



**DAYA HAMBAT EKSTRAK BIJI KOPI ROBUSTA
(*Coffea robusta*) TERHADAP *Streptococcus mutans*
(Penelitian Eksperimental Laboratoris)**

SKRIPSI

Oleh:

**AROMA MURTAFIAH
NIM 0816101012**

**BAGIAN MIKROBIOLOGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER**

2012



**DAYA HAMBAT EKSTRAK BIJI KOPI ROBUSTA
(*Coffea robusta*) TERHADAP *Streptococcus mutans*
(Penelitian Eksperimental Laboratoris)**

SKRIPSI

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

Oleh

**Aroma Murtafiah
NIM 081610101012**

**BAGIAN MIKROBIOLOGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER**

2012

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Allah SWT, atas segala limpahan rahmat dan karunia yang teramat besar. Segala puji hanya kepadaMu.
2. Ayahanda Susanto, M.MPd dan Ibunda Siti Masrukhah, atas untaian do'a, semangat dan kasih sayang yang tiada batas.
3. Adikku Hilda Mursyida, yang menjadi semangat dalam hidupku.
4. Guru-guruku sejak taman kanak-kanak sampai dengan perguruan tinggi.
5. Agama dan almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember yang selalu aku banggakan. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan menambah referensi bagi ilmu pengetahuan khususnya di bidang mikrobiologi.

MOTTO

...Dan kami turunkan air hujan dari langit, lalu kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik.
(Q.S. Luqman : 10) *)

...Dan Allah mencintai orang-orang yang sabar
(Q.S. Ali 'Imran : 146) *)

*) Departemen Agama Republik Indonesia. 2004. Syaamil Al-Qur'an dan Terjemahannya. Bandung : PT Syaamil Cipta Media.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Aroma Murtafiah

NIM : 081610101012

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya tulis ilmiah yang berjudul “Daya Hambat Ekstrak Biji Kopi Robusta (*Coffea robusta*) terhadap *Streptococcus mutans*” adalah benar – benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan bukan hasil karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap 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 dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 3 Februari 2012

Yang menyatakan,

Aroma Murtafiah

NIM 081610101012

SKRIPSI

**DAYA HAMBAT EKSTRAK BIJI KOPI ROBUSTA
(*Coffea robusta*) TERHADAP *Streptococcus mutans***

Oleh

**Aroma Murtafiah
NIM 081610101012**

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : drg. Dwi Warna Aju Fatmawati, M.Kes

Dosen Pembimbing Anggota : drg. Pujiana Endah Lestari, M.Kes

PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul “Daya Hambat Ekstrak Biji Kopi Robusta (*Coffea robusta*) terhadap *Streptococcus mutans*” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada :

hari, tanggal : Rabu, 8 Februari 2012

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Tim Penguji,
Ketua

drg. Dwi Warna Aju Fatmawati, M.Kes
NIP 197012191999032001

Anggota

Sekretaris

drg. Pujiana Endah Lestari, M.Kes
NIP 197608092005012002

drg. Tantin Ermawati, M.Kes
NIP 19800322200812003

Mengesahkan
Dekan,

drg. Hj. Herniyati, M.Kes
NIP 195909061985032001

RINGKASAN

Daya Hambat Ekstrak Biji Kopi Robusta (*Coffea robusta*) terhadap *Streptococcus mutans* : Aroma Murtafiah; 081610101012; 2012; 59 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Streptococcus mutans merupakan bakteri yang berperan penting dalam proses pembentukan karies gigi. Bakteri ini merupakan flora normal rongga mulut yang dapat menjadi patogen bila terjadi peningkatan jumlah koloni yang berlebihan. Kopi merupakan salah satu tanaman hasil perkebunan di kota Jember. Selain dikonsumsi sebagai minuman, kopi juga dimanfaatkan dalam bidang kesehatan, karena kandungan dalam biji kopi yang memiliki daya hambat. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui daya hambat ekstrak biji kopi Robusta terhadap pertumbuhan *S. mutans*.

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *the post test only control group design*. Sampel terbagi dalam tujuh kelompok perlakuan yaitu kelompok R100, R50, R25, R12,5, Bet K(+), Kaf K(+) dan K(-). Bahan-bahan perlakuan pada kelompok tersebut dimasukkan ke dalam lubang sumuran 12 petridish yang berisi media BHI-A yang telah terinokulasi *S. mutans* sesuai dengan kode kelompoknya. Seluruh petridish dimasukkan kedalam desikator dan diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah 24 jam dilakukan pengamatan dan pengukuran dengan menggunakan jangka sorong.

Data hasil penelitian dianalisis. Secara deskripsi menunjukkan bahwa kelompok R100 mempunyai rata-rata diameter zona hambat paling besar yaitu sebesar 10,3 mm dan rata-rata diameter zona hambat terkecil pada kelompok Kaf (K+) sebesar 7 mm. Uji statistik *Kruskal Wallis* menunjukkan ada perbedaan yang bermakna pada semua kelompok. Untuk mengetahui kelompok yang berbeda bermakna dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*. Hasil uji menunjukkan bahwa

terdapat perbedaan yang bermakna pada semua kelompok, kecuali pada kelompok R50 dengan kelompok R25, kelompok R25 dengan kelompok R12,5, kelompok R25 dengan kelompok Bet K(+), kelompok R12,5 dengan kelompok Bet K(+), kelompok R12,5 dengan kelompok Kaf K(+) dan kelompok Bet K(+) dengan Kaf K(+) memiliki perbedaan yang tidak bermakna.

Hasil dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak biji kopi Robusta (*Coffea robusta*) mempunyai daya hambat terhadap *S. mutans*. Konsentrasi terkecil dari ekstrak biji kopi Robusta (*Coffea robusta*) yang masih mempunyai daya hambat adalah konsentrasi 12,5%.

PRAKATA

Syukur alhamdulillah penulis panjatkan atas kehadiran Allah SWT, yang telah memberikan limpahan rahmat dan karunia sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Daya Hambat Ekstrak Biji Kopi Robusta (*Coffea robusta*) terhadap *Streptococcus mutans*”. Skripsi ini diselesaikan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan studi pada Fakultas Kedokteran Gigi (S-1) dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran Gigi.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan, bimbingan dan motivasi oleh berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. drg. Hj. Herniyati, M.Kes., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
2. drg. Rahardyan Parnaadji, M.Kes., Sp. Prost., selaku Pembantu Dekan I Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
3. drg. Agus Sumono, M.Kes., selaku Pembantu Dekan II Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
4. drg. Happy Harmono, M.Kes., selaku Pembantu Dekan III Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
5. drg. Dwi Warna Aju Fatmawati, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah meluangkan waktu dalam memberikan bimbingan dan motivasi dengan penuh kesabaran sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
6. drg. Pujiana Endah Lestari, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu dalam memberikan bimbingan dan motivasi dengan penuh kesabaran sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
7. drg. Tantin Ermawati, M.Kes., selaku Sekretaris Penguji yang telah memberikan saran demi kesempurnaan skripsi ini;

8. Dr. drg. Didin Erma Indahyani, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Akademik, yang senantiasa memberikan bimbingan dan semangat dalam perjalanan studi selama menjadi mahasiswa;
9. Orang tuaku tercinta, ayahanda Susanto, M.MPd dan ibunda Siti Masrukah, terima kasih atas untaian do'a, motivasi, kasih sayang, dukungan dan kesabaran yang tiada batas untukku;
10. Adikku, Hilda Mursyida, yang menjadi penyemangatku untuk terus menjadi sosok kakak dan panutan yang baik;
11. Dekki Ikrar Mahardhika, terima kasih untuk do'a, waktu dan motivasinya untukku *ndut! Thanks for all*;
12. Teman-teman FKG 2008, *special thanks to* Lila Cita Pratiwi dan Nikmatul Amaliya yang menjadi sahabat, teman sekost dan seperjuangan yang selalu memberi semangat dan mewarnai hari-hariku. Salam *nerobelle!*;
13. Teman seperjuangan tim kopi Robusta, Anggita Prawitasari dan Sofianatul Chamidah. Terima kasih atas kerjasamanya;
14. Seluruh staf dan teknisi Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, juga semua yang telah membantu kelancaran penyusunan skripsi ini, yang tidak bisa saya sebutkan satu-persatu, terima kasih.

Penulis sadar masih banyak ketidaksempurnaan dan kekurangan dalam penulisan Skripsi ini. Untuk itu, kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan demi kesempurnaan penulisan selanjutnya. Penulis berharap Skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi kita semua. Amin.

Jember, 10 Februari 2011

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Karies	5
2.2 Streptococcus mutans	6
2.2.1 Klasifikasi <i>S. mutans</i>	6
2.2.2 Morfologi <i>S. mutans</i>	7
2.2.3 Isolasi dan Identifikasi	8
2.2.4 Habitat <i>S. mutans</i>	8
2.3 Tinjauan Umum Kopi Robusta (<i>Coffea robusta</i>)	8
2.3.1 Klasifikasi kopi Robusta	8

2.3.2 Habitat kopi Robusta	9
2.3.3 Deskripsi Botani kopi Robusta	9
2.3.4 Kandungan kopi Robusta.....	12
2.3.5 Manfaat kopi Robusta	13
2.4 Tinjauan Umum Daya hambat Kopi Robusta (<i>Coffea robusta</i>).	14
2.5 Hipotesis	15
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	16
3.1 Jenis Penelitian.....	16
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian.....	16
3.3 Identifikasi Penelitian.....	16
3.3.1 Variabel Bebas.....	16
3.3.2 Variabel Terikat	16
3.3.3 Variabel Terkendali	16
3.4 Definisi Operasional	17
3.5 Sampel Penelitian	17
3.5.1 Jumlah sampel	17
3.5.2 Kriteria sampel	17
3.5.3 Pembagian kelompok sampel	18
3.6 Alat dan Bahan Penelitian	18
3.6.1 Alat – alat Penelitian.....	18
3.6.2 Bahan Penelitian.....	19
3.7 Prosedur Penelitian	20
3.7.1 Tahap Persiapan.....	21
3.7.2 Tahap Perlakuan	22
3.7.3 Tahap Pengukuran	25
3.7.4 Alur Penelitian.....	27
3.7 Analisa Data	28
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	28
4.1 Hasil Penelitian	28

4.2 Pembahasan.....	31
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	35
5.1 Kesimpulan.....	35
5.2 Saran	35
DAFTAR BACAAN.....	36
LAMPIRAN.....	39

DAFTAR TABEL

Daftar tabel	Halaman
2.1 Presentase distribusi <i>Streptococcus</i> rongga mulut pada lokasi yang berbeda	7
2.2 Kandungan biji kopi Arabika dan Robusta sebelum disangrai	12
4.1 Hasil penghitungan rata-rata diameter zona hambat pertumbuhan <i>S.mutans</i> ...	28
4.2 Hasil uji normalitas dengan uji <i>Kolmogorov-Smirnov</i>	29
4.3 Hasil uji homogenitas dengan <i>Levene test</i>	30
4.4 Hasil uji <i>Kruskal Wallis</i>	30
4.5 Hasil uji <i>Mann Whitney</i>	31

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 <i>S. mutans</i> diambil dengan mikroskop scanning elektron 5.000x.....	7
2.2 Tanaman kopi Robusta	9
2.3 Penampang melintang buah kopi	11
3.1 Biji kopi Robusta kering yang digunakan sebagai sampel penelitian	17
3.2 Proses pembuatan ekstrak biji kopi Robusta	20
3.3 Skema pembagian daerah pada bagian bawah <i>petridish</i>	22
3.4 <i>Petridish</i> berisi media padat BHI-A dan dibuat lubang sumuran	23
3.5 Simulasi cara pengukuran zona hambatan terhadap pertumbuhan <i>S. mutans</i>	25
4.1 Histogram rata-rata diameter zona hambat pertumbuhan <i>S. mutans</i>	29

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
A. Perhitungan jumlah sampel penelitian	38
B. Hasil Penelitian	39
C. Analisis data.....	40
D. Foto hasil penelitian.....	53
E. Foto alat dan bahan penelitian	56

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Karies gigi merupakan masalah kesehatan gigi dan mulut yang masih perlu mendapat perhatian besar. Hasil studi morbiditas Survey Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) pada tahun 2001 menunjukkan dari sepuluh kelompok penyakit terbanyak yang dikeluhkan masyarakat, penyakit gigi dan mulut menduduki urutan pertama dengan prevalensi 60% penduduk, dengan mayoritas terbanyak adalah kasus karies gigi dan penyakit periodontal (Natamiharja dkk, 2008:131).

