



**DAYA HAMBAT PASTA GIGI EKSTRAK BIJI KOPI
ROBUSTA (*Coffea canephora*) TERHADAP PERTUMBUHAN
Streptococcus mutans SECARA *IN VITRO***

*diajukan untuk memenuhi sebagian persyaratan memperoleh gelar Sarjana pada
program studi Kedokteran Gigi (S1)*

SKRIPSI

Oleh:

**Viona Azzahra
201610101124**

**KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, RISET DAN
TEKNOLOGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
JEMBER
2024**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT;
2. Kedua orang tua dan keluarga saya yang saya sayangi;
3. Bapak/Ibu dosen yang telah mendidik dan memberikan ilmu;
4. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember



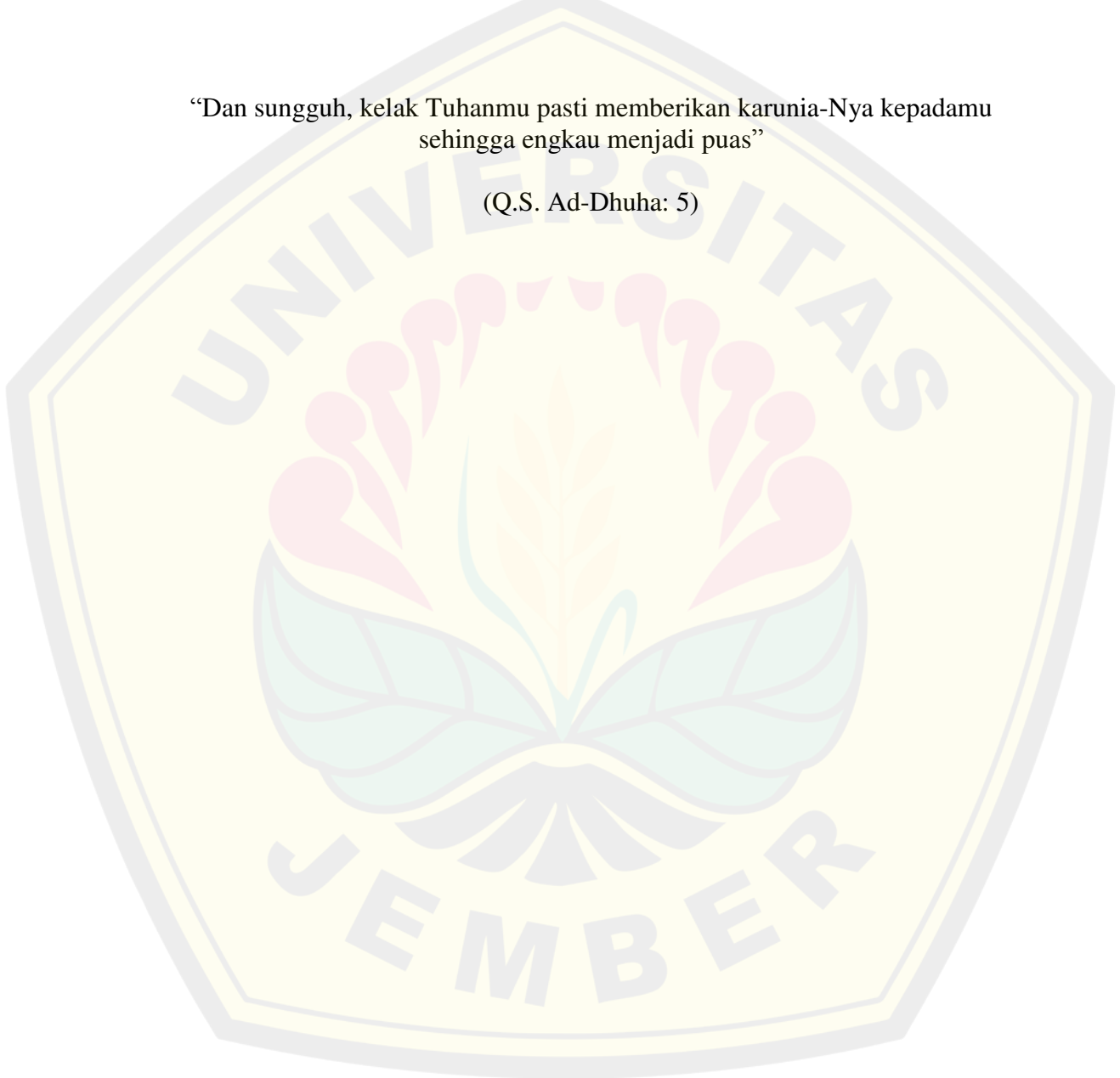
MOTTO

“Dan apabila hamba-hamba-Ku bertanya kepadamu (Nabi Muhammad saw) tentang Aku, maka sesungguhnya Aku dekat. Aku mengabulkan permohonan orang yang berdoa apabila dia berdoa kepada-Ku”

(Q.S. Al-Baqarah: 186)

“Dan sungguh, kelak Tuhanmu pasti memberikan karunia-Nya kepadamu sehingga engkau menjadi puas”

(Q.S. Ad-Dhuha: 5)



PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Viona Azzahra

NIM : 201610101124

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul: *Daya Hambat Pasta Gigi Ekstrak Biji Kopi Robusta (Coffea canephora) terhadap Pertumbuhan Streptococcus mutans Secara In Vitro* adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggungjawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan skripsi ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 15 Januari 2024

Yang menyatakan,

(Materai Rp.10.000)

Viona Azzahra

NIM 201610101124

HALAMAN PERSETUJUAN

Skripsi berjudul *Daya Hambat Pasta Gigi Ekstrak Biji Kopi Robusta (Coffea canephora) terhadap Pertumbuhan Streptococcus mutans Secara In Vitro* telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada:

Hari : Senin

Tanggal : 15 Januari 2024

Tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Pembimbing

Tanda Tangan

1. Pembimbing Utama

Nama : Dr.drg. Yuliana Mahdiyah D. A., M.Kes

NIP : 197506182000122001

(.....)

2. Pembimbing Anggota

Nama : drg. Melok Aris Wahyukundari, M.Kes.,Sp.Perio

NIP : 197104092005012002

(.....)

Penguji

1. Penguji Utama

Nama : Prof. Dr. drg. I Dewa Ayu Ratna D., M.Si

NIP : 196705021997022001

(.....)

2. Penguji Anggota

Nama : drg. Dwi Warna Aju Fatmawati, M.Kes

NIP : 197012191999032001

(.....)

ABSTRACT

Streptococcus mutans is a bacteria that has a very important role in the process of forming dental plaque. Accumulation of dental plaque that occurs continuously and is not accompanied by good cleaning measures will cause various problems in the oral cavity, such as caries and periodontal disease. Prevention of dental caries and periodontal disease requires plaque control, one of which is brush teeth with toothpaste. Toothpaste containing robusta coffee bean extract contains active antibacterial ingredients such as flavonoids, caffeine, trigoneline, and chlorogenic acid. The aims of this research was to analyze the antibacterial effect of toothpaste containing robusta coffee bean extract at concentrations of 12.5%, 25% and 50% in inhibiting the growth of *S. mutans*. Robusta coffee bean extract toothpaste concentration of 12.5% 25% and 50% are made by extracting robusta coffee beans using the maceration method and mixing them with placebo paste ingredients. The antibacterial activity test was carried out using the disc diffusion method on MHA media that had been inoculated with *S. mutans* and then the diameter of the inhibition zone around the disc paper was measured. The results showed that an inhibitory zone was formed around the disc paper at each concentration with significant differences between each concentration. The largest inhibition zone formed was shown in toothpaste with robusta coffee bean extract at a concentration of 50% at $50,57 \pm 1,18$ mm and the smallest at a concentration of 12.5% at $33,41 \pm 1,37$ mm. It can be concluded that toothpaste containing robusta coffee bean extract has antibacterial activity to inhibit the growth of *S. mutans* so that robusta coffee bean extract toothpaste can be developed into a toothpaste product.

Key words: toothpaste, robusta coffee bean extract, antibacterial, Streptococcus mutans

RINGKASAN

DAYA HAMBAT PASTA GIGI EKSTRAK BIJI KOPI ROBUSTA (*Coffea canephora*) TERHADAP PERTUMBUHAN *Streptococcus mutans* SECARA *IN VITRO*; Viona Azzahra; 201610101124; 2023; 56 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Streptococcus mutans (*S. mutans*) merupakan bakteri pada plak gigi yang berperan penting dalam menimbulkan penyakit karies gigi dan penyakit periodontal. Pencegahan karies gigi dan penyakit periodontal diperlukan kontrol plak yang dapat dilakukan dengan menyikat gigi dengan pasta gigi. Saat ini, pasta gigi ekstrak biji kopi robusta sedang dikembangkan. Biji kopi robusta merupakan bahan herbal yang terbukti mampu menghambat pertumbuhan bakteri plak gigi. Selain itu, biji kopi robusta memiliki kandungan flavonoid, kafein, trigonelin, dan asam klorogenat yang telah terbukti memiliki sifat antibakteri. Terdapat beberapa penelitian kemampuan antibakteri ekstrak biji kopi robusta dan pasta gigi ekstrak biji kopi robusta, namun belum ada penelitian kemampuan daya hambat pasta gigi ekstrak biji kopi robusta dalam menghambat *S. mutans*. Maka, penelitian ini bertujuan untuk menganalisis daya hambat pasta gigi ekstrak biji kopi robusta dengan konsentrasi 12,5%; 25% dan 50% dalam menghambat pertumbuhan *S. mutans*.

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental dengan rancangan penelitian *the post test only control group design*. Pasta gigi ekstrak biji kopi robusta konsentrasi 12,5%, 25% dan 50% dibuat dengan mencampurkan bahan pasta plasebo dengan ekstrak biji kopi robusta yang diekstrak menggunakan metode maserasi. Selanjutnya dilakukan metode uji daya hambat menggunakan metode difusi cakram. Kelompok kontrol yang digunakan dalam penelitian ini adalah pasta gigi komersial sebagai kontrol positif dan pasta plasebo kontrol negatif. Masing-masing kertas cakram direndam dalam pasta gigi dan diletakkan pada media MHA yang telah diinokulasikan *S. mutans*, kemudian diinkubasi selama 48 jam dengan suhu 37°C. Kemudian dilakukan pengukuran diameter zona hambat yang terbentuk pada sekeliling kertas cakram dengan jangka sorong.

Hasil penelitian menunjukkan pasta gigi ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*) dengan konsentrasi 12,5%; 25% dan 50% memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *S. mutans* dengan kriteria kekuatan daya hambat sangat kuat. Zona hambat terbesar yang terbentuk ditunjukkan pada konsentrasi 50% yaitu sebesar $50,57 \pm 1,18$ mm dan zona hambat terendah ditunjukkan pada pasta gigi ekstrak biji kopi robusta konsentrasi 12,5% yaitu sebesar $33,41 \pm 1,37$ mm. Hasil uji normalitas menunjukkan data berdistribusi normal ($p > 0,05$) dan hasil uji homogenitas menunjukkan data tidak homogen ($p < 0,05$) sehingga dilakukan uji statistik non parametrik *Kruskal Wallis* dan menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada kelompok sampel ($p < 0,05$). Selanjutnya, data diuji dengan uji *Mann Whitney*, hasil uji menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antar tiap kelompok sampel ($p < 0,05$).

Kesimpulan dari penelitian ini adalah pasta gigi ekstrak biji kopi robusta konsentrasi 12,5%; 25% dan 50% memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *S. mutans* dan zona hambat yang terbentuk paling besar dalam menghambat pertumbuhan *S. mutans* adalah konsentrasi 50% sehingga pasta gigi ekstrak biji kopi robusta dapat dikembangkan sebagai produk pasta gigi yang dapat dimanfaatkan masyarakat.

