



**DAYA ANTIBAKTERI EKSTRAK KERING BEKU DAUN KOPI ROBUSTA
(*Coffea canephora*) TERHADAP *Porphyromonas gingivalis***

SKRIPSI

Oleh

Rahajeng Intan Pawestri

NIM 131610101030

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : drg. Depi Praharani, M.Kes

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

Penguji

Dosen Penguji Ketua : drg. Peni Pujiastuti, M.Kes

Dosen Penguji Anggota : drg. Rendra Christedy P., MD, Sc

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS JEMBER

2017



**DAYA ANTIBAKTERI EKSTRAK KERING BEKU DAUN KOPI ROBUSTA
(*Coffea canephora*) TERHADAP *Porphyromonas gingivalis***

SKRIPSI

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

Oleh :

Rahajeng Intan Pawestri

131610101030

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS JEMBER

2017

PERSEMBAHAN

Teriring puji syukur kehadiran Allah SWT dan sholawat kepada Rasulullah Muhammad SAW, kupersembahkan skripsiku ini kepada:

1. Ibuku tercinta Rusmiati dan Alm ayahku PE Soesanto BBA di surga, terima kasih atas segala kasih sayang, dukungan moril dan materil, nasihat, serta untaian doa yang selalumengiringi langkahku untuk mencapai keberhasilan;
2. Kakak kakakku tersayang Imanita Dian Susanti, S. T. dan Sinta Ayu Kumala, S.E. yang senantiasa memberiku kasih sayang, saran, semangat dan senantiasa mendengarkan keluhanku serta membantu ibu dalam mendukung kelancaran kuliahku, serta keluarga besarku di Madiun yang telah memberikan segala doadan dukungannya;
3. Seluruh dosenku di Fakultas Kedokteran Gigi, teristimewa untuk drg Depi Praharani, M.Kes, Dr. drg. Purwanto, M.Kes, drg Peni Pujiastuti, M.Kes, drg Rendra Chriestedy P., MD, Sc dan drg Roedy Budiraharjo, M. Kes. Sp. KGaterimakasih atas segala bimbingan dan arahan yang diberikan dalam penyusunan skripsi ini;
4. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

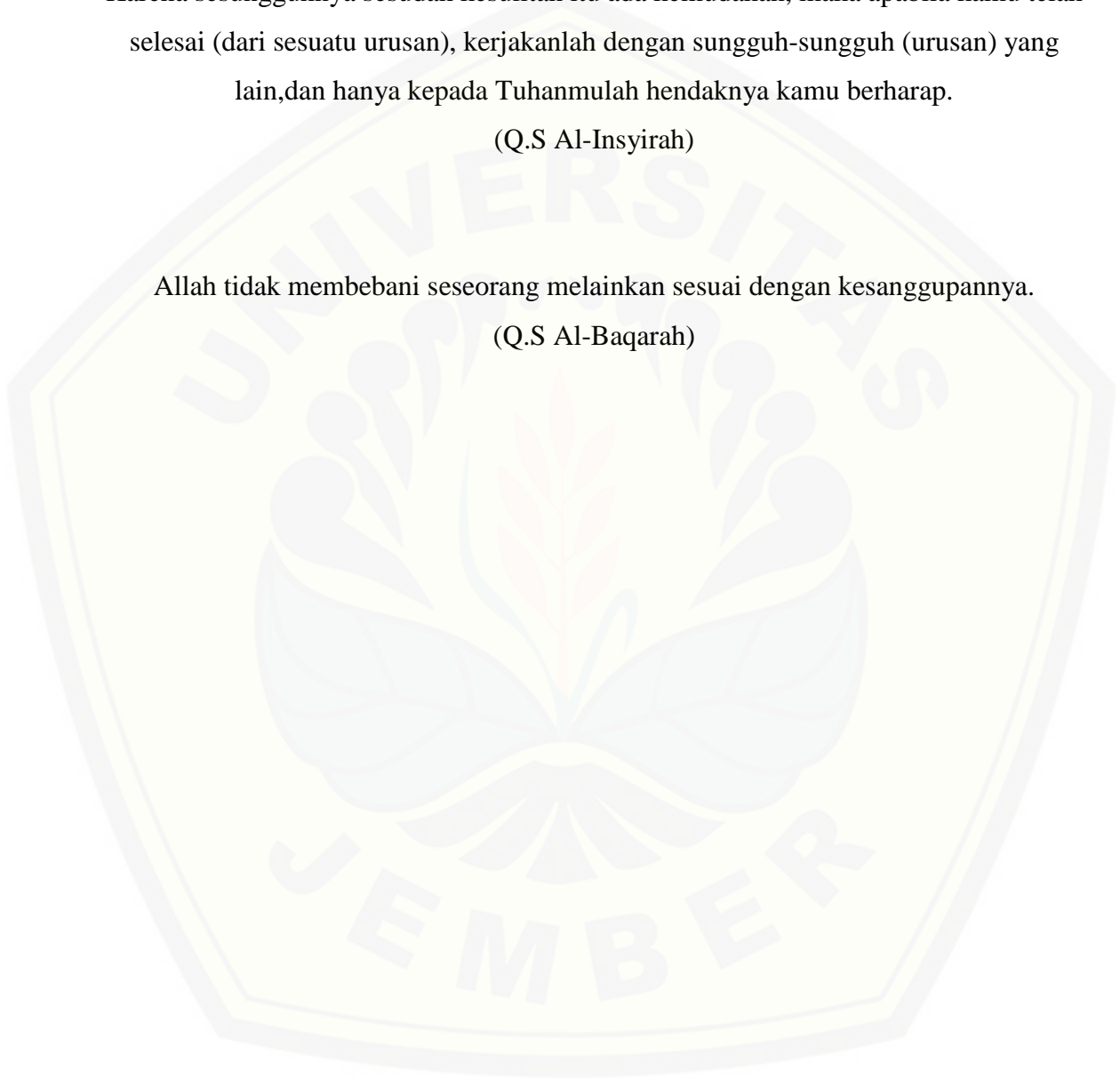
MOTTO

Karena sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan, maka apabila kamu telah selesai (dari sesuatu urusan), kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan) yang lain, dan hanya kepada Tuhanmulah hendaknya kamu berharap.

(Q.S Al-Insyirah)

Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya.

(Q.S Al-Baqarah)



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama: Rahajeng Intan Pawestri

NIM : 131610101030

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Daya Antibakteri seduhan Ekstrak Kering Beku Daun Kopi Robusta terhadap *Porphyromonas gingivalis*” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai sikap ilmiah yang dijunjung tinggi.

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

Jember, 20 April 2017

Yang menyatakan,

Rahajeng Intan Pawestri

NIM 131610101030

SKRIPSI

**DAYA ANTIBAKTERI EKSTRAK KERING BEKUDAUN KOPI ROBUSTA
(*Coffea canephora*) TERHADAP *Porphyromonas gingivalis***

Oleh :

Rahajeng Intan Pawestri

131610101030

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama

:drg. Depi Praharani, M. Kes

Dosen Pembimbing Pendamping

:Dr. drg. Purwanto, M. Kes

LEMBAR PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul “Daya Antibakteri Ekstrak Kering Beku Daun Kopi Robusta (*Coffea canephora*) terhadap *Porphyromonas gingivalis*” telah diuji dan disahkan pada :

hari, tanggal: 20 April 2017

tempat: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Penguji Ketua,

Penguji Anggota,

drg. Peni Pujiastuti M. Kes
NIP. 196705171996012001

drg. Rendra Chriestedy , MD, Sc
NIP. 198305312008011003

Pembimbing Ketua,

Pembimbing Anggota,

drg. Depi Praharani, M. Kes
NIP. 196801221997022001

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

Mengesahkan

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi

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

RINGKASAN

Daya Antibakteri Ekstrak Kering Beku Daun Kopi Robusta (*Coffea canephora*) terhadap *Porphyromonas gingivalis*; Rahajeng Intan Pawestri, 131610101030; 2017; 72 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Di masa modern saat ini penyakit gigi dan mulut masih banyak dikeluhkan oleh mayoritas masyarakat Indonesia dan 62,4% menyatakan terganggunya pekerjaan, kegiatan sekolah dan aktivitas sehari-harinya akibat penyakit gigi dan mulut. Penyakit gigi dan mulut yang banyak dikeluhkan selain karies gigi adalah penyakit periodontal. Berdasarkan Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) tahun 2013 menunjukkan bahwa prevalensi penyakit periodontal penduduk Indonesia sebesar 23,4% pada tahun 2008 dan meningkat menjadi 25,9% pada tahun 2013.

Penyebab penyakit periodontal dapat dibagi menjadi dua yaitu penyebab primer dan sekunder. Penyebab primer dari penyakit periodontal adalah plak gigi. Plak gigi merupakan deposit lunak yang melekat erat pada permukaan gigi atau permukaan keras dalam rongga mulut termasuk restorasi tetap dan lepasan. Plak gigi disusun oleh sekitar 70-80% mikroorganisme baik Gram positif maupun Gram negatif. Pada saat fase pematangan plak, komposisi bakteri Gram negatif meningkat salah satunya yaitu *P. gingivalis*. *P. gingivalis* mampu menghasilkan kolagenase, endotoksin, fibrinolisin, fosfolipase yang dapat menyebabkan terjadinya gangguan pada imunoglobulin sehingga sistem imun pada jaringan pendukung gigi juga ikut terganggu.

Plak gigi dapat dibersihkan secara mekanis maupun kimiawi. Pembersihan secara mekanis yaitu dengan menyikat gigi secara teratur merupakan cara yang paling efektif. Sedangkan pembersihan secara kimiawi yaitu dengan menggunakan obat kumur yang bersifat membantu dalam membersihkan plak. Salah satu unsur yang penting dalam obat kumur tersebut adalah bahan antibakteri. Bahan ini digunakan untuk membunuh dan menghambat pertumbuhan bakteri dalam rongga mulut.

Saat ini bahan antibakteri yang digunakan dalam obat kumur masih bersifat sintetis yang tentunya memiliki efek samping pada penggunaan jangka panjang. Oleh karena itu, para produsen obat kumur mulai menggunakan bahan alami sebagai pengganti bahan sintetis yang dipercaya tidak memiliki efek samping bagi tubuh manusia. Salah satu bahan alami yang dapat digunakan sebagai antibakteri adalah daun kopi robusta. Karena di dalam daun kopi robusta terkandung senyawa-senyawa aktif seperti alkaloid, saponin, flavonoid, polifenol dan mangiferin yang diketahui memiliki sifat antibakteri. Untuk mengoptimalkan kerja dari senyawa aktif di dalam daun kopi robusta, perlu dilakukan suatu proses ekstraksi salah satunya yaitu ekstrak kering beku. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui daya antibakteri ekstrak kering beku daun kopi robusta terhadap *P. gingivalis*.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris *in vitro* dengan *the post test only control group design*. 6 buah tabung appendorf (sesuai jumlah kelompok) berisi media BHI-B yang sudah diinokulasi bakteri *P. gingivalis* ditambahkan masing-masing sebanyak 1 ml *mlaquadest steril* untuk K- (kontrol negatif), 1 ml klorheksidin untuk K+ (kontrol positif), 1 ml ekstrak kering beku daun kopi robusta konsentrasi 100% untuk R100, 1 ml ekstrak kering beku daun kopi robusta konsentrasi 75% untuk R75, 1 ml ekstrak kering beku daun kopi robusta konsentrasi 50% untuk R50, dan 1 ml ekstrak kering beku daun kopi robusta konsentrasi 25% untuk R25. Keenam tabung diputar pada *roller* selama 2 jam. Selanjutnya pada 24 media lempeng BHI-A (sesuai jumlah pengulangan yaitu 4 kali untuk setiap kelompok) masing-masing diinokulasi dengan 100 μ l suspensi *P. gingivalis* yang telah ditambahkan bahan kontrol dan perlakuan (sesuai kelompok). Seluruh media tersebut kemudian diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C dan setelah itu dilakukan penghitungan koloni menggunakan *colony counter*.

Hasil penelitian menunjukkan data terdistribusi normal, namun tidak homogen. Uji *Kruskal-Wallis* mendapatkan hasil adanya perbedaan bermakna jumlah koloni *P. gingivalis* pada seluruh kelompok penelitian yang artinya ekstrak kering beku daun kopi robusta memiliki daya antibakteri. Sedangkan uji *Mann-Whitney* menunjukkan adanya perbedaan bermakna jumlah koloni *P. gingivalis* antar kelompok penelitian ($p < 0,05$); namun antara kelompok R25 dengan R50 tidak terdapat perbedaan bermakna ($p > 0,05$). Jumlah koloni paling sedikit terdapat pada K+ kemudian berturut-turut diikuti dengan konsentrasi 100%, 75%, 50%, 25%, dan K-, tetapi antara konsentrasi 50% dengan 25% jumlah koloninya adalah sama karena tidak terdapat perbedaan yang bermakna. Hasil tersebut menunjukkan ekstrak kering beku daun kopi robusta konsentrasi 100% mempunyai daya antibakteri yang paling besar diantara konsentrasi lainnya.

Berdasarkan hasil yang telah didapatkan, diketahui bahwa ekstrak kering beku daun kopi robusta (*Coffea canephora*) memiliki daya antibakteri terhadap pertumbuhan *P. gingivalis*. Kemampuan tersebut kemungkinan disebabkan oleh senyawa aktif yang terkandung di dalam daun kopi robusta yang memiliki sifat antibakteri seperti alkaloid, saponin, flavonoid, polifenol, dan mangiferin. Alkaloid mampu merusak komponen penyusun peptidoglikan pada dinding sel bakteri, sehingga menyebabkan kematian sel bakteri tersebut. Saponin terutama saponin tipe triterpenoid apabila dihidrolisis akan menghasilkan suatu aglikon yang disebut sapogenin. Sapogenin akan bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Apabila porin rusak, maka akan mengurangi permeabilitas membran sel bakteri sehingga bakteri akan kekurangan nutrisi dan lama kelamaan akan mati. Flavonoid dapat membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu keutuhan membran sel bakteri dan mampu mendenaturasi protein sel bakteri tanpa dapat diperbaiki lagi. Polifenol mampu merusak dan menembus dinding sel serta mengendapkan protein sel bakteri.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah diperoleh, dapat disimpulkan bahwa ekstrak kering bekudaun kopi robusta (*Coffea canephora*) mempunyai daya antibakteri terhadap *P. gingivalis* dengan konsentrasi yang paling besar daya antibakterinya adalah 100%.



PRAKATA

Segala puji bagi Allah SWT yang maha pengasih dan penyayang, bahwa atas taufiq dan hidayah-Nya maka penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi ini. Shalawat dan salam semoga tetap tercurahkan kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW sang pemberi syafa'at beserta seluruh keluarga, sahabat dan para pengikutnya. Skripsi yang berjudul “Daya Antibakteri Ekstrak Kering Beku Daun Kopi Robusta (*Coffea canephora*) terhadap *Porphyromonas gingivalis*” ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat guna memperoleh gelar Sarjana Strata Satu (S1) Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Selama proses penyusunan skripsi ini penulis menyadari bahwa penulisan ini tidak mungkin terlaksana tanpa adanya bantuan baik moral maupun spiritual dari berbagai pihak. Untuk itu penulis menyampaikan terimakasih kepada :

1. drg. R. Rahardyan Parnaadji, M. Kes., Sp. Prost, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
2. drg. Depi Praharani, M.Kes, selaku Dosen Pembimbing Utama dan Dr. drg. Purwanto, M. Kes, selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah membagikan ilmu, waktu dan pengalamannya dalam proses penyelesaian skripsi penulis;
3. drg. Peni Pujiastuti, M.Kes, selaku Dosen Penguji Ketua dan drg. Rendra Chriestedy P., MDSc, selaku Dosen Penguji Anggota yang telah bersedia menguji dan memberikan saran pada skripsi penulis;
4. drg. Roedy Budiraharjo, M.Kes, Sp.KGA, selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing penulis selama menjadi mahasiswa;
5. Ibuku tercinta Rusmiati dan Alm ayahku PE Soesanto BBA di surga, terima kasih atas segala kasih sayang, dukungan moril dan materil, nasihat, serta untaian doa yang selalumengiringi langkahku untuk mencapai keberhasilan;

6. Kakak-kakakku tersayang Imanita Dian Susanti, S. T. dan Sinta Ayu Kumala, S.E. yang senantiasa memberiku kasih sayang, saran, semangat dan senantiasa mendengarkan keluhanku serta membantu ibu dalam mendukung kelancaran kuliahku, serta keluarga besarku di Madiun yang telah memberikan segala doadan dukungannya;
7. Omku tersayang Ir. Suhardi dan Bulek Suparti yang sudah membantu secara moril maupun materil;
8. Ikfin Risenda Fadlika, S.STP atas kasih sayang, semangat dan dukungan yang terus diberikan secara tulus ikhlas;
9. Alfia Surya Rahmanda dan Rochadi Mahalalita yang sudah menjadi sahabatku sejak SMP dan selalu mendengarkan keluh kesah dan curahan hatiku selama penyusunan skripsi ini;
10. Richa Arum Widya Sakti dan Yas'a Nuuruha teman serumahku sayang yang menemani saat mengerjakan revisi dan memberi saran serta masukan;
11. Tita, Dian, Iman, Dewi, Farah, Ria, Dilla, teman-teman Tim Hore, Ciwi-Ciwi, dulur Ikapemma, KKN 095, dan teman-temanku FKG angkatan 2013 atas segala dukungan yang kalian berikan selama ini;
12. Ayung, Dessy, Hesti, Tanti, Okta rekan satu penelitian yang selalu mendukung dan saling membantu selama skripsi ini diselesaikan;
13. Pihak pengelola Laboratorium Mikrobiologi Bagian Biomedik Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Laboratorium Bioscience Rumah Sakit Gigi dan Mulut (RSGM) Universitas Jember, Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember, terima kasih atas bantuan dan kerjasamanya selama penelitian skripsi ini;
14. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis berharap semoga hasil penelitian dari skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak.