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. Terdapat empat faktor utama yang berperan dalam proses terjadinya karies, yaitu host, mikroorganisme, substrat dan waktu (Soesilo dkk, 2005:25). 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 4,5-5,0. 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 *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) dan *Lactobacillus sp.*, yang merupakan mikroorganisme penyebab utama dalam proses terjadinya karies. Pertama kali akan terlihat *white spot* pada permukaan enamel kemudian proses ini berjalan secara perlahan sehingga lesi kecil tersebut berkembang, dan dengan adanya destruksi bahan organik, kerusakan berlanjut pada dentin disertai kematian odontoblast (Soesilo dkk, 2005:25-26).

S. mutans merupakan flora normal dalam rongga mulut yang dapat berubah menjadi patogen bila terjadi peningkatan jumlah koloni yang berlebihan. Bakteri ini memegang peranan penting dalam proses pembentukan karies gigi (Yendriwati,

2008:145). Penelitian epidemiologi di berbagai populasi yang berbeda menyatakan bahwa pada karies gigi ditemukan *S. mutans* sebesar 74-94% (Octiara dan Budiardjo, 2008:180).

Pada masa sekarang ini banyak dijumpai penelitian tentang tanaman yang bermanfaat sebagai obat. Penelitian di beberapa Fakultas Kedokteran Gigi menunjukkan ternyata banyak tanaman yang berkhasiat untuk kesehatan gigi dan mulut. Salah satunya adalah biji kopi. Kopi banyak dijumpai di kota Jember, bahkan kota Jember merupakan kota perkebunan kopi dan juga penghasil kopi terbanyak.

Kopi merupakan hasil perkebunan yang selain dikonsumsi sebagai minuman penyegar juga dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku industri farmasi. Masyarakat di berbagai negara telah memanfaatkan tanaman kopi untuk mengatasi berbagai masalah kesehatan. Biji kopi secara alami mengandung berbagai jenis senyawa volatil, seperti aldehida, furfural, keton, alkohol, ester, asam format dan asam asetat (Widyotomo dan Mulato, 2007:44). Selain senyawa volatil, dalam kopi juga terdapat kafein, senyawa fenolik, trigonelline dan asam klorogenik yang dilaporkan memiliki aktivitas antimikroba (Fardiaz, 1995:103). Hasil penelitian dari Fardiaz (1995:103), menyatakan bahwa kopi Robusta (*Coffea robusta*) memiliki efek antibakteri terhadap bakteri *Eschericia coli*, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus lactis* dan *Streptococcus faecalis*.

Pemilihan jenis kopi yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah kopi Robusta karena merupakan jenis kopi yang banyak dijumpai di perkebunan daerah Jember. Selain itu pada jenis Robusta kandungan senyawa yang mempunyai aktivitas antibakteri juga lebih tinggi jika dibandingkan dengan kopi jenis Arabika. Salah satunya kandungannya adalah kafein, yaitu sebesar 1,6-2,4% sedangkan kopi jenis Arabika hanya 0,9-1,2% (Clarke dan Macrae dalam Ridwansyah, 2003:4).

Kandungan kafein yang terdapat di dalam biji kopi banyak dimanfaatkan dalam bentuk obat maupun dalam bentuk makanan atau minuman sehari-hari yang bisa didapatkan dengan mudah (Widyotomo dan Mulato, 2007:44). Selain itu kafein

yang terkandung di dalam kopi memiliki manfaat mampu menjadi antibakteri bagi gigi. Meminum secangkir kopi setiap hari terbukti dapat mencegah risiko kanker mulut hingga separuhnya. Kafein juga dapat menangkal radikal bebas, mengurangi resiko diabetes, mencegah penyakit saraf, menghambat penurunan fungsi kognitif otak, serta sebagai penambah stamina (Harmandini, 2009:1). Di kalangan medis, kafein dimanfaatkan sebagai campuran obat-obatan seperti obat flu yang digunakan untuk menyeimbangkan dorongan rasa kantuk yang muncul, dan juga dicoba sebagai campuran obat asma (Depkes dalam Widyotomo dan Mulato, 2007:48). Namun, kandungan kafein dalam kopi juga mempunyai efek negatif bagi tubuh, seperti mengkonsumsi lima sampai enam cangkir kopi sehari memiliki risiko dua kali lebih besar terhadap serangan jantung. Selain itu, asupan kafein secara teratur pada perempuan hamil dapat meningkatkan risiko melahirkan bayi dengan berat lahir rendah, bahkan dapat menyebabkan keguguran spontan atau kerusakan pada janin (Hermawan, 2009:1).

Berdasarkan uraian yang telah penulis sampaikan di atas, penulis tertarik untuk melakukan penelitian tentang kemampuan ekstrak biji kopi Robusta (*Coffea robusta*) dalam menghambat pertumbuhan *S. mutans*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang dapat dirumuskan permasalahan yaitu

- 1.2.1 Apakah ekstrak biji kopi Robusta (*Coffea robusta*) mempunyai daya hambat terhadap pertumbuhan *S. mutans*?
- 1.2.2 Jika mempunyai daya hambat, berapa konsentrasi terkecil dari ekstrak biji kopi Robusta (*Coffea robusta*) yang masih dapat menghambat pertumbuhan *S. mutans*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini yaitu

- 1.3.1 Untuk mengetahui daya hambat dari ekstrak biji kopi Robusta (*Coffea robusta*) terhadap pertumbuhan *S. mutans*.
- 1.3.2 Untuk mengetahui konsentrasi terkecil dari ekstrak biji kopi Robusta (*Coffea robusta*) yang masih mempunyai daya hambat terhadap pertumbuhan *S. mutans*.

1.4 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat yang dapat diambil dari penelitian ini adalah:

- 1.4.1 Dapat melengkapi informasi dan sebagai bahan pertimbangan bagi masyarakat mengenai pengaruh daya hambat dari ekstrak biji kopi Robusta (*Coffea robusta*) terhadap pertumbuhan *S. mutans*.
- 1.4.2 Dapat memberikan informasi kepada masyarakat dan tenaga medis dalam mendukung upaya kesehatan gigi dan mulut melalui pemanfaatan tanaman kopi yang banyak dijumpai di daerah Jember.
- 1.4.3 Sebagai dasar penelitian lebih lanjut untuk mengetahui pengaruh ekstrak biji kopi Robusta (*Coffea robusta*) terhadap mikroflora lain yang patogen di rongga mulut.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Karies

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 (Soesilo dkk, 2005:25). 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 semen yang melibatkan digesti matriks protein oleh bakteri (Jawetz dkk, 2005:280). 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 (Soesilo dkk, 2005:25).

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.

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, 2005:280). 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. Penurunan pH plak yang berulang-ulang dalam waktu tertentu akan mengakibatkan demineralisasi permukaan gigi yang rentan dan proses karies pun dimulai (Soesilo dkk, 2005:25-26).

2.2 *Streptococcus mutans*

2.2.1 Klasifikasi *S. mutans*

S. mutans diklasifikasikan sebagai berikut (Bergey dan Capuccino dalam Pratama, 2005:6) :

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

S. mutans pertama kali ditemukan pada tahun 1942 oleh Clarke. Bakteri ini dapat menghasilkan suatu polisakarida ekstraseluler yang disebut mutan. *S. mutans* dapat dibedakan dari *Streptococcus* lainnya melalui kemampuan melakukan fermentasi manitol, sorbitol, membentuk koloni dan kemampuan mensintesis dekstran dan levan (Boel, 2000:8-9). Menurut Soet dalam Boel (2000:8), *S. mutans*

ditemukan pada plak gigi (permukaan gigi yang licin), dan pada saliva dalam presentase yang bervariasi, seperti pada Tabel 2.1.

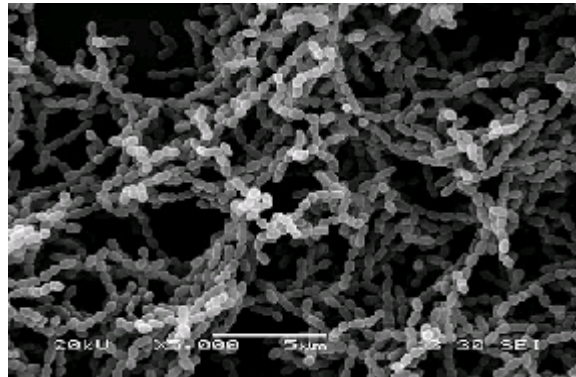
Tabel 2.1 Presentase dari distribusi *Streptococcus* rongga mulut pada lokasi yang berbeda.

Lokasi	Spesies				
	<i>S. mutans</i>	<i>S. sanguis</i>	<i>S. salivarius</i>	<i>S. mitior</i>	<i>S. miller</i>
Plak gigi	1-60	15-25	0,1	1-10	1-10
Gingiva	0-20	10-15	1	5-10	14-56
Mukosa bukal	0,1	10-15	10-15	50-60	-
Dorsum lidah	0,1	1-5	25	10-15	5-10
Saliva	0,1	1-10	25	10-20	1-10

Sumber : Mc Ghee dalam Boel (2000:8)

2.2.2 Morfologi *S. mutans*

S. mutans merupakan bakteri gram positif, bersifat nonmotil (tidak bergerak) dan anaerob fakultatif. Bakteri ini memiliki bentuk *coccus* dan bulat telur apabila tersusun dalam rantai, seperti terlihat pada Gambar 2.1. *S. mutans* memiliki kecenderungan berbentuk *coccus* dengan formasi rantai panjang apabila ditanam pada medium yang diperkaya seperti pada *Brain Heart Infusion (BHI) Broth*, sedangkan bila ditanam di media agar memperlihatkan rantai pendek dengan bentuk sel tidak beraturan (Michalek dan Mc Ghee (1982) dalam Pratama, 2005:6).



Gambar 2.1 *S. mutans* diambil dengan mikroskop scanning elektron 5.000x (Putnam, 2010:1)

2.2.3 Isolasi dan identifikasi

Kebanyakan *S. mutans* dapat tumbuh dalam media yang padat dan tampak sebagai koloni discoid, biasanya berdiameter 1-2 mm. Selnya berbentuk ovoid dengan diameter 0,5 - 0,75 μm . Temperatur optimum untuk pertumbuhan bakteri ini sekitar 37°C (Octiara dan Budiardjo, 2008:180).

2.2.4 Habitat *S. mutans*

S. mutans tumbuh dalam suasana fakultatif anaerob. Menurut Nolte (1982) dalam Pratama (2005:7), dalam keadaan anaerob, bakteri ini memerlukan 5% CO₂ dan 95% nitrogen serta memerlukan amonia sebagai sumber nitronen agar dapat bertahan hidup dalam lapisan plak yang tebal. *S. mutans* bersifat asidogenik yaitu menghasilkan asam dan asidodurik yaitu mampu tinggal pada lingkungan asam serta menghasilkan suatu polisakarida yang lengket disebut dextran.

2.3 Tinjauan Umum Kopi Robusta (*Coffea robusta*)

2.3.1 Klasifikasi Kopi Robusta (*Coffea robusta*)

Dalam taksonomi tumbuhan, kopi Robusta (*Coffea robusta*) diklasifikasikan sebagai

berikut (Tanaman Obat, 2008:1) :

Kingdom : *Plantae*
Subkingdom : *Tracheobionta*
Super Divisi : *Spermatophyta*
Divisi : *Magnoliophyta*
Kelas : *Magnoliophyta*
Sub Kelas : *Asteridae*
Ordo : *Rubiales*
Famili : *Rubiaceae*
Genus : *Coffea*
Spesies : *Coffea robusta* Lindl. Ex De Will

2.3.2 Habitat Kopi Robusta (*Coffea robusta*)

Tanaman kopi Robusta tumbuh baik di dataran rendah sampai ketinggian sekitar 1.000 m diatas permukaan laut, dan daerah-daerah dengan suhu sekitar 20°C (Ridwansyah, 2003:2). Selain ketinggian tempat, hujan juga merupakan faktor iklim yang penting. Tanaman kopi umumnya dapat tumbuh optimum di daerah dengan curah hujan 2.000-3.000 mm/tahun. Secara umum tanaman kopi menghendaki tanah yang subur dan kaya bahan organik serta kisaran pH tanahnya adalah 4,5-6,5 (Suwanto dan Octavianty, 2010:145-146).