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala anugerah dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Shalawat serta salam kepada Sayyidina wa Rasulina Muhammad SAW beserta para sahabat dan keluarganya. Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan, bimbingan, dan dukungan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Allah SWT atas limpahan nikmat, cinta, kasih sayang, pertolongan, karunia, dan hidayah-Nya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
2. drg. Dwi Kartika Apriyono M.Kes., Sp. OF. (K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
3. Dr.drg. Yuliana Mahdiyah D. A., M.Kes selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah bersedia membimbing, memberikan saran, dukungan, dan masukan sehingga skripsi ini dapat terselesaikan, semoga Allah senantiasa memberikan balasan kebaikan atas segala hal-hal baik yang telah beliau berikan;
4. drg. Melok Aris Wahyukundari, M.Kes., Sp. Perio selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang memberikan nasihat dan bimbingan sehingga skripsi ini dapat terselesaikan, semoga Allah senantiasa memberikan balasan kebaikan atas segala hal-hal baik yang telah beliau berikan;
5. Prof. Dr. drg. I Dewa Ayu Ratna D., M.Si selaku Dosen Penguji Ketua dan drg. Dwi Warna Aju F., M.Kes selaku Dosen Penguji Anggota yang telah bersedia menguji, memberikan nasihat dan saran yang baik dan membangun dalam penulisan skripsi ini;
6. Orang tua saya, Basril dan Siti Masitoh, serta keluarga yang karena Allah telah memberikan cinta, kasih sayang, doa, dan dukungan kepada saya selama ini;
7. Teknisi laboratorium *Bioscience* RSGM Universitas Jember, Bapak Erwan yang telah membantu banyak dalam penelitian ini;
8. Teknisi laboratorium Mikrobiologi FKG Universitas Jember, Ibu Indri yang tidak hanya membantu dalam penelitian tapi senantiasa memberikan semangat, dukungan, motivasi, dan nasihat sehingga penelitian ini dapat terselesaikan,

semoga Allah senantiasa memberikan balasan kebaikan atas segala hal-hal baik yang telah beliau berikan;

9. Teman-teman saya yang Allah kirimkan untuk kebersamai saya selama preklinik, Arifah, Tasya, Rista, Kiki, Salma, serta teman tutor 'manis banget', terima kasih atas doa, dukungan, dan kenangannya, semoga Allah senantiasa memberikan kebaikan di mana pun kalian berada;
10. Teman-teman Tahfidz camp 2023 kamar 1 Khadijah dan kelompok Al-Jazari yang telah kebersamai saya dalam naungan Al-Quran di penutup tahun 2023, terima kasih atas doa, dukungan, dan kenangan yang tiada tara walau sebentar, semoga Allah senantiasa memberikan kebaikan di mana pun kalian berada;
11. Seluruh teman tutorial M, praktikum B3, dan angkatan d'Dentbaf 2020;
12. Semua pihak yang telah terlibat yang tidak bisa disebutkan satu persatu.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Terakhir, penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat dalam pengembangan ilmu kesehatan dan bidang lainnya.

Jember, 15 Januari 2024

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
PERSEMBAHAN.....	ii
MOTTO.....	iii
PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iv
HALAMAN PERSETUJUAN.....	v
ABSTRAK.....	vi
RINGKASAN.....	vii
PRAKATA.....	ix
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	2
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
BAB 2. TINJAUAN TEORI.....	4
2.1 <i>Streptococcus mutans</i>	4
2.1.1 Karakteristik dan morfologi.....	4
2.1.2 Taksonomi.....	4
2.1.3 Faktor virulensi.....	5
2.2 Pasta Gigi.....	5
2.2.1 Definisi pasta gigi.....	5
2.2.2 Kandungan pasta gigi.....	6
2.3 Kopi Robusta.....	6
2.3.1 Taksonomi.....	6
2.3.2 Morfologi kopi.....	7
2.3.3 Kandungan biji kopi robusta.....	7
2.4 Metode uji daya hambat.....	9
2.5 Kerangka Konsep.....	10
2.6 Hipotesis.....	11
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	12
3.1 Jenis Penelitian	12
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	12

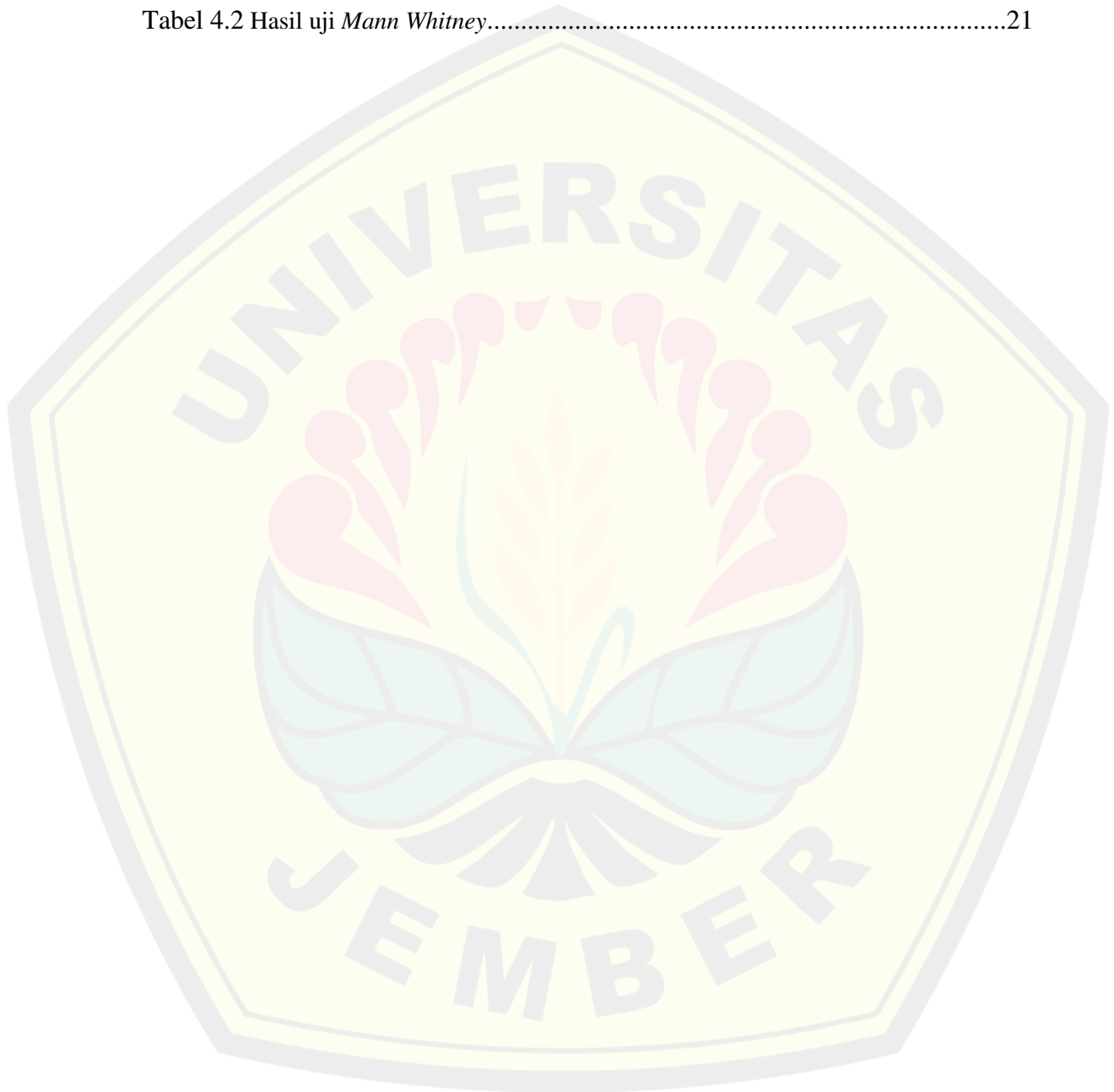
3.3	Variabel Penelitian.....	12
3.4	Definisi Operasional.....	13
3.5	Sampel Penelitian.....	13
3.6	Alat dan Bahan Penelitian.....	14
3.7	Prosedur Penelitian.....	15
3.8	Analisis Data.....	18
3.9	Alur Penelitian.....	19
BAB 4.	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	20
4.1	Hasil Penelitian.....	20
4.2	Hasil Analisis Data.....	21
4.3	Pembahasan.....	22
BAB 5.	KESIMPULAN DAN SARAN.....	26
5.1	Kesimpulan.....	26
5.2	Saran.....	26
	DAFTAR PUSTAKA.....	27
	LAMPIRAN-LAMPIRAN	32

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 <i>Streptococcus mutans</i>	4
Gambar 2.2 Struktur dinding sel bakteri Gram positif.....	4
Gambar 2.3 Kopi Robusta.....	7
Gambar 2.4 Kerangka konsep penelitian.....	10
Gambar 3.1 Hasil Identifikasi <i>S. mutans</i>	15
Gambar 3.2 Ilustrasi gerakan <i>streak</i>	17
Gambar 3.3 Pengukuran pada zona hambat.....	18
Gambar 3.4 Alur penelitian.....	19
Gambar 4.1 Zona hambat di sekitar kertas cakram terhadap <i>S. mutans</i>	20
Gambar 4.2 Zona hambat pasta gigi ekstrak biji kopi robusta.....	20
Gambar 4.3 Diagram aktivitas daya hambat flavonoid terhadap bakteri Gram positif	23

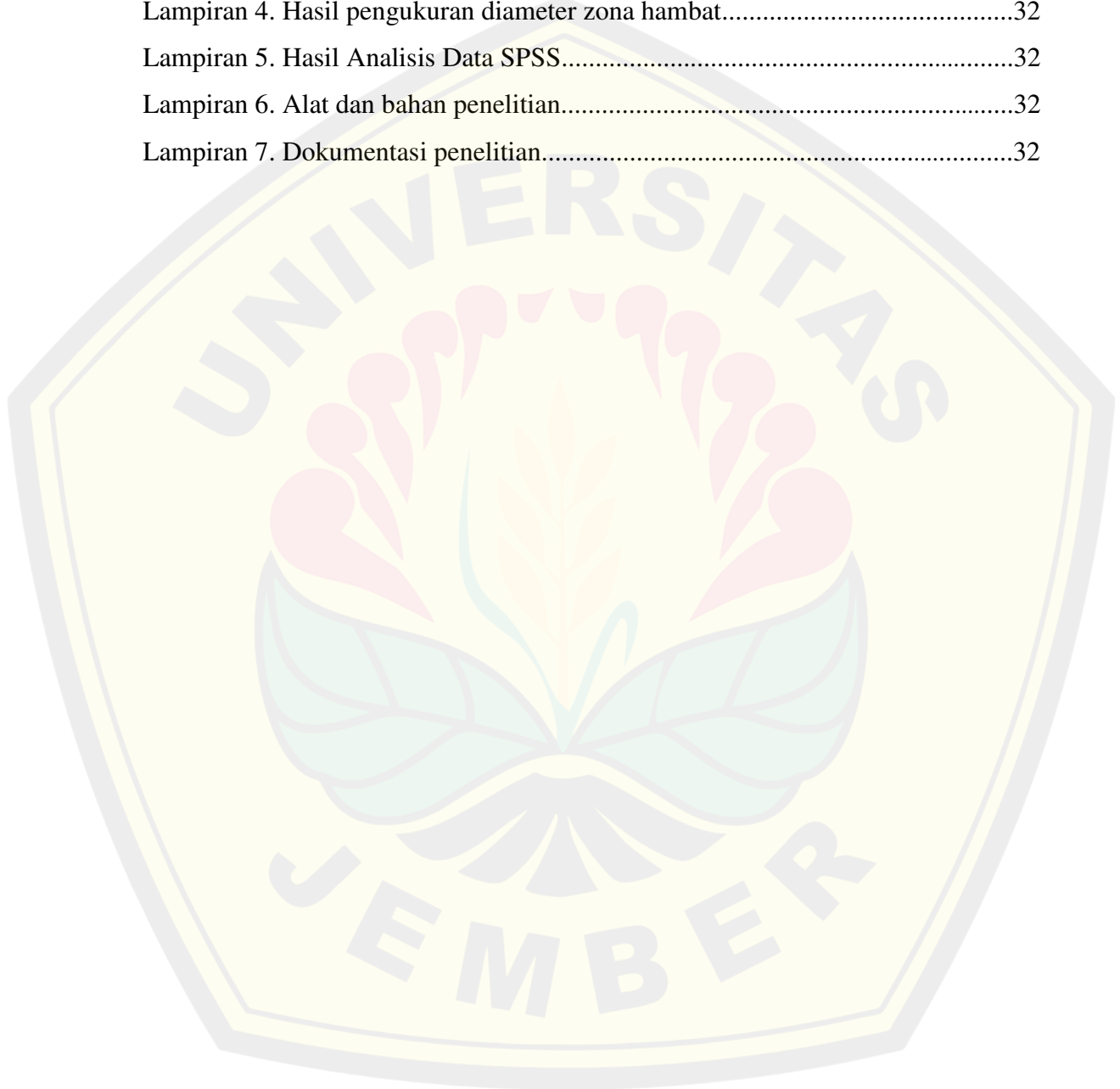
DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Komponen Pasta Gigi.....	6
Tabel 3.1 Formulasi Sediaan Pasta.....	16
Tabel 4.1 Zona hambat pasta gigi ekstrak biji kopi robusta terhadap <i>S. mutans</i>	20
Tabel 4.2 Hasil uji <i>Mann Whitney</i>	21



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. <i>Ethical clearance</i>	32
Lampiran 2. Surat izin penelitian.....	32
Lampiran 3. Surat hasil identifikasi <i>S. mutans</i>	32
Lampiran 4. Hasil pengukuran diameter zona hambat.....	32
Lampiran 5. Hasil Analisis Data SPSS.....	32
Lampiran 6. Alat dan bahan penelitian.....	32
Lampiran 7. Dokumentasi penelitian.....	32



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Streptococcus mutans (*S. mutans*) merupakan bakteri yang berperan penting dalam pembentukan plak gigi yaitu kemampuannya berikatan dengan pelikel gigi yang selanjutnya terbentuk biofilm (Buonavoglia *et al.*, 2022; Newman *et al.*, 2019). Pembentukan plak gigi yang tidak dikontrol dengan baik dapat menimbulkan masalah di rongga mulut yaitu karies gigi dan penyakit periodontal (Samaranayake, 2018). Untuk mencegah hal ini maka diperlukan kontrol plak yang baik dan teratur. Kontrol plak merupakan prosedur untuk mencegah penumpukan plak, kontrol plak dapat dilakukan dengan menyikat gigi menggunakan pasta gigi (Adnyasari *et al.*, 2023).