Jember, 20 April 2017

Penulis



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
PERSEMBAHAN	ii
MOTTO	iii
PERNYATAAN	iv
SKRIPSI	v
LEMBAR PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Penyakit Periodontal	5
2.2 <i>Porphyromonas gingivalis</i>	6
2.2.1 Morfologi <i>Porphyromonas gingivalis</i>	6
2.2.2 Metabolisme <i>Porphyromonas gingivalis</i>	7
2.2.3 Invasi dan Virulensi <i>Porphyromonas gingivalis</i>	7
2.3 Kopi Robusta	9
2.3.1 Ciri Fisik Kopi Robusta	9
2.3.2 Habitat Kopi Robusta (<i>Coffea canephora</i>)	11
2.3.3 Kandungan Daun Kopi Robusta (<i>Coffea canephora</i>).....	13
2.4 Klorheksidin	18
2.5 Antibakteri	19

2.6 Metode Ekstraksi	20
2.6.1 Metode Ekstrak Kering Beku	21
2.7 Kerangka Konsep	23
2.8 Hipotesis	24
BAB III. METODE PENELITIAN	25
3.1 Jenis Penelitian.....	25
3.2 Rancangan Penelitian	25
3.3 Tempat dan Waktu Penelitian.....	25
3.3.1 Waktu Penelitian.....	25
3.3.2 Tempat Penelitian	25
3.4 Variabel Penelitian	25
3.4.1. Variabel Bebas	25
3.4.2. Variabel Terikat	25
3.4.3. Variabel Terkendali	26
3.5 Definisi Operasional Penelitian	26
3.5.1 Ekstrak Kering Beku Daun Kopi Robusta	26
3.5.2 <i>Porphyromonas gingivalis</i>	26
3.5.3 Hambatan Pertumbuhan <i>P. gingivalis</i>	26
3.6 Sampel Penelitian.....	27
3.6.1 Pengelompokkan Sampel.....	27
3.6.2 Jumlah Sampel.....	27
3.7 Alat dan Bahan Penelitian	28
3.7.1 Alat Penelitian.....	28
3.7.2 Bahan Penelitian	28
3.8 Prosedur Penelitian.....	29
3.8.1 Tahap Persiapan	29
3.8.2 Tahap Uji Daya Antibakteri	34
3.8.3 Tahap Penghitungan Jumlah Koloni	34
3.9 Alur Penelitian	35
3.10 Analisis Data.....	36
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	37

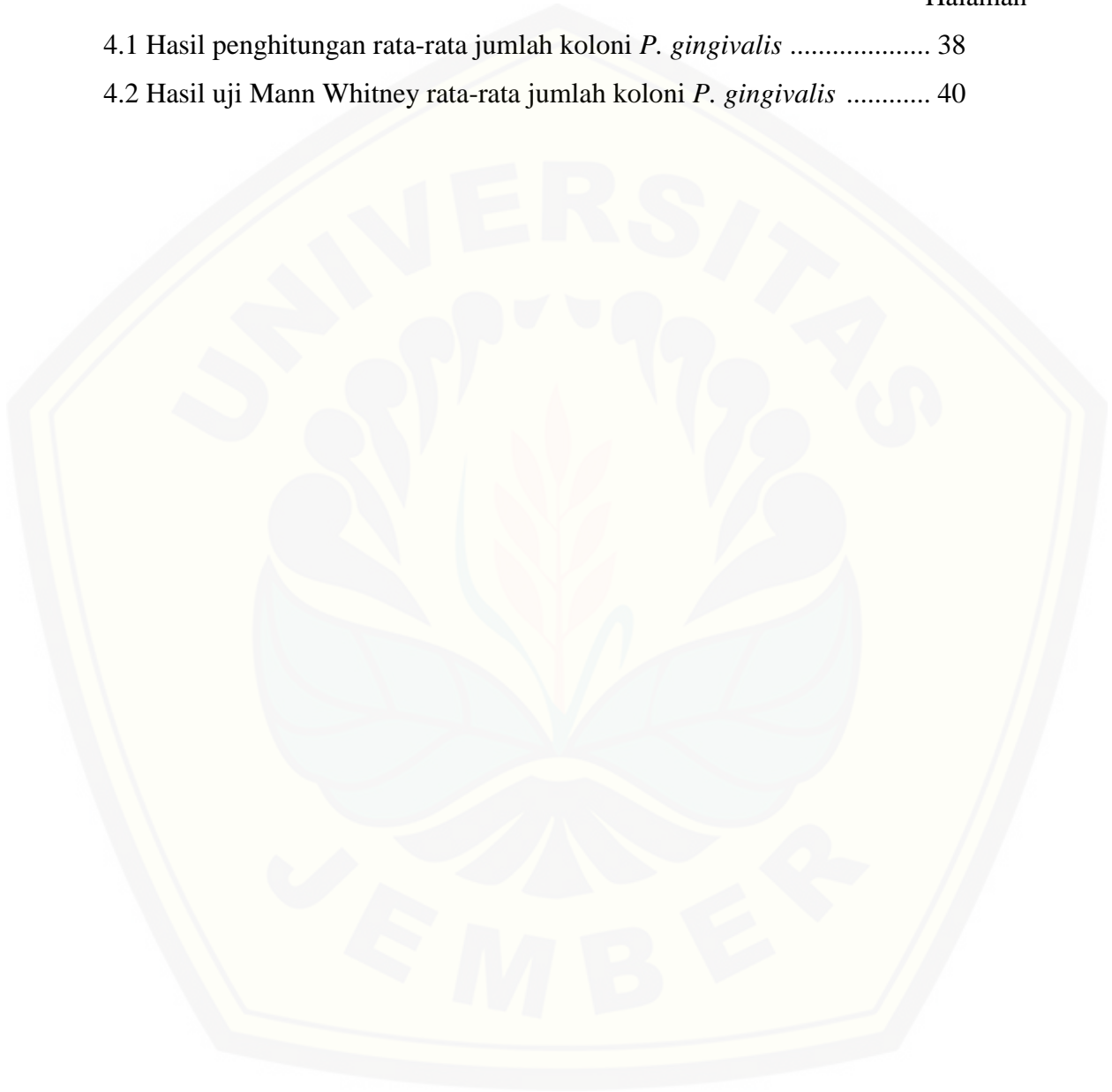
4.1 Hasil Penelitian	37
4.2 Analisis Data	39
4.2.1 Uji Normalitas dan Uji Homogenitas	39
4.2.2 Uji Statistik Non Parametrik Kruskall-Wallis dan Mann Whitney	39
4.3 Pembahasan	41
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	44
5.1 Kesimpulan	44
5.2 Saran	44
DAFTAR PUSTAKA	45
LAMPIRAN	50

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Pemeriksaan <i>P. gingivalis</i> secara mikroskopis.	6
2.2 Koloni <i>P. gingivalis</i>	7
2.3 Tanaman kopi robusta.....	10
2.4 Buah kopi robusta	11
2.5 Daun kopi robusta	11
2.6 Struktur kimia alkaloid.....	12
2.7 Struktur kimia saponin steroid dan saponin triterpenoid	14
2.8 Struktur kimia flavonoid	16
2.9 Struktur kimia polifenol	16
2.10 Struktur kimia mangiferin	18
4.1 Koloni <i>P. gingivalis</i> pada media BHI-A	37
4.2 Histogram rata-rata jumlah koloni <i>P. gingivalis</i>	38

DAFTAR TABEL

	Halaman
4.1 Hasil penghitungan rata-rata jumlah koloni <i>P. gingivalis</i>	38
4.2 Hasil uji Mann Whitney rata-rata jumlah koloni <i>P. gingivalis</i>	40



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Hasil uji identifikasi bakteri.....	50
B. Surat keterangan identifikasi daun kopi robusta	51
C. Surat keterangan ekstrak kering beku daun kopi robusta	52
D. Prosedur pembuatan ekstrak kering beku daun kopi robusta.....	53
E. Alat dan bahan penelitian.....	54
F. Foto hasil penelitian.....	59
G. Hasil penghitungan jumlah koloni	62
H. Hasil uji statistik	63

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Di masa modern saat ini penyakit gigi dan mulut masih banyak dikeluhkan oleh mayoritas masyarakat Indonesia. Menurut Kristanti dan Hapsari (2007), di antara sejumlah penduduk yang mengeluh tersebut, 62,4% menyatakan terganggunya pekerjaan, kegiatan sekolah dan aktivitas sehari-harinya akibat penyakit gigi dan mulut. Penyakit gigi dan mulut yang banyak dikeluhkan selain karies gigi adalah penyakit periodontal (Tanjaya dan Auerkari, 2011). Berdasarkan Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) tahun 2013 menunjukkan bahwa prevalensi penyakit periodontal penduduk Indonesia sebesar 23,4% pada tahun 2008 dan meningkat menjadi 25,9% pada tahun 2013 (Balitbang, 2013).

Penyakit periodontal merupakan kondisi patologis pada jaringan pendukung gigi yang meliputi gingiva, ligamen periodontal, sementum dan tulang alveolar. Tahap awal dari penyakit periodontal adalah peradangan gusi (gingivitis) dan bila berlanjut menjadi periodontitis (Wiyantini *et al.*, 2014). Penyakit tersebut dapat menyebabkan gusi berdarah, bau mulut, dan kegoyangan gigi, bahkan kehilangan gigi sehingga terjadi gangguan dalam proses mastikasi atau pengunyahan (Newman *et al.*, 2015).

Penyebab penyakit periodontal dapat dibagi menjadi dua yaitu penyebab primer dan sekunder. Penyebab primer dari penyakit periodontal adalah plak gigi (Dewi, 2010). Plak gigi merupakan deposit lunak yang melekat erat pada permukaan gigi atau permukaan keras dalam rongga mulut termasuk restorasi tetap dan lepasan. Plak gigi disusun oleh sekitar 70-80% mikroorganisme dan sisanya berupa matriks interseluler yang meliputi bahan organik dan anorganik yang berasal dari saliva, cairan krevikular gingiva, dan produk bakteri (Newman *et al.*, 2015).

Mikroorganisme yang biasanya terdapat di dalam plak gigi adalah *Actinomyces viscosus*, *Streptococcus sanguis*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*,

Porphyromonas gingivalis (*P. gingivalis*) dan beberapa bakteri lainnya. Pada saat memasuki fase pematangan plak, komposisi bakteri dalam plak berubah dengan meningkatnya jumlah bakteri Gram negatif seperti *P. gingivalis* (Newman *et al.*, 2015). *P. gingivalis* merupakan bakteri anaerob Gram negatif yang menghasilkan kolagenase, endotoksin, fibrinolisin, fosfolipase yang dapat menyebabkan terjadinya gangguan pada imunoglobulin sehingga sistem imun pada jaringan pendukung gigi juga ikut terganggu (Samaranayake, 2012).

Plak gigi dapat dibersihkan secara mekanis maupun kimiawi. Pembersihan secara mekanis yaitu dengan menyikat gigi secara teratur merupakan cara yang paling efektif. Sedangkan pembersihan secara kimiawi yaitu dengan menggunakan obat kumur bersifat membantu dalam membersihkan plak (Fauzi, 2014). Obat kumur mengandung beberapa unsur pokok diantaranya bahan antibakteri, antijamur, bahan oksigenasi, *astringent*, bahan penghilang nyeri, *buffering agent*, bahan penghilang bau, air, deterjen, bahan pemanis, penambah rasa, bahan pewarna dan bahan tambahan lain. Salah satu unsur yang penting dalam obat kumur tersebut adalah bahan antibakteri. Bahan ini digunakan untuk membunuh dan menghambat pertumbuhan bakteri dalam rongga mulut (Ardianti, 2011).

Salah satu bahan antibakteri yang sering digunakan dalam obat kumur yang ada di pasaran adalah klorheksidin (Sinaredi *et al.*, 2014). Klorheksidin merupakan antibakteri yang mempunyai efek bakterisidal dan bakteristatik terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif. Bahan antibakteri ini merupakan bahan sintetis yang tentunya dapat menimbulkan efek samping pada penggunaan jangka panjang. Efek samping yang dapat ditimbulkan seperti pewarnaan pada lidah dan gigi, reaksi alergi pada mulut dan tenggorokan, mulut kering, dan gangguan indera perasa. Oleh karena itu, para produsen obat kumur mulai menggunakan bahan alami sebagai pengganti bahan sintetis yang dipercaya tidak memiliki efek samping bagi tubuh manusia (Setiawan *et al.*, 2015).

Bahan alami merupakan bahan kimia yang berasal dari tumbuhan ataupun hewan yang dapat diperoleh tanpa proses sintesis (Dwiyanti *et al.*, 2006). Salah satu

contoh dari bahan alami adalah tanaman kopi (Suhardini dan Zubaidah, 2016). Selama ini bagian tanaman kopi yang banyak dimanfaatkan adalah biji kopi dalam bentuk bubuk yang biasanya diseduh dan digunakan sebagai minuman sehari-hari (Ciptaningsih, 2012). Sedangkan daunnya biasanya dipangkas agar tidak menyulitkan pada saat proses pemanenan. Daun kopi hasil pemangkasan terbuang begitu saja, sehingga banyak sekali limbah daun kopi yang tidak dimanfaatkan (Siringoringo *et al.*, 2012). Rahmawati (2012) menyatakan bahwa ekstrak daun kopi robusta memiliki sifat antimikroba yaitu mampu menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Selain itu daun tanaman kopi (*Coffea canephora*) mengandung alkaloida, saponin, flavonoida, polifenol dan mangiferin, yang diketahui memiliki sifat antibakteri (Suhardini dan Zubaidah, 2016).

Kandungan senyawa aktif yang terdapat dalam daun kopi robusta akan bekerja lebih optimal jika dilakukan proses ekstraksi. Salah satu metode ekstraksi yang sering digunakan adalah ekstraksi kering beku (*freeze dried extract*). Metode ini mempunyai kelebihan yaitu dapat mempertahankan kandungan senyawa aktif yang terdapat dalam daun kopi robusta selama menjalani proses ekstraksi. Selain itu warna, bentuk, dan teksturnya juga tidak gampang berubah dibandingkan dengan metode ekstraksi lain (Hariyadi, 2013).

Di Indonesia dikenal beberapa jenis tanaman kopi diantaranya kopi arabika, kopi robusta, dan kopi spesial Indonesia seperti kopi luwak dan kopi toraja. Jika dibandingkan dengan kopi lainnya, kopi robusta merupakan kopi yang paling banyak diproduksi di Indonesia. Kopi ini ternyata tahan terhadap penyakit karat daun, memerlukan syarat tumbuh dan pemeliharaan yang ringan, sehingga produksinya jauh lebih tinggi. Oleh karena itu kopi ini cepat berkembang, dan mendesak kopi-kopi lainnya. Saat ini lebih dari 90% dari areal pertanaman kopi Indonesia terdiri atas kopi robusta (Prastowo *et al.*, 2010).

Berdasarkan uraian tersebut, penulis ingin mengetahui daya antibakteri ekstrak kering beku daun kopi robusta terhadap *P. gingivalis*, yang telah diketahui bahwa bakteri ini merupakan salah satu bakteri penyebab penyakit periodontal.

