



**KEMAMPUAN DAYA HAMBAT EKSTRAK KERING BEKU
DAUN KOPI ROBUSTA (*Coffea canephora*) TERHADAP
PERTUMBUHAN *Candida albicans***

SKRIPSI

Oleh
Anastasia Okta Erisha
NIM 131610101091

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER**

2017



**KEMAMPUAN DAYA HAMBAT EKSTRAK KERING BEKU
DAUN KOPI ROBUSTA (*Coffea canephora*) TERHADAP
PERTUMBUHAN *Candida albicans***

SKRIPSI

Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat menyelesaikan Program Sarjana
Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Jember

Oleh

Anastasia Okta Erisha

NIM 131610101091

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS JEMBER

2017

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Allah SWT atas limpahan rahmat, hidayah, kemudahan, dan berkah yang tiada habisnya;
2. Nabi Muhammad SAW, panutan dunia dan akhirat;
3. Kedua orang tuaku, ayahanda Totok Heru S. dan ibunda Astuty Lombar Ritha;
4. Adik-adikku Shilviana Yuditha Sari dan Devitha Aulia Thiarsya;
5. Semua guru yang telah membimbing dari TK sampai dengan perguruan tinggi;
6. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

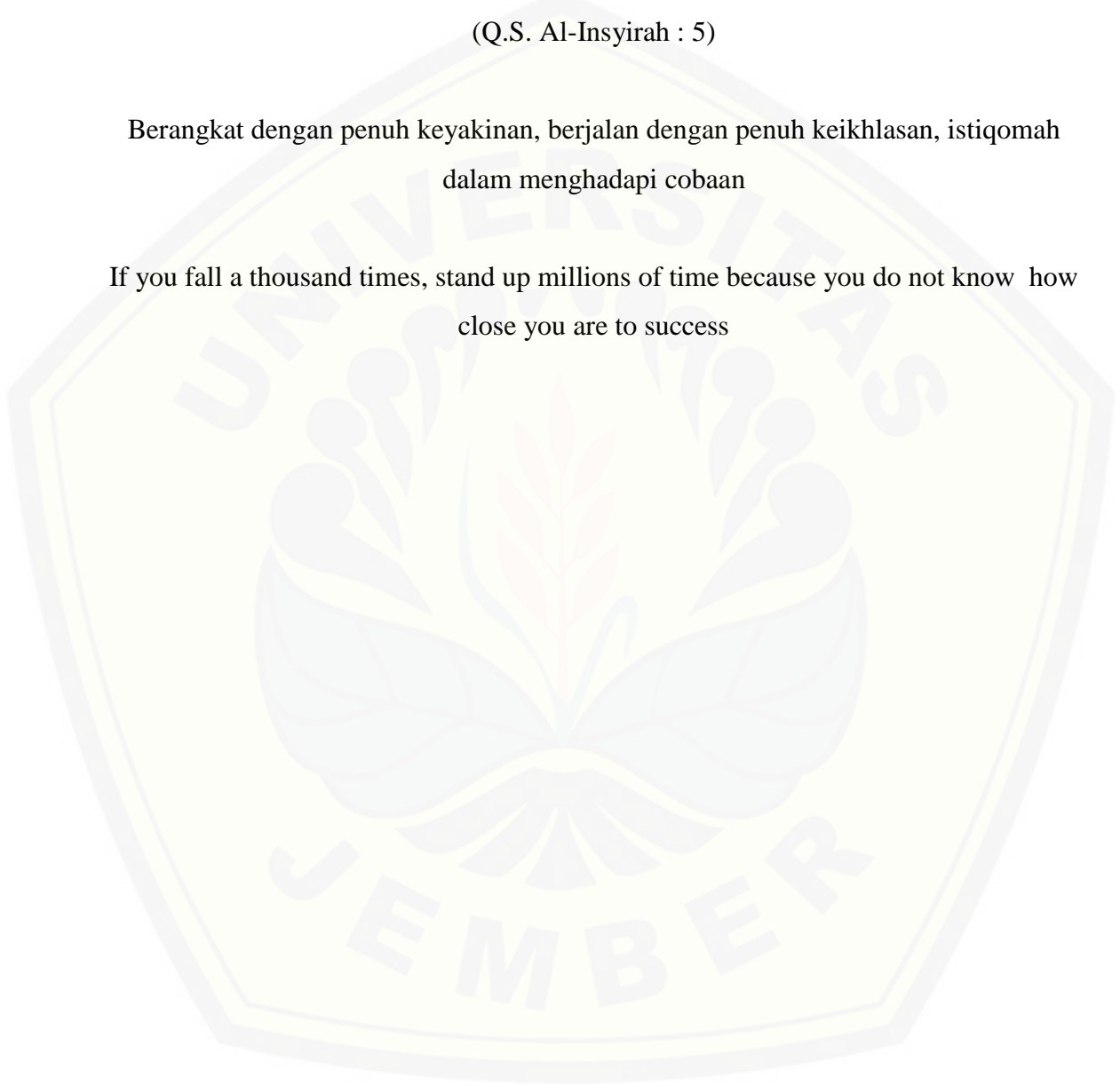
MOTO

Karena sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan

(Q.S. Al-Insyirah : 5)

Berangkat dengan penuh keyakinan, berjalan dengan penuh keikhlasan, istiqomah
dalam menghadapi cobaan

If you fall a thousand times, stand up millions of time because you do not know how
close you are to success



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Anastasia Okta Erisha

Nim : 131610101091

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul "Kemampuan Daya Hambat Ekstrak Kering Beku Daun Kopi Robusta (*Coffea canephora*) terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*" adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan 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 ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun.

Jember, April 2017

Yang menyatakan,

Anastasia Okta Erisha

NIM 131610101091

SKRIPSI

**KEMAMPUAN DAYA HAMBAT EKSTRAK KERING BEKU DAUN KOPI
ROBUSTA (*Coffea canephora*) TERHADAP PERTUMBUHAN
*Candida albicans***

Oleh
Anastasia Okta Erisha
NIM 131610101091

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER**

2017

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Dr. drg. Hj. Herniyati, M.Kes

Dosen Pembimbing Pendamping : Dr. drg. Purwanto, M.Kes

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Kemampuan Daya Hambat Ekstrak Kering Beku Daun Kopi Robusta (*Coffea canephora*) terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Gigi pada:

Hari, tanggal : Rabu, 26 April 2017

Tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Penguji Ketua

drg. Ayu Mashartini, Sp. PM
NIP. 19841221200912200

Penguji Anggota

drg. Depi Praharani, M.Kes
NIP. 196801221997022001

Pembimbing Utama

Dr. drg. Hj. Herniyati, M.Kes
NIP. 195909061985032001

Pembimbing Pendamping

Dr. drg. Purwanto, M.Kes
NIP. 195710241986031002

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi

Universitas Jember

drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes, Sp.Prof
NIP. 196901121996011001

RINGKASAN

Kemampuan Daya Hambat Ekstrak Kering Beku Daun Kopi Robusta (*Coffea canephora*) terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*; Anastasia Okta Erisha, 131610101091; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Jamur *Candida albicans* menyebabkan sebagian besar kasus infeksi jamur di rongga mulut. *C. albicans* merupakan jamur patogen yang paling sering ditemukan pada rongga mulut, saluran pencernaan, dan lingkungan vagina, namun organisme ini juga merupakan patogen oportunistik dan juga dapat menyebabkan infeksi sistemik yang lebih serius. Infeksi *C. albicans* disebut oportunistik, karena organisme tersebut dapat menjadi patogen pada keadaan sistem pertahanan tubuh kita terganggu. Pada individu yang sistem pertahanan tubuhnya terganggu, organisme ini dapat menyebabkan kandidiasis. Kandidiasis adalah salah satu infeksi jamur yang telah meningkat kejadiannya selama dekade terakhir di dunia. Kandidiasis merupakan infeksi yang paling sering dijumpai di rongga mulut. Sekitar 85—95% infeksi kandidiasis disebabkan oleh jamur *C. albicans*.

Pengobatan kandidiasis umumnya menggunakan obat-obat antifungal (antijamur) yang menghambat ergosterol pada membran sel jamur, salah satunya adalah Nistatin. Akan tetapi, penggunaan Nistatin yang berlebihan dan secara terus-menerus dapat menyebabkan efek samping seperti mual, muntah, dan diare. Hal tersebut menyebabkan masyarakat masih mengharapkan antifungal yang berasal dari bahan-bahan alami sebagai alternatif pengobatan. Salah satu tanaman yang memiliki aktifitas antijamur adalah daun kopi Robusta. Daun kopi Robusta mengandung flavonoid, alkaloid, saponin, dan polifenol.

Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis kemampuan daya hambat ekstrak kering beku daun kopi Robusta terhadap pertumbuhan *C. albicans*, untuk menganalisis kemampuan daya hambat ekstrak kering beku daun kopi Robusta terhadap pertumbuhan *C. albicans* dengan konsentrasi 100%, 75%, 50%, dan 25%, dan untuk menganalisis apakah ekstrak kering beku daun kopi Robusta konsentrasi

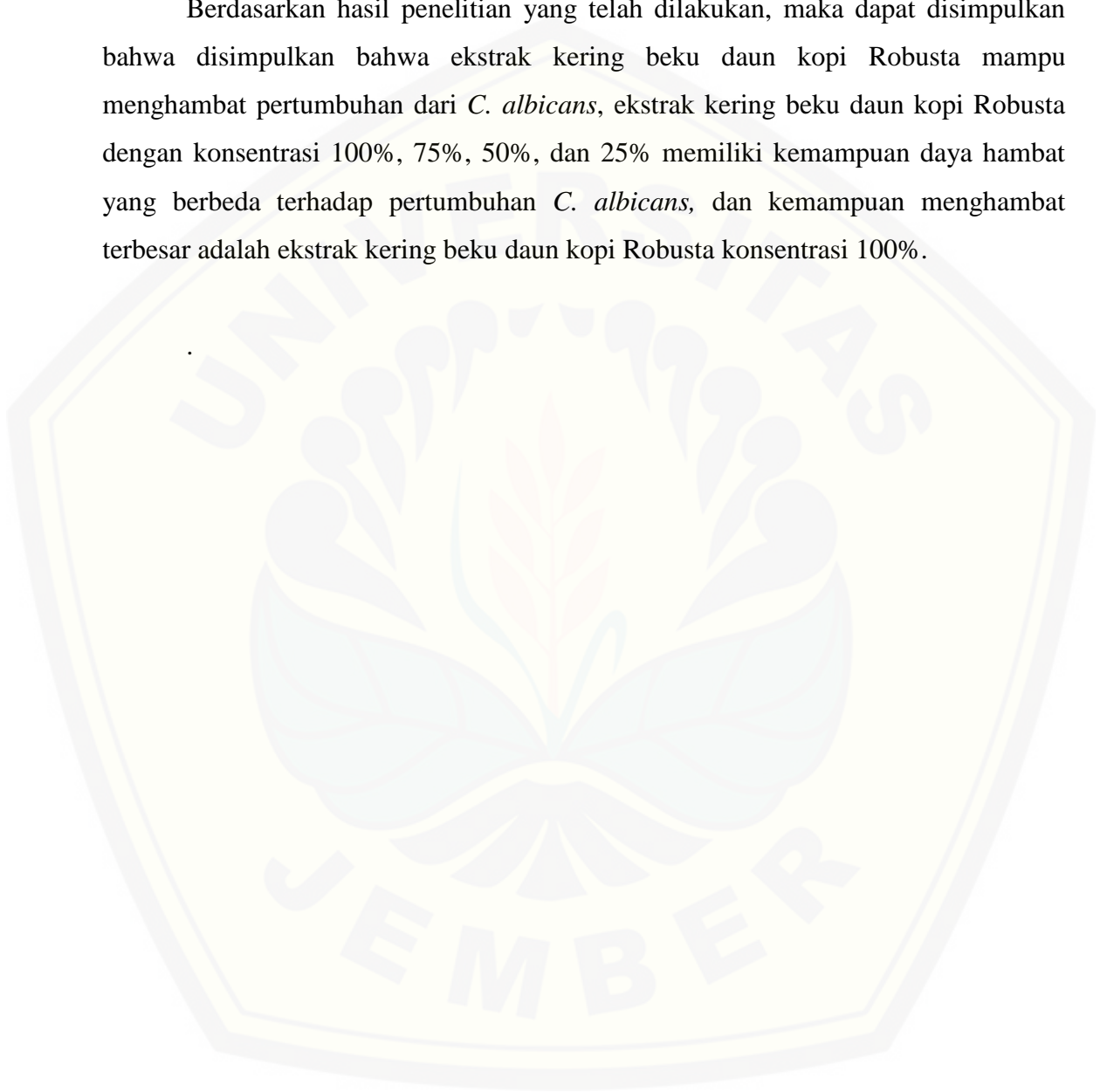
100% memiliki kemampuan paling besar dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans*. Jenis penelitian yang digunakan adalah *eksperimental laboratoris in vitro* dengan rancangan *the post only control group design*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Bio Science Rumah Sakit Gigi dan Mulut Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember dan pembuatan ekstrak kering beku daun kopi Robusta dilakukan di Laboratorium Teknologi Ilmu Pangan Politeknik Negeri Jember.

Metode penelitian yang digunakan adalah dengan penghitungan jumlah koloni pada media SDA menggunakan alat *colony counter* dengan jumlah sampel 24 yang terdiri dari 6 kelompok penelitian, yaitu ekstrak kering beku daun kopi Robusta dengan konsentrasi 100%, 75%, 50%, 25%, kontrol positif (suspensi *C. albicans* dan Nistatin), dan kontrol negatif (suspensi *C. albicans* dan aquades steril). Penelitian ini diawali dengan membuat konsentrasi larutan ekstrak kering beku daun kopi Robusta. Selanjutnya, memasukkan 100 µl dari setiap konsentrasi dan kontrol pada cawan petri yang berupa media SDA padat. Kemudian dimasukkan inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam. Setelah diinkubasi selama 24 jam, dilakukan penghitungan koloni menggunakan alat *colony counter*.

Pada hasil uji statistik *Shapiro-Wilk* menunjukkan hasil $p > 0,05$, yang menandakan bahwa data terdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji homogenitas menggunakan uji *Levene Test*, dan didapatkan hasil bahwa tidak homogen, maka selanjutnya dilakukan uji statistik non parametrik *Kruskal-Wallis*, untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan yang signifikan pada seluruh kelompok penelitian. Kemudian didapatkan hasil bahwa nilai signifikansinya $p < 0,05$, yang menandakan terdapat perbedaan pada kelompok penelitian. Uji terakhir yang dilakukan yaitu *Mann-Whitney* ($p < 0,05$) untuk mengetahui apakah ada perbedaan antar kelompok penelitian. Hasil uji *Mann-Whitney* menunjukkan $p < 0,05$ sehingga dapat dikatakan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antar semua kelompok yang diuji. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak kering beku daun kopi Robusta konsentrasi 100% memiliki kemampuan paling besar dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans*

dibandingkan ekstrak kering beku daun kopi Robusta pada konsentrasi 75%, 50%, dan 25%.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa disimpulkan bahwa ekstrak kering beku daun kopi Robusta mampu menghambat pertumbuhan dari *C. albicans*, ekstrak kering beku daun kopi Robusta dengan konsentrasi 100%, 75%, 50%, dan 25% memiliki kemampuan daya hambat yang berbeda terhadap pertumbuhan *C. albicans*, dan kemampuan menghambat terbesar adalah ekstrak kering beku daun kopi Robusta konsentrasi 100%.



PRAKATA

Puji syukur Alhamdulillah kehadiran Allah SWT karena atas rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "Kemampuan Daya Hambat Ekstrak Kering Beku Daun Kopi Robusta (*Coffea canephora*) terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*" sebagai persyaratan menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

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

1. Mamah saya, Astuty Lombar Ritha, terima kasih atas segala motivasi, doa, kasih sayang, pendidikan, dan kepercayaan yang telah diberikan dalam setiap pilihan saya;
2. Ayah saya, Totok Heru Suparyanto, terima kasih atas semangat, doa, dan motivasi yang telah diberikan selama perjalanan saya menempuh pendidikan;
3. Adik-adik saya, Shilviana Yuditha Sari dan Devitha Aulia Thiarsya yang sudah memberikan semangat, hiburan, doa, dan yang selalu menemani saya saat begadang lewat media sosial;
4. Dr. drg. Hj. Herniyati, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Utama Skripsi yang telah meluangkan waktu, memberikan perhatian, dan bimbingannya dalam penulisan skripsi ini;
5. Dr. drg. Purwanto, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Pendamping Skripsi yang selalu memberikan bimbingan dan semangat untuk menyelesaikan skripsi ini;
6. drg. Ayu Mashartini Prihanti, Sp. PM., selaku Dosen Penguji Ketua yang telah meluangkan waktu untuk membaca, memberikan kritik, dan saran dalam penulisan skripsi ini;
7. Drg. Depi Praharani, M.Kes., selaku Dosen Penguji Anggota yang telah meluangkan waktu untuk membaca, memberikan kritik, saran dalam penulisan skripsi ini, dan juga yang telah meluangkan waktunya untuk memberikan masukan dalam penelitian saya;

8. Teknisi Laboratorium Bio Science Rumah Sakit Gigi dan Mulut Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Mas Erwan, terima kasih atas bantuannya;
9. Teknisi Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Pak Pin dan Mbak Indri, terima kasih atas bantuannya;
10. Staff Akademik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
11. Staff Fakultas Pertanian Universitas Jember untuk daun kopi yang saya gunakan dalam penelitian saya khususnya Pak Tosan;
12. Bapak Ir. Cherry Triwidiarto, M.Si yang telah membantu penelitian dalam identifikasi tanaman;
13. Rhyan Sabria Kharsa Pratama, terima kasih mas sudah memberi semangat, menjaga, dan menemani selama saya hidup merantau;
14. Alvin Ananda Susetyo, yang selalu memberikan dukungan, saran, dan semangat selama berkuliah di FKG;
15. Danarwati Budiningrum, yang menemani dan memberikan semangat dalam menyelesaikan skripsi ini;
16. Ikatanti Ratna Anggraini, yang ikut membantu, menemani, dan teman sambat saya selama menyelesaikan skripsi;
17. Deffyna Azzahra Suyatno, terima kasih telah memberiku semangat dan dukungan walaupun terpisah jarak yang jauh;
18. Teman-teman saya, Dhystika, Elviera, dan Putri yang selalu ada setiap saat;
19. Teman-teman ICHI, Hanif, Natasya, Tika, Sella, dan Nara, terima kasih untuk semangatnya;
20. Teman seperjuangan dalam penelitian *Skripsweet* Tanti, Hesti, Ayung, Ajeng, dan Dessy, terima kasih atas bantuan dan kerja samanya;
21. Teman-teman LUWE, Elviera, Zahro, Melisa, Dewi, Ervin, Kikik, Ndut, Afif, Hisyam, dan Sadewa yang selalu kompak;
22. Partner perjuangan selama penelitian di Bio Science, Lala. Terima kasih atas bantuan dan kerja samanya;

23. Teman-teman angkatan 2013 yang selalu kompak, semoga kita lancar dan sukses.

JJMB!;

24. Semua pihak yang telah membantu baik moril, materiil, serta memberikan kritik dan saran selama penyusunan skripsi ini yang tidak bisa disebutkan satu per satu.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya, penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat. Amin.