Pasta gigi merupakan sediaan yang berfungsi untuk membantu membersihkan dan memoles permukaan gigi, mengurangi pembentukan plak, memperkuat gigi terhadap karies, menghilangkan atau mengurangi bau mulut, memberikan rasa segar pada mulut serta memelihara kesehatan gusi (El-Khordagui *et al.*, 2021). Seiring dengan kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi, pasta gigi diinovasi dengan penambahan zat herbal (Meseli *et al.*, 2023). Bahan herbal yang dipakai dalam pasta gigi memiliki fungsi sebagai antiseptik alami (Oroh *et al.*, 2015). Penelitian sebelumnya membuktikan bahwa pasta gigi dengan penambahan bahan herbal lebih efektif dalam menurunkan indeks plak dibandingkan dengan pasta gigi non herbal (Putra *et al.*, 2015; Oroh *et al.*, 2015).

Saat ini, pasta gigi ekstrak biji kopi robusta sedang dikembangkan. Biji kopi robusta merupakan bahan herbal yang terbukti mampu menghambat pertumbuhan bakteri plak gigi (Suhayat, 2015). Selain itu, biji kopi robusta memiliki kandungan flavonoid, kafein, trigonelin, dan asam klorogenat yang telah terbukti memiliki sifat antibakteri (Wei dan Tanokura, 2015). Kandungan senyawa kafein dan asam klorogenat pada kopi robusta lebih tinggi dibandingkan jenis kopi arabika (Farah, 2012). Kawasan perkebunan Jember sendiri merupakan produsen kopi robusta terbanyak ke dua di Jawa Timur (Badan Pusat Statistik Kabupaten Jember, 2019). Ekstrak biji kopi robusta sendiri telah diteliti oleh Murtafiah (2012) membuktikan

bahwa ekstrak biji kopi robusta dengan konsentrasi 12,5%; 25%; 50% dan 100% mampu menghambat pertumbuhan *S. mutans*.

Pasta gigi ekstrak biji kopi robusta telah diteliti sebelumnya oleh Prasasti *et al.* (2022) yang membuktikan bahwa menyikat gigi dengan pasta gigi ekstrak biji kopi robusta konsentrasi 25%; 50% dan 75% mampu menghambat pertumbuhan plak gigi. Pasta gigi ekstrak biji kopi robusta juga telah terbukti memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri Gram negatif. Pasta gigi ekstrak biji kopi robusta dengan konsentrasi 12,5%; 25% dan 50% memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*), sedangkan pada konsentrasi 6,25% tidak memiliki daya hambat (Wulandari *et al.*, 2023). Penelitian Farahdila (2022) telah membuktikan pasta gigi ekstrak biji kopi robusta dengan konsentrasi 12,5%; 25% dan 50% mampu menghambat pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A. actinomycetemcomitans*). Akan tetapi belum ada penelitian pasta gigi ekstrak biji kopi robusta dalam menghambat pertumbuhan *S. mutans*. Maka dari itu, diperlukan penelitian daya hambat pasta gigi ekstrak biji kopi robusta dengan konsentrasi 12,5%; 25% dan 50% dalam menghambat pertumbuhan *S. mutans*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang tersebut maka rumusan masalah yang didapatkan adalah sebagai berikut:

- 1.2.1 Apakah pasta gigi ekstrak biji kopi robusta konsentrasi 12,5%; 25% dan 50% mempunyai daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *S. mutans*?
- 1.2.2 Apakah terdapat perbedaan daya hambat pasta gigi ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*) konsentrasi 12,5%; 25% dan 50% dalam menghambat pertumbuhan *S. mutans*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

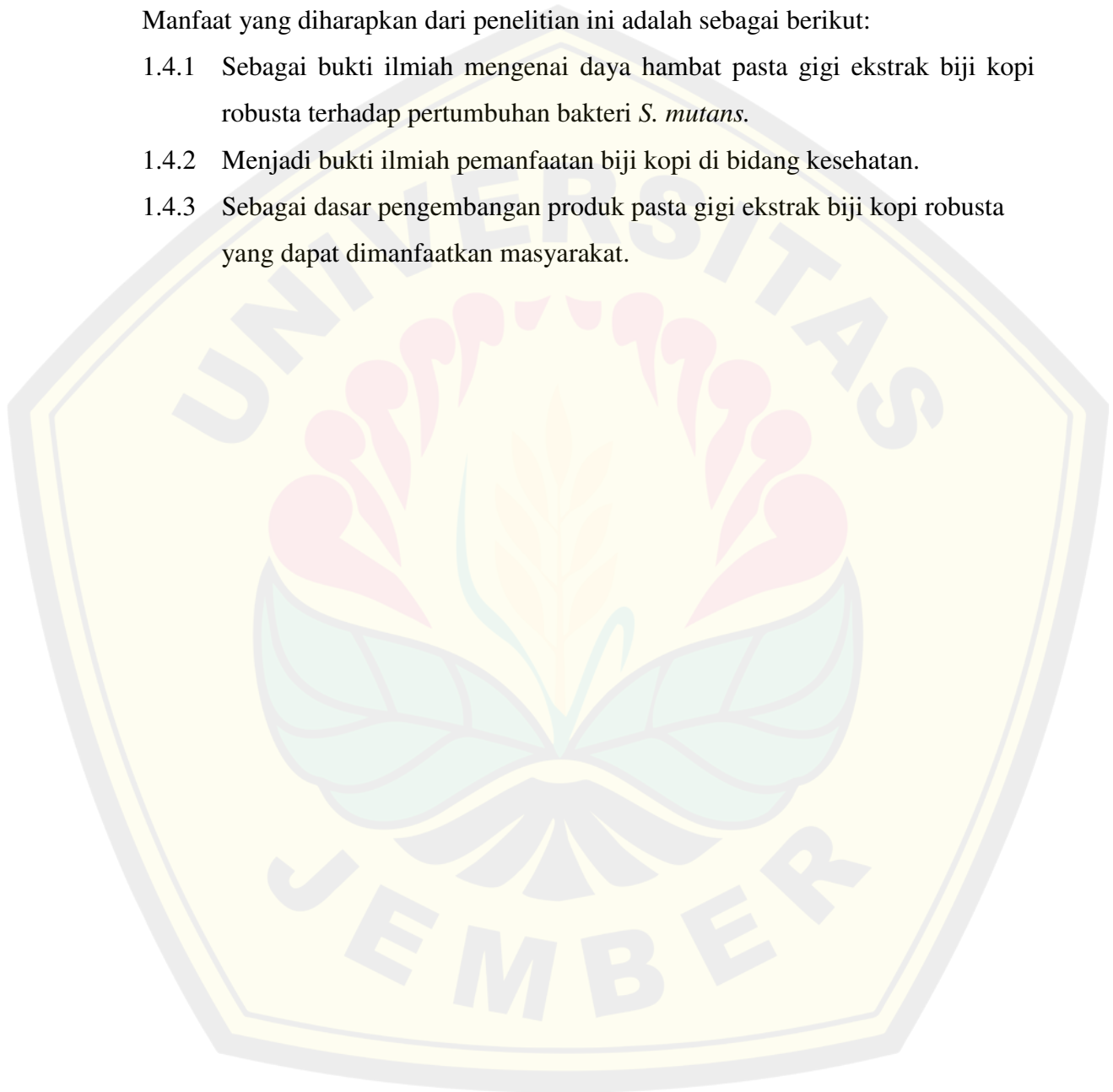
- 1.3.1 Mengkaji daya hambat pasta gigi ekstrak biji kopi robusta konsentrasi 12,5%; 25% dan 50% terhadap pertumbuhan bakteri *S. mutans*.

- 1.3.2 Mengkaji perbedaan daya hambat pasta gigi ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*) konsentrasi 12,5%; 25% dan 50% dalam menghambat pertumbuhan *S. mutans*.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- 1.4.1 Sebagai bukti ilmiah mengenai daya hambat pasta gigi ekstrak biji kopi robusta terhadap pertumbuhan bakteri *S. mutans*.
- 1.4.2 Menjadi bukti ilmiah pemanfaatan biji kopi di bidang kesehatan.
- 1.4.3 Sebagai dasar pengembangan produk pasta gigi ekstrak biji kopi robusta yang dapat dimanfaatkan masyarakat.

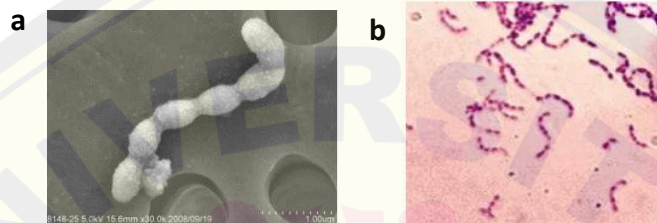


BAB 2. TINJAUAN TEORI

2.1 *Streptococcus mutans*

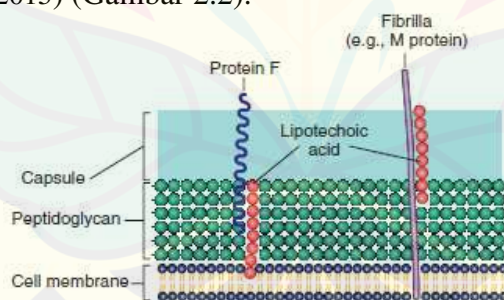
2.1.1 Karakteristik dan morfologi

S. mutans merupakan bakteri berbentuk kokus, non-motil, Gram positif, dan fakultatif anaerob yang artinya dapat menghasilkan energi melalui jalur respirasi ketika terdapat oksigen dan menggunakan jalur fermentasi ketika tidak terdapat oksigen (Samaranayake, 2018).



Gambar 2.1 (a) *S. mutans* dengan mikroskop elektron (Nakano, 2014), (b) *S. mutans* pada pewarnaan Gram (Daboor *et al.*, 2015)

S. mutans merupakan bakteri Gram positif yang memiliki struktur dinding sel yang terdiri dari selapis tebal peptidoglikan yang terdiri dari polisakarida dan rantai peptida pendek yang mampu menyerap zat pewarna kristal violet saat pengecatan gram, serta selapis membran plasma yang terdiri dari fosfolipid bilayer (Mahon *et al.*, 2015) (Gambar 2.2).



Gambar 2.2 Struktur dinding sel bakteri Gram positif (Mahon *et al.*, 2015)

2.1.2 Taksonomi *S. mutans*

Taksonomi dari *S. mutans* adalah sebagai berikut (ITIS, 2023):

- Kingdom : *Bacteria*
- Filum : *Firmicutes*
- Kelas : *Cocci*
- Ordo : *Lactobacillales*
- Famili : *Streptococcaceae*
- Genus : *Streptococcus*
- Spesies : *Streptococcus mutans*

2.1.3 Faktor virulensi

Faktor virulensi *S.mutans* terhadap terjadinya karies gigi terletak pada tiga hal utama, yaitu kemampuan menghasilkan ekstraseluler polisakarida (EPS) berupa glukukan dengan enzim *glucosyltransferase* yang berperan sebagai inisiasi pertumbuhan mikroba, memetabolisme sejumlah besar karbohidrat menjadi asam (asidogenik), dan kemampuan bertahan dalam keadaan asam (asidurik) (Jinheng Li, 2020; Sachidananda dan Mallya, 2020). Serta kemampuan *S.mutans* menghasilkan polisakarida intraseluler berupa glikogen yang berperan sebagai cadangan makanan apabila kadar karbohidrat pada lingkungan rendah (Samaranayake, 2018). Selain itu, *S. mutans* juga berperan penting dalam pembentukan plak gigi yaitu kemampuannya adesi dengan kolagen pelikel gigi.