1.2 Rumusan Masalah

Masalah yang dapat dirumuskan dari latar belakang tersebut adalah apakah ekstrak kering beku daun kopi robusta (*Coffea canephora*) mempunyai daya antibakteri terhadap *P. gingivalis* ?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui daya antibakteri ekstrak kering beku daun kopi robusta (*Coffea canephora*) terhadap *P. gingivalis*.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan memberikan manfaat diantaranya:

1. Dapat memberikan informasi kepada masyarakat mengenai kemampuan daun kopi robusta terutama dalam bentuk ekstrak kering beku dalam menghambat pertumbuhan bakteri *P. gingivalis*.
2. Dapat digunakan sebagai literatur bagi penelitian selanjutnya.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Penyakit Periodontal

Penyakit periodontal adalah penyakit inflamasi pada jaringan pendukung gigi akibat mikroorganisme spesifik yang menyebabkan destruksi progresif hingga mencapai ligamen periodontal dan tulang alveolar. Tahap awal dari penyakit periodontal peradangan gusi (gingivitis) dan berlanjut menjadi periodontitis. Gejala klinis yang dapat membedakan antara gingivitis dengan periodontitis adalah adanya kehilangan perlekatan yang terjadi. Kehilangan perlekatan ini biasanya diikuti dengan terbentuknya poket periodontal serta perubahan densitas dan ketinggian tulang alveolar (Newman *et al.*, 2015).

Penyebab dari penyakit periodontal adalah multifaktoral dengan keterkaitan erat antara faktor lokal yaitu bakteri plak yang merupakan penyebab primer dari inflamasi gingiva dengan faktor predisposisi lainnya. Plak gigi merupakan deposit lunak yang melekat erat pada permukaan gigi atau permukaan keras dalam rongga mulut termasuk restorasi tetap dan lepasan. Plak gigi disusun terutama oleh mikroorganisme. Satu gram plak (berat basah) mengandung kira-kira 10^{11} bakteri. Lebih dari 400 spesies bakteri teridentifikasi pada plak gigi yang terdiri dari bakteri aerob dan anaerob. Namun bakteri yang paling dominan menyebabkan penyakit periodontal adalah bakteri anaerob Gram negatif seperti *P. gingivalis*. Selain mikroorganisme, didalam plak juga terkandung matriks interseluler sebanyak 20%-30% masa plak. Matriks interseluler ini meliputi bahan organik dan anorganik yang berasal dari saliva, cairan krevikular gingiva, dan produk bakteri (Newman *et al.*, 2015).

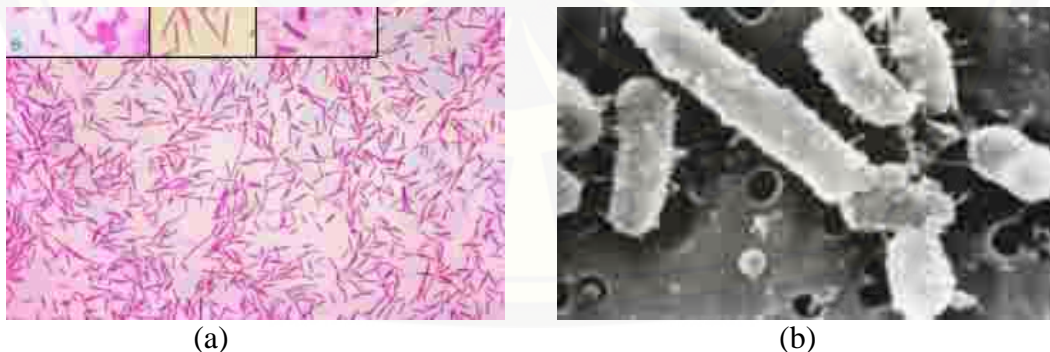
2.2 *Porphyromonas gingivalis*

Menurut Pratiwi (2012), *P. gingivalis* diklasifikasikan sebagai berikut:

- Kingdom* : Eubacteria
Superphylum : Bactroidetes / Chlorabi group
Phylum : Bacteroidetes
Class : Bacteroides
Ordo : Bacteroidales
Family : Porphyromonadaceae
Genus : Porphyromonas
Species : Porphyromonas gingivalis

2.2.1 Morfologi *Porphyromonas gingivalis*

P. gingivalis merupakan bakteri anaerob Gram negatif yang tidak berspora (*non-spore forming*) dan tak punya alat gerak (*non motile*). Bakteri ini berbentuk *coccobacilli* dengan panjang 0,5-2 μm (Gambar 2.1). Koloni bakteri ini bila terdapat pada agar darah tampak lembut, dan berkilauan (Gambar 2.2). Terkadang warna koloni berubah menjadi hitam akibat produksi yang berlebih dari protohaem (Samaranayake, 2012).



Gambar 2.1 Pemeriksaan *P. gingivalis* secara mikroskopis (a) *P. gingivalis* dilihat dengan mikroskop cahaya perbesaran 1000X; (b) *P. gingivalis* dilihat dengan mikroskop elektron perbesaran 1000X (Bramanti *et al.*, 1993).



Gambar 2.2 Koloni *P. gingivalis* pada media agar darah (Kusumawardani, 2010)

2.2.2 Metabolisme *Porphyromonas gingivalis*

P. gingivalis membutuhkan hemin, hasil akhir metabolik darah sebagai sumber zat besi, serta peptida untuk pertumbuhan. Bakteri akan mengikat hemin pada permukaan sel dan mentransportasikan seluruh molekulnya ke dalam sel dengan mekanisme yang membutuhkan suatu energi. Untuk memenuhi kebutuhan ini, bakteri menghasilkan tiga hemaglutinin yang berpartisipasi dalam interaksi perlekatan dengan *host* dan lima proteinase yang berkontribusi untuk menginaktifkan molekul efektor pada respon imun dan juga berperan dalam destruksi jaringan (Iriano, 2008). Temperatur maksimal untuk pertumbuhan *P. gingivalis* adalah 37°C. Pertumbuhan yang signifikan dapat dipengaruhi oleh adanya karbohidrat. Substrat *nitrogenous* seperti *proteose peptone*, *trypticase* dan ekstrak *yeast* dengan nyata dapat meningkatkan pertumbuhan *P. gingivalis* (Samaranayake, 2012).

2.2.3 Invasi dan Virulensi *Porphyromonas gingivalis*

P. gingivalis merusak jaringan dengan interaksi langsung antara bakteri dan sel *host*. Ketika kontak langsung dengan epitel di sulkus periodontal, *P. gingivalis* mampu menyerang berbagai jaringan *host* termasuk tulang alveolar. Faktor-faktor virulensi yang terlibat dalam kolonisasi jaringan akan dapat mengubah pertahanan jaringan *host*. Faktor-faktor tersebut seperti kolagenase, endotoksin, fibrinolisin, dan

fosfolipase. *P. gingivalis* adalah stimulator poten dari mediator inflamasi seperti Interleukin-1 (IL-1) dan Prostaglandin E2 yang akhirnya dapat menyebabkan resorpsi tulang. *P. gingivalis* dapat memetabolisme asam amino dan menghasilkan sejumlah metabolit atau produk akhir, dimana metabolit tersebut bersifat toksik terhadap jaringan gingiva pada manusia. Selain itu berpengaruh terhadap perkembangan suatu penyakit periodontal (Samaranayake, 2012).

Perlekatan *P. gingivalis* dibantu berbagai faktor virulensi yang berhubungan dengan destruksi jaringan dan mekanisme pertahanan terhadap inang, yang meliputi:

- a. *Fimbriae* sebagai perantara utama dalam perlekatan bakteri ke substrat yang tersedia, selain itu juga memiliki sifat kemotaktik dan induksi sitokin yang juga terlibat dalam patogenesis (Iriano, 2008). *Fimbriae* pada permukaan sel bakteri sering disebut sebagai hidrofobin yang bertanggung jawab terhadap interaksi bakteri dengan sel *host*. Bakteri yang mempunyai protein dengan sifat hidrofob lebih mudah difagosit oleh sel-sel polimorfonuklear leukosit (Khusnan dan Salasia, 2006).
- b. *Protease*, terutama arginin-spesifik, yang disebut *gingipain*, dapat mendegradasi molekul *host* seperti imunoglobulin, komplemen, protein sekuester hemin, hemolisin, kolagenase, dan protein jaringan ikat inang, serta berperan dalam jalur tidak langsung untuk menghancurkan dengan mendegradasi inhibitor yang dihasilkan sel *host* untuk mengatur protease sel *host* yang terlibat dalam inflamasi (Khusnan dan Salasia, 2006).
- c. Hemaglutinin akan menginisiasi kolonisasi dengan cara menjadi perantara dalam proses pengikatan bakteri dengan reseptor (biasanya oligosakarida) pada sel *host*. Bakteri ini membutuhkan hemin untuk pertumbuhan, maka ikatannya dengan eritrosit sel tubuh manusia juga memberikan fungsi nutrisi (Iriano, 2008). Hemaglutinin dan *fimbriae* mempunyai arti sebagai adhesin untuk perlekatan bakteri Gram negatif pada sel *host* (Khusnan dan Salasia, 2006).
- d. Kapsular polisakarida yang menghambat fagositosis oleh sel imun *host* serta berperan penting dalam perlekatan sel (Iriano, 2008).

2.3 Kopi Robusta (*Coffea canephora*)

Menurut Prastowo *et al.* (2010), tanaman kopi robusta diklasifikasikan sebagai berikut:

<i>Domain</i>	: <i>Eukaryota</i>
<i>Kingdom</i>	: <i>Plantae</i>
<i>Subkingdom</i>	: <i>Tracheobionta</i>
<i>Superdivisi</i>	: <i>Spermatophyta</i>
<i>Divisi</i>	: <i>Magnoliophyta</i>
<i>Kelas</i>	: <i>Magnoliopsida</i>
<i>Subkelas</i>	: <i>Astridae</i>
<i>Ordo</i>	: <i>Rubiales</i>
<i>Famili</i>	: <i>Rubiaceace</i>
<i>Genus</i>	: <i>Coffea</i>
<i>Spesies</i>	: <i>Coffea canephora</i>

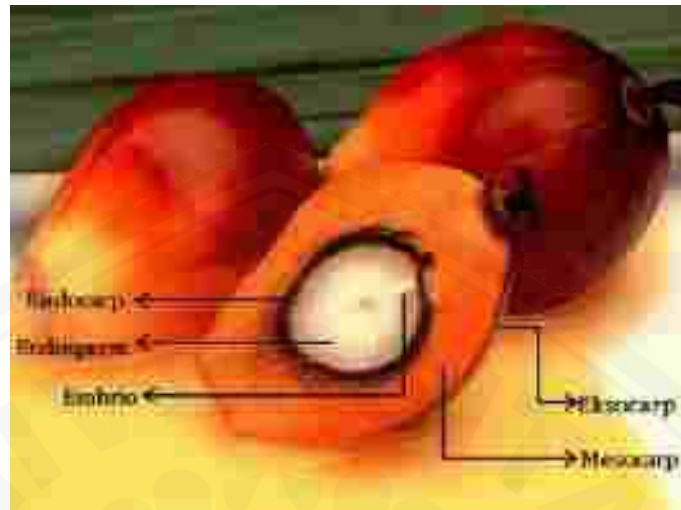
2.3.1 Ciri Fisik Kopi Robusta

Tanaman kopi memiliki akar tunggang sehingga tidak mudah roboh. Batang dan cabang kopi berkayu, tegak lurus dan beruas-ruas. Tiap ruas hampir selalu ditumbuhi kuncup. Tanaman ini mempunyai dua macam pertumbuhan cabang, yaitu cabang *Orthotrop* dan *Plagiotrop*. Cabang *Orthotrop* merupakan cabang yang tumbuh tegak seperti batang, disebut juga tunas air atau wiwilan atau cabang air. Cabang ini tidak menghasilkan bunga atau buah. Cabang *Plagiotrop* merupakan cabang yang tumbuh ke samping. Cabang ini menghasilkan bunga dan buah (Gambar 2.3) (Silviani, 2010).



Gambar 2.3 Tanaman kopi robusta (Kopidairi, 2013)

Buah kopi terdiri dari daging buah dan biji. Daging buah terdiri dari tiga bagian yaitu lapisan kulit luar (eksokarp), lapisan daging buah (mesokarp), dan lapisan kulit tanduk (endokarp) yang tipis, tetapi keras (Gambar 2.4). Buah kopi yang muda berwarna hijau, tetapi setelah tua menjadi kuning dan jika masak warnanya menjadi merah. Pada umumnya buah kopi mengandung dua butir biji, biji tersebut mempunyai dua bidang, bidang yang datar (perut) dan bidang yang cembung (punggung) (Silviani, 2010).



Gambar 2.4 Buah kopi robusta (Prastowo *et al.*, 2010)

Daun kopi berbentuk bulat, ujungnya agak meruncing sampai bulat dengan bagian pinggir yang bergelombang (Gambar 2.5). Daun tumbuh pada batang, cabang dan ranting. Daun kopi robusta ukurannya lebih besar dari arabika. Pada umumnya, tanaman kopi berbunga setelah berumur sekitar dua tahun. Bunga kopi berukuran kecil. Mahkota berwarna putih dan berbau harum. Kelopak bunga berwarna hijau. Bunga tersusun dalam kelompok, masing-masing terdiri dari 6 kuntum bunga (Silviani, 2010).



Gambar 2.5 Daun kopi robusta (Siringoringo *et al.*, 2012)

2.3.2 Habitat Kopi Robusta (*Coffea canephora*)

Pertumbuhan dan produksi tanaman kopi sangat dipengaruhi oleh keadaan iklim dan tanah, bibit unggul yang produksinya tinggi dan tahan terhadap hama dan

penyakit. Hal yang juga penting harus dipenuhi adalah pemeliharaan antara lain pemupukan, pemangkasan, pohon peneduh dan pemberantasan hama dan penyakit (Silviani, 2010).

Faktor iklim terpenting yang mempengaruhi pertumbuhan kopi adalah distribusi curah hujan. Kopi memerlukan tiga bulan kemarau berturut-turut yang kemudian diikuti curah hujan yang cukup. Masa kemarau ini diperlukan untuk pembentukan bunga dan penyerbukan. Jumlah curah hujan yang optimal bagi pertumbuhan kopi adalah 2000-3000 mm per tahun (Rahardjo, 2012).

Setiap jenis kopi menghendaki suhu atau ketinggian tempat yang berbeda. Misalnya, kopi robusta dapat tumbuh optimum pada ketinggian 400-700 m dpl dengan temperatur rata-rata tahunan 20°-24°C, tetapi beberapa diantaranya juga masih tumbuh baik dan ekonomis pada ketinggian 0-1000 m dpl (Silviani, 2010).

Tanaman kopi memerlukan penyinaran matahari yang cukup panjang, akan tetapi cahaya matahari yang terlalu tinggi juga kurang baik. Oleh karena itu dalam pengelolaannya, kebun kopi diberi pohon pelindung atau penutup dengan tujuan agar intensitas cahaya matahari tidak terlalu kuat. Sebaliknya pohon pelindung yang terlalu lebat akan mengurangi pembuahan pada kopi. Produksi kopi dengan pohon pelindung sedang, akan lebih tinggi daripada kopi tanpa pohon pelindung. Kopi termasuk tanaman hari pendek (short day plant), yaitu pembungaan terjadi pada siang hari selama kurang dari 12 jam (Rahardjo, 2012).

Menurut Silviani (2010), pohon pelindung yang sering dipergunakan di dalam perkebunan kopi ialah jenis dadap (*Eurythrina lithosperma*), sengan laut (*Albizia falcata*) dan lamtoro (*Leucaena glauca*), karena tumbuhnya cepat, bentuk dari naungannya merata, daunnya banyak, kalau dipangkas cepat tumbuh dan mudah ditanam dengan stek. Selain pohon pelindung biasanya perkebunan kopi disertai tanaman penutup tanah atau biasa disebut mulsa seperti *Centrosema*, kecipir gunung (*Psophocarpus*), semacam koro (krotok), wedusan dan sebagainya. Semua ini sangat baik sebagai mulsa. Menanam pohon kopi robusta dengan mulsa dapat meningkatkan produksi hingga 66%-213% selama tiga tahun.