Jember, 26 April 2017

Penulis

DAFTAR ISI

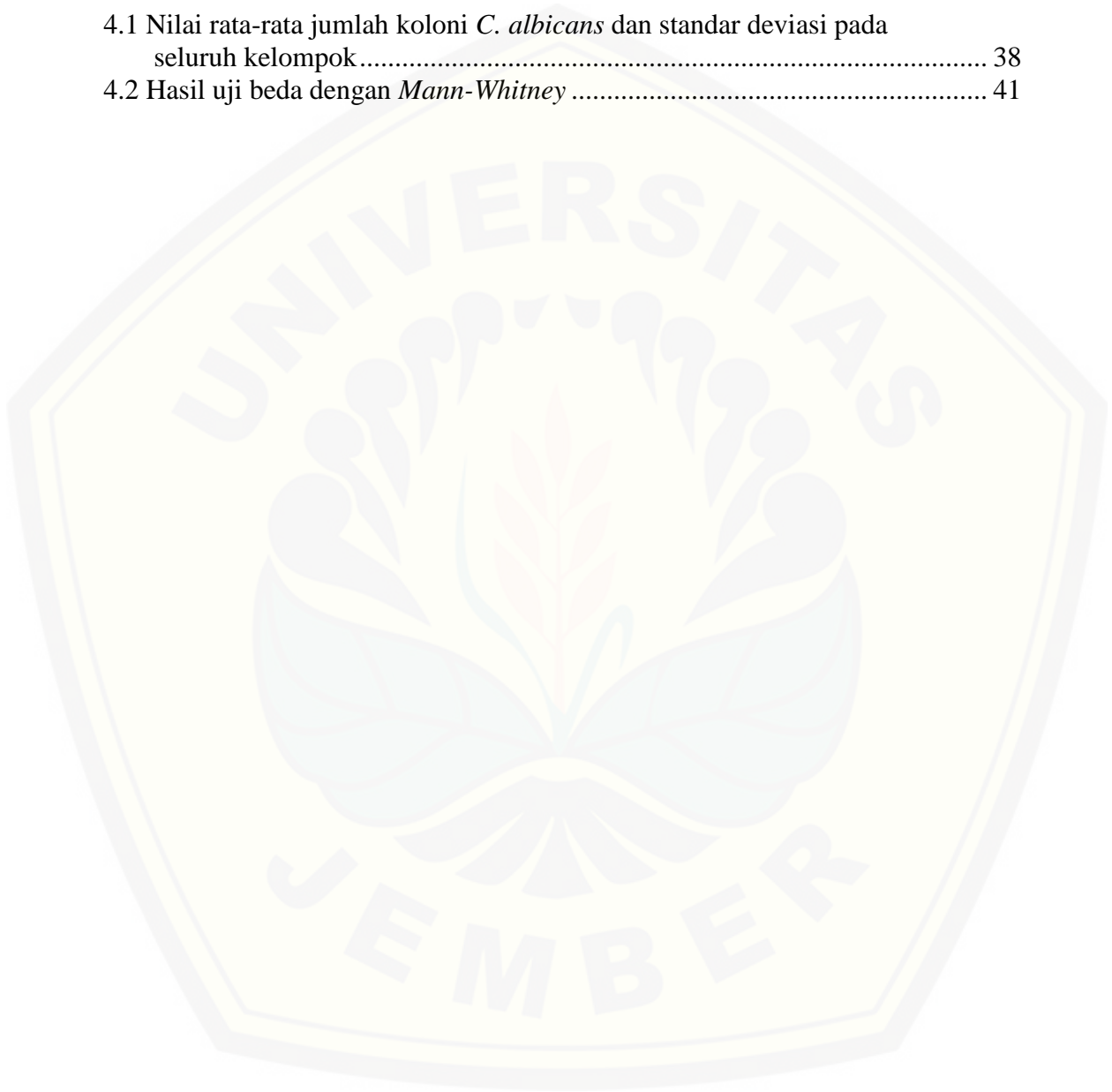
	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN.....	v
HALAMAN PENGESAHAN.....	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA.....	x
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Kandidiasis	5
2.2 <i>Candida albicans</i>	6
2.2.1 Definisi <i>C. albicans</i>	6
2.2.2 Taksonomi <i>C. albicans</i>	7
2.2.3 Morfologi dan Identifikasi <i>C. albicans</i>	7
2.2.4 Patogenitas Infeksi <i>C. albicans</i>	9
2.3 Aktivitas Antijamur	12

2.4 Kopi Robusta.....	13
2.4.1 Taksonomi Kopi Robusta.....	13
2.4.2 Habitat Kopi Robusta	14
2.4.3 Deskripsi Botani Kopi Robusta.....	14
2.4.4 Daun Kopi Robusta	15
2.4.5 Kandungan dan Efek Daun Kopi Robusta terhadap <i>C. albicans</i>	16
2.5 Metode Pengeringan Beku (<i>Freeze Drying</i>).....	19
2.6 Metode Hitungan Cawan	20
2.7 Konsentrasi Larutan	21
2.8 Kerangka Konsep Penelitian	23
2.9 Hipotesis	25
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	26
3.1 Jenis Penelitian.....	26
3.2 Rancangan Penelitian.....	26
3.3 Tempat dan Waktu Penelitian	26
3.4 Variabel Penelitian	26
3.3.1 Variabel Bebas.....	26
3.3.2 Variabel Terikat.....	26
3.3.2 Variabel Terkendali	26
3.5 Definisi Operasional	27
3.5.1 Ekstrak Kering Beku Daun Kopi Robusta.....	27
3.5.2 <i>Candida albicans</i>	27
3.5.3 Daya Hambat	27
3.6 Sampel Penelitian	27
3.6.1 Besar Sampel Penelitian	28
3.6.2 Pembagian Kelompok Sampel	28
3.7 Alat dan Bahan	29
3.7.1 Alat	29

3.7.2 Bahan	30
3.8 Prosedur Penelitian	30
3.8.1 Tahap Persiapan.....	30
3.8.2 Tahap Penelitian	34
3.9 Analisis Data	35
3.10 Alur Penelitian	36
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	37
4.1 Hasil penelitian.....	37
4.2 Pembahasan.....	41
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	45
5.1 Kesimpulan.....	45
5.2 Saran	45
DAFTAR PUSTAKA	46
LAMPIRAN	53

DAFTAR TABEL

	Halaman
4.1 Nilai rata-rata jumlah koloni <i>C. albicans</i> dan standar deviasi pada seluruh kelompok.....	38
4.2 Hasil uji beda dengan <i>Mann-Whitney</i>	41



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Ilustrasi morfologi <i>Candida albicans</i>	8
2.2 <i>Candida albicans</i>	8
2.3 Koloni <i>C. albicans</i> pada media agar	9
2.4 Hubungan antara faktor yang mempengaruhi kolonisasi <i>C. albicans</i> dalam rongga mulut	10
2.5 Tanaman kopi Robusta.....	15
2.6 Daun kopi Robusta.....	15
2.7 Struktur kimia Saponin	16
2.8 Kerangka C ₆ -C ₃ -C ₆ Flavonoid.....	17
2.9 Struktur umum senyawa Alkaloid	18
2.10 Struktur Polifenol	19
2.11 Skema ilustratif mekanisme terjadinya pengeringan beku.....	20
2.12 Kerangka Konsep Penelitian	23
3.3 Diagram alur penelitian.....	36
4.1 Hasil penelitian terhadap kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.....	37
4.2 Diagram batang rata-rata jumlah koloni <i>C. albicans</i> dengan perlakuan ekstrak kering beku daun kopi Robusta pada media SDA.....	39

DAFTAR LAMPIRAN

A. Surat Ijin Melaksanakan Penelitian	53
B. Surat Ijin Penghitungan Koloni	54
C. Surat Keterangan Identifikasi Jamur <i>Candida albicans</i>	55
D. Surat Keterangan Daun Kopi Robusta	56
E. Surat Hasil Analisa Ekstrak Kering Beku Daun Kopi Robusta.....	57
F. Alat dan Bahan Penelitian.....	58
G. Pembuatan ekstrak kering beku daun kopi Robusta	61
H. Foto Hasil Penelitian	63
I. Hasil Penghitungan Koloni.....	64
J. Hasil Uji Statistik	65



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Jamur *Candida albicans* menyebabkan sebagian besar kasus infeksi jamur di rongga mulut (Triwahyuni, 2011). *C. albicans* merupakan jamur patogen yang paling sering ditemukan pada rongga mulut, saluran pencernaan, dan lingkungan vagina, namun organisme ini juga merupakan patogen oportunistik dan juga dapat menyebabkan infeksi sistemik yang lebih serius (Gani, 2011). *C. albicans* disebut oportunistik, karena organisme tersebut dapat menjadi patogen pada keadaan sistem pertahanan tubuh kita terganggu (Triwahyuni, 2011). Pada individu yang sistem pertahanan tubuhnya terganggu, organisme ini dapat menyebabkan kandidiasis (Tyasrini dkk., 2006).

Kandidiasis adalah salah satu infeksi jamur *Candida* yang telah meningkat kejadiannya selama dekade terakhir di dunia (Mulangsri dan Nurani, 2015). Kandidiasis merupakan infeksi yang paling sering dijumpai di rongga mulut, karena hampir semua orang pernah mengalaminya (Triwahyuni, 2011). Sekitar 85—95% infeksi kandidiasis disebabkan oleh jamur *C. albicans* (Maharani dan Santoso, 2012). Pasien dengan kandidiasis mengeluhkan sensasi terbakar dan kadang-kadang nyeri pada mukosa yang terlibat. Mukosa yang terlibat menjadi peka terhadap makanan yang pedas (Hadiati, 2011). Adapun faktor predisposisi kandidiasis meliputi obat-obatan, iritasi lokal, usia, kehamilan, dan penyakit sistemik (Triwahyuni, 2011).

Pengobatan kandidiasis umumnya menggunakan obat-obat antifungal (antijamur) yang menghambat ergosterol pada membran sel jamur, salah satunya adalah Nistatin. Akan tetapi, penggunaan Nistatin yang berlebih dan secara terus-menerus dapat menyebabkan efek samping seperti mual, muntah, dan diare (Ridawati, 2011). Hal tersebut menyebabkan masyarakat masih mengharapkan antifungal yang berasal dari bahan-bahan alami sebagai alternatif pengobatan. Dewasa ini, pengobatan alternatif menggunakan tanaman berkhasiat obat berkembang

pesat. Tanaman berkhasiat obat ini banyak digunakan karena efek sampingnya yang relatif rendah, dan mudah didapat (Candrasari dkk., 2012).

Salah satu tanaman yang memiliki aktifitas antijamur adalah tanaman kopi. Tanaman kopi pertama kali diolah, ditanam di Ethiopia dan kemudian menyebar melalui perdagangan ke Arab sekitar tahun 800 dan akhirnya ke Eropa sekitar abad ke-13 (Dira, 2012). Jenis kopi yang mendominasi perkebunan kopi di Indonesia sampai sekarang adalah kopi Robusta (Wijaya dkk., 2015). Kopi Robusta banyak dijumpai di perkebunan daerah Jember dan harganya lebih terjangkau dibandingkan dengan kopi Arabika (Tarigan dkk., 2015).

Daun yang merupakan bagian dari tanaman kopi Robusta dipilih sebagai alternatif pengobatan infeksi *C. albicans* pada penelitian ini karena daun merupakan bagian dari tanaman kopi yang mudah ditemukan di Indonesia. Selain itu, daun kopi Robusta belum banyak dimanfaatkan dan hanya dianggap sebagai limbah. Daun kopi Robusta mengandung flavonoid, alkaloid, saponin, dan polifenol (Wulandari, 2014). Pada beberapa penelitian yang telah dilakukan, senyawa aktif seperti tanin, saponin, alkaloid, flavonoid, minyak atsiri yang terdapat pada berbagai tumbuhan terbukti memiliki efek antijamur terhadap *C. albicans* (Candrasari dkk., 2012). Dengan demikian, daun kopi Robusta diperkirakan dapat menjadi solusi alternatif dalam terapi berbahan dasar herbal terhadap penyakit infeksi jamur, sehingga dapat meminimalkan efek samping obat anti jamur serta lebih ekonomis dan aman (Setiawan dkk., 2015).

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai (Mukhriani, 2014). Salah satu metode ekstraksi adalah ekstraksi kering beku. Proses ekstrak kering beku dimulai dengan proses pembekuan pangan, dan dilanjutkan dengan pengeringan yaitu mengeluarkan atau memisahkan hampir sebagian besar air dalam bahan yang terjadi melalui mekanisme sublimasi. Keuntungan dari metode ini yaitu tidak menyebabkan permukaan yang keriput, warna normal, dan nilai gizi lebih dapat dipertahankan (Foodreview Indonesia, 2013).

Pada penelitian sebelumnya oleh Sagita dkk yang berjudul Kemampuan Seduhan Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* menunjukkan bahwa seduhan biji kopi Robusta dengan konsentrasi 100% merupakan konsentrasi yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans*. Berdasarkan uraian tersebut, peneliti ingin mengadakan penelitian tentang kemampuan daya hambat ekstrak kering beku daun kopi Robusta (*Coffea canephora*) terhadap pertumbuhan *C. albicans* dengan berbagai konsentrasi yaitu 100%, 75%, 50%, dan 25%.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka didapatkan rumusan masalah sebagai berikut:

- 1.2.1 Apakah ekstrak kering beku daun kopi Robusta (*Coffea canephora*) mempunyai kemampuan daya hambat terhadap pertumbuhan *C. albicans*?
- 1.2.2 Bagaimana kemampuan daya hambat ekstrak kering beku daun kopi Robusta (*Coffea canephora*) terhadap pertumbuhan *C. albicans* dengan konsentrasi 100%, 75%, 50%, dan 25%?
- 1.2.3 Apakah ekstrak kering beku daun kopi Robusta (*Coffea canephora*) konsentrasi 100% memiliki kemampuan paling besar dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans*.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui hal-hal sebagai berikut:

- 1.3.1 Untuk menganalisis kemampuan daya hambat ekstrak kering beku daun kopi Robusta (*Coffea canephora*) terhadap pertumbuhan *C. albicans*.
- 1.3.2 Untuk menganalisis kemampuan daya hambat ekstrak kering beku daun kopi Robusta (*Coffea canephora*) terhadap pertumbuhan *C. albicans* dengan konsentrasi 100%, 75%, 50%, dan 25%.

1.3.3 Untuk menganalisis apakah ekstrak kering beku daun kopi Robusta (*Coffea canephora*) konsentrasi 100% memiliki kemampuan paling besar dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans*.

1.4 Manfaat Penelitian

Dari hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai berikut:

- 1.4.1 Dapat melengkapi informasi dan sebagai bahan pertimbangan bagi masyarakat mengenai kemampuan daya hambat ekstrak kering beku daun kopi Robusta terhadap pertumbuhan *C. albicans*.
- 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 kering beku daun kopi Robusta terhadap mikroflora lain yang patogen di rongga mulut.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kandidiasis

Kandidiasis merupakan salah satu penyakit infeksi yang disebabkan oleh jamur dalam rongga mulut, terutama oleh *Candida albicans*. Dalam rongga mulut, 70% infeksi *Candida* pada manusia disebabkan oleh *C. albicans* (Pertami dkk., 2013). Infeksi *C. albicans* pada rongga mulut tampak sebagai bercak putih pada gingiva, lidah, dan membran mukosa oral yang jika dikerok meninggalkan permukaan yang merah dan berdarah (Tewudkk., 2014). Pasien dengan kandidiasis mengeluhkan sensasi terbakar dan kadang-kadang nyeri pada mukosa yang terlibat. Mukosa yang terlibat menjadi peka terhadap makanan yang pedas (Hadiati, 2011). Kejadian kandidiasis ini dihubungkan dengan faktor-faktor predisposisi seperti usia, jenis kelamin, kebiasaan merokok, dan penggunaan antibiotik oral (Tewu dkk., 2014).