2.2 Pasta Gigi

2.2.1 Definisi Pasta Gigi

Pasta gigi merupakan sediaan untuk perawatan gigi yang digunakan pada saat menyikat gigi (El-Khordagui *et al*, 2021). Pasta gigi berfungsi untuk mengurangi pembentukan plak, memperkuat gigi terhadap karies, membersihkan dan memoles permukaan gigi, membersihkan dan memoles permukaan gigi, menghilangkan atau mengurangi bau mulut, memberikan rasa segar pada mulut serta memelihara kesehatan gusi (Adnyasari *et al*, 2023).

Seiring dengan kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi, pasta gigi diinovasi dengan penambahan zat herbal (Meseli *et al*, 2023). Zat herbal merupakan bahan aktif yang ditambahkan dalam pasta gigi yang berasal dari tumbuhan yang diharapkan dapat menghambat akumulasi plak (Putra *et al.*, 2015). Bahan herbal yang dipakai dalam pasta gigi memiliki sifat antiseptik alami, anti perdarahan, analgesik, dan anti inflamasi (Oroh *et al.*, 2015). Terdapat beberapa penelitian yang menunjukkan efektivitas pasta gigi herbal dan non herbal dalam mengatasi plak. Hasil penelitian menyatakan bahwa pasta gigi herbal mampu menurunkan indeks plak lebih baik dibandingkan dengan pasta gigi non herbal (Putra *et al.*, 2015; Oroh *et al.*, 2015).

2.2.2 Kandungan Pasta Gigi

Bahan pembuatan pasta gigi dibagi menjadi dua macam, yaitu bahan non aktif dan bahan aktif. Bahan non aktif berhubungan dengan konsistensi, keabrasifan, dan penampilan, sedangkan bahan aktif adalah bahan pada pasta gigi yang memiliki sifat terpeutik (Putra, 2015). Secara umum, pasta gigi memiliki kandungan sebagai berikut (Aspinall *et al*, 2021; Sari *et al*, 2021; Moharamzadeh, 2017) (Tabel 2.1).

Tabel 2.1 Komponen Pasta Gigi

Komponen	%	Kegunaan	Contoh
Bahan Abrasif	50	Membersihkan dan memoles permukaan gigi	<i>natriumbikarbonat</i> , <i>kalsiumkarbonat</i> , <i>kalsium sulfat</i> .
Bahan pelembab (humektan)	10-30	Mencegah penguapan air dan mempertahankan kelembapan pasta.	<i>gliserin</i> , <i>sorbitol</i> , dan air.
Bahan pengikat	1-5	Mengikat semua bahan dan membantu memberi tekstur pada pasta gigi.	<i>karboksimetil selulosa</i> , <i>trietanolamin</i> , <i>carrageenan</i>
Detergen	0,5-2	Menurunkan tegangan permukaan dan melonggarkan ikatan debris dengan gigi yang akan membantu gerakan pembersihan sikat gigi.	<i>Sodium Lauryl Sulphate (SLS)</i> , <i>Natrium N-Lauryl Sarcosinate</i>
Bahan pemberi rasa	1-15	Menutupi rasa bahan-bahan lain yang kurang enak	<i>menthol</i> , <i>peppermint</i> , <i>sakarín</i> , <i>eucalyptus</i>
Air	20-40	pelarut pada sebagian bahan dan mempertahankan konsistensi dari pasta gigi	

2.3 Kopi Robusta

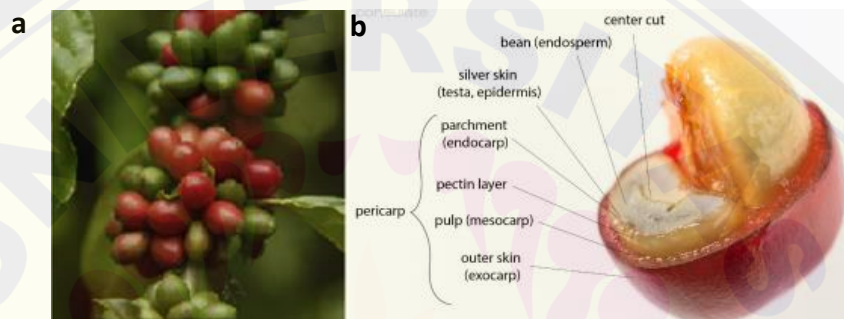
2.3.1 Taksonomi Kopi Robusta

Taksonomi kopi robusta berdasarkan penggolongannya adalah sebagai berikut (ITIS, 2023):

- Kingdom : *Plantae*
- Subkingdom : *Tracheobionta*
- Divisi : *Magnoliophyta*
- Subdivisi : *Spermatophyta*
- Kelas : *Magnolipsida*
- Sub kelas : *Asteridae*
- Genus : *Coffea*
- Spesies : *Coffea robusta*

2.3.2 Morfologi kopi robusta

Tanaman kopi robusta memiliki morfologi daun bulat dengan ujung meruncing, tulang daun menyirip, dan berwarna hijau terang serta memiliki buah berbentuk bulat dengan panjang 8 – 16 mm, diameter sebesar 15 – 18 mm, dan memiliki berat 0,4 g per biji kopi (Najiyanti dan Danarti, 2012). Struktur buah kopi robusta terdiri dari 5 lapisan yang terdiri dari lapisan kulit luar (*exocarp*), lapisan daging buah (*mesocarp*), lapisan kulit tanduk (*endocarp*) yang melapisi dua biji (*endosperm*) yang disebut biji kopi serta dilapisi selapis tipis kulit ari (*epidermis*) (Klingel *et al.*, 2020) (Gambar 2.2)



Gambar 2.3 (a) Buah Kopi Robusta (Arauz *et al.*, 2017), (b) Struktur Buah Kopi Robusta (Klingel *et al.*, 2020)

2.3.3 Kandungan biji kopi robusta

Secara umum, biji kopi mengandung polisakarida, lipid, dan protein sebagai komponen utama, serta kandungan asam amino, gula bebas terutama sukrosa, dan senyawa aktif. Senyawa aktif pada kopi robusta memiliki sifat antibakteri yang terdiri dari flavonoid, kafein, trigonelin, dan asam klorogenat (Wei dan Tanokura, 2015). Menurut Farah (2012) kandungan senyawa antibakteri pada kopi robusta, seperti kafein dan asam klorogenat, lebih tinggi dibandingkan jenis kopi arabika. Kandungan aktif pada biji kopi robusta dijabarkan sebagai berikut:

a. Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa fenolik dan termasuk senyawa metabolit sekunder (Shamsudin *et al.*, 2022). Kandungan flavonoid dalam kopi robusta adalah sebanyak 6 – 8% (Wei dan Tanokura, 2015). Aktivitas antibakteri flavonoid melalui tiga mekanisme, yaitu menghambat atau menekan sintesis asam nukleat dengan mengganggu kerja enzim topoisomerase bakteri yang berperan penting

dalam replikasi DNA, menghambat fungsi membran sitoplasma dengan membentuk ikatan gugus non-polar dengan bagian hidrofobik membran sel serta membentuk ikatan hidrogen antara gugus polar dengan bagian hidrofilik pada permukaan membran yang menyebabkan penurunan fluiditas sehingga metabolisme bakteri terganggu, dan menurunkan metabolisme energi dengan mengganggu kerja enzim (Shamsudin *et al.*, 2022; Biharee *et al.*, 2020).

b. Kafein

Kafein atau 1,3,7-trimethylxanthine merupakan senyawa alkaloid yang memberikan rasa pahit pada kopi. Kandungan kafein pada kopi robusta adalah sebanyak 2,2%-2,8% (Wei dan Tanokura, 2015). Aktivitas antibakteri kafein adalah melalui kemampuannya melewati dinding sel bakteri dan adanya gugus basa yang mengandung nitrogen yang apabila berkontak dengan DNA bakteri mengakibatkan perubahan genetika dan menghambat sintesis DNA sehingga sintesis protein dan enzim berhenti yang akhirnya menyebabkan bakteri lisis (Nonthakaew *et al.*, 2015; Hakima *et al.*, 2020).

c. Trigonelin

Kandungan trigonelin dalam kopi robusta adalah sebanyak 0,7% (Wei dan Tanokura, 2015). Trigonelin merupakan senyawa alkaloid piridin yang memiliki cara kerja dengan mengganggu stabilitas membran sitoplasma bakteri yang menyebabkan ketidakseimbangan dalam fungsi metabolisme bakteri sehingga pertumbuhan bakteri menjadi terhambat (Nuhu, 2014).

d. Asam klorogenat

Asam klorogenat atau senyawa ester 5-caffeoylquinic acid (5-CQA) merupakan komponen polifenol yang terkandung dalam kopi (Arauz *et al.*, 2017). Kandungan asam klorogenat dalam kopi robusta sebesar 6,1 – 11,3 mg per gram biji kopi (Farhaty dan Muchtaridi, 2016). Mekanisme kerja antibakteri asam klorogenat adalah dengan meningkatkan permeabilitas membran luar dan membran plasma sel sehingga menurunkan fungsi pertahanan yang akhirnya terjadi kebocoran nukleotida dan isi sitoplasma (Lou *et al.*, 2011).

2.4 Metode Uji Daya Hambat Bakteri

Aktivitas antibakteri senyawa dapat diuji dengan menggunakan metode difusi dan dilusi (Rollando, 2019).

1) Metode difusi

Metode ini adalah suatu metode berdasarkan berdifusinya zat antimikroba dalam media padat dengan pengamatan pada daerah pertumbuhan. Metode ini dibagi menjadi dua, yaitu (Rollando, 2019):

a. Metode difusi kertas cakram (Kirby-Bauer *test*)

Metode ini dilakukan dengan meletakkan kertas cakram (*disk*) yang mengandung senyawa antimikroba pada permukaan media terinokulasi bakteri uji. Senyawa antimikroba akan berdifusi pada media agar selama inkubasi. Kecepatan difusi senyawa antimikroba melewati media agar tidak secepat kecepatan ekstraksi dari *disk*, oleh karena itu, konsentrasi senyawa antimikroba terbesar adalah yang paling dekat dengan *disk* dan berkurang secara logaritmik dengan bertambahnya jarak dari *disk* (Rollando, 2019).