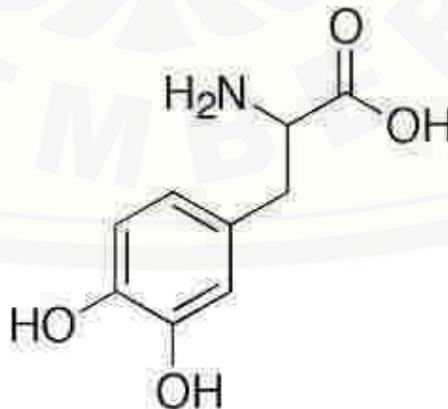
2.3.3 Kandungan Daun Kopi Robusta (*Coffea canephora*)

Daun kopi robusta memiliki kandungan senyawa aktif berupa alkaloid, saponin, flavonoid, polifenol, dan mangiferin (Agromedia, 2008).

a. Alkaloid

Alkaloid adalah senyawa organik yang terdapat di alam bersifat basa atau alkali. Sifat basa ini disebabkan karena adanya atom N dalam molekul senyawa tersebut dalam struktur lingkaran heterosiklik atau aromatis, dan dalam dosis kecil dapat memberikan efek farmakologis pada manusia dan hewan. Selain itu ada beberapa pengecualian, dimana termasuk golongan alkaloid tapi atom N terdapat di dalam rantai lurus atau alifatis (Gambar 2.6). Pada zaman dahulu, sumber utama alkaloid hanya terdapat pada tanaman berbunga saja (*Angiospermae*) tapi dalam dasawarsa terakhir ini, alkaloid juga ditemukan pada binatang baik yang terdapat di darat maupun di laut, pada serangga, tanaman rendah lainnya bahkan pada mikroorganisme (Nadjeb, 2010).

Alkaloid dibagi menjadi beberapa kelompok menurut atom N, yaitu alkaloid sebenarnya, protoalkaloid dan pseudoalkaloid. Dan berdasarkan inti penyusunnya (basa organiknya) diklasifikasikan menjadi 12 kelompok yaitu, benzena, piridina, piperidina, kuinolina, isokuinolina, fenantren, pirolidina siklo pentano perhidro fenantren, imidazol, indol, purin dan tropan (Agromedia, 2008).

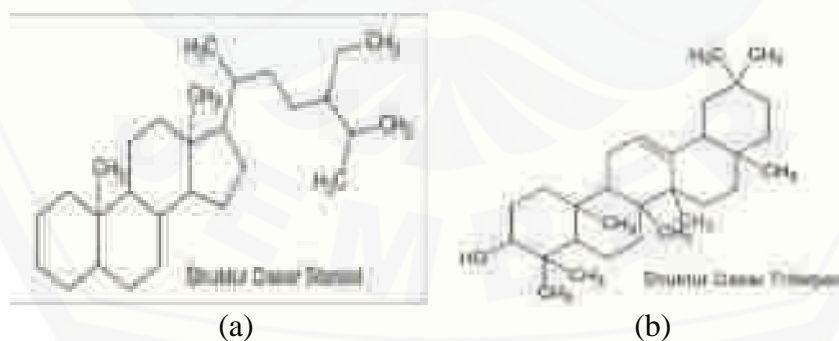


Gambar 2.6 Struktur kimia alkaloid (Mahendradatta, 2012)

Alkaloid dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Hal ini dilakukan dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada dinding sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel bakteri tidak dapat terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel bakteri tersebut (Juliantina *et al.*, 2008). Senyawa alkaloid memiliki gugus basa yang mengandung nitrogen akan bereaksi dengan senyawa asam amino yang menyusun dinding sel bakteri dan DNA bakteri. Reaksi ini mengakibatkan terjadinya perubahan struktur dan susunan asam amino, sehingga akan menimbulkan perubahan keseimbangan genetik pada rantai DNA bakteri. Bakteri akan mengalami kerusakan dan mendorong terjadinya lisis sel yang pada akhirnya menyebabkan kematian sel bakteri tersebut (Gunawan, 2009).

b. Saponin

Saponin merupakan senyawa glikosida kompleks dengan berat molekul tinggi yang dihasilkan terutama oleh tanaman. Berdasarkan struktur kimianya, saponin dikelompokkan menjadi tiga kelas utama yaitu kelas steroid, kelas steroid alkaloid, dan kelas triterpenoid (Gambar 2.7). Sifat yang khas dari saponin antara lain berasa pahit dan berbusa dalam air (Prasetyo, 2011).



Gambar 2.7 Struktur kimia (a) saponin steroid dan (b) saponin triterpenoid (Prasetyo, 2011)

Saponin kelas steroid tersusun atas inti steroid dengan molekul karbohidrat yang apabila dihidrolisis akan menghasilkan suatu aglikon yang dikenal sebagai saraponin. Sedangkan saponin triterpenoid tersusun atas inti triterpenoid dengan

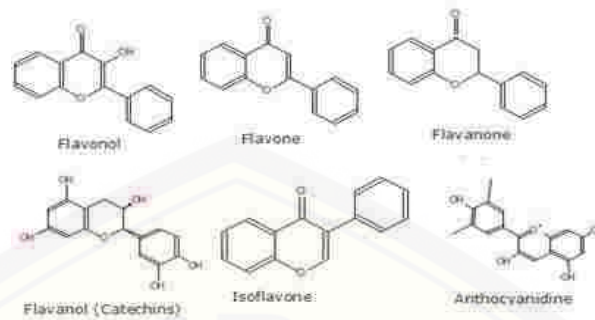
molekul karbohidrat yang apabila dihidrolisis akan menghasilkan suatu aglikon yang disebut saponin. Saponin inilah yang memiliki efek antibakteri (Prihatman, 2011).

Mekanisme saponin triterpenoid sebagai antibakteri adalah bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas membran sel bakteri yang akan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Rahmawati, 2012).

c. Flavonoid

Flavonoid secara umum dapat ditemukan pada semua jenis tumbuhan. Satu jenis tumbuhan mengandung beberapa macam flavonoid dan hampir setiap jenis tumbuhan memiliki jenis flavonoid yang khas. Inti flavonoid biasanya berikatan dengan gugusan gula sehingga membentuk glikosida yang larut dalam air. Pada tumbuhan, flavonoid biasanya disimpan dalam vakuola sel (Widarto, 2008). Flavonoid merupakan senyawa pereduksi yang baik, menghambat banyak reaksi oksidasi, baik secara enzim maupun non enzim. Flavonoid merupakan golongan terbesar senyawa fenol (Sjahid, 2008).

Secara umum flavonoid dikelompokkan menjadi flavon, flavanon, flavonol, antosianin, dan kalkon (Gambar 2.8). Beberapa jenis flavon, flavanon dan flavonol menyerap cahaya tampak, sehingga membuat bunga dan bagian tumbuhan yang lain berwarna kuning atau krem terang. Sedangkan jenis yang tidak berwarna merupakan zat penolak makan bagi serangga (contoh : katecin). Sementara itu katecin, dilaporkan merupakan glikosida flavonol yang paling efektif sebagai zat penolak makan bagi serangga (Widarto, 2008).



Gambar 2.8 Struktur kimia flavonoid (Redha, 2010)

Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu keutuhan membran sel bakteri. Mekanisme kerjanya dengan cara mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi (Juliantina *et al.*, 2008).

d. Polifenol

Polifenol adalah kelompok zat kimia yang ditemukan pada tumbuhan. Zat ini memiliki tanda khas yaitu memiliki banyak gugus fenol dalam molekulnya (Gambar 2.9). Polifenol sering terdapat dalam bentuk glikosida polar dan mudah larut dalam pelarut polar. Beberapa golongan bahan polimer penting dalam tumbuhan seperti lignin, melanin dan tanin adalah senyawa polifenol dan kadang-kadang satuan fenolitik dijumpai pada protein, alkaloid dan terpenoid (Rochani, 2009).



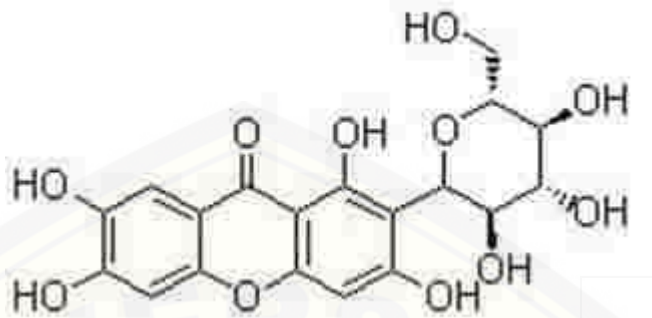
Gambar 2.9 Struktur kimia polifenol (Casey, 2006)

Senyawa polifenol sangat peka terhadap oksidasi enzim dan mungkin hilang pada proses isolasi akibat kerja enzim fenolase yang terdapat dalam tumbuhan. Ekstraksi senyawa polifenol pada tumbuhan dengan etanol mendidih biasanya mencegah terjadinya oksidasi enzim. Semua senyawa polifenol merupakan senyawa aromatik sehingga dapat menunjukkan serapan yang kuat di daerah spektrum UV. Selain itu secara khas senyawa polifenol menunjukkan geseran batokrom pada spektrumnya bila ditambahkan basa. Karena itu cara spektrometri penting terutama untuk identifikasi dan analisis kuantitatif senyawa polifenol (Rochani, 2009).

Mekanisme polifenol sebagai agen antibakteri berperan sebagai toksin dalam protoplasma, merusak dan menembus dinding sel serta mengendapkan protein sel bakteri. Senyawa fenolik bermolekul besar mampu menginaktivkan enzim esensial di dalam sel bakteri meskipun dalam konsentrasi yang sangat rendah. Polifenol dapat menyebabkan kerusakan pada sel bakteri, denaturasi protein, menginaktivkan enzim, dan menyebabkan kebocoran sel (Ngaisah, 2010).

e. Mangiferin

Menurut Retnaningtyas (2016), daun kopi mengandung senyawa mangiferin. Mangiferin memiliki nama ilmiah *C-glucoside xanthone* atau biasa ditulis *2-C- β -Dgluco-pyranosyl-1,3,6,7-tetrahydroxyxanthone*. Senyawa ini merupakan senyawa fenolik yang terbentuk melalui jalur yang ketat (Gambar 2.10). Mangiferin memiliki sifat anti-inflamasi seperti perlindungan terhadap neuron otak. Bahkan pada beberapa penelitian menyebutkan bahwa mangiferin dapat menurunkan risiko diabetes dan kolesterol atau untuk menurunkan hipertensi atau tekanan darah tinggi.



Gambar 2.10 Struktur kimia mangiferin (Masibo dan Qian, 2008)

Selain bersifat sebagai anti-inflamasi, mangiferin juga bersifat antibakteri. Mangiferin mempunyai efek antibakteri terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif. Bakteri Gram positif yang paling sensitif terhadap mangiferin yaitu *Bacillus pumillus* sedangkan bakteri Gram negatif adalah *Salmonella agona* (Masibo dan Qian, 2008).

2.4 Klorheksidin

Klorheksidin merupakan obat kumur yang mampu mengurangi pembentukan plak, menghambat pertumbuhan plak dan mencegah terjadinya penyakit periodontal. Hal ini dikarenakan sifat dari Klorheksidin sendiri, yaitu bakterisid dan bakteriostatik terhadap berbagai macam bakteri, baik Gram positif maupun Gram negatif. Klorheksidin bekerja dengan adanya ikatan atau interaksi antara muatan positif Klorheksidin dengan muatan negatif partikel fosfat dinding bakteri. Klorheksidin akan menyebabkan perubahan pada permeabilitas membran sel. Sehingga, menyebabkan keluarnya sitoplasma sel dan komponen sel dengan berat molekul rendah dari dalam sel menembus membran sel. Keadaan tersebut akhirnya menyebabkan kematian bakteri (Sinaredi *et al.*, 2014).

Pada penggunaan jangka panjang didapat efek samping seperti warna coklat gigi, rasa kurang enak, ulserasi mukosa mulut, sensasi terbakar, pembengkakan parotis yang unilateral atau bilateral, dan peningkatan pembentukan kalkulus supra gingival

(Flotra *et al.*, 1971). Hal ini memungkinkan bahan kimia sintetik seperti klorheksidin memiliki resiko efek samping lebih tinggi dibandingkan bahan antibakteri alami.

2.5 Antibakteri

Antibakteri adalah obat atau senyawa kimia yang digunakan untuk membasmi bakteri, khususnya bakteri yang bersifat merugikan manusia. Zat antibakteri dapat bersifat bakterisidal (membunuh bakteri) dan bakteriostatik (menghambat pertumbuhan bakteri). Kemampuan suatu zat antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh berbagai faktor, diantaranya: 1) konsentrasi zat antimikroba, 2) jenis, jumlah, umur, dan keadaan mikroba, 3) suhu, 4) waktu, dan 5) sifat-sifat kimia dan fisik makanan termasuk kadar air, pH, jenis dan jumlah komponen didalamnya (Agustrina, 2011).

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antibakteri dibedakan menjadi 4, yaitu:

1. Antibakteri yang menghambat pertumbuhan dinding sel

Mekanisme ini menyerang pada dinding sel bakteri. Dinding sel mengandung polimer kompleks peptidoglikan yang khas secara kimiawi, terdiri dari polisakarida dan polipeptida. Polisakarida tersebut biasanya mengandung gula amino *N-asetilglukosamin* dan asam *asetilmuramat*.

2. Antibakteri yang mengakibatkan perubahan permeabilitas membran sel

Sitoplasma sel hidup diikat oleh membran sitoplasma yang bekerja sebagai barier permeabilitas selektif, berfungsi sebagai transpor aktif sehingga mengontrol komposisi internal sel. Jika terdapat gangguan fungsional pada membran sitoplasma, maka makromolekul dan ion dapat keluar dari sel sehingga menyebabkan kerusakan atau kematian sel.

3. Antibakteri yang menghambat sintesis protein

Bakteri memiliki ribosom 70S sedangkan mamalia memiliki ribosom 80S. Submit setiap tipe ribosom, komposisi kimia, dan spesifitas fungsionalnya cukup berbeda untuk menjelaskan mengapa obat antibiotik dapat menghambat sintesis protein pada ribosom bakteri tanpa berpengaruh besar pada ribosom mamalia.

4. Antibakteri yang menghambat sintesis asam nukleat sel

Mekanisme ini bekerja dengan cara menghambat sintesis RNA atau DNA dari bakteri. Terdapat obat yang berikatan pada RNA *polimerase*, juga ada yang menghambat DNA-*girase* (Brooks *et al.*, 2007).

2.6 Metode Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan substansi dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Berdasarkan bentuk campuran yang diekstraksi, dapat dibedakan dua macam ekstraksi yaitu :

1. Ekstraksi padat-cair jika substansi yang diekstraksi terdapat di dalam campurannya yang berbentuk padat. Proses ini paling banyak ditemui di dalam usaha untuk mengisolasi suatu substansi yang terkandung di dalam suatu bahan alam.
2. Ekstraksi cair-cair jika substansi yang diekstraksi terdapat di dalam campurannya yang berbentuk cair.

Dalam proses ekstraksi padat-cair diperlukan kontak yang sangat lama antara pelarut dan padatan. Seperti sudah dinyatakan di atas bahwa proses ini paling banyak ditemui di dalam usaha untuk mengisolasi suatu substansi yang terkandung di dalam suatu bahan alam, sehingga yang berperan penting dalam menentukan sempurnanya proses ekstraksi ini adalah sifat-sifat bahan alam tersebut dan juga bahan yang akan diekstraksi. Ekstraksi padat cair dapat dibedakan menjadi beberapa macam yaitu:

1. Maserasi : metode ekstraksi yang dilakukan dengan jalan membiarkan padatan terendam dalam suatu pelarut. Proses perendaman dalam usaha mengekstraksi suatu substansi dari bahan alam ini bisa dilakukan tanpa pemanasan (pada temperatur kamar), dengan pemanasan atau bahkan pada suhu pendidihan.
2. Perkolasi : metode yang dilakukan dengan jalan melewatkan pelarut secara perlahan-lahan sehingga pelarut tersebut bisa menembus sampel bahan yang biasanya ditampung dalam suatu bahan kertas yang agak tebal dan berpori dan berbentuk seperti kantong atau sampel ditampung dalam kantong yang terbuat dari kertas saring.

3. Ekstrak kering beku : ekstrak kering beku merupakan salah satu metode ekstraksi yang sering digunakan untuk membebaskan senyawa aktif yang termolabil di dalam air. Metode ini khususnya digunakan untuk mengeringkan antibiotika, vitamin-vitamin, serum, plasma darah, dan bahan-bahan aktif dari tumbuhan (Voight, 1995).

2.6.1 Metode Ekstrak Kering Beku (*Freeze Dried Extract*)

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 (Heriana, 2009).

Tahap pengeringan beku terdiri dari proses pembekuan dan pengeringan sebagai berikut (Heriana *et al.*, 2009).

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 . Pada suhu ini, produk akan membeku dengan cepat dan akan dihasilkan produk beku yang tidak merusak tekstur.