Pola makan modern yang cenderung kaya karbohidrat dapat meningkatkan kemungkinan terjadinya kandidiasis oral. Ini disebabkan karena asupan glukosa merupakan salah satu faktor predisposisi yang berperan dalam perkembangan infeksi *C. albicans*. Abu-Elteen melaporkan bahwa penderita diabetes melitus (DM) mempunyai resiko terkena oral kandidiasis 20% lebih tinggi dibandingkan bukan penderita dan bahwa penyakit diabetes dapat meningkatkan kolonisasi dan proliferasi *C. albicans* dalam rongga mulut (Leepel dkk., 2009).

Pengobatan kandidiasis oral umumnya menggunakan antijamur seperti Nistatin (Ridawati, 2011). Nistatin hanya akan diikat oleh jamur atau ragi yang sensitif. Aktivitas antijamur tergantung dari adanya ikatan dengan sterol pada membran sel jamur atau ragi, terutama ergosterol. Akibat terbentuk ikatan antara sterol dan antibiotik ini terjadi perubahan permeabilitas membran sel sehingga sel akan kehilangan berbagai molekul (Setiabudy dan Bahry, 2007). Penggunaan Nistatin yang berlebih dapat menyebabkan efek samping seperti mual, muntah, dan diare (Ridawati, 2011).

2.2 *Candida albicans*

2.1.1 Definisi *C. albicans*

Jamur *Candida* telah dikenal dan dipelajari sejak abad ke-18. Penyakit yang penyebabnya dihubungkan dengan kebersihan rongga mulut yang tidak baik. Robin pada tahun 1850 mengisolasi jamur ini dari stomatitis (sariawan), yang disebut *oral thrush* pada seorang penderita *thrush fungus*. Berdasarkan bentuk sel yang bulat dan koloni jamur berwarna putih, maka diberi nama *Oidium albicans*, karena membentuk spora. Nama *Oidium* berubah menjadi *Monilia*, karena sel-sel jamur tersusun seperti untaian manik-manik menyerupai kalung. Nama *Monilia* ternyata menimbulkan kerancuan karena dalam ilmu pertanian telah dikenal jamur *Monilia* sebagai penyebab penyakit tumbuhan, dan sangat berbeda baik secara morfologi maupun sifatnya. Pada Third International Microbiological Congress di New York, 1938, nama *Candida* diperkenalkan sebagai pengganti *Monilia* (Komariah dkk., 2012).

Genus *Candida* adalah jamur yang termasuk dalam kelas fungi *imperfecti*. Sampai saat ini, dikenal kurang lebih 80 spesies *Candida*. Spesies itu di alam hidup dalam berbagai unsur dan organisme, 17 diantaranya ditemukan pada manusia. Diantara ke-17 spesies itu, *C. albicans* dianggap jenis yang paling patogen dan paling banyak menimbulkan penyakit, dibandingkan dengan spesies *Candida* non-*C. albicans* seperti *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. lusitaniae* dan *C. dubliniensis* (Komariah dkk., 2012).

C. albicans merupakan jamur yang paling sering menyebabkan infeksi oportunistik pada manusia. *C. albicans* adalah patogen yang potensial dan diduga merupakan mata rantai yang terlupakan dalam berbagai penyakit saat ini. Organisme ini dapat memproduksi toksin yang dapat mengganggu sistem imun. Bila infeksi ini tidak segera ditangani, dapat menurunkan imunitas penderita dan menimbulkan komplikasi. Kebanyakan orang tidak menyadari bahwa mereka terinfeksi oleh organisme ini sampai mereka menderita kandidiasis yang parah (Tyasrini dkk., 2006).

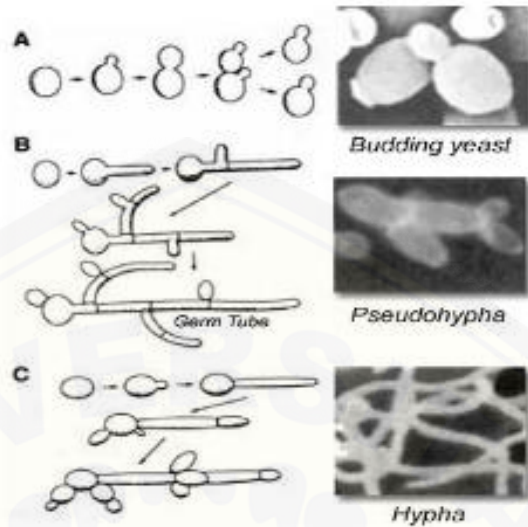
2.2.2 Taksonomi *C. albicans*

Kedudukan *C. albicans* dalam nomenklatur menurut Frobi sher (1983) sebagai berikut di bawah ini.

Divisi	: <i>Eurocophyta</i>
Kelas	: <i>Deuteromycetes</i>
Ordo	: <i>Cryptococcaceae</i>
Famili	: <i>Candidoidea</i>
Genus	: <i>Candida</i>
Spesies	: <i>Candida albicans</i>

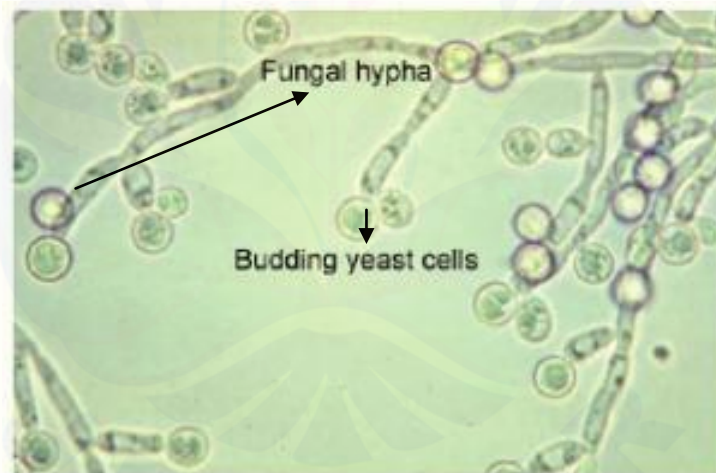
2.2.3 Morfologi dan Identifikasi *C. albicans*

C. albicans secara morfologi mempunyai beberapa bentuk elemen jamur yaitu sel ragi (blastospora/yeast), hifa dan bentuk intermedia/pseudohifa (Gambar 2.1). Sel ragi (blastospora) berbentuk bulat, lonjong atau bulat lonjong dengan ukuran $2-5 \mu \times 3-6 \mu$ hingga $2-5,5 \mu \times 5-28 \mu$ (Komariah dan Sjam, 2012). Hifa berbentuk tabung dan terbentuk dari blastospora yang terus menerus mengalami pertumbuhan pada apeksnya, yang pada stadium awal terlebih dahulu membentuk *germ tube*, sehingga tidak terdapat septum antara blastospora dan bagian sel yang tumbuh. Pseudohifa terbentuk dari sel tunas, seperti blastospora, yang bermultiplikasi, tetapi sel anak tidak lepas dari sel induknya dan terus menerus memanjang sehingga menyerupai hifa, sehingga terdapat septum antara blastospora dan bagian sel yang tumbuh, serta pada bagian ini terdapat bagian yang menyempit, lihat Gambar 2.2 (Tyasrini dkk., 2016).



Gambar 2.1 Ilustrasi morfologi *C. albicans* (a) bentuk khamir, (b) bentuk pseudohifa, (c) bentuk hifa

(Sumber : Komariah dan Sjam, 2012)



Gambar 2.2 *C. albicans* (Sumber : Saxena, 2013)

C. albicans merupakan jamur yang pertumbuhannya cepat yaitu sekitar 48-72 jam. Kemampuan *C. albicans* tumbuh pada suhu 37°C merupakan karakteristik penting untuk identifikasi. Spesies yang patogen akan tumbuh secara mudah pada suhu 25°C-37°C (Komariah dan Sjam, 2012). Jamur ini dapat tumbuh pada variasi pH yang luas, tetapi pertumbuhannya akan lebih baik pada pH antara 4,5-6,5. *C. albicans*

membutuhkan senyawa organik sebagai sumber karbon dan sumber energi untuk pertumbuhan dan proses metabolismenya (Staib dan Morschhauser, 2007). Pada medium padat SDA (*Sabaroud Dextrose Agar*), *C. albicans* memperlihatkan koloni yang tampak halus, licin, berwarna putih kekuning-kuningan, berbau ragi, dan menonjol dari permukaan medium, lihat Gambar 2.3 (Virgianti dan Nurwaniansah, 2014).



Gambar 2.3 Koloni *C. albicans* pada media agar (Sumber : Suraini dkk., 2015)

Pada pemeriksaan mikroskopis dengan pewarnaan Gram-positif dapat ditemukan *C. albicans* dalam bentuk *yeast*, berbentuk oval dengan diameter kurang lebih 5 μm dan bereproduksi dengan membentuk *budding*. *C. albicans* sering juga ditemukan dalam bentuk *mycelium* dengan *pseudohyphae* dan kadang-kadang dapat ditemukan dalam bentuk *septate mycelium* (Kayseret al., 2005).

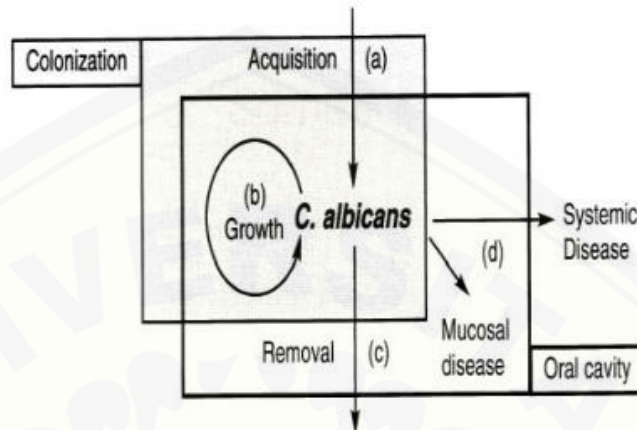
2.2.4 Patogenitas Infeksi *C. albicans*

Menurut Komariah dan Sjam (2012) terdapat beberapa tahapan patogenitas *C. albicans* dalam rongga mulut sebagai berikut (Gambar 2.4).

a. Tahap Akuisisi

Tahap akuisisi adalah masuknya sel jamur ke dalam rongga mulut. Pada umumnya, ini terjadi melalui minuman dan makanan yang terkontaminasi oleh jamur *C. albicans*. Dalam rongga mulut dengan kolonisasi, *C. albicans* dapat ditemukan

dalam saliva dengan konsentrasi 300-500 sel/ml. *C. albicans* dalam saliva menjadikan saliva dapat berperan sebagai media transmisi.



Gambar 2.4 Hubungan antara faktor yang mempengaruhi kolonisasi *C. albicans* dalam rongga mulut (a) akuisisi, (b) pertumbuhan, (c) penghilangan, (d) kerusakan jaringan (Sumber : Komariah dan Sjam, 2012)

b. Tahap Stabilitas Pertumbuhan

Tahap stabilitas pertumbuhan adalah keadaan ketika *C. albicans* yang telah masuk melalui akuisisi dapat menetap, berkembang, dan membentuk populasi dalam rongga mulut. Hal itu berkaitan erat dengan interaksi antara sel jamur dengan sel epitel rongga mulut hospes. Pergerakan saliva yang terjadi secara terus menerus mengakibatkan sel *C. albicans* tertelan bersama saliva dan keluar dari dalam rongga mulut dikarenakan saliva memiliki kemampuan untuk menurunkan perlekatan *C. albicans*. Jika penghilangan lebih besar dari akuisisi maka tidak terjadi kolonisasi. Jika penghilangan sama banyak dengan akuisisi maka agar terjadi kolonisasi diperlukan faktor predisposisi. Jika penghilangan lebih kecil daripada akuisisi maka *C. albicans* akan melekat dan bereplikasi, hal ini merupakan awal terjadinya infeksi. Beberapa faktor predisposisi seperti pemakaian gigi palsu, khususnya jika mengakibatkan rasa sakit dan diiringi kondisi rongga mulut yang tidak bersih, dapat menjadi substrat bagi pertumbuhan jamur *C. albicans*.

Pertumbuhan *C. albicans* dalam rongga mulut dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu:

1) Saliva

Kualitas, kuantitas, dan unsur yang terkandung dalam saliva berperan penting dalam modulasi populasi *C. albicans*. Saliva memiliki kemampuan untuk menurunkan perlekatan *C. albicans* pada permukaan akrilik biomaterial mulut. Menurunnya jumlah saliva dan ketiadaan antifungal dalam saliva seperti laktoferrin dan lisosim dapat meningkatkan jumlah pertumbuhan *C. albicans* dalam rongga mulut.

2) Keasaman/pH

Secara umum kondisi pH yang menurun mendukung pertumbuhan dan kolonisasi *C. albicans*.

3) Bakteri rongga mulut

Pertumbuhan dan kolonisasi *C. albicans* dapat diperbanyak dengan keberadaan beberapa bakteri yang merupakan flora normal rongga mulut seperti *Streptococcus sanguis* dan *Streptococcus gordonii*. Kompetisi dan penghambatan oleh flora normal rongga mulut merupakan bagian penting dalam membatasi pertumbuhan jamur. Interaksi mikroorganisme berupa kompetisi nutrisi, perubahan dalam lingkungan mikro, pengembangan toksin, dan hasil produk metabolik. Flora normal bakteri dapat menurunkan kolonisasi *C. albicans* dengan jalan kompetisi untuk melekat pada sel epitel rongga mulut.

4) Temperatur

Suhu lingkungan saat pertumbuhan diketahui mempengaruhi morfologi sel jamur dimorfik termasuk *C. albicans*. Kemampuan *C. albicans* untuk tumbuh pada suhu 37°C menunjukkan *C. albicans* dapat bersifat patogen.

5) Glukosa

Salah satu penyebab kolonisasi adalah keberadaan karbohidrat dalam jumlah besar. Glukosa merupakan bahan dasar pembentukan mannoprotein pada dinding sel *C. albicans* yang diketahui dapat meningkatkan daya adesi dan produksi asam yang menurunkan pH rongga mulut.

c. Tahap Perlekatan (adesi) dan Penetrasi

Adesi adalah interaksi antara sel *C. albicans* dengan sel pejamu yang merupakan syarat berkembangnya infeksi. Kemampuan melekat pada sel inang merupakan tahap penting dalam merusak sel dan penetrasi (invasi) ke dalam sel inang. Enzim fosfolipase yang dimiliki oleh *C. albicans* memberikan kontribusi dalam mempertahankan infeksi. Iritasi fisik karena penetrasi terus menerus dapat menyebabkan luka lokal yang dapat digunakan sebagai jalan masuk jamur.

2.3 Aktivitas Antijamur

Senyawa yang bersifat fungistatik misalnya senyawa fenolik dapat mendenaturasi protein, yaitu kerusakan struktur tersier protein sehingga protein kehilangan sifat-sifat aslinya. Terdenaturasinya protein dinding *C. albicans* akan menyebabkan kerapuhan pada dinding sel tersebut sehingga mudah ditembus senyawa aktif lainnya yang bersifat fungistatik. Jika protein yang terdenaturasi adalah protein enzim maka enzim tidak dapat bekerja yang menyebabkan metabolisme dan proses penyerapan nutrisi terganggu (Septiadi dkk., 2013).

Komponen fenolik bertanggung jawab pada aktivitas antijamur melawan *C. albicans* (Ezoubeiri dkk., 2005). Mekanisme senyawa fenol sebagai antijamur yaitu berinteraksi dengan dinding sel fungi, dimana pada kadar yang rendah akan mendenaturasi protein dan pada kadar yang tinggi akan menyebabkan koagulasi protein sehingga sel akan mati (Siswandono dan Sukardjo, 1995).

Menurut Siswandono dan Soekardjo (2000), mekanisme kerja antikandida adalah sebagai berikut:

a. Gangguan pada membran sel

Gangguan ini terjadi karena adanya ergosterol dalam sel jamur. Ergosterol merupakan komponen sterol yang sangat penting dan sangat mudah diserang oleh antibiotik turunan polien. Kompleks polien-ergosterol yang terjadi dapat membentuk suatu pori dan melalui pori tersebut konstituen esensial sel jamur seperti ion K,

fosfat anorganik, asam karboksilat, asam amino dan ester fosfat bocor keluar hingga menyebabkan kematian sel jamur. Contoh: nistatin, amfoterisin B dan kandisidin.

b. Penghambatan biosintesis ergosterol dalam sel jamur

Mekanisme ini disebabkan oleh senyawa turunan imidazol yang mampu menimbulkan ketidakaturan membran sitoplasma jamur dengan cara mengubah permeabilitas membran dan mengubah fungsi membran dalam proses pengangkutan senyawa-senyawa esensial yang dapat menyebabkan ketidakseimbangan metabolik sehingga menghambat biosintesis ergosterol dalam sel jamur. Contoh: ketokonazol, klortimazol, mikonazol, bifonazol.

c. Penghambatan sintesis protein jamur

Mekanisme ini disebabkan oleh senyawa turunan pirimidin. Efek antijamur terjadi karena senyawa turunan pirimidin mampu mengalami metabolisme dalam sel jamur menjadi suatu metabolit.

d. Penghambatan mitosis jamur

Efek antijamur ini terjadi karena adanya senyawa antibiotik griseofulvin yang mampu mengikat protein mikrotubuli dalam sel dan mengganggu fungsi mitosis gelendong, menimbulkan penghambatan pertumbuhan.