2.3.3 Deskripsi Botani Kopi Robusta (*Coffea robusta*)

Kopi Robusta berasal dari Kongo dan masuk ke Indonesia pada tahun 1990. Karena mempunyai sifat lebih unggul, kopi ini sangat cepat berkembang. Bahkan kopi ini merupakan jenis yang mendominasi perkebunan kopi di Indonesia hingga saat ini (Najiyati dan Danarti, 2001:17).

Tanaman kopi mempunyai batang tegak, bercabang, dan tingginya bisa mencapai 12 meter. Kopi mempunyai sistem percabangan yang agak berbeda dengan tanaman lain. Tanaman ini mempunyai beberapa jenis cabang yang sifat dan fungsinya berbeda. Cabang yang tumbuhnya tegak dan lurus disebut cabang reproduksi. Cabang ini berasal dari tunas reproduksi yang terdapat di setiap ketiak daun pada cabang utama atau cabang primer (Suwanto dan Octavianty, 2010:141).



Gambar 2.2 Tanaman kopi Robusta (Tanaman Obat, 2008:1)

Tanaman kopi berbunga setelah berumur sekitar dua tahun. Bunga tersusun dalam kelompok, masing-masing terdiri dari 4-6 kuntum bunga. Pada setiap ketiak daun dapat menghasilkan 2-3 kelompok bunga. Bunga kopi berukuran kecil, mahkotanya berwarna putih dan harum. Kelopak bunga berwarna hijau, dan benang sarinya terdiri dari 5-7 tangkai berukuran pendek. Kelopak dan mahkota akan membuka saat bunga telah dewasa. Kemudian bunga tersebut akan berkembang menjadi buah (Suwanto dan Octavianty, 2010:142).

Buah muda berwarna hijau, kemudian kulitnya menguning dan menjadi merah tua (Gambar 2.2). Waktu yang diperlukan sejak terbentuknya bunga hingga buah menjadi matang sekitar 6-11 bulan, tergantung jenis dan faktor lingkungannya. Buah terdiri dari daging buah dan biji dengan diameter ± 5 mm. Umumnya, buah kopi mengandung dua butir biji. Namun, ada juga yang berbiji satu atau sama sekali tidak berbiji karena bakal biji tidak berkembang sempurna. Lembaga (*endosperm*)

merupakan bagian yang dimanfaatkan untuk membuat minuman kopi (Suwarto dan Octavianty, 2010:142-143).

Buah kopi terdiri atas lima bagian, seperti terlihat pada Gambar 2.3, yaitu :

1. Lapisan kulit luar (*exocarp/epicarp*)
Disebut juga dengan kulit buah, merupakan bagian terluar dari buah kopi.
2. Lapisan daging (*mesocarp*)
Disebut juga dengan daging buah, merupakan bagian yang berasa agak manis, dan mempunyai kandungan air yang cukup tinggi. Persentase gabungan antara epikarp dan mesocarp adalah sebesar 40,17% dari buah kopi.
3. Lapisan kulit tanduk (*endoscarp*)
Merupakan lapisan kulit kopi paling keras, tersusun oleh selulosa dan hemiselulosa.
4. Lapisan kulit ari (*spermoderm*)
Merupakan kulit yang tipis dan menempel pada biji kopi.
5. Keping biji (*endosperm*)
Merupakan bagian buah kopi yang diambil manfaatnya untuk diolah menjadi kopi bubuk. Persentase endosperm adalah 49,42% dari buah kopi. (Goenawan, 2011:1-2)



Gambar 2.3 Penampang melintang buah kopi (web.ipb.ac.id)

2.3.4 Kandungan Kopi Robusta

Biji kopi secara alami mengandung berbagai jenis senyawa volatil, seperti aldehida, furfural, keton, alkohol, ester, asam format dan asam asetat. Selain itu, dalam biji kopi juga terdapat kandungan trigoneline, asam klorogenik, glikosida, mineral dan kafein (Tabel 2.2). Kafein yang memiliki rumus kimia $C_8H_{10}N_4O_2$, merupakan salah satu senyawa alkaloid yang sangat penting yang terdapat di dalam biji kopi dan dimanfaatkan dalam bentuk obat maupun dalam bentuk makanan atau minuman sehari-hari yang bisa didapatkan dengan mudah (Widyotomo dan Mulato, 2007:44).

Tabel 2.2 Kandungan Biji kopi Arabika dan Robusta sebelum disangrai (% bobot kering)

Komponen	Arabika Green	Arabika Roasted	Robusta Green	Robusta Roasted	Bubuk kopi instan
Mineral	3.0-4.2	3.5-4.5	4.0-4.5	4.6-5.0	9.0-10.0
Kaffein	0.9-1.2	1.0	1.6-2.4	2.0	4.5-5.1
Trigonelline	1.0-1.2	0.5-1.0	0.6-0.75	0.3-0.6	-
Lemak	12.0-18.0	14.5-20.0	9.0-13.0	11.0-16.0	1.5-1.6
Total	5.5-8.0	1.2-2.3	7.0-10.0	3.9-4.6	5.2-7.4
Chlorogenic Acid					
Asam Alifatis	1.5-2.0	1.0-1.5	1.5-1.2	1.0-1.5	-
Oligosakarida	6.0-8.0	0-3.5	5.0-7.0	0-3.5	0.7-5.2
Total	50.0-55.0	24.0-39.0	37.0-47.0	-	6.5
Polisakarida					
Asam amino	2.0	0		0	0
Protein	11.0-13.0	13.0-15.0		13.0-15.0	16.0-21.0
Humic acids	-	16.0-17.0		16.0-17.0	15.02

Sumber : Clarke dan Macrae dalam Ridwansyah (2003:4)

Kafein adalah basa monocidic yang lemah dan dapat memisah dengan penguapan serta mudah diuraikan oleh alkalis yang panas. Menurut Sivert dan Desrosier (1979) dalam Widyotomo dan Mulato (2006:135), kafein adalah senyawa kimia hasil metilasi xanthin dengan bentuk dasar heterosiklis yang memiliki sifat farmakologi, sehingga kafein juga dikenal dengan nama 1, 3, 7 trimetil xanthin.

Sedangkan Macrae dalam Widyotomo dan Mulato (2006:136) melaporkan bahwa kafein mudah larut dalam air, dan mudah bereaksi dengan asam membentuk garam yang larut dalam air dan alkohol.

2.3.5 Manfaat Kopi Robusta

Kopi merupakan salah satu dari bahan minuman yang tidak mengandung alkohol dan disenangi banyak orang. Ditinjau dari segi medis, kopi dapat merangsang pernapasan, membantu asimilasi dan pencernaan makanan, menurunkan sirkulasi darah di otak, menenangkan perasaan mental yang berkepanjangan dan badan letih, sebagai obat penolong diare, serta pencegah muntah sesudah operasi. Selain sebagai minuman, kopi juga dapat digunakan dalam industri makanan sebagai penambah rasa. Misalnya dalam industri makanan dan ringan dan permen (Suwanto dan Octavianty, 2010:142-143).

Selain itu kafein yang terkandung di dalam kopi ternyata memberi efek antibakteri bagi gigi, sehingga dapat menjaga gigi dari bakteri yang menyebabkan karies. Meminum secangkir kopi setiap hari terbukti dapat mencegah risiko kanker mulut hingga separuhnya. Kafein juga dapat menangkal radikal bebas dan menghancurkan molekul yang dapat merusak sel DNA, mengurangi resiko diabetes, mencegah penyakit saraf, menghambat penurunan fungsi kognitif otak, serta sebagai penambah stamina (Harmandini, 2009:1). Depkes dalam Widyotomo (2006) melaporkan bahwa sebuah lembaga penelitian di Amerika Serikat menyebutkan setengah dari kandungan kafein yang diminum, ternyata sanggup bertahan selama enam jam dalam tubuh. Jadi, jika minum dua gelas kopi (sekitar 160 mg – 100 mg) pada pukul 03.00 dini hari, pada pukul 09.00 pagi kafein masih tersisa sekitar 80 mg, cukup untuk membuat mata susah terpejam.

2.4 Tinjauan Umum Daya Hambat Kopi Robusta (*Coffea robusta*)

Antimikroba ialah obat yang digunakan untuk membasmi mikroba penyebab infeksi pada manusia. Obat ini ditentukan harus memiliki sifat toksisitas selektif setinggi mungkin. Artinya, obat tersebut haruslah bersifat sangat toksik untuk mikroba, tetapi relatif tidak toksik untuk hospes (Departemen Farmakologi dan Terapeutik FKUI, 2007:585).

Hasil penelitian dari Fardiaz (1995:103) menunjukkan beberapa komponen dalam kopi yang terdiri dari kafein, asam organik volatile dan non-volatile, fenol dan komponen aromatik dilaporkan memiliki aktivitas antimikroba. Kira-kira 2% kafein dalam kopi Robusta dapat mengurangi laju pertumbuhan dari *Aspergillus vesicolor*, *Penicillium citrinum* dan *Penicillium urticae* (Buchanan dkk dalam Fardiaz, 1995:103), sedangkan pada konsentrasi tertentu dapat mencegah produksi myxotoxins seperti aflatoxin yang dihasilkan oleh *Aspergillus parasiticus* (Nartowicz dkk dalam Fardiaz, 1995:103), dan produksi ochratoxin oleh *Aspergillus ochraceus*, serta produksi sterigmatocystin oleh *Aspergillus vesicolor* (Buchanan dkk dalam Fardiaz, 1995:103).

Chlorogenik dan asam caffeic, yang merupakan asam organik non volatile dalam kopi, yang dapat mencegah pertumbuhan beberapa bakteri gram-positif dan gram-negatif (Herald dan Davidson dalam Fardiaz, 1995:103), diantaranya bakteri *Eschericia coli*, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus lactis*, dan *Streptococcus faecalis*. Selain itu, kafein, asam organik non-volatile, senyawa fenolik, trigonelline, asam klorogenik dan komponen aromatik dilaporkan memiliki aktivitas antimikroba (Fardiaz, 1995:103). Trigonelline, kafein, dan asam klorogenik dilaporkan memiliki aktivitas anti-adhesi tertinggi dalam kopi (Ferrazzano dkk, 2009:259), sedangkan senyawa fenolik menunjukkan aktivitas antimikroba dan antijamur (Ferrazzano dkk, 2011:1490).

2.5 Hipotesis

Pemberian ekstrak biji kopi Robusta (*Coffea robusta*) memberikan daya hambat yang besar terhadap pertumbuhan *S. mutans*.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris. Adapun rancangan penelitian yang digunakan adalah *the post test only control group design*.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biomedik Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi dan pembuatan ekstrak dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas MIPA Universitas Jember.

3.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Agustus 2011.

3.3 Identifikasi Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dari penelitian ini adalah ekstrak biji kopi Robusta (*Coffea robusta*) 12,5%, 25%, 50%, 100%.

3.3.2 Variable Terikat

Variabel terikat dari penelitian ini adalah daya hambat pertumbuhan *S. mutans*

3.3.3 Variabel Terkendali

- a) Alat dan Bahan
- b) Sterilisasi alat dan bahan
- c) Media agar
- d) Suspensi *S. mutans*

3.4 Definisi Operasional Variabel

- 3.4.1 Ekstrak biji kopi Robusta (*Coffea robusta*) adalah ekstrak yang diperoleh dengan cara memblender biji kopi Robusta kering hingga berbentuk serpihan kecil dan ditumbuk hingga menjadi bubuk halus, lalu dimaserasi dalam etanol 97% selama 24 jam dengan menggunakan *shaker bath*, setelah itu disaring, kemudian dievaporasi sampai didapat ekstrak pekat dengan konsentrasi 100%.
- 3.4.2 Daya hambat *S. mutans* adalah kemampuan suatu bahan dalam membunuh atau menghambat pertumbuhan dan reproduksi *S. mutans*, dengan cara melihat dan mengukur daerah yang jernih di sekitar bahan uji dengan menggunakan jangka sorong. Daerah yang jernih atau transparan di sekitar bahan uji adalah daerah yang tidak terdapat pertumbuhan bakteri.