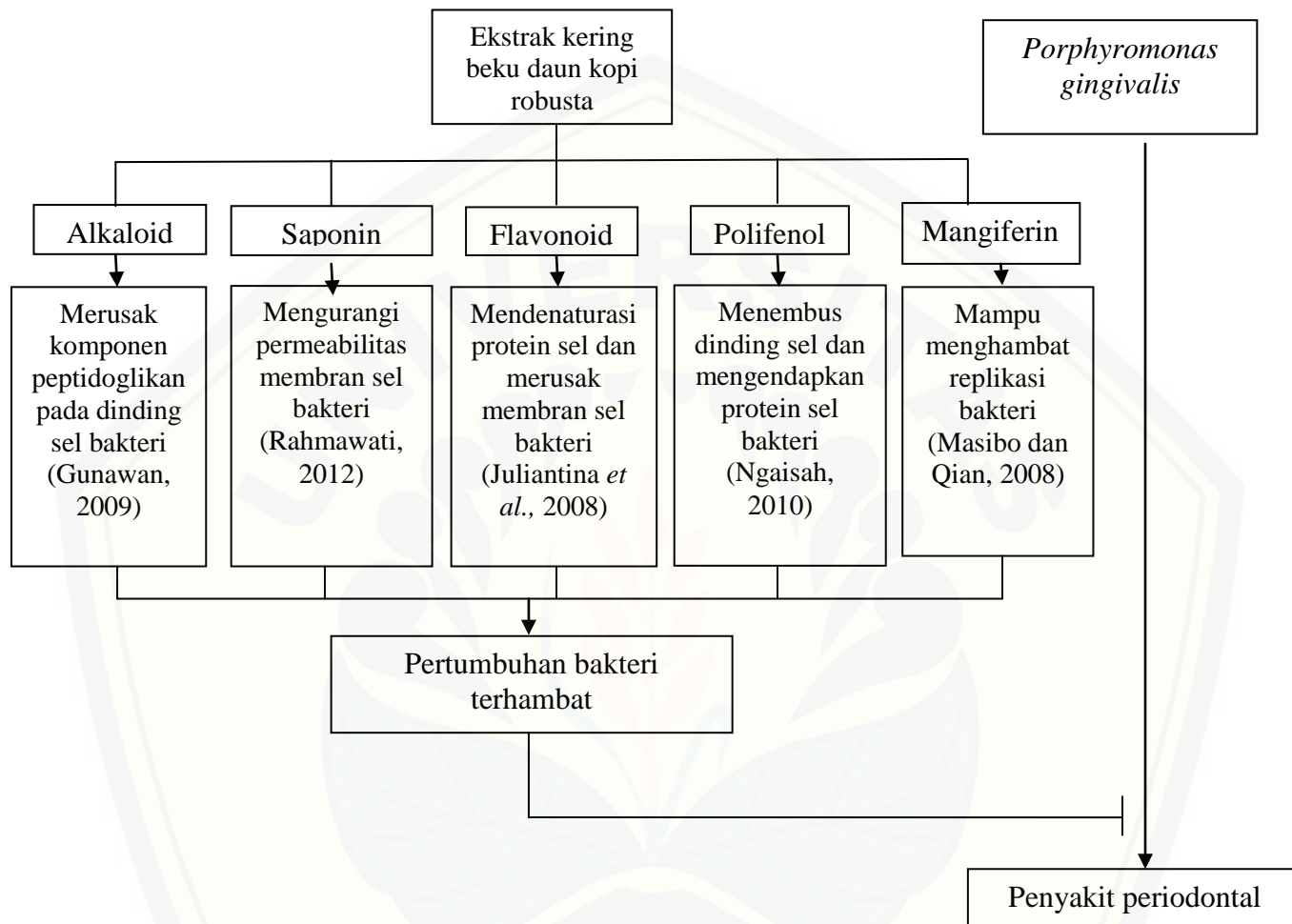
b. Pengeringan

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.



2.7 Kerangka Konsep



Keterangan:



: Menyebabkan



: Menghambat

2.8 Hipotesis

Berdasarkan uraian diatas maka hipotesis dari penelitian ini adalah ekstrak kering beku daun kopi robusta mempunyai daya antibakteri, yaitu dapat menghambat pertumbuhan *P. gingivalis*.





BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah eksperimental laboratoris *in vitro* (Notoatmojo, 2010).

3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini adalah *the post test only control group design* yaitu suatu metode dengan cara melakukan pengamatan atau pengukuran setelah perlakuan dan hasilnya dibandingkan dengan kontrol (Notoatmodjo, 2010).

3.3 Tempat dan Waktu Penelitian

3.3.1 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari-Februari 2017.

3.3.2 Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium *Bioscience* Rumah Sakit Gigi dan Mulut (RSGM) Universitas Jember untuk uji daya antibakteri dan di Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember untuk pembuatan ekstrak kering beku daun kopi robusta.

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini yaitu ekstrak kering beku daun kopi robusta (*Coffea canephora*) dengan konsentrasi 100%, 75%, 50%, 25%.

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah hambatan pertumbuhan *P. gingivalis*.

3.4.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah suspensi *P. gingivalis* (McFarland 0,5), media pembiakan bakteri (*Brain Heart Infusion*/BHI), suhu inkubasi (37°C), lama inkubasi (24 jam), metode ekstraksi daun kopi robusta (ekstrak kering beku), metode inokulasi bakteri (metode *streaked*), dan kriteria daun kopi robusta (berusia sekitar 1 bulan, berwarna hijau tua, panjang rata-rata 10-20 cm, dan dipetik pada pagi hari menggunakan gunting steril).

3.5 Definisi Operasional Penelitian

3.5.1 Ekstrak kering beku daun kopi robusta

Ekstrak kering beku daun kopi robusta adalah ekstrak kering daun kopi robusta 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.

3.5.2 *Porphyromonas gingivalis*

P. gingivalis merupakan bakteri anaerob Gram negatif, berbentuk batang (*bacillus*), tidak berspora (*non spora forming*), dan tidak punya alat gerak (*non motile*). Koloni bakteri tumbuh pada media *Brain Heart Infusion Agar* (BHI-A) tampak lembut, berkilauan, dan terlihat cembung serta 1-2 mm di dalam garis tengah dan menggelap dari tepi ke pusat koloni.

3.5.3 Hambatan Pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*

Hambatan pertumbuhan *P. gingivalis* adalah terhambatnya pertumbuhan *P. gingivalis* yang diketahui dengan menghitung jumlah koloni *P. gingivalis* pada media BHI-A menggunakan *colony counter*.

3.6 Sampel Penelitian

Sampel penelitian adalah media BHI-B yang sudah diinokulasi bakteri *P. gingivalis*.

3.6.1 Pengelompokan Sampel

Sampel dibagi menjadi 6 kelompok yaitu :

- a. Kontrol negatif (K-) : suspensi *P. gingivalis* dan *aquadest steril*
- b. Kontrol positif (K+) : suspensi *P. gingivalis* dan obat kumur klorheksidin
- c. Kelompok R100 : suspensi *P. gingivalis* dan ekstrak kering beku daun kopi robusta konsentrasi 100%
- d. Kelompok R75 : suspensi *P. gingivalis* dan ekstrak kering beku daun kopi robusta konsentrasi 75%
- e. Kelompok R50 : suspensi *P. gingivalis* dan ekstrak kering beku daun kopi robusta konsentrasi 50%
- f. Kelompok R25 : suspensi *P. gingivalis* dan ekstrak kering beku daun kopi robusta konsentrasi 25%

3.6.2 Jumlah Sampel

Jumlah sampel yang digunakan pada penelitian ini dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut (Budiarto, 2002).

$$n = \frac{z^2 \cdot \delta^2}{d^2}$$

Keterangan :

- n : besar sampel minimal
z : konstanta pada tingkat kesalahan tertentu, jika $\alpha = 0.05$ maka $z = 1,96$
d : konstanta yang masih dapat ditoleransi, diasumsikan $d = \delta$
 δ^2 : standar deviasi sampel

Maka perhitungan jumlah sampel adalah sebagai berikut :

$$n = \frac{(1,96)^2 \delta^2}{\delta^2}$$

$$n = (1,96)^2$$

$$n = 3,84 \approx 4$$

Berdasarkan rumus di atas, jumlah sampel minimum yang digunakan untuk setiap kelompok adalah 4 atau dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali. Sehingga jumlah sampel keseluruhan dari 6 kelompok penelitian adalah 24 sampel.

3.7 Alat dan Bahan Penelitian

3.7.1 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *petridish* (cawan petri) diameter 100 x 200 mm (Phyrex, *Japan*); tabung Erlenmeyer ukuran 100 ml dan 500 ml (Phyrex, *Japan*); tabung reaksi (Phyrex, *Japan*); rak tabung reaksi; timbangan digital (Boeco, *Germany*); *magnetic stirrer and road with hotplate* (Labtech, *Korea*); ose; *incubator* (Binder, *USA*); gelas ukur kaca ukuran 100ml, 500ml (Phyrex, *Japan*); bunsen (Phyrex, *Japan*); spektrofotometer (DensiCHECK, *Germany*); *vortex* (Labinco, *USA*); *laminar flow cabinet* (Dwyer Markzz, *Human Lab*); oven (Memmert, *Germany*); spatula kaca; *spreader*; *autoclave* (Memmert, *Germany*); mikropipet (Eppendorf, *Italy*); kertas label; spidol; mikrofilter ukuran 20 mm; *colony counter*; *object glass*; *deck glass*; korek api; pinset; *aluminium foil*; gunting; *blue tip*; *yellow tip*; *beaker glass*; *cotton bud*; corong kaca; *centrifuge* (Humax, *USA*); *waterbath*; tabung eppendorf; *roller*; mikroskop cahaya; *desicator* (Kortelli, *Italy*).

3.7.2 Bahan Penelitian

Bahan bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu ekstrak kering beku daun kopi robusta (*Coffea canephora*) yang dibuat di Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember Jawa Timur, obat kumur klorheksidin glukonat 0,2% (Minosep), *aquadest steril*, *Brain Heart Infusion Broth/BHI-B* (Merck, *Germany*),

Brain Heart Infusion Agar/BHI-A (Merck, Germany), *P. gingivalis* ATCC 33277 (Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada Yogyakarta), tisu, alkohol.

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1 Tahap Persiapan

Semua tindakan dilakukan di dalam *laminar flow cabinet* untuk menghindari terjadinya kontaminasi dari lingkungan luar.

a. Identifikasi *P. gingivalis*

Proses identifikasi *P. gingivalis* dilakukan dengan metode pewarnaan Gram di Laboratorium Mikrobiologi Bagian Biomedik Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Kabupaten Jember, Jawa Timur (Lampiran A).

b. Identifikasi daun kopi robusta

Daun kopi robusta yang akan digunakan dilakukan identifikasi terlebih dahulu. Proses identifikasi dilakukan di Laboratorium Botani Jurusan Produksi Pertanian Politeknik Negeri Jember, Kabupaten Jember, Jawa Timur (Lampiran B).

c. Sterilisasi alat

Semua peralatan yang terbuat dari kaca dibersihkan terlebih dahulu dan disterilkan menggunakan *oven* pada suhu 160°C selama 1 jam, alat yang terbuat dari plastik dicuci sampai bersih kemudian dikeringkan dan disterilkan menggunakan alkohol 70%.

d. Pembuatan ekstrak kering beku daun kopi robusta

Pembuatan ekstrak kering beku daun kopi robusta dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember (Lampiran D).

e. Membuat pengenceran seduhan dari ekstrak kering beku daun kopi robusta

Pengenceran dilakukan dengan menggunakan aquadest steril untuk mendapatkan konsentrasi 75%, 50%, dan 25% dari seduhan ekstrak kering beku daun kopi robusta konsentrasi 100%. Pengenceran ini dilakukan menggunakan *micropipet*

dan hasil pengenceran tersebut dimasukkan pada tabung eppendorf. Rumus pengenceran yang digunakan untuk mengencerkan seduhan dari ekstrak kering beku daun kopi robusta adalah (Chang *et al.*, 2010):

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

Keterangan:

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

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

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

M_2 :Konsentrasi awal (konsentrasi larutan seduhan ekstrak kering beku daun kopi robusta yang akan dibuat)

Cara pengencerannya yaitu:

1) Untuk memperoleh ekstrak kering beku daun kopi robusta dengan konsentrasi 75% sebanyak 1000 μ l:

$$100\% \times V_1 = 75\% \times 1000 \mu\text{l}$$

$$V_1 = \frac{75\% \times 1000 \mu\text{l}}{100\%}$$

$$V_1 = 750 \mu\text{l}$$

Volume pelarut yang ditambahkan adalah:

$$\begin{aligned} V_2 - V_1 &= 1000 \mu\text{l} - 750 \mu\text{l} \\ &= 250 \mu\text{l} \text{ aquadest} \end{aligned}$$

Jadi, untuk mendapatkan ekstrak kering beku daun kopi robusta konsentrasi 75% diperoleh dengan cara menambahkan larutan *aquadest* sebanyak 250 μ l ke dalam 750 μ l ekstrak kering beku daun kopi robusta konsentrasi 100%.

- 2) Untuk memperoleh ekstrak kering beku daun kopi robusta dengan konsentrasi 50% sebanyak 1000 μl :

$$100\% \times V_1 = 50\% \times 1000 \mu\text{l}$$

$$V_1 = \frac{50\% \times 1000 \mu\text{l}}{100\%}$$

$$V_1 = 500 \mu\text{l}$$

Volume pelarut yang ditambahkan adalah:

$$V_2 - V_1 = 1000 \mu\text{l} - 500 \mu\text{l}$$

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

Jadi, untuk mendapatkan ekstrak kering beku daun kopi robusta konsentrasi 50% diperoleh dengan cara menambahkan larutan *aquadest* sebanyak 500 μl ke dalam 500 μl ekstrak kering beku daun kopi robusta konsentrasi 100%.

- 3) Untuk memperoleh ekstrak kering beku daun kopi robusta dengan konsentrasi 25% sebanyak 1000 μl :

$$100\% \times V_1 = 25\% \times 1000 \mu\text{l}$$

$$V_1 = \frac{25\% \times 1000 \mu\text{l}}{100\%}$$

$$V_1 = 250 \mu\text{l}$$

Volume pelarut yang ditambahkan adalah:

$$V_2 - V_1 = 1000 \mu\text{l} - 250 \mu\text{l}$$

$$= 750 \mu\text{l aquadest}$$

Jadi, untuk mendapatkan ekstrak kering beku daun kopi robusta konsentrasi 25% diperoleh dengan cara menambahkan larutan *aquadest* sebanyak 750 μl ke dalam 250 μl ekstrak kering beku daun kopi robusta konsentrasi 100%

f. Pembuatan media pertumbuhan *P. gingivalis*

- 1) Persiapan media *Brain Heart Infusion Broth* (BHI-B)

Media BHI-B dibuat dengan cara mencampurkan 3,7 gram BHI-B dengan 100ml *aquadest* steril. Kemudian tambahkan vit K sebanyak 1 μl , hemin

sebanyak 5 μ l dan ekstrak *yeast* sebanyak 50 μ l. Media diaduk dan dipanaskan di atas kompor listrik sampai homogen (Neogen, 2010). Campuran tersebut kemudian disterilkan di dalam *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121°C. Media BHI-B diuji sterilitasnya dengan dimasukkan dalam inkubator selama 24 jam. Media BHI-B yang steril akan tetap berwarna jernih setelah diinkubasi.