2.4 Kopi Robusta

2.4.1 Taksonomi Kopi Robusta

Dalam taksonomi tumbuhan, kopi Robusta diklasifikasikan sebagai berikut (Rahardjo, 2012:10) :

Kingdom	:	<i>Plantae</i> (Tumbuhan)
Subkingdom	:	<i>Tracheobionta</i> (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	:	<i>Spermatophyta</i> (Tumbuhan penghasil biji)
Divisi	:	<i>Magnoliophyta</i> (Tumbuhan berbunga)
Kelas	:	<i>Magnoliophyta</i> (Tumbuhan berkeping dua atau dikotil)
Sub Kelas	:	<i>Asteridae</i>
Ordo	:	<i>Rubiales</i>

Famili : *Rubiaceae* (Suku kopi-kopian)
Genus : *Coffea*
Spesies : *Coffea canephora* var. *Robusta* (Kopi robusta)

2.4.2 Habitat Kopi Robusta

Tanaman kopi umumnya ditanam pada daerah pegunungan dengan suhu optimum adalah 15⁰ C. Curah hujan yang diharapkan adalah 2000-3000 mm/tahun agar tanaman dapat tumbuh dengan subur. Masa kering 3-4 bulan (minimal 1,5 bulan) dibutuhkan untuk pembungaan hingga pemetikan hasil. Kopi jenis Robusta, dapat tumbuh di ketinggian yang lebih rendah dibandingkan dengan lokasi perkebunan kopi jenis Arabika. Kopi jenis Robusta banyak ditemui di Pulau Jawa khususnya Jawa Tengah dan kopi Robusta ini memiliki rasa yang lebih seperti cokelat dan bau yang dihasilkan khas dan manis (Setiawan dkk., 2015). Kopi Robusta dapat dibudidayakan pada ketinggian optimum 400-800 m diatas permukaan laut dengan temperatur rata-rata 21-24⁰C (Sholikhah dkk., 2015).

2.4.3 Deskripsi Botani Kopi Robusta

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 Octaviany, 2010:141). Tanaman kopi Robusta dapat dilihat pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5 Tanaman kopi Robusta (Sumber : Murtafiah, 2012)

2.4.4 Daun Kopi Robusta

Daun kopi robusta mempunyai bentuk daun bulat telur, ujungnya agak meruncing sampai bulat. Daun tersebut tumbuh pada batang, cabang, dan ranting-ranting tersusun berdampingan. Pada batang atau cabang-cabang yang tumbuhnya tegak lurus, susunan pasangan daun itu berselang-seling pada ruas-ruas berikutnya. Sedang daun yang tumbuh pada ranting-ranting dan cabang-cabang mendatar, pasangan daun itu terletak pada bidang yang sama, tidak berselang-seling. Daun kopi mengandung alkaloida, saponin, flavonoida dan polifenol (Setiawan dkk., 2015). Permukaan atas daun mengkilat, tepi rata, pangkal tumpul, panjang 5-15 cm, lebar 4,0-6,5 cm, pertulangan menyirip, tangkai panjang 0,5-1,0 cm, dan berwarna hijau (Najiyati dan Danarti, 2012). Daun kopi Robusta dapat dilihat pada Gambar 2.6.



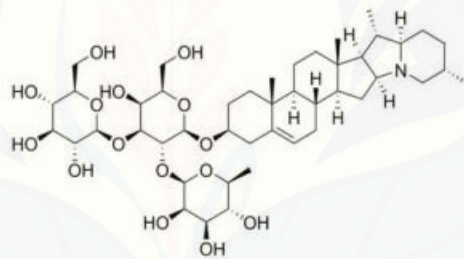
Gambar 2.6 Daun kopi Robusta (Sumber : Hasanah, 2016)

2.4.5 Kandungan dan Efek Daun Kopi Robusta terhadap Pertumbuhan *C. albicans*

Daun kopi dapat digunakan untuk membuat minuman. Daun kopi robusta mengandung alkaloida, saponin, flavonoida dan polifenol (Setiawan dkk., 2015).

a. Saponin

Saponin merupakan senyawa aktif permukaan dan bersifat seperti sabun serta dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya dalam membentuk busa dan menghemolisis darah (Adlhani, 2014). Saponin menghasilkan buih apabila dikacau di dalam air, sama seperti sabun. Saponin mempunyai struktur kimia yang menyerupai glikosid (Chooi, 2008). Senyawa saponin berfungsi sebagai antibiotik, mempercepat pertumbuhan sel-sel baru, merangsang pembentukan fibroblast, menghambat pertumbuhan bakteri, dan juga bersifat antijamur (Yuliana dkk., 2015). Struktur kimia dari senyawa saponin dapat dilihat pada Gambar 2.7.

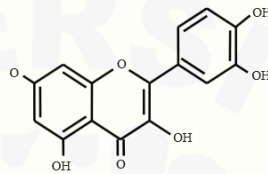


Gambar 2.7 Struktur kimia Saponin
(Handayani, 2003)

Saponin merupakan senyawa glikosida kompleks yang mengandung gugus gula, senyawa ini memiliki gugus polar dan nonpolar yang bersifat aktif permukaan sehingga dapat membentuk misel yang tampak seperti busa. Saponin berkontribusi sebagai antijamur dengan mekanisme menurunkan tegangan permukaan membran sterol dari dinding sel *C. albicans*, sehingga permeabilitasnya meningkat. Permeabilitas yang meningkat mengakibatkan cairan intraseluler yang lebih pekat tertarik keluar sel sehingga *C. albicans* mengalami kematian (Septianoor dkk., 2013).

b. Flavonoid

Flavonoid terdapat pada semua bagian tumbuhan hijau, seperti pada akar, daun, kulit kayu, benang sari, bunga, buah dan biji buah (Nugrahaningtyas dkk., 2005). Flavonoid yang merupakan bagian dari polifenol mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon, dimana dua cincin benzene (C_6) terikat pada suatu rantai propan (C_3) sehingga membentuk suatu susunan struktur kimia $C_6-C_3-C_6$ (Redha, 2010). Struktur kimia flavonoid dapat dilihat pada Gambar 2.8.

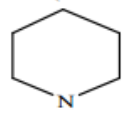


Gambar 2.8 Kerangka $C_6-C_3-C_6$ Flavonoid (Redha, 2010)

Flavonoid merupakan golongan fenol terbesar yang berasal dari tumbuhan yang memiliki sifat antimikroba terhadap jamur. Flavonoid mampu bereaksi dengan dinding sel dengan cara mengerutkan dinding sel jamur (Permatasari dkk., 2016). Selanjutnya masuk ke dalam inti sel dan membuat seluruh protein pada jamur mengalami denaturasi sehingga sel jamur menjadi rusak dan mati. Flavonoid merupakan senyawa aktif yang dapat digunakan sebagai antioksidan, antibakteri, antiinflamasi dan antijamur (Septianoor dkk., 2013). Sebagai antijamur, flavonoid mempunyai senyawa genestein yang berfungsi menghambat pembelahan atau proliferasi sel. Senyawa ini mengikat protein mikrotubulus dalam sel dan mengganggu fungsi mitosis gelendong sehingga menimbulkan penghambatan pertumbuhan jamur (Candrasari dkk., 2012).

c. Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa organik yang terdapat dalam tumbuhan-tumbuhan. Ciri-ciri senyawa golongan alkaloid adalah memiliki paling sedikit sebuah atom nitrogen (unsure N) yang biasanya bersifat basa dan dalam sebagian besar atom nitrogen ini merupakan bagian dari cincin aromatis dan heterosiklik (Emilia, 2010). Struktur kimia alkaloid dapat dilihat pada Gambar 2.9.



Gambar 2.9 Struktur umum senyawa Alkaloid
(Robinson, 1995)

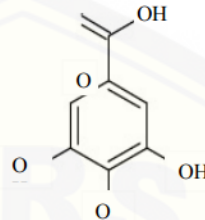
Alkaloid adalah senyawa aktif dari tanaman yang berfungsi sebagai obat dan aktivator kuat bagi sel imun yang dapat menghancurkan bakteri, virus, jamur, dan sel kanker (Olivia dkk., 2004). Alkaloid mempunyai aktivitas antimikroba dengan menghambat esterase, DNA, RNA polimerase, dan respirasi sel serta berperan dalam interkalasi DNA (Aniszewki, 2007). Sedangkan sebagai antijamur, secara biologi alkaloid menyebabkan kerusakan membran sel. Alkaloid akan berikatan kuat dengan ergosterol membentuk lubang atau saluran sehingga menyebabkan membran sel bocor dan kehilangan beberapa bahan intra sel seperti elektrolit (terutama kalium) dan molekul-molekul kecil. Hal ini mengakibatkan kerusakan yang tetap pada sel dan kematian sel pada jamur (Candrasari dkk., 2012).

Alkaloid merupakan suatu senyawa yang bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen (Lutfiyanti dkk., 2012). Kebanyakan alkaloid bersifat basa, sifat tersebut tergantung pada adanya pasangan elektron pada nitrogen. Jika gugus fungsional yang berdekatan dengan nitrogen bersifat melepaskan elektron, sebagai contoh yakni gugus alkil, maka ketersediaan elektron pada nitrogen naik dan senyawa lebih bersifat basa (Kusrahman, 2012). Menurut Rahayu *et al.* (2009) alkaloid memiliki sifat basa $pH > 7$ dan pahit. Sifat basa ini kemungkinan akan menekan pertumbuhan jamur *C. albicans*, karena jamur tersebut tumbuh pada $pH 4,5 - 6,5$ (Lutfiyanti dkk., 2012).

d. Polifenol

Polifenol adalah kelompok senyawa kimia yang ditemukan pada tumbuhan. Senyawa polifenol memiliki banyak gugus fenol dalam molekulnya. Polifenol berperan dalam memberi warna pada suatu tumbuhan. Polifenol mempunyai manfaat bagi kesehatan salah satunya adalah berperan dalam melindungi tubuh dari kerusakan

akibat radikal bebas dengan cara mengikat radikal bebas sehingga mencegah proses inflamasi pada sel tubuh (Fachraniah, 2012). Struktur kimia dari senyawa polifenol dapat dilihat pada Gambar 2.10.



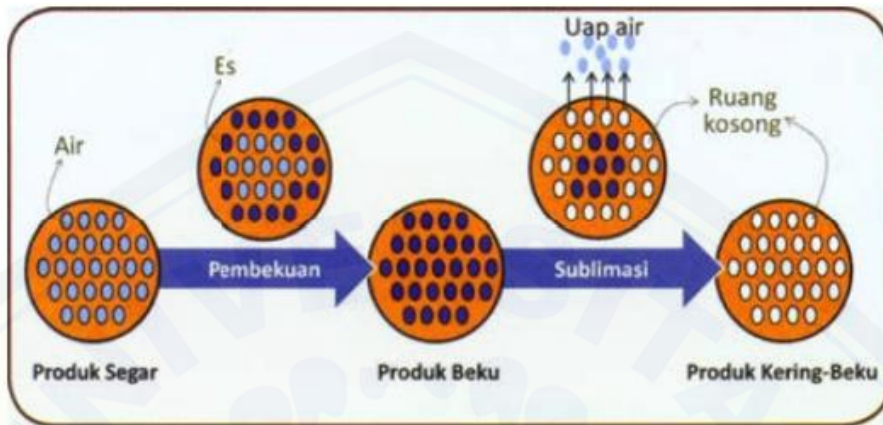
Gambar 2.10 Struktur Polifenol
(Fachraniah, 2012)

Aktivitas antimikroba mungkin juga berhubungan dengan struktur polifenol karena polifenol dapat mempengaruhi keadaan pada dinding sel dengan cara menghambat kinerja dari enzim-enzim dari *C. albicans* dan mengganggu ko-agregasi mikroorganisme. Ko-agregasi mikroorganisme adalah kemampuan interaksi dari suatu mikroorganisme untuk menimbulkan suatu perlekatan dengan mikroorganisme lain. Ketidakmampuan mikroorganisme untuk melakukan ko-agregasi membuat pengkolonian tidak terjadi (Abdollahzadeh, 2011).

2.5 Metode Pengeringan Beku (*Freeze Drying*)

Sebagaimana tersirat dari namanya, prinsip teknologi pengeringan beku (*freeze drying*) ini dimulai dengan proses pembekuan pangan, dan dilanjutkan dengan pengeringan yaitu mengeluarkan atau memisahkan hampir sebagian besar air dalam bahan yang terjadi melalui mekanisme sublimasi. Keuntungan dari metode ini yaitu tidak menyebabkan permukaan yang keriput, warna normal, dan nilai gizi lebih dapat dipertahankan (Foodreview Indonesia, 2013). Selain itu, keunggulan produk hasil pengeringan beku antara lain adalah struktur yang tidak mengkerut sehingga memungkinkan rehidrasi yang sangat cepat, retensi flavor yang tinggi karena pengeringan berlangsung pada suhu rendah, serta daya hidup dan rekonstitusi sel-sel hidup pada produk kering-beku tetap tinggi (Belyamin dkk., 2011). Secara ilustratif,

proses pengeringan beku ini dijelaskan seperti pada Gambar 2.11 (Foodreview Indonesia, 2013).



Gambar 2.11 Skema ilustratif mekanisme terjadinya pengeringan beku

(Sumber : Foodreview Indonesia, 2013)

Tahap pengeringan beku terdiri dari proses pembekuan dan pengeringan sebagai berikut (Foodreview Indonesia, 2013):

a. Pembekuan

Proses pembekuan dilakukan dengan membuat lapisan produk pangan pada rak-rak (nampan) yang terbuat dari metal. Untuk produk yang telah mengalami pendinginan atau pembekuan sebelumnya, rak atau nampan hendaknya juga didinginkan terlebih dulu, sehingga tidak terjadi pelelehan (*thawing*) pada produk. Misalnya untuk produk kopi, hasil seduhan kopi (*pre-brewed coffee*) dalam bentuk larutan kental dituangkan dalam nampan datar yang lebar. Rak atau nampan yang telah siap, kemudian dimasukkan dalam ruang pembeku dengan suhu -40°F (-40°C). Pada suhu ini, produk akan membeku dengan cepat dan akan dihasilkan produk beku yang tidak merusak tekstur.

b. Pengeringan

Proses pengeringan (sublimasi) dilakukan dengan cara memasukkan produk beku ke dalam ruangan vakum. Harus dipertahankan bahwa kondisi proses (P dan T) tetap di bawah titik triple, sehingga bisa dijamin bahwa proses sublimasi bisa terjadi, dan tidak terjadi proses pelelehan. Dalam hal ini, kristal-kristal es yang berada pada

struktur produk pangan dipaksa untuk langsung mengalami sublimasi. Hal ini bisa dicapai dengan menjaga ruangan tetap vakum (biasanya tekanan ruangan sublimasi dipertahankan sekitar 0.036 psi atau sekitar 0.0025 bar) dan suhu kemudian dinaikkan secara terkontrol sampai mencapai sekitar 100°F (38°C) sehingga terjadi proses sublimasi yaitu perubahan fase dari padat (es) ke uap. Dalam mekanisme alat *freeze dryer*, uap air yang dihasilkan ini kemudian disedot dan dikondensasikan sehingga tidak membasahi produk yang sedang dikeringkan.

2.6 Metode Hitungan Cawan (*Total Plate Count*)

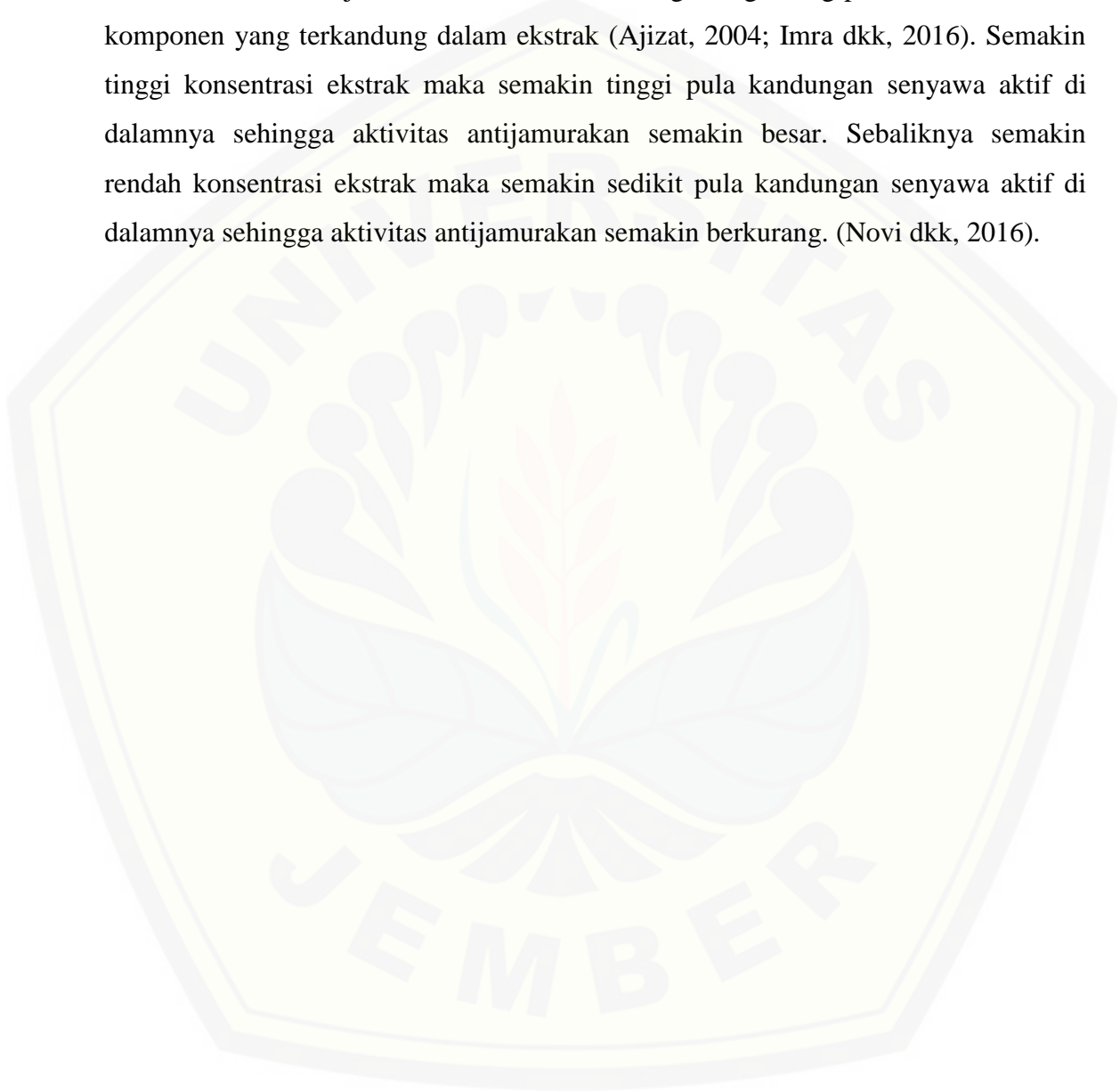
Menurut Fardiaz (1989), prinsip dari metode hitungan cawan adalah jika sel jasad renik yang masih hidup ditumbuhkan pada medium agar maka sel jasad renik tersebut akan berkembang biak dan membentuk koloni yang dapat langsung dihitung menggunakan mata tanpa menggunakan mikroskop, dan koloni dapat dihitung menggunakan *colony counter*. Metode hitungan cawan dapat dibedakan atas dua cara yaitu metode tuang (*pour plate*), metode permukaan (*surface/spread plate*), dan metode gores (*streak plate*). Dalam metode hitungan cawan, sampel yang diperkirakan mengandung lebih dari 300 sel/ml memerlukan pengenceran sebelum ditumbuhkan di dalam cawan petri. Setelah inkubasi akan terbentuk koloni pada cawan tersebut dalam jumlah yang masih dapat dihitung, dimana jumlah yang terbaik adalah diantara 30-300 (Wijaya dkk., 2015).

