



**KEMAMPUAN ANTIBAKTERI EKSTRAK KULIT BUAH KOPI  
ROBUSTA (*Coffea canephora*) DAN ARABIKA (*Coffea arabica*)  
TERHADAP PERTUMBUHAN *Lactobacillus acidophilus***

**SKRIPSI**

Oleh

**Marina Erlysa Ishimora**

**NIM 191610101104**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2023**



**KEMAMPUAN ANTIBAKTERI EKSTRAK KULIT BUAH KOPI  
ROBUSTA (*Coffea canephora*) DAN ARABIKA (*Coffea arabica*)  
TERHADAP PERTUMBUHAN *Lactobacillus acidophilus***

**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

**Marina Erlysa Ishimora**

**NIM 191610101104**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI**

**UNIVERSITAS JEMBER**

**2023**

## PERSEMBAHAN

*Bismillahirrahmanirrahim*, dengan menyebut nama Allah Yang Maha Pengasih dan Penyayang, segala puji dan syukur kepada-Mu atas segala rahmat dan hidayah yang Engkau berikan sehingga hamba dapat menjalani kehidupan dengan penuh kebahagiaan dan kelancaran. Persembahan karya tulis ini saya berikan sebagai wujud rasa terima kasih, bakti, dan cintaku kepada:

1. Allah SWT yang telah memberikan segala kelancaran dan kemudahan serta rahmat dan hidayah-Nya dalam menjalani kehidupan;
2. Kedua orang tuaku, Mama Umayyah dan Papa Mora Simanjuntak tercinta dan tersayang yang selalu dan tidak pernah bosan memberikan limpahan cinta, kasih sayang, perhatian, dan pengorbanan yang tulus serta doa yang tak pernah berhenti terucap dalam setiap langkahku;
3. Guru, dosen, dan segenap *civitas academica* instansi pendidikan yang pernah saya tempuh hingga saat ini;
4. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
5. Diri saya sendiri yang telah berhasil bertahan dan tetap semangat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.

**MOTO**

*Don't say, "I could change the world if I was given the chance",  
but the truth is, **anyone** is **never** going to give you the chance.  
**You**, yourself, have to make it! Be the change if you want to see the world,  
and, you should, because you are an extraordinary person!<sup>1</sup>*

atau

*"If only we could turn fear into courage,  
that courage will be a thousand times mightier than before."<sup>2</sup>*



---

<sup>1</sup> Mena Massoud. 2022. *The Royal Treatment*.

<sup>2</sup> Admiral Yi Sun-Shin. 2014. *The Admiral: Roaring Currents*.

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Marina Erlysa Ishimora

NIM : 191610101104

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Kemampuan Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Kopi Robusta (*Coffea canephora*) dan Arabika (*Coffea arabica*) Terhadap Pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus*” 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 serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 22 Juni 2023

Yang menyatakan,

Marina Erlysa Ishimora

NIM 191610101104

SKRIPSI

**KEMAMPUAN ANTIBAKTERI EKSTRAK KULIT BUAH KOPI  
ROBUSTA (*Coffea canephora*) DAN ARABIKA (*Coffea arabica*)  
TERHADAP PERTUMBUHAN *Lactobacillus acidophilus***

Oleh

**Marina Erlysa Ishimora**

**NIM 191610101104**

**Pembimbing:**

Dosen Pembimbing Utama : drg. Rendra Chriestedy Prasetya, MD.Sc

Dosen Pembimbing Pendamping : Dr. drg. I Dewa Ayu Susilawati, M. Kes

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Kemampuan Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Kopi Robusta (*Coffea canephora*) dan Arabika (*Coffea arabica*) Terhadap Pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus*” karya Marina Erlisa Ishimora, telah disetujui pada:

Hari, Tanggal : Kamis, 22 Juni 2023

Tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Tim Penguji:

Dosen Penguji Ketua,

Dosen Penguji Anggota,

drg. Pudji Astuti, M.Kes.  
NIP 196810201996012001

drg. Nadie Fatimatuazzahro, MD.Sc.  
NIP 198204242008012022

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Pendamping,

drg. Rendra Chriestedy Prasetya, MD.Sc  
NIP 198305312008011003

Dr. drg. I Dewa Ayu Susilawati, M. Kes  
NIP 196109031986022001

Mengesahkan,  
Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember,

drg. Dwi Kartika Apriyono M.Kes., Sp. OF.  
NIP 197812152005011002

## RINGKASAN

**“Kemampuan Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Kopi Robusta (*Coffea canephora*) dan Arabika (*Coffea arabica*) Terhadap Pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus*”**; Marina Erlisa Ishimora; 191610101104; 2023; 106 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Kopi merupakan salah satu komoditi perkebunan yang mempunyai peran penting dalam kegiatan perekonomian di Indonesia. Produksi kopi Indonesia tahun 2020 mencapai 762.380 ton kopi yang didominasi oleh kopi robusta (70,15%) dan arabika (29,85%). Namun, bagian kopi yang umumnya dikonsumsi oleh masyarakat hanyalah bijinya, sedangkan bagian buah lainnya tidak digunakan, terutama kulit buah kopi. Nyatanya, sebagai bahan sampingan, kulit buah kopi memiliki kandungan senyawa aktif yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan antibakteri serta merupakan langkah awal dalam penerapan konsep *green dentistry* serta *zero waste*. Untuk mendukung penggunaan kulit buah kopi sebagai penerapan *green dentistry*, diperlukan penelitian yang mendukung kemampuan aktivitas antibakteri yang dimilikinya. Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis kemampuan antibakteri ekstrak kulit buah kopi robusta (*Coffea canephora*) dan arabika (*Coffea arabica*) terhadap pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus* (FNCC-0051).

Jenis penelitian ini yaitu eksperimental laboratoris *in vitro* dengan rancangan *the post-test-only control group design* yang dilakukan di Laboratorium Biosciences RSGM Universitas Jember. Sampel berupa kulit buah kopi (*coffee husks*) robusta dan arabika hasil pengolahan metode kering (*dry process*) dari Perkebunan Rumah Kopi Banjarsengon, Jember yang diekstraksi menggunakan maserasi dengan etanol 96% (1:5) selama 3 hari. Metode uji antibakteri berupa *agar-well diffusion* berdiameter 6 mm dengan inokulasi *pour-plate method* pada 6 kelompok penelitian berupa kontrol negatif (akuades steril), kontrol positif (*chlorhexidine 0,1%*), serta kelompok perlakuan masing-masing ekstrak kulit buah kopi (EKBK) dengan konsentrasi 250, 500, 750, dan 1.000 mg/ml. Inkubasi dilakukan selama 48 jam pada suhu 37°C di dalam

inkubator hingga dihasilkan zona hambat di sekitar lubang sumur sebagai parameter kemampuan antibakteri dari ekstrak kulit buah kopi.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terbentuk dua zona, yaitu zona radikal (bakteriosidal) berupa daerah bening di sekitar lubang sumur yang sama sekali tidak ditemukan pertumbuhan bakteri serta zona irradikal (bakteriostatik) berupa daerah keruh di luar zona radikal yang masih terlihat bakteri yang resisten terhadap ekstrak. Rata-rata diameter zona radikal EKBK robusta yang terbentuk yaitu 8,57; 10,13; 12,22; dan 13,16 mm, sedangkan zona irradikal sebesar 20,96; 23,57; 25,11; dan 25,99 mm. EKBK arabika juga membentuk zona radikal pada 1000 mg/ml sebesar 8,6 mm serta 7,25 dan 9,42 mm untuk zona irradikal pada konsentrasi 750 dan 1000 mg/ml secara berurutan. Kedua zona dari setiap ekstrak menunjukkan pola yang sama, yaitu semakin tinggi konsentrasi, diameter zona hambat yang dihasilkan juga semakin besar dengan rata-rata diameter zona irradikal lebih besar daripada radikal. Perbedaan ini dipengaruhi oleh kandungan metabolit sekunder yang berbeda dari kedua EKBK, jenis bakteri, metode uji antibakteri (pH media dan waktu inkubasi), serta metode ekstraksi yang digunakan.

Hasil rata-rata diameter zona hambat masing-masing EKBK selanjutnya dianalisis menggunakan uji normalitas *Saphiro-Wilk* dan homogenitas *Levene Test* dengan hasil data terdistribusi normal dan tidak homogen. Kemudian dilanjutkan uji non-parametrik *Kruskal-Wallis* dan *Mann Whitney* serta didapatkan nilai signifikansi  $p < 0,05$  yang berarti terdapat perbedaan yang signifikan antara kedua EKBK terhadap pertumbuhan *L. acidophilus* dengan terdapat perbedaan yang signifikan antar semua kelompok penelitian. EKBK robusta juga terbukti memiliki perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ) daripada arabika pada konsentrasi 750 dan 1000 mg/ml. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa ekstrak kulit buah kopi robusta dan arabika memiliki kemampuan antibakteri dengan daya hambat ekstrak kulit buah kopi robusta lebih kuat daripada arabika terhadap pertumbuhan *L. acidophilus*.

## PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Kemampuan Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Kopi Robusta (*Coffea canephora*) dan Arabika (*Coffea arabica*) Terhadap Pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus*”.

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

1. drg. Dwi Kartika Apriyono M.Kes., Sp. OF. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
2. drg. Rendra Chriestedy Prasetya, MD.Sc., selaku dosen pembimbing utama, dan Dr. drg. I Dewa Ayu Susilawati, M. Kes., selaku dosen pembimbing pendamping, yang telah membagikan ilmu, waktu, pengalaman serta perhatiannya dalam proses penyelesaian skripsi penulis;
3. drg. Pudji Astuti, M.Kes., selaku dosen penguji ketua dan drg. Nadie Fatimatuzzahro, MD.Sc., selaku dosen penguji anggota, yang telah bersedia membagikan ilmu, waktu, dan perhatiannya dalam proses penyempurnaan skripsi penulis;
4. Dr. drg. Atik Kurniawati, M.Kes., selaku dosen pembimbing akademik yang selalu memberikan motivasi dan bimbingan kepada penulis;
5. Kedua orang tuaku; Mama Umayah dan Papa Mora Simanjuntak tersayang yang selalu dan tidak pernah bosan memberikan limpahan cinta, kasih sayang, perhatian, dan pengorbanan yang tulus serta doa yang tak pernah berhenti terucap dalam setiap langkahku;
6. Kakak-adik Lima Sekawan, Irena Lucy Ishimora, Mayora Lolly Ishimora, Armando Bales Ishimora dan Salbinus Bimaraja Ishimora serta Pragia Askara Morahman, yang telah memberikan dukungan dan motivasi jarak jauh yang tetap terasa hangat dalam menyelesaikan skripsi;

7. Sahabat *Pseudopren*, Rico Kurniawan, Berliana Khusnul, Faradesya Amalia, Ferina Ajunda, Syefira Prameswari, dan Mutiara Kinasih, yang telah memberikan goresan kenangan susah-senang-pahit-manis bersama;
8. Sahabat *Vidya's Squad*, Elly Aprilliana, Khanun Nailufar, Shafira Wulan, Tanzilal Azizir Rahmah, Farah Nur, Dian Yuna, dan Aulifia Rachmawati, yang telah menyempurnakan dan memberi warna berarti selama tinggal bersama;
9. Dyan Cordella, selaku teman penelitian yang berhasil melewati hari-minggu-hingga bulan yang terasa panjang dalam penyempurnaan skripsi penulis;
10. Sahabat *Rumpi Shay*, Anita Firdaus dan Nadya Amanda, yang telah menemani dan menjadi tempat keluh kesah penulis dari masa putih abu-abu hingga mendapatkan gelar sarjana seutuhnya;
11. Sahabat *AofSix* a.k.a *Bronxekkiya Imnida*, Fathia Amira, Rizka Salsah, Dinda Ayu, dan Griselda Livia, yang telah memberikan dukungan dan melalui hampir setengah usia penulis bersama-sama, terima kasih banyak sahabat;
12. Teman-teman Tutorial I dan J, kelompok praktikum B1, Febby Ebikatsu, Alifa Putri, Bang Yudhi, kelompok KKN 304 Prajekon Lor, dan teman-teman OTRHODEUM 2019 yang saya banggakan;
13. Semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

Penulis telah mengupayakan yang terbaik dalam penulisan skripsi ini. Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, 22 Juni 2023

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN.....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN MOTO.....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN.....</b>	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PEMBIMBINGAN.....</b>	<b>v</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN.....</b>	<b>vi</b>
<b>RINGKASAN .....</b>	<b>vii</b>
<b>PRAKATA .....</b>	<b>ix</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR TABEL.....</b>	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xvi</b>
<b>BAB 1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Latar Belakang.....</b>	<b>1</b>
<b>1.2 Rumusan Masalah .....</b>	<b>3</b>
<b>1.3 Tujuan Penelitian.....</b>	<b>4</b>
<b>1.4 Manfaat Penelitian.....</b>	<b>4</b>
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>5</b>
<b>2.1 Kopi.....</b>	<b>5</b>
2.1.1 Habitat Kopi.....	6
2.1.2 Morfologi Buah Kopi.....	6
2.1.3 Kopi Robusta .....	9
2.1.4 Kopi Arabika.....	10
<b>2.2 Kulit Buah Kopi .....</b>	<b>11</b>
2.2.1 Kandungan Kulit Buah Kopi .....	13
<b>2.3 <i>Lactobacillus acidophilus</i> .....</b>	<b>18</b>
2.3.1 Klasifikasi <i>L. acidophilus</i> .....	18
2.3.2 Morfologi <i>L. acidophilus</i> .....	19
2.3.3 Struktur Sel Bakteri.....	20
2.3.4 Peran <i>L. acidophilus</i> dalam Karies .....	23
<b>2.4 Antibakteri .....</b>	<b>25</b>
2.4.1 Mekanisme Aktivitas Antibakteri .....	25
2.4.2 Metode Uji Aktivitas Antibakteri.....	26
<b>2.5 Ekstraksi.....</b>	<b>28</b>
2.5.1 Metode ekstraksi.....	29
2.5.2 Konsentrasi Pelarut Metode Ekstraksi .....	30
<b>2.6 <i>Chlorhexidine</i>.....</b>	<b>31</b>

2.7	Kerangka Konsep .....	33
2.8	Penjelasan Kerangka Konsep .....	34
2.9	Hipotesis.....	35
<b>BAB 3.</b>	<b>METODE PENELITIAN.....</b>	<b>36</b>
3.1	Jenis dan Rancangan Penelitian.....	36
3.1.1	Jenis Penelitian.....	36
3.1.2	Rancangan Penelitian .....	36
3.2	Waktu dan Tempat Penelitian.....	36
3.2.1	Waktu Penelitian .....	36
3.2.2	Tempat Penelitian.....	36
3.3.	Identifikasi Penelitian.....	37
3.3.1	Variabel Bebas .....	37
3.3.2	Variabel Terikat.....	37
3.3.3	Variabel Terkendali .....	37
3.4	Definisi Operasional Variabel.....	37
3.4.1	Kulit Buah Kopi .....	37
3.4.2	Ekstrak Kulit Buah Kopi (EKBK).....	38
3.4.3	Jenis Bakteri .....	38
3.4.4	Kemampuan Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Kopi (EKBK) .....	38
3.4.5	Sterilisasi Alat dan Bahan .....	38
3.4.6	Inkubasi .....	38
3.5	Sampel Penelitian.....	39
3.5.1	Kelompok Sampel .....	39
3.5.2	Besar Sampel.....	39
3.6	Alat dan Bahan Penelitian. ....	40
3.6.1	Alat Penelitian .....	40
3.6.2	Bahan Penelitian.....	40
3.7	Prosedur Penelitian.....	40
3.7.1	Tahap Persiapan. ....	40
3.7.2	Tahap Perlakuan .....	45
3.7.3	Tahap Pengamatan dan Pengukuran.....	45
3.8	Analisis Data.....	46
3.9.	Alur Penelitian .....	47
<b>BAB 4.</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>48</b>
4.1	Hasil Penelitian .....	48
4.2	Analisis Data.....	51
4.3	Pembahasan.....	53
<b>BAB 5.</b>	<b>KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>61</b>
5.1	Kesimpulan.....	61
5.2	Saran .....	61
	<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>62</b>
	<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>71</b>

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Syarat tumbuh tanaman kopi (Panggabean, 2019).....	6
2.2 Komposisi kandungan daging buah kopi matang ( <i>fully ripe</i> ).....	8
2.3 Perbedaan bakteri Gram positif dan Gram negatif.....	21
3.1 Kekuatan daya hambat berdasarkan diameter zona hambat.....	46
4.1 Diameter zona hambat EKBK robusta dan arabika terhadap pertumbuhan <i>L. acidophilus</i> .....	50
4.2 Hasil uji Mann Whitney EKBK robusta terhadap pertumbuhan <i>L. acidophilus</i> ...	51
4.3 Hasil uji Mann Whitney EKBK arabika terhadap pertumbuhan <i>L. acidophilus</i> ...	52
4.4 Hasil uji Mann Whitney perbandingan EKBK robusta dan arabika terhadap pertumbuhan <i>L. acidophilus</i> .....	52

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 A) Ilustrasi percabangan tanaman kopi; B) Buah kopi robusta; C) Buah kopi arabika; D)Tingkat kematangan buah kopi.....	7
2.2 Ilustrasi buah kopi A) potongan melintang; B) potongan membujur; C) potongan membujur.....	9
2.3 A) Ilustrasi anatomi buah kopi; B) Coffee husk hasil proses <i>hulling</i> .....	11
2.4 Struktur kimia alkaloid golongan <i>true alkaloid</i> (heterosiklik).....	14
2.5 Senyawa fenol dan turunan senyawa asam hidroksinamat.....	15
2.6 Kerangka dasar flavonoid dan klasifikasi alkaloid berdasarkan strukturnya.....	16
2.7 Struktur saponin.....	16
2.8 Contoh senyawa tanin terhidrolisis dan terkondensasi.....	17
2.9 Jenis <i>terpene</i> berdasarkan jumlah karbon.....	17
2.10 Gambaran <i>L. acidophilus</i> dengan A) pewarnaan Gram; B) media MRSA; dan C) Scanning Electron Micrograph (SEM).....	19
2.11 Struktur sel bakteri.....	20
2.12 Struktur peptidoglikan.....	21
2.13 Perbedaan dinding bakteri A) Gram positif dan B) negatif.....	21
2.14 Struktur membran sel bakteri.....	22
2.15 Bagan kerangka konsep penelitian.....	33
3.1 <i>Coffee husk</i> dari Perkebunan Rumah Kopi Banjarsengon, Patrang, Jember.....	41
3.2 Hasil identifikasi <i>L. acidophilus</i> dengan pewarnaan Gram.....	41
3.3 Skema petridish berisi EKBK A) robusta dan B) arabika berisi kontrol negatif akuades steril (K-), kontrol positif <i>chlorhexidine</i> 0,1% (K+), serta masing-masing ekstrak dengan konsentrasi 250, 500, 750, dan 1000mg/ml.....	45
3.4 Skema perhitungan diameter zona hambat.....	46

4.1 Hasil kemampuan aktivitas antibakteri dengan metode <i>agar-well diffusion</i> EKBK A) robusta dan B) arabika 250, 500, 750, dan 1.000mg/ml dengan kelompok kontrol negatif akuades steril (K-) dan kontrol positif <i>chlorhexidine</i> 0,1% (K+) terhadap pertumbuhan <i>L. acidophilus</i> .....	49
4.2 Diagram histogram rata-rata diameter zona hambat EKBK robusta dan arabika terhadap pertumbuhan <i>L. acidophiulus</i> .....	50



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
3.1 Identifikasi Kulit Buah Kopi.....	71
3.2 Surat Keterangan Identifikasi <i>Lactobacillus acidophilus</i> .....	73
3.3 Alat dan Bahan Penelitian.....	74
3.4 Persiapan Ekstrak Kulit Buah Kopi (EKBK).....	76
3.5 Pembuatan Ekstrak Kulit Buah Kopi (EKBK).....	77
3.6 Tahap Persiapan dan Perlakuan .....	78
4.1 Hasil Penelitian.....	80
4.2 Hasil Analisis Uji Normalitas <i>Saphiro-Wilk</i> .....	83
4.3 Hasil Analisis Uji Homogenitas <i>Levene-Test</i> .....	84
4.4 Hasil Analisis Uji Non-Parametrik <i>Kruskal-Wallis</i> .....	85
4.5 Hasil Analisis Uji <i>Mann-Whitney</i> .....	86

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Kopi sebagai salah satu unggulan komoditas perkebunan berperan penting dalam perekonomian Indonesia. Produksi kopi Indonesia tahun 2020 mencapai 762.380 ton kopi yang didominasi oleh kopi robusta dengan persentase sebesar 70,15% dan 29,85% untuk jenis kopi arabika (Direktorat Statistik Tanaman Pangan Hortikultura dan Perkebunan, 2021). Pada tahun yang sama, Kabupaten Jember sendiri sebagai salah satu produsen terbesar kopi setelah Malang dan Banyuwangi berhasil memproduksi 3.196 ton kopi robusta dan 1.215 kopi arabika (Direktorat Jenderal Perkebunan, 2020). Kedua jenis kopi ini setiap tahunnya terus mengalami perkembangan dikarenakan selain kondisi iklim dan tanah yang cocok untuk tempat tumbuh, kopi juga memiliki nilai ekonomis dan peluang bisnis yang sangat menjanjikan bagi Jember.

Bagian kopi yang umumnya dikonsumsi oleh masyarakat hanyalah bijinya, sedangkan bagian buah lainnya tidak digunakan. Padahal, untuk mendapatkan bijinya, buah kopi harus melewati pengolahan kopi terlebih dahulu yang cukup panjang serta menghasilkan kulit buah basah, kulit gelondong kering, cangkang kering, dan limbah cair mengandung lendir sebagai hasil sampingan yang sangat melimpah (Widyotomo, 2013). Pengolahan 1 ton buah basah kopi akan memperoleh  $\pm 200$  kg kulit kopi kering. Indra Wardhana *et al.*, (2019) juga menyatakan bahwa dari setiap produksi 1kg biji kopi, diperkirakan dihasilkan juga 1kg kulit kopi. Banyaknya kulit buah kopi yang dihasilkan masih belum dimanfaatkan secara maksimal oleh petani serta hanya dijual dengan harga murah sebagai pakan ternak atau dibuang begitu saja di sekitar tanaman kopi (Indra Wardhana *et al.*, 2019). Nyatanya, sebagai produk sampingan, kulit buah kopi mengandung bahan aktif yang dapat dimanfaatkan sebagai agen antibakteri serta merupakan langkah awal dalam penerapan konsep *green dentistry* serta *zero waste*.

Secara singkat, *green dentistry* merupakan keseluruhan konsep pemberian pelayanan kesehatan gigi mulut dengan pemanfaatan teknologi, prosedur, dan bahan dengan tidak hanya berfokus pada kesehatan pasien, tetapi juga lingkungan dan bumi. Pada dasarnya, *green dentistry* berasal dari konsep 4R (*reduce, recycle, reuse, replace*) yang bertujuan agar dapat mengurangi dampak lingkungan terhadap praktik dokter gigi (Rastogi *et al.*, 2014). Salah satu konsep utamanya berupa pengolahan limbah menjadi produk bermanfaat (*recycle*) yang dapat dilakukan dengan mengolah limbah kulit buah kopi sebagai hasil sampingan pengolahan kopi menjadi produk agar tidak menyebabkan pencemaran lingkungan. Konsep ini juga sejalan dengan konsep *zero waste* yang berfokus pada pencegahan sampah dengan memaksimalkan penggunaan suatu produk (Andini *et al.*, 2022). Hal ini tercermin dari pemanfaatan kulit buah kopi dari produksi biji kopi. Apabila konsep ini dilakukan secara maksimal, proses pengolahan kopi tidak akan menghasilkan limbah yang mencemari lingkungan karena dapat bermanfaat serta bernilai jual tinggi bagi masyarakat.

Untuk mendukung penggunaan kulit buah kopi sebagai penerapan *green dentistry*, penelitian sebelumnya telah membuktikan kemampuan antibakteri yang dimilikinya. Penelitian yang dilakukan oleh Ridwan Harahap, (2018) membuktikan bahwa kulit buah kopi robusta mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli*. Kulit buah kopi arabika juga terbukti memiliki kemampuan antibakteri dengan konsentrasi optimal 50% dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus* menggunakan *agar-well diffusion method* (Aulah *et al.*, 2020). Kemampuan antibakteri tersebut dipengaruhi oleh metabolit sekunder di dalam kulit buah kopi.