2) Pembuatan media *Brain Heart Infusion Agar* (BHI-A)

Media BHI-A dibuat dengan mencampur 5,2 gram BHI-A dan 100 ml aquadest steril. Kemudian tambahkan vit K 10 μ l, hemin 50 μ l dan ekstrak *yeast* 500 μ l, diaduk sampai homogen kemudian dipanaskan di atas kompor listrik. Campuran tersebut kemudian disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Media BHI-A diuji sterilitasnya dengan dimasukkan dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam. Media BHI-A yang steril akan tetap berwarna jernih setelah diinkubasi.

g. Pembuatan suspensi *P. gingivalis*

Cara membuat suspensi *P. gingivalis* adalah dengan mencampur 2 ml larutan BHI-B steril dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan 1 ose *P. gingivalis*. Perlakuan ini dilakukan dengan melewatkannya di atas lampu spiritus yang sedang menyala. Dihomogenkan diatas *centrifuge*. Kemudian tabung reaksi tersebut dimasukan ke dalam *desicator* dan diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam dengan suhu 37°C. Pertumbuhan *P. gingivalis* ditandai dengan adanya kekeruhan pada media. Setelah 24 jam suspensi *P. gingivalis* tersebut dikocok menggunakan *thermolyne*. Setelah itu dilakukan pengukuran absorbansinya dengan standar *Mc Farland* 0,5 dengan absorbansi 0,05 dan panjang gelombang 560 nm dengan menggunakan *spektrofotometer*.

h. Pengenceran suspensi *P. gingivalis*

Suspensi bakteri *P. gingivalis* terlebih dahulu dilakukan pengenceran. Hal ini dikarenakan pada konsentrasi 0,5 *Mc Farland*, jumlah koloni dari bakteri ini masih terlalu rapat dan banyak. Sehingga untuk memudahkan dalam penghitungan

koloni, suspensi bakteri diencerkan terlebih dahulu. Pengenceran dilakukan dengan menggunakan metode *serial dilution*. Siapkan 4 buah tabung eppendorf yang masing-masing tabung telah diisi *aquadest steril* sebanyak 1 ml. Buang masing-masing sebanyak 100 μ l *aquadest steril* dari keempat tabung. Kemudian dari 1 ml suspensi *P. gingivalis* 0,5 Mc Farland, diambil 100 μ l kemudian dicampurkan pada tabung 1 dan dihomogenkan menggunakan vibrator sehingga didapatkan pengenceran 10^{-1} . Selanjutnya ambil 100 μ l dari tabung 1 kemudian dicampurkan pada tabung 2 dan dihomogenkan diatas vibrator sehingga didapatkan pengenceran 10^{-2} . Ambil 100 μ l dari tabung 2 kemudian dicampurkan pada tabung 3 dan dihomogenkan menggunakan vibrator sehingga didapatkan pengenceran 10^{-3} . Kemudian ambil 100 μ l dari tabung reaksi 3 dan campurkan ke dalam tabung 4 lalu homogenkan diatas vibrator sehingga didapatkan pengenceran 10^{-4} . Suspensi bakteri dari keempat tabung masing-masing dibiakkan di media agar dalam *petridish* kemudian didapatkan konsentrasi pengenceran 10^{-4} yang menghasilkan jumlah koloni yang sesuai dengan kriteria.

i. Pemberian label pada *petridish*

Petridish diberikan label menggunakan kertas label. Label R100 untuk ekstrak kering beku daun kopi robusta 100%, label R75 untuk ekstrak kering beku daun kopi robusta 75%, label R50 untuk ekstrak kering beku daun kopi robusta 50%, label R25 untuk ekstrak kering beku daun kopi robusta 25%, label K- untuk kontrol negatif berupa *aquadest steril* dan label K+ untuk kontrol positif berupa obat kumur klorheksidin.

j. Pembuatan media lempeng BHI-A pada *petridish*

Media BHI-A yang masih cair, dituangkan ke dalam 24 *petridish* (sesuai jumlah pengulangan) masing-masing sebanyak 30 ml dengan ketebalan 5 mm. Biarkan hingga sediaan menjadi padat (media lempeng), kurang lebih 15 menit.

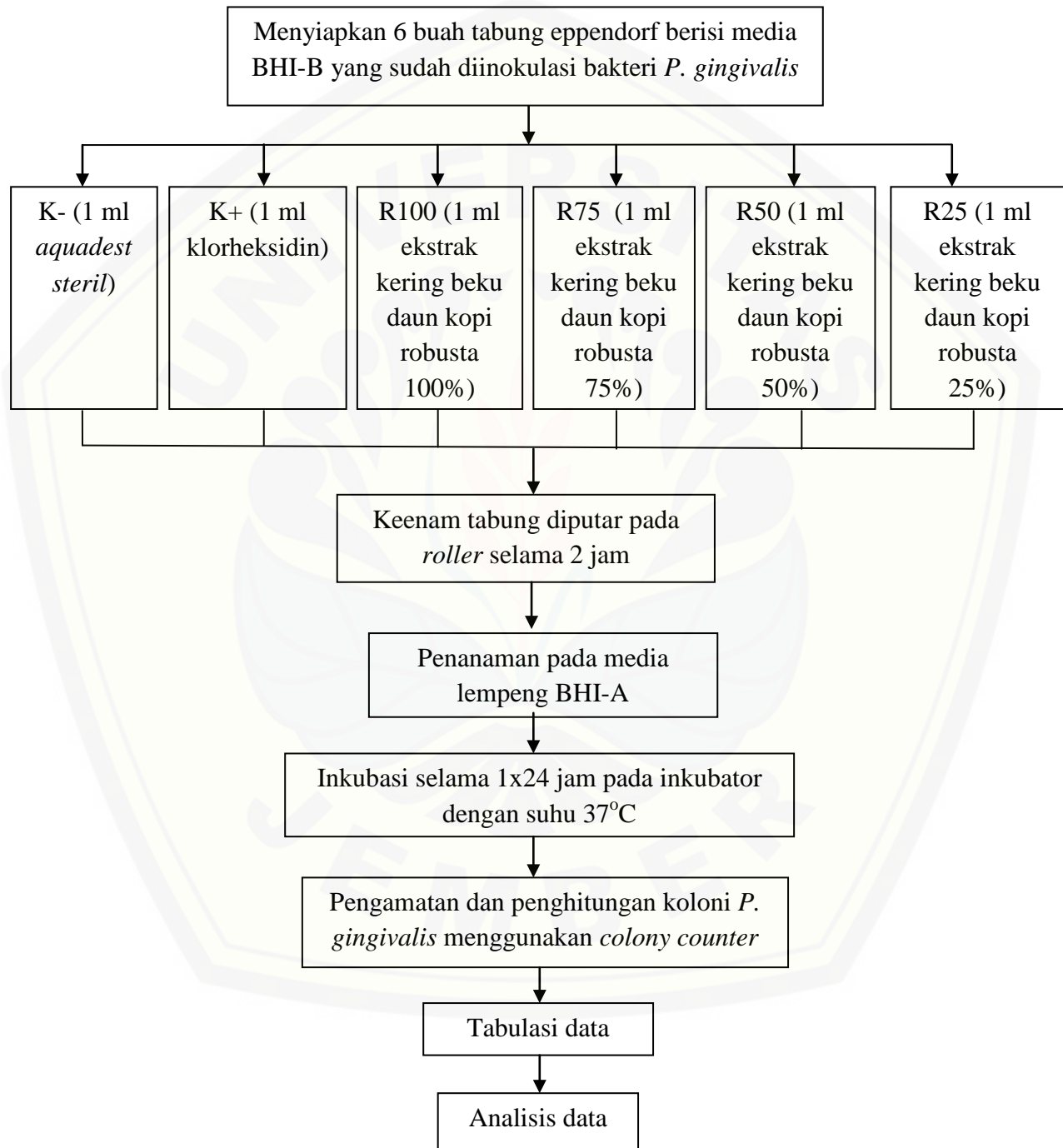
3.8.2 Tahap Uji Daya Antibakteri

- a. Tabung appendorf nomor 1 diberi bahan uji ekstrak kering beku daun kopi robusta dengan konsentrasi 100% sebanyak 1 ml, tabung appendorf nomor 2 diberi bahan uji ekstrak kering beku daun kopi robusta dengan konsentrasi 75% sebanyak 1 ml, tabung appendorf nomor 3 diberi bahan uji ekstrak kering beku daun kopi robusta dengan konsentrasi 50% sebanyak 1 ml, tabung appendorf nomor 4 diberi bahan uji ekstrak kering beku daun kopi robusta dengan konsentrasi 25% sebanyak 1 ml.
- b. Tabung appendorf 1-4 selanjutnya ditambahkan suspensi *P. gingivalis*.
- c. Tabung appendorf nomor 5 diberi suspensi *P. gingivalis* dan 1 ml *aquadest steril* sebagai kontrol negatif. Tabung appendorf nomor 6 diberi suspensi *P. gingivalis* dan 1 ml obat kumur klorheksidin sebagai kontrol positif. Seluruh tabung dihomogenkan dengan alat *vortex* dan diputar pada *roller* selama 2 jam.
- d. Selanjutnya pada 24 media lempeng BHI-A (sesuai jumlah pengulangan 4 kali untuk setiap kelompok) masing-masing diberi 100 µl suspensi *P. gingivalis* yang telah diberi bahan kontrol dan perlakuan (sesuai kelompok). Larutan digoreskan pada media lempeng BHI-A secara merata dengan menggunakan *cotton bud*.
- e. Selanjutnya seluruh media tersebut diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C dalam posisi terbalik untuk mencegah jatuhnya uap air ke media sehingga tidak mengganggu pertumbuhan bakteri

3.8.3 Tahap Penghitungan Jumlah Koloni

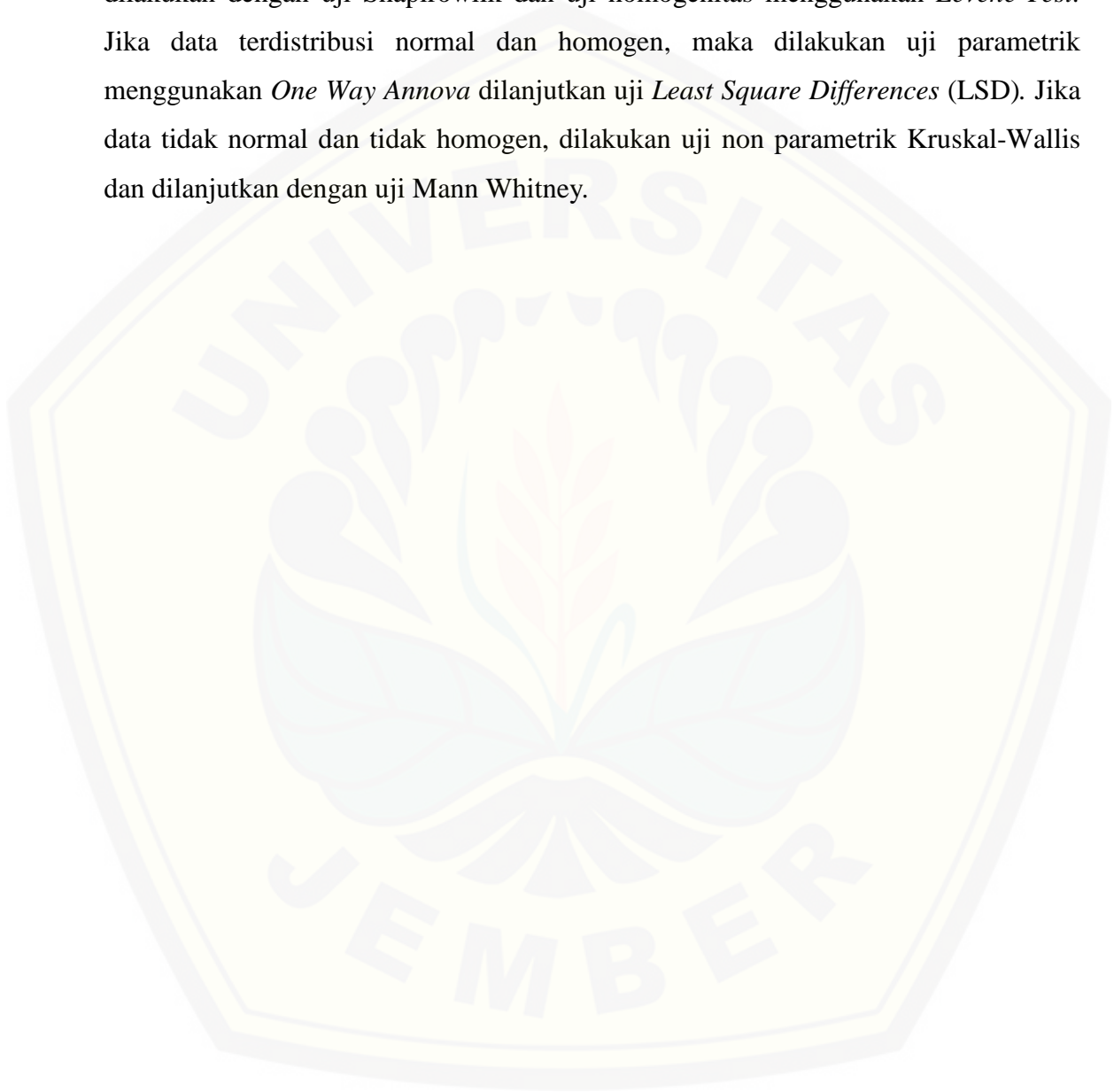
Setelah diinkubasi selama 24 jam, dilakukan penghitungan jumlah koloni pada masing-masing *petridish* menggunakan *colony counter*. *Petridish* diletakkan pada *colony counter* dengan transmisi cahaya yang cukup dan menggunakan kaca pembesar agar koloni dapat terlihat dengan jelas. Pada *colony counter* terdapat 48 kotak yang dibatasi oleh *cross*, tetapi pada saat penghitungan hanya diambil 30 kotak secara random dengan memilih masing-masing 7-8 kotak pada tiap kuadran. Pada kotak yang bernomor dilakukan penghitungan jumlah koloni bakteri secara valid dengan batasan 30-300 bakteri tiap *petridish* (Sumono dan Dharmayanti, 2009).

3.9 Alur Penelitian



3.10 Analisis Data

Analisis data didahului dengan uji normalitas dan homogenitas. Uji normalitas dilakukan dengan uji Shapirowilk dan uji homogenitas menggunakan *Levene-Test*. Jika data terdistribusi normal dan homogen, maka dilakukan uji parametrik menggunakan *One Way Anova* dilanjutkan uji *Least Square Differences* (LSD). Jika data tidak normal dan tidak homogen, dilakukan uji non parametrik Kruskal-Wallis dan dilanjutkan dengan uji Mann Whitney.





BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah diperoleh, dapat disimpulkan bahwa ekstrak kering bekudaun kopi robusta (*Coffea canephora*) mempunyai daya antibakteri yaitu, dapat menghambat pertumbuhan *P. gingivalis* dengan konsentrasi ekstrak kering beku daun kopi robusta yang paling besar daya antibakterinya adalah 100%.

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan dari hasil penelitian ini adalah:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui konsentrasi hambat minimal yang dimiliki oleh ekstrak kering bekudaun kopi robusta (*Coffea canephora*).
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui zat aktif didalam daun kopi robusta (*Coffea canephora*) yang berguna sebagai antibakteri terhadap *P. gingivalis*.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut secara *in vivo* dengan menggunakan ekstrak kering beku daun kopi robusta sebagai obat kumur.
4. Perlu adanya publikasi kepada masyarakat mengenai manfaat daun kopi robusta untuk kesehatan gigi dan mulut.



DAFTAR PUSTAKA

- Agromedia, Pustaka. 2008. *Buku Pintar Tanaman Obat*. Jakarta:Redaksi Agromedia Pustaka.
- Agustrina G. 2011. *Potensi Propolis Lebah Madu Apis Mellifera Spp sebagai Bahan Antibakteri*.Bogor: Departemen Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- Ardianti, G. M. 2011. Efektifitas Ekstrak Daun Sirih sebagai Obat Kumur terhadap Penurunan Plak Indeks. *Skripsi*. Malang: Jurusan Ilmu Kesehatan Masyarakat Fakultas Ilmu Keolahragaan Universitas Negeri Malang.
- Balitbang. 2013. *Riset Kesehatan Dasar; RISKESDAS*. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
- Bramanti, T. E., G.G. Wong, S.T. Weintraub, dan S.S. Holt. 1993. *Chemical and Biologic Properties of Lipopolysaccharide from Bacteriodes gingivalis Strain W50, W83, and ATCC 33277*, *Oral Microbial Immunol.* 4: 183-92
- Brooks, G. F., J. S. Butel, dan S. A. Morse. 2004. *Medical Microbiology 23th Edition*. USA: McGraw Hill. Terjemahan oleh Huriawati Hartanto.2007. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi 23*. Jakarta:EGC.
- Casey, F. A. 2006. *Organic Chemistry 6th Edition*. New York: Mc Graw Hill.
- Chang, E., J. Daly, dan D. Elliot. 2010.*Patofisiologi: Treatment and Application*. Terjemahan oleh Widhi Astuti. 2010. *Patofisiologi: Aplikasi dan Perawatan*. Jakarta:EGC.
- Ciptaningsih, E. 2012. Uji Aktivitas Antioksidan dan Karakteristik Fitokimia pada Kopi Luwak Arabika dan Pengaruhnya terhadap Tekanan Darah Tikus Normal dan Tikus Hipertensi. *Tesis*. Jakarta: Program Studi Magister Ilmu Kefarmasian Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.
- Dwiyanti, L.,A. Muchtadi, dan P. Zakaria. 2006. Penghambatan Oksidasi LDL dan Akumulasi Kolesterol pada Makrofag oleh Ekstrak Temulawak (*Curcumanthorrhiza Roxb*). *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan.* 17(3) : 221-26.