2.7 Konsentrasi Larutan

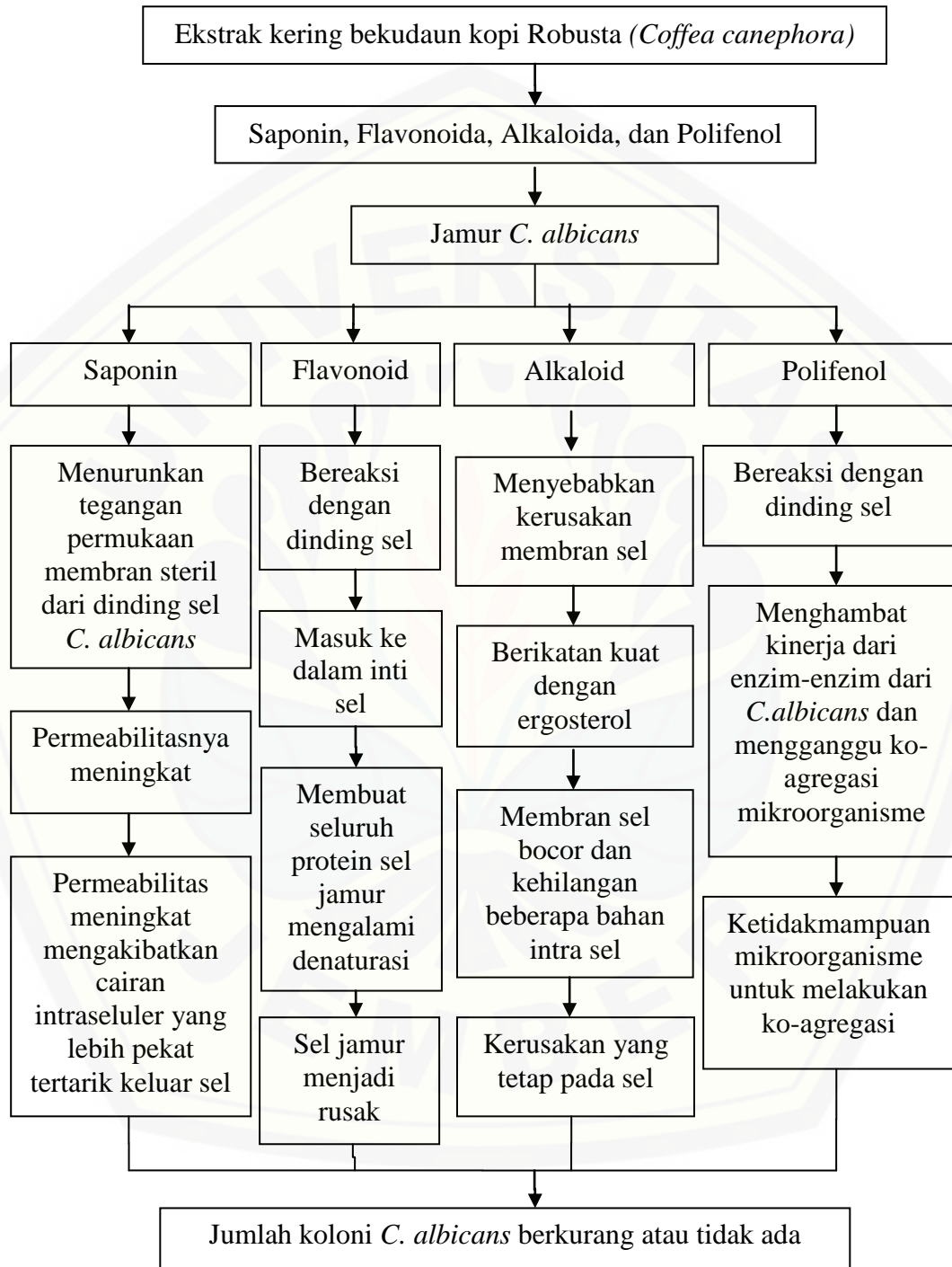
Larutan merupakan campuran zat-zat terlarut dan pelarut yang komposisinya merata (homogen). Suatu larutan dapat terdiri dari satu zat terlarut atau lebih dan satu macam pelarut, tetapi umumnya terdiri dari satu jenis zat terlarut dan satu pelarut. Berhubungan dengan larutan, terdapat istilah konsentrasi larutan yang mengatur mengenai jumlah pelarut dan terlarut. Konsentrasi larutan adalah jumlah zat terlarut dalam setiap satuan larutan atau pelarut. Konsentrasi larutan merupakan suatu label

larutan, agar larutan tersebut bisa memberikan gambaran atau informasi tentang perbandingan jumlah zat terlarut dan jumlah pelarutnya (Rusman *et al*, 2010).

Aktivitas antijamur dari suatu ekstrak sangat tergantung pada konsentrasi dan komponen yang terkandung dalam ekstrak (Ajizat, 2004; Imra dkk, 2016). Semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin tinggi pula kandungan senyawa aktif di dalamnya sehingga aktivitas antijamurakan semakin besar. Sebaliknya semakin rendah konsentrasi ekstrak maka semakin sedikit pula kandungan senyawa aktif di dalamnya sehingga aktivitas antijamurakan semakin berkurang. (Novi dkk, 2016).



2.8 Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 2.12 Kerangka Konsep Penelitian

Penjelasan Kerangka Konsep Penelitian:

Ekstrak kering beku daun kopi Robusta diduga mampu menghambat pertumbuhan dari *C. albicans* dikarenakan daun kopi Robusta mengandung beberapa senyawa aktif yaitu saponin, flavonoid, alkaloid, dan polifenol. Masing-masing dari senyawa aktif ini memiliki mekanisme kerja dalam menghambat pertumbuhan jamur. Saponin berkontribusi sebagai antijamur dengan mekanisme menurunkan tegangan permukaan membran sterol dari dinding sel *C. albicans*, sehingga permeabilitasnya meningkat. Permeabilitas yang meningkat mengakibatkan cairan intraseluler yang lebih pekat tertarik keluar sel sehingga *C. albicans* mengalami kematian. Senyawa flavonoid yang merupakan bagian dari polifenol mampu bereaksi dengan dinding sel dengan cara mengerutkan dinding sel jamur. Selanjutnya masuk ke dalam inti sel dan membuat seluruh protein pada jamur mengalami denaturasi sehingga sel jamur menjadi rusak dan mati.

Sedangkan aktivitas alkaloid terhadap jamur secara biologi alkaloid menyebabkan kerusakan membran sel. Alkaloid akan berikatan kuat dengan ergosterol membentuk lubang atau saluran sehingga menyebabkan membran sel bocor dan kehilangan beberapa bahan intra sel seperti elektrolit (terutama kalium) dan molekul-molekul kecil. Hal ini mengakibatkan kerusakan yang tetap pada sel dan kematian sel pada jamur. Pada senyawa polifenol, sebagai antijamur memiliki mekanisme kerja dengan cara bereaksi pada dinding sel jamur yaitu menghambat kinerja dari enzim-enzim dari *C. albicans* dan mengganggu ko-agregasi mikroorganisme. Ko-agregasi mikroorganisme adalah kemampuan interaksi dari suatu mikroorganisme untuk menimbulkan suatu perlekatan dengan mikroorganisme lain. Ketidakmampuan mikroorganisme untuk melakukan ko-agregasi membuat pengkolonian tidak terjadi.

2.9 Hipotesis

- 2.7.1 Pemberian ekstrak kering bekudaun kopi Robusta (*Coffea canephora*) mempunyai kemampuan daya hambat terhadap pertumbuhan *C. albicans*.
- 2.7.2 Ekstrak kering beku daun kopi Robusta (*Coffea canephora*) dengan konsentrasi 100%, 75%, 50%, dan 25% memiliki kemampuan daya hambat yang berbeda terhadap pertumbuhan *C. albicans*
- 2.7.3 Ekstrak kering beku daun kopi Robusta konsentrasi 100% memiliki kemampuan daya hambat paling besar dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans*

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian *eksperimental laboratoris in vitro* (Notoatmojo, 2005).

3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *The Post Only Control Group Design*, yaitu melakukan pengamatan atau pengukuran setelah perlakuan dan hasilnya dibandingkan dengan kontrol (Notoatmojo, 2005).

3.3 Waktu dan Tempat Penelitian

3.3.1 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari 2017 – Februari 2017.

3.3.2 Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Bio Science Rumah Sakit Gigi dan Mulut Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Ekstrak kering beku yang digunakan pada penelitian ini dilakukan di Laboratorium Teknologi Ilmu Pangan Politeknik Negeri Jember.

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dari penelitian ini yaitu ekstrak kering bekudaun kopi Robusta dengan konsentrasi 100%, 75%, 50%, dan 25%.

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah hambatan pertumbuhan terhadap *C. albicans*.

3.4.3 Variabel Terkendali

- a. Metode ekstraksi (kering beku)
- b. Suspensi *C. albicans* (Mc Farland 0,5)

- c. Penghitungan koloni *C. albicans* menggunakan alat *colony counter*
- d. Media pertumbuhan *C. albicans* (*Sabaroud Dextrose Agar*)
- e. Kriteria daun kopi Robusta yaitu daun yang segar berwarna hijau tua dan masih utuh (tidak dimakan ulat dan tidak busuk), daun yang dipilih adalah daun ke-3 dan 4 pada satu tangkai daun.
- f. Suhu inkubasi (37⁰C)
- g. Lama inkubasi (24 jam)

3.5 Definisi Operasional

3.5.1 Ekstrak Kering Beku Daun Kopi Robusta

Ekstrak kering beku daun kopi Robusta adalah ekstrak kering daun kopi Robusta sebanyak 9,79 gram yang diperoleh dengan cara pengeringan beku (*freeze drying*) yang dimulai dengan proses pembekuan dan dilanjutkan dengan pengeringan yaitu mengeluarkan atau memisahkan hampir sebagian besar air dalam bahan yang terjadi melalui mekanisme sublimasi. Ekstrak kering beku merupakan suatu produk hasil *freeze drying* yang apabila di seduh lagi tidak akan menghasilkan ampas, tidak menyebabkan permukaan yang keriput, warna normal, dan nilai gizi lebih dapat dipertahankan.

3.5.2 *Candida albicans*

C. albicans yang digunakan dalam penelitian ini adalah *C. albicans* yang didapatkan di Laboratorium Mikrobiologi FK Universitas Brawijaya. *C. albicans* merupakan spesies *Candida* yang paling sering menyebabkan infeksi oportunistik pada rongga mulut. Pada medium padat SDA (*Sabaroud Dextrose Agar*), *C. albicans* memperlihatkan koloni yang tampak halus, licin, berwarna putih kekuning-kuningan, berbau ragi, dan menonjol dari permukaan medium.

3.5.3 Daya Hambat

Daya hambat adalah kemampuan suatu zat untuk menghentikan atau menghambat pertumbuhan suatu mikroorganisme, pada penelitian ini adalah daya hambat terhadap jamur *C. albicans* oleh ekstrak kering beku daun kopi Robusta

dengan cara penghitungan koloni *C. albicans* pada media agar dengan alat *colony counter*.

3.6 Sampel Penelitian

Sampel penelitian ini adalah media *Sabouroud Dextrose Agar* yang sudah diinokulasikan *C. albicans*.

3.6.1 Besar Sampel Penelitian

Jumlah pengulangan yang dilakukan pada penelitian ini berdasarkan rumus penelitian menggunakan rumus Federer (Supranto, 2000):

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

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

$$5r-5 \geq 15$$

$$5r \geq 20$$

$$r \geq 4$$

Keterangan :

t : Jumlah perlakuan dalam penelitian

r : Jumlah perlakuan ulang (sampel)

Dari hasil penghitungan tersebut, jumlah pengulangan sampel dalam penelitian ini sebanyak 4 untuk setiap kelompok perlakuan. Sehingga jumlah keseluruhan besar sampel dari 6 kelompok penelitian yang digunakan adalah sebanyak 24 sampel.

3.6.2 Pembagian Kelompok Sampel

Sampel dibagi menjadi 6 kelompok yaitu:

- a. Kontrol Negatif : Media yang berisi *C. albicans* + Aquades steril
- b. Kontrol Positif : Media yang berisi *C. albicans* + Nistatin
- c. Kelompok P100 : Ekstrak kering beku daun kopi Robusta konsentrasi 100%
- d. Kelompok P75 : Ekstrak kering beku daun kopi Robusta konsentrasi 75%
- e. Kelompok P50 : Ekstrak kering beku daun kopi Robustakonsentrasi 50%
- f. Kelompok P25 : Ekstrak kering beku daun kopi Robusta konsentrasi 25%

3.7 Alat dan Bahan

3.7.1 Alat Penelitian

- a. Timbangan (BOECO, Germany)
- b. Tabung eppendorf
- c. *Centrifuge* (HUMAX SK, Human)
- d. *Laminar flow* (Dwyer Mark II)
- e. Inkubator (Labtech)
- f. *Autoclave* (ALP)
- g. Oven (BINDER)
- h. *Spreader*
- i. Korek api
- j. Mikroskop (OLYMPUS)
- k. *Micropipet* (Huma Pette Human)
- l. *Petridish* tidak bersekat (STERIPLAN)
- m. Bunsen (Pyrex, Japan)
- n. Ose
- o. Tabung vakum
- p. Botol *autoclave*
- q. Gunting
- r. *Beaker glass* (IWAKI PYREX)
- s. Label
- t. Gelas ukur (IWAKI PYREX)
- u. *Colony counter*
- v. *Object glass*
- w. *Deck glass*
- x. *Phenotype*
- y. *Optilab*
- z. Alumunium foil
- aa. Alat uji kekeruhan McFarland (Densi CHEK Biomerieux Plus)

- bb. Vortex (LABINCO L46)
- cc. Tissue
- dd. *Hotplate Stirrer* (Labtech)
- ee. *Water bath* (GFL)
- ff. *Roller* (Huma Roller Human)
- gg. Masker (DIAPRO)
- hh. *Hand scunt* (Latex Examination Gloves)
- ii. Kulkas (Ruey Shing)

3.7.2 Bahan Penelitian

- a. Daun kopi Robusta yang diperoleh dari Kebun Fakultas Pertanian Universitas Jember
- b. Biakan *C. albicans*
- c. Aquadest steril
- d. Ekstrak kering beku daun kopi Robusta
- e. Alkohol 70%
- f. Minyak emersi
- g. *SDA* (*Saboroud Dextrose Agar*)
- h. *SDB* (*Saboroud Dextrose Broth*)
- i. *Cazetin Nystatin*
- j. Spirtus

3.8 Prosedur Penelitian

Semua prosedur dikerjakan pada *laminar flow* untuk mencegah kontaminasi dari lingkungan luar.