3.5 Sampel Penelitian

3.5.1 Jumlah sampel

Jumlah sampel yang diperlukan dalam penelitian ini sebanyak 12 sampel yang memenuhi jumlah sampel minimal menurut rumus perhitungan jumlah sampel oleh Steel dan Torrie (Lampiran A, halaman 38).

3.5.2 Kriteria sampel biji kopi Robusta (*Coffea robusta*)

Kriteria biji kopi yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut,

- a. Kopi dari jenis Robusta
- b. Biji kopi kering diperoleh dari salah satu kios di Pasar Tanjung Jember
- c. Biji kopi kering berwarna hijau kecoklatan
- d. Bentuk biji tidak keriput (seperti pada Gambar 3.1)



Gambar 3.1 Biji kopi Robusta kering yang digunakan sebagai sampel penelitian

3.5.3 Pembagian kelompok sampel

Sampel dibagi menjadi 7 kelompok perlakuan yaitu,

1. Kelompok R100 : ekstrak kopi Robusta konsentrasi 100%
2. Kelompok R50 : ekstrak kopi Robusta konsentrasi 50%
3. Kelompok R25 : ekstrak kopi Robusta konsentrasi 25%
4. Kelompok R12,5 : ekstrak kopi Robusta konsentrasi 12,5%
5. Kelompok Bet K(+) : kontrol positif Betadine obat kumur
6. Kelompok Kaf K(+) : Kafein standar
7. Kelompok K(-) : kontrol negatif *aquadest steril*

3.6 Alat dan Bahan Penelitian

3.6.1 Alat Penelitian

1. Blender (Maspion, *Indonesia*)
2. *Shaker bath*
3. *Rotary evaporator*
4. Pompa vakum
5. *Petridish*
6. Ose

7. Gigaskrin
8. Bunsen (Pyrex, *Japan*)
9. Tabung reaksi (Pyrex, *Japan*)
10. Timbangan / neraca (*Cento-gram*[®] *balance*)
11. Tabung Erlenmeyer (Pyrex, *Japan*)
12. *Beaker glass*
13. Spatula kaca
14. *Syringe*
15. Jangka sorong (Medesy, *Italy*) dengan derajat ketelitian 0,5 mm
16. Kompor listrik (Maspion, *Indonesia*)
17. Spektrofotometer (Milton Roy, *Germany*)
18. Mikropipet
19. *Laminar flow* (tipe HF-100, *Korea*)
20. *Thermolyne* (Maxi Mix II, Dubuque, Iowa, *USA*)
21. Inkubator (WTC Binder, *Germany*)
22. *Autoclave* (Mettler, *Germany*)
23. Desikator (Kartell, *Italy*)
24. Oven (Mettler, *Germany*)
25. Borer steril dengan diameter 5mm

3.6.2 Bahan Penelitian

1. BHI-A (*Brain Heart Infusion Agar*) 5,2 gram (Merck, *Germany*)
2. BHI-B (*Brain Heart Infusion Broth*) 3,7 gram (Merck, *Germany*)
3. Biji kopi Robusta kering (sesuai kriteria sampel pada Lampiran 2)
4. *Aquadest steril*
5. Kafein standar
6. Obat kumur Betadine[®] (Mahakam Beta Farma, *Indonesia*)
7. Etanol 97%
8. Bakteri *Streptococcus mutans*

9. Alkohol 70%

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Tahap persiapan

a. Persiapan alat

Semua alat yang terbuat dari kaca dibersihkan dan disterilkan terlebih dahulu dalam oven selama 15 menit dengan suhu 100°C. Sedangkan semua alat yang terbuat dari plastik dicuci bersih dan dikeringkan kemudian diulas alkohol 70%.

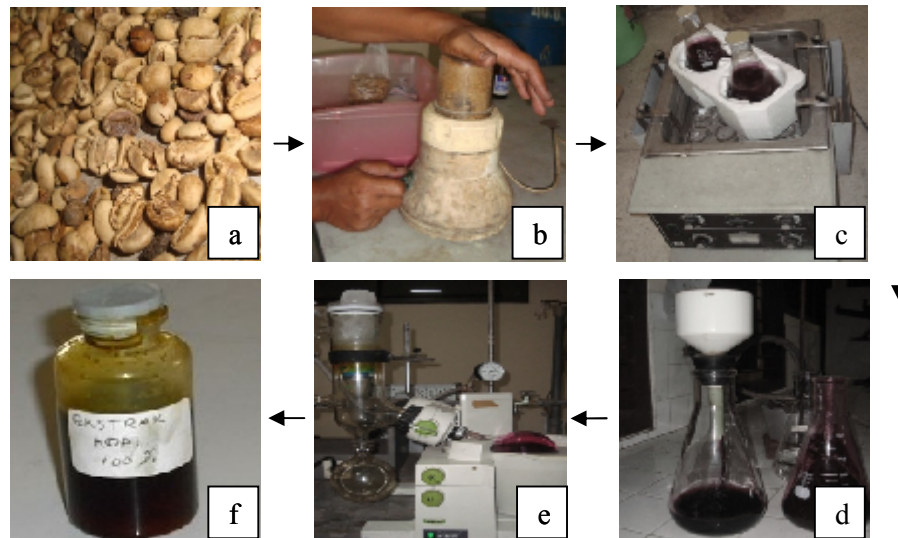
b. Membuat ekstrak biji kopi Robusta (*Coffea robusta*)

Ekstrak biji kopi Robusta (*Coffea robusta*) diperoleh dengan memblender biji kopi Robusta kering hingga menjadi serpihan kecil, selanjutnya ditumbuk sampai halus. Kemudian ditimbang sebanyak 300 gram menggunakan neraca timbang dan dimaserasi dalam larutan etanol 97% sebanyak 1200 ml selama 24 jam dengan menggunakan *shaker bath*. Setelah itu disaring menggunakan pompa vakum. Kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* sehingga didapatkan ekstrak pekat sebanyak 10 ml dengan konsentrasi 100% seperti pada Gambar 3.2. Untuk membuat sediaan ekstrak konsentrasi 50% dilakukan dengan cara mengambil 1 ml sediaan 100% dicampur dengan 1 ml *aquadest steril*. Sediaan ekstrak konsentrasi 25% dibuat dengan cara mengambil 1 ml sediaan 50% dicampur dengan 1 ml *aquadest steril*. Sediaan ekstrak konsentrasi 12,5 % dilakukan dengan cara mengambil 1 ml sediaan 25% dicampur dengan 1 ml *aquadest steril*.

c. Mempersiapkan media BHI-B (*Brain Heart Infusion Broth*)

BHI-B sebanyak 3,7 gram dimasukkan kedalam erlenmayer dan ditambah 100 ml *aquadest steril*. Dipanaskan diatas kompor listrik sampai

homogen. Kemudian ditutup kapas dan disterilkan dalam *autoclave* dengan suhu 121 °C selama 15 menit.



Gambar 3.2 Proses pembuatan ekstrak biji kopi Robusta

Keterangan :

- a : Biji kopi Robusta kering
- b : Biji kopi diblender agar menjadi serpihan kecil, lalu ditumbuk hingga halus
- c : Proses maserasi dalam larutan etanol 97% selama 24 jam dengan menggunakan *shaker bath*
- d : Penyaringan menggunakan pompa vakum
- e : Proses pemekatan dengan menggunakan *rotary evaporator*
- f : Hasil akhir didapatkan ekstrak pekat biji kopi Robusta konsentrasi 100%

d. Membuat suspensi *S. mutans*

Cara membuat suspensi *S. mutans* adalah dengan mencampur 2 ml larutan BHI-B steril dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 1 ose *S. mutans*. Perlakuan ini dilakukan dengan melewatkannya diatas lampu spiritus yang sedang menyala. Kemudian tabung reaksi tersebut dimasukkan ke dalam desikator dan 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 *thermolyne*. Setelah itu, dilakukan pengukuran absorbansinya dengan standar Mc Farland 0,5 dengan absorbansi 0,05 dan panjang gelombang 560 nm dengan menggunakan *spektrofotometer*.

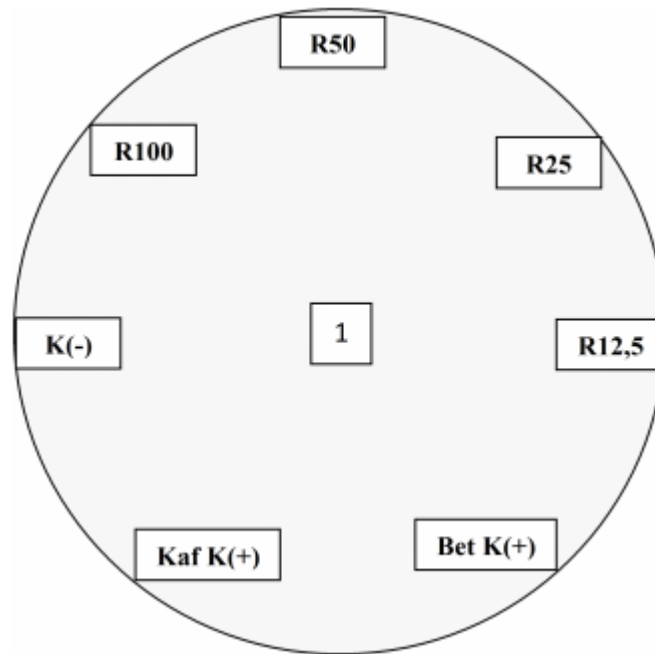
- e. Mempersiapkan media agar BHI-A (*Brain Heart Infusion Agar*).

Pembuatan agar nutrient dilakukan dengan mencampur 5,2 gram BHI-A dan 100 ml aquadest steril dalam tabung erlenmeyer. Dipanaskan diatas kompor listrik sampai homogen. Kemudian ditutup kapas dan disterilkan dalam *autoclave* dengan suhu 121 °C selama 15 menit.

3.7.2 Tahap perlakuan

- a. Pemberian kertas label pada bagian bawah *petridish*

Semua perlakuan dilakukan didalam laminar flow untuk mencegah kontaminasi dengan lingkungan luar. Pada bagian bawah masing-masing *petridish*, diberi kertas label bertuliskan R100 untuk ekstrak biji kopi Robusta 100%, R50 untuk ekstrak konsentrasi 50%, R25 untuk ekstrak konsentrasi 25%, dan R12,5 untuk ekstrak konsentrasi 12,5%. Sedangkan untuk Betadine obat kumur (kontrol positif 1) diberi kode Bet K(+), untuk Kafein standar (kontrol positif 2) diberi kode Kaf K(+), dan untuk *aquadest steril* (kontrol negatif) diberikan kode K(-). Untuk membedakan 12 *petridish*, maka pada bagian tengah masing-masing *petridish* diberi kertas label nomor urut *petridish* 1 sampai 12 seperti pada Gambar 3.3.



Gambar 3.3 Skema pembagian daerah pada bagian bawah *petridish*.