- Fauzi, M. 2014. Daya Antibakteri Pasta Gigi Herbal dan Pasta Gigi Non-Herbal terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *Skripsi*. Yogyakarta: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.
- Flotra L, P. Gjerno, G. Rolla, dan J. Waerhaug. 1971. Side Effects of Chlorhexidine Mouthwashes. *Scand J Dent Res*. 79: 119-25.
- Gunawan, H. A. 2009. Pengaruh Pemutih Gigi Karbamid Peroksida terhadap Mukosa Rongga Mulut secara Mikroskopik (Penelitian pada Tikus Wistar Strain LMR). *Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Indonesia*. 10 (Edisi Khusus): 652-56.
- Hariyadi, P. 2013. *Freezed Drying Technology: for Better Quality & Flavor of Dried Products*. *Food Review Indonesia*. 8(2): 52-57.
- Heriana, T. 2009. *Ekstraksi Bahan Alam*. Jakarta: EGC.
- Iriano, A. 2008. Efek Antibakteri Aloe Vera terhadap *Porphyromonas gingivalis* In Vitro (Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Infundasi). *Skripsi*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia.
- Juliantina, F. R., D. A. Citra, B. Nirwani, T. Nurmasitoh, dan E. T. Bowo. 2008. Manfaat Sirih Merah (*Piper crocatum*) Sebagai Agen Antibakterial Terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*. 3-4.
- Khusnan dan S. I. Salasia. 2006. Adesi pada Sel Epitel, Aglutinasi Eritrosit terhadap *Staphylococcus aureus*: Kajian Hidrofobisitas In Vitro. *Journal of Science Veteriner*. 24(1): 102-9.
- Kopidairi. 2013. *Yang Harus Anda Ketahui tentang Kopi*. [on line]. (Accessed: 30 September 2016).
- Kristanti, Ch. M. dan D. Hapsari. 2007. Persepsi Sakit Gigi dan Pola Berobat, SUSENAS 2001. *Indonesian Journal of Dentistry*. 14(1): 53-59.
- Kusumawardani, B., P. Pujiastuti, dan D. S. Sari. 2010. Uji Biokimiawi Sistem API 20 A Mendeteksi *Porphyromonas gingivalis* Isolat Klinik dari Plak Subgingiva Pasien Periodontitis Kronis. *Jurnal PDGI*. 59(3). 110-14.
- Mahendradatta, M. 2012. Perbandingan Karakteristik Kimia dan Nilai Sensori dari Varietas Arabica (*Cafeea arabica L.*) dan Robusta (*Cafeea canephora L.*).

Tesis. Makassar: Program Studi Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Hasanuddin Makassar.

Masibo, M dan H. Qian. 2008. Major Mango Polyphenols and Their Potential Significance to Human Health. *Comprehensive Reviews in Food Science And Food Safety*. Vol (7) : 309-19.

Nadjeb. 2010. *Pembentukan Alkaloid Melalui JalurTirosin*. [on line].(Accessed: 30 September 2016).

Newman, M. G., H. H. Takei, P. R. Klokkevold, dan F. A. Carranza. 2015. *Clinical Periodontology 12th Edition*. Canada: Elsevier.

Ngaisah, S. 2010. Identifikasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Sirih Merah. *Skripsi*. Solo: Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret Solo.

Notoatmodjo, S. 2010. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: Rineka Cipta.

Prastowo, B., E. Karmawati, Rubijo, Siswanto, C. Indrawanto, dan S. J. Munarso. 2010. *Budidaya dan Pasca Panen Kopi*. Jakarta: International Standard Book Number.

Prasetyo, S. 2011. Pengaruh Rasio Biji Teh/Pelarut Air dan Temperatur pada Ekstraksi Saponin Biji Teh Secara *Batch*. *Skripsi*. Bandung: Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Katolik Parahyangan Bandung.

Pratiwi, L. 2012. Adhesi *Porphyromonas gingivalis* pada Netrofil yang Diinkubasi Ekstrak Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa L.*). *Skripsi*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Prihatman, K. 2011. *Saponin untuk Pembasmi Hama Udang*. Bandung: Penelitian Perkebunan Gambung.

Rahardjo, P. 2012. *Panduan Budidaya dan Pengolahan Kopi Arabika dan Robusta*. Jakarta: Penebar Swadaya.

Rahmawati, W. 2012. Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Kopi Robusta (*Coffea canephora*) terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* secara *In Vitro*. *Skripsi*. Malang: Program Studi Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

- Redha, A. 2010. Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif dan Peranannya dalam Sistem Biologis. *Jurnal Belian*. 9(2): 196-202.
- Retnaningtyas, Y., N. Kristiningrum, D. Renggani, dan N. P. Narindra. 2016. *Karakteristik Simplisia dan Teh Herbal Daun Kopi Arabika*. Jakarta: EGC.
- Rochani, N. 2009. Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) terhadap *Candida albicans* serta Skrining Fitokimianya. *Skripsi*. Solo: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Solo.
- Sahrawat, A., S. Pal, dan S. K. Shahi. 2013. Antibacterial Activity of *Mangifera indica* (mango) Leaves Against Drug Resistant Bacterial Strains. *International Journal of Advanced Research*. 1(6): 82-86.
- Samaranayake, L. 2012. *Essential Microbiology for Dentistry 3rd Edition*. Philadelphia: Churchill Livingstone Elsevier.
- Setiawan, E. A., D. Rahardian, dan Siswanti. 2015. Pengaruh Penyangraian Daun Kopi Robusta (*Coffe robusta*) terhadap Karakteristik Kimia dan Sensori Minuman Penyegar. *Jurnal Teknosains Pangan*. 4(2): 211-14.
- Silviani, F. 2010. *Aksi Agraris Kanisius Petunjuk Praktis Budidaya Tanaman Kopi*. Yogyakarta: Kanisius.
- Sinaredi R. B., S. Pradopo, dan T. B. Wibowo, 2014. Daya Antibakteri Obat Kumur *Chlorhexidine, Povidone Iodine, Fluoride* Suplementasi Zinc terhadap *Streptococcus mutans* dan *Phorphyromonas gingivalis*. *Dental Journal*. 47(4): 1-4.
- Sjahid, L.R. 2008. *Isolasi dan Identifikasi Flavonoid dari Daun Dewandaru (Eugenia unifloraL.)*. Solo: Universitas Muhammadiyah Solo.
- Suhardini, P. N. dan E. Zubaidah. 2016. Studi Aktivitas Antioksidan Kombucha dari Berbagai Jenis Daun selama Fermentasi. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 4(1): 221-29.
- Sumono, A. dan Dharmayanti, W. S. A. 2009. Kemampuan Air Rebusan Daun Salam Dalam Menurunkan Jumlah Koloni Bakteri *Streptococcus sp.* Jakarta: *Jurnal Farmasi Indonesia*. 20(3): 112-17.
- Tampedje, A. A. D., J. S. B. Tuda, dan M. A. Leman. 2016. Uji Efek Antibakteri Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava Linn.*) Terhadap Pertumbuhan Koloni *Streptococcus mutans*. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 5(3): 222-28.

- Tanjaya, J. dan E. I. Auerkari. 2011. IL-1 β Genetic Polimorphism in Menopause Women as Periodontal Disease Risk Factor. *Journal of Dentistry Indonesia*. 18(1): 1-5.
- Voight, R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Terjemahan oleh Mathilda Widiyanto. Yogyakarta:Gadjah Mada University Press.
- Widarto, H. T. 2008. *Bagaimana Tumbuhan Melindungi Diri dari Serangan Hama*. [on line]. Ditjenbun@deptan.go.id. (Accessed; 24 September 2016).
- Wiyantini, T., H. Setyawan, dan S. Hadisaputro. 2014. Faktor-faktor Lokal dalam Mulut dan Perilaku Pencegahan yang Berhubungan dengan Periodontitis. *Case Study at Three Primary Health Care in Demak*. Semarang: Universitas Diponegoro. 2-4.
- Zahrosa, D. B. 2011. Prospek Pengembangan dan Strategi Pemasaran Komoditas Kopi Robusta Rakyat di Kabupaten Jember. *Skripsi*.Jember: Fakultas Pertanian Universitas Jember. 42-44.

Lampiran A Hasil uji identifikasi bakteri *Porphyromonas gingivalis*

 **LABORATORIUM MIKROBIOLOGI**
BAGIAN BICMHEMK KEDOKTERAN GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER

SURAT KETERANGAN
NO. 0102/MIKROBIO/KET/2016

Selubungan dengan keperluan identifikasi mikrobiologi, maka kami menerangkan bahwa mahasiswa berikut :

Nama :	Rebojang Ann Pusanti
NIM :	171601101930
Fakultas :	Kedokteran Gigi
Keperluan :	Penelitian

Teliti melakukan uji identifikasi terhadap isolat *Porphyromonas gingivalis*, dengan menggunakan pengujian gram dan diamati secara mikroskopis menggunakan *cytospin/fix* (Gente rapid) dan tidak menunjukkan

Jember, 22 November 2016

Mengetahui, Kepala Bagian Bicomemk Kedokteran Gigi	Pemanggung Jawab Lab. Mikrobiologi
	
Dr. Subanto, M.Humani NIP. 197509252006042002	Dr. Putuwi Endah Lestari, M.Kes NIP. 197608022006012002

Lampiran C. Surat keterangan ekstrak kering beku daun kopi robusta (*Coffea canephora*)



SURAT KETERANGAN PEMBUATAN EKSTRAK

Dasar pembuatan	
Nama	Rafiqah Rizki Fauziah
NIK	131510101030
Jelajah	Rafiqah Rizki Fauziah Universitas Jember
Bahan	Daun Kopi Robusta (<i>Coffea canephora</i>)
Instansi Pengkondisian	Alusida
Metode ekstraksi	Solusikan
Prosedur	Seluruh daun kopi Robusta sebanyak 10,04 gram dituangkan dengan aquadest : mendidih sebanyak 2294 ml. Setelah itu, seluruh airnya dikondisikan ulang. Hasil saringan seluruh daun kopi dikeringkan dengan freeze dryer pada tekanan 000,011 bar dan suhu 30°C selama 48 jam.
Hasil	Seluruh daun kopi kering kering hingga total 2,12 gram
Tanggal Pembuatan	28 Januari 2017

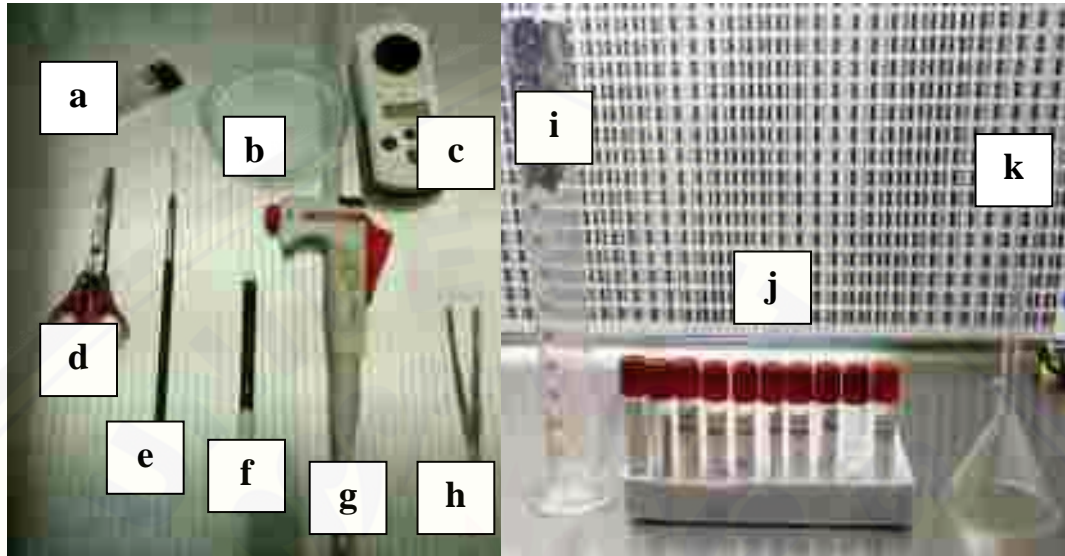
Jember, 7 Maret 2017

Ketua Ragen Ragen Farmasi

Rafiqah Rizki Fauziah, S.Farm., M.Sc., Apt.
NIP. 1981107130900042002

Lampiran D. Prosedur pembuatan ekstrak kering beku daun kopi robusta

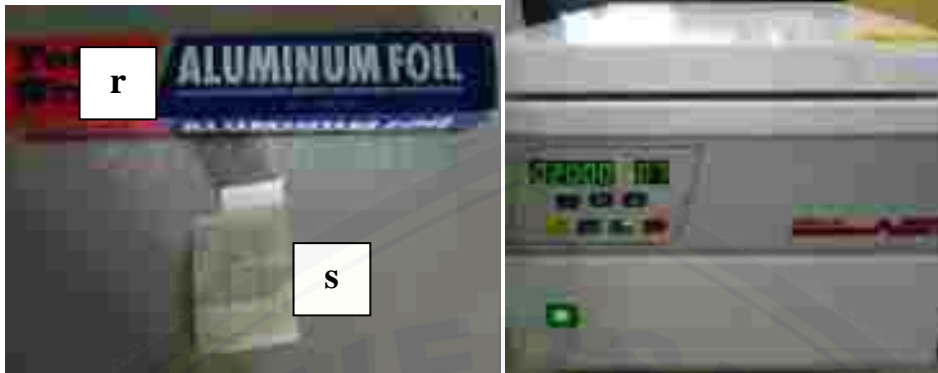
Daun kopi robusta yang masih segar, dicuci bersih, kemudian diangin-anginkan. Lalu daun dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 50⁰C selama 20 jam untuk dikeringkan. Setelah pengeringan, daun kopi robusta yang tadinya berwarna hijau muda segar menjadi hijau kecoklatan dan memiliki tekstur yang kering. Daun kopi robusta yang sudah kering kemudian dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi serbuk daun kopi robusta(Sahrawat, 2013).Serbuk yang didapat kemudian diseduh dengan aquadest yang sudah didihkan di hot plate pada suhu 22,5⁰C. Membuat seduhan daun kopi robusta dengan mencampur serbuk daun kopi robusta dengan *aquadest*dengan perbandingan 1:10 antara serbuk dan pelarutnya. Hasil seduhan disaring menggunakan corong *buchner*. Kemudian, filtrat hasil saringandimasukkan ke dalam mesin*freeze dryer*untuk mengalami proses pengeringan beku (Sahrawat, 2013).