3.8.1 Tahap Persiapan

- a. Identifikasi *C. albicans*

Identifikasi *C. albicans* dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Bagian Biomedik Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember dengan menggunakan uji *germ tube*. Uji *germ tube* dilakukan dengan cara menginkubasi *C. albicans* dalam serum darah pada inkubator dengan suhu 37⁰C selama 2-3 jam. Germ tube terbentuk dalam dua jam setelah proses inkubasi. Kemudian dilakukan pengamatan di mikroskop. Apabila terdapat bentukan *germ tube* yang terlihat berbentuk bulat lonjong maka positif *C. albicans*.

b. Identifikasi daun kopi Robusta

Identifikasi daun kopi Robusta dilakukan di Laboratorium Botani Jurusan Produksi Pertanian Politeknik Negeri Jember.

c. Sterilisasi Alat

Sebelum disterilkan alat-alat yang akan digunakan dicuci dengan bersih lalu dikeringkan. Seluruh alat yang terbuat dari kaca disterilkan dengan *dry heat oven* kira-kira 110⁰C selama 15 menit, sedangkan semua alat yang terbuat dari plastik setelah dicuci bersih dan dikeringkan kemudian diulas alkohol 70% (Astanti, 2009). Dan untuk media pembiakan jamur disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121⁰C selama 15 menit (Wuryanti, 2008).

d. Membuat ekstrak kering beku daun kopi Robusta

Ekstrak kering beku daun kopi Robusta dibuat di Laboratorium Teknologi Ilmu Pangan Politeknik Negeri Jember dengan beberapa tahapan (Lampiran G).

e. Membuat larutan ekstrak kering beku daun kopi Robusta

Pertama-tama membuat larutan ekstrak kering beku daun kopi Robusta konsentrasi 100% yang diperoleh dari pencampuran 2 gr ekstrak kering beku daun kopi Robusta dengan 2 ml aquadest sehingga menghasilkan larutan sebanyak 2 ml. Setelah itu, dilakukan pengenceran dengan menggunakan aquades steril untuk mendapatkan konsentrasi 75%, 50%, dan 25% dari ekstrak kering beku daun kopi Robusta konsentrasi 100%. Pengenceran konsentrasi ekstrak kering beku ini dilakukan di dalam *laminar flow* dan hasil pengenceran tersebut dimasukkan pada tabung eppendorf. Rumus pengenceran yang digunakan untuk mengencerkan ekstrak

kering beku daun kopi Robusta menggunakan rumus pengenceran adalah (Chang, 2010):

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

Keterangan:

V_1 : Volume pertama (volume larutan ekstrak kering beku daun kopi Robusta konsentrasi 100%)

V_2 : Volume kedua (volume larutan ekstrak kering beku daun kopi Robusta yang akan dibuat)

M_1 : Konsentrasi awal (konsentrasi larutan ekstrak kering beku daun kopi Robusta konsentrasi 100%)

M_2 : Konsentrasi kedua (konsentrasi larutan ekstrak kering beku daun kopi Robusta yang akan dibuat)

Dari rumus pengenceran tersebut, maka dilakukan pengenceran, yakni:

- 1) Ekstrak kering beku konsentrasi 75% diperoleh dari 0,75 ml larutan ekstrak kering beku 100% ditambah dengan 0,25ml aquadest lalu dihomogenkan dengan *vortex*.
- 2) Ekstrak kering beku konsentrasi 50% diperoleh dari 0,5 ml larutan ekstrak kering beku 100% ditambah dengan 0,5 ml aquades lalu dihomogenkan dengan menggunakan *vortex*.
- 3) Ekstrak kering beku konsentrasi 25% diperoleh dari 0,25 ml larutan ekstrak kering beku 100% ditambah dengan 0,75 ml aquades steril lalu dihomogenkan dengan menggunakan *vortex*.

f. Mempersiapkan media SDB (*Sabouraud Dextrosa Broth*)

SDB sebanyak 3,7 gram dimasukkan dalam botol *autoclaved* dan ditambah 100 ml aquadest steril. Sumbat dengan kapas dan dipanaskan di *hot plate*. Kemudian ditutup dengan aluminium foil dan disterilkan dalam *autoclave* dengan suhu 121⁰ selama 15 menit.

g. Mempersiapkan media agar SDA (*Sabouraud Dextrosa Agar*)

Bubuk SDA sebanyak 6,5 gram dilarutkan dalam 100 ml aquadest steril ke dalam botol *autoclave*. Sumbat dengan kapas dan dipanaskan di *hot plate*. Kemudian ditutup dengan aluminium foil dan sterilkan dengan *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121⁰ C.

h. Membuat suspensi *C. albicans*

- 1) Penggunaan stok *C. albicans* dalam penelitian ini diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, Jawa Timur.
- 2) Cara membuat suspensi *C. albicans* adalah dengan mencampur 2 ml larutan SDB steril dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2 koloni *C. albicans* menggunakan ose steril. Perlakuan ini dilakukan dengan melewatkannya disamping lampu spiritus yang sedang menyala. Kemudian tabung tersebut dihomogenkan dengan *vortex*. Setelah dihomogenkan, tabung diinkubasi dalam inkubator dengan suhu 37⁰C selama 2x24 jam. Pertumbuhan *C. albicans* ditandai dengan adanya kekeruhan pada media.
- 3) Suspensi *C. albicans* dibuat dengan cara menyesuaikan kekeruhan menurut standart *Mc Farland* 0,5. Setelah diinkubasi 2x24 jam suspensi *C. albicans* dalam tabung reaksi kemudian dihomogenkan menggunakan *vortex*. Setelah itu, dilakukan pengukuran absorbansinya dengan standar *Mc Farland* 0,5 dengan absorbansi 0,05 dan panjang gelombang 560 nm dengan menggunakan spektrofotometer.

i. Membuat pengenceran dari suspensi *C. albicans*

Suspensi jamur *C. albicans* dengan tingkat kekeruhan standar *Mc Farland* 0,5 dilakukan pengenceran 10⁻³ terlebih dahulu, karena pada pengenceran 10⁻³ koloni *C. albicans* masih bisa terlihat dengan jelas pada penanaman di media SDA padat. Pengenceran dilakukan dengan cara menyiapkan tabung eppendorf sebanyak 3 buah di mana tiap tabungnya telah diisi aquades steril sebanyak 9 ml. Untuk tabung 1 ditambahkan suspensi *C. albicans* sebanyak 100 µl maka didapatkan pengenceran 10⁻¹. Kemudian tabung dihomogenkan dengan *vortex*. Selanjutnya, pada tabung 2 diambil 100 µl dari tabung 1 maka didapatkan pengenceran 10⁻². Kemudian tabung

dihomogenkan dengan *vortex*. Selanjutnya, pada tabung 3 diambil 100 µl dari tabung 2 maka didapatkan pengenceran 10^{-3} . Kemudian tabung dihomogenkan dengan *vortex*.

3.8.2 Tahap Penelitian

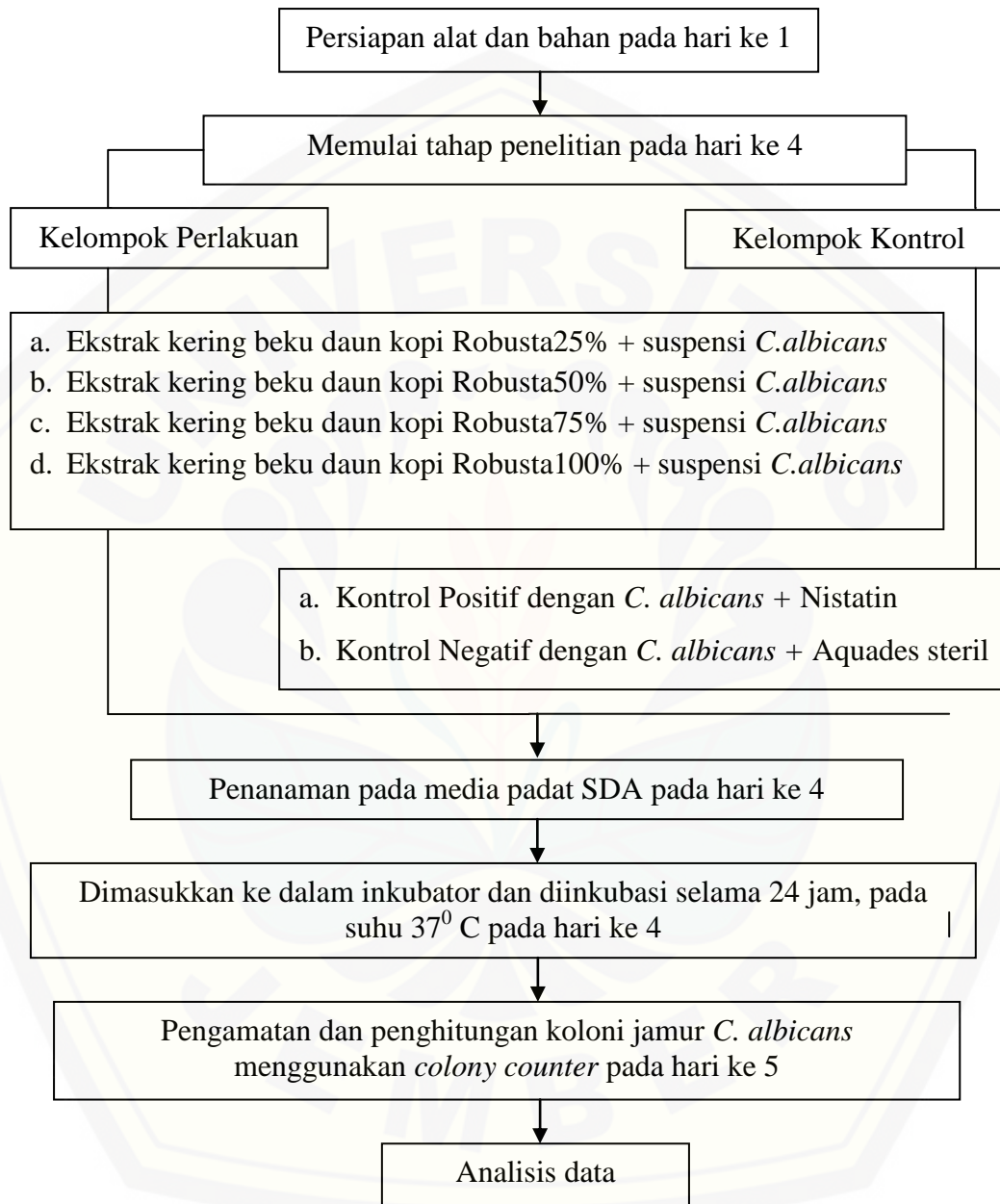
- a) Disediakan 6 tabung eppendorf yang diletakkan di dalam *laminar flow*.
- b) Tabung tersebut masing-masing diberi nomor urut 1-4. Tabung nomor 1 diberi bahan uji ekstrak kering beku daun kopi Robusta dengan konsentrasi 100% sebanyak 1 ml, tabung nomor 2 diberi bahan uji ekstrak kering beku daun kopi Robusta dengan konsentrasi 75% sebanyak 1 ml, tabung nomor 3 diberi bahan uji ekstrak kering beku daun kopi Robusta dengan konsentrasi 50% sebanyak 1 ml, tabung nomor 4 diberi bahan uji ekstrak kering beku daun kopi Robusta dengan konsentrasi 25% sebanyak 1 ml.
- c) Tabung nomor 1-4 selanjutnya masing-masing tabung ditambahkan suspensi jamur *C.albicans* sebanyak 100 µl yang telah dilakukan pengenceran 10^{-3} .
- d) Tabung nomor 5 diberi suspensi jamur *C.albicans* yang telah dilakukan pengenceran 10^{-3} sebanyak 100 µl dan 1 ml Nistatin sebagai kontrol positif. Tabung nomor 6 diberi suspensi jamur *C.albicans* yang telah dilakukan pengenceran 10^{-3} sebanyak 100 µl dan 1 ml aquades steril sebagai kontrol negatif. Seluruh tabung dihomogenkan dengan alat *vortex*.
- e) Penelitian dilanjutkan dengan menyediakan 6 cawan petri yang masing-masing diberi 100 µl larutan dari masing-masing tabung eppendorf. Pengambilan larutan dengan menggunakan *micropipet* dan *blue tip*. Lalu dituangkan pada media SDA padat dan diratakan dengan *spreader*.
- f) Selanjutnya seluruh cawan petri diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dan dimasukkan dalam inkubator (Ivan dkk., 2014).
- g) Setelah diinkubasi selama 24 jam, dilakukan pengamatan dan pembacaan hasil dengan mengamati pertumbuhan koloni pada permukaan media SDA. Pengamatan dilakukan oleh 3 orang berbeda dengan menghitung jumlah koloni

jamur yang terlihat pada permukaan agar menggunakan *colony counter*. Petridish dengan media agar yang sudah ada pertumbuhan jamur diletakkan di dalam alat tersebut dengan transmisi cahaya dan digunakan kaca pembesar supaya koloni dapat dihitung dengan cepat (Sumono dan Dharmayanti, 2009). Pada alat tersebut terdapat kotak-kotak kuadran yang terdiri dari 64 kotak, tetapi yang diambil hanya 30 kotak secara acak, tiap kuadran diambil sebanyak 7-8 kotak secara random (Setyorini dan Probosari, 2012). Pada kotak yang bernomor dilakukan penghitungan jumlah jamur secara valid dengan batasan 30-300 jamur setiap petridish (Sumono dan Dharmayanti, 2009). Jumlah koloni ditunjukkan dengan hitungan tombol untuk pengukuran operator sehingga operator dapat secara tepat meneliti sejumlah besar pertumbuhan koloni dalam waktu pendek dan kesalahan dapat ditekan sangat kecil (Setyorini dan Probosari, 2012).

3.9 Analisis Data

Setelah data terkumpul dan disusun dalam bentuk tabel, selanjutnya dilakukan analisa data menggunakan program SPSS. Data yang diperoleh dilakukan uji normalitas menggunakan uji *Shapiro wilk* dan uji homogenitas menggunakan *Levene Test*. Setelah dilakukan uji normalitas dan homogenitas dilanjutkan dengan uji statistik nonparametrik, yaitu *Kruskal-Wallis* yang kemudian dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui apakah ada perbedaan antar kelompok penelitian.

3.10 Alur Penelitian



Gambar 3.1 Diagram alur penelitian

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan:

1. Ekstrak kering beku daun kopi Robusta (*Coffea canephora*) mampu menghambat pertumbuhan dari *C. albicans*.
2. Ekstrak kering beku daun kopi Robusta (*Coffea canephora*) dengan konsentrasi 100%, 75%, 50%, dan 25% memiliki kemampuan daya hambat yang berbeda terhadap pertumbuhan *C. albicans*.
3. Kemampuan menghambat terbesar adalah ekstrak kering beku daun kopi Robusta (*Coffea canephora*) konsentrasi 100%.

5.2 Saran

1. Diperlukan penelitian lanjutan tentang daya hambat ekstrak kering beku daun kopi Robusta menggunakan metode penelitian lain.
2. Perlu penelitian lebih lanjut tentang senyawa aktif secara spesifik yang terkandung dalam daun kopi Robusta yang dapat menghambat pertumbuhan *C. albicans*.
3. Perlu adanya penelitian lebih lanjut tentang daya hambat daun kopi Robusta terhadap *C. albicans* secara *in vivo*

DAFTAR PUSTAKA

- Abdollahzadeh, S. H., R. Y. Mashouf, dan H. Mortazavi. 2011. Antibacterial and Antifungal Activities of *Punica granatum* Peel Extracts Against Oral Pathogens. *Journal of Dentistry* 8(1): 1-6.
- Ajizat A. 2004. Sensitivitas *Salmonella typhirium* terhadap ekstrak daun Psidium Guajava. *Journal Bioscientive* 1: 31-38.
- Adlhani, E. 2014. Penapisan Kandungan Fitokimia pada Buah Labu Kuning (*Cucurbita moschata*). *Jurnal Teknologi dan Industri* 3(1): 11-16.
- Astanti, L. S. 2009. "Pengaruh Perasan Buah Mengkudu (*Morindacitrifolia*) dan Betadine Obat Kumur terhadap Pertumbuhan *Lactobacillus sp.*". *Skripsi*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Belyamin, R. Subarkah, Nasruddin. 2011. Pengembangan Pengering Beku Pembekuan Vakum dengan Pemanasan Kondeser. *Politeknologi* 10(3): 285-294.
- Candrasari, A., M.A. Romas, M. Hasbi, dan O.R. Astuti. 2012. Uji Daya Antimikroba Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum Ruiz dan Pav.*) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Eschericia coli* ATCC 11229 dan *Candida albicans* ATCC 10231 secara In Vitro. *Biomedika* 4(1): 9-16.
- Chooi, O. H. 2008. *Rempah-ratus Khasiat Makanan dan Ubatan*. Malaysia: Utusan Publications and Distributors Sdn Bhd.
- Darma, B., I W. Sudira, H. Mahatmi. 2013. Efektivitas Perasan Akar Kelor (*Moringa Oleifera*) Sebagai Pengganti Antibiotik pada Ayam Broiler Yang Terkena Kolibasilosis. *Indonesia Medicus Veterinus* 2(3): 331-346.
- Dira. 2012. Isolasi Kofein dari Daun Kopi (*Coffea arabica, L*) dengan Metoda Sublimasi. *Scientia* 2(1): 6-10.
- Emilia, I. 2010. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Alkaloid dari Daun Tumbuhan Sengugu (*Clerodendron serratum Spreng*). *Sainmatika* 7(2): 46-53.
- Fachraniah, E. Kurniasih, D. T. Novilasi. 2012. Ekstraksi Antioksidan dari Daun Kari. *Jurnal Reaksi (Journal of Science and Technology)* 10(21): 35-44.
- Gani, B. A. 2011. Keragaman Virulensi Faktor *Candida albicans* Sebagai Penentu Infeksi. *Cakrodonya Dent Jurnal* 3(1): 252-331.