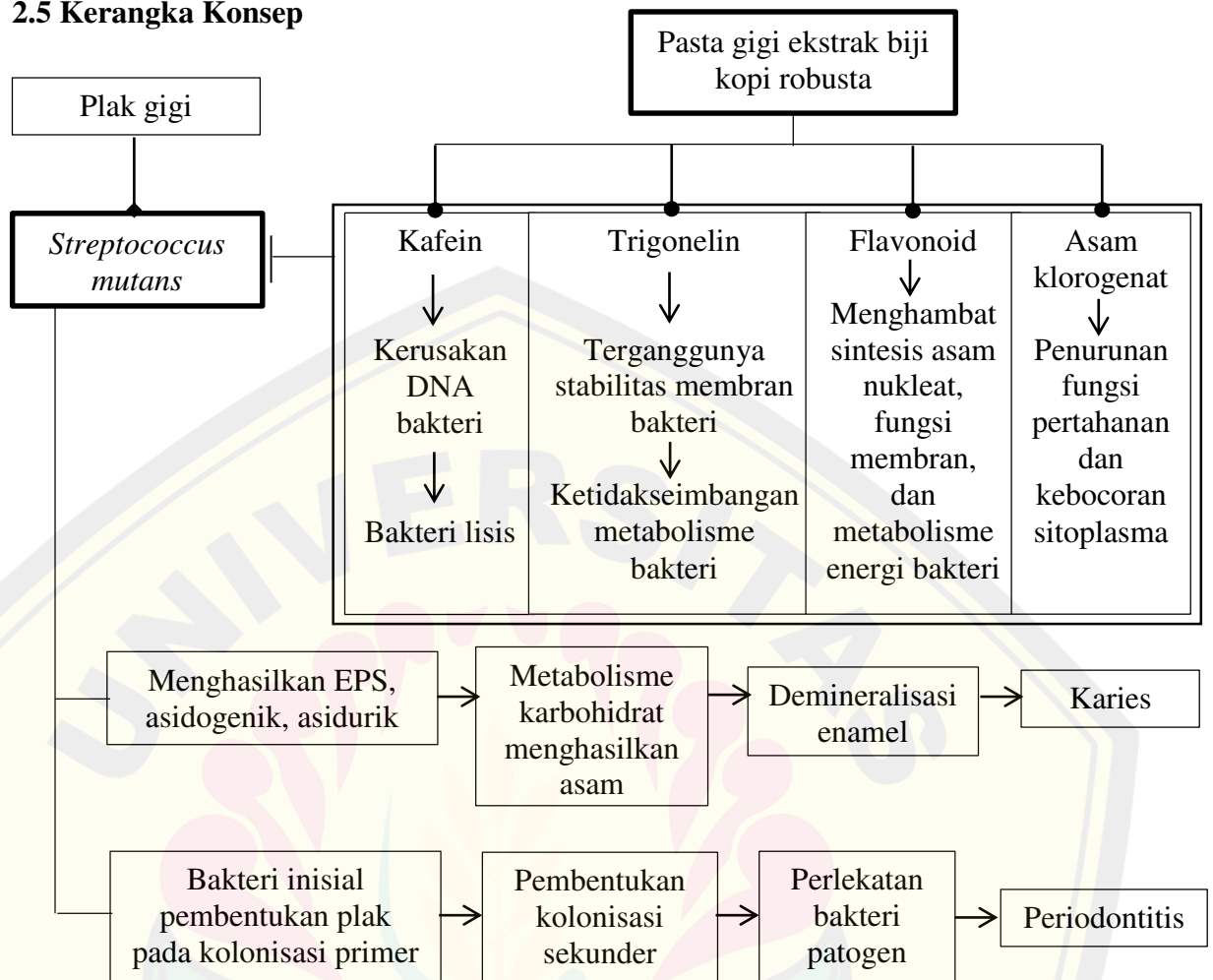
b. Metode difusi sumuran

Metode ini dilakukan dengan cara melubangi media yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji kemudian zat antimikroba diletakan didalamnya (Rollando, 2019). Efektivitas daya antibakteri ditandai dengan ada tidaknya daerah hambatan di sekeliling lubang sumuran (Nurhayati *et al.*, 2020).

2) Metode dilusi

Metode ini digunakan untuk zat antimikroba yang dapat larut sempurna. metode ini dibagi menjadi dua, yaitu metode dilusi cair dan padat. Metode dilusi cair merupakan metode uji antibakteri berdasarkan penghambatan pertumbuhan mikroorganisme pada media cair yang diberi zat antimikroba dengan melihat kekeruhannya. Sedangkan metode dilusi padat dilakukan dengan media padat yang dicairkan dan dicampur dengan zat antimikroba. Efektivitas daya antibakteri pada metode ini diketahui dengan melakukan pengamatan pada konsentrasi terendah yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme (Rollando, 2019).

2.5 Kerangka Konsep



Gambar 2.4 Kerangka konsep penelitian

Keterangan:

- : Mengandung
- : Menyebabkan
- | : Menghambat
- ▭ : Variabel yang diteliti

Pada awal pembentukan plak gigi, yaitu setelah terbentuknya pelikel gigi, terjadi perlekatan awal bakteri yang memiliki molekul adhesin berinteraksi dengan reseptor pelikel gigi. Mikroorganisme *streptococci* merupakan jenis yang paling banyak dijumpai, salah satunya adalah bakteri *Streptococcus mutans*. Perlekatan dan kolonisasi awal ini disebut dengan kolonisasi primer yang memediasi perlekatan baru dengan bakteri oral lainnya yang apabila perlekatan ini terus berlanjut dan berkembang maka dapat terjadi perlekatan dan agregasi dengan

bakteri periodontopatogen seperti *Porphyromonas gingivalis*. Perlekatan dengan bakteri patogen pada plak gigi ini akan menimbulkan respon *host* berupa inflamasi yang apabila tidak adekuat maka menyebabkan periodontitis (Newman *et al.*, 2019). Selain itu, *S.mutans* memiliki faktor virulensi meliputi enzim *glucosyltransferase* yang mampu menghasilkan ekstraseluler polisakarida (EPS) berupa glukukan yang berperan sebagai inisiasi pertumbuhan mikroba, memetabolisme sejumlah besar karbohidrat menjadi asam (asidogenik), dan kemampuan bertahan dalam keadaan asam (asidurik) (Jinheng Li, 2020; Sachidananda dan Mallya, 2020). Asam yang dihasilkan bakteri menyebabkan demineralisasi enamel dan terjadilah karies (Samaranayake, 2018).

Pasta gigi ekstrak biji kopi robusta berpotensi memiliki efek antibakteri yang bisa menghambat pertumbuhan bakteri *S. mutans* oleh karena kandungan senyawa aktifnya seperti flavonoid, kafein, asam klorogenat, dan trigonelin. Flavonoid bekerja dengan tiga mekanisme, yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran, dan menghambat metabolisme energi. Kafein bekerja dengan memengaruhi susunan asam amino dari bakteri sehingga menyebabkan terjadinya perubahan genetik dan menjadi lisis. Asam klorogenat bekerja dengan menurunkan fungsi pertahanan bakteri serta menyebabkan kebocoran sitoplasma. Trigonelin bekerja dengan mengganggu stabilitas membran pada bakteri yang menyebabkan ketidakseimbangan fungsi metabolisme bakteri. Dengan adanya kandungan aktif dari ekstrak biji kopi robusta yang terkandung dalam pasta gigi dengan konsentrasi 12,5%; 25% dan 50% diharapkan mampu menghambat pertumbuhan *S. mutans*.

2.5 Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah:

- 2.5.1. Pasta gigi ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*) konsentrasi 12,5%; 25% dan 50% memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *S. mutans*.
- 2.5.2. Terdapat perbedaan daya hambat pasta gigi ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*) konsentrasi 12,5%; 25% dan 50% dalam menghambat pertumbuhan *S. mutans*.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan merupakan jenis penelitian eksperimental. Rancangan penelitian yang digunakan yaitu *post-test only control group design*.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pembuatan *ethical clearance*. Laboratorium Farmasetika, Fakultas Farmasi, Universitas Jember pembuatan pasta gigi ekstrak biji kopi robusta. Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember untuk identifikasi *S. mutans*. Laboratorium *Bioscience* Rumah Sakit Gigi dan Mulut Universitas Jember untuk penelitian daya antibakteri pasta gigi ekstrak biji kopi robusta terhadap *S. mutans*.

3.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Agustus – Oktober 2023

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah pasta gigi ekstrak biji kopi robusta konsentrasi 12,5%; 25% dan 50%.

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah pertumbuhan *S. mutans*.

3.3.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol pada dalam penelitian ini meliputi media biakan bakteri, suspensi *S. mutans*, biji kopi robusta, suhu dan waktu inkubasi, metode pembuatan pasta gigi, pengukuran zona hambat.

3.4 Definisi Operasional Penelitian

3.4.1 Ekstrak Biji Kopi Robusta

Ekstrak biji kopi robusta merupakan ekstrak yang didapat dari biji kopi hijau robusta (*green been coffee*) dari Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Jember kemudian diekstrak dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% sehingga menghasilkan ekstrak dengan konsentrasi 100%.

3.4.2 Pasta Gigi Ekstrak Biji Kopi Robusta

Sediaan pasta gigi ekstrak biji kopi robusta adalah hasil dari pencampuran bahan pasta plasebo dengan ekstrak biji kopi robusta konsentrasi 12,5%; 25% dan 50%.

3.4.3 *S. mutans*

S. mutans adalah bakteri Gram positif, non-motil, dan bersifat anaerob fakultatif diperoleh dari Laboratorium *Bioscience* Rumah Sakit Gigi dan Mulut Universitas Jember yang diidentifikasi menggunakan pewarnaan gram menghasilkan bentuk kokus Gram positif berwarna ungu di bawah mikroskop dengan pembesaran 400X.

3.4.4 Daya Hambat Pertumbuhan *S. mutans*

Kemampuan pasta gigi ekstrak biji kopi robusta dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. mutans* yang diukur menggunakan metode difusi cakram pada media kultur dengan mengukur diameter zona hambat di daerah sekitar kertas cakram.

3.5 Sampel Penelitian

3.5.1 Pengelompokkan sampel

Sampel yang digunakan terbagi menjadi 2 kelompok, yaitu:

- a. Kelompok perlakuan
 - 1) Kelompok P.12,5% : Pasta gigi ekstrak biji kopi robusta 12,5%
 - 2) Kelompok P.25% : Pasta gigi ekstrak biji kopi robusta 25%

- 3) Kelompok P.50%. : Pasta gigi ekstrak biji kopi robusta 50%
- b. Kelompok kontrol
- 1) Kelompok K(+) : Kontrol positif (Pasta gigi komersial:pasta plasebo = 1:1)
 - 2) Kelompok K(-) : Kontrol negatif (Pasta plasebo)

3.5.2 Jumlah Sampel

Jumlah sampel penelitian dihitung menggunakan rumus Federer (Irmawanti dan Nurhaedah, 2017).

$$\begin{aligned} (k - 1)(r - 1) &\geq 15 \\ r &\geq 4 \end{aligned}$$

Hasil perhitungan didapatkan jumlah sampel minimal yang digunakan sebesar 4 sampel untuk setiap kelompok sehingga total sampel berjumlah 20.

3.6 Alat dan Bahan Penelitian

3.6.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi tabung reaksi (Pyrex, *Japan*), *petridish* (Pyrex, *Japan*), inkubator (Binder, *USA*), ose, *autoclave* (Smic, *China*), *vortex* (Smic, *China*), pipet ukur (Pyrex, *Japan*), *cotton swab* (Onemed, Indonesia), *paper disk* berdiameter 6 mm (Oxoid, *China*), *spektrofotometer* (Milton Roy, *Germany*), mortar dan pastle, *laminar flow* (Suzhou Antai Air Tech Co_LTD type HF 100, *China*), *object glass*, jangka sorong (Medsey, *Italy*), mikropipet (HumaPette, *Germany*), neraca analitik (Adam, *United Kingdom*), *handscoon* (Maxter, Indonesia).

3.6.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah media *Mueller-Hilton Broth* (MHB) (Millipore, *Germany*), media *Mueller-Hilton Agar* (MHA) (Millipore, *Germany*), aquades steril, alkohol 70% (Onemed, Indonesia), pewarna safranin (Mediss, Indonesia), larutan lugol (Mediss, Indonesia), pewarna kristal violet (Mediss, Indonesia), bakteri *S. mutans* yang diperoleh dari Laboratorium *Bioscience* Rumah Sakit Gigi dan Mulut Universitas Jember, ekstrak biji kopi robusta dari Departemen Periodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas

Jember, magnesium karbonat (Merck, *Germany*), kalsium karbonat (Merck, *Germany*), gliserin (Merck, *Germany*), propilen glikol (Merck, *Germany*), trietanolamin (Merck, *Germany*), oleum menthae piperthae (Merck, *Germany*).

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Tahap Persiapan

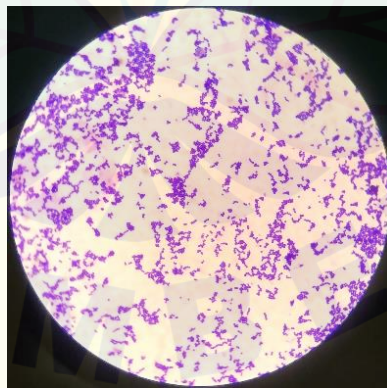
Tahap persiapan yang dilakukan pada penelitian ini adalah:

a. Sterilisasi alat

Alat yang terbuat dari plastik dilakukan sterilisasi dengan menggunakan alkohol 70%. Alat yang berbahan dasar kaca dan *stainless* disterilisasi pada *autoclave* dengan suhu 160°C selama 60 menit.

b. Identifikasi *S. mutans*

Koloni *S. mutans* diambil sebanyak 1-2 ose, diolesi di atas kaca preparat, difiksasi di atas bunsen. Kristal violet ditetaskan pada kaca preparat, ditunggu 3 menit lalu dibilas dengan air. Larutan lugol ditetaskan, ditunggu 1 menit dan dibilas. Kaca preparat dicelupkan ke dalam alkohol, digoyangkan selama 30 detik. Safranin ditetaskan, ditunggu 2 menit, dibilas dan keringkan. Setelah preparat mengering, dilakukan pengamatan menggunakan mikroskop cahaya pembesaran 400X (Djunaidy, 2020). Hasil identifikasi menampilkan *S. mutans* berbentuk kokus Gram positif berwarna ungu (Gambar 3.1).