Lampiran E. Alat dan bahan penelitian**Lampiran E.1 Alat penelitian**

(a) Korek api, (b) *Petridish*, (c) Spektrofotometer, (d) Gunting, (e) Ose, (f) Spidol, (g) Mikropipet, (h) Pinset, (i) Tabung ukur, (j) Rak tabung, (k) Corong kaca

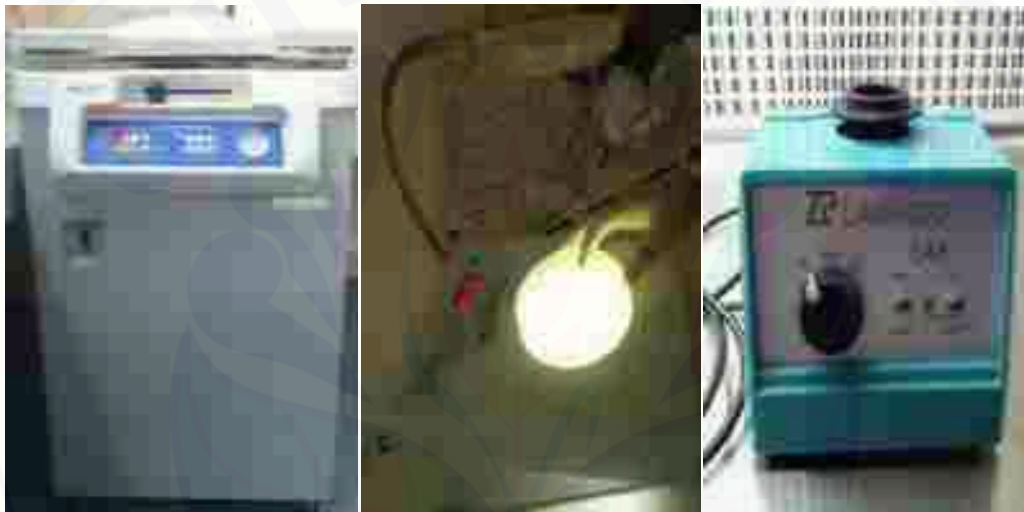


(l) Bunsen, (m) *Blue tip*, (n) *Yellow tip*, (o) *Beaker glass*, (p) Tabung erlenmeyer, (q) *Cotton bud*



(r) Alumunium foil, (s) Kertas label

Centrifuge



Autoclave

Colony counter

Vortex



Oven

Hotplate stirer



Waterbath



Timbangan digital



Appendolf



Laminar flow cabinet



Roller



Magnetic stirrer



Mikroskop binokuler

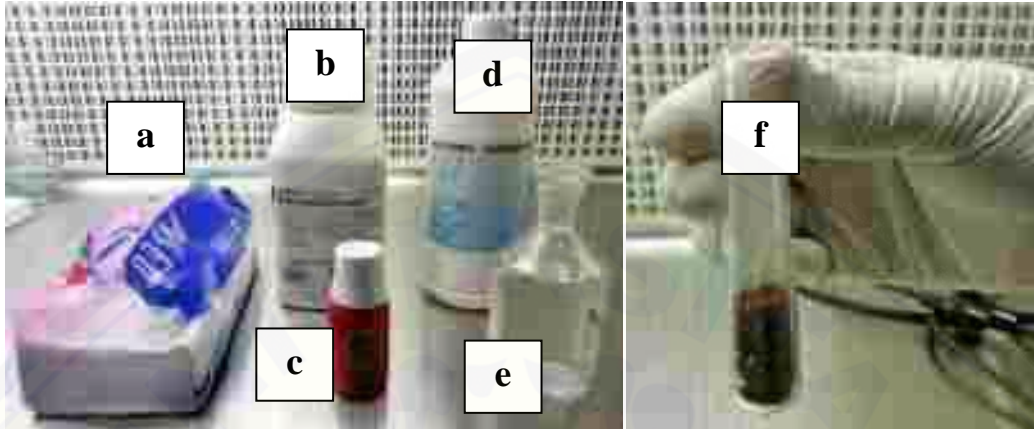


Incubator



Desicator



Lampiran E.2 Bahan penelitian

(a) *Tissue*, (b) *Brain Heart Infusion Broth (BHI-B)*, (c) Obat kumur klorheksidin, (d)Alkohol, (e) *Aquadest steril*, (f) Ekstrak kering beku daun kopi robusta



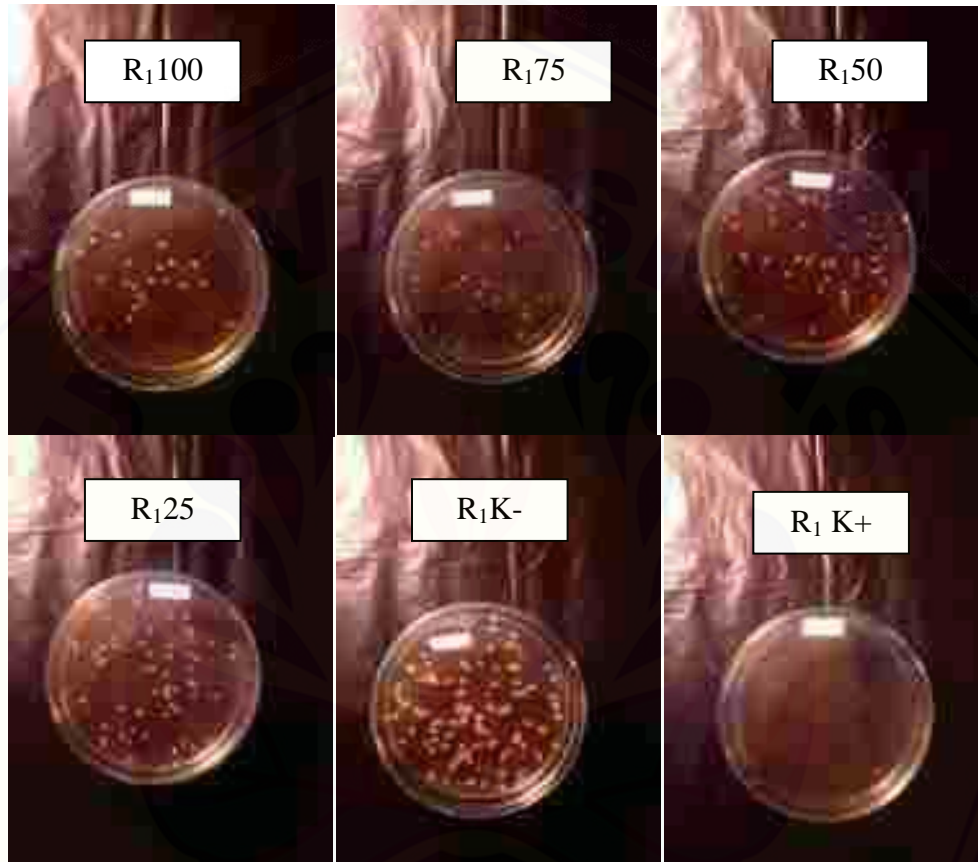
Brain Heart Infusion Agar(BHI-A)



Suspensi *P. gingivalis*

Lampiran F. Foto hasil penelitian

1. Pengulangan 1

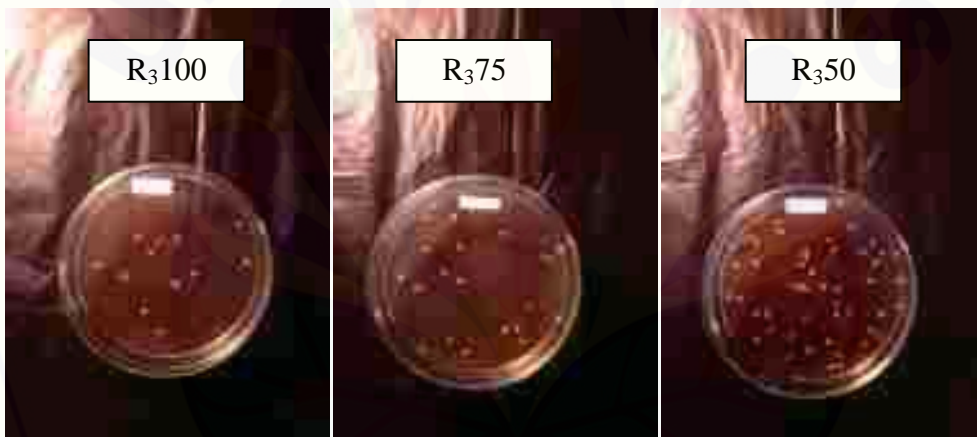


2. Pengulangan 2

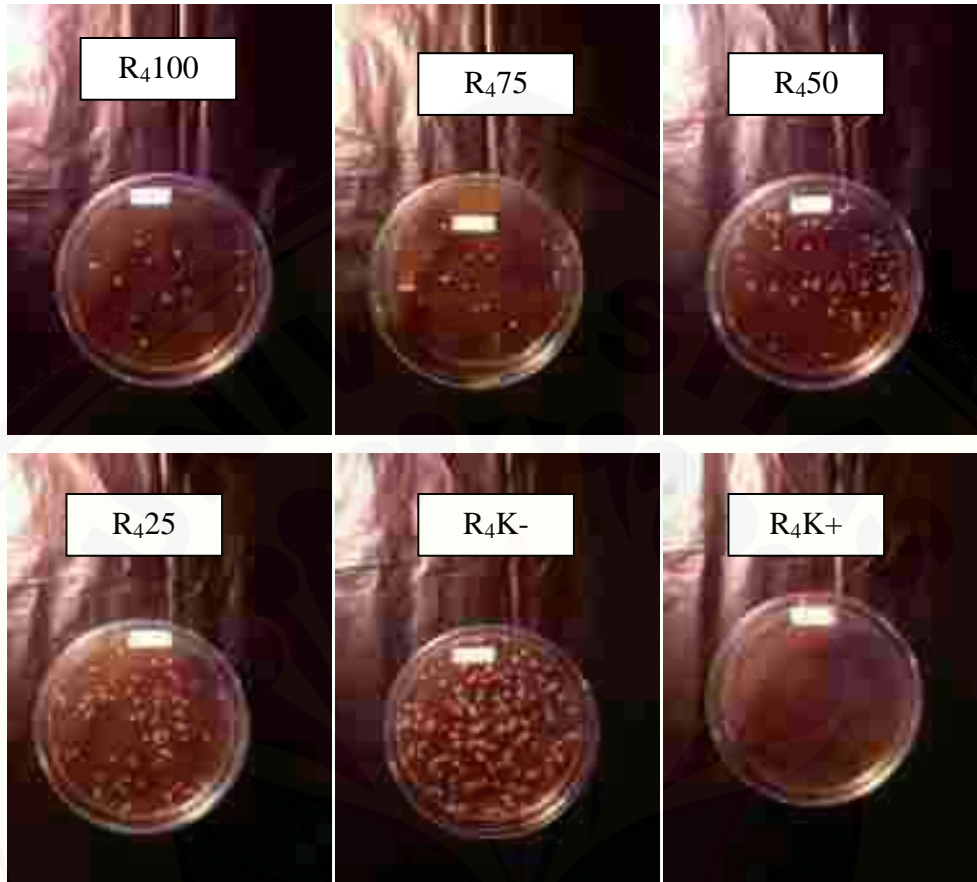




3. Pengulangan 3



4. Pengulangan 4



Keterangan:

- R₁ : Pengulangan 1
- R₂ : Pengulangan 2
- R₃ : Pengulangan 3
- R₄ : Pengulangan 4
- K⁻ : Kontrol negatif (*aquadest steril*)
- K⁺ : Kontrol positif (obat kumur klorheksidin)
- 100 : Ekstrak kering beku daun kopi robusta konsentrasi 100%
- 75 : Ekstrak kering beku daun kopi robusta konsentrasi 75%
- 50 : Ekstrak kering beku daun kopi robusta konsentrasi 50%
- 25 : Ekstrak kering beku daun kopi robusta konsentrasi 25%

Lampiran G. Hasil penghitungan jumlah koloni

Pengulangan	Jumlah koloni <i>P. gingivalis</i> (n)						
	R100	R75	R50	R25	K+	K-	
1	23		26	57	79	0	107
2	13		24	42	50	0	134
3	19		26	54	62	0	138
4	15		25	43	71	0	100
Rata-rata	17,50		25,25	49	65,50	0	119,75
Standar deviasi	4,435		0,957	7,616	12,450	0	19,050

Keterangan:

R100 : Ekstrak kering bekudaun kopi robusta konsentrasi 100%

R75 : Ekstrak kering bekudaun kopi robusta konsentrasi 75%

R50 : Ekstrak kering bekudaun kopi robusta konsentrasi 50%

R25 : Ekstrak kering bekudaun kopi robusta konsentrasi 25%

K+ : Kontrol positif (obat kumur klorheksidin)

K- : Kontrol negatif (*aquadest steril*)

Lampiran H. Hasil uji statistik

H.1 Hasil uji normalitas menggunakan uji Shapiro-wilk

Tests of Normality^b

		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statisti	df	Sig.	Statisti	df	Sig.
FDED kopi		c	df	Sig.	c	df	Sig.
Jumlah koloni	kontrol negatif	.273	4	.	.860	4	.262
	konsentrasi 25%	.171	4	.	.987	4	.944
	konsentrasi 50%	.285	4	.	.847	4	.216
	konsentrasi 75%	.283	4	.	.863	4	.272
	konsentrasi 100%	.214	4	.	.963	4	.798

a. Lilliefors Significance Correction

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

H.2 Hasil uji homogenitas menggunakan *Levene Test*

Test of Homogeneity of Variances

jumlah koloni

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
17.747	5	18	.000

H.3 Hasil uji beda non parametrik menggunakan uji Kruskal-Wallis

Ranks

FDED kopi		N	Mean Rank
jumlah koloni	kontrol negatif	4	22.50
	kontrol positif	4	2.50
	konsentrasi 25%	4	18.00
	konsentrasi 50%	4	15.00
	konsentrasi 75%	4	10.50
	konsentrasi 100%	4	6.50
	Total	24	

Test Statistics^{a,b}

	jumlah koloni
Chi-Square	22.226
Df	5
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: FDED

kopi

H.4 Hasil uji beda antar kelompok perlakuan menggunakan Uji Mann-Whitney

H.4.1 Hasil uji Mann-Whitney antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif

Ranks

FDED kopi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
jumlah koloni	kontrol negatif	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: FDED kopi

H.4.2 Hasil uji Mann-Whitney antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok ekstrak kering beku daun kopi robusta konsentrasi 25%

Ranks

FDED kopi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
jumlah koloni	kontrol negatif	4	6.50	26.00
	konsentrasi 25%	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: FDED kopi

H.4.3 Hasil uji Mann-Whitney antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok ekstrak kering beku daun kopi robusta konsentrasi 50%

Ranks

	FDED kopi	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: FDED kopi

H.4.4 Hasil uji Mann-Whitney antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok ekstrak kering beku daun kopi robusta konsentrasi 75%

Ranks

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

Test Statistics^b

	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: FDED kopi

H.4.5 hasil uji Mann-Whitney antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok ekstrak kering beku daun kopi robusta konsentrasi 100%

Ranks

FDED kopi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
jumlah koloni	kontrol negatif	4	6.50	26.00
	konsentrasi 100%	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: FDED kopi

H.4.6 Hasil uji Mann-Whitney antara kelompok kontrol positif dengan kelompok ekstrak kering beku daun kopi robusta konsentrasi 25%

FDED kopi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
jumlah koloni	kontrol positif	4	2.50	10.00
	konsentrasi 25%	4	6.50	26.00
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: FDED kopi

H.4.7 Hasil uji Mann-Whitney antara kelompok kontrol positif dengan kelompok ekstrak kering beku daun kopi robusta konsentrasi 50%

FDED kopi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
jumlah koloni	kontrol positif	4	2.50	10.00
	konsentrasi 50%	4	6.50	26.00
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: FDED kopi

H.4.8 Hasil uji Mann-Whitney antara kelompok kontrol positif dengan kelompok ekstrak kering beku daun kopi robusta konsentrasi 75%

Ranks

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

Test Statistics^b

	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: FDED kopi

H.4.9 Hasil uji Mann-Whitney antara kelompok kontrol positif dengan kelompok ekstrak kering beku daun kopi robusta konsentrasi 100%

FDED kopi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
jumlah koloni	kontrol positif	4	2.50	10.00
	konsentrasi 100%	4	6.50	26.00
	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: FDED kopi

H.4.10 Hasil uji Mann-Whitney antara kelompok ekstrak kering beku daun kopi robusta konsentrasi 25% dengan konsentrasi 50%

FDED kopi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
jumlah koloni	konsentrasi 25%	4	6.00	24.00
	konsentrasi 50%	4	3.00	12.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	jumlah koloni
Mann-Whitney U	2.000
Wilcoxon W	12.000
Z	-1.732
Asymp. Sig. (2-tailed)	.083
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.114 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: FDED kopi

H.4.11 Hasil uji Mann-Whitney antara kelompok ekstrak kering beku daun kopi robusta konsentrasi 25% dengan konsentrasi 75%

Ranks

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

Test Statistics^b

	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: FDED kopi

H.4.12 Hasil uji Mann-Whitney antara kelompok ekstrak kering beku daun kopi robusta konsentrasi 25% dengan konsentrasi 100%

		Ranks		
FDED kopi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
jumlah koloni	konsentrasi 25%	4	6.50	26.00
	konsentrasi 100%	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: FDED kopi

H.4.13 Hasil uji Mann-Whitney antara kelompok ekstrak kering beku daun kopi robusta konsentrasi 50% dengan konsentrasi 75%

		Ranks		
FDED kopi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
jumlah koloni	konsentrasi 50%	4	6.50	26.00
	konsentrasi 75%	4	2.50	10.00
Total		8		

Test Statistics^b

	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: FDED kopi

H.4.14 Hasil uji Mann-Whitney antara kelompok ekstrak kering beku daun kopi robusta konsentrasi 50% dengan konsentrasi 100%

Ranks

FDED kopi		N	Mean Rank	Sum of Ranks
jumlah koloni	konsentrasi 50%	4	6.50	26.00
	konsentrasi 100%	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: FDED kopi

H.4.15 Hasil uji Mann-Whitney antara kelompok ekstrak kering beku daun kopi robusta konsentrasi 75% dengan konsentrasi 100%

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

Test Statistics ^b	
	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: FDED kopi