- Gholib, D. 2009. Uji Daya Hambat Daun Senggani (*Melastoma malabathricum L.*) terhadap *Trichophyton mentagrophytees* dan *Candida albicans*. *Jurnal Berita Biologi* 9(5) : 523- 527.
- Hadiati, S. 2011. Kandidiasis Pseudomembran pada Lidah Akibat Pemakaian Obat Kumur Heksetidin serta Penatalaksanaannya. *Majalah Kedokteran Gigi* 18(2): 178-181.
- Handayani, L. 2003. Tanaman Obat Untuk Masa Kehamilan dan Pasca Melahirkan. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Hasanah, I. N. 2016. Pengaruh Substrat Tanam terhadap Keberhasilan Aklimatisasi Embrio Somatik Kopi Robusta (*Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner). *Skripsi*. Purwokerto: Program Studi Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Unniversitas Muhammadiyah Purwokerto.
- Hayati, R., A. Marliah, dan F. Rosita. 2012. Sifat Kimia dan Evaluasi Sensori Bubuk Kopi Arabika. *Jurnal Floratek* 7: 66–75.
- Imra, K. Tarman, dan Desniar. 2006. Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak Nipah (*Nypa fruticans*) terhadap *Vibrio sp.* Isolat Kepiting Bakau (*Scylla sp.*). *JPHPI* 19(3): 241-250.
- Ivan, K. D. P., I. Arundina, dan Istiati. 2014. Potensi Antjamur Ekstrak Bunga Kembang Sepatu Terhadap *Candida albicans*. *Jurnal Kedokteran Gigi* 8(2): 98-106.
- Jung, W. S., I. M. Chung, S. H. Kim, M. Y. Kim, A. Ahmad, and N. Praveen. 2011. In Vitro Antioxidant Activity, Total Thenolics and Flavonoids from Celery (*Apium graveolens*) Leaves. *Journal of Medicinal Plants Research* 5(32): 7022-7030.
- Kanifah, U., M. Lutfi, dan B. Susilo. 2015. Karakterisasi Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) dengan Metode Ekstraksi Non-Thermal Berbantuan Ultrasonik (Kajian Perbandingan Jenis Pelarut dan Lama Ekstraksi). *Jurnal Bioproses Komoditas Tropis* 3(1): 73-79.
- Kayser, F. H., K. A. Bienz, J. Exkert, R.M. Zinkernagel. 2005. *Medical Microbiology*. Tenth Edition. Stuggart: Thieme.
- Komariah, dan R. Sjam. 2012. Kolonisasi *Candida* dalam Rongga Mulut. *Majalah Kedokteran FK UKI XXVIII*(1): 39-47.

- Kumalasari, E., dan N. Sulistyani. 2011. Aktivitas Antifungi Ekstrak Etanol Batang Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen.) terhadap *Candida albicans* serta Skrining Fitoikimia. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian* 1(2): 51–62.
- Kusrahman, A. 2012. Isolasi, Karakterisasi Senyawa Aktif dan Uji Farmaka Ekstrak Biji Keblu pada Mencit (*Mus musculus*) serta Penerapannya dalam Pembelajaran Kimia di SMAN 1 Bengkulu Selatan. *Tesis*. Bengkulu: Pascasarjana (S2) Pendidikan IPA Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Bengkulu.
- Lee, J.H., J.H.Park, Y.S.Kim, dan Y.Han. 2008. *Chlorogenic Acid, a Polyphenolic Compound, Treats Mice with Septic Arthritis Caused by Candida albicans*. *International Immunopharmacology* 8: 1681–1685.
- Leepel, A. L., R. Hidayat, R. Puspitawati, B. M. Bahtiar. 2009. Efek Penambahan Glukosa pada *Saburoud Dextrose Broth* terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* (Uji In Vitro). *Indonesian Journal of Dentistry* 16(1):58- 63.
- Lutfiyanti R., W. F. Ma'ruf, E. N. Dewi. 2012. Aktivitas Antijamur Senyawa Bioaktif Ekstrak *Gelidium latifolium* terhadap *Candida albicans*. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan* 1(1): 1-8.
- Maharani, S., O. Santoso. 2012. Pengaruh pemberian larutan ekstrak Siwak (*Salvadora persica*) pada berbagai konsentrasi terhadap pertumbuhan *Candida albicans*. *Jurnal PDGI* 61(2):61-64.
- Mahesa, M. F. 2012. Esterifikasi Senyawa Polifenol dari Ekstrak Kulit Biji Kopi dengan Asam p-Hidroksibenzoat dengan Menggunakan Katalis $\text{SiO}_2\text{-H}_2\text{SO}_4$. *Skripsi*. Depok: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Program Studi Ilmu Kimia.
- Majalah Foodreview Indonesia. 2013. *Freeze Drying Technology: for Better Quality and Flavor of Dried Products*. VIII(2): 52-57.
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan* VII(2): 361-367.
- Mulangsri, D.A.K., dan L.H. Nurani. 2015. Aktivitas Antifungi Fraksi Etil Asetat Ekstrak Daun Pacar Kuku terhadap *Candida albicans* Resisten Flukonazol. *Media Farmasi* 12(1): 46-56.
- Murtafiah, A. 2012. Daya Hambat Ekstrak Kopi Robusta (*Coffea robusta*) terhadap *Streptococcus mutans*. *Skripsi*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

- Mycek, M. J., R. A. Harvey, P. C. Champe, B. D. Fisher. 2001. *Farmakologi Ulasan Bergambar: Obat-obat Antijamur*. Edisi Kedua. Jakarta: Widya Medika.
- Notoatmodjo, S. 2005. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: PT Rineka Cipta.
- Nugrahaningtyas, K. D., S. Matsjeh, T. D. Wahyuni. 2005. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dalam Rimpang Temu Ireng (*Curcuma aeruginosa Roxb.*). *Biofarmasi* 3(1): 32-38.
- Nuryati, S., Rahman, dan Taukhid, 2005. Kajian Potensi Antifungi (*Terminalia cattapa L*), *SIRIH (Piper betle L)*, Jambu Biji (*Psidium guajava L*), dan Sambiloto (*Andrographis peniculata (Burm.F) Ness*) terhadap Pertumbuhan Cendawan Akuatik *Aphanomyces* secara In Vitro. *Jurnal Akuakultur Indonesia* 4(2): 115–123.
- Olivia, F., S. Alam, dan I. Hadibroto. 2004. *Seluk Beluk Food Suplemen*. Jakarta: Gramedia.
- Permatasari, D., L. Y. Budiarti, M. L. Apriasari. 2016. Efektifitas Antifungi Ekstrak Metanol Batang Pisang Mauli (*Musa acuminata*) dan *Chlorhexidine gluconate* 0,2% terhadap *Candida albicans*. *Dentino Jurnal Kedokteran I*(1): 10-14.
- Pertami, S.D., M. Pancasiyanuar, S. A. Irasari, M. B. Rahardjo, dan Wasilah. 2013. *Lactobacillus acidophilus* Probiotic Inhibits the Growth of *Candida albicans*. *Journal of Dentistry Indonesia* 20(3): 64-67. Faculty of Dentistry, Institute of Health Science Bhakti Wiyata, Kediri. Indonesia.
- Rahardjo, P. 2012. *Panduan Budi Daya dan Pengolahan Kopi Arabika dan Robusta*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Redha, A. 2010. Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif dan Peranannya dalam Sistem Biologis. *Jurnal Belian* 9(2):196-202.
- Ridawati, Jenie, B. S. L., Juwita, I., Sjamsuridjal, W. 2011. Aktivitas Antifungal Minyak Atsiri Jinten Putih terhadap *Candida parapsilosis* Ss25, *C. orthopsilosis* Nn14, *C. metapsilosis* Mp27, dan *C. etchellsii* Mp18. *Makara Sains* 15(1): 58-62.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Senyawa Organik Tumbuhan Tinggi*, diterjemahkan oleh Prof. Dr. Kosasih Padmawinata. ITB. Bandung.
- Rohadi, D. 2016. Aktivitas Antimikosis Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata L.*). *Pharmaciana* 6(1): 101-106.

- Roller, S. 2003. *Natural Antimicrobials for the Minimal Processing of Foods*. Washington D.C.: CRC Press.
- Rukmana, H. R. 2014. *Untung Selangit dari Agribisnis Kopi*. Yogyakarta: Lili Publisher.
- Saxena, R. 2013. *Evidence Based Color Atlas of Obstetrics and Gynecology: Diagnosis and Management*. New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publishers.
- Septianoor, M. H., A. N. Carabelly, dan M. L. Apriasari. 2013. Uji Efektivitas Antifungi Ekstrak Metanol Batang Pisang Mauli (*Musa sp*) terhadap *Candida albicans*. *Jurnal PDGI*62(1): 7-10.
- Setiabudy, R. dan B. Bahry. 2007. *Farmakologi dan Terapi : Obat Jamur*. Edisi Kelima. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Setiawan E.A., D. Rahadian, dan Siswanti. 2015. Pengaruh Penyangraian Daun Kopi Robusta (*Coffea robusta*) terhadap Karakteristik Kimia dan Sensory Minuman Penyegar. *Jurnal Teknosains Pangan*4(2): 1-9.
- Sholikhah, U., D. A. Munandar, A. Pradana. 2015. Karakter Fisiologis Klon Kopi Robusta BP 358 pada Jenis Penaung yang Berbeda. *Agrovigor* 8(1): 58-67.
- Siswandono, dan B. Soekardjo. 2000. *Kimia Medicinal*. Surabaya: UNAIR Press.
- Staib, P., J. Morschhäuser. 2007. Chlamyospore Formation in *Candida albicans* and *Candida Dubliniensis*--an Enigmatic Developmental Programme. *Mycoses* 50(1):1-12.
- Steel, R. G. D., dan J. H. Torrie. 1995. *Prinsip dan Prosedur Statistika Suatu Pendekatan Biometrik*. Terjemahan oleh B. Sumantri. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Sumono, A., W. S. A. Dharmayanti. 2009. Kemampuan Air Rebusan Daun Salam (*Eugenia polyantha W*) dalam Menurunkan Jumlah Koloni Bakteri *Streptococcus sp.* *Majalah Farmasi Indonesia* 20 (3): 112-117.
- Supranto. 2000. *Teknik Sampling Untuk Survei dan Eksperimen*. Jakarta : Rineka Cipta.
- Suryaningsih, A., S. Chumaeroh, B. Benyamin. 2015. Uji Efektifitas Ekstrak Anggur Merah (*Vitis Vinivera*) terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* secara *In Vitro*. *Medali Jurnal* 2(1): 5-8.

- Tarigan, E.B., D. Pranowo, T. Iflah. 2015. Tingkat Kesukaan Konsumen terhadap Kopi Campuran Robusta dengan Arabika. *Jurnal Teknologi dan Industri Pertanian Indonesia. Jurnal Teknologi dan Industri Pertanian Indonesia* 7(1): 12-17.
- Tati, S., P. Davidow, A. McCall, E. Hwang-Wong, I. G. Rojas, B. Cormack, M. Edgerton. 2016. *Candida glabrata* Binding to *Candida albicans* Hyphae Enables Its Development in Oropharyngeal Candidiasis. *PLoS Pathog* 12(3).
- Tewu, W., T. Hidayat, S. Basuki. 2014. Profil spesies *Candida* pada pasien Kandidiasis Oral dengan infeksi HIV&AIDS. *BIKKK* 26(1).
- Triwahyuni, I. E. 2011. Pengaruh Minyak Biji Mimba terhadap Jumlah Koloni *Candida albicans* pada Rongga Mulut Mencit BALB/c dengan Imunosupresi dan Diinfeksi *C. albicans*. *JITEKGI* 8(1): 13-18.
- Tyasrini E., T. Winata, Susantina. 2006. Hubungan antara Sifat dan Metabolit *Candida* spp. dengan Patogenesis Kandidiasis. *JKM* 6(1): 52-66.
- Virgianti, D.P., dan R. Nurwaniansah. 2014. Pemeriksaan Kontaminasi *Candida albicans* pada Air Kolam Renang di Kota Tasikmalaya. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada* 11(1): 179-187.
- Wahyuni, S., Mukarlina, A. H. Yanti. 2014. Aktivitas Antifungi Ekstrak Metanol Daun Buas-Buas (*Premna serratifolia*) terhadap Jamur *Diplodia* sp. Pada Jeruk Siam (*Citrus nobilis* var. *microcarpa*). *Jurnal Protobiont* 3(2): 274-279.
- Wijaya, R. C., E. L. Utari, dan Yudianingsih. 2015. Perancangan Alat Penghitung Bakteri. *Jurnal Teknologi Informasi* X(29): 59-66.
- Wulandari, A. 2014. Aktivitas Antioksidan Kombucha Daun Kopi (*Coffea arabica*) dengan Variasi Lama waktu Fermentasi dan Kosentrasi Ekstrak. *Skripsi*. Surakarta: Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Wuryanti. 2008. Pengaruh Penambahan Biotin Pada Media Pertumbuhan Terhadap Produksi Sel *Aspergillus niger*. *Bioma* 10(2): 46-50.
- Yanti, N., Samingan, Mudatsir, 2016. Uji Aktivitas Antifungi Ekstrak Etanol Gal Manjakani (*Quercus infectoria*) terhadap *Candida albicans*. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pendidikan Biologi* 1(1): 1-9.

Yuliana, S. R. I., M. A. Leman, P. S. Anindita. 2015. Uji Daya Hambat Senyawa Saponin Batang Pisang (*Musa paradisiaca*) terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*. *Jurnal e-GiGi* 3(2): 616-620.



LAMPIRAN

A. Surat Ijin Melaksanakan Penelitian



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

Nomor : 926 /UN25.8/TL/2017
Perihal : Ijin Penelitian

24 JAN 2017

Kepada Yth
Direktur RSGM Universitas Jember
Di
Jember

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

- | | | |
|----|-------------------------|---|
| 1 | Nama | : Anastasia Okta Erisha |
| 2 | NIM | : 131610101091 |
| 3 | Semester/Tahun | : 2016/2017 |
| 4 | Fakultas | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember |
| 5 | Alamat | : Jl. Batu Raden VIII No.47 Jember |
| 6 | Judul Penelitian | : Kemampuan Daya Hambat Ekstrak Kering Beku (Freeze Dried Extract)Daun Kopi Robusta Terhadap Candida Albicans |
| 7 | Lokasi Penelitian | : Laboratorium Bioscience RSGM Uiniversitas Jember |
| 8 | Data/alat yang dipinjam | : Inkubator , Petridish , Tabung Reaksi Dll |
| 9 | Waktu | : Januari 2017 s/d Selesai |
| 10 | Tujuan Penelitian | : Untuk Mengetahui Kemampuan Daya Hambat Ekstrak Kering Beku (Freeze Dried Extract)Daun Kopi Robusta Terhadap Candida Albicans |
| 11 | Dosen Pembimbing | : 1. Dr. drg. Hj.Herniyati, M.Kes
2. Dr. drg.Purwanto, M.Kes |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih

an. Dekan
Pembantu Dekan I,



Drg. DA Susilawati, M.Kes

NIP.196109031986022001

B. Surat Ijin Penghitungan Koloni

KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

Jl. Kalimantan No. 37 Jember ☎(0331) 333536, Fak. 331991

Nomor : 541/UN25.8/TL/2017
Perihal : Ijin Penelitian

01 FEB 2017

Kepada Yth
Kepala Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi
Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA)
Universitas Jember
Di
Jember

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

- | | | |
|----|-------------------------|--|
| 1 | Nama | : Anastasia Okta Erisha |
| 2 | NIM | : 131610101091 |
| 3 | Semester/Tahun | : 2016/2017 |
| 4 | Fakultas | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember |
| 5 | Alamat | : Jl. Batu Raden VIII No.47 Jember |
| 6 | Judul Penelitian | : Kemampuan Daya Hambat Ekstrak Kering Beku (Freeze Dried Extract) Daun Kopi Rabusta Terhadap Candida Albicans |
| 7 | Lokasi Penelitian | : Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Jember |
| 8 | Data/alat yang dipinjam | : Coloni Counter |
| 9 | Waktu | : Pebruari 2017 s/d Selesai |
| 10 | Tujuan Penelitian | : Menghitung Jumlah Koloni Candida Albicans |
| 11 | Dosen Pembimbing | : 1. Dr. drg. Hj. Herniyanti, M.Kes
2. Dr. drg. Purwanto, M.Kes |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih

an. Dekan
Pembantu Dekan I,



Dr. drg. IDA Susilawati, M.Kes
NIP.196109031986022001

C. Surat Keterangan Identifikasi Jamur *Candida albicans*

LABIRATORIUM MIKROBIOLOGI
BAGIAN BIOMEDIK KEDOKTERAN GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER

SURAT KETERANGAN

No. 0107./MIKRO/S.KET/2016

Sehubungan dengan keperluan identifikasi mikroorganisme, maka kami menerangkan bahwa mahasiswa berikut :

Nama : Anastasia Okta Erisha
NIM : 131610101091
Fakultas : Kedokteran Gigi
Keperluan : Penelitian

Telah melakukan uji identifikasi terhadap isolat ***Candida albicans***, dengan menggunakan uji Germ Tube dan diamati secara mikroskopis menunjukkan hasil presumtif *Candida albicans*.

Jember, 27 September 2016

Mengetahui,

Kepala Bagian Biomedik Kedokteran Gigi

Penanggung Jawab Lab. Mikrobiologi

(Prof. Dr. Drg. I. Dewa Ayu Retna D.M.Si)

NIP. 196705021997022001

(drg. Pujiana Endah Lestari M.Kes)

NIP. 197608092005012002

D. Surat Keterangan Identifikasi Daun Kopi Robusta

KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
POLITEKNIK NEGERI JEMBER
JURUSAN PRODUKSI PERTANIAN
Jalan Mastrip Kotak Pos 164 Jember 68101
Telp. (0331) 333532-34; Faks. (0331) 333531; e-mail: politeknik@polije.ac.id

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TANAMAN

Nomor : 589/PL17.3.1/PP/2016

Berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirimkan ke Herbarium Jemberiense, Laboratorium Tanaman, Jurusan Produksi Pertanian, Politeknik Negeri Jember oleh:

Nama : Anastasia Okta Erisha
NIM : 131610101091
Jur/Fak/PT : Kedokteran Gigi/ Universitas Jember

maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut dibawah ini (terlampir) adalah:

Domain: Eukaryota; Kingdom: Plantae; Subkingdom: Tracheobionta; Superdivisi: Spermatophyta; Divisi: Magnoliophyta; Kelas: Magnoliopsida; Subkelas: Astridae; Ordo: Rubiales; Famili: Rubiaceae; Genus: Coffea; Spesies: Coffea canephora

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.