Gambar 3.1 Hasil Identifikasi *S. mutans*

c. Pembuatan pasta gigi ekstrak biji kopi robusta

1) Pembuatan pasta plasebo

Pembuatan pasta plasebo dilakukan dengan mencampurkan seluruh bahan sesuai dengan formulasi (Tabel 3.1) dengan mortar dan pastle dan diaduk hingga homogen (Prasasti *et al.*, 2022).

Tabel 3.1 Formulasi Sediaan Pasta (Prasasti *et al.*, 2022)

Bahan	Jumlah
Magnesium Karbonat	26%
Kalsium Karbonat	29%
Gliserin	6%
Propilen Glikol	8%
Tea (Trietanolamin)	4%
Akuades Steril	25%
Oleum Menthae Piperithae	2%

2) Pembuatan pasta gigi ekstrak biji kopi robusta

pembuatan dilakukan dengan mencampur ekstrak biji kopi robusta dengan pasta plasebo dengan mortar dan pastle. Konsentrasi 12,5% dibuat dengan mencampurkan 12,5 g ekstrak dengan 87,5 g plasebo, konsentrasi 25% dengan mencampurkan 25 g ekstrak dengan 75 g plasebo, dan konsentrasi 50% dengan mencampurkan 50 g ekstrak dengan 50 g pasta plasebo (Prasasti *et al.*, 2022).

d. Pembuatan suspensi *S. mutans*

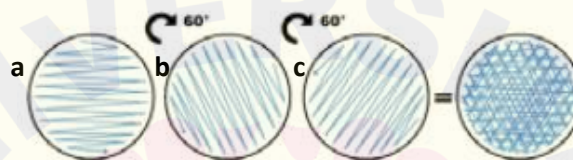
Sebanyak 2 ml larutan MHB steril dalam tabung reaksi ditambahkan 1 ose *S. mutans* dan diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam. Kemudian dikocok menggunakan vortex dan diukur absorbansi standar Mc Farland 0,5 menggunakan spektrofotometer (Wulandari *et al.*, 2023).

e. Pembuatan media MHA (*Mueller-Hilton Agar*)

Sebanyak 10 gram bubuk MHA dicampur 250 ml aquadest steril dalam tabung Erlenmeyer dan dimasukkan ke dalam *waterbath* hingga homogen. MHA dituangkan ke *petridish* dan disterilisasi dalam *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit. Media yang sudah steril diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam (Handayani *et al.*, 2016).

3.7.2 Tahap perlakuan

Uji daya hambat terhadap *S. mutans* ditentukan dengan metode difusi cakram (*Kirby-Bauer*). Tahap pertama adalah menginokulasikan suspensi *S. mutans* ke media agar. *Cotton swab* dicelupkan ke dalam tabung yang berisi suspensi *S. mutans* lalu tekan *cotton swab* ke dinding tabung agar suspensi tidak menetes. Selanjutnya *S. mutans* diinokulasikan pada media MHA dengan gerakan *streak* secara zig-zag ke seluruh permukaan media agar sebanyak tiga kali. Setiap kali melakukan gerakan *streak* satu kali, *petridish* diputar sekitar 60° untuk memastikan inokulasi tersitribusi secara merata (Gambar 3.2) (Hudzicki, 2016).



Gambar 3.2 ilustrasi gerakan *streak* dengan pola zig-zag (a) gerakan pertama, (b) gerakan kedua setelah *petridish* diputar 60° , (c) gerakan ketiga setelah *petridish* diputar 60°

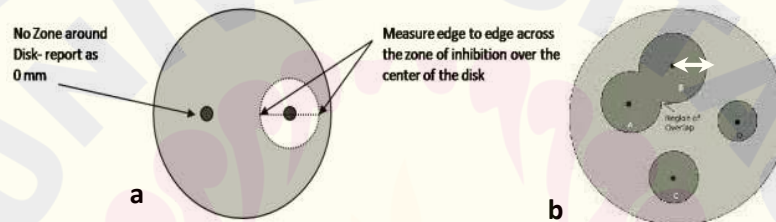
Tahap selanjutnya adalah uji daya hambat dengan metode difusi cakram (*Disk Diffusion*). Kertas cakram berdiameter 6mm direndam masing-masing di dalam sampel penelitian pasta gigi ekstrak biji kopi robusta konsentrasi 12,5%; 25% dan 50%, pasta plasebo sebagai kontrol negatif, dan pasta gigi komersial sebagai kontrol positif yang diencerkan dengan kontrol negatif dengan perbandingan 1:1 selama 30 menit hingga bahan pasta menyerap ke kertas cakram. Selanjutnya kertas cakram diletakkan pada permukaan media *agar* yang sudah diinokulasi bakteri. Media diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam (Dewanti & Yani, 2022).

3.7.3 Pengukuran zona hambat

Pengukuran zona hambat dilakukan dengan mengukur diameter zona hambat yang terbentuk pada media agar yang telah diinkubasi menggunakan jangka sorong. Semua pengukuran dilakukan dengan pengamatan visual secara langsung pada bagian belakang *petridish* di atas permukaan berwarna hitam (Hudzicki, 2016). Pengukuran zona hambat dilakukan oleh 3 orang pengamat berbeda yang

telah dilakukan *validitas inter-examiner* menunjukkan $p < 0,05$ yang artinya data yang dihasilkan valid (Lampiran 5.5)

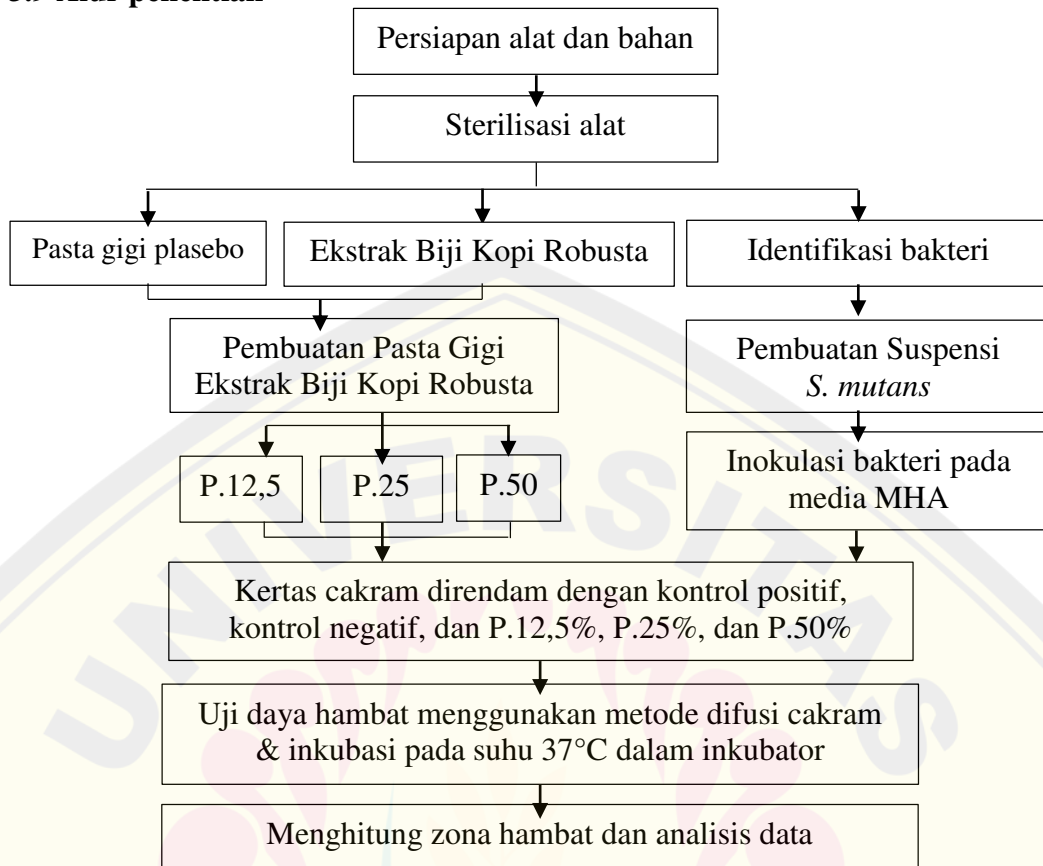
Pengukuran zona hambat dengan diameter hambat berbentuk lingkaran dilakukan dengan mengukur dari tepi zona hambat hingga tepi lainnya dengan melewati pusat kertas cakram. Apabila tidak nampak zona hambat yang terbentuk maka diameter zona hambat bernilai 0 (Hudzicki, 2016). Apabila zona hambat terlalu besar hingga tumpang tindih maka pengukuran dilakukan dengan mengukur jari-jari zona hambat dari pusat kertas cakram hingga ke tepi yang tidak mengalami tumpang tindih lalu dikalikan 2 (Hudzicki, 2016; Bhargav *et al.*, 2016) (Gambar 3.3).



Gambar 3.3 (a) Pengukuran pada zona hambat berbentuk lingkaran dan pada kertas cakram tidak terbentuk zona hambat (Hudzicki, 2016), (b) pengukuran zona hambat tumpang tindih dengan mengukur jari-jari (Hudzicki, 2016; Bhargav *et al.*, 2016)

3.8 Analisis data

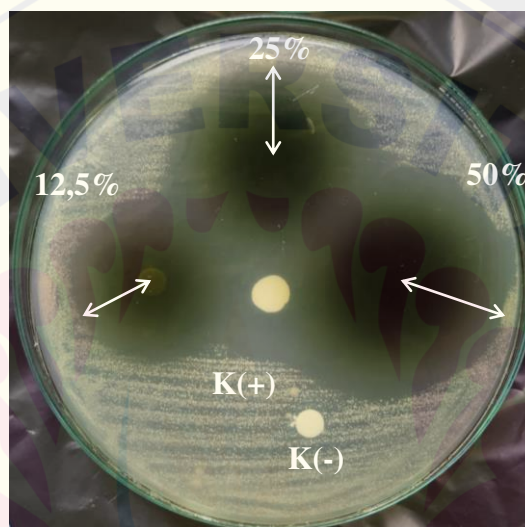
Data hasil pengamatan dirata-rata dan diolah menjadi standar deviasi dan dianalisis dengan menggunakan *statistical product and service solutions* (SPSS). Data diuji normalitasnya dengan uji *Shapiro Wilk* dan uji homogenitas dengan uji *Levene*. Data hasil penelitian berdistribusi normal ($p > 0,05$) namun tidak homogen ($p < 0,05$), selanjutnya dilakukan uji non parametrik uji beda *Kruskal Wallis* untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan yang signifikan pada kelompok sampel dan dilakukan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui perbedaan signifikan antar kelompok sampel.

3.9 Alur penelitian**Gambar 3.4** Alur Penelitian

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Hasil penelitian daya hambat pasta gigi ekstrak biji kopi robusta terhadap pertumbuhan *S. mutans* dengan metode difusi cakram menunjukkan terbentuknya zona hambat pada kelompok pasta gigi ekstrak biji kopi robusta konsentrasi 12,5%; 25% dan 50% dan pada kelompok K(+). Pada kelompok K(-) tidak terbentuk zona hambat (Gambar 4.1 dan Tabel 4.1)



Gambar 4.1 Zona hambat pasta gigi ekstrak biji kopi robusta konsentrasi 12,5%; 25% dan 50% terhadap *S. mutans* (Tanda panah)

Tabel 4.1 Zona hambat pasta gigi ekstrak biji kopi robusta terhadap *S. mutans* (mm)

Kelompok	N	Mean±SD
Konsentrasi 50%	4	50,57±1,18
Konsentrasi 25%	4	43,40±2,43
Konsentrasi 12,5%	4	33,41±1,37
K(-)	4	0,00±0,00

Keterangan:

12,5% : Pasta gigi ekstrak biji kopi robusta 12,5%

25% : Pasta gigi ekstrak biji kopi robusta 25%

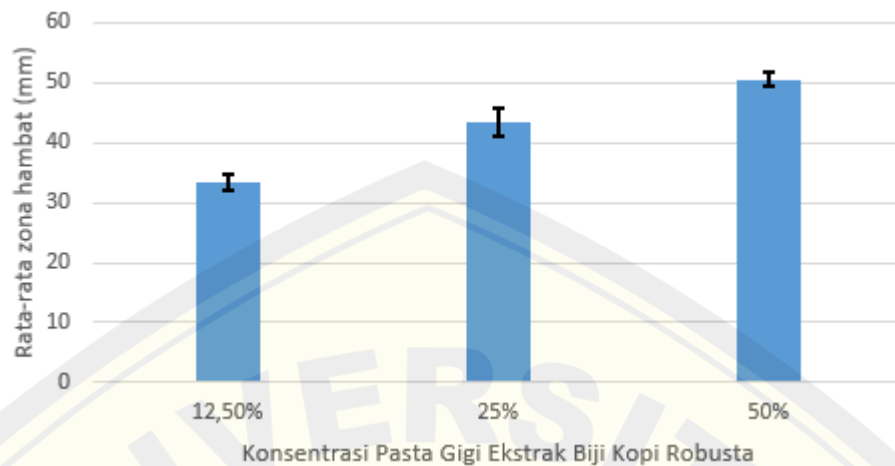
50% : Pasta gigi ekstrak biji kopi robusta 50%

K(+) : Kontrol positif (Pasta gigi komersial:pasta plasebo = 1:1)

K(-) : Kontrol negatif (Pasta plasebo)

Hasil penelitian menunjukkan zona hambat tertinggi terletak pada pasta gigi ekstrak biji kopi robusta konsentrasi 50% yaitu sebesar 50,57±1,18 mm dan zona

hambat terendah ditunjukkan pada pasta gigi ekstrak biji kopi robusta konsentrasi 12,5% yaitu sebesar $33,41 \pm 1,37$ mm (Tabel 4.1 dan Gambar 4.2).



Gambar 4.2 Zona hambat pasta gigi ekstrak biji kopi robusta terhadap *S. mutans*

4.2 Analisis Data

Hasil uji analisis normalitas data penelitian dengan uji *Shapiro-wilk* menunjukkan nilai signifikansi $p > 0,05$ yang artinya data terdistribusi normal (Lampiran 5.1). Data dilakukan uji homogenitas *Levene test* menunjukkan hasil nilai signifikansi $p < 0,05$ yaitu sebesar 0,010 yang artinya data tidak homogen (Lampiran 5.2). Hasil menunjukkan data tidak homogen sehingga dilakukan uji statistik non parametrik *Kruskal Wallis* menunjukkan hasil $p < 0,05$ yaitu sebesar 0,002 yang artinya terdapat perbedaan yang signifikan pada kelompok sampel (Lampiran 5.3). Selanjutnya, data diuji dengan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui letak spesifik perbedaan signifikan antar kelompok sampel, hasil uji menunjukkan $p < 0,05$ yang artinya terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok sampel (Tabel 4.2).

Tabel 4.2 Hasil uji *Mann Whitney*

Kelompok	12,5%	25%	50%
K(-)	0,014*	0,014*	0,014*
12,5%	-	0,021*	0,021*
25%		-	0,021*
50%			-

Keterangan: Signifikan (*)

4.3 Pembahasan

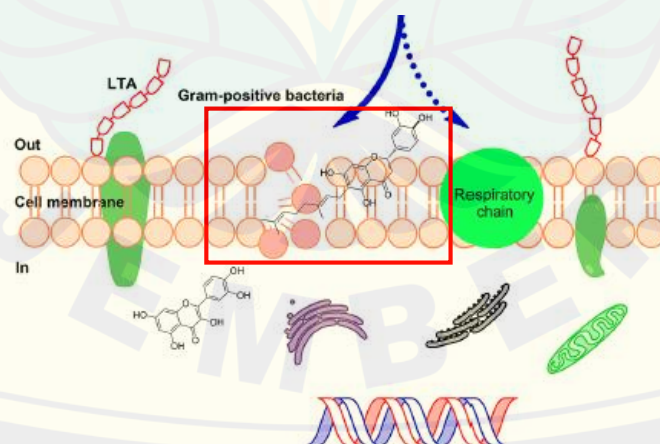
S. mutans merupakan bakteri pada plak gigi yang dapat menyebabkan karies gigi dan merupakan salah satu bakteri yang berperan penting dalam menimbulkan penyakit periodontal (Newman *et al.*, 2019; Buonavoglia *et al.*, 2022). Pencegahan karies gigi dan penyakit periodontal diperlukan kontrol plak yang dapat dilakukan dengan menyikat gigi dengan pasta gigi (Adnyasari *et al.*, 2023). Pasta gigi dengan penambahan bahan herbal telah terbukti lebih efektif dalam menurunkan indeks plak dibandingkan dengan pasta gigi non herbal (Putra *et al.*, 2015; Oroh *et al.*, 2015). Prasasti *et al.* (2022) telah membuktikan dalam penelitiannya bahwa menyikat gigi menggunakan pasta gigi ekstrak biji kopi robusta konsentrasi 25%; 50% dan 75% dapat menghambat pertumbuhan plak gigi.

Hasil penelitian ini menunjukkan pasta gigi ekstrak biji kopi robusta konsentrasi 12,5%; 25% dan 50% memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *S. mutans* yang dibuktikan dengan terbentuknya zona hambat di sekeliling kertas cakram. Zona hambat ini menunjukkan pertumbuhan bakteri terhambat di daerah tersebut yang ditandai dengan tidak terdapatnya pembentukan koloni bakteri. Kekuatan daya hambat menurut kriteria Davis dan Stout yang terbentuk pada pasta gigi ekstrak biji kopi robusta konsentrasi 12,5%; 25% dan 50% termasuk sangat kuat karena zona yang terbentuk lebih dari 20mm (Sumilat, 2019). Sebelumnya, Murtafiah (2012) telah membuktikan bahwa ekstrak biji kopi robusta dengan konsentrasi 12,5%; 25%; 50% dan 100% mampu menghambat pertumbuhan *S. mutans*. Pasta gigi ekstrak biji kopi robusta menghasilkan zona hambat lebih besar dibandingkan dengan ekstrak biji kopi robusta pada penelitian Murtafiah (2012).

Kemampuan daya hambat pasta gigi ekstrak biji kopi robusta terhadap pertumbuhan *S. mutans* pada penelitian ini diduga karena senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak biji kopi robusta. Hal ini dibuktikan dengan tidak terbentuknya zona hambat pada kontrol negatif yaitu pasta gigi plasebo. Pasta gigi plasebo yang digunakan dalam penelitian ini merupakan pasta gigi yang tidak mengandung bahan antibakteri, namun hanya terdapat bahan dasar pasta gigi. Senyawa aktif pada biji kopi robusta yang memiliki sifat antibakteri terdiri dari flavonoid, kafein, trigonelin dan asam klorogenat (Wei dan Tanokura, 2015). Hal ini

didukung dengan Farah (2012) yang menyatakan bahwa senyawa aktif yang berperan sebagai antibakteri dalam biji kopi robusta adalah flavonoid, kafein, trigonelin dan asam klorogenat dengan kandungan senyawa antibakteri kafein dan asam klorogenat pada kopi robusta lebih tinggi dibandingkan jenis kopi lainnya.

Flavonoid yang terkandung dalam biji kopi robusta berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Hal ini didukung oleh Yuan (2021) yang melaporkan penelitian aktivitas dan mekanisme antibakteri senyawa flavonoid terbukti mampu menghambat bakteri gram positif *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, dan *Bacillus subtilis*. Dalam penelitian Yuan (2021) menjelaskan mekanisme flavonoid sebagai antibakteri yaitu kemampuannya merusak dinding sel bakteri sehingga dapat memasuki sel (Gambar 4.3). Kandungan flavonoid dalam kopi robusta adalah sebanyak 6 – 8% (Wei dan Tanokura, 2015). Secara rinci, aktivitas antibakteri flavonoid melalui tiga mekanisme, yaitu menghambat fungsi membran sitoplasma dengan membentuk ikatan gugus non-polar dengan bagian hidrofobik membran sel dan membentuk ikatan hidrogen antara gugus polar dengan bagian hidrofilik pada permukaan membran yang menyebabkan penurunan fluiditas sehingga metabolisme bakteri terganggu, menghambat atau menekan sintesis asam nukleat dengan mengganggu kerja enzim topoisomerase bakteri yang berperan penting dalam replikasi DNA, dan menurunkan metabolisme energi dengan mengganggu kerja enzim ATPase (Shamsudin *et al.*, 2022; Biharee *et al.*, 2020).



Gambar 4.3 Diagram aktivitas daya hambat flavonoid terhadap bakteri Gram positif.

Ikatan flavonoid dengan membran sel sehingga terjadi kerusakan (Yuan, 2021)

Kandungan lainnya yang berperan sebagai antibakteri adalah kafein. Kafein atau 1,3,7-trimethylxanthine merupakan senyawa alkaloid yang memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri (Nonthakaew *et al.*, 2015). Asumsi ini didukung penelitian yang dilakukan oleh Akhlaghi (2019) tentang uji aktivitas antibakteri ekstrak kopi yang mengandung senyawa antibakteri kafein mampu menghambat pertumbuhan *S. mutans* dan *Lactobacillus plantarum*. Kandungan kafein dalam biji kopi robusta adalah sebanyak 2,2%-2,8% (Wei dan Tanokura, 2015). Aktivitas antibakteri kafein yaitu kemampuannya melewati dinding sel bakteri dan adanya kandungan gugus basa yang mengandung nitrogen yang apabila berkontak dengan DNA bakteri mengakibatkan perubahan genetika dan menghambat sintesis DNA sehingga sintesis protein dan enzim berhenti yang akhirnya menyebabkan bakteri lisis (Nonthakaew *et al.*, 2015; Hakima *et al.*, 2020).

Kandungan trigonelin dalam biji kopi robusta merupakan senyawa yang menyebabkan pertumbuhan bakteri terhambat. Hal ini didukung penelitian Nuhu (2014) yang menyatakan bahwa senyawa trigonelin yang terkandung dalam ekstrak biji kopi robusta berkorelasi positif terhadap penurunan formasi biofilm oleh *S. mutans* melalui aksi bakteriostatiknya. Trigonelin adalah senyawa alkaloid piridin, kandungan trigonelin dalam biji kopi robusta adalah sebanyak 0,7% (Wei dan Tanokura, 2015). Aktivitas antibakteri trigonelin adalah dengan mengganggu stabilitas membran sitoplasma bakteri sehingga menyebabkan ketidakseimbangan dalam fungsi metabolisme bakteri sehingga pertumbuhan bakteri menjadi terhambat (Nuhu, 2014).

Asam klorogenat atau senyawa ester 5-caffeoylquinic acid (5-CQA) merupakan komponen polifenol yang terkandung dalam biji kopi robusta memiliki daya antibakteri (Arauz *et al.*, 2017). Pernyataan ini didukung oleh Lou *et al.* (2011) yang meneliti aktivitas senyawa asam klorogenat yang terkandung dalam biji kopi robusta sebagai antibakteri, hasil penelitiannya menunjukkan bahwa senyawa asam klorogenat dapat menghambat bakteri jenis gram positif sebesar 20-80 µg/ml maupun bakteri gram negatif sebesar 20-40 µg/ml. Kandungan asam klorogenat dalam biji kopi robusta sebesar 6,1 – 11,3 mg per gram biji kopi (Farhaty dan Muchtaridi, 2016). Mekanisme kerja antibakteri asam klorogenat adalah dengan meningkatkan

permeabilitas membran luar dan membran plasma sel sehingga menurunkan fungsi pertahanan yang akhirnya terjadi kebocoran nukleotida dan isi sitoplasma (Lou *et al.*, 2011). Akan tetapi dalam penelitian ini belum dilakukan pengamatan mekanisme dari masing-masing zat antibakteri yang terkandung dalam pasta gigi ekstrak biji kopi robusta.

Hasil analisis data menunjukkan bahwa zona hambat yang terbentuk memiliki perbedaan yang signifikan antar tiap kelompok sampel pasta gigi ekstrak biji kopi robusta konsentrasi 12,5%; 25% dan 50% dengan konsentrasi 50% menghasilkan zona hambat yang lebih besar signifikan dibandingkan dengan konsentrasi lainnya yaitu sebesar $50,57 \pm 1,18$ mm. Hal ini terjadi diduga karena komposisi ekstrak biji kopi robusta yang mengandung zat aktif pada konsentrasi 50% lebih banyak dibandingkan dengan konsentrasi lainnya. Hal ini sejalan dengan penelitian Meidina (2015) yang menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak biji kopi robusta maka semakin banyak kandungan zat aktif di dalamnya.

Hasil penelitian ini membuktikan bahwa pasta gigi ekstrak biji kopi robusta konsentrasi 12,5%; 25% dan 50% mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif yaitu *S. mutans*. Sebelumnya, penelitian Prasasti *et al.* (2022) telah membuktikan bahwa menyikat gigi dengan pasta gigi ekstrak biji kopi robusta konsentrasi 25%; 50% dan 75% dapat menghambat pertumbuhan plak gigi. Pasta gigi ekstrak biji kopi robusta telah diteliti daya hambatnya terhadap bakteri Gram negatif yaitu oleh Wulandari *et al.* (2023) yang telah membuktikan bahwa pasta gigi ekstrak biji kopi robusta konsentrasi 12,5%; 25% dan 50% mampu menghambat pertumbuhan *P. gingivalis* dan penelitian Farahdila (2022) yang telah membuktikan pasta gigi ekstrak biji kopi robusta dengan konsentrasi yang sama mampu menghambat pertumbuhan *A. Actinomycescomitans*. Maka dari itu, hasil penelitian ini melengkapi penelitian-penelitian sebelumnya sehingga pasta gigi ini dapat dikembangkan lebih lanjut sebagai produk yang dapat dijual di pasaran, akan tetapi perlu adanya penelitian lebih lanjut terkait biokompatibilitas pasta gigi ekstrak biji kopi robusta terhadap jaringan rongga mulut dan penelitian yang mengamati komposisi serta mekanisme senyawa aktif yang terdapat dalam pasta gigi ekstrak biji kopi robusta.

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Pasta gigi ekstrak biji kopi robusta konsentrasi 12,5%; 25% dan 50% memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *S. mutans*
2. Konsentrasi 50% menghasilkan zona hambat yang paling besar dalam menghambat pertumbuhan *S. mutans*.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai biokompatibilitas pasta gigi ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*) terhadap jaringan rongga mulut.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai komposisi dan mekanisme kerja senyawa aktif yang terdapat dalam pasta gigi ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*) dalam menghambat *S. mutans*.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pasta gigi ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*) sebagai antibakteri secara *in vivo* dan klinis.

DAFTAR PUSTAKA

- Adnyasari, Ni Luh P.S., D. Syahriel, I.G.A.D Haryanai. 2023. Plaque control in periodontal disease. *Interdental Jurnal Kedokteran Gigi*. 19 (1): 55-60.
- Akhlaghi, Najmeh., M. Sadeghi, F. Fazeli, S. Akhlaghi, M. Menati, M. Sadeghi. 2019. The antibacterial effects of coffee extract, chlorhexidine, and fluoride against *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus plantarum* : an *in vitro* study. *Dent res Journal*. 16(5): 346-353.
- Arauz, J., E.R. Tovar, P. Muriel. 2017. Coffee and the liver: chemical composition of coffee. *Liver Pathophysiology*. Elsevier.
- Aspinall, Sam R., J. K. Parker, V.V. Khutoryanskiy. 2021. Role of mucoadhesive polymers in retention of toothpaste in the oral cavity. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 208: 8-18.
- Badan Pusat Statistik Kabupaten Jember. 2019. Kabupaten Jember dalam Angka 2019. Jember: BPS Kabupaten Jember.
- Bhargav, H. S., S. Shastri, P. S. Purushothama. 2016. Measurement of the zone of inhibition of an antibiotic. *IEEE 6th International Conference on Advances Computing*.
- Biharee, B., A. Sharma, A. Kumar, V. Jaitak. 2020. Antimicrobial flavonoids as a potential substitute for overcoming antimicrobial resistance. *Fisioterapia*. 146 (104720): 4-22.
- Buonavoglia, A., A. Trotta, M. Camero, M. Cordisco, M. M. Dimuccio, and M. Corrente. 2022. *Streptococcus mutans* associated with endo-periodontal lesions in intact teeth. *Applied Science*. 12(11837): 1-8.
- Daboor, S.M., F. Syed S. M, M. Salm Al-Azab, dkk. 2015. A review on *Streptococcus mutans* with its disease dental caries, dental plaque and endocarditis. *Indian J. Microbiol Research*. 2(2): 76-82.
- Dewanti, I. D. A. R., dan Yani, R. W. E. 2022. The toothpaste's containing coffee bean skin demonstrated the specific physicochemical properties, inhibited the growth of *Streptococcus mutans* and increased the viability of neutrophil. *Journal of International Dental and Medical Research*, 15(1): 66-71.

- Djunaidy, V. P., D. K. T Putri, dan R. H. D. Setyawardhana. 2020. Pengaruh kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*) terhadap jumlah koloni interaksi *Streptococcus sanguinis* dan *Streptococcus mutans* secara in vitro. *Jurnal Kedokteran Gigi*. 4 (3): 101 – 121.
- El-Khordagui, Labiba, S.E. Badawey, L.A. Heikal. 2021. *Application of biosurfactants in the production of personal care products, and household detergents and industrial and institutional cleaners*. English: Elsevier.
- Farah, A. 2012. *Coffee: Emerging Health Effects And Disease Prevention, First Ed*. John Willey & Sons, Inc and Institute of Food Technologists (USA): Wiley Blackwell Publishing Ltd.
- Farahdila N A. 2022. Daya hambat pasta gigi ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*) terhadap pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Farhaty, N., Muchtaridi. 2016. Tinjauan kimia dan aspek farmakologi senyawa pada biji kopi. *Farmaka*. 14 (1): 214 - 27.
- Hajishnegallis, G., T. Chavakis, dan J. D. Lambris. 2021. *Current Understanding of Periodontal Disease Pathogenesis and Targets For Host-Modulation Therapy*. National Center for Biotechnology Information.
- Hakima, A. N., T.Ernawati, dan H. Harmono. 2020. Daya hambat ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*) terhadap pertumbuhan *Fusobacterium nucleatum*. *Stomatognatic-Jurnal Kedokteran gigi*. 17(1): 20-24.
- Hidayat, Dadang D., Y. Ikrawan, N.Y. Harin, M. Furqon, A. Rahayuningtyas, A. Sudaryanto, D. Sagita. 2023. Physiochemical and sensory attributes of robusta coffee as influenced by sorbitol concentration and roasting time. *Jurnal Pelita Perkebunan*. 39 (1): 43-55.
- Hudzicki, J. 2016. *Kirby-bauer disk diffusion susceptibility test protocol*. American Society of Microbiology
- Integrated Taxonomic Information System. 2023. *Coffea canephora* Pierra ex A. Froehner.
- Integrated Taxonomic Information System. 2023. *Streptococcus mutans*. National Center for Biotechnology Information Taxonomy.
- Irmawanti dan Nurhaedah. 2017. *Metodologi Penelitian*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.

- Jinheng Li, T. Wu, W. Peng, dan Y. Zhu. 2020. Effect of resveratrol on cariogenic virulence properties of *Streptococcus mutans*. *BMC Microbiology*. 20(99): 1-2.
- Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. 2019. *Laporan Nasional Riskesdas. 2018*. Jakarta: Lembaga Penerbit Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan (LPB).
- Klingel, T. J. I, V. Kreemer, T. R. Gottstein, T. R. De Rezensse, S. Shwarz, dan D. W. Lachenmeier. 2020. A review of coffee by-products including leaf, flower, cherry, husk, silver skin, and spent grounds as novel foods within the european union. *Foods*. 9(5): 665.
- Lou, Z., H. Wang, S. Zhu, C. Ma, Z. Wang. 2011. Antibacterial activity and mechanism of action of chlorogenic acid. *Journal of Food Science*. 76 (6): 398 – 403.
- Mahon, Connie R, D. C. Lechman, dan G. Manuselis. 2015. *Textbook of Diagnostic Microbiology, Fifth Ed*. London: Elsevier.
- Meseli, Simge., U.V. Ustundag, P.S. Ates, I. Unal, E.I. Alturfan. 2023. The biocompatibility of a ginger-containing herbal toothpaste on developing zebrafish embryos. *Journal of Dentistry Indonesia*. 3 (2): 115-120.
- Moharamzadeh, K. 2017. *Biocompatibility of oral care products*. English: sWoodhead Publishing.
- Meidina, Hafizah A. 2015. Efek antioksidan ekstrak kopi robusta (*Coffea canephora*) terhadap saliva penderita periodontitis kronis. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.
- Murtafiah, A. 2012. Daya Hambat Ekstrak Biji Kopi Robusta (*Coffea robusta*) Terhadap *Streptococcus mutans*. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Najiyanti, S., Danarti. 2012. *Kopi, Budidaya, dan Penanganan Lepas Panen*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Newman, M. G., H. Takei, P. P. Klokkevold, dan F. A. Carranza. 2019. *Carranza's Clinical Periodontology*. 13th ed. Canada: Elsevier.
- Nonthakaew, A., M. Na, T. Aewsiri, Ni. Matan. 2015. Caffeine in foods and its antimicrobial activity. *International Food Research Journal*. 22(1): 9-14.
- Nuhu, Abdulkumin A. 2014. Bioactive micronutrients in coffee: Recent analytical approaches for characterization and quantification. *ISRN Nutrition* Article ID 384230:1-13.

- Oroh, E.S., J. Posangi, dan V. N. S. Wowor. 2015. Perbandingan efektivitas pasta gigi herbal dengan pasta gigi non herbal terhadap penurunan indeks plak gigi. *Jurnal e-gigi*. 3(2): 573-578.
- Prasasti, Rina N., D. S. Sari, P. P. Astuti. 2022. The effectiveness of using toothpaste containing robusta bean coffee extract in inhibiting the formation of dental plaque. *Odonto Dental Journal*.9 (1): 12-20.
- Putra, D. D., P. Astuti, dan A. Rochim. 2015. Uji klinis penggunaan pasta gigi herbal terhadap penurunan indeks plak rongga mulut. *E-Jurnal Pustaka Kesehatan*. 3 (2): 224 – 227.
- Rollando. 2019. *Senyawa Antibakteri dari Fungi Endofit*. Malang: Puntadewa.
- Sachidananda, M. P. dan S. Mallya. 2020. Microbiology and clinical implications of dental caries – a review. *J Evaluation Med Dent Sci*. 9(48): 3.670 – 3.672.
- Suhayat, C.K., M. Bahar, M. S. Thadeus. 2015. Perbandingan hasil uji sensitivitas antibakteri ekstrak etanol biji kopi robusta (*Coffea canephora*) sebelum dan sesudah dipanggang terhadap isolat bakteri plak gigi di Poliklinik STAN Tangerang Selatan. *Bina Widya*. 26(3): 135 – 144.
- Samaranayake, L. 2018. *Essential Microbiology for Dentistry*. 5th Ed. London: Elsevier.
- Shamsudin, Nur F., Q. U. Ahamed, S. Mahmood, S. A. A. Shah, A Khatib. 2022. Antibacterial effects of flavonoids and their stucture activity relationship study: a comparative interpretation. *Molecules*.27(4): 1149.
- Sumilat, Deiske A. 2019. Skrinning aktivitas antibakteri beberpaa jenis spons terhadap pertumbuhan strain bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus saprophyticus*, dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Jurnal Ilmiah Platax*. 7 (2): 455 – 461.
- Sari, Novita., E. Samsul, dan A. C. Narsa. 2021. Pengaruh trietanolamin pada basis krim minyak dalam air yang berbahan dasar asam stearat dan setil alkohol. *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*.
- Wei, Feifei dan M. Tanokura. 2015. Organic compounds in green coffee beans. Department of Applied Biological Chemistry University of Tokyo.
- Wulandari, A.T., Y. M. D. Arina, dan P. Pujiastuti. 2023. Daya hambat pasta gigi yang mengandung ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*) terhadap pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*. *Jurnal Penelitian Kesehatan Suara Forikes*. 4(1): 31-36.

Yuan, Ganjun., Y. Guan, S. Cao. 2021. Antibacterial activity and mechanism of plant flavonoids to gram-positive bacteria predicted from their lipophilicities. *Scientific Reports*. 11 (10471): 1-13.



LAMPIRAN-LAMPIRAN

- Lampiran 1. *Ethical Clearance*
- Lampiran 2. Surat Izin Penelitian
- Lampiran 3. Surat Hasil Identifikasi S. mutans
- Lampiran 4. Hasil Pengukuran Zona Hambat
- Lampiran 5. Hasil Analisis Data SPSS
- Lampiran 6. Alat dan Bahan Penelitian
- Lampiran 7. Dokumentasi Penelitian

QR CODE



URL

<https://unej.id/LampiranSkripsi201610101124>