Keterangan :

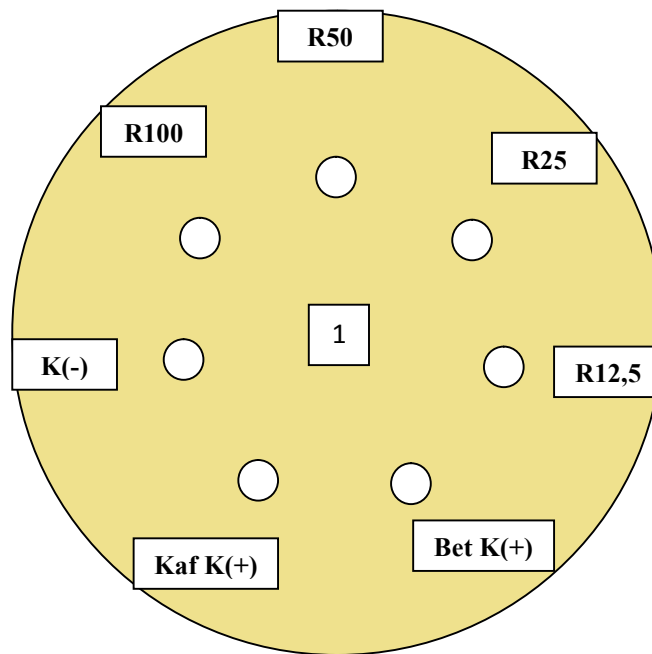
R100	: Kertas label untuk ekstrak konsentrasi 100%
R50	: Kertas label untuk ekstrak konsentrasi 50%
R25	: Kertas label untuk ekstrak konsentrasi 25%
R12,5	: Kertas label untuk ekstrak konsentrasi 12,5%
Bet K(+)	: Kertas label untuk kontrol positif Betadine obat kumur
Kaf K(+)	: Kertas label untuk Kafein standar
K(-)	: Kertas label untuk kontrol negatif <i>aquadest steril</i>
1	: Kertas label penomoran <i>petridish</i>

b. Inokulasi suspensi *S. mutans* pada media BHI-A dan uji antibakteri

Media BHI-A hangat dituang ke dalam *petridish* yang telah disterilkan, masing-masing sebanyak 25 ml. Inokulasikan 0,5 ml suspensi

S. mutans pada media BHI-A hangat dan ratakan dengan gigaskrin, ditunggu 15 menit hingga media menjadi padat.

Uji daya hambat yang digunakan adalah metode difusi sumuran (*Well diffusion method*). Pada *petridish* nomor 1 sampai 12 yang telah berisi media yang mengandung bakteri *S. mutans* dibuat lubang sumuran dengan menggunakan *borer* steril berdiameter 5 mm. Pada setiap *petridish* dibuat 7 lubang sumuran dengan kedalaman lubang sumuran 4 mm seperti pada gambar 3.4.



Gambar 3.4 *Petridish* berisi media padat BHI-A dan dibuat lubang sumuran

Ekstrak biji kopi Robusta konsentrasi 100% sebanyak 5 μ L dengan menggunakan mikropipet 1 dimasukkan ke dalam lubang sumuran kode R100, dari *petridish* nomor 1 sampai 12. Selanjutnya, dengan menggunakan mikropipet 2 dimasukkan 5 μ L ekstrak konsentrasi 50% ke dalam lubang sumuran kode R50, pada *petridish* nomor 1 sampai

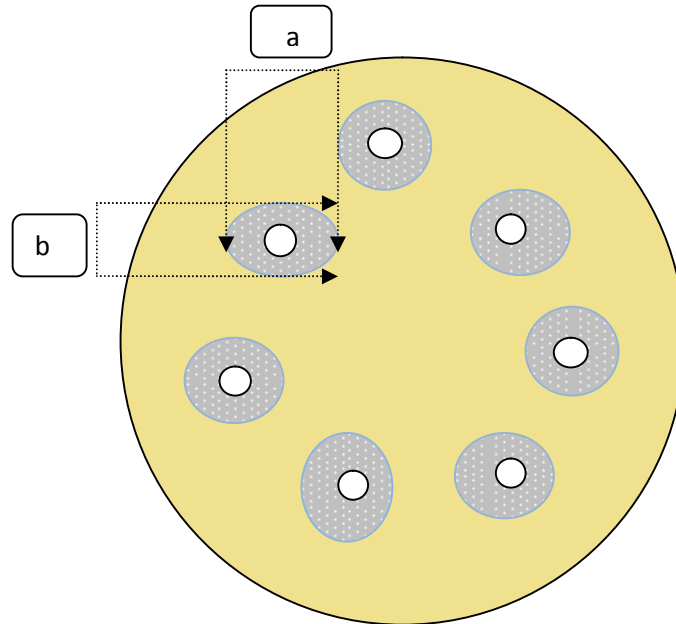
12, dan ke dalam lubang sumuran kode R25 dimasukkan 5 μ L ekstrak konsentrasi 25% dengan menggunakan mikropipet 3, pada *petridish* nomor 1 sampai 12. Begitu juga dengan lubang sumuran kode R12,5 juga dimasukkan 5 μ L ekstrak konsentrasi 12,5% berurutan mulai *petridish* nomor 1 sampai 12 dengan mikropipet ke 4. Untuk lubang sumuran dengan kode Bet K(+) dimasukkan 5 μ L Betadine obat kumur mulai *petridish* 1 sampai 12 dengan mikropipet 5. Lubang sumuran kode Kaf K(+) dimasukkan 5 μ L Kafein standar yang sebelumnya telah dilarutkan dengan aquadest dengan menggunakan mikropipet ke 6, mulai dari *petridish* nomor 1 sampai 12, dan yang terakhir lubang sumuran dengan kode K(-) dimasukkan *aquadest steril* juga sebanyak 5 μ L pada *petridish* nomor 1 sampai 12 dengan menggunakan mikropipet 7.

c. Inkubasi

Memasukkan 12 *petridish* yang telah diberikan perlakuan ke dalam desikator untuk menciptakan suasana anaerob, selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

3.7.3 Tahap pengukuran zona hambat

Setelah 24 jam, *petridish* yang telah diberi perlakuan dikeluarkan dari *desicator*, 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 lubang sumuran, kemudian dengan menggunakan jangka sorong daerah inhibisi diukur diameternya dan dicatat (Gambar 3.5). Pengukuran dilakukan sebanyak 3 kali oleh orang berbeda yang sebelumnya telah dilakukan penyamaan persepsi dan diambil rata-ratanya (Hardman, 2001:1159)



Gambar 3.5 Simulasi cara pengukuran zona hambat terhadap pertumbuhan *S. mutans*

Keterangan : a = diameter zona hambat yang panjang

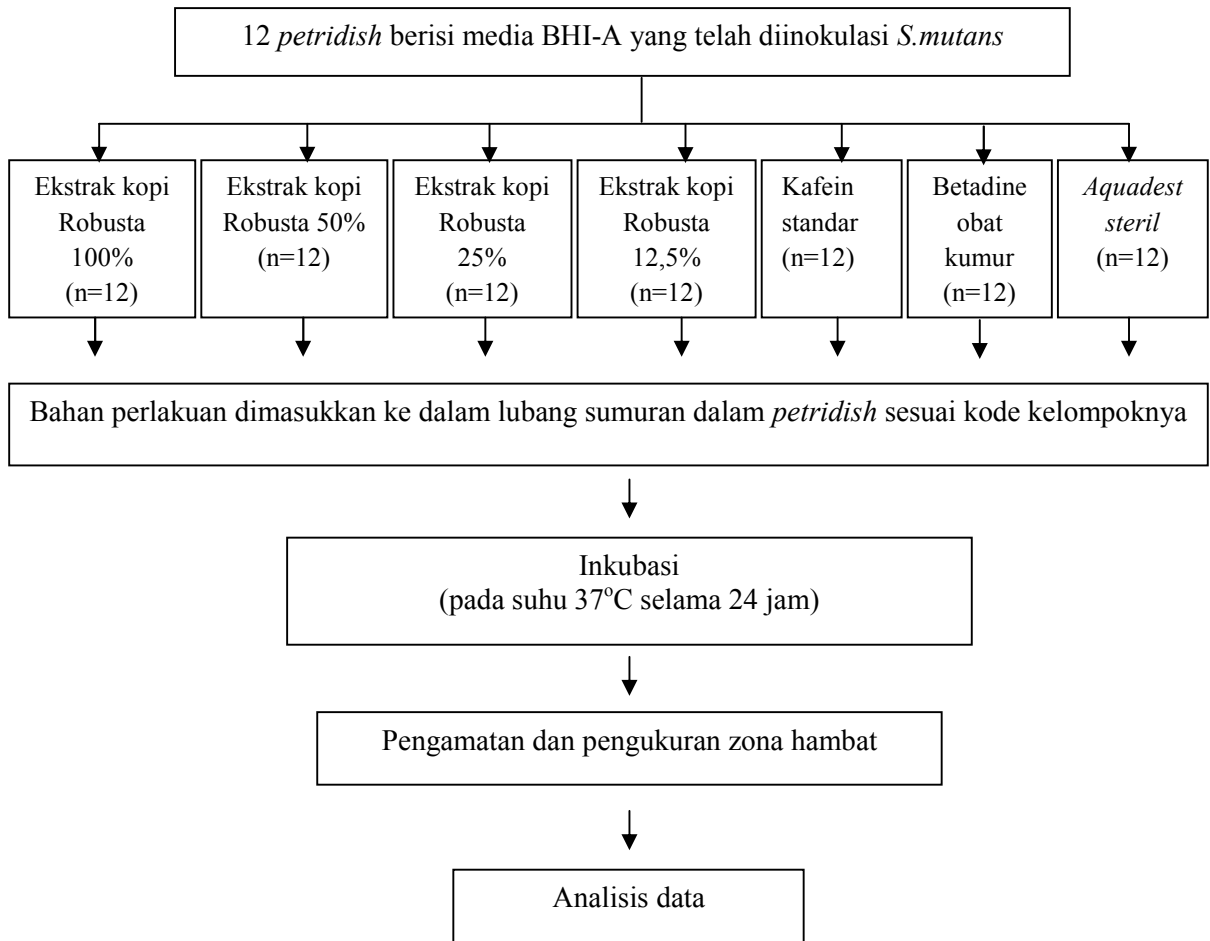
b = diameter zona hambat yang pendek

○ = lubang sumuran

● = zona hambat

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) = $(a+b)/2$.

3.7.4 Alur Penelitian



3.8 Analisis Data

Data hasil penelitian dilakukan uji normalitas dengan uji *Kolmogorov-Smirnov* dan uji homogenitas dengan *Levene Test*. Apabila kedua uji menunjukkan data normal dan homogen ($p > 0,05$) maka dilakukan uji statistik parametrik. Tetapi jika datanya tidak terdistribusi normal dan/atau tidak homogen dilanjutkan dengan uji statistik non parametrik.

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

Hasil penelitian tentang daya hambat ekstrak biji kopi Robusta (*Coffea Robusta*) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* dapat dilihat pada Tabel 4.1

Tabel 4.1 Hasil penghitungan rata-rata diameter zona hambat pertumbuhan *S. mutans*

Kelompok perlakuan	N	\bar{X} (mm)	SD
R 100	12	10,333	1,5423
R 50	12	8,542	1,0104
R 25	12	7,825	0,8986
R 12,5	12	7,158	0,7329
Kaf K(+)	12	7,017	0,4448
Bet K(+)	12	7,392	0,4166
K(-)	12	5,000	0,0000

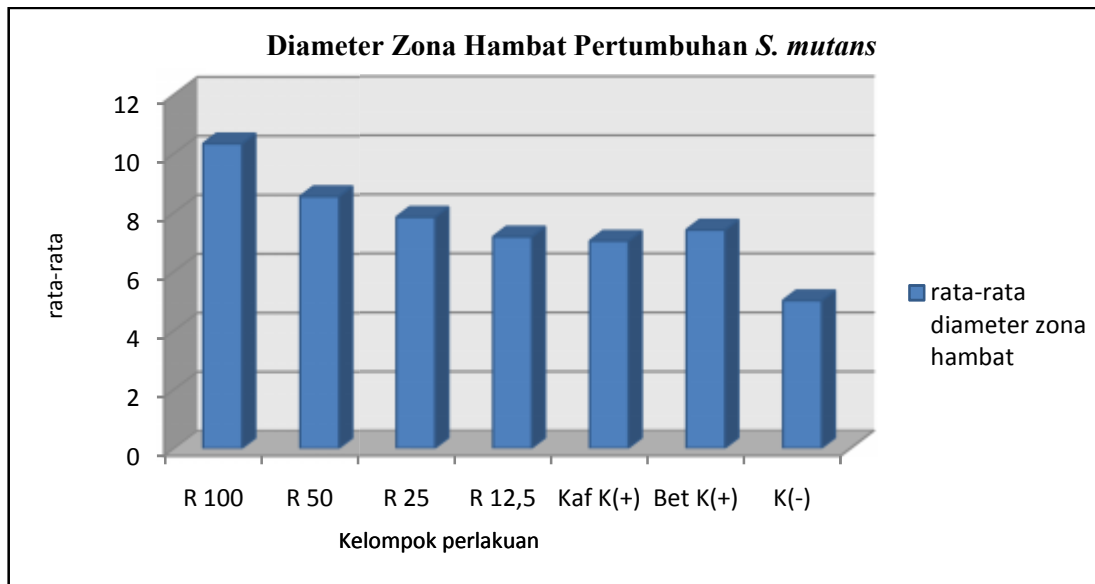
Keterangan :

N : jumlah sampel

\bar{X} : nilai rata – rata diameter zona hambat

SD : *Standar Deviasi* (simpang baku) diameter zona hambat

Pada Tabel 4.1 dapat dilihat bahwa nilai rata - rata diameter zona hambat yang paling besar adalah pada kelompok R100 yaitu sebesar 10,3 mm. Kemudian berturut - turut kelompok R50 sebesar 8,5 mm, kelompok R25 sebesar 7,8 mm, Kelompok Bet K(+) sebesar 7,4 mm, kelompok R12,5 sebesar 7,2 mm dan kelompok Kaf K(+) sebesar 7 mm. Sedangkan kelompok K(-) yaitu *aquadest steril* memiliki nilai rata-rata diameter zona hambat terkecil yaitu 5 mm seluas lubang sumuran.



Gambar 4.1 Histogram rata-rata diameter zona hambat pertumbuhan *S.mutans*

Data pada Tabel 4.1 kemudian dilakukan uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* untuk mengetahui apakah data pada masing – masing kelompok terdistribusi normal. Kriteria pengambilan keputusan pada uji ini adalah sebagai berikut.

1. Bila nilai signifikansi lebih besar 0,05 maka data terdistribusi normal
2. Bila nilai signifikansi lebih kecil 0,05 maka data tidak terdistribusi normal

Tabel 4.2 Hasil uji normalitas dengan uji *Kolmogorov- Smirnov*

Kelompok perlakuan	N	Kolmogorov-Smirnov	Sig.
R100	12	0,490	0,970
R50	12	0,809	0,529
R25	12	0,535	0,937
R12,5	12	0,585	0,884
Kaf K(+)	12	0,814	0,521
Bet K(+)	12	0,842	0,477
K(-)	12	-	-

Pada tabel 4.2 dapat dilihat bahwa nilai signifikansi yang diperoleh lebih besar dari 0,05 sehingga dapat ditarik kesimpulan bahwa data terdistribusi normal. Setelah data dikatakan normal kemudian dilakukan uji homogenitas varian menggunakan uji *Levene* yang bertujuan untuk menguji ragam populasi, apakah setiap varian penelitian ini sama atau homogen. Kriteria pengambilan keputusan pada uji ini adalah sebagai berikut.

1. bila nilai signifikansi lebih besar 0,05 maka data homogen
2. bila nilai signifikansi lebih kecil 0,05 maka data tidak homogen

Tabel 4.3 Uji Homogenitas dengan menggunakan *Levene Test*

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
6,235	6	77	0,000

Pada tabel 4.3 menunjukkan nilai signifikasinya lebih kecil dari 0,05 berarti data tidak homogen. Selanjutnya data dianalisis menggunakan uji statistik nonparamaterik. Untuk mengetahui apakah ada perbedaan daya hambat pada seluruh kelompok sampel dilakukan uji *Kruskal Wallis*.

Tabel 4.4 Hasil uji *Kruskal Wallis*

Chi-Square	df	Asymp. Sig.
58,672	6	0.000

Hasil uji *Kruskal Wallis* diperoleh nilai $\alpha < 0,05$ berarti daya hambat terhadap *S. mutans* pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan memiliki perbedaan yang bermakna. Untuk mengetahui kelompok perlakuan mana yang berbeda bermakna maka dilakukan uji *Mann Whitney*.

Tabel 4.5 Hasil uji *Mann Whitney*

Kelompok Perlakuan	R100	R50	R25	R12,5	Kaf K(+)	Bet K(+)	K(-)
R100	-	0,005*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
R50	0,005*	-	0,089	0,001*	0,001*	0,004*	0,000*
R25	0,000*	0,089	-	0,114	0,014*	0,219	0,000*
R12,5	0,000*	0,001*	0,114	-	0,590	0,514	0,000*
Kaf K(+)	0,000*	0,001*	0,014*	0,590	-	0,128	0,000*
Bet K(+)	0,000*	0,004*	0,219	0,514	0,128	-	0,000*
K(-)	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	-

Keterangan : tanda * menunjukkan nilai yang signifikan

Hasil uji *Mann-Whitney* pada Tabel 4.5 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok R100 dengan R50, kelompok R100 dengan R25, kelompok R100 dengan R12,5, kelompok R100 dengan Kaf K(+), kelompok R100 dengan Bet K(+), kelompok R100 dengan K(-), kelompok R50 dengan R12,5, kelompok R50 dengan Kaf K(+), kelompok R50 dengan Bet K(+), kelompok R50 dengan K(-), kelompok R25 dengan Kaf K(+), kelompok R25 dengan K(-), kelompok R12,5 dengan K(-), kelompok Kaf K(+) dengan K(-) dan kelompok Bet K(+) dengan K(-). Terdapat perbedaan yang tidak bermakna antara kelompok R50 dengan R25, kelompok R25 dengan R12,5, kelompok R25 dengan Bet K(+), kelompok R12,5 dengan Bet K(+), kelompok R12,5 dengan Kaf K(+) dan kelompok Bet K(+) dengan Kaf K(+).

4.2 Pembahasan

Pengujian daya hambat pada penelitian ini menggunakan metode difusi sumuran (*Well Diffusion Method*). Daya hambat diketahui dari adanya zona daerah jernih disekeliling lubang sumuran. Semakin besar diameter zonanya, berarti semakin besar daya hambatnya. Secara deskripsi dan analisis menyatakan bahwa ekstrak biji kopi Robusta mempunyai zona hambat yang lebih besar dibandingkan dengan

kelompok perlakuan lain. Hal ini dikarenakan beberapa komponen dalam biji kopi Robusta yaitu kafein, senyawa fenolik, trigonelline dan asam klorogenik memiliki aktivitas antibakteri.

Kafein merupakan senyawa alkaloid yang berwujud kristal berwarna putih. Kafein adalah satu kandungan dalam biji kopi yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri, dimana dalam kopi Robusta mempunyai kandungan sebanyak 1,6-2,4% (Widyotomo dan Mulato, 2007:44). Kemampuan senyawa alkaloid sangat dipengaruhi oleh keaktifan biologis senyawa tersebut, yang disebabkan oleh adanya gugus basa yang mengandung nitrogen. Adanya gugus basa ini apabila mengalami kontak dengan bakteri akan bereaksi dengan senyawa asam amino yang menyusun dinding sel dan DNA bakteri yang merupakan penyusun utama inti sel, dimana merupakan pusat pengaturan segala kegiatan sel. Reaksi ini terjadi karena secara kimia suatu senyawa yang bersifat basa akan bereaksi dengan senyawa asam, dalam hal ini adalah asam amino. Reaksi ini mengakibatkan terjadinya perubahan struktur dan susunan asam amino karena sebagian besar asam amino telah bereaksi dengan gugus basa dari senyawa alkaloid. Perubahan susunan asam amino ini jelas akan merubah susunan rantai DNA pada inti sel yang semula memiliki susunan asam dan basa yang saling berpasangan. Perubahan susunan rantai asam amino pada DNA akan menimbulkan perubahan keseimbangan genetik sehingga DNA bakteri akan mengalami kerusakan. Dengan adanya kerusakan pada DNA tersebut inti sel bakteri akan mengalami kerusakan. Hal ini karena DNA merupakan komponen utama penyusun inti sel. Kerusakan DNA pada inti sel bakteri ini juga akan mendorong terjadinya lisis pada inti sel bakteri. Lisisnya inti sel bakteri akan menyebabkan juga kerusakan sel pada bakteri karena inti sel merupakan pusat kegiatan sel. Kerusakan sel pada bakteri ini lama kelamaan akan membuat sel-sel bakteri tidak mampu melakukan metabolisme sehingga juga akan mengalami lisis. Dengan demikian bakteri akan menjadi inaktif dan hancur (Gunawan, 2009:7). Hal ini diasumsikan bahwa cara kerja kafein murni dalam menghambat pertumbuhan bakteri sama dengan kafein yang berada dalam ekstrak biji kopi Robusta.

Komponen lain selain kafein yang terdapat dalam biji kopi Robusta yang dilaporkan juga memiliki aktivitas antibakteri adalah senyawa fenol, trigonelline dan asam klorogenik (Fardiaz, 1995:103). Senyawa fenol merupakan flavonoid yang terdapat dalam biji kopi. Aktivitas biologis senyawa flavonoid dilakukan dengan merusak dinding sel bakteri, melalui perbedaan kepolaran antara lipid penyusun DNA dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid sehingga dinding sel akan rusak dan senyawa tersebut dapat masuk ke dalam inti sel bakteri. Mekanisme aktivitas biologis oleh senyawa flavonoid ini berbeda dengan yang dilakukan oleh senyawa alkaloid, dimana senyawa flavonoid dalam merusak sel bakteri memanfaatkan perbedaan kepolaran antara lipid penyusun sel bakteri dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid. Sedangkan pada senyawa alkaloid memanfaatkan sifat reaktif gugus basa pada senyawa alkaloid untuk bereaksi dengan gugus asam amino pada sel bakteri (Gunawan, 2009:7).

Betadine obat kumur juga mempunyai daya hambat terhadap *S.mutans*, hal ini diasumsikan bahwa kandungan povidone iodine 1% sebagai obat kumur antiseptik yang mempunyai sifat antibakteri. Obat kumur ini dipakai untuk mengurangi bakteremia setelah pencabutan gigi atau setelah perawatan bedah. Betadine obat kumur hanya mempunyai sedikit sifat anti plak jika dibandingkan dengan chlorhexidine (Priyantojo, 1996:29).

S.mutans merupakan bakteri Gram positif yang cenderung lebih peka terhadap komponen antibakteri. Hal ini disebabkan oleh struktur dinding sel bakteri Gram positif lebih sederhana, hanya tersusun atas peptidoglikan yang tebal, sehingga memudahkan senyawa antibakteri untuk masuk ke dalam sel yang mengakibatkan tekanan osmotik didalam sel lebih besar sehingga menyebabkan sel lisis (Kusmiyati dan Agustini, 2007:51).

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak biji kopi Robusta (*Coffea robusta*) mempunyai daya hambat yang besar terhadap pertumbuhan *S. mutans*.
2. Konsentrasi terkecil dari ekstrak biji kopi Robusta (*Coffea robusta*) dalam penelitian ini yang masih mempunyai daya hambat terhadap pertumbuhan *S. mutans* adalah konsentrasi 12,5 %.

5.2 Saran

1. Perlu adanya penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kemampuan ekstrak biji kopi Robusta (*Coffea robusta*) dalam menghambat pertumbuhan mikroflora lain yang patogen dalam rongga mulut.
2. Perlu penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kadar hambat minimal ekstrak biji kopi Robusta (*Coffea robusta*) dibawah konsentrasi 12,5%.
3. Perlu penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh klinis ekstrak biji kopi Robusta (*Coffea Robusta*) sebagai obat kumur alternatif.

DAFTAR BACAAN

- Boel, T. 2000. Daya hambat Kombinasi Triklosan dan Zink Sitrat Dalam Beberapa Konsentrasi Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *Dentika Majalah Ilmiah Kedokteran Gigi USU* Vol. 5 No. 1 Hal. 7 – 16
- Departemen Farmakologi dan Terapeutik FKUI. 2007. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi 5. Jakarta: Gaya Baru
- Fardiaz, S. 1995. Antimicrobial Activity of Coffee (*Coffea robusta*) Extract. *ASEAN Food Journal* Vol. 10 No. 3 : 103 - 106
- Ferrazzano, Amato, Ingenito, Natale, dan Pollio. 2009. Anti-cariogenic effects of polyphenol from plant stimultan beverages (cocoa, coffee, tea). *Fitoterapia 80 Elsevier Dental Journal* 2009 : 255 - 262
- Ferrazzano, Amato, Ingenito, Zarelli, Pinto, dan Pollio. 2011. Plant Polyphenol and Their Anti-Cariogenic Properties : A Review. *Molecules* Vol. 16 2011 : 1486 – 1507
- Goenawan. 2011. *Komposisi Kopi*. [Serial Online]. <http://goenawanb.com/agriculture/komposisi-kopi>. [26 April 2011].
- Gunawan, I.W.A. 2009. Potensi Buah Pare (*Momordica Charantia* L) Sebagai Antibakteri *Salmonella typhimurium*. Denpasar: Program Studi Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Mahasaraswati.
- Hardman, J.G. 2001. *Goodman and Gillman's The Pharmacological Basis of Therapeutics 10th Edition*. USA : The Mc Graw-Hill Companies, Inc
- Harmandini, F. 2009. *Manfaat Kopi Untuk mencegah Berbagai Macam Penyakit*. Female Kompas [Serial Online]. <http://female.kompas.com/read/2009/07/27/11533750/Manfaat.Kopi.untuk.Mencegah.Berbagai.Penyakit>. [17 April 2011].

- Hermawan, A. 2009. *Kenali Delapan Dampak Negatif Kafein Bagi Kesehatan Anda*. Klinik Online “HealIndonesia” [Serial Online]. <http://healindonesia.wordpress.com/2009/05/15/kenali-delapan-dampak-negatif-kafein-bagi-kesehatan-anda/>. [13 Juni 2011].
- Jawetz, Melnick, dan Adelberg's. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran (Medical Microbiology)*. Edisi I. Jakarta: Salemba Medika
- Kusmiyati dan Agustini, N. 2007. Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri dari Mikroalga *Porphyridium cruentum*. *Biodiversitas* Vol. 8 No. 1 Hal 48-53
- Najiyati, S. dan Danarti. 2001. *Kopi Budidaya dan Penanganan Lepas Panen*. Jakarta : Penebar Swadaya.
- Natamiharja, L., Zovai H., dan Dorlina. 2008. Pengalaman Karies Gigi, Status Periodontal dan Perilaku Oral Higiene Pada Siswa Kelas VI SD, Kelas III SMP, dan Kelas III SMA Kecamatan Medan Baru. *Maj. Ked. Gigi (Dent. J)*. Vol. 13 no. 2 Hal. 131-137. Surabaya : UNAIR
- Octiara, E. dan Sarworini, B. 2008. *Streptococcus Mutans* : Faktor Virulensi dan Target Spesifik Vaksin. *Maj. Ked. Gigi (Dent. J)*. Vol. 13 no. 2 Hal. 180-185. Surabaya : UNAIR
- Pratama, M. 2005. Pengaruh Ekstrak Serbuk Kayu Siwak (*Salvadora Persica*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus Mutans* dan *Staphylococcus Aureus* Dengan Metode Difusi Agar. Surabaya: Program Studi Biologi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Teknologi Sepuluh Nopember
- Prijantojo. 1996. Antiseptik Sebagai Obat Kumur – Peranannya Terhadap Pembentukan Plak Gigi dan Radang Gusi. *Cermin Dunia Kedokteran* No. 113 Hal. 28-32
- Putnam, G. 2010. Emily's Thesis Presentation. [Serial Online].[17 Agustus 2011]
- Ridwansyah. 2003. *Pengolahan Kopi*. Jurusan Teknologi Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara : USU Digital Library

- Soesilo, D., Santoso, Rinna E., dan Diyatri, I. 2005. Peranan Sorbitol Dalam Mempertahankan Kestabilan pH Saliva Pada Proses Pencegahan Karies. *Maj. Ked. Gigi (Dent. J.)*, Vol. 38 No. 1 Januari Hal. 25 – 28. Surabaya : UNAIR
- Suwarto dan Octaviany, Y. 2010. *Budi Daya 12 Tanaman Perkebunan Unggulan*. Jakarta : Penebar Swadaya
- Tanaman Obat. 2008. Kopi (*Coffea robusta* L). [Serial Online]. <http://tanamanobat.org/496/kopi-coffee-robusta-l/> [7 april 2011]
- Widyotomo, S. dan Sri, M. 2006. Ekstraksi Kafein Dari Dalam Biji Kopi. *Warta Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia*. Vol. 22 No. 3 Hal. 133 – 141
- Widyotomo, S. dan Sri, M. 2007. Kafein : Senyawa Penting Pada Biji Kopi. *Warta Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia*. Vol. 23 No. 1 Hal. 44 – 50
- Yendriwati, H. 2008. Efek Antibakteri Sediaan Daun Sirih (*Piper Betel* L.), Obat Kumur Minyak Essensial dan Povidone Iodine 1% Terhadap *Streptococcus Mutans*. *Maj. Ked. Gigi (Dent. J.)*. Vol. 13 no. 2 Hal. 145-148. Surabaya : UNAIR
- <http://web.ipb.ac.id/~usmanahmad/Pengolahankopi.html> [27 April 2011]

Lampiran A. Perhitungan Jumlah Sampel Penelitian

Rumus perhitungan sampel menurut Steel dan Torrie adalah sebagai berikut, (Steel dan Torrie dalam Sudarso, 2007 : 38).

$$n = \frac{(Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 \sigma_p^2}{\delta^2}$$

keterangan :

- n : Besar sampel minimal
- Z_{α} : Batas atas nilai konversi pada table distribusi normal untuk batas atas kemaknaan (1,96)
- Z_{β} : Batas bawah nilai konversi pada tabel distribusi normal untuk batas bawah kemaknaan (0,85)
- σ_p^2 : Diasumsikan $\sigma_p^2 = \delta^2$
- α : Tingkat signifikansi (0,025)
- β : 0,20

Perhitungan jumlah sampel adalah sebagai berikut,

$$n = \frac{(Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 \sigma_p^2}{\delta^2}$$

$$n = \frac{(1,96 + 0,85)^2 \sigma_p^2}{\delta^2}$$

$$n = (1,96 + 0,85)^2$$

$$n = 7,8961 \approx 8$$

Dari hasil penghitungan menggunakan rumus di atas, diperoleh jumlah sampel minimal adalah 8 untuk setiap kelompok perlakuan. Agar hasil yang diperoleh lebih valid maka ditambahkan $1/2n$ dari jumlah sampel minimal sehingga didapatkan sampel sebanyak 12 sampel.

Lampiran B. Hasil Penelitian

Hasil pengukuran diameter zona hambat (mm) ekstrak biji kopi Robusta berbagai konsentrasi dengan betadine dan kafein sebagai kontrol positif dan *aquadest steril* sebagai kontrol negatif.

Plate	R100	R50	R25	R12,5	Bet K(+)	Kaf K(+)	K(-)
1	10	8,5	8	7,5	8	7,5	5
2	11	9,5	9	8	7,5	7	5
3	10	8,5	7,5	7	8	6,5	5
4	8	7	6,5	6	7,4	7	5
5	13,5	9,5	9	8	7	7,5	5
6	11,5	9	8,5	8,2	8	7,5	5
7	11	9	7,8	7	7	7,3	5
8	8	6,5	6,5	6	7	6,2	5
9	11,5	10	9	7,6	7	7	5
10	9,5	8	7,4	7	7,3	7,3	5
11	10,5	8,5	7,4	6,6	7	6,4	5
12	9,5	8,5	7,3	7	7,5	7	5

Lampiran C. Analisa Data**C.1 Hasil Uji Normalitas Menggunakan Uji *Kolmogorov-Smirnov***

C.2 Hasil Uji Homogenitas Menggunakan Uji *Levene*

C.3 Hasil Uji Beda Menggunakan Uji *Kruskall Wallis*

C.4 Hasil Uji Beda pada Masing – Masing Kelompok Menggunakan Uji *Mann-Whitney*

C.4.1 Ekstrak konsentrasi 100% : 50%

C.4.2 Ekstrak konsentrasi 100% : 25%

C.4.3 Ekstrak konsentrasi 100% : 12,5%

C.4.4 Ekstrak konsentrasi 100% : Kafein

C.4.5 Ekstrak konsentrasi 100% : Betadine

C.4.6 Ekstrak konsentrasi 100% : Aquadest steril

C.4.7 Ekstrak konsentrasi 50% : 25%

C.4.8 Ekstrak konsentrasi 50% : 12,5%

C.4.9 Ekstrak 50% : Kafein

C.4.10 Ekstrak 50% : Betadine

C.4.11 Ekstrak konsentrasi 50% : Aquadest steril

C.4.12 Ekstrak konsentrasi 25% : 12,5%

C.4.13 Ekstrak konsentrasi 25% : Kafein

C.4.14 Ekstrak konsentrasi 25% : Betadine

C.4.15 Ekstrak konsentrasi 25% : Aquadest steril

C.4.16 Ekstrak konsentrasi 12,5% : Kafein

C.4.17 Ekstrak konsnetrasi 12,5% : Betadine

C.4.18 Ekstrak konsentrasi 12,5% : Aquadest steril

C.4.19 Kafein : Betadine

C.4.20 Kafein : Aquadest steril

C.4.21 Betadine : Aquadest

Lampiran D. Foto Hasil Penelitian

D.1 Sampel Penelitian Setelah Perlakuan

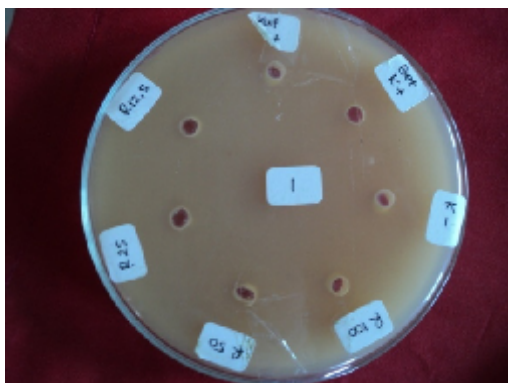


Foto petridish 1

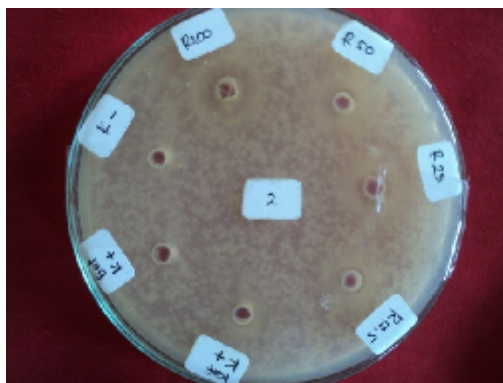


Foto petridish 2

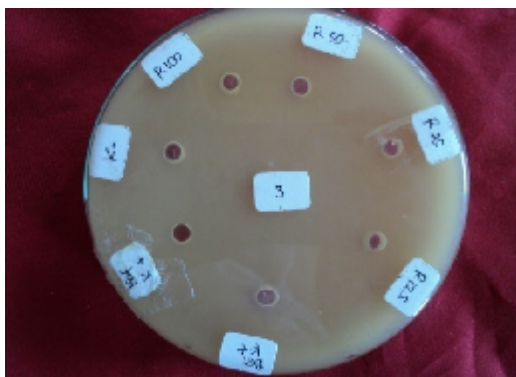


Foto petridish 3

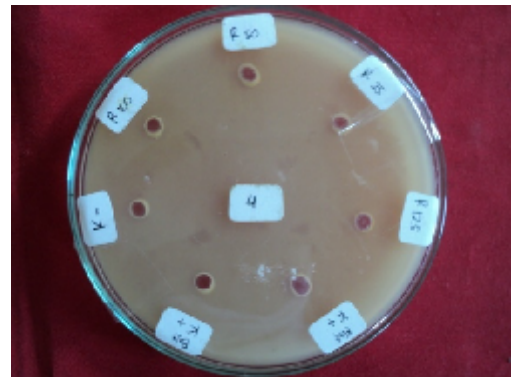


Foto petridish 4

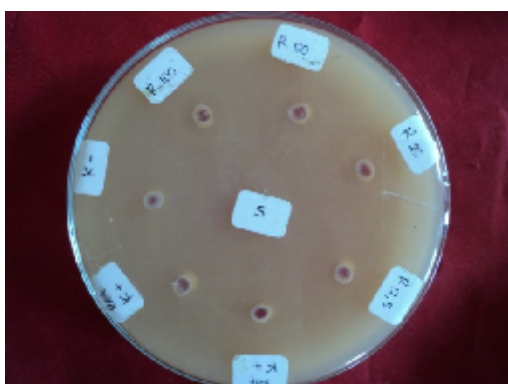


Foto petridish 5

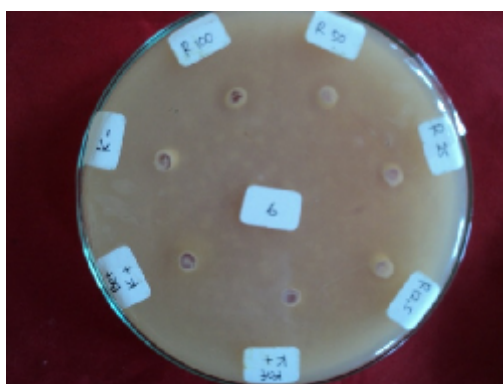
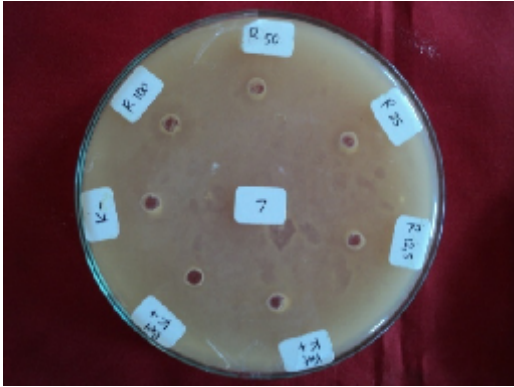
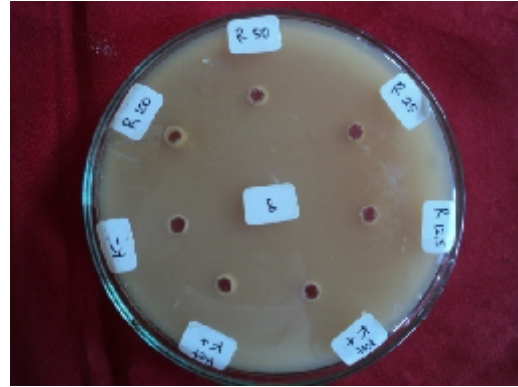
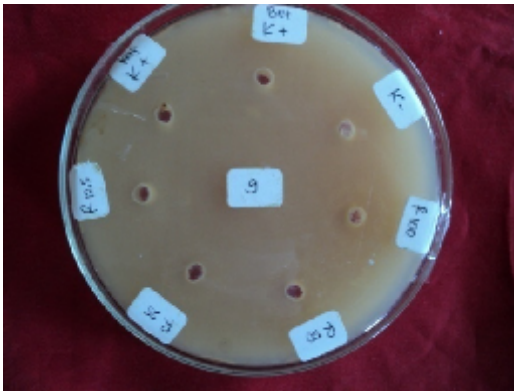
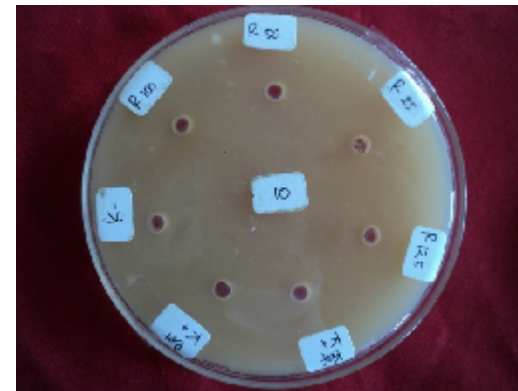
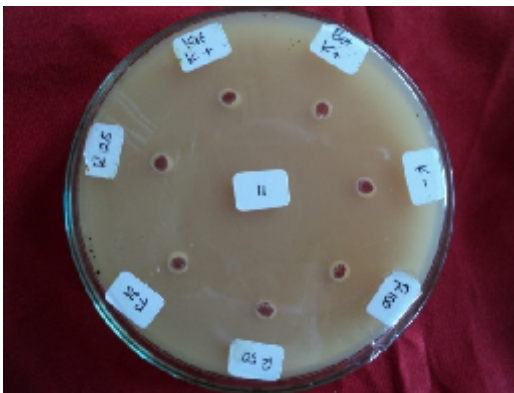
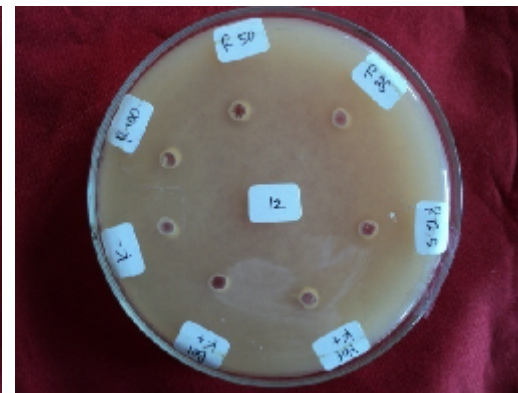
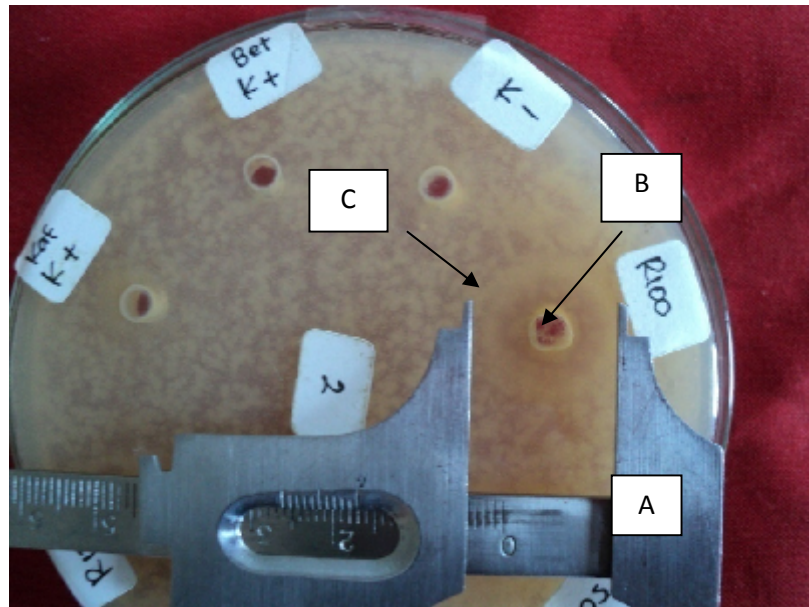


Foto petridish 6

Foto *petridish* 7Foto *petridish* 8Foto *petridish* 9Foto *petridish* 10Foto *petridish* 11Foto *petridish* 12

Keterangan : Foto hasil penelitian diambil setelah semua *petridish* diinkubasi selama 24 jam kemudian dilakukan pengukuran diameter zona hambat.

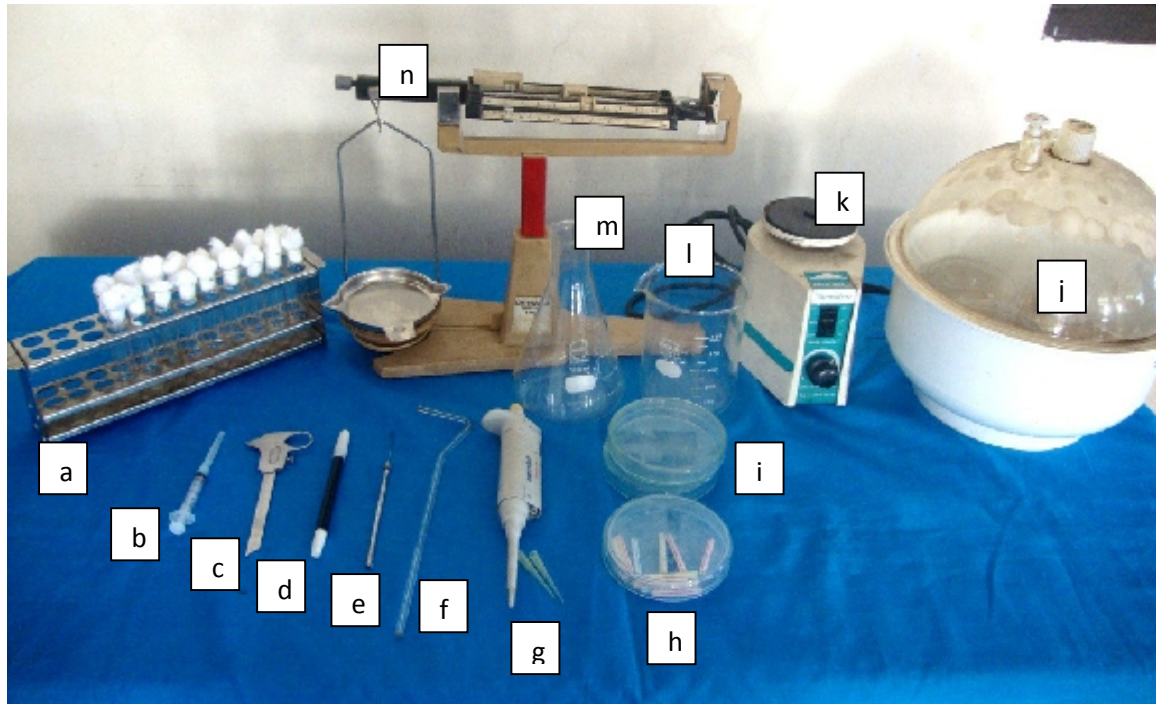
D.2 Pengukuran Diameter Zona Hambat



Keterangan: A = Jangka sorong
B = Lubang sumuran
C = Zona hambat

Lampiran E. Foto Alat Dan Bahan Penelitian

E.1 Foto Alat Penelitian



Keterangan :

a = Rak dan tabung reaksi

b = Syringe

c = Jangka sorong

d = Spidol

e = Ose

f = Gigaskrin

g = Mikropipet

h = Sedotan plastic

i = *Petridish*

j = *Desicator*

k = *Thermolyne*

l = *Beaker glass*

m = Tabung Erlenmeyer

n = Neraca timbang



o



p



q



r



s



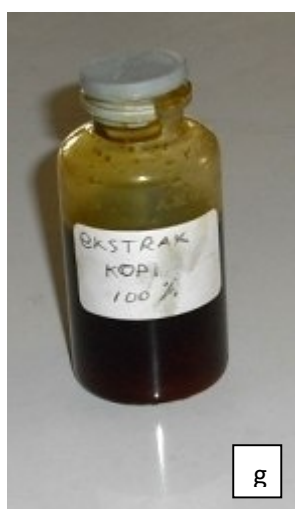
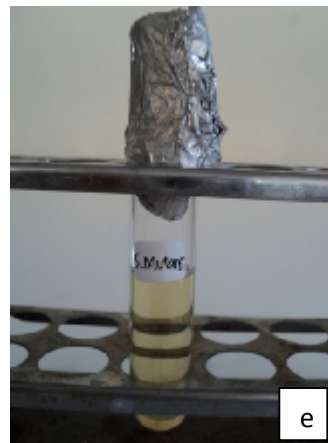
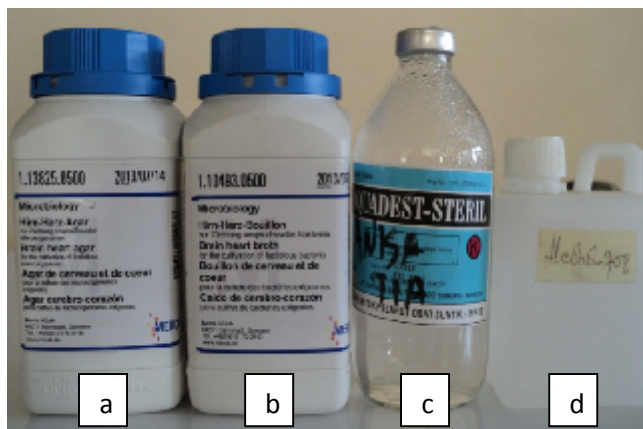
t

Keterangan :

o = Spektrofotometer
 p = *Dry heat oven*
 q = *Incubator*

r = kompor listrik
 s = *Laminar flow*
 t = *Autoclave*

E.2 Foto Bahan Penelitian



Keterangan :
 a = BHI-A
 b = BHI-B
 c = Aquadest steril
 d = Alkohol 70%

e = Suspensi *S. mutans*
 f = Betadine
 g = Ekstrak biji kopi Robusta
 h = Kafein standar