Jember, 01 November 2016

Ketua Jurusan

Ir. Cherry Triwidiarto, M.Si
NIP. 19590319 198803 1 005

E. Surat Hasil Analisa Ekstrak Kering Beku Daun Kopi Robusta

Kode dokumen: FR-AU
Revisi: 0



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
POLITEKNIK NEGERI JEMBER
 Jalan Mastrip Kotak Pos 164 Jember 68101 Telp. (0331)333532-34; Faks. (0331) 333534
 Email: politeknika@polije.ac.id; Laman: WWW.Polije.ac.id

LAPORAN HASIL ANALISA

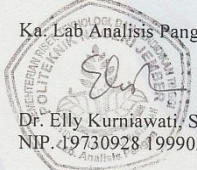
Tanggal terima	: Kamis, 10 Nopember 2016
Tanggal selesai	: Senin, 21 Nopember 2016
Dikirim oleh	: Anastasia Okta Erisha
Alamat	: FKG UNEJ
Jenis sampel	: Seduhan Daun Kopi Robusta
Jenis Analisa	: Pengeringan
Peralatan Pengujian	: Freeze Dryer
Peralatan K3 (Alat Pelindung Diri)	: Sarung Tangan , Masker dan Jas Laboratorium

HASIL ANALISA

No	Jenis Sampel	Volume awal (ml)	Hasil (gram)
1	Seduhan Daun Kopi Robusta	350	9,79


Hasil analisa tersebut diatas sesuai dengan sampel yang kami terima

Ka. Lab Analisis Pangan.









Dr. Elly Kurniawati, STp, MP
NIP. 19730928-199903 2 001

Jember, 21 Nopember 2016
Analisis

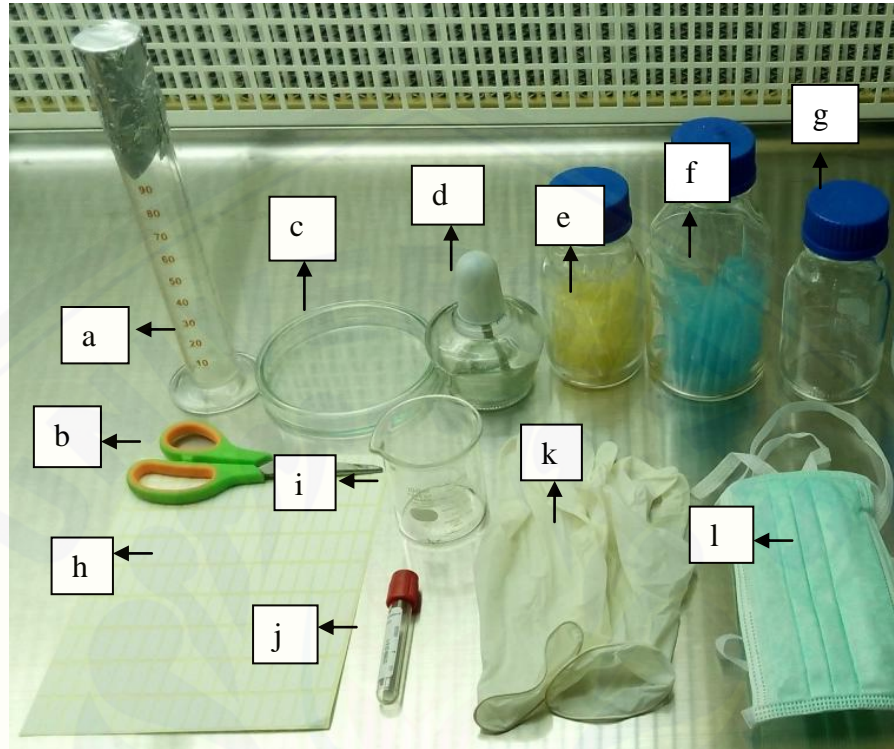


M. Djabir Saing, SE
NIP. 19670512 199203 1 003



F. Alat dan Bahan Penelitian



- a. Gelas ukur
- b. Gunting
- c. Petridish tidak bersekat
- d. Bunsen
- e. *Yellow tip*
- f. *Blue tip*
- g. Botol *autoclave*
- h. Label
- i. *Beaker glass*
- j. Tabung vakum
- k. *Hand scoon*
- l. Masker



Korek Api



Alumunium foil



Mikropipet



Tissue



Tabung eppendorf



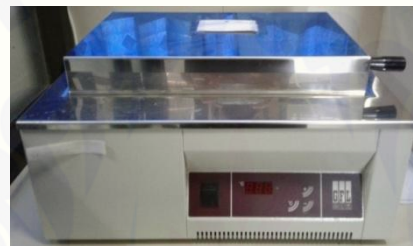
Inkubator



Centrifuge



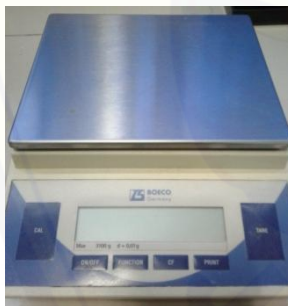
Vortex



Water bath



Autoclave



Timbangan digital



Kulkas



Alat uji kekeruhan
McFarland



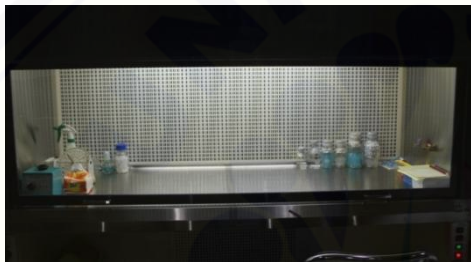
Hot plate



Roller



Oven



Laminar flow



Media SDA dan SDB



Cazetin Nystatin



Aquadest steril



*Freeze dried extract
daun kopi robusta*



*Alkohol
70%*



*Object glass
dan deck glass*

G. Pembuatan ekstrak kering beku daun kopi Robusta

Pembuatan bubuk daun kopi Robusta kering di Laboratorium Teknologi Ilmu Pangan Politeknik Negeri Jember. Daun kopi robusta yang masih segar, bersih, dan kering angin setelah dicuci, kemudian dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 50⁰C selama 20 jam (Nuryati dkk, 2005). Setelah pengeringan, daun kopi robusta yang tadinya berwarna hijau tuasegar menjadi hijau kecoklatan dan memiliki tekstur yang kering. Daun kopi Robusta yang sudah kering kemudian dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi serbuk.

Serbuk yang didapat kemudian diseduh dengan aquadest yang sudah dididihkan di hot plate pada suhu 22,5⁰C. Membuat seduhan daun kopi Robusta dengan mencampur serbuk daun kopi Robusta dengan aquadest yang sudah dididihkan. Hasil seduhan kemudian disaring menggunakan corong buchner. Setelah itu, hasil dari saringan seduhan daun kopi Robusta tersebut dibagi sama rata ke tempat yang ditempati hasil dari saringan seduhan tersebut. Kemudian, filtrat dilakukan pengeringan menggunakan *freeze dryer* dengan meletakkan keempat tempat tersebut di *freeze dryer* selama 21 jam.

Tahap pengeringan beku terdiri dari proses pembekuan dan pengeringan sebagai berikut (Foodreview Indonesia, 2013):

c. Pembekuan

Proses pembekuan dilakukan dengan membuat lapisan produk pangan pada rak-rak (nampan) yang terbuat dari metal. Rak atau nampan yang telah siap, kemudian dimasukkan dalam ruang pembeku dengan suhu -40⁰F (-40⁰C). Pada suhu ini, produk akan membeku dengan cepat dan akan dihasilkan produk beku yang tidak merusak tekstur.

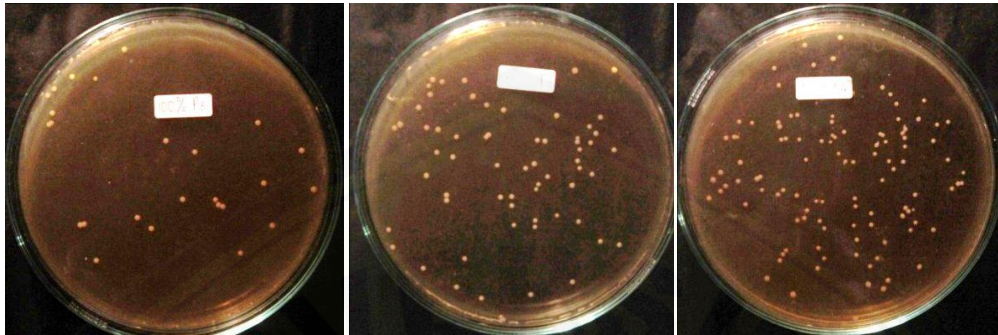
d. Pengeringan

Proses pengeringan (sublimasi) dilakukan dengan cara memasukkan produk beku ke dalam ruangan vakum. Harus dipertahankan bahwa kondisi proses (P dan T) tetap di bawah titik triple, sehingga bisa dijamin bahwa proses sublimasi bisa terjadi,

dan tidak terjadi proses pelelehan. Dalam hal ini, kristal-kristal es yang berada pada struktur produk pangan dipaksa untuk langsung mengalami sublimasi. Hal ini bisa dicapai dengan menjaga ruangan tetap vakum (biasanya tekanan ruangan sublimasi dipertahankan sekitar 0.036 psi atau sekitar 0.0025 bar) dan suhu kemudian dinaikkan secara terkontrol sampai mencapai sekitar 100°F (38°C) sehingga terjadi proses sublimasi yaitu perubahan fase dari padat (es) ke uap. Dalam mekanisme alat *freeze dryer*, uap air yang dihasilkan ini kemudian disedot dan dikondensasikan sehingga tidak membasahi produk yang sedang dikeringkan.

Dari proses pengeringan beku tersebut didapatkan ekstrak kering beku daun kopi Robusta (*freeze dried extract*) yang merupakan suatu produk hasil *freeze drying* yang apabila di seduh lagi tidak akan menghasilkan ampas seduhan. Selain itu, tidak menyebabkan permukaan yang keriput, warna normal, dan nilai gizi lebih dapat dipertahankan (Foodreview Indonesia, 2013).

H. Foto Hasil Penelitian



P100

P75

P50



P25

K+

K-

I. Hasil Penghitungan Koloni dari Ekstrak Kering Beku Daun Kopi Robusta (*Coffea canephora*) terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*

Plate (x 10 ⁻³ CFU/ml) Konsentrasi	1	2	3	4	Rata-rata
100	6	4	6	8	6
75	22	30	17	23	23
50	41	49	30	45	41,25
25	119	114	81	83	99,25
K+	0	0	0	0	0
K-	258	249	270	283	265

J. Hasil Uji Statistik

1. Hasil Uji Normalitas Data (*Shapiro-Wilk*)

Tests of Normality ^b							
kelompok		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
jumlah koloni	kontrol negatif	,182	4	.	,984	4	,923
	konsentrasi 25%	,291	4	.	,812	4	,125
	konsentrasi 50%	,238	4	.	,938	4	,643
	konsentrasi 75%	,250	4	.	,963	4	,798
	konsentrasi 100%	,250	4	.	,945	4	,683

a. Lilliefors Significance Correction

b. jumlah koloni is constant when kelompok = kontrol positif. It has been omitted.

2. Hasil Uji Homogenitas Data (*Levene-Test*)

Test of Homogeneity of Variances

jumlah koloni

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
12.875	5	18	.000

3. Hasil Uji Beda (*Kruskal-Wallis Test*)

Ranks

kelompok	N	Mean Rank
jumlah koloni kontrol negatif	4	22.50
jumlah koloni konsentrasi 25%	4	18.50
jumlah koloni konsentrasi 50%	4	14.38
jumlah koloni konsentrasi 75%	4	10.62
jumlah koloni konsentrasi 100%	4	6.50
jumlah koloni kontrol positif	4	2.50
Total	24	

Test Statistics^{a,b}

	jumlah koloni
Chi-Square	22.440
df	5
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: kelompok

4. Hasil Uji Beda Antar Kelompok Perlakuan (*Mann-Whitney Test*)

- 1) Kelompok Kontrol Negatif dengan *Freeze Dried Extract* Daun Kopi Robusta Konsentrasi 25%

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
jumlah koloni kontrol negatif	4	6.50	26.00
konsentrasi 25%	4	2.50	10.00
Total	8		

	jumlah koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

- 2) Kelompok Kontrol Negatif dengan *Freeze Dried Extract* Daun Kopi Robusta Konsentrasi 50%

Ranks			
kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
jumlah koloni kontrol negatif	4	6.50	26.00
konsentrasi 50%	4	2.50	10.00
Total	8		

Test Statistics ^b	
	jumlah koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

3) Kelompok Kontrol Negatif dengan *Freeze Dried Extract* Daun Kopi Robusta Konsentrasi 75%

Ranks

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
jumlah koloni kontrol negatif	4	6.50	26.00
jumlah koloni konsentrasi 75%	4	2.50	10.00
Total	8		

Test Statistics^b

	jumlah koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

- 4) Kelompok Kontrol Negatif dengan *Freeze Dried Extract* Daun Kopi Robusta Konsentrasi 100%

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
jumlah koloni kontrol negatif	4	6.50	26.00
konsentrasi 100%	4	2.50	10.00
Total	8		

	jumlah koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.323
Asymp. Sig. (2-tailed)	.020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

5) Kelompok Kontrol Negatif dengan Kontrol Positif

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
jumlah koloni kontrol negatif	4	6.50	26.00
jumlah koloni kontrol positif	4	2.50	10.00
Total	8		

	jumlah koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

- 6) Kelompok *Freeze Dried Extract* Daun Kopi Robusta Konsentrasi 25% dengan *Freeze Dried Extract* Daun Kopi Robusta Konsentrasi 50%

Ranks

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
jumlah koloni konsentrasi 25%	4	6.50	26.00
jumlah koloni konsentrasi 50%	4	2.50	10.00
Total	8		

Test Statistics^b

	jumlah koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

- 7) Kelompok *Freeze Dried Extract* Daun Kopi Robusta Konsentrasi 25% dengan *Freeze Dried Extract* Daun Kopi Robusta Konsentrasi 75%

Ranks

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
jumlah koloni konsentrasi 25%	4	6.50	26.00
jumlah koloni konsentrasi 75%	4	2.50	10.00
Total	8		

Test Statistics^b

	jumlah koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

- 8) Kelompok *Freeze Dried Extract* Daun Kopi Robusta Konsentrasi 25% dengan *Freeze Dried Extract* Daun Kopi Robusta Konsentrasi 100%

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
jumlah koloni konsentrasi 25%	4	6.50	26.00
jumlah koloni konsentrasi 100%	4	2.50	10.00
Total	8		

	jumlah koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.323
Asymp. Sig. (2-tailed)	.020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

- 9) Kelompok *Freeze Dried Extract* Daun Kopi Robusta Konsentrasi 25% dengan Kontrol Positif

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
jumlah koloni konsentrasi 25%	4	6.50	26.00
kontrol positif	4	2.50	10.00
Total	8		

	jumlah koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

10) Kelompok *Freeze Dried Extract* Daun Kopi Robusta Konsentrasi 50% dengan *Freeze Dried Extract* Daun Kopi Robusta Konsentrasi 75%

Ranks

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
jumlah koloni konsentrasi 50%	4	6.38	25.50
jumlah koloni konsentrasi 75%	4	2.62	10.50
Total	8		

Test Statistics^b

	jumlah koloni
Mann-Whitney U	.500
Wilcoxon W	10.500
Z	-2.178
Asymp. Sig. (2-tailed)	.029
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

11)

12) Kelompok *Freeze Dried Extract* Daun Kopi Robusta Konsentrasi 50% dengan *Freeze Dried Extract* Daun Kopi Robusta Konsentrasi 100%

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
jumlah koloni konsentrasi 50%	4	6.50	26.00
jumlah koloni konsentrasi 100%	4	2.50	10.00
Total	8		

	jumlah koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.323
Asymp. Sig. (2-tailed)	.020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

- 13) Kelompok *Freeze Dried Extract* Daun Kopi Robusta Konsentrasi 50% dengan Kelompok Positif

Ranks

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
jumlah koloni konsentrasi 50%	4	6.50	26.00
kontrol positif	4	2.50	10.00
Total	8		

Test Statistics^b

	jumlah koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

14) Kelompok *Freeze Dried Extract* Daun Kopi Robusta Konsentrasi 75% dengan *Freeze Dried Extract* Daun Kopi Robusta Konsentrasi 100%

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
jumlah koloni konsentrasi 75%	4	6.50	26.00
jumlah koloni konsentrasi 100%	4	2.50	10.00
Total	8		

	jumlah koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.323
Asymp. Sig. (2-tailed)	.020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

15) Kelompok *Freeze Dried Extract* Daun Kopi Robusta Konsentrasi 75% dengan Kontrol Positif

Ranks

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
jumlah koloni konsentrasi 75%	4	6.50	26.00
kontrol positif	4	2.50	10.00
Total	8		

Test Statistics^b

	jumlah koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

16) Kelompok *Freeze Dried Extract* Daun Kopi Robusta Konsentrasi 100% dengan Kontrol Positif

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
jumlah koloni konsentrasi 100%	4	6.50	26.00
kontrol positif	4	2.50	10.00
Total	8		

	jumlah koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.477
Asymp. Sig. (2-tailed)	.013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok