dan K+ dengan seluruh kelompok perlakuan. Sedangkan antara kelompok K- dengan seluruh kelompok perlakuan dan antar kelompok perlakuan menunjukkan tidak adanya perbedaan yang bermakna yang ditandai dengan nilai $p > 0,05$. Hasil ini menunjukkan bahwa kelompok K+ memiliki daya hambat yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok perlakuan sehingga dapat ditarik kesimpulan bahwa ekstrak daun kopi robusta (*Coffea canephora*) konsentrasi 25% dapat menghambat pertumbuhan *S. mutans*, namun berdasarkan kekuatan sifat antibakteri nya termasuk dalam kategori lemah.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Daya Hambat Ekstrak Daun Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada :

- a. Allah S.W.T yang telah memberikan petunjuk dan pertolongan
- b. drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes., Sp.Pros. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
- c. Dr. drg. I. D. A. Susilawati, M.Kes. selaku Pembantu Dekan I Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
- d. Dr. drg. Sri Hernawati, M.Kes. selaku Pembantu Dekan II Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
- e. drg. Izzata Barid, M.Kes. selaku Pembantu Dekan III Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
- f. drg. Hengky Bowo Ardhiyanto, MDSc selaku dosen pembimbing utama dan drg. Amandia Dewi Permana Shita, M.Biomed selaku dosen pembimbing pendamping dan selaku dosen pembimbing akademik yang telah memberikan banyak sekali bantuan, masukan dan arahan dalam penyusunan skripsi ini
- g. Bapak Yudi Permana, S. Hut, Ibu Dewi Puspita, dan adik-adik saya tercinta Yuda Muhammad Azis dan Hapis Fadila yang selalu mendoakan, memotivasi, mendidik dan memberi kasih sayang yang tidak terhingga sampai saat ini
- h. Seluruh keluarga besar saya yang selalu mendoakan dan memberikan motivasi
- i. Muhammad Akbar Prakoso yang selalu memberikan bantuan dan dukungan

- j. Para sahabat saya yaitu Meirsa Sawitri Hayyusari, Erfika Arifanti, Umil Syifa Kuluba dan Lady Ayu Budiartie yang selalu memberikan bantuan dan dukungan
- k. Teman saya Kholisa yang membantu saya dalam penelitian
- l. Teman-teman seperjuangan saya FKG UJ 2014 yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu,
- m. Semua pihak yang telah membantu dalam penulisan karya serta laporan skripsi ini.

Semoga skripsi ini dapat memberi manfaat dalam mengembangkan ilmu pengetahuan khususnya untuk disiplin ilmu kedokteran gigi. Kritik dan saran diharapkan oleh penulis untuk lebih menyempurnakan skripsi ini dan diharapkan dapat dikembangkan untuk penelitian-penelitian selanjutnya.

Jember, 13 Maret 2018

Penulis

DAFTAR ISI

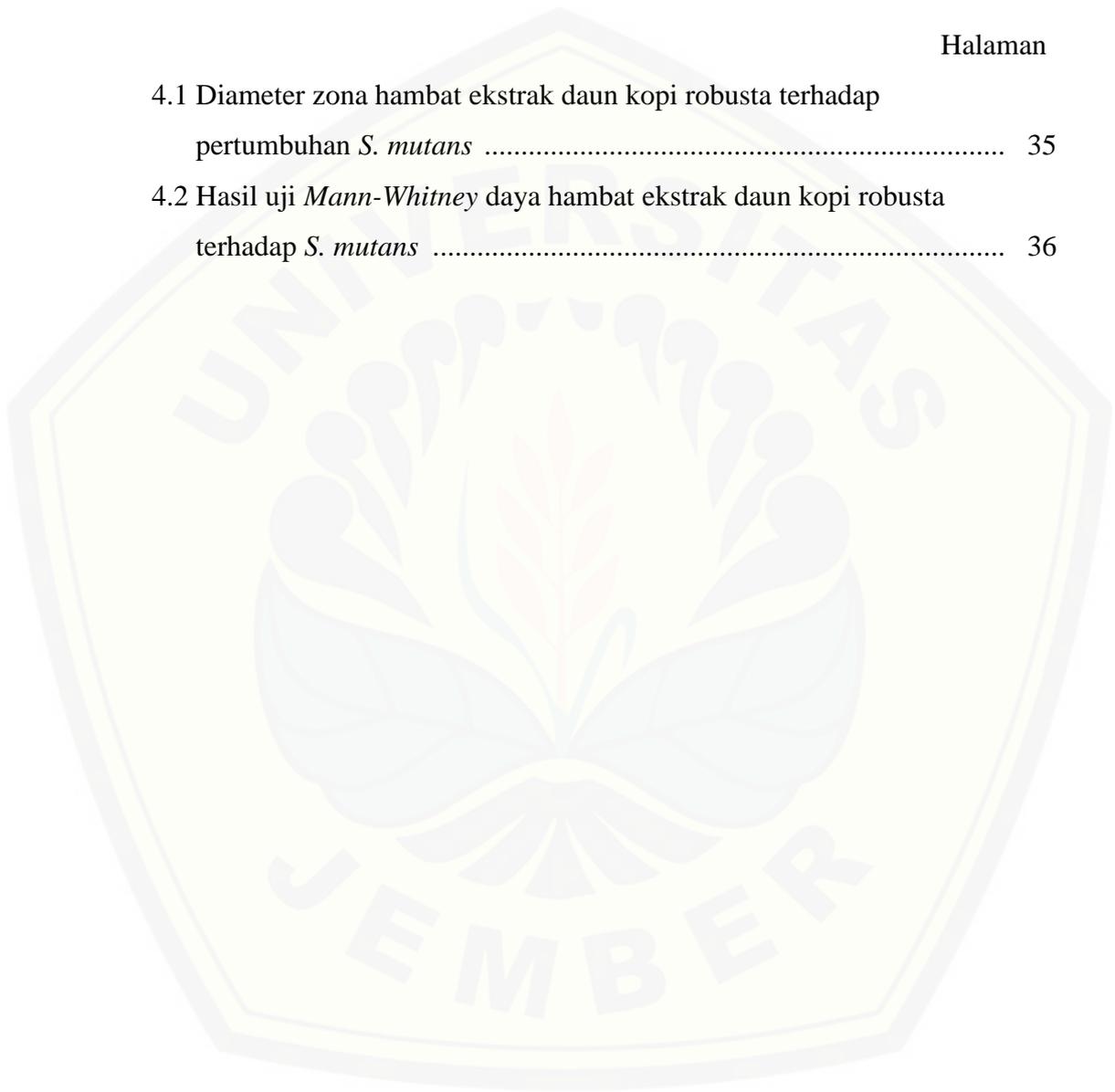
	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PERSEMBAHAN.....	ii
MOTO	iii
PERNYATAAN.....	iv
PEMBIMBINGAN	v
PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	viii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1. Karies.....	4
2.1.1 Definisi.....	4
2.1.2 Etiologi.....	4
2.2 <i>Streptococcus mutans</i>	7
2.2.1 Klasifikasi.....	8
2.3 Antibakteri	8
2.4 Kopi Robusta	10
2.4.1 Taksonomi	10
2.4.2 Tempat Tumbuh.....	11

2.4.3 Daun Kopi Robusta.....	11
2.4.4 Kandungan Daun Kopi Robusta	13
2.4.5 Manfaat Daun Kopi Robusta	15
2.5 Povidon Iodin	15
2.5.1 Pengertian	15
2.5.2 Mekanisme Kerja.....	16
2.5.3 Manfaat	16
2.5.4 Efek Samping.....	17
2.6 Kerangka Konsep	18
2.6.1 Penjelasan kerangka konsep	19
2.7 Hipotesis	19
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	21
3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	21
3.1.1 Jenis Penelitian	21
3.1.2 Rancangan Penelitian.....	21
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	21
3.2.1 Tempat Penelitian	21
3.2.2 Waktu Penelitian.....	21
3.3 Identifikasi Penelitian	21
3.4 Definisi Operasional	22
3.5.1 Kelompok Penelitian.....	23
3.5.2 Penghitungan sampel	23
3.6 Alat dan Bahan Penelitian	24
3.6.1 Alat.....	24
3.6.2 Bahan Penelitian	25
3.7 Prosedur Penelitian	25
3.7.1 Tahap Persiapan.....	25
3.7.2 Prosedur Pembuatan Ekstraksi Daun Kopi Robusta (<i>Coffea canephora</i>)	26
3.7.3 Pengenceran Ekstrak Daun Kopi Robusta (<i>Coffea canephora</i>).....	27
3.7.4 Mempersiapkan Media Pertumbuhan Bakteri <i>S. mutans</i>	27

3.7.5 Membuat Suspensi <i>S. mutans</i>	28
3.7.6 Pemberian Kertas Label Pada Bagian Bawah <i>Petridish</i>	28
3.7.7 Inokulasi Suspensi <i>S. mutans</i> Pada Media MHA dan Uji Antibakteri	29
3.7.8 Inkubasi.....	30
3.7.9 Tahap Pengukuran Zona Hambat	30
3.8 Uji Efektivitas	31
3.9 Analisis Data	31
3.10 Alur Penelitian.....	33
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	34
4.1 Hasil	34
4.2 Analisis data.....	35
4.3 Pembahasan	36
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	39
5.1 Kesimpulan	39
5.2 Saran.....	39
DAFTAR PUSTAKA	40
LAMPIRAN.....	45

DAFTAR TABEL

	Halaman
4.1 Diameter zona hambat ekstrak daun kopi robusta terhadap pertumbuhan <i>S. mutans</i>	35
4.2 Hasil uji <i>Mann-Whitney</i> daya hambat ekstrak daun kopi robusta terhadap <i>S. mutans</i>	36



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Morfologi <i>S. mutans</i>	7
2.2 Pohon dan daun kopi robusta	12
2.3 Kerangka konsep	18
3.1 Skema pembagian daerah pada bagian bawah <i>petridish</i>	29
3.2 Contoh cara pengukuran zona hambat terhadap pertumbuhan <i>S. mutans</i>	30
3.3 Alur penelitian	33
4.1 Zona hambat yang terlihat di sekeliling kertas cakram pada <i>plate</i> yang telah ditanam suspensi <i>S. mutans</i>	34

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Surat Ijin Penelitian	45
B. Surat Identifikasi Tanaman	46
C. Surat Identifikasi Bakteri	47
D. Foto Hasil Penelitian	48
E. Data Hasil Penelitian	49
F. Analisis Hasil Penelitian	49
G. Indeks Nilai Efektivitas	51
H. Alat dan Bahan Penelitian	52
I. Dokumentasi Saat Penelitian	56
J. Pengenceran Ekstrak Daun Kopi Robusta	58

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kesehatan gigi dan mulut merupakan hal yang sangat penting dan dibutuhkan dalam kehidupan sehari-hari. Karies gigi merupakan masalah kesehatan gigi dan mulut yang masih perlu mendapat perhatian besar. Karies banyak terdapat pada masyarakat karena kurangnya kebersihan gigi dan mulut. Hasil Survey Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) yang dilaporkan oleh Kementerian Kesehatan Nasional pada tahun 2011 menunjukkan dari 10 kelompok penyakit terbanyak yang dikeluhkan masyarakat, penyakit gigi dan mulut menduduki urutan pertama dengan prevalensi 60% penduduk (Kemenkes RI, 2011).

Karies ditandai dengan pembentukan plak. Proses pembentukan plak diawali oleh deposisi pelikel pada permukaan gigi, kemudian terjadi kolonisasi bakteri pada pelikel, terutama *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) dan *Streptococcus sanguis* (*S. sanguis*) dalam kurun waktu 24 jam. Bakteri dapat melekat ke permukaan gigi diperantarai oleh reseptor berupa lapisan tipis protein saliva dan glikoprotein yang menutupi permukaan gigi yang sering dikenal dengan pelikel ini. Akibat adanya karbohidrat, terutama sukrosa, kolonisasi bakteri ini membentuk polisakarida intraseluler dan ekstraseluler yang berperan dalam perlekatan, pembentukan dan resistensi plak. Aktivitas plak inilah yang dianggap berperan besar dalam proses awal terjadinya karies. Terdapat empat faktor utama yang berperan dalam proses terjadinya karies, yaitu *host*, mikroorganisme, substrat dan waktu (Soesilo dkk., 2005). Faktor-faktor tersebut bekerja bersama dan saling mendukung satu sama lain. Salah satu mikroorganisme penyebab karies adalah *S. mutans* yang berperan dalam proses terjadinya karies awal. Pertumbuhan *S. mutans* ini perlu dicegah supaya proses karies tidak berlanjut.

Beberapa bahan kimia biasanya dipakai oleh masyarakat untuk mencegah karies atau gigi berlubang. Namun mengingat banyaknya efek samping yang dapat ditimbulkan seperti iritasi mukosa dan reaksi hipersensitif, hingga perubahan keseimbangan flora normal rongga mulut, sehingga perlu bahan alternatif dari bahan herbal yang memiliki efek samping minimal. Salah satu tanaman herbal yang mulai banyak diteliti adalah kopi.

Kopi robusta (*Coffea canephora*) merupakan salah satu jenis tanaman kopi yang banyak dijumpai di perkebunan daerah Jember. Pada daun kopi robusta ditemukan kandungan senyawa yang mempunyai aktivitas antibakteri yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan kopi jenis arabika. Selama ini masyarakat juga meyakini bahwa daun kopi robusta memiliki banyak sekali manfaat, seperti dapat meningkatkan stamina, menurunkan tekanan darah tinggi dan dapat menghangatkan tubuh. Hasil penelitian yang dikemukakan oleh Rubiyo (2013), menunjukkan bahwa daun kopi mengandung antioksidan tinggi dan senyawa antibakteri seperti alkaloid, flavonoid dan saponin serta polifenol seperti asam klorogenat. Selain itu, pada daun kopi juga terdapat bahan kimia alami yang disebut mangiferin yang berkhasiat untuk mengatasi peradangan.

Hasil penelitian dari Riza Z. (2016) menyatakan bahwa daun kopi robusta memiliki efek antijamur terhadap *Candida albicans* dari rongga mulut. Berdasarkan uraian di atas, penulis ingin melakukan penelitian lebih lanjut untuk membuktikan apakah daun kopi robusta juga memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *S. mutans*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka rumusan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

- a. Apakah ekstrak daun kopi robusta (*Coffea canephora*) mempunyai daya hambat terhadap pertumbuhan *S. mutans*?
- b. Berapakah konsentrasi efektif ekstrak daun kopi robusta (*Coffea canephora*) dalam menghambat pertumbuhan *S. mutans*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut :

- a. Untuk mengetahui daya hambat ekstrak daun kopi robusta (*Coffea canephora*) terhadap pertumbuhan *S. mutans*.
- b. Untuk mengetahui konsentrasi paling efektif ekstrak daun kopi robusta (*Coffea canephora*) yang dapat menghambat pertumbuhan *S. mutans*.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

- a. Memberikan informasi ilmiah tentang daya hambat ekstrak daun kopi robusta (*Coffea canephora*) terhadap pertumbuhan *S. mutans*.
- b. Memberikan informasi ilmiah tentang konsentrasi paling efektif ekstrak daun kopi robusta (*Coffea canephora*) yang dapat menghambat pertumbuhan *S. mutans*.
- c. Memberikan informasi ilmiah yang bermanfaat untuk penelitian-penelitian selanjutnya tentang potensi ekstrak daun kopi robusta lainnya.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Karies

2.1.1 Definisi

Karies merupakan salah satu masalah kesehatan gigi dan mulut yang masih memerlukan perhatian besar, karena masih sangat banyak masyarakat Indonesia yang mengalami masalah ini. Selama ini, masyarakat mengenal karies dengan istilah gigi berlubang. Sedangkan menurut Soesilo dkk. (2005), karies merupakan suatu penyakit jaringan keras gigi yaitu email, dentin dan sementum yang disebabkan oleh aktivitas suatu jasad renik dalam suatu karbohidrat yang dapat diragikan. Karies merupakan suatu kerusakan gigi yang dimulai dari permukaan dan berkembang ke arah dalam. Pertama, permukaan email gigi yang seluruhnya non seluler, mengalami demineralisasi. Ini merupakan akibat dari produk fermentasi bakteri yang bersifat asam. Kemudian terjadi dekomposisi dentin dan sementum yang melibatkan digesti matriks protein oleh bakteri (Jawetz dkk., 2005).

2.1.2 Etiologi

Terdapat beberapa faktor utama yang berperan dalam proses terjadinya karies. Faktor-faktor ini sering sekali kita temukan dalam kehidupan sehari-hari. Faktor-faktor tersebut meliputi *host*, mikroorganisme, substrat dan waktu. Faktor-faktor tersebut bekerja bersama dan saling mendukung satu sama lain. Proses pembentukan plak diawali oleh deposisi pelikel pada permukaan gigi, kemudian terjadi kolonisasi bakteri pada pelikel, terutama *S. mutans* dan *S. sanguis* dalam kurun waktu 24 jam. Bakteri dapat melekat ke permukaan gigi diperantarai oleh reseptor berupa lapisan tipis protein saliva dan glikoprotein yang menutupi permukaan gigi yang sering dikenal dengan pelikel ini. Akibat adanya karbohidrat, terutama sukrosa, kolonisasi bakteri ini membentuk

polisakarida intraseluler dan ekstraseluler yang berperan dalam perlekatan, pembentukan dan resistensi plak. Aktivitas plak inilah yang dianggap berperan besar dalam proses awal terjadinya karies (Soesilo dkk., 2005).

Plak terdiri atas endapan-endapan gelatin dari glukosa yang mempunyai berat molekul tinggi tempat bakteri penghasil asam melekat pada email. Polimer-polimer karbohidrat (glukosa) terutama dihasilkan oleh *S. mutans* (Jawetz dkk., 2005). Bakteri spesifik inilah yang mengubah glukosa dan karbohidrat pada makanan menjadi asam melalui proses fermentasi. Karena asam dari hasil fermentasi karbohidrat ini, pH plak akan menurun dalam waktu 1-3 menit sampai pH 4,5-5. Kemudian pH akan kembali normal pada pH sekitar 7 dalam waktu 30-60 menit. Jika penurunan pH plak ini terjadi secara terus menerus maka akan menyebabkan demineralisasi pada permukaan gigi. Kondisi asam seperti ini sangat disukai oleh *S. mutans* dan *Lactobacillus sp.*, yang merupakan mikroorganisme penyebab utama dalam proses terjadinya karies. Soesilo dkk. (2005) mengatakan bahwa penurunan pH plak yang berulang-ulang dalam waktu tertentu akan mengakibatkan demineralisasi permukaan gigi yang rentan dan proses karies pun dimulai.

Makanan yang kita konsumsi sehari-hari, sedikit banyak pasti mengandung gula dengan kadar tertentu. Seperti yang dikatakan oleh Ari (2008), setelah mengkonsumsi makanan yang mengandung gula, terutama adalah sukrosa, dan bahkan setelah beberapa menit penyikatan gigi dilakukan, glikoprotein yang lengket (kombinasi molekul protein dan karbohidrat) bertahan pada gigi untuk mulai pembentukan plak pada gigi. Pada waktu yang bersamaan berjuta-juta bakteri yang dikenal sebagai *S. mutans* juga bertahan pada glikoprotein itu. Walaupun banyak bakteri lain yang juga melekat, *S. mutans* adalah bakteri yang menginvasi dan dapat menyebabkan rongga atau lubang pada gigi pada karies awal.

Pada langkah selanjutnya, bakteri menggunakan fruktosa dalam suatu metabolisme glikolisis untuk memperoleh energi. Hasil akhir dari glikolisis dibawah kondisi anaerob adalah asam laktat. Asam laktat ini

menciptakan kadar keasaman yang ekstra untuk menurunkan pH sampai batas tertentu sehingga dapat menghancurkan zat kapur fosfat di dalam email gigi mendorong kearah pembentukan suatu rongga atau lubang. *S. mutans* ini yang mempunyai suatu enzim yang disebut glukosil transferase di atas permukaannya yang dapat menyebabkan polimerisasi glukosa pada sukrosa dengan pelepasan dari fruktosa, sehingga dapat mensintesa molekul glukosa yang memiliki berat molekul yang tinggi yang terdiri dari ikatan glukosa alfa (1-6) alfa (1-3). Pembentukan alfa (1-3) ini bersifat sangat lengket, sehingga tidak larut dalam air. Hal ini dimanfaatkan oleh bakteri *S. mutans* untuk berkembang dan membentuk plak gigi. Enzim yang sama melanjutkan untuk menambahkan banyak molekul glukosa ke satu sama lain untuk membentuk dekstran yang memiliki struktur sangat mirip dengan amilase dalam tajin. Dekstran bersama dengan bakteri melekat dengan erat pada enamel gigi dan menuju ke pembentukan plak pada gigi. Hal ini merupakan tahap dari pembentukan rongga atau lubang pada gigi yang disebut dengan karies gigi (Kawai dan Urano, 2001; Samaranayake, 2002; Ari, 2008).

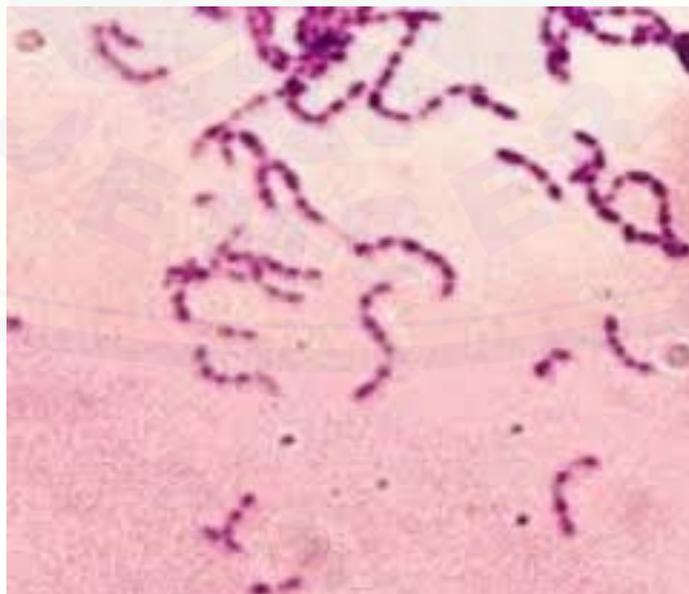
Streptococcus mutans melekat pada permukaan gigi dengan perantara glukan, dimana produksi glukan yang tidak dapat larut dalam air merupakan faktor virulensi yang penting, glukan merupakan suatu polimer dari glukosa sebagai hasil reaksi katalis glukosil transferase. Glukosa yang dipecah dari sukrosa dengan adanya glukosil transferase dapat berubah menjadi glukan. *S. mutans* menghasilkan dua enzim, yaitu glukosil transferase dan fruktosil transferase. Enzim-enzim ini bersifat spesifik untuk substrat sukrosa yang digunakan untuk sintesa glukan dan fruktan atau levan (Jawetz dkk., 1996; Kawai dan Urano, 2001; Regina, 2007).

Menurut Regina (2007), koloni *S. mutans* yang ditutupi oleh glukan dapat menurunkan proteksi dan daya antibakteri saliva terhadap plak gigi. Plak dapat menghambat difusi asam keluar dalam saliva sehingga konsentrasi asam pada permukaan enamel meningkat. Asam akan melepaskan ion hidrogen yang bereaksi dengan kristal apatit dan

merusak enamel, berpenetrasi lebih dalam ke dalam gigi sehingga kristal apatit menjadi tidak stabil dan larut (Carvalho dan Cury, 1999; Regina, 2007). Selanjutnya Regina (2007) juga mengatakan bahwa infiltrasi bakteri asidurik dan asidogenik pada dentin menyebabkan dekalsifikasi dentin yang dapat merusak gigi. Hal ini menyebabkan produksi asam meningkat, reaksi pada kavitas oral juga menjadi asam dan kondisi ini akan menyebabkan proses demineralisasi gigi terus berlanjut. Perlekatan bakteri karena adanya reseptor dekstran pada permukaan dinding sel, sehingga mempermudah interaksi intersel selama formasi plak. Dekstran berhubungan dengan kariogenik alami bakteri.

2.2 *Streptococcus mutans*

Streptococcus mutans merupakan bakteri Gram positif (+), bersifat non motil (tidak bergerak), berdiameter 1-2 μm , bakteri anaerob fakultatif. Memiliki bentuk bulat atau bulat telur, tersusun seperti rantai dan tidak membentuk spora seperti ditunjukkan dengan Gambar 2.1 (Samaranayake, 2002; Regina, 2007). Ari (2008) mengatakan bahwa *S. mutans* biasanya ditemukan pada rongga gigi manusia yang luka dan menjadi bakteri yang paling kondusif menyebabkan karies pada email gigi.



Gambar 2.1 Morfologi *Streptococcus mutans* (Todar, 2008)

2.2.1 Klasifikasi

Streptococcus mutans pertama kali ditemukan pada tahun 1942 oleh Clarke. *S. mutans* dapat dibedakan dari *Streptococcus* lainnya melalui kemampuan melakukan fermentasi manitol, sorbitol, membentuk koloni dan kemampuan mensintesis dekstran dan levan. Klasifikasi *S. mutans* menurut Bergey dalam Capuccino dan Sherman (2005) adalah :

<i>Kingdom</i>	: Monera
<i>Divisio</i>	: Firmicutes
<i>Class</i>	: Bacilli
<i>Order</i>	: Lactobacilalles
<i>Family</i>	: Streptococcaceae
<i>Genus</i>	: Streptococcus
<i>Species</i>	: <i>Streptococcus mutans</i>

2.3 Antibakteri

Antibakteri merupakan suatu zat yang sifatnya mampu menghambat pertumbuhan serta perkembangan suatu mikroorganisme. Zat tersebut harus mampu menghambat bahkan membunuh mikroorganisme tersebut bila diharuskan, namun tidak membahayakan bagi manusia. Priyanto (2010) menyatakan bahwa suatu zat untuk dapat digunakan sebagai antibakteri harus mampu menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri patogen atau juga mempunyai sifat toksisitas selektif tetapi tanpa membahayakan manusia. Antibakteri dalam kadar terendah yang mampu menghambat pertumbuhan suatu bakteri merupakan Kadar Hambat Minimum (KHM). Sedangkan kadar terendah dari antibakteri yang mampu membunuh suatu bakteri setelah masa inkubasi 24 jam, ditetapkan sebagai Kadar Bunuh Minimum (KBM) (Radji, 2016).

Menurut Madigan (2003), zat antibakteri berdasarkan efek toksisitasnya terhadap pertumbuhan bakteri dapat dibagi menjadi tiga kelompok, yaitu:

a. Bakteriostatik

Bakteriostatik adalah efek yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri, tetapi tidak menyebabkan kematian seluruh bakteri. Mekanisme ini biasanya terjadi pada ribosom yang menyebabkan sintesis protein terhambat.

b. Bakterisidal

Suatu zat yang memiliki sifat bakterisidal dapat membunuh bakteri, tetapi tidak menyebabkan sel bakteri pecah atau lisis.

c. Bakteriolitik

Senyawa bakteriolitik adalah antibakteri yang dapat menyebabkan lisisnya sel mikrobial target sehingga jumlah sel total mikrobial menurun atau berkurang.

Berdasarkan mekanisme kerja dari antibakteri, dapat dibedakan menjadi lima kelompok, yaitu:

a. Antibakteri yang menghambat sintesis dinding sel mikroba

Dinding sel bakteri memiliki peranan yang sangat penting seperti melindungi sitoplasma, memelihara bentuk sel dan mencegah lisis karena tekanan osmosis. Pada bakteri Gram positif struktur dinding selnya relatif sederhana dengan lapisan peptidoglikan yang relatif tebal, sedangkan pada bakteri Gram negatif memiliki struktur dinding sel yang relatif lebih kompleks dengan lapisan peptidoglikan yang relatif tipis (Suwandi, 1992). Antibakteri menghambat sintesis peptidoglikan yang merupakan komponen utama pembentuk dinding atau membran bakteri. Jika dinding sel tersebut rusak maka akan terjadi lisisnya sel atau tidak dapat membelah.

b. Antibakteri yang mengganggu permeabilitas membran sel mikroba

Menurut Suwandi (1992), membran sel berfungsi sebagai pintu keluar masuknya substansi dari dan keluar sel melalui sifat permeabilitas selektifnya. Jika permeabilitasnya mengalami gangguan, ion dan makromolekul akan lolos dari sel dan akhirnya sel mengalami kerusakan atau kematian.

c. Antibakteri yang mengganggu metabolisme sel mikroba

Asam folat sangat dibutuhkan oleh bakteri untuk kelangsungan hidupnya. Bakteri patogen harus mensintesis sendiri asam folat dari asam *para amino benzoate* (PABA). Apabila bakteri ini tidak mampu bersaing dengan antibakteri untuk ikut serta pada pembentukan asam folat, mengakibatkan terbentuknya analog asam folat non fungsional yang kemudian menyebabkan kehidupan bakteri akan terganggu.

d. Antibakteri yang menghambat sintesis protein sel mikroba

Sintesis protein berlangsung di ribosom, dengan bantuan mRNA dan juga tRNA. Pada bakteri, ribosom terdiri dari dua sub unit yang berdasarkan konstanta sedimentasinya dinyatakan sebagai ribosom 30s dan 50s. Jika zat antibakteri berikatan dengan komponen ribosom 30s pada mRNA akan menyebabkan tRNA salah dalam membaca kode tersebut sehingga menyebabkan terbentuknya protein yang tidak normal dan non fungsional bagi sel bakteri tersebut.

e. Antibakteri yang menghambat atau merusak asam nukleat sel mikroba.

Menurut Suwandi (1992), asam nukleat adalah bagian yang sangat vital bagi perkembangbiakan sel. Mekanisme kerjanya adalah dengan berikatan dengan enzim polimerase-RNA sehingga dapat menghambat RNA dan DNA yang akan menyebabkan aktivitas seluler mengalami gangguan.

2.4 Kopi Robusta

2.4.1 Taksonomi

Kopi robusta merupakan salah satu jenis kopi yang banyak ditemukan di Indonesia. Taksonomi kopi Robusta menurut Laboratorium Tanaman Politeknik Negeri Jember adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae (Tumbuhan)

Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)

Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)

Subdivisio	: Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Kelas	: Magnoliopsida
Bangsa	: Rubiales
Suku	: Rubiaceae
Marga	: Coffea
Jenis	: <i>Coffea canephora</i>

2.4.2 Tempat Tumbuh

Tanaman kopi akan tumbuh dengan baik pada lingkungan yang sesuai. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia (2006), kopi robusta dapat tumbuh dengan baik pada ketinggian 300-500 m/dpl dengan curah hujan 2000-3000 mm/th serta penyinaran dibawah 80%. Kemiringan tanah yang dapat ditanami kopi kurang dari 45% dengan kedalaman tanah efektif lebih dari 100 cm.

2.4.3 Daun Kopi Robusta

Kopi robusta mempunyai daun berbentuk bulat telur dengan ujung agak meruncing seperti yang terlihat dalam Gambar 2.2. Daun tumbuh berhadapan dengan batang, cabang dan ranting-rantingnya. Najayati dan Danarti (2012) berpendapat bahwa permukaan atas daun mengkilat, tepi rata, pangkal tumpul, panjang 5-15 cm, lebar 4,0-6,5 cm, pertulangan menyirip, tangkai panjang 0,5-1,0 cm dan berwarna hijau. Menurut Mutua (2000) pada umumnya daun kopi robusta lebih besar dari daun kopi arabika.



Gambar 2.2 Pohon dan daun kopi robusta (Hulupi & Martini, 2013)

Daun, buah dan akar mengandung saponin, flavonoida, dan polifenol, disamping itu buahnya juga mengandung alkaloid. Kopi mengandung banyak komponen kimia yang dapat dibagi menjadi beberapa kelompok, yaitu komponen alifatik, komponen alisiklik, komponen aromatik, komponen heterosiklik, protein, asam amino, dan asam nukleat, karbohidrat, lemak, alkaloid, vitamin, dan komponen anorganik. Daun kopi robusta tumbuh pada batang, cabang dan ranting-ranting tersusun berdampingan. Pada batang atau cabang-cabang yang tumbuhnya tegak lurus, susunan pasangan daun itu berselang-seling pada ruas-ruas berikutnya. Sedang daun yang tumbuh pada ranting-ranting dan cabang-cabang mendatar, pasangan daun itu terletak pada bidang yang sama, tidak berselang-seling (Najayati dan Danarti, 2012).

2.4.4 Kandungan Daun Kopi Robusta

a. Flavonoid

Menurut Bakht dkk. (2012) flavonoid merupakan golongan terbesar dari fenol yang mampu mendenaturasi dan berfungsi sebagai antibakteri dan antijamur. Flavonoid dalam daun kopi robusta berfungsi menghambat pembentukan spora patogen.

b. Alkaloid

Harborne dkk. (1999) menyatakan bahwa alkaloid merupakan zat tumbuhan sekunder yang terbesar. Alkaloid merupakan suatu senyawa yang bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen. Alkaloid adalah senyawa nitrogen organik, lazimnya bagian cincin heterosiklik, bersifat basa, sering bersifat optis aktif dan kebanyakan berbentuk kristal serta memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Rahayu dan Rahayu (2009) menambahkan bahwa alkaloid memiliki sifat basa ($\text{pH} > 7$) dan pahit. Kata alkaloid pertama kali diperkenalkan oleh W. Meisner pada awal abad 19 untuk senyawa bahan alam yang bereaksi seperti basa.

c. Saponin

Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar (Nuria dkk., 2009). Selain itu, menurut Cannell (1998) senyawa saponin dapat melakukan mekanisme penghambatan dengan cara membentuk senyawa kompleks dengan membran sel melalui ikatan hidrogen, sehingga dapat menghancurkan sifat permeabilitas dinding sel dan akhirnya dapat menimbulkan kematian sel.

d. Mangiferin

Mangiferin merupakan senyawa golongan xanton. Menurut Talamond dkk. (2008), mangiferin merupakan senyawa fenolik yang memiliki banyak aktivitas farmakologi dan menjadi salah satu fitokimia yang sangat penting. Mangiferin memiliki aktivitas anti inflamasi,

immunomodulator, anti tumor, antioksidan, anti diabetes, antialergi, anti hiperlipidemia, antibakteri dan anti karsinogenik. Penelitian yang dilakukan oleh Moraiz dkk. (2012) juga menunjukkan bahwa mangiferin memiliki aktivitas yang dapat menghambat waktu transit pada saluran gastrointestinal. Penelitian terbaru yang dilakukan oleh Mirza dan Chi (2013) juga menunjukkan bahwa mangiferin dapat mencegah terjadi penyakit kardiovaskuler.

e. Asam Klorogenat

Asam klorogenat dikenal sebagai salah satu polifenol yang berlimpah dalam makanan manusia (Lee dkk., 2008). Olthof dkk. (2001) mengatakan dari sudut pandang gizi, asam klorogenat merupakan senyawa dengan aktivitas antioksidan yang kuat. Pada penelitian yang dilakukan oleh Leonardis dkk. (2008) mengenai potensi asam klorogenat dan metabolitnya sebagai antioksidan, ditemukan bahwa asam klorogenat memiliki aktivitas antioksidan yang paling kuat dibandingkan dengan metabolitnya ketika ditambahkan pada minyak hati ikan kod.

Dalam beberapa tahun terakhir, sejumlah manfaat kesehatan yang berhubungan dengan konsumsi makanan dan minuman dengan kandungan asam klorogenat dalam jumlah tinggi telah dijelaskan dari penelitian epidemiologi. Dalam pengaturan dosis tertentu, asam klorogenat terbukti mengurangi risiko terhadap obesitas (Thom, 2007). Dalam beberapa penelitian yang dilakukan oleh Meng dkk. (2013) pada hewan, asam klorogenat juga menunjukkan aktivitas dalam metabolisme glukosa dan lipid sehingga menyebabkan terjadinya hipoglikemi, anti diabetes, peningkatan sekresi insulin serta mengurangi kerentanan terhadap oksidasi LDL.

Asam klorogenat juga mempunyai aktivitas sebagai antihipertensi karena metabolit dari asam klorogenat mengurangi terjadinya stress oksidatif yang berefek pada penurunan tekanan darah melalui peningkatan fungsi endotel dan peningkatan bioavailabilitas nitrit

oksida di pembuluh darah arteri (Zhao dkk., 2011). Laporan lain oleh Lee dkk. (2008) menunjukkan bahwa senyawa ini terbukti sebagai antikanker, analgesik, antipiretik, antiradang dan antijamur. Selain itu penelitian yang dilakukan oleh Harborne dkk. (1999), asam klorogenat mempunyai aktivitas sebagai antibakteri, antimutagenik, anti tumor dan antivirus.

2.4.5 Manfaat Daun Kopi Robusta

Beberapa peneliti di Eropa tertarik akan fenomena daun kopi robusta, karena menurut beberapa ahli daun kopi mengandung bahan kimia yang bermanfaat bagi kesehatan serta memiliki kadar kafein yang rendah tidak seperti meminum langsung dari seduhan biji kopi. Hasil penelitian dari ilmuwan Inggris dan Perancis melaporkan bahwa teh dari daun kopi mengandung senyawa antioksidan tinggi dan bersifat anti-inflamasi. Selain antioksidan, pada daun kopi terdapat bahan kimia alami yang disebut mangiferin yang berkhasiat untuk mengatasi peradangan. Dari 23 spesies tanaman kopi yang diteliti oleh ahli botani bernama Dr. Aron Davies ada tujuh spesies tanaman kopi yang memiliki kandungan zat mangiferin tinggi, dimana yang paling tinggi kandungan mangiferinnya terdapat pada daun kopi arabika. Zat mangiferin ini berefek antiinflamasi seperti perlindungan terhadap neuron otak serta dapat menurunkan resiko diabetes dan kolesterol atau untuk menurunkan hipertensi atau tekanan darah tinggi (Rubiyo, 2013).

2.5 Povidon Iodin

2.5.1 Pengertian

Povidon iodin ialah suatu iodovor dengan polivinil pirolidon berwarna coklat gelap dan timbul bau yang tidak menguntungkan (Ganiswara, 1995). Menurut Morison (2003) povidon iodin merupakan agen antimikroba yang efektif dalam desinfeksi dan pembersihan kulit baik pra maupun pasca operasi, dalam penatalaksanaan luka traumatik

yang kotor pada pasien rawat jalan, dan untuk mengurangi sepsis luka pada luka bakar.

2.5.2 Mekanisme Kerja

Penelitian yang dilakukan oleh Ganiswara (1995) menunjukkan bahwa povidon iodine bersifat bakteriostatik dengan kadar 640 µg/ml dan bersifat bakterisid pada kadar 960 µg/ml. *Mikobakteria tuberculosis* bersifat resisten terhadap bahan ini. Dalam 10% povidon iodine mengandung 1% iodine yang mampu membunuh bakteri dalam 1 menit dan membunuh spora dalam waktu 15 menit.

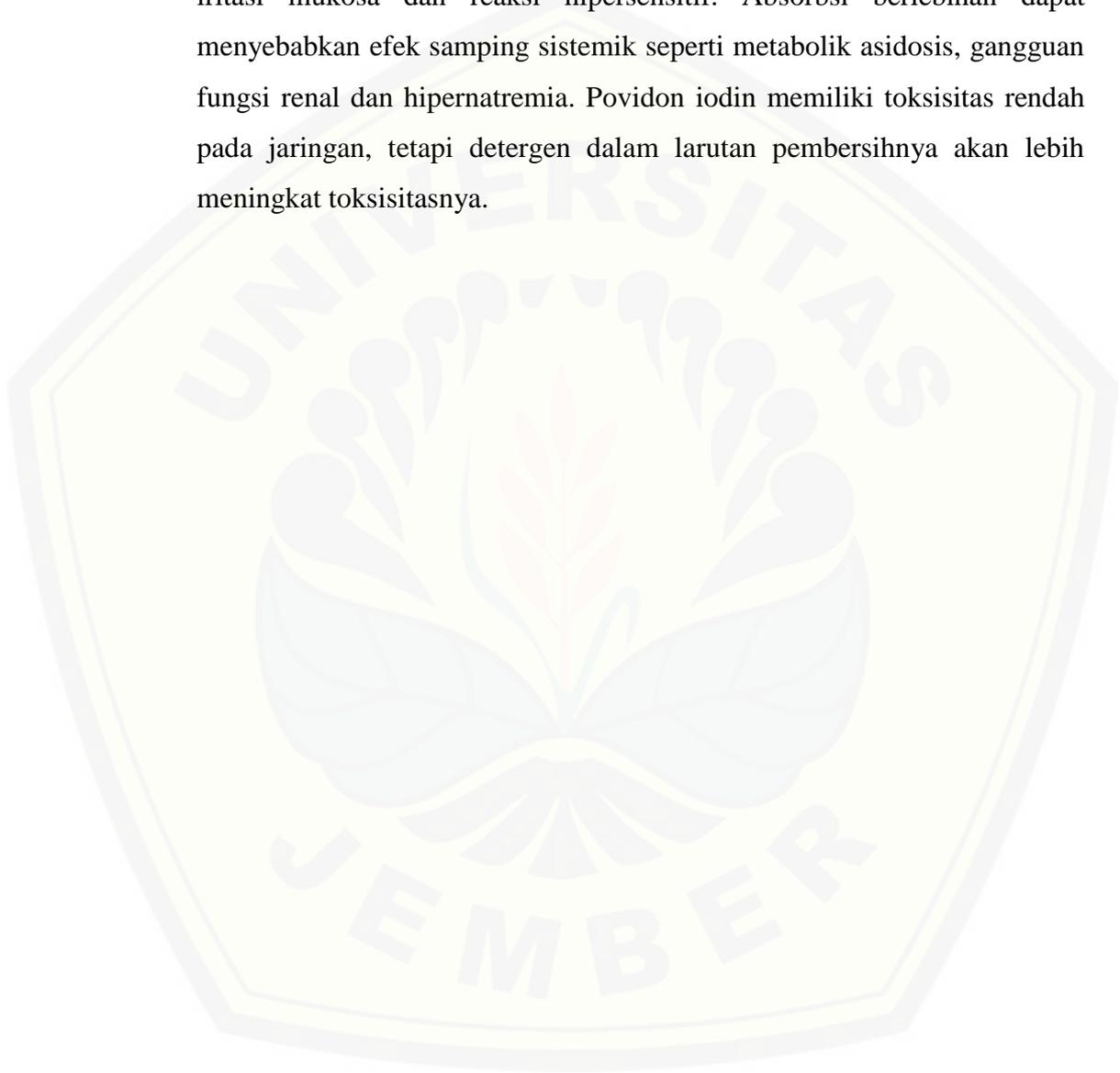
2.5.3 Manfaat

Povidon iodine mempunyai banyak manfaat terhadap kehidupan manusia. Seperti yang dikemukakan oleh Tjay dan Rahardja (2002) bahwa:

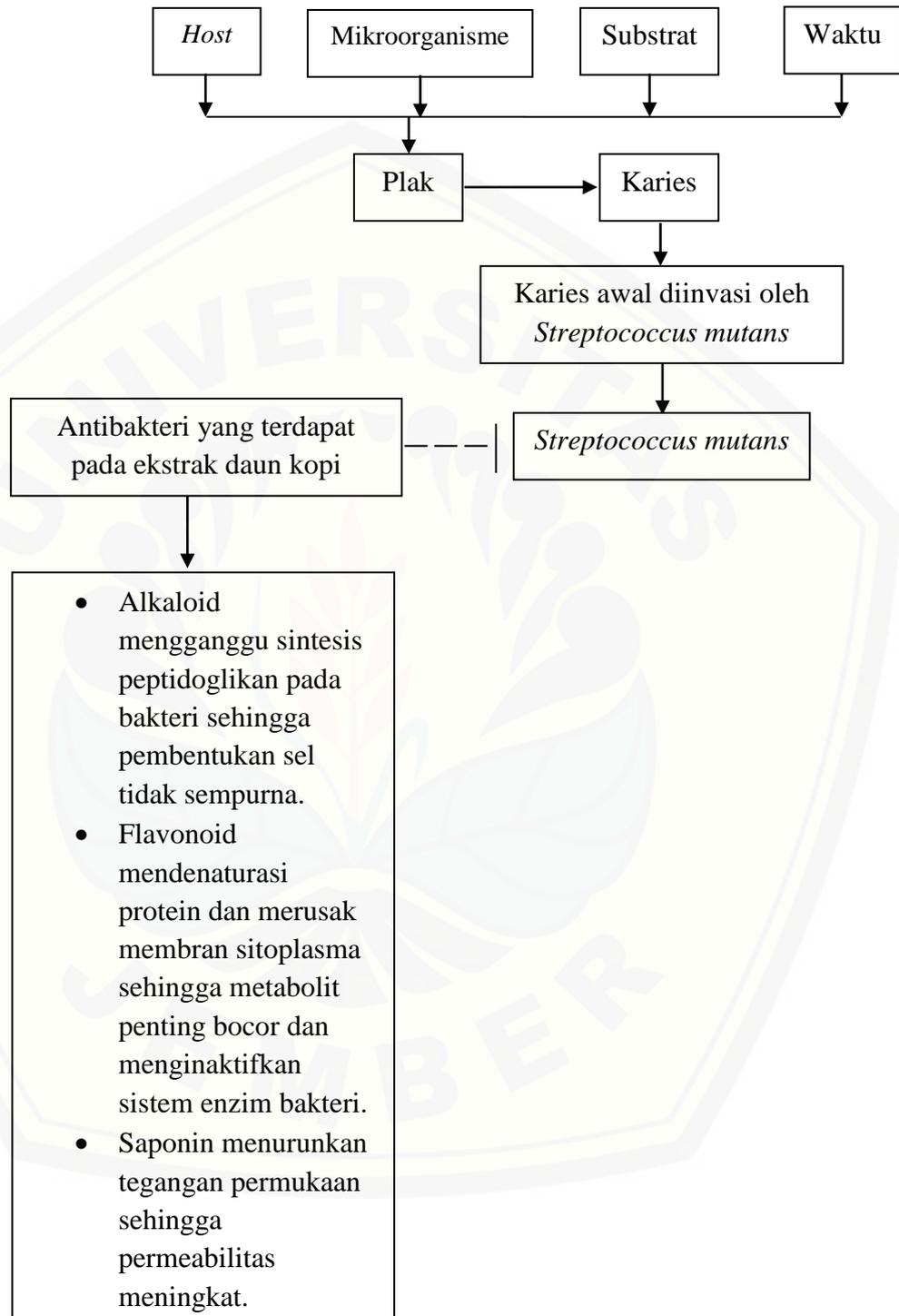
- a. Povidon iodine 10% merupakan larutan antiseptik yang digunakan antara lain:
 - 1) Untuk pengobatan pertama dan mencegah timbulnya infeksi pada luka-luka seperti: lecet, terkelupas, tergores, terpotong atau terkoyak.
 - 2) Untuk mencegah timbulnya infeksi pada luka khitan.
 - 3) Untuk melindungi luka-luka operasi terhadap kemungkinan timbulnya infeksi.
- b. Sebagai obat kumur dengan konsentrasi 1%.
- c. Sebagai pencuci tangan sebelum operasi 10%, dapat mengurangi populasi kuman hingga 85% dan kembali keposisi normal setelah 8 jam.
- d. Sebagai larutan pembersih 2%, salep 2% , sebagai *lotion* 0.75%.

2.5.4 Efek Samping

Senyawa iodin memiliki sifat yang sitotoksik sehingga mampu membunuh sel bakteri. Namun, penelitian yang dilakukan oleh Ganiswara (1995) obat kumur jenis ini juga memiliki banyak efek samping seperti iritasi mukosa dan reaksi hipersensitif. Absorpsi berlebihan dapat menyebabkan efek samping sistemik seperti metabolik asidosis, gangguan fungsi renal dan hipernatremia. Povidon iodin memiliki toksisitas rendah pada jaringan, tetapi detergen dalam larutan pembersihnya akan lebih meningkatkan toksisitasnya.



2.6 Kerangka Konsep



Ket : — — — — | Dihambat

Gambar 2.3 Kerangka konsep

2.6.1 Penjelasan kerangka konsep

Terdapat empat faktor utama yang berperan dalam proses terjadinya karies, yaitu *host*, mikroorganisme, substrat dan waktu. Faktor-faktor tersebut bekerja bersama dan saling mendukung satu sama lain. Bakteri plak akan memfermentasikan karbohidrat dan menghasilkan asam, sehingga menyebabkan pH plak akan turun dalam waktu 1-3 menit sampai pH 4,5 dan kemudian pH akan kembali normal pada pH sekitar 7 dalam waktu 30-60 menit. Jika penurunan pH plak ini terjadi secara terus menerus maka akan menyebabkan demineralisasi pada permukaan gigi. Kondisi asam seperti ini sangat disukai oleh *S. mutans*, yang merupakan mikroorganisme penyebab utama yang berperan dalam proses terjadinya karies awal. Pertama kali akan terlihat *white spot* pada permukaan enamel, kemudian proses ini berjalan secara perlahan sehingga lesi kecil tersebut berkembang (Soesilo dkk, 2005). Pertumbuhan *S. mutans* ini perlu dihambat supaya perkembangan karies tidak berlanjut. Salah satu bahan herbal yang berfungsi sebagai bahan antibakteri adalah daun kopi robusta.

Kandungan antibakteri pada daun kopi robusta tersebut adalah alkaloid, flavoid dan saponin. Mekanisme senyawa alkaloid sebagai antibakteri adalah dengan mengganggu sintesis peptidoglikan pada bakteri sehingga pembentukan sel tidak sempurna. Mekanisme senyawa flavonoid sebagai antibakteri adalah dengan mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sitoplasma sehingga metabolit penting bocor dan menginaktifkan sistem enzim bakteri. Sedangkan mekanisme senyawa saponin sebagai antibakteri adalah dengan menurunkan tegangan permukaan sehingga permeabilitas meningkat atau terjadi kebocoran sel sehingga senyawa intraseluler keluar.

2.7 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

- a. Ekstrak daun kopi robusta (*Coffea canephora*) mempunyai daya hambat terhadap pertumbuhan *S. mutans*.

- b. Konsentrasi ekstrak daun kopi robusta (*Coffea canephora*) paling efektif yang dapat menghambat pertumbuhan *S. mutans* adalah 100%.



BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

3.1.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental laboratoris yaitu penelitian yang dilakukan dengan mengadakan manipulasi terhadap objek penelitian dan disertai adanya kontrol (Nazir, 2005).

3.1.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *the post-test only control group design* untuk melakukan pengamatan dan pengukuran setelah perlakuan dan hasilnya dibandingkan dengan kontrol (Notoatmodjo, 2010).

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

- a. Identifikasi daun kopi robusta dilakukan di Laboratorium Tanaman Politeknik Negeri Jember, Jember, Provinsi Jawa Timur.
- b. Pembuatan ekstrak daun kopi robusta dan uji aktivitas antibakteri dilakukan di Laboratorium *Bioscience*, Rumah Sakit Gigi dan Mulut, Universitas Jember, Jember, Provinsi Jawa Timur.

3.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Oktober – Desember 2017.

3.3 Identifikasi Penelitian

a. Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak daun kopi robusta konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100%.

b. Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah daya hambat ekstrak daun kopi robusta terhadap pertumbuhan *S. mutans*.

c. Variabel Terkendali

Variabel terkendali pada penelitian ini adalah media pertumbuhan *S. mutans*, metode ekstraksi (maserasi menggunakan pelarut etanol 96%), kriteria daun kopi robusta, dan seluruh prosedur penelitian.

3.4 Definisi Operasional

- a. **Ekstrak daun kopi robusta** (*Coffea canephora*) adalah bentuk sediaan yang dibuat dari daun kopi robusta yang dikeringkan kemudian dihaluskan hingga berbentuk serbuk, lalu dimaserasi dengan etanol 96% selama 72 jam sehingga zat aktif dari daun kopi robusta akan larut pada etanol. Kemudian dievaporasi untuk mendapatkan ekstrak dengan sediaan semi kental. Daun kopi robusta berasal dari desa Rayap, Arjasa, Jember, Jawa Timur. Kriteria daun yang dibutuhkan adalah yang segar dan berwarna hijau serta berusia tua. Pemetikan dilakukan pada daun nomor 3, 4, 5 dari pucuk (Yoga *et al.*, 2008).
- b. ***Streptococcus mutans*** adalah bakteri Gram positif (+), bersifat non motil (tidak bergerak), berdiameter 1-2 μm , dan termasuk anaerob fakultatif. Memiliki bentuk bulat atau bulat telur, tersusun seperti rantai dan tidak membentuk spora. Pada media agar koloni bakteri tampak lembut, keruh dan terlihat cembung (Samaranayake, 2002; Regina, 2007). Biakan murni *S. mutans* didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi, MIPA, Universitas Jember.
- c. **Daya hambat ekstrak daun kopi robusta terhadap pertumbuhan *S. mutans*** adalah kemampuan yang dimiliki ekstrak daun kopi robusta dalam menghambat pertumbuhan *S. mutans*. Uji daya hambat dilakukan dengan metode difusi disk, dengan cara melihat dan mengukur daerah yang transparan di sekitar kertas cakram dengan menggunakan jangka sorong. Daerah yang jernih atau transparan di sekitar kertas cakram

adalah daerah yang tidak terdapat pertumbuhan bakteri (Hardman, 2001).

- d. **Uji efektifitas** adalah penentuan perlakuan terbaik yang ditentukan berdasarkan metode indeks efektivitas. Metode ini dilakukan berdasarkan variabel yang diurutkan menurut prioritas dan kontribusi terhadap hasil (De Garmo dkk., 1984). Adapun rumus yang digunakan untuk menghitung nilai efektifitas adalah sebagai berikut :

$$NE = \frac{Np - Npj}{Npb - Npj}$$

NE : nilai efektifitas
 Np : nilai perlakuan
 Npj : nilai perlakuan terjelek
 Npb : nilai perlakuan terbaik

3.5 Kelompok Penelitian dan Penghitungan Sampel

3.5.1 Kelompok Penelitian

Penelitian ini terdiri dari 6 kelompok penelitian yaitu kelompok kontrol negatif (akuades steril), kontrol positif (povidon iodine), perlakuan I (konsentrasi ekstrak daun kopi robusta 25%), perlakuan II (konsentrasi ekstrak daun kopi robusta 50%), perlakuan III (konsentrasi ekstrak daun kopi robusta 75%) dan perlakuan IV (konsentrasi ekstrak daun kopi robusta 100%).

3.5.2 Penghitungan sampel

Jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dengan menggunakan rumus Federer (Supriyanto, 2011):

$$(t - 1) \times (r - 1) \geq 15$$

t: banyaknya kelompok perlakuan

r: jumlah replikasi

Dalam penelitian ini diketahui jumlah perlakuan (t) = 6, maka dapat dilakukan perhitungan sampel sebagai berikut :

$$(t - 1) \times (r - 1) \geq 15$$

$$(6 - 1) \times (r - 1) \geq 15$$

$$(6 - 1) \times r \geq 15$$

$$5r - 5 \geq 15$$

$$5r \geq 20$$

$$r \geq 4$$

Dari hasil penghitungan di atas, diperoleh jumlah penghitungan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 4 untuk setiap kelompok perlakuan. Peneliti menggunakan batas minimal jumlah ulangan sampel yaitu 4 sampel untuk tiap-tiap perlakuan.

3.6 Alat dan Bahan Penelitian

3.6.1 Alat

- a. Blender (Miyako, Indonesia)
- b. *Water bath* (GFL, Germany)
- c. *Rotary evaporator* (IKA, USA)
- d. *Cotton bud* (Ideal, Indonesia)
- e. *Petridish* (STERIPLAN, Germany)
- f. *Ose* (Nikrom, Indonesia)
- g. *Eppendorf tube* (Fisherbrand, England)
- h. Bunsen (Pyrex, Japan)
- i. Tabung reaksi (Pyrex, Japan)
- j. Timbangan / neraca (BOECO, Germany)
- k. Tabung Erlenmeyer (Pyrex, Japan)
- l. *Filter syringe* (Fisherbrand, England)
- m. Spatula kaca
- n. *Syringe* (Terumo, Philippines)
- o. Jangka sorong (Medesy, Italy) dengan derajat ketelitian 0,5 mm
- p. *Hot plate magnetic stirrer* (Labtech, Canada)
- q. Densitometer (Biomerieux Plus, France)
- r. Mikropipet (Huma Pette Human, Germany)
- s. *Laminar flow* (tipe HF-100, Korea)

- t. *Mixing vortex* (Labinco, Germany)
- u. Inkubator (WTC Binder, Germany)
- v. *Autoclave* (Memmert, Germany)
- w. Desikator (Kartell, Italy)
- x. Oven (WTC Binder, Germany)
- y. *Blank disc* (Merck, Germany)
- z. Gigaskrin
- aa. Ayakan 50 mesh

3.6.2 Bahan Penelitian

- a. MHA (*Mueller-Hinton Agar*) 5,2 gram (Merck, Germany)
- b. BHI-B (Brain Heart Infusion Broth) 3,7 gram (Merck, Germany)
- c. Daun kopi robusta dari Desa Rayap Kecamatan Arjasa Kabupaten Jember.
- d. Akuades steril
- e. Obat kumur Betadine ® (Mahakam Beta Farma, Indonesia)
- f. Etanol 96% (One Med, Indonesia)
- g. Bakteri *Streptococcus mutans*
- h. Masker dan sarung tangan (One Med, Indonesia)

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Tahap Persiapan

- a. Identifikasi tanaman dan bakteri

Pada tahap awal penelitian, dilakukan identifikasi daun kopi robusta (*Coffea canephora*) yang akan diambil ekstraknya dan identifikasi *S. mutans*.

- b. Sterilisasi alat

Semua alat yang terbuat dari gelas atau kaca seperti gelas ukur, *petridish*, tabung reaksi dan lain-lain disterilkan menggunakan sterilisator panas kering atau oven dengan suhu 125°C selama 15 menit. Untuk alat yang terbuat dari plastik dicuci bersih dan dikeringkan

kemudian diulas menggunakan alkohol 70% (Cappuccino dan Sherman, 2005).

3.7.2 Prosedur Pembuatan Ekstraksi Daun Kopi Robusta (*Coffea canephora*)

Proses pembuatan ekstraksi dilakukan dengan tahapan sebagai berikut :

- a. Proses mengekstrak diawali dengan menyediakan daun kopi robusta (*Coffea canephora*) segar yang telah dicuci bersih dan dikeringkan dengan cara kering angin selama satu minggu pada suhu kamar sebanyak 1500 gram.
- b. Daun kopi robusta (*Coffea canephora*) yang sudah dikeringkan tersebut kemudian dihaluskan menggunakan blender lalu disaring dengan ayakan berukuran 50 mesh untuk mendapatkan serbuk.
- c. Serbuk daun kopi robusta (*Coffea canephora*) yang sudah disaring tersebut ditimbang sebanyak 800 gram kemudian dimasukkan ke dalam toples kaca. Selanjutnya serbuk kopi direndam dengan menggunakan etanol 96% sampai serbuk terendam, dengan syarat bahwa pelarut yang digunakan minimal 2 kali berat serbuk atau lebih. Setelah itu dilakukan pengadukan menggunakan spatula, ditutup rapat menggunakan tutup toples.
- d. Rendaman tersebut didiamkan selama 24 jam. Kemudian di *shaker* di atas *shaker* digital 50 rpm selama 90 menit.
- e. Memisahkan ampas dan filtrat rendaman dengan cara disaring menggunakan kertas saring, lalu ekstrak ditampung dalam erlenmeyer, untuk memperoleh ekstrak cair daun kopi robusta.
- f. Melakukan maserasi lagi sebanyak dua kali pada ampas dengan cara dimasukkan kembali dalam toples dan ditambahkan pelarut etanol 96%. Kemudian dibiarkan selama 24 jam dan di *shaker* selama 90 menit.

- g. Hasil ekstrak cair pertama sampai dengan terakhir, dijadikan satu dan diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* selama 3 jam 30 menit.
- h. Proses ekstraksi selesai dan diperoleh ekstrak semi kental daun kopi robusta (*Coffea canephora*) konsentrasi 100% sebanyak 300 ml.

3.7.3 Pengenceran Ekstrak Daun Kopi Robusta (*Coffea canephora*)

Untuk penelitian ini digunakan ekstrak daun kopi robusta (*Coffea canephora*) dengan konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100%. Pengenceran dilakukan dengan rumus sebagai berikut ini (Rohaya dkk., 2014):

$$V1 \cdot M1 = V2 \cdot M2$$

V1 = Volume awal ekstrak daun kopi robusta

M1 = Konsentrasi awal ekstrak daun kopi robusta

V2 = Volume akhir ekstrak daun kopi robusta

M2 = Konsentrasi Akhir ekstrak daun kopi robusta

Hasil ekstraksi daun kopi robusta (*Coffea canephora*) diencerkan dengan akuades steril untuk memperoleh konsentrasi ekstrak yang dikehendaki dalam perlakuan.

3.7.4 Mempersiapkan Media Pertumbuhan Bakteri *S. mutans*

- a. Pembuatan media MHA (*Meuller-Hinton Agar*).

Pembuatan media MHA dilakukan dengan mencampur 5,2 gram MHA dan 100 ml akuades steril dalam tabung erlenmeyer. Dipanaskan dalam air mendidih sampai homogen. Kemudian disterilkan dalam *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit (Himedia Laboratories, 2011). Media MHA yang steril akan tetap bersih atau tidak terdapat kekeruhan pada media.

- b. Pembuatan media BHI-B (*Brain Heart Infusion Broth*).

Cara pembuatan media BHI-B adalah dengan mencampur 3 gram bubuk BHI-B dan 100 ml akuades steril dalam tabung erlenmeyer. Dipanaskan dalam air mendidih sampai homogen kemudian disterilkan dalam *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit (Himedia

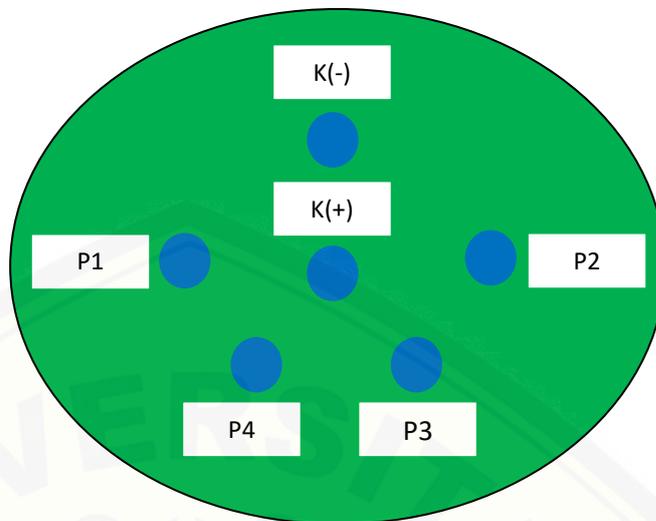
Laboratories, 2011). Dilanjutkan dengan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Media BHI-B yang steril akan tampak jernih dan tidak menjadi keruh setelah diinkubasi.

3.7.5 Membuat Suspensi *Streptococcus mutans*

Cara membuat suspensi *S. mutans* adalah dengan mencampur 2 ml larutan BHI-B steril dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 1 ose *S. mutans*. Perlakuan ini dilakukan dengan melewatkannya di atas lampu spiritus yang sedang menyala lalu dihomogenkan dengan *mixing vortex*. Tabung reaksi tersebut ditutup dengan kapas kemudian dimasukkan ke dalam desikator untuk mendapatkan suasana fakultatif anaerob. Selanjutnya desikator diinkubasi dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam. Pertumbuhan *S. mutans* ditandai dengan adanya kekeruhan pada media. Setelah 24 jam suspensi *S. mutans* dalam tabung reaksi tersebut dikocok menggunakan *mixing vortex*. Setelah itu, dilakukan pengenceran dengan menambah akuades steril, dihomogenkan di atas *mixing vortex* dan dilakukan pengukuran tingkat kekeruhannya menggunakan densitometer. Untuk skala absorbansinya harus sesuai dengan standar Mc Farland 0,5 dengan absorbansi 0,05 dan panjang gelombang 560 nm dengan menggunakan densitometer (Hardman, 2001).

3.7.6 Pemberian Kertas Label Pada Bagian Bawah *Petridish*

Pada bagian bawah masing-masing *petridish*, diberi kertas label bertuliskan P4 untuk ekstrak daun kopi Robusta 100%, P3 untuk ekstrak daun kopi robusta 75%, P2 untuk ekstrak konsentrasi 50%, dan P1 untuk ekstrak daun kopi robusta 25%. Sedangkan untuk povidon iodine (kontrol positif) diberi kode K(+) dan untuk akuades steril (kontrol negatif) diberi kode K(-). Untuk membedakan 4 *petridish*, maka pada bagian tengah masing-masing *petridish* diberi kertas label nomor urut *petridish* 1 sampai 4 (Gambar 3.1).



Gambar 3.1 Skema pembagian daerah pada bagian bawah *petridish*.

P1	: label untuk ekstrak konsentrasi 25%
P2	: label untuk ekstrak konsentrasi 50%
P3	: label untuk ekstrak konsentrasi 75%
P4	: label untuk ekstrak konsentrasi 100%
K(+)	: label untuk kontrol positif diberi povidon iodine (100%)
K(-)	: label untuk kontrol negatif diberi akuades steril
	: <i>blank paper disk</i>

3.7.7 Inokulasi Suspensi *Streptococcus mutans* Pada Media MHA dan Uji Antibakteri

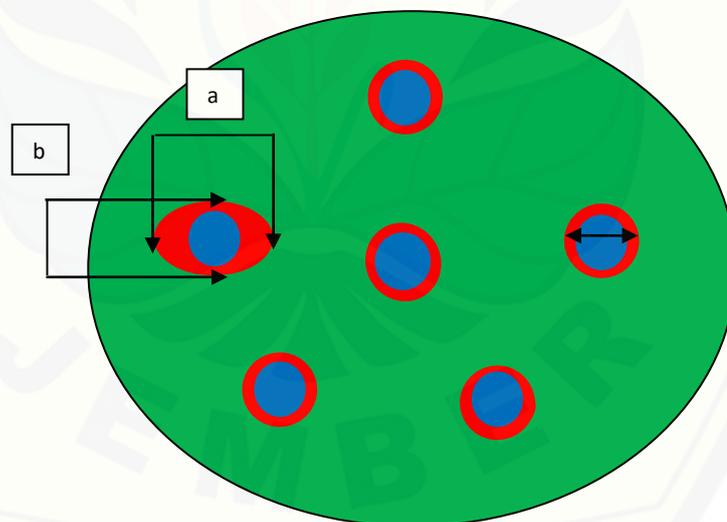
Media MHA hangat dituang ke dalam *petridish* yang telah disterilkan. Inokulasikan suspensi *S. mutans* pada media MHA yang telah padat dan rata dengan *cotton bud*. Uji daya hambat yang digunakan adalah metode difusi kertas cakram (disk). Pada petridish nomor 1 sampai 4 yang telah berisi media yang mengandung bakteri *S. mutans* diletakkan kertas cakram yang ditetesi dengan ekstrak daun kopi robusta dengan konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100%, akuades steril sebagai kontrol negatif serta povidon iodine sebagai kontrol positif sebanyak 20 μL dengan menggunakan mikropipet. Kertas cakram dibiarkan kering sebelum diletakkan pada media yang telah diberi suspensi bakteri dengan menggunakan pinset steril.

3.7.8 Inkubasi

Memasukkan 4 *petridish* yang telah diberikan perlakuan ke dalam desikator untuk selanjutnya diinkubasi di dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam.

3.7.9 Tahap Pengukuran Zona Hambat

Setelah 24 jam, *petridish* yang telah diberi perlakuan dikeluarkan, kemudian dilakukan pengukuran zona hambat terhadap pertumbuhan *S. mutans* (daerah inhibisi). Pengukuran daerah inhibisi yaitu dengan membalikkan *petridish* sehingga terlihat daerah hambatan yang terlihat transparan disekitar kertas cakram, kemudian dengan menggunakan jangka sorong daerah inhibisi diukur diameternya dan dicatat. Pengukuran dilakukan sebanyak 3 kali oleh orang berbeda yang sebelumnya telah dilakukan penyamaan persepsi dan diambil rata-ratanya (Hardman, 2001).



Gambar 3.2 Contoh cara pengukuran zona hambat terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*

- a = diameter zona hambat yang panjang
- b = diameter zona hambat yang pendek
-  = kertas cakram
-  = zona hambat

Diameter zona hambat diukur dari tepi (*break point*) ke tepi (*break point*) zona hambat yang berseberangan melewati pusat kertas cakram. Apabila terdapat zona hambat yang saling tumpang tindih antar kelompok, maka zona hambat diukur dari pusat kertas cakram ke tepi zona hambat sehingga didapatkan jari-jari zona hambat, kemudian pengukuran dikali dua untuk menentukan zona hambat (Hudzicki, 2009). Jika zona hambat berbentuk lonjong, maka pengukuran dilakukan pada diameter yang panjang (misal a mm) dan diameter yang pendek (misal b mm) kemudian keduanya dijumlah dan dibagi dua. Jadi diameter zona hambat (x) = $(a+b)/2$ (Hardman, 2001).

3.8 Uji Efektivitas

Dari hasil pengukuran zona hambat sebelumnya, ditemukan hasil rata-rata dari masing-masing kelompok perlakuan. Nilai-nilai tersebut kemudian digunakan untuk mengetahui nilai efektivitas kelompok perlakuan. Rumus yang digunakan untuk menghitung nilai efektifitas adalah sebagai berikut :

$$NE = \frac{Np - Npj}{Npb - Npj}$$

NE : nilai efektifitas
Np : nilai perlakuan
Npj : nilai perlakuan terjelek
Npb : nilai perlakuan terbaik

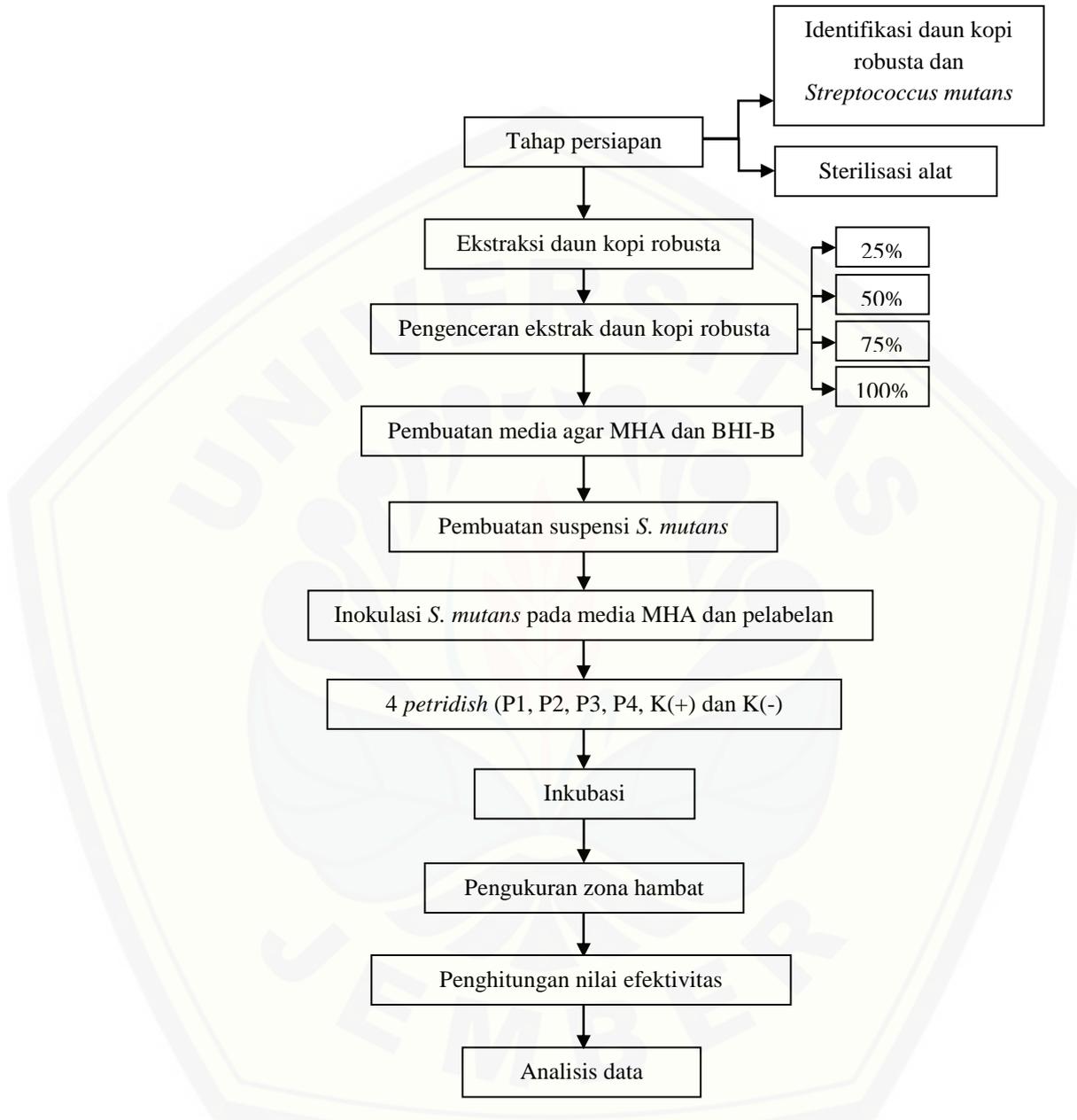
3.9 Analisis Data

Data hasil penelitian diuji menggunakan uji normalitas *Shapiro-wilk* ($p>0,05$) dan uji homogenitas *Levene*. Dari hasil penghitungan, didapatkan hasil bahwa data berdistribusi tidak normal dan tidak homogen. Kemudian digunakan uji nonparametrik *Kruskal Wallis* dengan derajat kemaknaan 95% ($p<0,05$) dan dilanjutkan dengan uji statistik *Mann Whitney* dengan derajat kemaknaan 95% ($p<0,05$) pada data. Untuk

penentuan perlakuan terbaik yang dihasilkan dari penelitian ditentukan berdasarkan metode indeks uji efektivitas.



3.10 Alur Penelitian



Gambar 3.3 Alur penelitian

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

- a. Ekstrak daun kopi robusta memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan *S. mutans*.
- b. Konsentrasi ekstrak daun kopi robusta yang memiliki daya hambat terbesar dan merupakan konsentrasi paling efektif terhadap pertumbuhan *S. mutans*, adalah konsentrasi 25%.

5.2 Saran

- a. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang kemampuan daya antibakteri dan tingkat efektivitas daun kopi robusta terhadap bakteri *S. mutans* dengan konsentrasi rendah (dibawah 25%), waktu inkubasi yang lebih lama (>24 jam), serta waktu perendaman kertas cakram yang lebih lama.
- b. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai daya hambat ekstrak daun kopi robusta terhadap mikroflora lain pada rongga mulut.
- c. Perlu dilakukan pengkajian ulang kandungan bahan aktif pada ekstrak daun kopi robusta.
- d. Perlu dilakukan uji daya hambat ekstrak daun kopi robusta terhadap pertumbuhan *S. mutans* dengan metode pembuatan ekstrak lainnya.
- e. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menguji potensi ekstrak daun kopi robusta lainnya.
- f. Perlu dilakukan uji toksisitas untuk mengetahui batas maksimal konsentrasi ekstrak daun kopi robusta terhadap *S. mutans*.

DAFTAR PUSTAKA

- Ari, W. N. 2008. *Streptococcus mutans*, Si Plak Dimana-mana. <http://mikrobia.files.wordpress.com/2008/05/streptococcus-mutans31.pdf> [Diakses pada 24 Desember 2010].
- Bakht, J., Azra, dan M. Shafi. 2012. *Antimicrobial Activity of Nicotiana Tabacum Using Different Solvents Extracts*. Pakistan: Khyber Pukhtum Khwa Agricultural University.
- Cannell, R. J. P. 1998. *Natural Products Isolation*. New Jersey: Humana Press Inc.
- Cappuccino, J. G., dan N. Sherman. 2005. *Microbiology (A Laboratory Manual)*. San Fransisco: Person Benjamin Cumming.
- Carvalho, A. S., dan J. A. Cury. 1999. *Fluoride Release from Some Dental Materials in Different Solutions*. 24: 14-19.
- Davis, W. W., dan Stout, T. R. 1971. Disc plate method of microbiological assay. *Journal of Microbiology*. 22(4): 659-665.
- De Garmo, E. P., W. G. Sullivan, dan J. R. Canada. 1984. *Engineering Economy*. Seven Edition. New York: Macmillan Pub. Co.
- Dewi F. K, 2010. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia Linnaeus*) terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar. *Skripsi*. Surakarta: Fakultas MIPA, Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- Ganiswara, G. S. 1995. *Farmakologi dan Terapi*. Jakarta: Gaya Baru.
- Harborne, J. B., H. Baxter, dan G. P. Moss. 1999. *Phytochemical Dictionary (A Handbook of Bioactive Compounds from Plants)*. London : Taylor & France Ltd.
- Hardman, J. G. 2001. *Goodman and Gillman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. Ten Edition. USA: Thr Mc Graw-Hill Companies, Inc.
- Hermawan A, Hana W dan Wiwiek T. 2007. Pengaruh Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle L.*) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan Metode Difusi Disk. *Skripsi*. Universitas Airlangga.

- Himedia Laboratories. 2011. Technical Data: Mueller-Hinton Agar. <http://himedialabs.com/td/m211.pdf>. [Diakses pada tanggal 18 Januari 2017].
- Himedia Laboratories. 2011. Technical Data: Brain Heart Infusion Broth. <http://himedialabs.com/td/m211.pdf>. [Diakses pada tanggal 18 Januari 2017].
- Hudzicki, J. 2009. Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol. ASM Microbe Library (Internet). <http://microlibrary.org/component/resource/labolatory-test/3189-kirby-bauer-disk-diffusion-suscebility-test-protocol>. [Diakses pada tanggal 24 Januari 2017].
- Hulupi, R., dan E. Martini. 2013. *Pedoman Budi Daya dan Pemeliharaan Tanaman Kopi di Kebun Campur*. Jember: Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia.
- Jawetz, Melnick, dan Adelberg's. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran (Medical Microbiology)*. Edisi Kesatu. Jakarta: Salemba Medika
- Kawai, K., dan M. Urano. 2001. *Adherence of Plaque Component to Different Restorative Materials*. 26: 396-400.
- Kemenkes RI. 2011. *Survei Kesehatan Rumah Tangga*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia
- Lee, J. H., J. H. Park, Y. S. Kim, dan Y. Han. 2008. Chlorogenic acid, a polyphenolic compound, treats mice with septic arthritis caused by *Candida albicans*. *International Immunopharmacology*. 8: 1681–1685.
- Leonardis, D. A., L. Pizzella, dan V. Macciola. 2008. Evaluation of chlorogenic acid and its metabolites as potential antioxidants for fish oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 110(10): 941-948.
- Madigan, M. T. 2003. *Biology of Microorganism*. Ten Edition. USA: Pearson Education Inc.
- Meng, S., J. Cao, Q. Feng, J. Peng, dan Y. Hu. 2013. Roles of chlorogenic acid on regulating glucose and lipids metabolism : A Review. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 5: 1-11.

- Mirza, R. H., dan Y. Chi. 2013. Therapeutic potential of the natural product mangiferin in metabolic syndrome. *Journal of Nutritional Therapeutics*. 2: 74-79.
- Moraiz, T. C., S. C. Lopes, K. M. M. B. Carvalho, B. R. Arruda, F. T. Souza, M. T. S. Trevisan, V. S. Rao, dan F. A. Santos. 2012. High performance liquid chromatographic method for the determination of mangiferin in rat plasma & urine. *World Journal of Gastroentology*. 18(25): 3207-3214.
- Morison, J. Moya. 2003. *Manajemen Luka*. Jakarta : EGC
- Mutua, J. 2000. Post Harvest Handling and Processing of Coffee in African Countries. [www.fao.org. http://www.fao.org/docrep/003/x6939e/X6939e00.htm](http://www.fao.org/docrep/003/x6939e/X6939e00.htm). [Diakses pada 3 Maret 2015].
- Najayati, S., dan Danarti. 2012. *Kopi, Budidaya dan Penanganan Lepas Panen*. Jakarta: PT. Penebar Swadaya.
- Nazir. 2005. *Metode Penelitian*. Jakarta: Ghalia Indonesia.
- Notoatmodjo, S. 2010. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Cetakan III. Jakarta: PT. Rineka Cipta.
- Nuria, M. C., A. Faizatun, dan Sumantri. 2009. Uji antibakteri ekstrak etanol daun jarak pagar (*Jatropha curcas L*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Salmonella typhi* ATCC 1408. *Jurnal Ilmu - ilmu Pertanian*. 5: 26 - 37.
- Olthof, M. R., P. C. H. Hollman, dan Katan, M. B. 2001. Chlorogenic acid and caffeic acid are absorbed in humans. *Journal of Nutrition*. 131: 66-71.
- Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia. 2006. *Pedoman Teknis Budidaya Tanaman Kopi*. (Tidak dipublikasikan). Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia.
- Priyanto. 2010. *Farmakologi Dasar Untuk Mahasiswa Farmasi dan Keperawatan*. Edisi Kedua. Jakarta: Leskonfi.
- Pristiana, D. Y., Siti, Nurwantoro. 2017. Aktivitas antioksidan dan kadar fenol berbagai ekstrak daun kopi (*Coffea sp.*). *Indonesian Food Technologists*.

- Radji, Maksum. 2016. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. 9(2): 23-25; 29-31.
- Rahayu, T., dan T. Rahayu. 2009. Uji antijamur kombucha coffee terhadap *Candida albicans* dan *Tricophyton mentagrophytes*. *Jurnal Penelitian Sains & Teknologi*. 10(1): 10-17.
- Regina, R. A. 2007. The effect of mouthwash containing cetylpyridinium chloride on salivary level of *Streptococcus mutans*. *Journal PDGI*. 57(1): 19-24.
- Rohaya, Syarifah, Hariwati, Retno, Lely, Sujuti dan Hidayat. 2014. Efek Pemberian Ekstrak Kulit Jeruk Keprok (*Citrus Reticulata*) terhadap *Cell Cycle Arrest* dan Apoptosis pada Sel Kultur Retinoblastoma. *Skripsi*. Malang: Universitas Brawijaya.
- Rubiyo. 2013. *Semi Populer Tanaman Industri dan Penyegar*. Sukabumi: Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan.
- Riza, Z. 2016. Daya Hambat Ekstrak Daun Kopi Robusta (*Coffea robusta lindl*) terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* secara In Vitro. *Skripsi*. Jember: Universitas Jember.
- Samaranayake, L. P. 2002. *Essential Microbiology For Dentistry*. Philadelphia: W. B. Saunders Company.
- Soesilo, D., Santoso, E. Rinna, dan I. Diyatri. 2005. Peranan Sorbitol dalam Mempertahankan Kestabilan pH Saliva pada Proses Pencegahan Karies. *Maj. Ked. Gigi (Dent. J.)*. Halaman 9.
- Supriyanto, S. J. A. Djohan. 2011. *Metodologi Riset Bisnis dan Kesehatan*. Kalimantan: Grafika Wangi.
- Suwandi, U. 1992. *Mekanisme Kerja Antibiotik*. Cermin Dunia Kedokteran No. 76. Jakarta: Pusat Penelitian dan Pengembangan PT. Kalbe Farma.
- Talamond, P., L. Mondolot, A. Gargadenec, A. Kochko, S. Hamon, A. Fruchies, dan C. Campa. 2008. First report on mangiferin (*Cglucosyl-xanthone*) isolated from leaves of a wild coffee plant, *coffea pseudozanguebariae (Rubiaceae)*. *Acta Bot Gallica*. 155(4): 513-519.
- Thom, E. 2007. The effect of chlorogenic acid enriched coffee on glucose absorption in healthy volunteers and its effect on body mass when

used long-term in overweight and obese people. *The Journal of International Medical Research*. 35(2): 900-908.

Tjay, T., dan K. Rahardja. 2002. *Obat-obat Penting Khasiat Penggunaan dan Efek-efek Sampingnya*. Jakarta: Gramedia.

Todar, K. 2008. *The Normal Bacterial Flora of Humans*. University of Wisconsin-Madison Department of Bacteriology.

Yoga, W. K., Andarwulan, dan Prangdimurti. 2008. Potensi Antioksidan Gel dan Daun Kacapiring (*Gardenia Jasminoides Ellis*). Seminar Nasional FMIPA Undiksha.

Zhao, Y., J. Wang, O. Ballevre, H. Luo, dan W. Zhang. 2011. Antihypertensive effects and mechanisms of chlorogenic acids. *Hypertension Research*. 25(2): 345

LAMPIRAN

Lampiran A. Surat Ijin Penelitian


 KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
 UNIVERSITAS JEMBER
 FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
 Jl. Kalimantan No. 37 Jember ☎(0331) 333536, Fak. 331991

Nomor : 3530/UN25.8.TL/2017
 Perihal : Ijin Penelitian

03 OCT 2017

Kepada Yth
 Direktur RSGM Universitas Jember
 Di
 Jember

Dalam rangka pengumpulan data penelitian guna penyusunan skripsi maka, dengan hormat kami mohon bantuan dan kesediaannya untuk memberikan ijin penelitian bagi mahasiswa kami dibawah ini :

1	Nama	: Silvitania Putri
2	NIM	: 141610101083
3	Semester/Tahun	: 2017/2018
4	Fakultas	: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
5	Alamat	: Jl. Baturaden I No. 52 Jember
6	Judul Penelitian	: Daya Hambat Ekstrak Daun Kopi Robusta (Coffea Rabusta L) Terhadap Pertumbuhan streptococcus Mutans Secara In Vitro
7	Lokasi Penelitian	: Laboratorium Bioscience RSGM Universitas Jember
8	Bahan yang dibutuhkan	: Blender, shaker bath, rotary Evaporator, dll
9	Waktu	: Oktober 2017 s/d Selesai
10	Tujuan Penelitian	: Untuk Melihat zona Hambata
11	Dosen Pembimbing	: 1. drg. Hengky Bowo A, MDSc 2. drg. Amandia Dewi Permana S, M.Biomed

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih

Dekan
 Dekan I,


 Dr. Ida Susilawati, M.Kes
 NIP. 196109031986022001

Lampiran B. Surat Identifikasi Tanaman

Kode Dokumen : FR-AUK-064
Revisi : 0

**KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
POLITEKNIK NEGERI JEMBER
LABORATORIUM TANAMAN**

Jalan Mastrip Kotak Pos 164 Jember - 68101 Telp. (0331) 333532 - 333534 Fax. (0331) 333531
E-mail : Polije@polije.ac.id Web Site : <http://www.Polije.ac.id>

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TANAMAN

No: 014/ PL17.3.1.02/LL/2017

Menindaklanjuti surat dari Wakil Dekan I Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember No: 4290/UN25.8.TL/2017 perihal Permohonan Identifikasi Tanaman dan berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirimkan ke Laboratorium Tanaman, Jurusan Produksi Pertanian, Politeknik Negeri Jember oleh:

Nama : Silvitania Putri
NIM : 141610101083
Jur/Fak/PT : Fakultas Kedokteran Gigi/ Universitas Jember

maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut di bawah ini (terlampir) adalah:
Kingdom: Plantae; Devisio: Magnoliophyta; Sub Devisio: Spermatophyta; Kelas: Magnoliopsida; Sub Kelas: Asteridae; Ordo: Rubiales; Famili: Rubiaceae; Genus: Coffea; Spesies: Coffea canephora, Pierre.

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Jember, 29 Nopember 2017

Kepala Laboratorium Tanaman

R. Lilik Mastuti, MP
NIP. 195808201987032001

Lampiran C. Surat Identifikasi Bakteri

KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN
JURUSAN BIOLOGI
Jalan Kalimantan III No. 23 FMIPA, Universitas Jember,
Jawa Timur 68123

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI

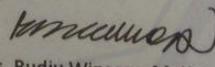
Berdasarkan hasil identifikasi dengan pengecatan Gram pada bakteri yang digunakan
Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Jember oleh:

Nama/NIM : Silvitania Putri/1416101083
Jurusan/Fak/PT : Kedokteran Gigi/Universitas Jember

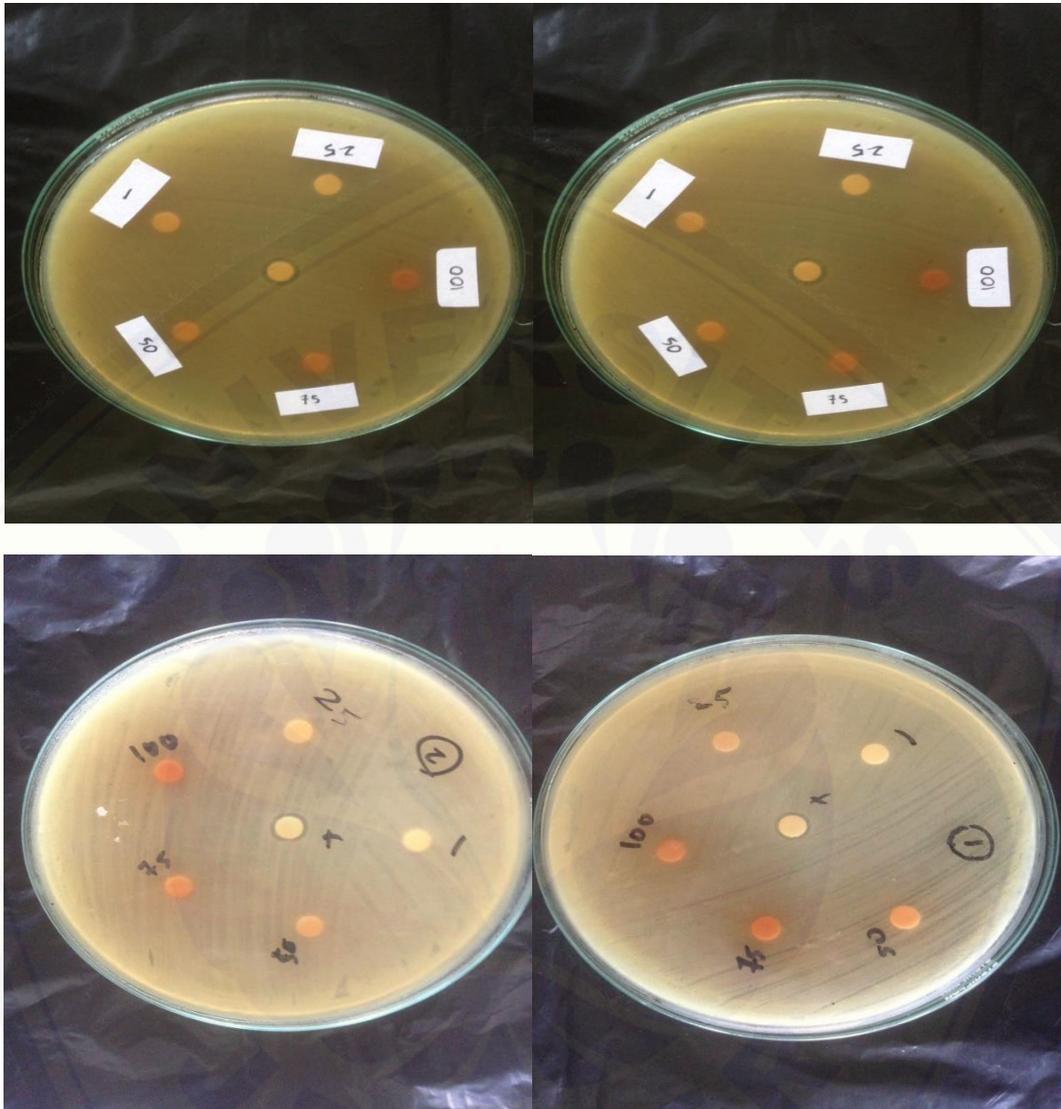
Maka dapat disampaikan hasilnya bahwa bakteri tersebut adalah:
Streptococcus mutans

Demikian, mudah-mudahan bermanfaat.

Jember, 9 Oktober 2017
Kalab. Mikrobiologi


Drs. Rudju Winarsa, M. Kes
196008161989021001

Lampiran D. Foto Hasil Penelitian



Gambar D.1 Hasil penelitian uji daya hambat ekstrak daun kopi robusta terhadap pertumbuhan *S. mutans* dengan 4 kali pengulangan.

Lampiran E. Data Hasil Penelitian

E.1 Hasil pengukuran diameter zona hambat (skala mm) dan rata-rata pertumbuhan bakteri *S. mutans*

Kelompok	Pengamat 1				Pengamat 2				Pengamat 3			
	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
K+	8,45	8,25	7	9,25	7,50	8,50	7,05	8,80	8	8,40	7	8,80
K-	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
P1	5	5	6,65	6,50	5	5	6,60	6,50	5	5	6,65	6,45
P2	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
P3	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
P4	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

Kelompok	Rata-rata diameter zona hambat				Rata-rata total diameter zona hambat
	A	B	C	D	
K+	7,98	8,38	7,01	8,95	8,08
K-	5	5	5	5	5
P1	5	5	6,63	6,48	5,77
P2	5	5	5	5	5
P3	5	5	5	5	5
P4	5	5	5	5	5

E. 2 Hasil perhitungan standar deviasi

Kelompok	Rata-rata total diameter zona hambat (mm)	SD
K+	8,08	0,81
K-	5	0
P1	5,77	0,89
P2	5	0
P3	5	0
P4	5	0

Lampiran F. Analisis Hasil Penelitian

F.1 Uji normalitas *Shapiro-Wilk*

	Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
zonahambat	kontrol +	.201	4	.	.979	4	.895
	konsentrasi 25%	.306	4	.	.769	4	.057

- Lilliefors Significance Correction
- zonahambat is constant when kelompok = kontrol -. It has been omitted.
- zonahambat is constant when kelompok = konsentrasi 50%. It has been omitted.
- zonahambat is constant when kelompok = konsentrasi 75%. It has been omitted.
- zonahambat is constant when kelompok = konsentrasi 100%. It has been omitted.

F. 2 Uji homogenitas *Levene-Test*

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
192.203	5	18	.000

F. 3 Uji *Kruskal-Wallis***Ranks**

	kelompok	N	Mean Rank
Zonahambat	kontrol +	4	22.50
	kontrol -	4	9.50
	konsentrasi 25%	4	14.50
	konsentrasi 50%	4	9.50
	konsentrasi 75%	4	9.50
	konsentrasi 100%	4	9.50
	Total	24	

Test Statistics^{a,b}

	zonahambat
Chi-Square	19.354
Df	5
Asymp. Sig.	.002

a. *Kruskal Wallis* Testb. Grouping Variable:
kelompokF. 4 Uji *Mann-Whitney*

Kelompok Sampel	K+	K-	P1	P2	P3	P4
K+	-	0,014*	0,020*	0,014*	0,014*	0,014*
K-	0,014*	-	0,131	1,000	1,000	1,000
P1	0,020*	0,131	-	0,131	0,131	0,131
P2	0,014*	1,000	0,131	-	1,000	1,000
P3	0,014*	1,000	0,131	1,000	-	1,000
P4	0,014*	1,000	0,131	1,000	1,000	-

tanda* menunjukkan nilai yang signifikan

Lampiran G. Indeks Nilai Efektivitas

Hasil nilai efektivitas dari masing-masing kelompok perlakuan adalah sebagai berikut:

a. Konsentrasi 25%

$$NE = \frac{N_p - N_{pj}}{N_{pb} - N_{pj}} = \frac{5,77 - 0}{5,77 - 0} = \frac{5,77}{5,77} = 1$$

b. Konsentrasi 50%

$$NE = \frac{N_p - N_{pj}}{N_{pb} - N_{pj}} = \frac{0 - 0}{5,77 - 0} = \frac{0}{5,77} = 0$$

c. Konsentrasi 75%

$$NE = \frac{N_p - N_{pj}}{N_{pb} - N_{pj}} = \frac{0 - 0}{5,77 - 0} = \frac{0}{5,77} = 0$$

d. Konsentrasi 100%

$$NE = \frac{N_p - N_{pj}}{N_{pb} - N_{pj}} = \frac{0 - 0}{5,77 - 0} = \frac{0}{5,77} = 0$$

Lampiran H. Alat dan Bahan Penelitian



Gambar 1. Daun kopi robusta segar



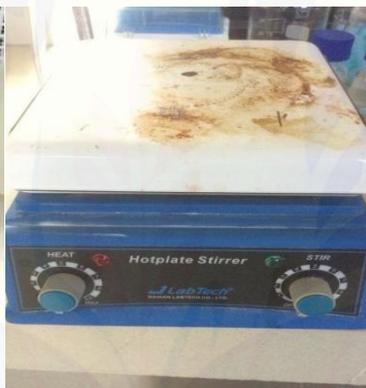
Gambar 2. Blender



Gambar 3. Daun kopi robusta kering



Gambar 4. *Mixing vortex*



Gambar 5. *Hot plate magnetic stirrer*



Gambar 6. *Petridish*



Gambar 7. *Rotary evaporator*



Gambar 8. Bunsen



Gambar 9. Neraca



Gambar 10. Tabung reaksi



Gambar 11. Spatula kaca



Gambar 12. *Syringe dan filter syringe*



Gambar 13. Jangka sorong



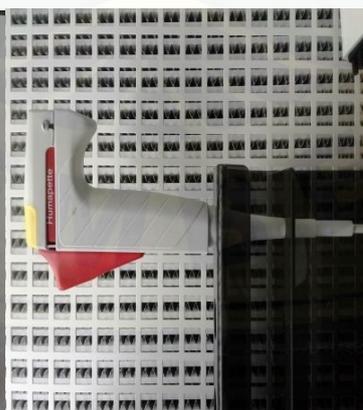
Gambar 14. *Water bath*



Gambar 15. *Ose*



Gambar 16. Densitometer



Gambar 17. Mikropipet



Gambar 18. *Cotton bud*



Gambar 19. *Laminar flow*



Gambar 20. Inkubator



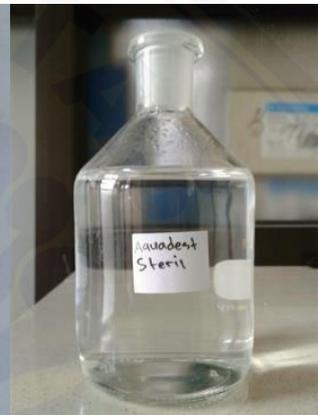
Gambar 21. *Autoclave*



Gambar 22. Ayakan 50 mesh



Gambar 23. *Blank disc*



Gambar 24. Akuades steril



Gambar 25. MHA



Gambar 26. BHI-B



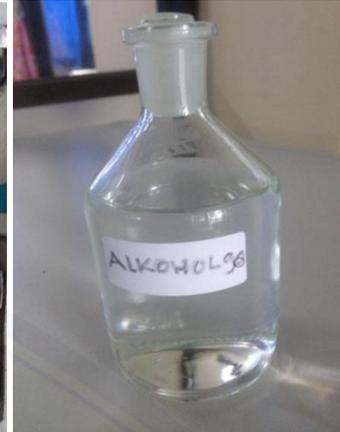
Gambar 27. Betadine obat kumur



Gambar 28. Ekstrak daun kopi robusta



Gambar 29. Suspensi *S. mutans*



Gambar 30. Etanol 96%



Gambar 31. Desikator



Gambar 32. Masker dan tisu



Gambar 33. *Yellow tip*



Gambar 34. *Eppendorf tube*



Gambar 35. Aluminium foil



Gambar 36. Erlenmeyer

Lampiran I. Dokumentasi Saat Penelitian



Gambar I.1 Daun kopi robusta kering, dipotong kecil lalu diblender kemudian disaring untuk diambil serbuk halusnya. Setelah itu serbuk ditimbang sebanyak 800 gr.



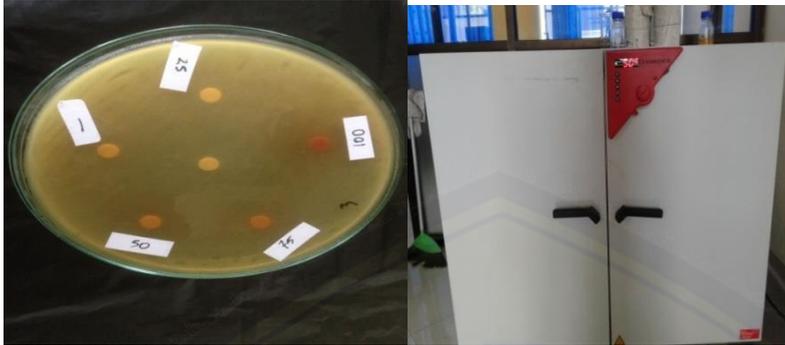
Gambar I.2 Serbuk dimasukkan toples dan dicampur dengan ethanol 96% sebanyak 1500 mL. Setelah itu, rendaman diaduk menggunakan spatula dan ditutup rapat. Rendaman didiamkan selama 24 jam, kemudian di *shaker* di atas *shaker* digital rpm 50. Ampas dan filtrat dipisah menggunakan kertas saring dan ditampung dengan erlenmeyer (lakukan remaserasi dengan ethanol 96% seperti di atas). Hasil ekstrak diuapkan dengan *rotary evaporator* selama 3 jam dan akhirnya proses ekstraksi selesai dilanjutkan dengan pengenceran konsentrasi ekstrak dengan akuades steril.



Gambar I.3 Hasil pengenceran konsentrasi kemudian dihomogenkan dengan *mixing vortex*. Kemudian mencampurkan akuades dan MHA dengan perbandingan 38/1000 mL. Kemudian dihomogenkan dengan menggunakan *hot plate magnetic stirrer*. Setelah media homogen dan dingin, masukkan media ke *petridish* yang sebelumnya sudah dilabeli menurut perlakuan.



Gambar I.4 Suspensi *S. mutans* yang sudah dihomogenkan menggunakan *mixing vortex* kemudian diratakan di atas media menggunakan *cotton bud*. Kertas cakram yang telah ditetaskan ekstrak daun kopi robusta, povidon iodine dan akuades steril kemudian diletakkan di atas media sesuai dengan label.



Gambar I.5 Media kultur yang telah diberi perlakuan didiamkan selama 30 menit agar pada saat dibalikkan kertas cakram tidak jatuh, dibungkus dengan aluminium foil kemudian dimasukkan ke dalam inkubator bersuhu 37° C selama 1 x 24 jam.

Lampiran J. Pengenceran Ekstrak Daun Kopi Robusta

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

V1 = Volume awal ekstrak daun kopi robusta
 M1 = Konsentrasi awal ekstrak daun kopi robusta
 V2 = Volume akhir ekstrak daun kopi robusta
 M2 = Konsentrasi Akhir ekstrak daun kopi robusta

1. Untuk mendapatkan ekstrak daun kopi robusta konsentrasi 25% sebanyak 2000

µl :

$$V1 \times 100\% = 2000 \mu\text{l} \times 25\%$$

$$V1 = \frac{2000 \mu\text{l} \times 25\%}{100\%}$$

$$100\%$$

$$V1 = 500 \mu\text{l}$$

Volume pelarut yang ditambahkan :

$$V2 - V1 = 2000 \mu\text{l} - 500 \mu\text{l}$$

$$= 1500 \mu\text{l} \text{ akuades steril}$$

2. Untuk mendapatkan ekstrak daun kopi robusta konsentrasi 50% sebanyak 2000 μl :

$$V1 \times 100\% = 2000 \mu\text{l} \times 50\%$$

$$V1 = \frac{2000 \mu\text{l} \times 50\%}{100\%}$$

$$V1 = 1000 \mu\text{l}$$

Volume pelarut yang ditambahkan :

$$\begin{aligned} V2 - V1 &= 2000 \mu\text{l} - 1000 \mu\text{l} \\ &= 1000 \mu\text{l} \text{ akuades steril} \end{aligned}$$

3. Untuk mendapatkan ekstrak daun kopi robusta konsentrasi 75% sebanyak 2000 μl :

$$V1 \times 100\% = 2000 \mu\text{l} \times 75\%$$

$$V1 = \frac{2000 \mu\text{l} \times 75\%}{100\%}$$

$$V1 = 1500 \mu\text{l}$$

Volume pelarut yang ditambahkan :

$$\begin{aligned} V2 - V1 &= 2000 \mu\text{l} - 1500 \mu\text{l} \\ &= 500 \mu\text{l} \text{ akuades steril} \end{aligned}$$

4. Untuk mendapatkan ekstrak daun kopi robusta konsentrasi 100% sebanyak 2000 μl :

$$V1 \times 100\% = 2000 \mu\text{l} \times 100\%$$

$$V1 = \frac{2000 \mu\text{l} \times 100\%}{100\%}$$

$$V1 = 2000 \mu\text{l}$$

Volume pelarut yang ditambahkan :

$$\begin{aligned} V2 - V1 &= 2000 \mu\text{l} - 2000 \mu\text{l} \\ &= 0 \mu\text{l} \text{ akuades steril} \end{aligned}$$