Metabolit sekunder pada kulit buah kopi berasal dari golongan alkaloid dan polifenol berupa flavonoid, tanin, asam hidroksinamat, serta saponin dan terpenoid dalam jumlah kecil (Rodríguez-Durán *et al.*, 2014; Sholichah *et al.*, 2019). Bahan aktif tersebut mempunyai mekanisme aktivitas antibakteri yang berbeda satu sama lain. Alkaloid memanfaatkan gugus basa nitrogen yang dimilikinya untuk berikatan dengan bakteri. Golongan polifenol bekerja dengan mengikat senyawa polar pada bakteri dengan ikatan hidrogen dari gugus hidroksilnya (Muchtaromah *et al.*, 2020). Flavonoid

dengan cincin aromatik pada strukturnya mampu menghambat sintesis asam nukleat, fungsi membran sel, dan metabolisme energi (Nomor *et al.*, 2019). Semua aktivitas antibakteri yang dimiliki menyebabkan terjadinya ketidakseimbangan pada bakteri sehingga aktivitas dan metabolisme terganggu yang berujung pada kematian bakteri.

Berbagai jenis bakteri sering kali menjadi penyebab utama terjadinya infeksi di rongga mulut, salah satunya yaitu *Lactobacillus acidophilus*. *L. acidophilus* merupakan bakteri asam laktat (BAL) bersifat kariogenik yang tersebar pada saliva, permukaan lidah, lesi karies, plak, dan mukosa yang mampu menghasilkan asam dan tahan terhadap lingkungan yang asam (Singh Ahirwar *et al.*, 2019). Terapi yang banyak digunakan untuk menghilangkan pelekatan *L. acidophilus* dengan permukaan rongga mulut biasanya menggunakan *chlorhexidine* sebagai obat kumur. Akan tetapi, apabila digunakan secara terus-menerus, *chlorhexidine* dapat menyebabkan pasien mengalami perubahan pengecap sementara, *stain* pada gigi, mukosa oral, dan bahan restorasi (Prahasanti, 2014). Dengan demikian, terapi dengan pemanfaatan bahan alam terutama limbah yang diduga memiliki efek samping minimal dapat menjadi opsi perawatan.

Hingga kini, penggunaan kulit buah kopi robusta dan arabika sebagai agen antibakteri terhadap pertumbuhan *L. acidophilus* menggunakan metode *agar-well diffusion* masih belum diteliti. Oleh karena itu, diperlukan penelitian secara menyeluruh mengenai kemampuan antibakteri yang dimiliki bahan tersebut.

## 1.2 Rumusan Masalah

Ekstrak kulit buah kopi robusta dan arabika terbukti memiliki kemampuan antibakteri terhadap beberapa kelompok bakteri. Namun, belum terdapat penelitian terhadap *L. acidophilus*. Oleh karena itu, dirumuskan masalah sebagai berikut,

- 1.2.1 Bagaimana kemampuan antibakteri ekstrak kulit buah kopi robusta dan arabika terhadap pertumbuhan *L. acidophilus*?
- 1.2.2 Bagaimana perbedaan kemampuan antibakteri ekstrak kulit buah kopi robusta dan arabika terhadap pertumbuhan *L. acidophilus*?

### **1.3 Tujuan Penelitian**

- 1.3.1 Menganalisis kemampuan antibakteri ekstrak kulit buah kopi robusta dan arabika terhadap pertumbuhan *L. acidophilus*.
- 1.3.2 Membandingkan kemampuan antibakteri ekstrak kulit buah kopi robusta dan arabika terhadap pertumbuhan *L. acidophilus*.

### **1.4 Manfaat Penelitian**

- 1.4.1 Memberikan kontribusi terhadap ilmu pengetahuan dalam bidang kedokteran gigi tentang kemampuan ekstrak kulit buah kopi robusta dan arabika terhadap pertumbuhan *L. acidophilus*.
- 1.4.2 Memberikan informasi ilmiah tentang perbandingan aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah kopi robusta dan arabika dalam menghambat pertumbuhan *L. acidophilus*.
- 1.4.3 Melengkapi informasi dalam pemanfaatan ekstrak kulit buah kopi robusta dan arabika tentang potensi antibakteri yang dimilikinya.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Kopi

Kopi berasal dari genus *coffea* dengan jenis tanaman semak belukar termasuk ke dalam komoditas unggulan perkebunan serta berperan penting dalam kegiatan perekonomian Indonesia. Sebagai produsen kopi ketiga terbesar di dunia, produksi kopi Indonesia tahun 2020 mencapai 762.380 ton kopi yang didominasi oleh kopi robusta dengan persentase sebesar 70,15% dan 29,85% untuk jenis kopi arabika (Direktorat Statistik Tanaman Pangan Hortikultura dan Perkebunan, 2021). Dua jenis kopi ini menjadi yang paling banyak dibudidayakan baik oleh perkebunan rakyat, swasta, maupun negara yang tersebar di seluruh Indonesia. Sumatera Selatan menjadi provinsi tertinggi penghasil kopi robusta dengan total rata-rata produksi 198,38 ribu ton (36,07%), diikuti oleh Lampung (21,28%), Bengkulu (11,18%), Jawa Timur (5,95%), dan Jawa Tengah (4,13%) (Kementerian Pertanian, 2022). Lain halnya dengan kopi robusta, Aceh dan Sumatera Utara menjadi dua provinsi dengan penghasil kopi arabika tertinggi dengan total rata-rata produksi 66,13 (32,03%) dan 66,05 ribu ton (31,98%) serta provinsi lainnya yaitu Sulawesi Selatan (12,27) dan Jawa Barat (5,62%) (Kementerian Pertanian, 2022).

Jawa Timur termasuk ke dalam salah satu provinsi yang cukup berkontribusi dalam memproduksi kopi dengan total produksi pada tahun 2020 sebesar 32.791 ton (robusta) dan 8.199 ton (arabika) (Direktorat Jenderal Perkebunan, 2020). Kontribusi terbesar penghasil kopi di Jawa Timur dimiliki oleh Kabupaten Malang, Banyuwangi, Jember, Bondowoso, Pasuruan, dan Lumajang. Pada tahun yang sama, Jember sendiri berhasil memproduksi 3.196 ton kopi robusta dan 1.215 kopi arabika. Kedua produksi jenis kopi ini setiap tahunnya terus mengalami perkembangan dikarenakan kopi memiliki nilai ekonomis dan peluang bisnis yang sangat menjanjikan terutama bagi para produsen kopi.

### 2.1.1 Habitat Kopi

Tanaman kopi termasuk ke dalam tumbuhan yang dapat tumbuh di mana saja pada iklim tropis. Tinggi tempat dan curah hujan merupakan dua syarat utama yang perlu diperhatikan dalam budidaya kopi (Soemarno, 2016). Oleh karena itu, kondisi lingkungan pada suatu daerah harus optimal bagi pertumbuhan agar kopi dapat tumbuh maksimal. Berikut persyaratan tumbuh optimum dari dua jenis kopi yang dominan ditanam di Indonesia:

Tabel 2.1 Syarat tumbuh tanaman kopi (Panggabean, 2019)

Syarat Tumbuh	Kopi Robusta	Kopi Arabika
<b>Iklim</b>		
Tinggi tempat	400-1.200 mdpl	1.000-2.100 mdpl
Suhu udara harian	20-28°C	16-22°C
Curah hujan rata-rata	2.000 mm/th	1.000-1.500 mm/th
Jumlah bulan kering	1-3 bulan/tahun	1-3 bulan/tahun
<b>Tanah</b>		
pH tanah	5-7	5-7
Kandungan bahan organik	minimal 2%	
Kedalaman tanah efektif	>100 cm	minimal 2%
Kemiringan tanah maksimum	40%	>100 cm 40%

Jember berada di ketinggian 0-3.000 mdpl dengan curah hujan antara 1.969-3.394 mm setiap tahunnya menjadikannya sebagai salah satu kabupaten dengan iklim yang sesuai untuk tempat tumbuhnya tanaman kopi (Pemerintah Kabupaten Jember, 2021). Suhu di Kabupaten Jember berkisar antara 23-31°C dengan level kemiringan tanah sebagian besar berada pada 0-2%. Selain itu, sebagian besar daerahnya disusun oleh tanah litosol dan regosol berwarna coklat kekuningan sehingga mempengaruhi tingkat kesuburan dan kedalaman tanah. Berbagai kondisi di atas menyebabkan tanaman kopi dapat tumbuh subur sehingga produksi kopi yang dihasilkan setiap tahunnya meningkat serta lebih tinggi daripada kabupaten lain di Jawa Timur.

### 2.1.2 Morfologi Buah Kopi

Kopi termasuk tanaman dikotil (berkeping dua) dengan akar tunggang yang tumbuh seperti tanaman semak belukar. Tanaman ini memiliki cabang primer

(plagiotrop) sebagai cabang utama yang menjadi tempat tubuh cabang sekunder, cabang reproduksi (ortotrop), cabang balik, dan cabang kipas (Panggabea, 2019). Bunga dan buah kopi dapat tumbuh dari hampir semua cabang, kecuali di cabang utama. Tanaman kopi dapat melakukan penyerbukan sendiri dan pada akhir musim hujan akan menghasilkan bunga serta buah yang matang pada akhir musim kemarau. Waktu yang dibutuhkan sejak tanaman kopi berbunga hingga siap dipanen sekitar 11 dan 7-9 bulan untuk kopi robusta dan arabika (Williams *et al.*, 2022). Oleh karena itu, petani dalam skala besar biasanya melakukan panen sekali dalam setahun.

Mulanya, buah kopi akan berwarna hijau muda, hijau tua, kuning dan akhirnya merah (ceri kopi) yang menandakan buah siap dipanen (Duangjai *et al.*, 2016). Ceri kopi robusta yang matang memiliki warna merah lebih gelap dan kecil serta membulat seperti bola dengan panjang 8-16 mm (Pure Inc., 2021). Sebaliknya, ceri kopi arabika berbentuk lebih panjang, ramping, dan seperti oval atau elips dengan panjang 12-18 mm. Kandungan air di dalam ceri kopi yang baru dipetik cukup tinggi serta memiliki rasa manis ketika langsung dikonsumsi.



Gambar 2.1 A) Ilustrasi percabangan tanaman kopi: a) cabang utama, b) cabang primer, c) cabang sekunder, d) cabang reproduksi, e) cabang balik, dan f) cabang kipas (Sumber: Panggabea 2019); B) Buah kopi robusta; C) Buah kopi arabika; D) Tingkat kematangan buah kopi (Sumber: Williams *et al.*, 2022)

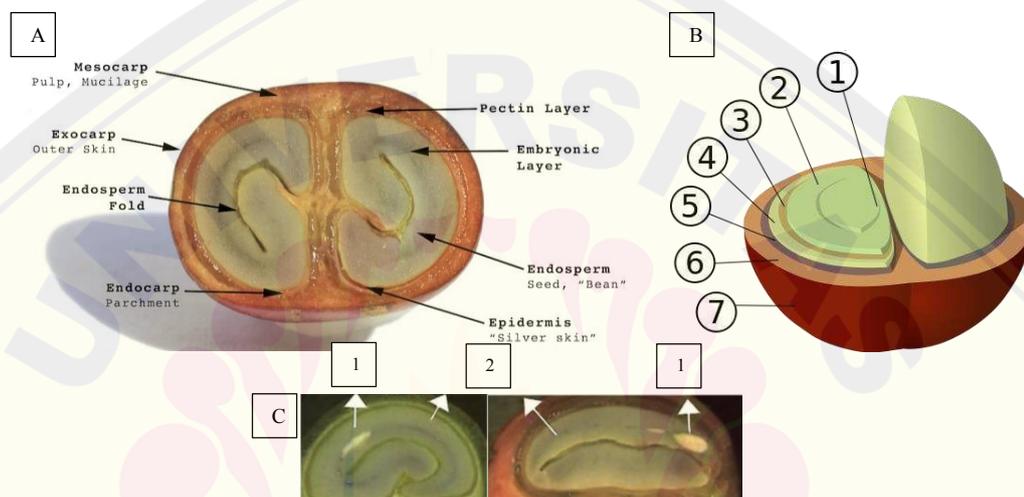
Buah kopi tersusun atas beberapa lapisan yang berbeda dengan fungsi dan kandungan yang berbeda-beda. Berikut morfologi dari buah kopi (Fintract University, 2018; Owen, 2020; Sepriyany, 2017)

- a. Perikarp. Bagian ini terdiri dari 3 lapisan, yaitu eksokarp (*skin*), mesokarp (*mucilage/pulp*), dan endokarp (*parchment*).
- b. Eksokarp (*skin*), yaitu lapisan terluar yang disebut kulit luar buah. Lapisan ini tersusun oleh sel parenkim dengan kloroplas pada masa awal pertumbuhannya sehingga buah kopi akan berwarna hijau. Warna kuning pada kulit kopi disebabkan oleh kandungan lutein, sedangkan warna merah ketika buah kopi telah matang disebabkan oleh pigmen antosianin yang terkandung di dalamnya.
- c. Mesokarp (*mucilage/pulp*). Mesokarp disebut kulit buah, ceri, atau daging buah kopi, merupakan lapisan yang menempel langsung dengan kulit terluar dan lapisan lendir (*pectin layer*) pada bagian dalam. Saat pemrosesan kopi dengan metode kering, lapisan ini tetap dibiarkan menyatu dengan biji kopi, tetapi akan dihilangkan pada metode basah. Ketika sudah matang, enzim peptolitik akan memecah rantai *pectic* menjadi gula dan pektin sehingga akan terasa manis (Sepriyany, 2017). Mesokarp terdiri dari air (84,2%), protein (8,9%), gula (4,1%), dan abu (0,7%) (Kurniawati, 2015).
- d. Endokarp (*parchment/kulit tanduk*). Bagian ini merupakan lapisan paling keras dari buah kopi dengan kandungan selulosa dan hemiselulosa yang melimpah.
- e. Tabel 2.2 Komposisi kandungan daging buah kopi matang (*fully ripe*)

Komponen	Jumlah (%)
Air	42,66
Serat	27,44
Gula	9,46
Tanin	8,56
Mineral	3,37
Lemak dan resin	1,18
Senyawa volatil	0,11
Lain-lain	6,82

- f. Biji Kopi. Biji kopi terdiri dari beberapa lapisan, yaitu kulit ari (*silver skin/spermoderm*), endosperm, dan embrio. Kulit ari (*silver skin*) merupakan lapisan tipis-halus yang terluar dengan tekstur agak keras yang menyelimuti dan membungkus sepasang biji kopi (*coffee bean/endosperm*). Lapisan ini dapat hilang

atau tetap ketika biji kopi di-*roasting*, tetapi kulit ari yang dihilangkan sebelum di-*roasting* akan berpengaruh pada rasa kopi yang dihasilkan. Endosperm merupakan jaringan utama dari biji kopi yang menjadi tempat utama penyimpanan berbagai kandungannya, baik larut maupun tidak larut lemak. Selain itu, bagian buah kopi inilah yang mempengaruhi perbedaan rasa dan aroma dari setiap jenis kopi masing-masing daerah. Embrio terdiri dari hipokotil dan kotiledon yang memanjang hingga 3-4 mm.



Gambar 2.2 Ilustrasi buah kopi A) potongan melintang; B) potongan membujur 1) *center cut*, 2) endosperm, 3) *silver skin*, 4) *parchment coat*, 5) *pectin layer*, 6) mesokarp, 7) eksokarp; C) potongan membujur 1) embrio dan 2) endosperm (Sumber: Owen, 2020).

### 2.1.3 Kopi Robusta

Kopi robusta (*Coffea canephora*) adalah kopi yang paling banyak di produksi serta di konsumsi di Indonesia. Sejarahnya, kopi ini paling terakhir ditumbuhkan karena bersifat lebih kuat terhadap gangguan hama dan penyakit dibandingkan arabika sehingga budidaya dan perawatan yang diperlukan oleh petani kopi lebih mudah. Di Indonesia, biji kopi robusta banyak dikonsumsi oleh masyarakat sebagai minuman, baik dalam bentuk siap saji ataupun racikan dengan kopi lain untuk memperkuat cita rasa minuman kopi. Cita rasa kopi robusta dianggap lebih kuat dan pahit daripada

arabika. Selain itu, kopi ini juga terbukti memiliki kemampuan antibakteri dan antioksidan karena kandungan bahan aktif berupa metabolit sekunder di dalamnya (Sholichah *et al.*, 2019).

#### A. Klasifikasi Kopi Robusta

Menurut Rahardjo, (2019) berikut klasifikasi kopi robusta,

- Kingdom : *Plantae* (tumbuhan)
- Subkingdom : *Tracheobionta* (tumbuhan berpembuluh)
- Super Divisi : *Spermatophyta* (tumbuhan penghasil biji)
- Divisi : *Magnoliophyta* (tumbuhan berbunga)
- Kelas : *Magnoliopsida* (tumbuhan berkeping dua/dikotil)
- Sub Kelas : *Asteridae*
- Ordo : *Rubiales*
- Famili : *Rubiaceae* (suku kopi-kopian)
- Genus : *Coffea*
- Spesies : *Coffea canephora var. robusta* (kopi robusta)

#### 2.1.4 Kopi Arabika

Di Indonesia, kopi arabika (*Coffea arabica L.*) merupakan kopi pertama yang dibudidayakan. Kopi ini awalnya banyak dibudidayakan, tetapi tanaman ini tidak bisa terhindar dari penyakit atau hama sehingga banyak petani kopi yang beralih dari budidaya arabika menjadi robusta. Sama halnya dengan kopi robusta, kopi arabika juga banyak dikonsumsi oleh masyarakat sebagai minuman seduhan setiap harinya. Cita rasa kopi arabika lebih lembut dan manis dibandingkan kopi robusta. Ekstrak kopi arabika juga terbukti memiliki aktivitas antibakteri dan antioksidan dikarenakan senyawa aktif yang terkandung di dalamnya (Sholichah *et al.*, 2019).

#### A. Klasifikasi Kopi Arabika

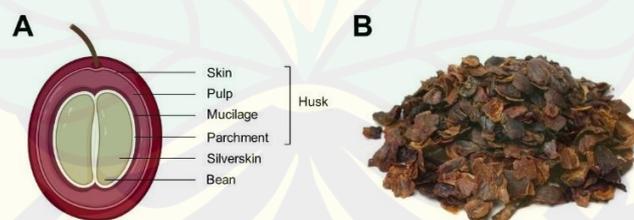
Menurut Rahardjo, (2019) berikut klasifikasi kopi arabika,

- Kingdom : *Plantae* (tumbuhan)
- Subkingdom : *Tracheobionta* (tumbuhan berpembuluh)
- Super Divisi : *Spermatophyta* (tumbuhan penghasil biji)

Divisi	: <i>Magnoliophyta</i> (tumbuhan berbunga)
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i> (Tumbuhan berkeping dua/dikotil)
Sub Kelas	: <i>Asteridae</i>
Ordo	: <i>Rubiales</i>
Famili	: <i>Rubiaceae</i> (suku kopi-kopian)
Genus	: <i>Coffea</i>
Spesies	: <i>Coffea arabica</i> L. (kopi arabika)

## 2.2 Kulit Buah Kopi

Pengolahan kopi pasca panen dibedakan menjadi dua proses, yaitu dengan cara basah (*fully-wet process*) dan cara kering (*dry process*). Metode cara basah dimulai dari panen buah kopi, penerimaan, pemisahan buah matang dan tidak layak dengan penggunaan air serta dilakukan pengupasan kulit buah basah (*pulping*). *Pulping* dilakukan menggunakan mesin *pulper* hingga menghasilkan *coffee pulp*. Lapisan *parchment* pada proses cara basah tetap menempel pada biji kopi. Namun, pengolahan cara kering dilakukan dengan menjemur ceri kopi di bawah sinar matahari yang dilanjutkan dengan proses pemisahan biji dengan kulit kopi (*hulling*) hingga menghasilkan *coffee husk* (Rebollo-Hernanz *et al.*, 2021). *Coffee husk* terdiri dari kulit luar, *pulp*, *mucilage*, *parchment*, dan *silver skin*. *Coffee pulp* dan *husk* yang dihasilkan dari proses pengolahan kopi dianggap sebagai limbah yang berpotensi menyebabkan pencemaran lingkungan karena tidak dimanfaatkan secara maksimal.



Gambar 2.3 A) Ilustrasi anatomi buah kopi; B) *Coffee husk* hasil proses *hulling*

Pengolahan kopi menghasilkan produk sampingan yang dianggap sebagai limbah oleh sebagian besar petani. Empat macam limbah kopi yang dihasilkan baik dengan

cara kering maupun basah, yaitu kulit buah basah, kulit gelondong kering, cangkang kering, dan limbah cair yang mengandung lendir (Widyotomo, 2013). Sebanyak  $\pm 29$  kg gelondong kering berupa biji kopi (15,95 kg) dan kulit gelondong kering (13,05 kg) akan dihasilkan dari pengolahan 100 kg buah kopi cara kering. Hal tersebut setara dengan produksi  $\pm 200$  kg kulit kopi kering dari 1 ton buah basah hasil panen. Apabila menggunakan cara basah, limbah kering yang dihasilkan mencapai 43% bobot air beserta limbah cair berisi air dan lendir sebanyak 20 liter/kg biji kopi hijau (Juwita, Mustafa, dan Tamrin, 2017). Penelitian lain juga melaporkan bahwa dari setiap 1 kg buah kopi yang diproses akan menghasilkan 300 gram limbah kulit buah kopi (1:0,3) atau setiap kilogram biji kopi akan dihasilkan pula satu kilogram kulit kopi (Indra Wardhana *et al.*, 2019; Ridwan Harahap, 2018). Jumlah kulit kopi yang dihasilkan akan semakin melimpah yang diikuti dengan meningkatnya pula produksi kopi, terutama di jember.

Sebagian besar petani kopi khususnya di area Jember juga masih menganggap kulit buah kopi sebagai limbah yang tidak dapat dimanfaatkan dan bernilai ekonomi rendah (Harsono 2022). Pemanfaatan kulit buah kopi oleh petani hanya digunakan sebatas untuk pakan ternak dan pupuk tanaman atau bahkan dibuang secara langsung tanpa pengolahan terlebih dahulu (Rochmah, Kresnanda, dan Asyidiq, 2021). Bahkan, pemanfaatan tersebut dinilai tidak efisien dan maksimal dikarenakan jumlah yang digunakan sangat sedikit dan tidak sebanding dengan jumlah limbah yang dihasilkan. Keterbatasan ini terjadi dikarenakan rendahnya pengetahuan diikuti dengan minimnya informasi tentang manfaat limbah kopi dan keterampilan masyarakat untuk mengolah limbah kopi menjadi produk bernilai ekonomis yang diikuti dengan rendahnya pula kesadaran masyarakat menjaga lingkungan dari pencemaran limbah kopi (Novita, Fathurrohman, dan Pradana, 2019). Padahal, sebagai produk sampingan, kulit kopi memiliki kandungan senyawa antibakteri dan antioksidan dalam jumlah cukup banyak yang sangat berpotensi untuk dimanfaatkan menjadi berbagai produk bernilai ekonomis tinggi.

### 2.2.1 Kandungan Kulit Buah Kopi

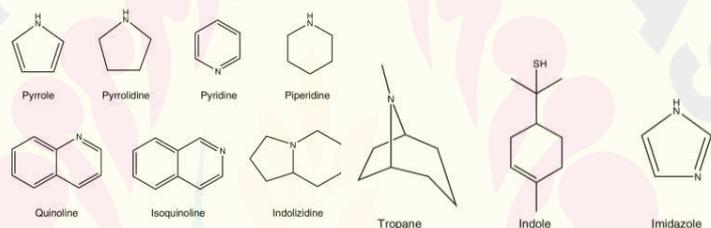
Berbagai manfaat yang dapat diambil dari sebuah tanaman tergantung dari kandungan yang dimilikinya. Kulit buah kopi dapat dimanfaatkan sebagai penghasil kafein, polifenol, dan bioetanol serta digunakan sebagai agen antibakteri dan antioksidan (Bonilla-Hermosa, Duarte, dan Schwan, 2014; Sholichah *et al.*, 2019). Kandungan polifenol terbesar dari kulit kopi adalah dari *flavan-3-ols* (katekin), flavonol, antosianidin, dan asam hidroksinat dengan golongan terbesarnya dari asam klorogenat dan asam kafeat, sedangkan asam ferulat dan asam P-kumarat dalam jumlah kecil (Rodríguez-Durán *et al.*, 2014). Asam klorogenat, kafein, asam kuintat, dan asam malik terbukti memiliki sifat antibakteri dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme, terutama bakteri gram positif (Duangjai *et al.*, 2016). Senyawa golongan alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan antosianin, epikatekin, rutin, serta terpenoid dalam jumlah sedikit juga terdapat di dalam kulit buah kopi (Oliveira dan Franca, 2015; Ridwan Harahap, 2017). Senyawa aktif tersebut terbukti memiliki aktivitas antibakteri seperti yang dinyatakan oleh Sulaiman *et al.*, (2017) dalam penelitiannya.

Kulit buah kopi robusta dan arabika memiliki kandungan yang berbeda, walaupun berasal dari genus tanaman yang sama. Kulit buah kopi robusta mengandung alkaloid, polifenol, flavonoid, dan sedikit terpenoid serta saponin dan tanin (Mahbubah, Fitrianiingsih, dan Choesrina, 2020; Ridwan Harahap, 2017). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Ridwan Harahap, (2018), kulit buah kopi robusta terbukti memiliki kemampuan antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli*. Penelitian oleh Rante *et al.*, (2021) juga membuktikan hal yang sama terhadap *E. coli* dan *B. Subtilis* secara signifikan. Namun, menurut Munira *et al.*, (2020), kulit buah kopi arabika hanya mengandung alkaloid, polifenol, flavonoid, dan terpenoid dalam jumlah lebih sedikit. Terlepas dari lebih sedikitnya kandungan yang dimilikinya, tanaman ini juga terbukti signifikan menghambat pertumbuhan beberapa bakteri, seperti *S. aureus*, *S. epidermis*, *P. aeruginosa* dan *E. coli* (Aulah *et al.*, 2020; Duangjai *et al.*, 2016). Dengan demikian, pemanfaatan limbah kopi ini perlu dimaksimalkan mengingat

tingginya potensi dan banyaknya manfaat yang dapat diambil terutama oleh masyarakat.

Berikut kandungan yang terdapat di dalam kulit buah kopi dengan kemampuan antibakteri yang dimilikinya,

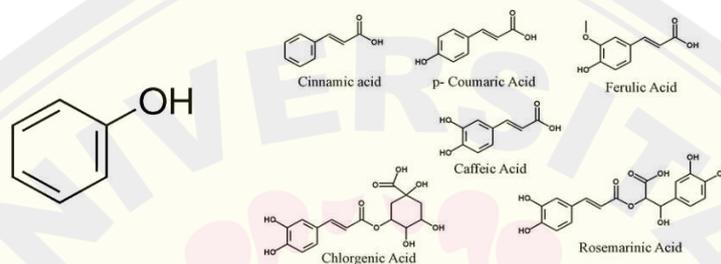
- a. Alkaloid. Alkaloid (mirip alkali) merupakan salah metabolit sekunder pada tumbuhan yang termasuk basa lemah. Alkaloid tersusun atas cincin heterosiklik dengan gugus atom nitrogen pada strukturnya dengan satu inti kerangka piridin, quinolon, dan isoquinolin atau tropan. Selain itu, rantai samping alkaloid berupa turunan dari terpena atau asetat sehingga bagi manusia dan hewan, senyawa ini dapat memberikan dampak secara fisiologis. Pelarut yang cocok untuk ekstraksi alkaloid yaitu pelarut organik non polar seperti dietil eter dan kloroform serta alkohol, tetapi kurang larut dalam air. Contoh senyawa golongan alkaloid adalah kafein, tetapi bukan berupa turunan dari asam amino.



Gambar 2.4 Struktur kimia alkaloid golongan *true alkaloid* (heterosiklik)

Aktivitas antibakteri yang dimiliki alkaloid terletak pada kemampuannya yang dapat menghambat kerja enzim bakteri (Rosidah *et al.*, 2014). Hambatan ini diperantarai oleh ikatan antara atom nitrogen pada gugus fungsinya dengan bakteri hingga menyebabkan terganggunya sintesis protein sehingga metabolisme bakteri terganggu yang berujung pada kematian. Anggraini *et al.*, (2019), juga menyatakan bahwa senyawa ini memiliki kemampuan dalam merusak peptidoglikan dinding sel sehingga susunannya tidak sempurna dan menyebabkan lisisnya struktur tersebut.

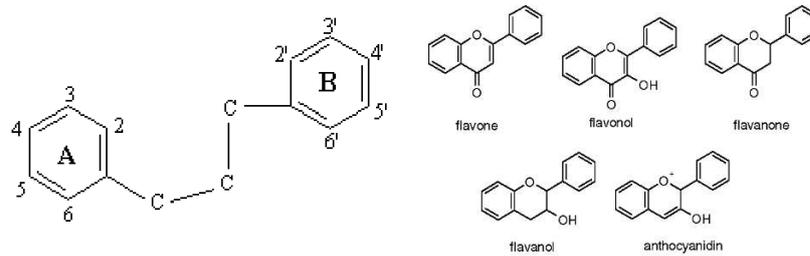
- b. Senyawa Fenolik. Senyawa ini tersusun atas cincin aromatik dengan satu (fenol) atau lebih (polifenol) gugus hidroksil pada strukturnya. Senyawa fenolik termasuk metabolit sekunder tumbuhan yang dapat larut dalam pelarut polar serta sangat mudah teroksidasi oleh basa kuat. Kelompok besar senyawa fenolik berasal dari golongan fenolpropanoid, fenol sederhana dan asam fenolat, flavonoid, dan tanin. Asam hidroksinat termasuk golongan senyawa fenil propanoid, yaitu senyawa turunan fenil alanin. Golongan ini tersusun atas kerangka dasar karbon berupa cincin benzena (C<sub>6</sub>) dengan ikatan rantai karbon propana (C<sub>3</sub>) pada ujungnya.



Gambar 2.5 Senyawa fenol dan turunan senyawa asam hidroksinat

Senyawa fenolik dapat mencegah sintesis dinding sel dan menghambat fungsi membran sel (Hidayah *et al.*, 2017). Gugus hidroksil senyawa fenol dapat berikatan dengan peptidoglikan dinding sel sehingga mencegah pembentukan penggabungan ikatan asam N-asetilmuramat dengan peptida. Hal ini menyebabkan sintesis dinding sel terhambat serta tidak terbentuk secara sempurna. Senyawa fenol juga dapat berikatan dengan struktur fosfolipid membran sel bakteri sehingga permeabilitas membran meningkat menyebabkan terganggunya keseimbangan di dalam sel yang diikuti dengan keluarnya makromolekul dan komponen intraseluler lainnya dari dalam sel.

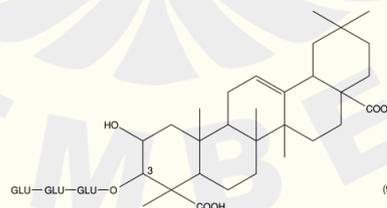
- c. Flavanoid. Flavanoid tersusun atas lima belas atom karbon dengan bentuk ikatan C<sub>5</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>. Senyawa ini berasal dari biosintesis jalur asam asetat mevalonat dan jalur asam sikimat. Berdasarkan strukturnya, flavanoid dikelompokkan menjadi, kalkon, flavon, flavonol, flavanon, antosianin, dan isoflavon.



Gambar 2.6 Kerangka dasar flavonoid dan klasifikasi alkaloid berdasarkan strukturnya

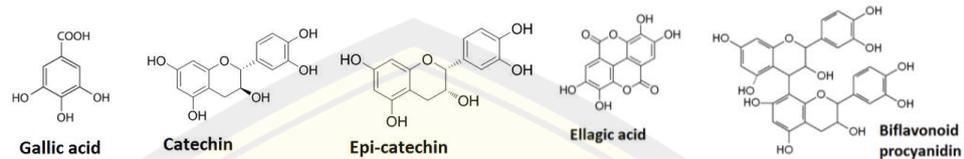
Flavonoid bekerja dengan cara menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel, dan menghambat metabolisme bakteri (Nomer *et al.*, 2019). Sintesis DNA dan RNA bakteri terhambat dikarenakan terjadi penumpukan basa asam nukleat. Selain itu, membran sel juga berhasil dirusak oleh flavonoid sehingga semua materi di dalam sel keluar yang berujung pada kematian sel. Dalam menghambat metabolisme energi, senyawa ini mampu mengubah membran luar sitoplasma menyebabkan terganggunya transpor nutrisi dan metabolit bakteri. Hal ini dapat menghambat pasokan energi untuk bakteri sehingga metabolisme tidak terjadi. Aktivitas transpeptidase peptidoglikan juga mengalami gangguan sehingga dinding sel yang rusak tidak mampu menahan tekanan osmotik sebesar 5-20 atm dari dalam sel (Rosidah *et al.*, 2014). Akibatnya, semua komponen penting di dalam sel keluar hingga terjadinya lisis bakteri.

- d. Saponin. Saponin termasuk metabolit sekunder tumbuhan yang mampu mengikat gula dengan ikatan glikosida sehingga tergolong senyawa glikosida. Senyawa ini bersifat seperti detergen dengan cara meningkatkan permeabilitas membran bakteri (Rosidah *et al.*, 2014). Hal ini menyebabkan ketidakstabilan pada membran sel dan terkeluarnya komponen intraseluler dari sitoplasma mengakibatkan hemolisis sel bakteri.



Gambar 2.7 Struktur saponin

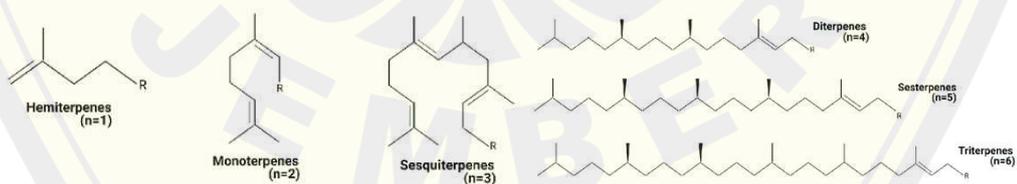
- e. Tanin. Tanin termasuk senyawa fenolik yang mencakup senyawa polifenol berukuran besar. Senyawa ini tersusun atas banyak gugus fungsi hidroksil yang berikatan kuat dengan protein dan makromolekul. Tanin terhidrolisis dan terkondensasi merupakan kelompok klasifikasi tanin yang terdiri dari asam galat dan asam elagat beserta turunannya berupa katekin, flavan-3,4-diol, dan flavonol.



Gambar 2.8 Contoh senyawa tanin terhidrolisis dan terkondensasi

Sebagai agen antibakteri, tanin bekerja dengan cara menghambat sintesis dinding sel dan mengganggu fungsi membran sel bakteri (Farha *et al.*, 2020). Senyawa ini mampu menonaktifkan enzim untuk sintesis dinding sel serta berikatan langsung pada peptidoglikan menyebabkan struktur dinding tidak kuat dan rentan terhadap tekanan. Selain itu, tanin mampu mempengaruhi membran sel dengan meningkatkan permeabilitasnya. Kemampuan ini diperantarai oleh ikatan hidrogen yang terjadi menyebabkan permeabilitas membran sel meningkat dan kerusakan terjadi yang ditandai dengan adanya peningkatan ion  $K^+$  serta terkeluarnya komponen intraseluler dari sitoplasma.

- f. Terpenoid. Terpenoid merupakan komponen utama dari minyak atsiri dan kelompok senyawa organik hidrokarbon dengan struktur alisiklik. Senyawa ini terdiri dari ikatan rangkap oleh senyawa tak jenuh atau non polar sehingga rentan alami reaksi adisi dengan produk lainnya yang memiliki sifat antiseptik. Terpenoid memiliki kelarutan yang tinggi dalam pelarut organik, dan sebaliknya pada air.



Gambar 2.9 Jenis *terpene* berdasarkan jumlah karbon

Mekanisme kerja terpenoid terjadi dengan cara merusak ikatan senyawa lipofilik pada membran sel bakteri (Wulansari *et al.*, 2020). Rusaknya ikatan ini menyebabkan permeabilitas membran sel meningkat mengakibatkan seluruh komponen intraseluler keluar dari sel sehingga aktivitas sel bakteri tidak dapat berlangsung yang berujung dengan kematian sel.

### 2.3 *Lactobacillus acidophilus*

*Lactobacillus acidophilus* termasuk kelompok kokus Gram positif bersifat anaerob fakultatif. Bakteri ini merupakan flora normal rongga mulut, saluran pencernaan, dan vagina (Samaranayake dan Lakshman 2018). Di dalam rongga mulut, *L. acidophilus* tersebar pada saliva, permukaan lidah, lesi karies, plak, dan mukosa yang dapat menghasilkan asam (asidogenik) serta tahan terhadap asam (asidurik). *L. acidophilus* juga merupakan bakteri kariogenik dengan patogenitas berupa hidrofobisitas, kemampuan adhesi dan koagregasi pada permukaan gigi, serta produksi eksopolisakarida yang berperan penting dalam terjadinya karies (Singh Ahirwar *et al.*, 2019). Namun, pada saluran pencernaan, *L. acidophilus* memiliki peran yang berbeda, yaitu sebagai probiotik. Bakteri ini dapat memproduksi bakteriosin yang dapat merangsang pembentukan antibodi serta dimanfaatkan sebagai antimodulator dan antidiare (Rusli *et al.*, 2018).

#### 2.3.1 Klasifikasi *L. acidophilus*

Kingdom	: <i>Bacteria</i>
Divisi	: <i>Firmicutes</i>
Kelas	: <i>Bacilli</i>
Ordo	: <i>Lactobacillales</i>
Famili	: <i>Lactobacillaceae</i>
Genus	: <i>Lactobacillus</i>
Spesies	: <i>Lactobacillus acidophilus</i>

### 2.3.2 Morfologi *L. acidophilus*

*L. acidophilus* pada pengamatan di bawah mikroskop berbentuk batang dengan ujung membulat pada kedua tepinya. Bakteri ini dapat muncul sendiri, berpasangan, atau berantai pendek berukuran 0,6-0,9 x 1,5-6  $\mu\text{m}$  (Shori *et al.*, 2019). *L. acidophilus* termasuk bakteri homofermentatif dan anaerob fakultatif yang hanya menghasilkan asam laktat pada proses metabolismenya, tidak memiliki flagel, non motil, serta tidak membentuk spora. Suhu optimum pertumbuhannya pada 35-38°C serta tingkat keasaman pH 5,5-6 (Gao *et al.*, 2022). Dinding sel *L. acidophilus* terbentuk dari lapisan peptidoglikan tebal yang disertai dengan *S-layer* yang menutupi seluruh dinding sel bakteri. Lapisan tersebut berfungsi sebagai media adhesi bakteri ke permukaan gigi yang berperan penting dalam terjadinya karies (Singh Ahirwar *et al.*, 2019).

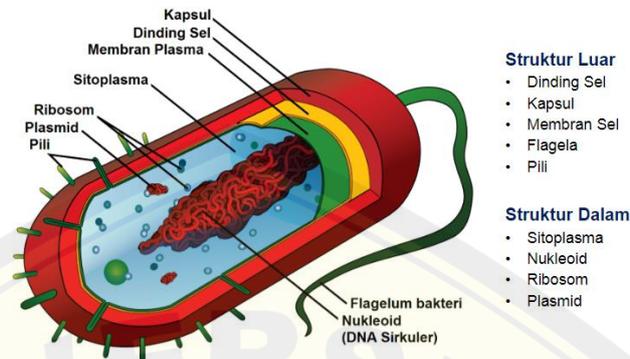
*L. acidophilus* akan tampak berwarna ungu pada pewarnaan Gram sehingga diklasifikasikan sebagai bakteri Gram positif. Hal tersebut dikarenakan lapisan tebal peptidoglikannya mampu menyerap dan menjerat warna kristal violet serta safranin walaupun setelah dilakukan pelunturan dengan alkohol (Putri *et al.*, 2018). Dalam media agar, koloni *L. acidophilus* tampak berwarna putih, berbentuk bulat dengan permukaan yang cembung dan halus, tepinya rata serta tidak tembus cahaya dengan ukuran yang bervariasi (Hakim RF, Fakhurrazi, 2018; Putri *et al.*, 2018).



Gambar 2.10 Gambaran *L. acidophilus* dengan A) pewarnaan Gram, B) media MRSA, dan C) Scanning Electron Micrograph (SEM) (Sumber: Prabhurajeshwar dan Chandrakanth 2019; Singh dan Sarma 2010)

### 2.3.3 Struktur Sel Bakteri

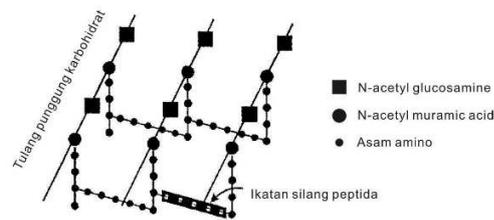
Struktur bakteri dapat diamati secara jelas dengan menggunakan mikroskop elektron (ME). Berikut susunan struktur penyusun bakteri,



Gambar 2.11 Struktur sel bakteri

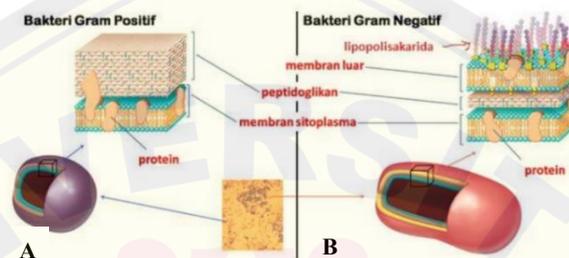
#### a. Dinding Sel

Struktur ini merupakan lapisan paling luar yang tidak mengandung enzim, tetapi berfungsi sebagai pelindung bakteri dan bertanggung jawab atas bentuk sel. Lapisan ini berfungsi untuk pembelahan sel, biosintesis dinding sel, dan antigenik. Dinding sel merupakan lapisan kompleks dengan peptidoglikan yang tersusun oleh *N-acetyl glucosamine* (NAG) dan *N-acetyl muramic acid* (NAM). NAM tersusun dari peptida yang terdiri dari empat asam amino, yaitu L-alanin, D-alanin, asam D-glutamat, dan lisin atau asam diaminopimelat (Boleng, 2015). Peptida NAM akan berikatan silang satu sama lain serta berselang-seling dengan NAG membentuk peptidoglikan yang kaku dan kokoh serta tahan terhadap gangguan mekanis (Fardiaz, Srikandi, 2014). Namun, ikatan tersebut tidak padat sehingga masih dapat dilewati oleh air, mineral, glukosa, dan molekul lainnya (Rini dan Rochmah, 2020). Selain itu, bentuk dan ukuran dari bakteri juga dipertahankan oleh dinding sel karena adanya tekanan osmotik internal yang dimilikinya.



Gambar 2.12 Struktur peptidoglikan

Berdasarkan kandungan dinding selnya, bakteri dibedakan menjadi dua jenis, yaitu bakteri Gram positif dan negatif.



Gambar 2.13 Perbedaan dinding bakteri A) Gram positif dan B) negatif

Tabel 2.3 Perbedaan dinding bakteri Gram positif dan Gram negatif

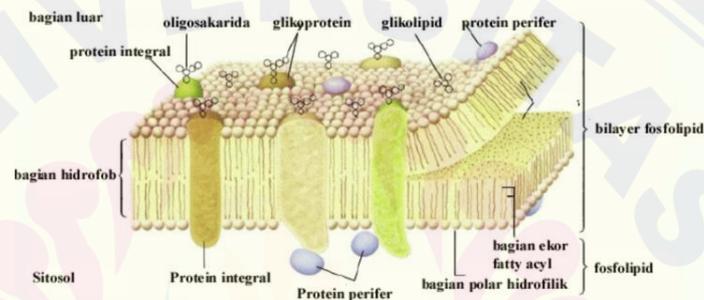
Gram Positif	Gram Negatif
Lapisan peptidoglikan tebal dengan asam teikoat pada lapisan luarnya	Lapisan peptidoglikan tipis dengan membran luar berupa lipoprotein, fosfolipid, dan lipopolisakarida (LPS)
Peptidoglikan yang tebal menyebabkan bentuk lebih kaku dan kokoh serta tahan kerusakan mekanis, tetapi rentan terhadap antibiotik penisilin	Dinding sel tidak rentan antibiotik dikarenakan terdapat struktur LPS yang bersifat toksik
Dinding sel tebal (15-80 nm)	Dinding sel tipis (10-15 nm)
Menyerap pewarna dasar yaitu kristal violet pada pewarnaan Gram sehingga berwarna ungu saat diwarnai	Tidak menyerap pewarna dasar, tetapi menyerap pewarnaan safranin sehingga berwarna merah saat diwarnai

b. Membran Sitoplasma

Membran sitoplasma atau membran sel adalah lapisan tipis bersifat semipermeabel dengan susunan *fosfolipid bilayer*. Membran ini berfungsi sebagai tempat transpor bahan makanan dan tempat transpor elektron dan fosforilasi oksidatif karena bersifat permeabilitas selektif, tempat biosintesis DNA karena mengandung enzim dan molekul pembawa, dan mengandung reseptor dan protein

yang berfungsi dalam sistem kemotaksis (Boleng, 2015). Mekanisme molekul yang dapat melewati membran sitoplasma melalui proses difusi dan osmosis.

Lapisan ini tersusun atas 60% protein dan 40% lemak berbentuk *fosfolipid bilayer* yang terdiri atas lipid, protein, dan karbohidrat (Fardiaz, Srikandi, 2014). Lapisan ini mengandung gugus polar yang bersifat hidrofilik berupa kepala yang mengarah keluar serta gugus nonpolar yang bersifat hidrofobik berupa ekor di bagian tengah lapisan. Membran sitoplasma juga terdiri dari protein membran, berupa membran integral serta membran perifer yang berikatan dengan lipid dan permukaan membran dengan ikatan nonkovalen. Protein membran ini berfungsi sebagai transporter, reseptor, dan enzim.



Gambar 2.14 Struktur membran sel bakteri

c. Mesosom

Membran sitoplasma yang mengalami invaginasi ke dalam sel disebut mesosom dengan bentuk yang berlipat-lipat. Lapisan ini berfungsi sebagai tempat pengatur pembelahan sel dan sintesis dinding sel. Selain itu, bagi bakteri yang melakukan fotosintesis, mesosom merupakan tempatnya serta merupakan tempat pembelahan nukleoid (Rini dan Rochmah, 2020).

d. Sitoplasma

Sitoplasma merupakan protoplasma atau plasma sel yang mudah menghisap warna yang bersifat basa. Struktur ini merupakan koloid yang di dalamnya banyak mengandung karbohidrat, protein, enzim, sulfur, kalsium karbonat, serta volutin dengan *ribonucleic acid* (RNA). Pada sel prokariotik, sitoplasma berfungsi sebagai

tempat respirasi (Fardiaz, Srikandi, 2014). Di dalam sitoplasma terdapat nukleoid, ribosom, dan granula atau badan inklusi yang berfungsi sebagai cadangan nutrisi (Rini dan Rochmah, 2020). Badan inklusi dari setiap bakteri berbeda-beda sehingga dapat digunakan sebagai metode identifikasi bakteri.

e. Nukleoid

Nukleoid pada sel prokariot merupakan suatu struktur tidak bermembran berisi molekul DNA yang membentuk kromosom sebagai tempat menyimpan materi genetik bakteri. Struktur ini tidak dapat melakukan meiosis ataupun mitosis karena hanya berupa masa amorf lobuler yang terdiri dari banyak kromatin fibriler. Fibril ini membentuk rantai panjang sepanjang 1400 nm, tipis berukuran 3 nm, fleksibel, dan juga sirkuler yang disebut dengan kromosom bakteri (Rini dan Rochmah, 2020). Selain itu, bakteri juga memiliki plasmid berupa DNA berisi materi genetik tidak penting berbentuk lingkaran kecil yang dapat dimusnahkan atau dihilangkan dari dalam sel tanpa menyebabkan kematian sel.

f. Ribosom

Ribosom merupakan unit sintesis protein yang tersusun oleh dua subunit berupa protein dan *ribosomal* RNA (rRNA). Sel prokariot memiliki ribosom yang lebih sedikit jumlahnya dengan kepadatan yang lebih rendah daripada sel eukario yang disebut 70S (Boleng, 2015).

#### 2.3.4 Peran *L. acidophilus* dalam Karies

*L. acidophilus* merupakan flora normal rongga mulut yang tersebar di saliva, dorsum lidah, mukosa mulut, palatum, dan bahkan dental plak. Namun, ketika keseimbangan rongga mulut terganggu karena kebersihan rongga mulut yang buruk, waktu, serta konsumsi gula berlebih, bakteri tersebut dapat berubah menjadi patogen yang menyebabkan penyakit bagi manusia, terutama karies. Keberadaan *L. acidophilus* di rongga mulut dapat dijadikan sebagai salah satu parameter untuk memprediksi tingkat kerentanan seseorang terhadap karies. Seiring dengan meningkatnya karies pada individu, hasil perhitungan *L. acidophilus* juga meningkat yang diikuti dengan tingginya aktivitas karies. Selain itu, ketika nilai DMF pada individu tinggi, hasil

perhitungan *L. acidophilus* juga akan meningkat (Singh Ahirwar *et al.*, 2019). Hal tersebut mengindikasikan bahwa *L. acidophilus* berhubungan langsung dengan karies.

*L. acidophilus* memiliki beberapa sifat kariogenik khusus dalam patogenesis karies. Berikut beberapa karakteristik yang dimiliki *L. acidophilus* dalam proses terjadinya karies, (Singh Ahirwar *et al.*, 2019)

- a. Pertama, *L. acidophilus* merupakan bakteri asam laktat (BAL) homofermentatif yang mampu memproduksi asam (asidogenik) sebagai hasil akhir dari fermentasi karbohidrat. *L. acidophilus* tidak memiliki sitokrom, *porphyrin*, dan enzim respiratori sehingga tidak dapat melakukan metabolisme dengan jalur fosforilasi oksidatif ataupun pernapasan. Dengan demikian, *L. acidophilus* menggunakan karbohidrat sebagai substrat untuk melakukan proses metabolismenya yaitu fermentasi. Asam yang dihasilkan dari fermentasi dapat menurunkan pH rongga mulut hingga di bawah 4,5. Kondisi lingkungan rongga mulut yang terus-menerus asam menyebabkan gigi tidak dapat mengalami remineralisasi sehingga menyebabkan enamel dan bahkan dentin terus larut.
- b. Kedua, bakteri ini dapat hidup dalam pH rendah sampai dengan pH 2,2 (asidurik). Dalam lingkungan tersebut, *L. acidophilus* dapat terus tumbuh dan melakukan proses metabolismenya. Seiring berjalannya waktu, bakteri ini dapat terus merusak struktur gigi hingga terbentuknya kavitas dan karies pada gigi.
- c. Ketiga, kemampuan hidrofobisitas. Kemampuan tersebut membantu *L. acidophilus* dalam proses adhesi pada permukaan gigi dengan cara menghindar atau menjauh dari media cair yang dapat mengganggu adhesi. Adhesi ini merupakan langkah awal dalam pembentukan biofilm hingga terbentuknya dental plak.
- d. Keempat, memiliki afinitas transpor pada pH rendah dalam pengambilan substrat. Hal tersebut menyebabkan *L. acidophilus* dapat terus bertahan dalam plak gigi dan daerah yang mengalami karies serta terus dapat merusak lapisan gigi dari asam yang dihasilkannya.
- e. Kelima, produksi matriks eksopolisakarida. *L. acidophilus* dapat menghasilkan sebuah protein berupa polimer dengan berat molekul tinggi yang terdiri dari unit

sakarida berulang yang dihubungkan dengan ikatan  $\alpha$  dan  $\beta$ -glikosidik. Protein ini bersifat lengket dan berperan penting dalam proses adhesi bakteri ke dental plak.

- f. Keenam, *S-layer* protein pada dinding sel *L. acidophilus*. Secara umum, adaptasi bakteri terhadap perubahan lingkungannya dipengaruhi oleh struktur terluar yang dimiliki oleh bakteri tersebut. Fungsi *S-layer* protein pada *L. acidophilus* secara biologis masih belum diketahui secara pasti, tetapi struktur ini diduga berperan penting dalam adhesi bakteri ke sel inang. Selain itu, struktur ini juga membantu adaptasi bakteri terhadap perubahan hidrofobisitas pada lingkungan rongga mulut, yaitu seperti perubahan pH.

## 2.4 Antibakteri

Antibakteri atau bahan antimikrobal merupakan agen yang mampu menghambat ataupun membunuh pertumbuhan bakteri (Pelczar Jr *et al.*, 2012). Bahan antibakteri haruslah bersifat toksisitas selektif, yaitu konsentrasi bahan yang digunakan hanya bersifat toksik bagi bakteri patogen dan tidak untuk sel inang (Riedel *et al.*, 2019). Bahan ini masih dapat ditoleransi oleh sel inang, tetapi sudah memberikan kerusakan pada bakteri.

### 2.4.1 Mekanisme Aktivitas Antibakteri

Berikut beberapa mekanisme dari aktivitas antibakteri, (Riedel *et al.*, 2019)

#### a. Menghambat sintesis dinding sel

Bentuk dinding sel yang kaku, kokoh, dan tidak berubah-ubah dipengaruhi oleh ikatan peptidoglikan. Adanya kerusakan atau hambatan pada sintesis dinding sel dapat menyebabkan lisisnya sel. Bakteri Gram positif akan mengalami *protoplast* apabila berada pada lingkungan hipertonik sehingga berbentuk *spherical*. Namun, ketika *protoplast* diletakkan pada lingkungan isotonik, bakteri akan kembali menyerap cairan dari lingkungan sekitarnya sehingga sel bengkak dan terjadi lisis.

#### b. Menghambat atau mengganggu fungsi membran sel

Membran sel berfungsi sebagai membran permeabilitas selektif yang memfasilitasi terjadinya transpor aktif sel serta mengontrol dan memelihara

integritas komponen intraseluler bakteri. Apabila terganggu, semua komponen di dalam intraseluler akan terdesak keluar sehingga membran tidak dapat mempertahankan integritasnya serta berujung pada kerusakan permanen dan kematian sel bakteri.

c. Menghambat atau mengganggu sintesis protein sel

Ribosom 70S merupakan struktur milik sel prokariot yang berfungsi sebagai unit sintesis protein. Hambatan pada unit tersebut menyebabkan terjadinya penumpukan asam amino karena ribosom tidak dapat membentuk protein sehingga keseluruhan aktivitas bakteri berhenti yang berujung pada kematian sel. Selain itu, bahan antibakteri juga dapat mendenaturasi protein, yaitu suatu struktur tersier asam nukleat yang terdiri dari sebuah lipatan tiga dimensi dari interaksi antara ikatan ionik, hidrofobik, dan hidrogen (Pelczar Jr *et al.*, 2012). Proses tersebut menyebabkan protein mengalami koagulasi yang bersifat *irreversible*.

#### 2.4.2 Metode Uji Aktivitas Antibakteri

Aktivitas antibakteri dapat diukur secara *in-vitro* dan *in-vivo*. Tujuan pengukuran ini adalah untuk menentukan potensi senyawa antibakteri dan konsentrasinya di dalam larutan serta menentukan tingkat kepekaan dari bakteri tertentu terhadap konsentrasi dari senyawa antibakteri yang digunakan. Berikut uji antibakteri secara *in-vitro*,

a. Difusi

1) *Agar paper-disk-diffusion method*.

Metode ini menggunakan kertas cakram (*paper-disk*) berukuran 6 mm berisi senyawa uji yang telah berdifusi ke dalam kertas. Kertas cakram tersebut kemudian ditempelkan secara sempurna sesuai dengan ketentuan ke dalam media agar yang telah diinokulasikan bakteri sebelumnya (Riedel *et al.*, 2019). Harapannya, senyawa uji pada kertas cakram dapat berdifusi menuju media agar dan membentuk zona hambat pada permukaan agar. Zona hambat berupa daerah bening di sekitar kertas cakram digunakan sebagai parameter uji antibakteri yang memiliki arti bahwa bahan uji mampu menghambat pertumbuhan bakteri.

*Agar paper-disk-diffusion method* memberikan hasil kualitatif berupa kategori dari aktivitas zona hambat yang terbentuk, yaitu daya hambat lemah (<5 mm), sedang (5-10 mm), kuat (10-20 mm), dan sangat kuat (20-30 mm) (Datta *et al.*, 2019). Metode ini memiliki keuntungan yaitu mudah digunakan, biaya terjangkau, banyaknya bakteri dan senyawa antibakteri yang dapat digunakan untuk diuji, serta mudah untuk menginterpretasi hasil pengujian (Balouiri, Sadiki, dan Ibsouda 2016). Namun, metode ini tidak dapat membedakan efek antibakterinya, yaitu apakah bakterisidal atau bakteristatik. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) bahan uji juga tidak dapat ditentukan menggunakan metode ini dikarenakan ketidakmampuannya menghitung banyaknya senyawa antibakteri yang berdifusi ke dalam agar (Balouiri *et al.*, 2016).

### 2) *Agar-well diffusion method*

Metode sumuran atau *agar-well diffusion* memiliki prinsip dan prosedur yang sama dengan metode sebelumnya, yaitu diameter zona hambat yang dihasilkan digunakan sebagai parameter uji antibakteri. Namun, yang menjadi pembeda adalah perlu dilakukannya pembuatan lubang sumuran berdiameter 6-8 mm pada permukaan agar yang telah diinokulasikan bakteri dengan menggunakan sebuah tip steril (Balouiri *et al.*, 2016). Senyawa antibakteri yang digunakan kemudian dimasukkan ke dalam lubang sumuran bervolume 20-100 $\mu$ L untuk selanjutnya diinkubasi.

Aktivitas antibakteri metode sumuran terjadi dari permukaan agar hingga ke dalam sehingga pengukuran diameter zona hambat lebih mudah dilakukan. Bahan uji yang digunakan juga dapat berkontak langsung dengan agar setelah dimasukkan ke dalam sumur. Akibatnya, tidak ada penghalang seperti kertas cakram pada metode *agar paper-disk* sehingga bahan uji dapat langsung berdifusi ke dalam agar. Hal tersebut menyebabkan bahan uji lebih efektif menghambat bakteri uji sehingga diameter zona hambat yang terbentuk lebih luas daripada metode *agar paper-disk* (Nurhayati *et al.*, 2020).

### 3) *Etest (antimicrobial gradient method)*

Metode *etest* dilakukan dengan menggabungkan prinsip metode dilusi dan difusi untuk menentukan tingkat KHM (Balouiri *et al.*, 2016). Metode ini menggunakan strip

yang telah dijenuhkan dengan berbagai gradien konsentrasi yang meningkat dari senyawa antibakteri yang kemudian diletakkan ke atas permukaan agar. Nilai KHM ditentukan oleh titik pertemuan pada strip dan adanya hambatan pertumbuhan. Selain KHM, metode ini juga dapat digunakan untuk mengetahui interaksi antibakteri dari dua senyawa yang berbeda. Namun, kekurangannya adalah membutuhkan biaya yang lebih apabila ingin menguji banyak senyawa antibakteri.

#### b. Dilusi

Dilusi adalah metode yang digunakan untuk mencari nilai KHM suatu bahan uji. Hal dikarenakan metode ini mampu memprediksi konsentrasi minimal bahan uji yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri, baik pada media agar ataupun *broth*.

##### 1) *Broth dilution method*

Metode ini menggunakan bahan uji yang dimasukkan ke dalam media cair (*broth*) pada tabung volume 2 ml (*macrodilution*) atau lebih kecil (*microdilution*). KHM dan KBM (Kadar Bunuh Minimum) bahan uji terhadap bakteri yang digunakan akan dihasilkan dari metode dilusi ini. Nilai KHM ditentukan berdasarkan konsentrasi terkecil bahan uji menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan KBM ditentukan dari konsentrasi terendah bahan uji mampu membunuh hampir keseluruhan bakteri (Balouiri *et al.*, 2016).

##### 2) *Agar dilution method*

Metode dilusi agar memiliki konsep dan prosedur yang sama seperti metode *broth dilution*. Namun, penentuan KHM dan KBM bahan uji dilakukan menggunakan media agar. Selain itu, metode ini lebih direkomendasikan untuk bakteri *fastidious*, yaitu mikroorganisme dengan kebutuhan nutrisi yang kompleks dan rumit.

## 2.5 Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pengambilan atau pemisahan senyawa bioaktif dari dalam simplisia tumbuhan berdasarkan perbedaan kelarutannya dari dua cairan (Badaring *et al.*, 2020). Proses ini harus menggunakan metode dan pelarut yang tepat serta perlu disesuaikan dengan masing-masing sifat dari senyawa yang akan diambil.

### 2.5.1 Metode ekstraksi

Berikut metode ekstraksi yang umum digunakan,

#### a. Maserasi

Maserasi adalah metode ekstraksi tanpa pemanasan yang dilakukan dengan merendam simplisia ke dalam wadah tertutup berisi pelarut pada suhu ruangan (20-30°C) selama beberapa hari (Badaring *et al.*, 2020). Pelarut yang digunakan berfungsi untuk melarutkan seluruh senyawa aktif di dalam simplisia dengan prinsip menembus dinding sel sehingga konsentrasi di luar sel lebih tinggi daripada di dalam sel sehingga senyawa yang ingin dicari akan larut (Riwanti *et al.*, 2020). Maserasi dinyatakan selesai ketika konsentrasi di dalam sel tumbuhan dan di luar mencapai titik kesetimbangan. Dengan demikian, proses tersebut dapat dihentikan dan dilanjutkan dengan proses pemisahan simplisia dengan pelarut menggunakan kertas saring.

Metode ini paling umum dilakukan karena prosedurnya sederhana serta dapat diterapkan untuk produksi skala kecil ataupun besar. Dikarenakan tidak melewati proses pemanasan, maserasi juga lebih direkomendasikan untuk senyawa yang tidak tahan panas atau termolabil karena tidak akan rusak dari suhu yang tinggi. Namun, di sisi lain, maserasi membutuhkan pelarut yang cukup banyak serta waktu yang tidak sedikit, yaitu selama 2-5 hari. Selain itu, senyawa yang diekstraksi juga tidak mudah untuk dicari atau bahkan hilang saat maserasi sehingga diperlukan kombinasi ataupun modifikasi sesuai dengan senyawa yang ingin dicari.

#### b. Perkolasi

Perkolasi adalah metode ekstraksi menggunakan pelarut dengan cara meneteskan simplisia secara perlahan dan terus-menerus di dalam perkolator (Mukhriani 2014). Metode ini terus menggunakan pelarut baru sehingga pelarut yang digunakan cukup banyak serta membutuhkan waktu yang cukup panjang. Selain itu, apabila simplisia yang digunakan tidak homogen, pelarut yang menetes tidak dapat menyebar secara homogen ke seluruh sampel sehingga proses ekstraksi kurang maksimal.

c. Sokletasi

Sokletasi merupakan metode ekstraksi dengan memasukkan bubuk simplisia ke dalam kantung yang diletakkan di dalam tempat soklet, yaitu di antara labu alas bulat dan kondensor. Metode ini menggunakan pelarut yang diletakkan di dalam labu alas bulat dengan tambahan suhu pemanas sehingga pelarut murni akan dihasilkan dari kondensasi serta digunakan kembali selama proses ekstraksi. Proses ini akan terus berlanjut terus-menerus sehingga pelarut yang digunakan tidak banyak serta waktu yang dibutuhkan juga tidak lama. Namun, perlu diperhatikan lebih lanjut untuk senyawa aktif yang rentan proses pemanasan dikarenakan suhu yang digunakan selalu berada pada titik didih yang dapat mendegradasi senyawa.

d. Refluks dan Destilasi Uap

Refluks adalah metode ekstraksi dengan memasukkan simplisia dan pelarut ke dalam labu alas bulat yang terhubung dengan kondensor. Metode ini juga melewati proses pemanasan yang akan menghasilkan pelarut murni hasil kondensasi uap yang kembali lagi ke labu alas bulat. Ekstraksi dengan destilasi uap memiliki konsep yang sama dengan refluks, tetapi lebih umum dilakukan untuk ekstraksi *essential oil*. Sama halnya dengan sokletasi, kedua metode ini juga kurang direkomendasikan bagi senyawa yang rentan terhadap proses pemanasan karena dapat merusak senyawa yang diinginkan.

### 2.5.2 Konsentrasi Pelarut Metode Ekstraksi

Konsentrasi pelarut mempengaruhi banyaknya senyawa aktif dari simplisia yang akan diekstraksi. Senyawa aktif di dalam simplisia akan semakin mudah larut pada konsentrasi pelarut yang lebih tinggi (Diah Juliantari *et al.*, 2018). Hal ini terjadi karena bahan pelarut akan mudah berkontak secara maksimal dengan bahan yang diekstrak. Pernyataan tersebut didukung oleh Mardaningsih & Andriani, (2012), bahwa konsentrasi etanol yang lebih tinggi menghasilkan bobot rendemen yang lebih besar dikarenakan kemampuannya dalam menembus dan merusak dinding sel tumbuhan lebih kuat.

Suhu ekstraksi juga menjadi faktor yang perlu diperhatikan karena mempengaruhi persentase rendemen dan total senyawa aktif dari simplisia yang diekstrak (Diah Juliantari *et al.*, 2018). Suhu optimal perlu dicapai selama proses ekstraksi agar rendemen yang dihasilkan tidak berkurang serta senyawa bioaktif simplisia tidak akan hilang akibat proses penguapan. Senyawa aktif yang diinginkan untuk didapatkan dari kulit buah kopi sebagian besar berasal dari golongan alkaloid, polifenol dan flavonoid. Ketiga golongan senyawa tersebut merupakan senyawa volatil dan polar yang sangat sensitif dan tidak stabil sehingga diperlukan suhu yang tepat agar tidak terjadi degradasi pada kandungan tersebut.

Ekstraksi maserasi dengan pelarut etanol 96% pada suhu kamar dinilai optimum untuk mencari senyawa aktif dari ekstrak kulit buah kopi. Etanol merupakan pelarut polar terbaik untuk ekstraksi senyawa fenolik karena mudah menguap sehingga tidak akan mengganggu proses uji antibakteri selanjutnya. Lalu, pelarut ini juga mampu mencari senyawa aktif dengan persentase rendemen lebih tinggi dibandingkan pelarut air dan metanol (Riwanti *et al.*, 2020). Suhu kamar yang digunakan merupakan suhu yang optimum untuk metode maserasi dikarenakan pada suhu tersebut senyawa bioaktif tidak mengalami denaturasi sehingga kadar total senyawa bioaktif yang dihasilkan juga semakin tinggi.

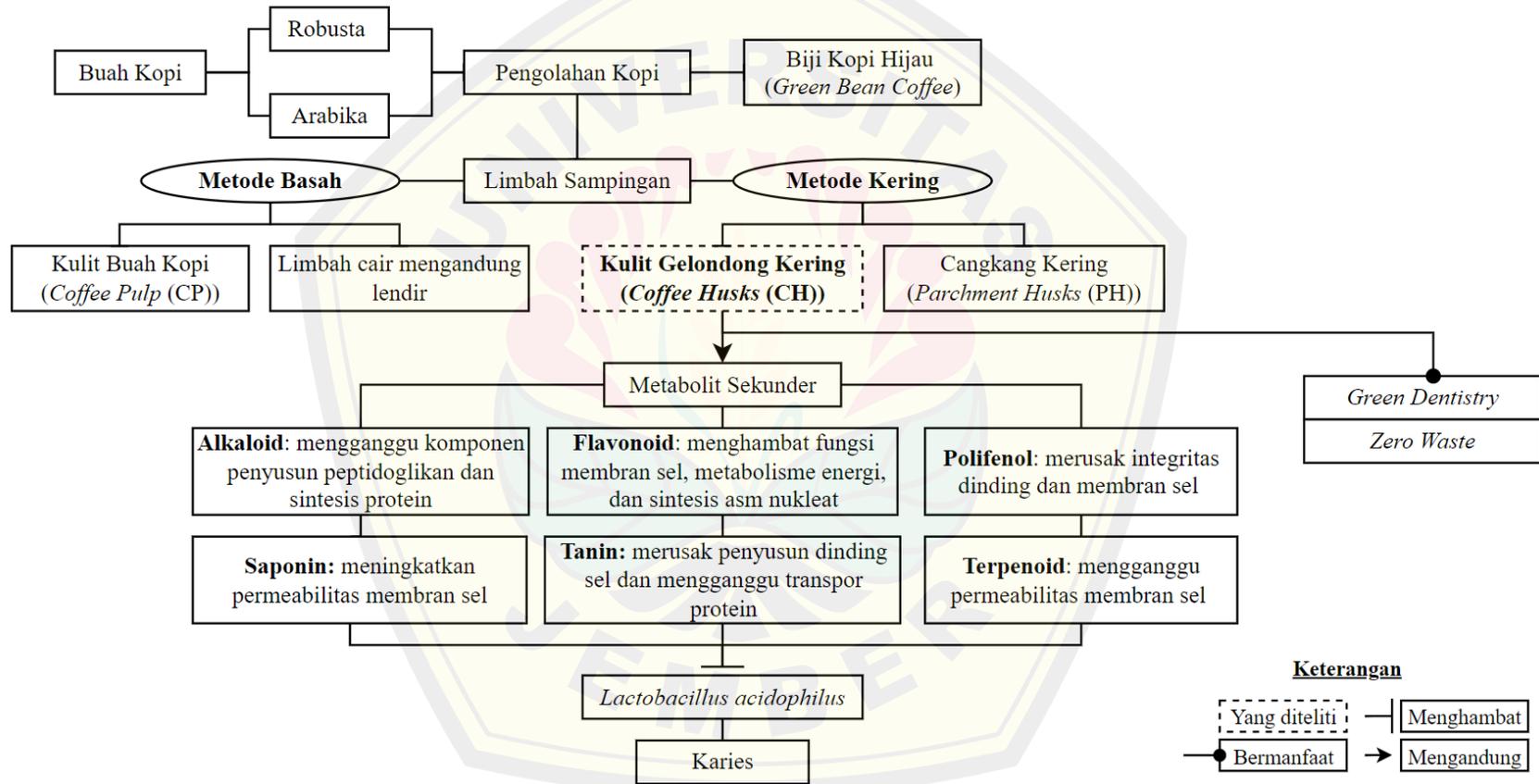
## 2.6 Chlorhexidine

*Chlorhexidine gluconate* adalah salah satu kandungan dalam obat kumur yang banyak digunakan oleh masyarakat luas karena dijual bebas di pasaran. CHX mengandung fenol yang berperan sebagai antiseptik karena memiliki efek bakteristatik pada konsentrasi 0,1-1%, efek bakteriosid pada konsentrasi 0,4-1,6%, dan efek fungisid pada konsentrasi 1,3% (Pariati dan Angki 2019). CHX juga mengandung *chlorine* yang bertindak sebagai disinfektan sehingga mampu membunuh bakteri, virus, fungi, parasit, dan beberapa spora. Mekanisme kerja CHX diperantarai oleh ikatan antara muatan positif CHX dengan muatan negatif fosfat pada dinding bakteri (Rondhianto *et al.*, 2016). Akibatnya, molekul CHX dapat berpenetrasi masuk ke dalam sitoplasma

bakteri hingga menyebabkan kematian mikroorganismenya. Selain itu, CHX juga dapat bekerja secara efektif walaupun terhadap pus dan darah.

CHX juga dapat berpotensi sebagai bahan kemoterapi anti kariogenik dan anti inflamasi (Sari *et al.*, 2014). Hal ini didapat dari potensinya yang dapat menghambat pembentukan plak karena kemampuannya yang sangat kuat mengikat bakteri sehingga lebih tahan lama berada di dalam mulut serta mencegah terjadinya proliferasi bakteri yang lebih masif. Akibatnya, bakteri plak yang banyak didominasi oleh *S. mutans* dan *Lactobacillus* spp. di permukaan gigi dan saliva akan berkurang sehingga karies dan plak pemicu inflamasi pada gingiva juga akan berkurang. Hal ini terbukti dalam penelitian oleh Pariati and Angki, (2019) dan Sari *et al.*, (2014) yang menyatakan bahwa terdapat penurunan derajat gingivitis dan indeks plak dalam penggunaan obat kumur CHX. Namun, terdapat banyak efek samping yang juga dirasakan selama penggunaan terus menerus, seperti terjadinya perubahan pengecap sementara oleh pasien, *stain* pada gigi, mukosa oral, dan bahan restorasi (Prahasanti, 2014). Dengan demikian, terapi dengan pemanfaatan bahan alam terutama limbah yang diduga memiliki efek samping minimal dapat menjadi opsi perawatan

2.7 Kerangka Konsep



Gambar 2.15 Bagan kerangka konsep penelitian

## 2.8 Penjelasan Kerangka Konsep

Robusta dan arabika adalah dua jenis kopi yang dominan diproduksi dan dikonsumsi masyarakat Indonesia. Kedua kopi tersebut harus melewati proses pengolahan kopi untuk mendapatkan biji kopi hijau yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat. Namun, dalam prosesnya, baik metode basah maupun kering, pengolahan kopi menghasilkan limbah sampingan yang sangat melimpah, berupa kulit buah kopi, limbah cair mengandung lendir, kulit gelondong kering, dan cangkang kering. Sampai saat ini pemanfaatan lebih lanjut secara maksimal dan berkelanjutan masih belum dilakukan, terutama oleh petani kopi sendiri. Padahal, limbah tersebut dapat dimanfaatkan kembali menjadi berbagai produk bernilai ekonomis tinggi serta digunakan sebagai bahan alternatif untuk mendukung program *green dentistry* dan *zero waste*.

Kulit gelondong kering (*coffee husks*) menjadi salah satu limbah yang banyak diproduksi dari proses pengolahan kopi, yaitu dari 1 ton buah basah kopi akan memperoleh  $\pm 200$  kg kulit gelondong kering. Limbah ini memiliki banyak metabolit sekunder seperti alkaloid, senyawa polifenol, flavonoid, saponin, tanin, dan terpenoid. Senyawa aktif ini mampu menghambat pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus* dengan aktivitas antibakteri yang berbeda satu sama lain. Metabolit sekunder dari masing-masing ekstrak juga berbeda, robusta mengandung alkaloid, polifenol, flavonoid, dan sedikit terpenoid serta saponin dan tanin, sedangkan arabika tidak memiliki saponin dan tanin. Selain itu, senyawa polifenol dan lainnya pada ekstrak kulit buah kopi robusta juga lebih tinggi dibandingkan arabika. Oleh karena itu, ekstrak kulit buah kopi robusta diduga mempunyai daya hambat antibakteri lebih kuat terhadap *L. acidophilus* sebagai salah satu patogen di rongga mulut penyebab karies.

## 2.9 Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini yaitu,

1. Ekstrak kulit buah kopi robusta (*Coffea canephora*) dan arabika (*Coffea arabica*) memiliki kemampuan antibakteri terhadap pertumbuhan *L. acidophilus*.
2. Daya hambat ekstrak kulit buah kopi robusta (*Coffea canephora*) lebih kuat daripada arabika (*Coffea arabica*) dalam menghambat pertumbuhan *L. acidophilus*.



### BAB 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

##### 3.1.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris. Peneliti akan mengkaji kemampuan antibakteri yang dimiliki ekstrak kulit buah kopi robusta dan arabika terhadap pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus* dalam kondisi terkontrol yang dilakukan di laboratorium secara *in vitro*.

##### 3.1.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *the post test-only control group design*. Pengukuran terhadap variabel dilakukan setelah mendapatkan perlakuan tanpa diawali dengan *pretest* (Masturoh dan Anggita, 2018). Peneliti hanya akan mengukur pengaruh aktivitas antibakteri *L. acidophilus* setelah diberikan ekstrak kulit buah kopi robusta dan arabika.

#### 3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

##### 3.2.1 Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari-April 2023.

##### 3.2.2 Tempat Penelitian

- a. Kulit buah kopi robusta dan arabika diambil dan dipetik langsung dari Rumah Kopi Banjarsengon, Patrang, Jember, Jawa Timur.
- b. Uji identifikasi kulit buah kopi robusta dan arabika di Laboratorium Tanaman Politeknik Negeri Jember.
- c. Uji identifikasi *L. acidophilus* di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- d. Pembuatan ekstrak kulit buah kopi (EKBK) dan tahap perlakuan serta penghitungan diameter zona hambat di Laboratorium Biosciences Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

### 3.3. Identifikasi Penelitian

#### 3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas penelitian yaitu ekstrak kulit buah kopi (EKBK) robusta dan arabika dengan konsentrasi 250, 500, 750, dan 1.000mg/ml (%w/v).

#### 3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat penelitian yaitu kemampuan antibakteri ekstrak kulit buah kopi robusta dan arabika terhadap pertumbuhan *L. acidophilus*.

#### 3.3.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini, yaitu,

- a. Kulit buah kopi;
- b. Metode ekstraksi kulit buah kopi;
- c. Konsentrasi ekstrak kulit buah kopi;
- d. Jenis *L. acidophilus*;
- e. Media pertumbuhan *L. acidophilus*;
- f. Kemampuan antibakteri EKBK robusta dan arabika;
- g. Sterilisasi alat dan bahan penelitian;
- h. Inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

### 3.4 Definisi Operasional Variabel

#### 3.4.1 Kulit Buah Kopi

Sampel penelitian yang digunakan berupa *coffee husk* yaitu kulit buah kopi hasil pengolahan cara kering dari perkebunan Rumah Kopi Banjarsengon, Kabupaten Patrang, Jawa Timur. *Coffee husk* didapatkan dari buah kopi robusta dan arabika yang sudah matang berwarna seragam merah penuh (*fully ripe*), tidak merah tua atau hitam, bebas dari cacat dan penyakit, pecah, berlubang, serta bersih dari kotoran tanah atau debu. Buah kopi yang sudah masak selanjutnya di petik, sortasi, dicuci, dikeringkan, dan dipisahkan dengan mesin *huller* (*hulling*).

#### 3.4.2 Ekstrak Kulit Buah Kopi (EKBK)

Sampel berupa kulit gelondong kering hasil *hulling* (*coffee husk*). Selanjutnya, sampel dikeringkan tanpa terkena sinar matahari selama 3 hari kemudian dihaluskan dengan blender serta diayak. Ekstraksi maserasi simplisia menggunakan pelarut etanol (1:5) selama 3x24 jam dengan pengadukan setiap harinya pada suhu ruangan. Proses dilanjutkan dengan filtrasi dan evaporasi ekstrak yang dihasilkan hingga didapatkan ekstrak kental yang kemudian diencerkan hingga konsentrasi 250, 500, 750, dan 1.000mg/ml.

#### 3.4.3 Jenis Bakteri

*Lactobacillus acidophilus* strain FNCC-0051 berasal dari PT. Agritama Sinergi Inovasi (AGAVI) Bandung, Jawa Barat yang dibuktikan dengan pewarnaan Gram dengan hasil bakteri berwarna ungu seragam berbentuk batang dengan tepi membulat.

#### 3.4.4 Kemampuan Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Kopi (EKBK)

Kemampuan antibakteri EKBK terhadap *L. acidophilus* diuji memakai metode difusi sumur-agar (*agar-well diffusion method*) oleh Perez *et al.*, (1990) dalam Senthilkumaran dan Pavithra, (2014). Parameter yang digunakan berupa daerah bening di sekitar lubang sumur.

#### 3.4.5 Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi dibedakan menjadi dua jenis, yaitu dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit pada 1 atm untuk bahan yang terbuat dari kaca atau logam serta direndam alkohol 70% selama 24 jam untuk bahan tidak tahan panas seperti karet atau plastik.

#### 3.4.6 Inkubasi

Inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 48 jam. Hal ini dikarenakan pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus* berada pada fase optimum, yaitu pada fase akhir eksponensial dengan jumlah sel yang sudah meningkat.

### 3.5 Sampel Penelitian

#### 3.5.1 Kelompok Sampel

- a. Kontrol negatif berisi akuades steril : K(-)
- b. Kontrol positif berisi *chlorhexidine* 0,1% : K(+)
- c. EKBK robusta 1.000mg/ml : R1000
- d. EKBK robusta 750mg/ml : R750
- e. EKBK robusta 500mg/ml : R500
- f. EKBK robusta 250mg/ml : R250
- g. EKBK arabika 1.000mg/ml : A1000
- h. EKBK arabika 750mg/ml : A750
- i. EKBK arabika 500mg/ml : A500
- j. EKBK arabika 250mg/ml : A250

#### 3.5.2 Besar Sampel

Besar sampel diukur dengan rumus Federer (Suhayat, *et al.*, 2015), seperti berikut,

$$(n - 1)(t - 1) \geq 15$$

$$(6 - 1)(t - 1) \geq 15$$

$$(5)(t - 1) \geq 15$$

$$(t - 1) \geq 3$$

$$t \geq 4$$

Keterangan

n : jumlah kelompok sampel

t : jumlah pengulangan

Dari hasil perhitungan di atas, didapatkan hasil penghitungan bahwa minimal jumlah pengulangan sampel adalah 4.

### 3.6 Alat dan Bahan Penelitian

#### 3.6.1 Alat Penelitian

Blender (Miyako, Indonesia), ayakan 60 mesh (Medicalogy, Indonesia), timbangan analitik (Adam PW 214, Indonesia), kertas saring Whatman No. 40 (Whatman, UK), tabung erlenmeyer (Duran, Germany), corong (Pyrex, Japan), gelas ukur (Iwaki, Indonesia), *aluminium foil* (Bagus, Indonesia), *rotary evaporator* (Heidolp, Germany), mikroskop, *petridish* (Steriplan, Germany), bunsen dan korek api, *waterbath* (GFL, Germany), tabung durham, *vortex* (Labinco, Netherlands), *microtube* (Eppendorf, Germany), *mircopipette* (Socorex, Switzerland), *yellow* dan *blue tip* (Biologix, USA), *autoclave* (Gemmy, Taiwan), *laminar flow* (Dwyer, USA), densitometer (DensiCHECK Plus, USA), *hot plate stirrer* (Daihan Labtech, Korea), inkubator (Daihan Labtech, Korea), pinset (Nexton, Indonesia), sedotan, jangka sorong digital (Taffware, Indonesia), alat tulis, dan kertas label.

#### 3.6.2 Bahan Penelitian

Kultur murni *L. acidophilus* FNCC-0051, kulit buah kopi robusta dan arabika, akuades steril (Otsuka, Indonesia), etanol 96%, alkohol 70%, *chlorhexidine* 0,2% (Minosep Indonesia), media pengecatan Gram (Mediss, Indonesia), *Mueller-Hinton* Agar (MHA) (Oxoid, UK), *Mueller-Hinton* Broth (MHB) (Oxoid, UK), masker (KF94, Indonesia), dan *handscoon* (Maxter, UK).

### 3.7 Prosedur Penelitian

#### 3.7.1 Tahap Persiapan

##### a. Uji Identifikasi Kulit Buah Kopi

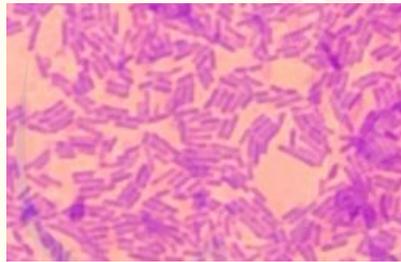
Kulit buah kopi robusta dan arabika (*coffee husk*) berasal dari Perkebunan Rumah Kopi Banjarsengon, Patrang, Jember, Jawa Timur. Identifikasi kemudian dilakukan di Laboratorium Tanaman Politeknik Negeri Jember yang terlampir pada Lampiran 3.1.



Gambar 3.1 *Coffee husk* dari Perkebunan Rumah Kopi Banjarsengon, Patrang, Jember

b. Uji Identifikasi Bakteri

*L. acidophilus* FNCC-0051 dari PT. Agritama Sinergi Inovasi (AGAVI) Bandung, Jawa Barat diidentifikasi di Laboratorium Mikrobiologi FKG Universitas Jember menggunakan metode pewarnaan Gram yang terlampir pada Lampiran 3.2. Hasil identifikasi menunjukkan bakteri berwarna ungu seragam berbentuk batang dengan tepi membulat pada kedua sisinya serta tampak muncul sendiri, berpasangan, atau membentuk rantai pendek. Hal ini menunjukkan tidak adanya kontaminasi dengan bakteri lain.



Gambar 3.2 Hasil identifikasi *L. acidophilus* dengan pewarnaan Gram

c. Sterilisasi Alat

Sterilisasi alat dibedakan menjadi dua jenis, alat tahan proses pemanasan (kaca atau logam) disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, sedangkan alat berbahan karet atau plastik disterilisasi menggunakan alkohol 70% selama 24 jam. Alat dan bahan terlampir pada Lampiran 3.3.

d. Persiapan Ekstrak Kulit Buah Kopi (EKBK)

Buah kopi robusta dan arabika yang siap panen berwarna merah penuh (*fully ripe*) seragam, tidak merah tua atau hitam serta bebas dari cacat. Selanjutnya, cuci bersih,

keringkan, dan pisahkan kulit buah kopi dengan bijinya (*hulling*) dengan mesin *huller*. Setelah terpisah, jemur kulit buah kopi tanpa terkena cahaya matahari selama 3 hari. Setelah kering, sampel dihaluskan dengan *blender* sampai dihasilkan bubuk halus seberat 400 gram. Selanjutnya, saring dengan ayakan ukuran 60 mesh agar ukurannya homogen. Proses terlampir pada Lampiran 3.4.

e. Pembuatan Ekstrak Kulit Buah Kopi (EKBK)

Ekstraksi maserasi dikerjakan dengan etanol 96% (1:5) selama 3 hari. Masing-masing bubuk kulit buah kopi seberat 400 gram dimasukkan ke dalam tabung *Erlenmeyer* dan ditutup menggunakan *aluminium foil* agar terhindar dari cahaya matahari langsung. Pengadukan dilakukan setiap harinya selama 3 hari menggunakan batang pengaduk. Setelah 3 hari, saring hasil maserasi menggunakan kertas saring *Whatman* No. 40 diameter 125 mm hingga dihasilkan filtrat jernih. Hasil filtrasi selanjutnya dievaporasi untuk menguapkan etanol dengan kecepatan 125rpm pada suhu maksimal 50°C hingga diperoleh hasil akhir ekstrak kental kulit buah kopi. Proses terlampir pada Lampiran 3.5.

f. Pengenceran Ekstrak Kulit Buah Kopi (EKBK)

Ekstrak kental diencerkan dan dihomogenkan dengan *vortex* hingga didapatkan konsentrasi 25, 50, 75, dan 100% (%w/v) dengan perhitungan sebagai berikut;

- Mencampurkan 250mg ekstrak kental dengan 1mL akuades pada *microtube* untuk konsentrasi 25%.
- Mencampurkan 500mg ekstrak kental dengan 1mL akuades pada *microtube* untuk konsentrasi 50%.
- Mencampurkan 750mg ekstrak kental dengan 1mL akuades pada *microtube* untuk konsentrasi 75%.
- Mencampurkan 1.000mg ekstrak kental dengan 1mL akuades pada *microtube* untuk konsentrasi 100%.

g. Pembuatan *Mueller-Hinton Agar* (MHA)

Timbang dan masukkan 11,4 gram MHA dengan neraca analitik ke dalam botol kaca. Larutkan dengan akuades steril hingga volume 300 ml dan tutup dengan rapat. Panaskan MHA hingga homogen dan tampak bening tanpa terlihat gumpalan menggunakan *water bath* pada suhu maksimal 100°C. Sterilisasi MHA ke dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit pada tekanan 1 atm. Proses terlampir pada Lampiran 3.6.

h. Pembuatan *Mueller-Hinton Broth* (MHB)

Timbang dan masukkan 1,05 gram MHB dengan neraca analitik ke dalam botol kaca. Larutkan dengan akuades steril hingga volume 50 ml dan tutup rapat. Panaskan hingga homogen dan tampak bening tanpa terlihat gumpalan menggunakan *water bath* pada suhu maksimal 100°C. Sterilisasi ke dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit pada tekanan 1 atm.

i. Pembuatan Suspensi *L. acidophilus*

Ambil 4-5 koloni *L. acidophilus* menggunakan jarum ose steril yang telah diremajakan dari media agar. Campurkan koloni dengan MHB steril di dalam tabung reaksi. Inkubasi selama 48 jam hingga MHB tampak keruh yang menandakan bahwa *L. acidophilus* tumbuh.

j. Pembuatan Inokulum *L. acidophilus*

Ambil dan masukkan 1 ml MHB ke tabung *Durham* serta ukur densitasnya menggunakan densitometer hingga dihasilkan nilai 0,49 Mc Farland. Masukkan suspensi *L. acidophilus* hingga setara dengan 0,5 Mc Farland, yaitu sebanyak 120µl dan angka petunjuk densitas menunjukkan nilai 1,01 Mc Farland. Dengan demikian, didapatkan nilai perbandingan 1ml MHB dibutuhkan 120µl suspensi bakteri untuk setara dengan 0,5 McFarland ( $1,5 \times 10^8$  CFU/ml). Kemudian, dikarenakan memakai metode *pour-plate* untuk inokulasi, dibutuhkan 300ml MHA sehingga diperlukan 36.000µl (36ml) suspensi bakteri yang setara dengan 0,5 McFarland.

k. Inokulasi Suspensi *L. acidophilus* ke MHA

Inokulasi *L. acidophilus* dilakukan dengan menggunakan metode tuang (*pour plate method*) (Sanders, 2012). Setelah MHA steril, masukkan ke dalam *water bath* dan pertahankan suhunya pada 44-46°C agar tidak memadat. Tuangkan inokulum yang telah dibuat sebelumnya ke dalam MHA di dalam botol kaca. Campur dan homogenkan di atas *hot plate stirrer* agar terdistribusi merata ke seluruh media. Tuangkan 25ml campuran tersebut ke dalam setiap *petridish*. Tunggu selama  $\pm 3$  jam hingga media di dalam *petridish* memadat dan siap digunakan.

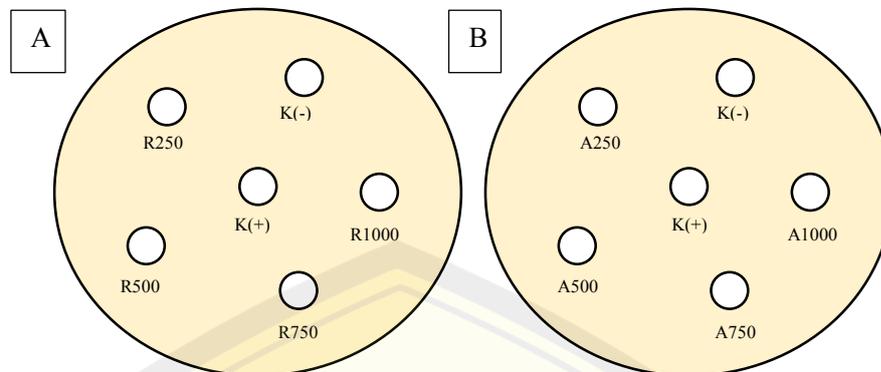
l. Pembuatan Lubang Sumur

Setelah media memadat dengan sempurna, buat lubang sumur menggunakan sedotan steril berukuran 6 mm pada setiap *petridish*. Pastikan sedotan tegak lurus dan tidak ada sisa agar yang menempel sampai ke dasar *petridish* serta hindari terjadinya retakan pada agar. Setiap lubang sumur berjarak 2 cm dari tepi *petridish* dan 3 cm antar lubang sumur (Aseng *et al.*, 2015). Hal ini dilakukan untuk mencegah terjadinya zona tumpang tindih.

m. Pemberian Keterangan *Petridish*

Pemberian keterangan menggunakan kertas label di bagian bawah masing-masing *petridish* dengan keterangan berikut,

- K(-) untuk kontrol negatif akuades steril
- K(+) untuk kontrol positif *chlorhexidine* 0,1%
- R1000 untuk EKBK robusta 1000mg/ml
- R750 untuk EKBK robusta 750mg/ml
- R500 untuk EKBK robusta 500mg/ml
- R250 untuk EKBK robusta 250mg/ml
- A1000 untuk EKBK arabika 1000mg/ml
- A750 untuk EKBK arabika 750mg/ml
- A500 untuk EKBK arabika 500mg/ml
- A250 untuk EKBK arabika 250mg/ml



Gambar 3.3 Skema *petridish* berisi EKBK A) robusta dan B) arabika berisi kontrol negatif akuades steril (K-), kontrol positif *chlorhexidine* 0,1% (K+), serta masing-masing ekstrak dengan konsentrasi 250, 500, 750, dan 1000mg/ml

### 3.7.2 Tahap Perlakuan

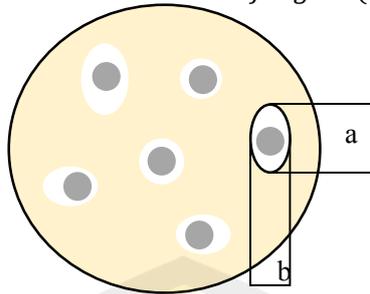
Tahap perlakuan dilaksanakan di dalam *laminar flow* agar kontaminasi antara bakteri dan patogen dari sekitar lingkungan tidak terjadi dan mempengaruhi hasil penelitian. Uji aktivitas antibakteri dilaksanakan dengan metode difusi agar-sumur (*agar-well diffusion*). Parameter yang digunakan berupa zona hambat yaitu berupa daerah bening di sekitar lubang sumur berdiameter 6 mm. Langkah pertama, masukkan 30 $\mu$ l EKBK robusta dan arabika serta kelompok kontrol berisi akuades steril dan *chlorhexidine* 0,1% dengan mikropipet ke dalam setiap lubang sumur yang telah ditandai sebelumnya. Pastikan sediaan bahan sesuai dengan keterangan dan terletak baik dalam lubang sumur. Setelah semua sediaan bahan selesai dimasukkan, inkubasi *petridish* pada suhu 37°C selama 48 jam.

### 3.7.3 Tahap Pengamatan dan Pengukuran

Pengukuran diameter zona hambat dilakukan setelah masa inkubasi berakhir. Ukur dengan jangka sorong digital oleh tiga orang pengamat serta hitung rata-rata ketiganya. Berikut ketentuan dalam mengukur diameter zona hambat:

- 1) Bila berbentuk lingkaran, ukur diameternya;
- 2) Bila berbentuk lonjong, jumlahkan diameter terpanjang (a mm) dan terpendek (b mm) kemudian bagi dua seperti berikut,

$$\text{Rerata bentuk lonjong} = (a + b)/2$$



Gambar 3.4 Skema perhitungan rerata diameter zona hambat

Berikut kategori daya hambat agen penguji dari rerata diameter zona hambat yang telah dihitung,

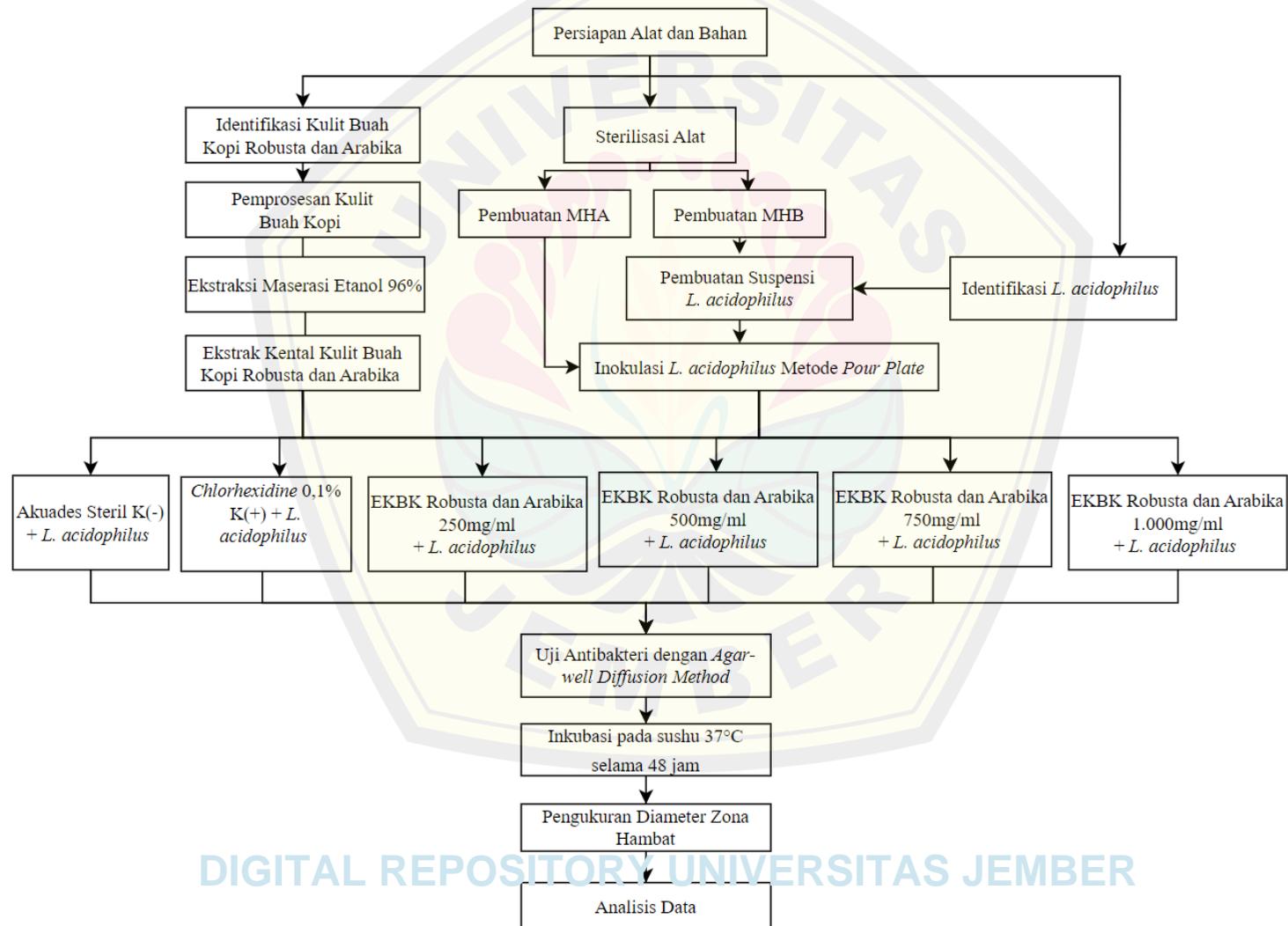
Tabel 3.1 Kekuatan daya hambat berdasarkan diameter zona hambat (Winastri, Muliastri, dan Hidayati 2020)

Kekuatan Daya Hambat	Diameter Zona Hambat (mm)
Lemah ( <i>weak</i> )	$\leq 5$
Sedang ( <i>moderate</i> )	6-10
Kuat ( <i>strong</i> )	11-20
Sangat kuat ( <i>very strong</i> )	$\geq 21$

### 3.8 Analisis Data

Data dianalisis dengan SPSS (*Statistical Product and Service Solutions*) seri 26.0. Analisis data hasil pengukuran dilakukan melalui beberapa tahapan, pertama menganalisis normalitas data dengan uji *Saphiro Wilk* yang diikuti dengan *Levene Test* untuk uji homogenitas varian. Bila data terdistribusi normal serta homogen, dilanjutkan dengan uji parametrik *two-way Anova* diikuti uji *Post-Hoc Least Significant Difference* (LSD) untuk menentukan kelompok perlakuan mana yang memperlihatkan perbedaan paling signifikan. Namun, uji non parametrik *Kruskal-Wallis* dilakukan bila data tidak terdistribusi normal dan homogen yang dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*.

### 3.9 Alur Penelitian

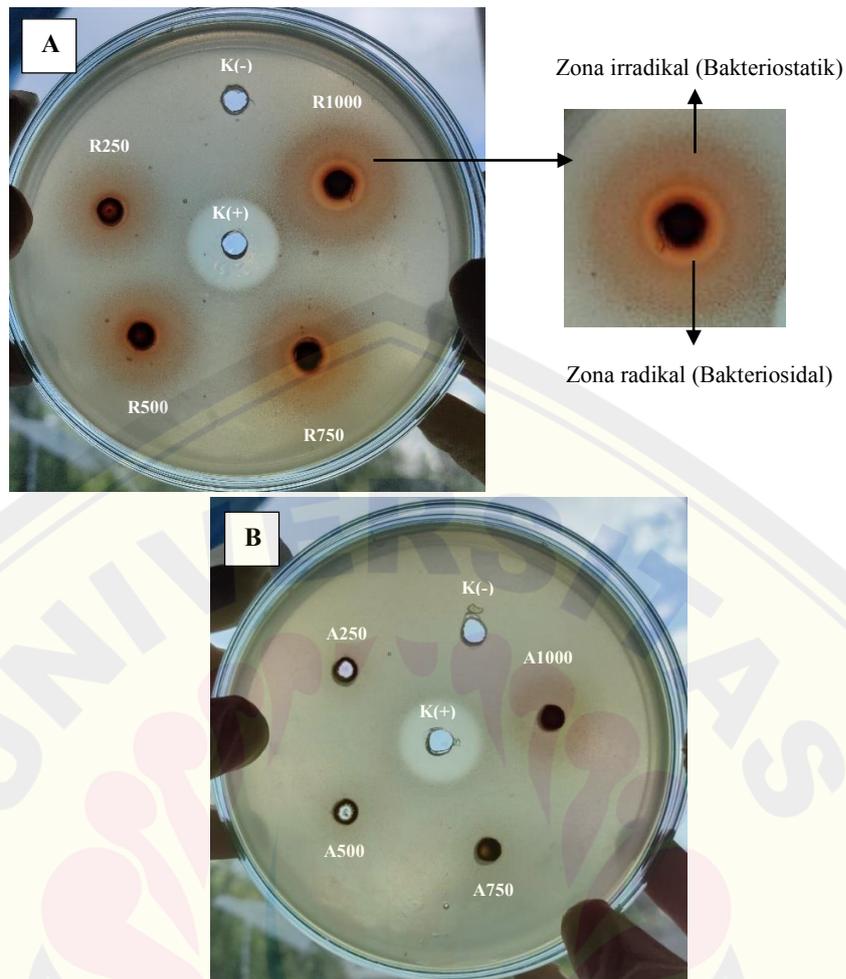


## BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Hasil Penelitian

Hasil penelitian kemampuan antibakteri ekstrak kulit buah kopi (EKBK) robusta (*Coffea canephora*) dan arabika (*Coffea arabica L.*) terhadap *L. acidophilus* terlihat dalam Gambar 4.1 dan Lampiran 4.1. Terdapat dua zona digunakan sebagai acuan pembahasan, yaitu zona radikal dan zona irradikal (Mustary *et al.*, 2021). Zona radikal merupakan zona bening di sekitar lubang sumuran yang sama sekali tidak ditemukan pertumbuhan bakteri. Artinya, agen penguji mampu membunuh keseluruhan pertumbuhan bakteri (bakteriosidal). Berbeda dengan zona radikal, zona irradikal bersifat bakteristatik, artinya bahan uji mampu menghambat pertumbuhan bakteri, tetapi tidak tidak terhambat seluruhnya sehingga masih tampak bakteri yang resisten terhadap bahan uji.

Gambar 4.1 menunjukkan bahwa zona radikal (bakteriosidal) terbentuk di sekitar lubang sumur berisi *chlorhexidine* (CHX), EKBK robusta 250, 500, 750, dan 1.000mg/ml serta EKBK arabika 1000mg/ml. Zona irradikal (bakteristatik) juga terbentuk di sekitar lubang sumur berisi EKBK robusta 250, 500, 750, dan 1.000mg/ml serta EKBK arabika 750, dan 1.000mg/ml. Selain itu, hasil penelitian juga menunjukkan bahwa EKBK arabika 250 dan 500mg/ml serta kelompok kontrol negatif berisi akuades steril tidak terbentuk zona radikal maupun zona irradikal.



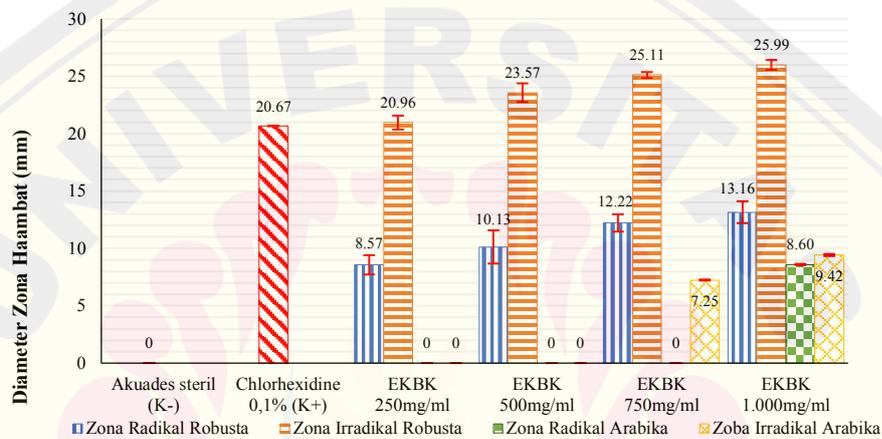
Gambar 4.1 Hasil kemampuan aktivitas antibakteri dengan metode *agar-well diffusion* EKBK A) robusta dan B) arabika 250, 500, 750, dan 1.000 mg/ml dengan (K-) akuades steril dan (K+) *chlorhexidine* 0,1% terhadap pertumbuhan *L. acidophilus*

Hasil kemampuan aktivitas antibakteri selanjutnya diamati dan diukur oleh tiga orang pengamat menggunakan jangka sorong digital. Rerata dan standar deviasi dari hasil penelitian terlihat dalam Tabel 4.1 dan Gambar 4.2.

Tabel 4.1 Rerata diameter zona hambat EKBK robusta dan arabika terhadap pertumbuhan *L. acidophilus*

Kelompok Perlakuan	N	Rerata Diameter Zona Hambat ± Standar Deviasi (mm)			
		Kulit Buah Kopi Robusta		Kulit Buah Kopi Arabika	
		Zona Radikal	Zona Irradikal	Zona Radikal	Zona Irradikal
Akuades steril (K-)	4	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Chlorhexidine</i> 0,1% (K+)	4	20,67±0,029	0,00	20,37±0,066	0,00
EKBK 250mg/ml	4	8,57±0,839	20,96±0,602	0,00	0,00
EKBK 500mg/ml	4	10,13±1,452	23,57±0,811	0,00	0,00
EKBK 750mg/ml	4	12,22 ±0,754	25,11±0,255	0,00	7,2±0,046
EKBK 1.000mg/ml	4	13,16±0,952	25,99±0,428	8,6±0,506	9,42±0,087

EKBK: Ekstrak Kulit Buah Kopi; N: Jumlah pengulangan



EKBK: Ekstrak Kulit Buah Kopi

Gambar 4.2 Diagram histogram rata-rata diameter zona hambat EKBK robusta dan arabika terhadap pertumbuhan *L. acidophilus*

Tabel 4.1 menunjukkan rerata diameter zona hambat terbesar dimiliki oleh EKBK robusta baik zona radikal maupun irradikal. Rata-rata diameter zona radikal EKBK robusta terlihat semakin meningkat seiring dengan besarnya konsentrasi ekstrak, yaitu 8,57; 10,13; 12,22 dan 13,16 mm, sedangkan zona irradikal yang terbentuk sebesar 20,96; 23,57; 25,11 dan 25,99 mm. Dapat diamati pula, untuk EKBK arabika, zona radikal hanya terbentuk pada 1.000mg/ml sebesar 8,6 mm serta 7,25 dan 9,42 mm untuk zona irradikal konsentrasi 750 dan 1.000 mg/ml secara berurutan. Selain itu, rerata diameter kelompok kontrol positif *chlorhexidine* 0,1% sebesar 20,67

mm dengan bentukan zona radikal, sedangkan 0 mm untuk kelompok kontrol negatif akuades steril.

#### 4.2 Analisis Data

Analisis data dilakukan di aplikasi SPSS seri 26.0. Langkah awal analisis adalah dengan melakukan uji normalitas *Saphiro-Wilk* dan homogenitas *Levene-Test*. Hasil uji normalitas menunjukkan nilai  $p > 0,05$  serta  $p < 0,05$  untuk uji homogenitas. Dapat disimpulkan bahwa data terdistribusi normal (Lampiran 4.2) dan tidak homogen (Lampiran 4.3). Kemudian, langkah kedua dilanjutkan dengan uji non parametrik *Kruskal-Wallis* yang dilanjutkan *Mann-Whitney*.

Hasil analisis *Kruskal-Wallis* menunjukkan nilai signifikansi 0,001 dan 0,00 ( $p < 0,05$ ) untuk masing-masing ekstrak (Lampiran 4.4). Artinya, kedua rerata diameter zona hambat EKBK secara signifikan menghambat pertumbuhan *L. acidophilus*. Selanjutnya, hasil analisis *Mann-Whitney* masing-masing EKBK disajikan dalam Tabel 4.2, 4.3. dan 4.4.

Tabel 4.2 Hasil uji *Mann-Whitney* EKBK robusta terhadap pertumbuhan *L. acidophilus*

Kelompok	Zona Radikal					
	K(-) Akuades	K(+) CHX 0,1%	EKBK 250 mg/ml	EKBK 500 mg/ml	EKBK 750 mg/ml	EKBK 1000 mg/ml
K(-) Akuades	-	<b>0,014*</b>	<b>0,014*</b>	<b>0,014*</b>	<b>0,014*</b>	<b>0,014*</b>
K(+) CHX 0,1%		-	<b>0,021*</b>	<b>0,021*</b>	<b>0,021*</b>	<b>0,021*</b>
EKBK 250 mg/ml			-	0,149	<b>0,021*</b>	<b>0,021*</b>
EKBK 500 mg/ml				-	<b>0,43*</b>	<b>0,021*</b>
EKBK 750 mg/ml					-	0,248
EKBK 1000 mg/ml						-
Kelompok	Zona Irradikal					
	K(-) Akuades	K(+) CHX 0,1%	EKBK 250 mg/ml	EKBK 500 mg/ml	EKBK 750 mg/ml	EKBK 1000 mg/ml
K(-) Akuades	-	<b>0,014*</b>	<b>0,014*</b>	<b>0,014*</b>	<b>0,014*</b>	<b>0,014*</b>
K(+) CHX 0,1%		-	1,00	<b>0,021*</b>	<b>0,021*</b>	<b>0,021*</b>
EKBK 250 mg/ml			-	<b>0,021*</b>	<b>0,021*</b>	<b>0,021*</b>
EKBK 500 mg/ml				-	<b>0,021*</b>	<b>0,021*</b>
EKBK 750 mg/ml					-	<b>0,021*</b>
EKBK 1000 mg/ml						-

EKBK: Ekstrak Kulit Buah Kopi; CHX: *chlorhexidine*; \*: nilai signifikan  $p < 0,05$

Berdasarkan Tabel 4.2, terdapat perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ) antara zona radikal kelompok K(+) dan EKBK robusta konsentrasi 250 serta 750 mg/ml dengan keseluruhan perlakuan kelompok penelitian. Namun, pada zona yang sama, nilai  $p > 0,05$  ditemukan antara konsentrasi 500 mg/ml dengan 250 mg/ml serta 1000

mg/ml dengan 750 mg/ml. Kemudian, analisis di atas juga menunjukkan bahwa nilai signifikan  $p < 0,05$  ditemukan pada zona irradikal EKBK robusta terhadap keseluruhan perlakuan kelompok penelitian, kecuali antara kelompok kontrol positif *chlorhexidine* 0,1% dengan konsentrasi 250 mg/ml.

Tabel 4.3 Hasil uji *Mann-Whitney* EKBK arabika terhadap pertumbuhan *L. acidophilus*

Zona Radikal						
Kelompok	K(-) Akuades	K(+) CHX 0,1%	EKBK 250 mg/ml	EKBK 500 mg/ml	EKBK 750 mg/ml	EKBK 1000 mg/ml
K(-) Akuades	-	<b>0,014*</b>	-	-	-	<b>0,014*</b>
K(+) CHX 0,1%	-	-	-	-	-	<b>0,021*</b>
EKBK 250 mg/ml	-	-	-	-	-	-
EKBK 500 mg/ml	-	-	-	-	-	-
EKBK 750 mg/ml	-	-	-	-	-	-
EKBK 1000 mg/ml	-	-	-	-	-	-
Zona Irradikal						
K(-) Akuades	-	<b>0,014*</b>	-	-	<b>0,014*</b>	<b>0,014*</b>
K(+) CHX 0,1%	-	-	-	-	<b>0,021*</b>	<b>0,021*</b>
EKBK 250 mg/ml	-	-	-	-	-	-
EKBK 500 mg/ml	-	-	-	-	-	-
EKBK 750 mg/ml	-	-	-	-	-	<b>0,021*</b>
EKBK 1000 mg/ml	-	-	-	-	-	-

EKBK: Ekstrak Kulit Buah Kopi; CHX: *chlorhexidine*; \*: nilai signifikan  $p < 0,05$

Berdasarkan Tabel 4.3, terdapat perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ) antara zona radikal kelompok K(-) dengan K(+) serta antara konsentrasi 1000 mg/ml dengan K(-) dan K(+). Kemudian, zona irradikal EKBK arabika menunjukkan nilai signifikan  $p < 0,05$  antara K(-) dengan K(+), antara konsentrasi 750 mg/ml dengan K(-) dan K(+), serta antara konsentrasi 1000 mg/ml dengan K(-), K(+), dan konsentrasi 750 mg/ml.

Tabel 4.4 Hasil uji *Mann-Whitney* perbandingan EKBK robusta dan arabika terhadap pertumbuhan *L. acidophilus*

Zona Radikal		
Kelompok	EKBK Arabika 750 mg/ml	EKBK Arabika 1000 mg/ml
EKBK Robusta 750 mg/ml	-	-
EKBK Robusta 1000 mg/ml	-	<b>0,021*</b>
Zona Irradikal		
EKBK Robusta 750 mg/ml	<b>0,021*</b>	-
EKBK Robusta 1000 mg/ml	-	<b>0,021*</b>

EKBK: Ekstrak Kulit Buah Kopi; \*: nilai signifikan  $p < 0,05$

Berdasarkan Tabel 4.4, terdapat perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ) pada zona radikal antara EKBK robusta dengan arabika pada konsentrasi 1000 mg/ml. Kemudian, hasil analisis juga menunjukkan nilai signifikan  $p < 0,05$  pada zona irradikal

untuk masing-masing konsentrasi 750 dan 1000 mg/ml antara EKBK robusta dengan arabika.

### 4.3 Pembahasan

Hasil penelitian membuktikan bahwa EKBK robusta dan arabika mempunyai kemampuan antibakteri terhadap pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus* dengan nilai signifikan  $p < 0,05$ . Hal ini ditunjukkan oleh terbentuknya zona hambat radikal dan irradikal di sekitar lubang sumur. Menurut Winastri *et al.*, (2020), kekuatan antibakteri dibedakan menjadi lemah ( $\leq 5$  mm), sedang (6-10 mm), kuat (11-20 mm), dan sangat kuat ( $\geq 20$  mm). Kekuatan antibakteri dari zona radikal EKBK robusta termasuk ke dalam kategori sedang untuk 250 dan 500mg/ml serta kuat untuk 750 dan 1.000mg/ml. Sementara itu, zona irradikal yang dihasilkan termasuk ke dalam kategori sangat kuat ( $> 20$  mm) untuk semua konsentrasi. Kekuatan antibakteri EKBK arabika adalah sedang untuk zona radikal maupun irradikal pada 750 dan 1.000mg/ml.

Menurut Kusumawardani *et al.*, (2023) zona radikal akan terbentuk jelas karena EKBK berhasil membunuh keseluruhan bakteri, sedangkan zona irradikal yang berada di luarnya mempunyai batas tidak jelas yang berarti hanya mampu menghambat pertumbuhannya. Hal tersebut didukung oleh Ridwan Harahap, (2018), bahwa zona radikal terbentuk jelas di sekitar kertas cakram yang ditetesi EKBK robusta terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Selain itu, kemampuan antibakteri EKBK arabika didukung oleh Aulah *et al.*, (2020) yang menjelaskan bahwa 50% merupakan konsentrasi optimal bagi EKBK arabika dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus* serta memiliki daya hambat yang cukup kuat jika dibandingkan dengan golongan antibiotik ampisilin.

Berdasarkan hasil penelitian, terlihat bahwa diameter zona irradikal kedua ekstrak lebih besar dibandingkan zona radikal yang terbentuk. Hal tersebut berkaitan dengan kecepatan difusi, media agar, jenis bakteri dan kecepatan tumbuhnya, konsentrasi ekstrak yang digunakan, serta kondisi saat inkubasi (Rahmadeni *et al.*, 2019). Pada fase awal inkubasi, metode *agar-well diffusion* menyebabkan EKBK berkontak langsung dengan agar sehingga difusi ekstrak segera terjadi tanpa adanya penghalang ke dalam

agar (Nomer *et al.*, 2019). Sementara itu, *L. acidophilus* masih berada dalam fase lag yaitu fase adaptasi dengan lingkungan yang baru pada 0-3 jam pertama masa awal inkubasi sehingga pertumbuhan bakteri yang dihasilkan belum optimal (Wya Saraswati *et al.*, 2021). Akibatnya, senyawa aktif yang terdapat di dalam EKBK dapat bekerja secara maksimal tanpa terhambat oleh pertumbuhan bakteri sehingga zona radikal terbentuk dengan sempurna (bakteriosidal). Hal ini yang diduga terjadi pada EKBK penelitian ini sehingga dihasilkan zona di sekitar lubang sumur yang tampak bening dan bebas dari bakteri.

Zona irradikal pada EKBK selanjutnya terbentuk akibat perubahan yang terjadi pada lingkungan seiring dengan berjalannya waktu inkubasi. Perubahan terjadi ketika *L. acidophilus* memasuki fase logaritmik atau fase log, yaitu fase pertumbuhan eksponensial sehingga terjadi perbanyakan bakteri yang diikuti dengan tingginya keperluan energi oleh bakteri (Wya Saraswati *et al.*, 2021). Hal ini menyebabkan bakteri melakukan fermentasi karbohidrat untuk mendapatkan energi serta menghasilkan bakteriosin, asam organik (asam laktat dan asetat), dan karbon dioksida sebagai produk akhir (Sutrisna *et al.*, 2017). pH lingkungan kemudian turun menjadi asam karena hasil produk metabolisme berupa bakteriosin, asam laktat, dan asam asetat sehingga menghambat kemampuan antibakteri yang dimiliki oleh EKBK. Hal tersebut sejalan dengan penelitian Sumual *et al.*, (2019), bahwa produk metabolisme tersebut memiliki kemampuan antibakteri terhadap *S. aureus* dengan terbentuknya daerah bening di sekitar lubang sumur. Mekanisme ini diduga menjadi kemungkinan yang terjadi pada penelitian yang menyebabkan tidak semua bakteri dapat terbunuh oleh ekstrak sehingga menyebabkan terbentuknya zona keruh berbatas tidak jelas di luar zona radikal.

Besarnya zona irradikal dibandingkan radikal juga dipengaruhi oleh pH dan lamanya waktu inkubasi (Sutrisna *et al.*, 2017). Fase log *L. acidophilus* akan terus berlangsung selama 3-18 jam setelah fase lag yang menyebabkan *L. acidophilus* akan terus menghasilkan asam serta menurunkan pH lingkungan selama masa inkubasi. Akibatnya, zona irradikal akan terus terbentuk dibandingkan zona radikal dikarenakan

kemampuan *L. acidophilus* yang mampu hidup pada pH rendah. Oleh karena itu, rata-rata diameter zona irradikal pada penelitian lebih besar daripada zona radikal.

Sifat bakteriosidal dan bakteriostatik yang dimiliki agen antibakteri sampai sekarang masih menjadi perdebatan terkait keefektifitasannya satu sama lain. Secara *in vitro*, bakteriosidal merupakan tujuan yang harus dicapai dan dianggap lebih unggul daripada bakteriostatik dikarenakan dapat membunuh semua bakteri yang diuji. Namun, secara *in vivo*, hasil studi *in-vitro* tidak relevan serta perlu dikaji ulang. Hal ini telah dibuktikan pada *systemic literature review* dari uji RCTs (*Randomized Controlled Trials*) atau uji acak terkontrol yang membandingkan agen bakteriostatik dengan bakteriosidal pada pasien infeksi bakteri secara klinis (Wald-Dickler *et al.*, 2018). Studi tersebut membuktikan bahwa sebanyak 49 dari 56 kasus menunjukkan agen bakteriosidal dan bakteriostatik tidak memiliki perbedaan yang signifikan, 6 kasus membuktikan agen bakteriostatik lebih unggul dan efektif, serta 1 kasus membuktikan sebaliknya. Namun, dari banyaknya kasus yang menyatakan tidak terdapat perbedaan signifikan di antara keduanya, menunjukkan lebih lanjut bahwa agen bakteriostatik lebih unggul dan efektif dalam penggunaannya secara klinis. Dengan demikian, zona irradikal sebagai hasil kemampuan bakteriostatik EKBK memiliki nilai yang lebih unggul daripada bakteriosidal sehingga dapat digunakan sebagai data pembanding utama dalam penelitian.

Kemampuan antibakteri EKBK robusta juga terbukti lebih baik daripada arabika dalam menghambat pertumbuhan *L. acidophilus* secara signifikan ( $p < 0,05$ ). Perbedaan ini dipengaruhi oleh kandungan senyawa aktif berupa metabolit sekunder EKBK arabika yang tidak cukup kuat dalam menghambat pertumbuhan *L. acidophilus* daripada EKBK robusta. Senyawa khas dari tumbuhan tersebut merupakan produk metabolisme sekunder dengan kemampuan bioaktivitas yang dihasilkan untuk tujuan pertahanan terhadap hewan, tumbuhan lainnya, dan lingkungannya (Julianto, 2019). Produk metabolisme sekunder setiap jenis kopi juga berbeda satu sama lain sehingga akan mempengaruhi kemampuan antibakteri yang dimiliki.

Menurut hasil uji fitokimia yang dilakukan oleh Ridwan Harahap, (2017), EKBK robusta Gayo memiliki metabolit sekunder berupa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan polifenol. Namun, di daerah yang sama, EKBK arabika hanya memiliki alkaloid, flavonoid, dan triterpenoid (Munira *et al.*, 2020). Empat kelompok besar senyawa polifenol di dalam kulit buah kopi, berasal dari senyawa yaitu flavan-3ols, asam hidrosinamat, flavonol, dan antosianin. Menurut penelitian oleh Sholichah *et al.*, (2019), kandungan polifenol cascara kulit buah kopi robusta lebih tinggi daripada arabika. Hal ini mendukung hasil penelitian bahwa kemungkinan EKBK robusta di Jember memiliki metabolit sekunder lebih banyak juga daripada arabika sehingga rerata diameter zona hambat yang terbentuk lebih besar. Dengan demikian, hasil penelitian yang didapatkan sesuai dengan hipotesis, yaitu kedua EKBK memiliki kemampuan antibakteri dengan EKBK robusta lebih kuat daripada arabika dengan metode *agar-well diffusion*.

Metode *agar-well diffusion* (difusi agar sumur) dengan metode inokulasi *pour plate* juga mempengaruhi besarnya diameter zona hambat pada hasil penelitian. Menurut penelitian oleh Nurhayati *et al.*, (2020), metode sumuran menunjukkan aktivitas antibakteri yang lebih kuat dibandingkan metode *paper-disk diffusion*. Hal tersebut terlihat dari besarnya diameter zona hambat pada metode sumuran yang terbentuk pada starter yoghurt bakteri asam laktat terhadap *S. aureus*. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian dikarenakan EKBK langsung dimasukkan ke dalam lubang sumur sehingga proses osmosis langsung terjadi secara merata dan lebih efisien tanpa adanya pembatas seperti penggunaan *paper-disk*. Selain itu, penggunaan metode *pour plate* dibandingkan *streak* ataupun *spread* sebagai metode inokulasi bakteri juga menyebabkan aktivitas bakteri terjadi menyeluruh hingga ke dalam agar. Hal ini menyebabkan tidak hanya terbentuknya zona hambat yang reguler dan merata, tetapi *L. acidophilus* yang tumbuh juga semakin banyak. Hal tersebut sejalan dengan penelitian Pyar dan Peh (2014) bahwa metode inokulasi *pour plate* terbukti lebih cocok untuk pertumbuhan bakteri bersifat anaerob fakultatif seperti yang dimiliki oleh *L. acidophilus*.

Zona hambat di sekitar lubang sumur kelompok kontrol negatif berisi akuades steril sama sekali tidak terbentuk (0 mm). Hal ini dikarenakan akuades steril merupakan air sulingan bersifat netral, murni, dan bebas dari zat pengotor sehingga tidak memiliki senyawa aktif yang dapat menghambat ataupun membunuh bakteri (Khotimah *et al.*, 2018). Namun, zona radikal terbentuk di sekitar lubang sumur kelompok kontrol positif berisi *chlorhexidine* 0,1%. Mulanya, CHX melakukan adsorpsi yang kuat dan spesifik antara muatan positifnya dengan molekul fosfat pada permukaan dinding sel bakteri (Poppolo Deus dan Ouanounou, 2022). Ikatan spesifik ini menyebabkan CHX berpenetrasi ke dalam bakteri menyebabkan rusaknya dan terganggunya integritas dinding sel sehingga terkeluarnya komponen di dalam sitoplasma serta terhambatnya aktivitas di dalam membran sitoplasma (bakteriostatik). Namun, CHX dapat bersifat bakteriosidal dengan cara berikatan dengan ATP dan asam nukleat hingga terjadi reaksi pengendapan (*precipitation*) akibat rusaknya membran sel dalam jangka waktu yang lama.

Penggunaan *chlorhexidine* 0,2% yang diencerkan dengan akuades steril menjadi 0,1% dilakukan untuk memperkecil diameter zona hambat pada penelitian tanpa mengurangi kemampuan antibakteri yang dimiliki CHX. Hal tersebut dilakukan agar tidak akan terjadi zona tumpang-tindih atau *overlapping zone* satu sama lain di dalam *petridish*. Hal ini dilakukan untuk menghindari dan mengurangi gangguan seminimal mungkin pada proses perhitungan hasil diameter zona hambat oleh pengamat. Penelitian oleh Vintimilla *et al.*, (2020) mendukung pernyataan tersebut, yaitu CHX 4% yang diencerkan menjadi 0,05% menggunakan akuades steril. Hasil uji antibakteri terhadap *S. aureus* pada CHX 0,05% menghasilkan diameter zona hambat sebesar  $16 \pm 0,9$  mm yang jauh lebih kecil dibandingkan dengan CHX 4% sebesar  $24 \pm 0,6$  mm. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa CHX tetap dapat mempertahankan kemampuan antibakterinya walaupun dilakukan pengenceran, dengan hasil akhir berupa semakin kecil diameternya.

Kemampuan antibakteri juga berkaitan dengan pemilihan pelarut yang sesuai. Hal ini dipengaruhi oleh kemampuan pelarut untuk dapat mengekstraksi sebagian besar

keseluruhan metabolit sekunder yang ingin dicari dari simplisia (Agustien dan Susanti, 2021). Berdasarkan konstanta dielektriknya, air, metanol, dan etanol merupakan pelarut polar yang umum digunakan untuk ekstraksi maserasi. Konstanta dielektrik merupakan gaya tolak menolak antara dua partikel bermuatan listrik dalam suatu molekul dan ketika semakin besar nilainya, semakin polar juga sifatnya (Verdiana *et al.*, 2018). Air, metanol, dan etanol memiliki nilai 80, 33, dan 24 sehingga etanol bersifat lebih non polar daripada metanol. Akibatnya, senyawa nonpolar di dalam kulit buah kopi juga akan ter-ekstraksi, seperti golongan terpena, senyawa fenol, fitosterol, dan asam lemak seperti kampesterol serta asam palmitat (da Silva *et al.*, 2023). Hal ini dibuktikan dengan kandungan senyawa fenol, kafein, dan tanin yang lebih banyak ter-ekstraksi dari kulit buah kopi menggunakan pelarut etanol daripada metanol (Hu *et al.*, 2023; Kusuma *et al.*, 2022). Dengan demikian, etanol akan masuk ke dalam dinding dan membran sel hingga ke inti sel kulit buah kopi. Dengan demikian, kedua sifat metabolit sekunder di dalam kulit buah kopi akan terdesak keluar serta terlarut dalam etanol dikarenakan memiliki kepolaran dan sifat yang sama.

Zona hambat yang terbentuk pada penelitian juga tidak terlepas dari bahan aktif di dalam EKBK. Bahan aktif yang terdapat di dalamnya berasal dari golongan alkaloid dan senyawa fenolik berupa flavonoid, fenol, tanin, saponin, dan sedikit kandungan terpenoid. Setiap bahan aktif ini memiliki kemampuan antibakteri dengan mekanisme yang berbeda satu sama lain dalam menghambat ataupun membunuh *L. acidophilus*.

Alkaloid adalah metabolit sekunder bersifat basa lemah karena adanya atom nitrogen sebagai penyusunnya. Mekanisme kerjanya dipengaruhi oleh interaksi antara atom nitrogen miliknya dengan bakteri, yaitu pada asam amino penyusun peptidoglikan dan DNA bakteri, tepatnya enzim topoisomerase (Ranasatri *et al.*, 2021). Ikatan tersebut menyebabkan sintesis protein berupa proses replikasi, transkripsi dan rekombinasi DNA menghasilkan susunan asam amino yang berbeda sehingga terjadi ketidakseimbangan pada rantai DNA yang berujung pada kerusakan bakteri (Rahmadeni *et al.*, 2019). Selain DNA bakteri, asam amino penyusun peptidoglikan

juga mengalami gangguan oleh ikatan tersebut yang berujung pada rusaknya dinding sel.

Flavonoid termasuk ke dalam golongan fenol yang bekerja dengan cara menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel, dan menghambat metabolisme bakteri (Nomer *et al.*, 2019). Mekanisme tersebut dipengaruhi oleh gugus fungsional berupa cincin A dan B yang mampu membentuk ikatan hidrogen dengan bakteri. Sintesis protein DNA dan RNA bakteri kemudian dihambat oleh ikatan tersebut sehingga terjadi penumpukan basa asam nukleat. Selain itu, fungsi membran sel juga berhasil dirusak oleh flavonoid sehingga semua materi di dalam sel keluar yang berujung pada kematian sel. Kemudian dalam menghambat metabolisme energi, flavonoid ini mampu mengubah membran luar sitoplasma menyebabkan terganggunya transpor nutrisi dan metabolit bakteri. Hal ini dapat menghambat pasokan energi untuk bakteri sehingga metabolisme tidak terjadi.

Senyawa fenolik dapat mencegah sintesis dinding sel dan menghambat fungsi membran sel (Hidayah *et al.*, 2017). Gugus hidroksil senyawa fenol dapat berikatan dengan peptidoglikan dinding sel sehingga mencegah pembentukan penggabungan ikatan asam N-asetilmuramat dengan peptida. Hal ini menyebabkan sintesis dinding sel terhambat serta tidak terbentuk secara sempurna. Senyawa fenol juga dapat berikatan dengan struktur fosfolipid membran sel bakteri sehingga permeabilitas membran meningkat menyebabkan terganggunya keseimbangan di dalam sel yang diikuti dengan keluarnya makromolekul dan komponen intraseluler lainnya dari dalam sel

Senyawa fenol tersusun atas cincin aromatik dengan satu (fenol) atau lebih (polifenol) gugus hidroksil (polifenol) pada strukturnya. Senyawa ini mampu mencegah sintesis dinding sel dan menghambat fungsi membran sel (Hidayah *et al.*, 2017). Senyawa ini merusak membran sel bakteri dengan melakukan ikatan hidrogen antara senyawa fenol dengan bakteri (Mughtaromah *et al.*, 2020). Ion hidrogen tersebut dapat mengganggu struktur peptidoglikan dengan mencegah pembentukan penggabungan ikatan asam N-asetilmuramat dengan peptida (Hidayah *et al.*, 2017).

Hal ini menyebabkan sintesis dinding sel terhambat serta tidak terbentuk secara sempurna yang berujung pada lisisnya dinding. Selain itu, senyawa fenol juga dapat berikatan dengan senyawa non polar berupa fosfolipid di membran sel. Akibatnya, fosfolipid terpecah sehingga permeabilitas membran meningkat menyebabkan terganggunya keseimbangan di dalam sel yang diikuti dengan keluarnya makromolekul dan komponen intraseluler lainnya dari dalam sel.

Saponin mampu mempengaruhi permeabilitas membran sel sehingga terjadi ketidakstabilan yang mengakibatkan lisisnya sel bakteri (Rosidah *et al.*, 2014). Aktivitas antibakteri tanin terlihat dari kemampuannya yang dapat menghambat sintesis dinding sel dan mengganggu permeabilitas membran sel (Farha *et al.*, 2020). Tanin menonaktifkan enzim untuk sintesis dinding sel dan berikatan dengan peptidoglikan serta meningkatkan permeabilitas membran sel yang berakibat pada lisisnya bakteri. Selain itu, terpenoid dalam jumlah sedikit dalam kulit buah kopi juga memiliki kemampuan antibakteri dengan menyebabkan rusaknya ikatan senyawa lipofilik di membran sel bakteri (Wulansari *et al.*, 2020). Dengan demikian, permeabilitas dinding sel terganggu sehingga komponen intraseluler di sitoplasma keluar mengakibatkan lisisnya bakteri.

## BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa,

1. Ekstrak kulit buah kopi robusta (*Coffea canephora*) dan arabika (*Coffea arabica*) memiliki kemampuan antibakteri terhadap pertumbuhan *L. acidophilus*.
2. Daya hambat ekstrak kulit buah kopi robusta (*Coffea canephora*) lebih kuat daripada arabika (*Coffea arabica*) terhadap pertumbuhan *L. acidophilus*.

### 5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat diajukan beberapa saran sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan uji fitokimia berupa kandungan lemak dari kedua jenis kulit kopi untuk mengetahui penyebab kegagalan penggunaan *paper-disk diffusion* pada uji coba penelitian.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai variasi jenis pelarut dan lamanya waktu perendaman yang tepat pada proses ekstraksi maserasi untuk mendapatkan kandungan senyawa bioaktif tertinggi di dalam kulit buah kopi.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) masing-masing ekstrak kulit buah kopi.
4. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai kemampuan antibakteri kedua jenis ekstrak kulit buah kopi ditingkat *in vivo*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agustien, Gina Septiani, dan Susanti. 2021. Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Hasil Ekstraksi Daun Lidah Mertua (*Sansevieria trifasciata*). *Prosiding Seminar Nasional Farmasi: Major Challenge and Trends in Pharmaceutical Science*. 17 Juli 2021. *Universitas Ahmad Dahlan*:39–45.
- Andini, Sopiha, Saryono, Saryono, dan Fazria, Alisa Nur. Strategi Pengolahan Sampah dan Penerapan Zero Waste di Lingkungan Kampus STKIP Kusuma Negara. *Jurnal Citizenship Virtues*, 2(1):273-281.
- Hasan, HasanAnggraini, Wirda, Siti Choirun Nisa, Ria Ramadhani Da, dan Burhan Ma'arif ZA. 2019. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 96% Buah Blewah (*Cucumis melo L. var. cantalupensis*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, 5(1):61–66.
- Aseng, Khotimah, Siti, dan Armayanti, Ita. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Infusa Daun Mangga Bacang (*Mangifera foetida L.*) dan Infusa Lidah Buaya (*Aloe Vera L.*) Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Pendidikan Dokter Kalbar*, 3(1): 1–9.
- Aulah, Jannati, Rita Maliza, dan Oktira Roka Aji. 2020. Antibacterial Activity of Coffee Arabica (*Coffea arabica L.*) Pulp Methanol Extracts on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* Bacteria. *Bioscience*, 4(2):162–71.
- Badaring, Deny Romadhon, Sari Puspitha Mulya Sari, Satrina Nurhabiba, Wirda Wulan, dan Sintiya Anugrah Rante Lembang. 2020. Uji Ekstrak Daun Maja (*Aegle marmelos L.*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Indonesian Journal of Fundamental Sciences*, 6(1):16–26.
- Balouiri, Mounyr, Moulay Sadiki, dan Saad Koraichi Ibsouda. 2016. Methods for In Vitro Evaluating Antimicrobial Activity: A Review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2):71–79.
- Boleng, Didimus Tanah. 2015. *Bakteriologi Konsep-Konsep Dasar*. Malang: Universitas Muhammadiyah Malang Press.
- Bonilla-Hermosa, Verónica Alejandra, Whasley Ferreira Duarte, dan Rosane Freitas Schwan. 2014. Utilization of Coffee By-Products Obtained from Semi-Washed Process for Production of Value-Added Compounds. *Bioresource Technology*, 166:142–50.

- da Silva, M. R., Jelley, Rebecca E., Carneiro, R. L., Fedrizzi, B., Weber, C. C., dan Funari, C. S. 2023. Green Solvents for The Selective Extraction of Bioactive Compounds From By-products of The Coffee Production Chain. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 86(6).
- Datta, Frans U., Angela Novita Daki, Imanuel Benu, Annytha I. R. Detha, Nancy D. F. K. Foeh, dan Nemay A. Ndaong. 2019. Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat Cairan Rumen terhadap Pertumbuhan *Salmonella enteritidis*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, dan *Staphylococcus aureus* Menggunakan Metode Difusi Sumur Agar. *Prosiding Seminar Nasional VII Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Nusa Cendana Swiss Bel-inn Kristal Kupang*. 17 Oktober 2019. *Undana Press*:66–85.
- Diah JuliantariD, Ni Putu, Luh Putu Wrasiasi, dan Ni Made Wartini. 2018. Karakteristik Ekstrak Ampas Kopi Bubuk Robusta (*Coffea canephora*) Pada Perlakuan Konsentrasi Pelarut Etanol dan Suhu Maserasi. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 6(3):243.
- Direktorat Jenderal Perkebunan. 2020. *Statistik Perkebunan Non Unggulan Nasional 2020-2022*. Jakarta: Kementerian Pertanian.
- Direktorat Statistik Tanaman Pangan Hortikultura dan Perkebunan. 2021. *Statistik Kopi Indonesia*. Jakarta: Badan Pusat Statistik.
- Duangjai, Acharaporn, Nungruthai Suphrom, Jukkrit Wungrath, Atcharaporn Ontawong, Nitra Nuengchamngong, dan Atchariya Yosboonruang. 2016. Comparison of Antioxidant, Antimicrobial Activities and Chemical Profiles of Three Coffee (*Coffea arabica L.*) Pulp Aqueous Extracts. *Integrative Medicine Research*, 5(4):324–31.
- Fardiaz, Srikandi. 2014. *Mikrobiologi Pangan*. Edisi 1. Modul 1. Tangerang Selatan: Universitas Terbuka.
- Farha, Arakkaveettil Kabeer, Yang, Qiong Qiong, Kim, Gowoon, Li, Hua Bin, Zhu, Fan, Liu, Hong Yan, Gan, Ren You, dan Corke, Harold. 2020. Tannins As An Alternative to Antibiotics. *Food Bioscience*, 38(9):1–14.
- Fintract University. 2018. Coffee Cherry Anatomy. *Coffee Cherry Anatomy*, 1–2. <https://fintracu.fintrac.com/sites/default/files/Module1 - Unit 4 Coffee Cherry Anatomy.pdf>. [Diakses pada 12 April 2023].
- Gao, Huijuan, Xin Li, Xiatian Chen, Deng Hai, Chuang Wei, Lei Zhang, dan Peifeng Li. 2022. The Functional Roles of *Lactobacillus acidophilus* in Different Physiological and Pathological Processes. *Journal of Microbiology and*

*Biotechnology*, 32(10):1226.

- Hakim RF, Fakhrurazi, Editia A. 2018. Pengaruh Air Perasan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Lactobacillus acidophilus*. *Journal Of Syiah Kuala Dentistry Society*, 3(1):1–5.
- Harsono, Soni Sisbudi. 2022. Solusi Limbah Kulit Kopi, Dosen FTP Universitas Jember Tawarkan Biopellet Untuk Kemandirian Energi – Universitas Jember. <https://unej.ac.id/blog/2022/09/29/solusi-limbah-kulit-kopi-dosen-ftp-universitas-jember-tawarkan-biopellet-untuk-kemandirian-energi/>. [Diakses pada 9 Mei 2023].
- Hidayah, N., Mustikaningtyas D., dan Bintari S. h. 2017. Aktivitas Antibakteri Infusa Simplisia *Sargassum muticum* terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *Unnes Life Science*, 6(2):49–54.
- Hu, Shuai, Alicia Gil-Ramírez, María Martín-Trueba, Vanesa Benítez, Yolanda Aguilera, dan María A. Martín-Cabrejas. 2023. Valorization of Coffee Pulp as Bioactive Food Ingredient by Sustainable Extraction Methodologies. *Current Research in Food Science*, 6:1–16.
- Indra Wardhana, Danu, Eka Ruriani, dan Ahmad Nafi. 2019. Karakteristik Kulit Kopi Robusta Hasil Samping Pengolahan Metode Kering dari Perkebunan Kopi Rakyat Di Jawa Timur. *Agritrop*, 17(2):220–29.
- Julianto, Tatang Shabur. 2019. *Fitokimia: Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia*. Cetakan I. Yogyakarta: Universitas Islam Indonesia.
- Juwita, A. Ita, Arnida Mustafa, dan Risna Tamrin. 2017. Studi Pemanfaatan Kulit Kopi Arabika (*Coffea arabica L.*) sebagai Mikro Organisme Lokal (MOL). *Agrointek*, 11(1):1.
- Kementerian Pertanian. 2022. *Outlook Komoditas Perkebunan Kopi*. Jakarta: Kementrian Pertanian.
- Khotimah, Husnul, Erika Wulan Anggraeni, dan Ari Setianingsih. 2018. Karakterisasi Hasil Pengolahan Air Menggunakan Alat Destilasi. *Jurnal Chemurgy*, 1(2):34.
- Kurniawati, Nurleni. 2015. Ekstraksi Senyawa Polifenol Melalui Degradasi Biomassa Lignoselulosa Kulit Kopi Menggunakan Konsorsium Aktinomiset. *Disertasi*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Kusuma, S. B., S. Wulandari, R. A. Nurfitriani, dan A. Awaludin. 2022. The Potential Solvent for Tannin Extraction As a Feed Additive Made of Coffee Husk (Coffea

- canephora) Using Soxhlet Method. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 980(1).
- Kusumawardani, Arlin R., Andi M. Machbub, Rendra C. Prasetya, Nadie Fatimatuzzahro, dan Tantin Ermawati. 2023. Antibacterial Activity of Robusta Coffee (*Coffea robusta*) Husk Extract Against *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus*: In Vitro Study. *Journal of Orofacial Sciences*, 14(2):88–92.
- Mahbubah, Sri Peni Fitrianiingsih, dan Ratu Choersrina. 2020. Uji Aktivitas Antidiare Ekstrak Etanol Kulit Buah Kopi Robusta (*Coffea canephora pierre ex a. Froehner*) Terhadap Mencit *Swiss Webster* Jantan. *Prosiding Farmasi*, 6(1):128–34.
- Mardaningsih, Fitri, M. A. M. Andriani, dan Kawiji. 2012. Pengaruh Konsentrasi Etanol dan Suhu *Spray Dryer* Terhadap Karakteristik Bubuk Klorofil Daun Alfalfa (*Medicago sativa L.*) dengan Menggunakan *Binder Maltodekstrin*. *Jurnal Teknosains Pangan*, 1(1).
- Masturoh, Imas, dan Nauri Anggita. 2018. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: Pusat Pendidikan Sumber Daya Manusia.
- Muchtaromah, Bayyinatul, Evika Sandi Safitri, Prilya Dewi Fitriasari, dan Jujuk Istiwandhani. 2020. Antibacterial Activities of *Curcuma mangga Val.* Extract in Some Solvents to *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *AIP Conference Proceedings* 2231(1). 12-13 September. *AIP Publishing LLC*:030005.
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*, 2(2):361–67.
- Munira, Munira, Nazarul Mastura, dan Muhammad Nasir. 2020. Uji Antibakteri Kulit Buah Kopi (*Coffea arabica L.*) Gayo Berdasarkan Tingkat Kematangan Terhadap *Escherichia coli*. *Indonesian Journal for Health Sciences*, 4(2):84–90.
- Mustary, Mardiyah, Alhidayatullah, dan Nurhalisa. 2021. Aktivitas Aantimikroba Jamur Putih (*Pleurotus ostreatus AL1*) terhadap *Candida albicans* dan *Escherichia coli*. *Journal of Biosciences*, 1(2):80–88.
- Nomer, Ni Made Gress Rakasari, Agus Selamat Duniaji, dan Komang Ayu Nocianitri. 2019. Kandungan Senyawa Flavonoid dan Antosianin Ekstrak Kayu Secang (*Caesalpinia sappan L.*) serta Aktivitas Antibakteri Terhadap *Vibrio cholerae*. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 8(2):216–25.
- Novita, Elida, Anis Fathurrohman, dan Hendra Andiananta Pradana. 2019. Pemanfaatan Kompos Blok Limbah Kulit Kopi Sebagai Media Tanam.

*AGROTEK: Jurnal Ilmiah Ilmu Pertanian*, 2(2):61–72.

- Nurhayati, Lilih Siti, Nadhira Yahdiyani, dan Akhmad Hidayatulloh. 2020. Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt dengan Metode Difusi Sumuran dan Metode Difusi Cakram. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, 1(2):41.
- Oliveira, Leandro S., dan Adriana S. Franca. 2015. An Overview of the Potential Uses for Coffee Husks. *Coffee in Health and Disease Prevention*. Academic Press: 283–291.
- Owen, Thompson. 2020. Arabica Coffee Cherry Cross Section - Sweet Maria's Coffee Library. <https://library.sweetmarias.com/arabica-coffee-cherry-cross-section/>. [Diakses pada 12 April 2023].
- Pariati, dan Johnny Angki. 2019. Perbedaan Kumur Chlorhexidine Terhadap Skor Gingivitis Pasien Ortho Cekat Usia 15-30 Tahun di Praktek Drg. Sofyan Makassar. *Media Kesehatan Gigi*, 18(1):59–67.
- Pelczar, Michael J., dan E. C. S. Chan. 2009. *Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid 2*. Jakarta: UI Press.
- Pemerintah Kabupaten Jember. 2021. *Laporan Keterangan Pertanggungjawaban (LKPJ) Akhir Tahun Anggaran 2020*. Jember: Bappeda Jember.
- Poppolo Deus, Frank, dan Aviv Ouanounou. 2022. Chlorhexidine in Dentistry: Pharmacology, Uses, and Adverse Effects. *International Dental Journal*, 72(3):269–77.
- Prabhurajeshwar, C., dan Kelmani Chandrakanth. 2019. Evaluation of Antimicrobial Properties and Their Substances Against Pathogenic Bacteria In-vitro by Probiotic *Lactobacilli* Strains Isolated from Commercial Yoghurt. *Clinical Nutrition Experimental*, 23:97–115.
- Prahasanti, Chiquita. 2014. Efektivitas Obat Kumur *Chlorhexidine*, *Essential Oil*, *Triclosan-sodium Fluoride* dalam Pencegahan Pembentukan Bakteri Plak. *Dentofasial*, 13(1):55–58.
- Pure Inc. 2021. What's The Difference Between Arabica And Robusta Coffee Beans? - Pure Kopi Luwak. <https://www.purekopiluwak.com/difference-between-arabica-robusta-coffee-beans/>. [Diakses pada 10 April 2023].
- Putri, Amelia Andika, Erina, dan Fakhrurrazi. 2018. Isolasi Bakteri Asam Laktat Genus *Lactobacillus* dari Feses Rusa Sambar (*Cervus unicolor*). *Jimvet*, 2(1):170–76.

- Pyar Hassan dan Peh K. K. 2014. Characterization and Identification of *Lactobacillus acidophilus* Using Biolog Rapid Identification System. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(1):189–93.
- Rahardjo, P. 2012. 2019. Panduan Budi Daya dan Pengolahan Kopi Arabika dan Robusta. Penebar Swadaya. Jakarta. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9).
- Rahmadeni, Yossi, Fuji Astuti Febria, dan Amri Bakhtiar. 2019. Potensi Pakih Sipasan (*Blechnum orientale*) sebagai Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*. *Metamorfosa: Journal of Biological Sciences*, 6(2):224–29.
- Ranasatri, A. Atiqah, N. Mahmudah, R. Aisyah, dan R. Sintowati. 2021. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70% Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Salmonella typhi*. *Biomedika*, 13(2):101–10.
- Rante, Herlina, Subehan, Retno Wulandari, dan Yuyu Mulsiani Evary. 2021. Antibacterial Activity of Robusta Coffee (*Coffea robusta L.*) Peel Extract Against Human Pathogenic Bacteria. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*, 9(2):264–68.
- Rastogi, Varun, Rachna Sharma, Lalita Yadav, Pranali Satpute, dan Vandana Sharma. 2014. Green Dentistry, A Metamorphosis Towards an Eco-friendly Dentistry: A Short Communication. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 8(7):7–8.
- Rebollo-Hernanz, Miguel, Silvia Cañas, Diego Taladrid, Vanesa Benítez, Begoña Bartolomé, Yolanda Aguilera, dan María A. Martín-Cabrejas. 2021. Revalorization of Coffee Husk: Modeling and Optimizing The Green Sustainable Extraction of Phenolic Compounds. *Foods*, 10(653):23.
- Ridwan Harahap, Muhammad. 2017. Identifikasi Daging Buah Kopi Robusta (*Coffea Robusta*) Berasal dari Provinsi Aceh. *Elkawnie: Journal of Islamic Science and Technology*, 3(2):201–10.
- Ridwan Harahap, Muhammad. 2018. Aktivitas Daya Hambat Limbah Daging Buah Kopi Robusta (*Coffea robusta L.*) Aceh terhadap Bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. *Jurnal Kesehatan*, 9(1):93–98.
- Riedel, Stefan, Jeffery A. Hobden, Steve Miller, S. A. Morse, T. A. Mietzner, B. Detrick, T. G. Mitchell, J. A. Sakanari, P. Hotez, dan R. Mejia. 2019. *Jawetz, Melnick and Adelberg's Medical Microbiology*. 28th Ed. New York: McGraw-Hill Education.

- Rini, Chylen Setiyo dan Rochmah, Jamilatur. 2020. *Bakteriologi Dasar*. Sidoarjo: UMSIDA Press.
- Riwanti, Pramudita, Farizah Izazih, dan Amaliyah. 2020. Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Etanol pada Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol 50, 70, dan 96% *Sargassum polycystum* dari Madura. *Journal of Pharmaceutical Care Anwar Medika*, 2(2):82–95.
- Rochmah, Hidayati Fatchur, Aliyyu Sheva Kresnanda, dan Muhammad Luthfi Asyidiq. 2021. Pemanfaatan Limbah Ampas Kopi Sebagai Upaya Pemberdayaan Petani Kopi di CV Frinsa Agrolestari, Bandung, Jawa Barat. *07 Jurnal Sains Terapan: Wahana Informasi dan Alih Teknologi Pertanian*, 11(2):60–69.
- Rodríguez-Durán, Luis V., Ma Ascención Ramírez-Coronel, Eduardo Aranda-Delgado, K. Madhavan Nampoothiri, Ernesto Favela-Torres, Cristóbal N. Aguilar, dan Gerardo Saucedo-Castañeda. 2014. Soluble and Bound Hydroxycinnamates in Coffee Pulp (*Coffea arabica*) from Seven Cultivars at Three Ripening Stages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(31):7869–76.
- Rondhianto, Wantiyah, dan Febrian Maulana Putra. 2016. Penggunaan Chlorhexedine 0,2% dengan Povidone Iodine 1% Sebagai Dekontaminasi Mulut Terhadap Kolonisasi *Staphylococcus aureus* pada Pasien Pasca Operasi Anestesi Umum. *NurseLine Journal*, 1(1):176–83.
- Rosidah, Ani Nur, Pujiana Endah Lestari, dan Pudji Astuti. 2014. Daya Antibakteri Ekstrak Daun Kendali (*Hippobroma longiflora* [L] G. Don) terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *Repositori Universitas Jember*, 1–9.
- Rusli, Fitri Amalia, dan Zaraswati Dwyana. 2018. Potensi Bakteri *Lactobacillus acidophilus* Sebagai Antidiare dan Imunomodulator. *BIOMA: Jurnal Biologi Makassar*, 3(2):25–30.
- Samaranayake, dan Lakshman. 2018. *Essential Microbiology for Dentistry*. 5th Ed. New York: Elsevier.
- Sanders, Erin R. 2012. Aseptic Laboratory Techniques: Plating Methods. *Journal of Visualized Experiments*, 63(3064):1–18.
- Sari, Dian Novita, Cholil, dan Bayu Indra Sukmana. 2014. Perbandingan Efektifitas Obat Kumur Bebas Alkohol yang Mengandung *Cetylpyridinium Chloride* dengan *Chlorexidine* terhadap Penurunan Plak. *Dentino: Jurnal Kedokteran Gigi*, 2(2):197–200.

- Senthilkumaran, R., dan E. Pavithra. 2014. *In-vitro* Sensitivity of Bacterial and Fungal Pathogens to *Datura alba* - An Antimicrobial Approaches. *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences*, 1(1):101–10.
- Sepriyany. 2017. Anatomy of a Coffee Bean – Red Berry Coffee. <http://redberrycoffee.co.id/anatomy-of-a-coffee-bean/>. [Diakses pada 12 April 2023].
- Sholichah, Enny, Rizky Apriani, Dewi Desnilasari, dan Mirwan A. Karim. 2019. Produk Samping Kulit Kopi Arabika dan Robusta sebagai Sumber Polifenol untuk Antioksidan dan Antibakteri. *Jurnal Industri Hasil Perkebunan*, 14(2):57–66.
- Shori, Amal Bakr, Ahmad Salihin Baba, dan Premalatha Muniandy. 2019. Potential Health-Promoting Effects of Probiotics in Dairy Beverages. *Value-Added Ingredients and Enrichments of Beverages* 14. Academic Press: 173–204.
- Singh Ahirwar, Sonu, M. K. Gupta, Sunil K. Snehi, dan Swargiya Dadasaheb Kalmegh. 2019. Dental Caries and *Lactobacillus*: Role and Ecology in the Oral Cavity. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research (IJPSR)*, 10(11):4818–4829.
- Singh, Asha Lata, dan P. N. Sarma. 2010. Removal of Arsenic (III) from Waste Water using *Lactobacillus acidophilus*. *Bioremediation Journal*, 14(2):92–97.
- Siti, Armyanti Ita, Aseng, dan Khotimah. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Infusa Daun Mangga Bacang (*Mangifera foetida L.*) dan Infusa Lidah Buaya (*Aloe Vera L.*) Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Pendidikan Dokter Kalbar*, 3(1):1–19.
- Suhayat, Cecep Kurnia, Meiskha Bahar, dan Maria S. Thadeus. 2015. Perbandingan Hasil Uji Sensitivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Sebelum dan Sesudah Dipanggang Terhadap Isolat Bakteri Plak Gigi di Poliklinik STAN Tangerang Selatan. *Bina Widya*, 26(3):135–44.
- Sulaiman, Akhmad Yusuf, Pudji Astuti, dan Amandia Dewi Permana Shita. 2017. Uji Antibakteri Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia Calabura L.*) Terhadap Koloni *Streptococcus viridans*. *Indonesian Journal for Health Sciences*, 1(2):1–6.
- Sumual, Acika M., Fatimawali, dan Trina E. Tallei. 2019. Uji Antibakteri dari Bakteri Asam Laktat Hasil Fermentasi Selada Romain (*Lactuca sativa var. longifolia Lam.*). *Pharmacon*, 8(2):306–14.
- Sutrisna, Rudy, Christina Nugroho Ekowati, dan Edelina Sinaga Sinaga. 2017. Pengaruh pH Terhadap Produksi Antibakteri oleh Bakteri Asam Laktat dari Usus

- Itik. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*, 15(3):234–38.
- Verdiana, Melia, I. Wayan Rai Widarta, dan I. Dewa Gede Mayun Permana. 2018. Pengaruh Jenis Pelarut Pada Ekstraksi Menggunakan Gelombang Ultrasonik Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Lemon (*Citrus limon* (Linn.) Burm F.). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 7(4):213–22.
- Vintimilla, David Rojas, Lori Chambers, Cyril Mauffrey, dan Joshua A. Parry. 2020. Just Add Water? Chlorhexidine's Antimicrobial Properties are Minimally Affected by Dilution in Saline Compared to Water. *European Journal of Orthopaedic Surgery and Traumatology*, 30(4):613–15.
- Wald-Dickler, Noah, Paul Holtom, dan Brad Spellberg. 2018. Busting the Myth of “Static vs Cidal”: A Systemic Literature Review. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 66(9):1470–74.
- Widyotomo, Sukrisno. 2013. Potency and Technology of Coffee Trash Diversification Product to Increase Good Quality and Added Value. *Review Penelitian Kopi dan Kakao*, 1(1):63–80.
- Williams, Simon D., Bronwyn J. Barkla, Terry J. Rose, dan Lei Liu. 2022. Does Coffee Have Terroir and How Should It Be Assessed? *Foods*, 11(13):1–20.
- Winastri, Ni Luh Arisa Prahastuti, Handa Muliastari, dan Ernin Hidayati. 2020. Aktivitas Aantibakteri Air dan Rebusan Daun Calincing (*Oxalis corniculata* L.) Terhadap *Streptococcus mutans*. *Berita Biologi: Jurnal Ilmu-ilmu Hayati*, 19(2):127–224.
- Wulansari, E. D., Lestari D., dan Khoirunissa, M. A. 2020. Kandungan Terpenoid dalam Daun Ara (*Ficus carica* L.) sebagai Agen Antibakteri Terhadap Bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*. *Pharmacon*, 9(2):219–225.
- Wya Saraswati, Puspasecca, Komang Ayu Nocianitri, dan Ni Made Indri Hapsari Arihantana. 2021. Pola Pertumbuhan *Lactobacillus* sp. F213 Selama Fermentasi Pada Sari Buah Terung Belanda (*Solanum betaceum* Cav.). *Itepa: Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*, 10(4):621–33.

## LAMPIRAN

## Lampiran 3.1 Identifikasi Kulit Buah Kopi

## A. Robusta

Kode Dokumen : FR-AUK-064  
 Revisi : 0



**KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN,  
 RISET DAN TEKNOLOGI  
 POLITEKNIK NEGERI JEMBER  
 UPA. PENGEMBANGAN PERTANIAN TERPADU**  
Jalan Mastrip Kotak Pos 164 Jember - 68101 Telp. (0331) 333532 - 333534 Fax.(0331) 333531  
 E-mail : [Polije@polije.ac.id](mailto:Polije@polije.ac.id) Web Site : <http://www.Polije.ac.id>

---

**SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TANAMAN**

No: 005/PL17.8/PG/2023

Menindaklanjuti surat dari Wakil Dekan I Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember No: 22/UN25.8/PG/2023 perihal Permohonan Identifikasi Tanaman dan berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirimkan ke UPA. Pengembangan Pertanian Terpadu, Politeknik Negeri Jember oleh:

Nama : Marina Erlisa Ishimora  
 NIM : 191610101104  
 Jur/Fak/PT : Fakultas Kedokteran Gigi/ Universitas Jember

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

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.



Jember, 11 Januari 2023  
 Ka. UPA. Pengembangan Pertanian Terpadu  
 Ir. Budi Prasetyo, S.Pt, MP, IPM  
 NIP. 197106212001121001

CS Dipindai dengan CamScanner

## B. Arabika

Kode Dokumen : FR-AUK-064  
 Revisi : 0



**KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN,  
 RISET DAN TEKNOLOGI  
 POLITEKNIK NEGERI JEMBER  
 UPA. PENGEMBANGAN PERTANIAN TERPADU**  
 Jalan Mastrip Kotak Pos 164 Jember - 68101 Telp. (0331) 333532 - 333534 Fax.(0331) 333531  
 E-mail : [Polije@polije.ac.id](mailto:Polije@polije.ac.id) Web Site : <http://www.Polije.ac.id>

---

**SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TANAMAN**

No: 004/PL17.8/PG/2023

Menindaklanjuti surat dari Wakil Dekan I Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember No: 22/UN25.8/PG/2023 perihal Permohonan Identifikasi Tanaman dan berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirimkan ke UPA. Pengembangan Pertanian Terpadu, Politeknik Negeri Jember oleh:

Nama : Marina Erlisa Ishimora  
 NIM : 191610101104  
 Jur/Fak/PT : Fakultas Kedokteran Gigi/ Universitas Jember

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

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.



Jember, 11 Januari 2023  
 Ka. UPA. Pengembangan Pertanian Terpadu  
 Ir. Budi Prasetyo, S.Pt, MP, IPM  
 NIP.197106212001121001

CS Dipindai dengan CamScanner

Lampiran 3. 2 Surat Keterangan Identifikasi *Lactobacillus acidophilus*



LABORATORIUM MIKROBIOLOGI  
BAGIAN BIOMEDIK KEDOKTERAN GIGI  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS JEMBER

**SURAT KETERANGAN**

No. 0242/MIKRO/S.KET/2023

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

Nama : Marina Erlysa Ishimora  
NIM : 191610101104  
Fakultas : Fakultas Kedokteran Gigi  
Keperluan : Skripsi Penelitian

Telah melakukan identifikasi terhadap isolat bakteri *Lactobacillus acidophilus* dengan menggunakan pengecatan Gram dan diamati secara mikroskopis menunjukkan hasil bacil gram positif.

Jember, 3 Maret 2023

Mengetahui,  
Kepala Bagian Biomedik Kedokteran Gigi

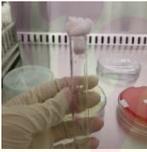
(drg. Zahara Meilawaty, M.Kes)  
NIP.198005272008122002

Penanggung Jawab Lab. Mikrobiologi

(drg. Pujiana Endah Lestari, M.Kes)  
NIP. 197608092005012002

Lampiran 3.3 Alat dan Bahan Penelitian

A. Bahan

			
Blender	Ayakan 60 Mesh	Timbangan Analitik	Whatman No. 40
			
Tabung Erlenmeyer	Corong	Gelas Ukur	Aluminium Foil
			
Rotary Evaporator	Mikroskop	Petridish	Korek api
			
Bunsen	Waterbath	Tabung durham	Vortex
			
Microtube	Mircopipette	Blue dan Yellow Tip	Autoclave
			
Laminar Flow	Densitometer	Hot Plate Stirrer	Inkubator
			
Pinset	Sedotan	Jangka Sorong	Kertas Label

B. Bahan

 <p><i>L. acidophilus</i> FNCC-0051</p>	 <p><i>Coffee husk</i></p>	 <p>Akuades Steril</p>	 <p>Etanol 96%</p>
 <p>Alkohol 70%,</p>	 <p><i>Chlorhexidine</i> 0,2%</p>	 <p>Pengecatan Gram</p>	 <p>Mueller-Hinton Agar (MHA)</p>
 <p>Mueller-Hinton Broth (MHB)</p>	 <p>Masker</p>	 <p><i>Handscoon</i></p>	 <p>Tissue</p>

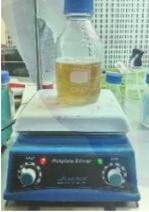
Lampiran 3.4 Persiapan Ekstrak Kulit Buah Kopi (EKBK)

 <p>Buah kopi matang berwarna merah seragam bebas dari penyakit dan cacat</p>	 <p>Proses penjemuran buah kopi dengan pengolahan metode kering</p>	 <p>Proses <i>hulling</i> buah kopi untuk mendapatkan <i>coffee husk</i></p>
 <p><i>Coffee husk</i> hasil proses <i>hulling</i></p>	 <p>Kulit buah kopi setelah pengeringan selama tiga hari</p>	 <p>Kulit buah kopi dihaluskan dengan blender</p>
 <p>Bubuk kulit buah kopi hasil blender</p>	 <p>Hasil penyaringan dengan ayakan 60 mesh 400 gram bubuk kulit buah kopi</p>	

Lampiran 3.5 Pembuatan Ekstrak Kulit Buah Kopi (EKBK)

 <p>Ekstraksi maserasi dengan etanol 96% (1:5) ke dalam tabung erlenmeyer</p>	 <p>Tutup dengan <i>aluminium foil</i> selama 3x24 jam dan diaduk setiap harinya</p>	 <p>Filtrasi hasil maserasi dengan kertas Whatman No. 40 diameter 125 mm</p>
 <p>Filtrat jernih hasil filtrasi</p>	 <p>Evaporasi etanol 96% dengan kecepatan 125rpm pada suhu maksimal 50°C</p>	 <p>Hasil evaporasi didapatkan 9,1 gram ekstrak kulit buah kopi kental</p>
 <p>Encerkan dengan akuades dan homogenkan di atas vortex</p>	 <p>Hasil pengenceran ekstrak kulit buah kopi</p>	

Lampiran 3.6 Tahap Persiapan dan Perlakuan

 <p>Timbang 5,7 gram MHA menggunakan neraca analitik untuk kedua ekstrak</p>	 <p>Larutkan dengan 150ml akuades steril</p>	 <p>Panaskan MHA hingga homogen di <i>water bath</i> pada suhu 100°C</p>
 <p>MHA yang sudah homogen tampak bening dan tidak keruh</p>	 <p>Sterilkan MHA dengan <i>autoclave</i> dengan suhu 121°C selama 15 menit</p>	 <p>Keluarkan dari <i>autoclave</i> dan pertahankan pada suhu 44-46°C di dalam <i>waterbath</i> agar tidak memadat</p>
 <p>Hasil pembuatan suspensi <i>L. acidophilus</i> dalam MHB</p>	 <p>Pembuatan inokulum <i>L. acidophilus</i> setara dengan 0,5 McFarland</p>	 <p>Tuangkan inokulum <i>L. acidophilus</i> yang telah dibuat ke dalam MHA</p>
 <p>Campurkan dan homogenkan di atas <i>hot plate stirrer</i> hingga tercampur merata</p>	 <p>Tuangkan sebanyak 25mL ke dalam setiap <i>petridish</i> berukuran 11 mm</p>	 <p>Tunggu selama ±3 jam hingga media di dalam <i>petridish</i> memadat dan siap digunakan</p>



Pembuatan lubang sumur diameter 6mm dengan sedotan steril



Sebanyak 30µL bahan dimasukkan ke dalam tiap lubang sumuran



Inkubasi ke dalam inkubator pada 37°C selama 48 jam



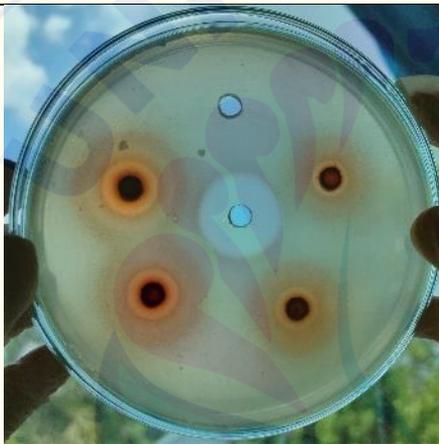
Lampiran 4.1 Hasil Penelitian  
A. Kulit Buah Kopi Robusta



Pengulangan 1



Pengulangan 2

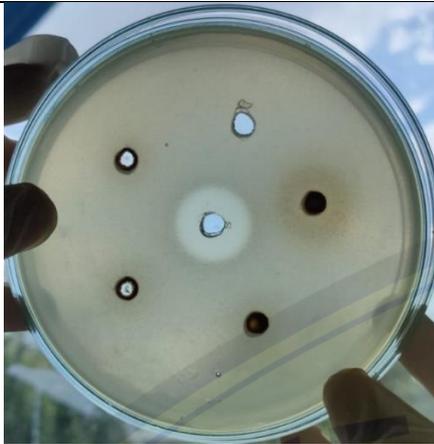


Pengulangan 3



Pengulangan 4

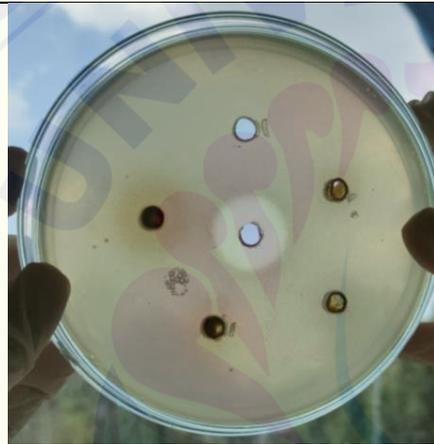
B. Kulit Buah Kopi Arabika



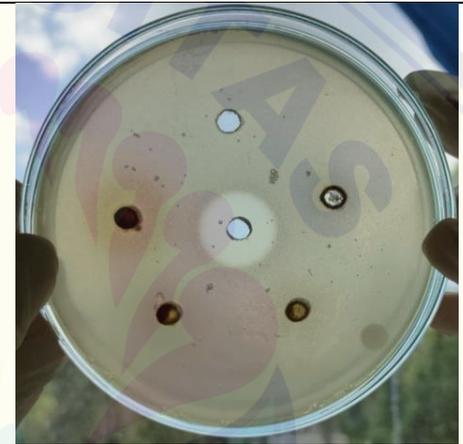
Pengulangan 1



Pengulangan 2



Pengulangan 3



Pengulangan 4

## C. Data Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat (mm)

## 1) Zona radikal kulit buah kopi robusta

Kelompok Perlakuan	Pengulangan				Rata-Rata	Standar Deviasi (SD)
	1	2	3	4		
Akuades steril (K-)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.0000
<i>Chlorhexidine</i> 0,1% (K+)	20.65	20.70	20.69	20.64	20.67	0.0294
EKBK 250mg/ml	9.71	8.66	7.79	8.12	8.57	0.8397
EKBK 500mg/ml	11.61	10.92	9.68	8.31	10.13	1.4526
EKBK 750mg/ml	12.83	12.69	12.18	11.17	12.22	0.7546
EKBK 1000mg/ml	14.03	13.85	12.73	12.02	13.16	0.9520

## 2) Zona irradikal kulit buah kopi robusta

Kelompok Perlakuan	Pengulangan				Rata-Rata	Standar Deviasi (SD)
	1	2	3	4		
Akuades steril (K-)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.0000
<i>Chlorhexidine</i> 0,1% (K+)	20.65	20.70	20.69	20.64	20.67	0.0294
EKBK 250mg/ml	20.44	21.62	21.34	20.46	20.96	0.6023
EKBK 500mg/ml	23.26	24.53	23.87	22.64	23.57	0.8115
EKBK 750mg/ml	25.29	25.25	25.18	24.74	25.11	0.2557
EKBK 1000mg/ml	26.00	26.52	25.99	25.47	25.99	0.4287

## 3) Zona radikal kulit buah kopi arabika

Kelompok Perlakuan	Pengulangan				Rata-Rata	Standar Deviasi (SD)
	1	2	3	4		
Akuades steril (K-)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
<i>Chlorhexidine</i> 0,1% (K+)	20.39	20.44	20.28	20.37	20.37	0.07
EKBK 250mg/ml	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
EKBK 500mg/ml	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
EKBK 750mg/ml	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
EKBK 1000mg/ml	8.61	8.54	8.66	8.58	8.60	0.0506

## 4) Zona irradikal kulit buah kopi arabika

Kelompok Perlakuan	Pengulangan				Rata-Rata	Standar Deviasi (SD)
	1	2	3	4		
Akuades steril (K-)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.0000
<i>Chlorhexidine</i> 0,1% (K+)	20.39	20.44	20.28	20.37	20.37	0.0668
EKBK 250mg/ml	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.0000
EKBK 500mg/ml	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.0000
EKBK 750mg/ml	7.24	7.31	7.20	7.23	7.25	0.0465
EKBK 1000mg/ml	9.40	9.55	9.35	9.39	9.42	0.0877

Lampiran 4.2 Hasil Analisis Uji Normalitas *Saphiro-Wilk*

		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Kelompok Robusta Radikal	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Diameter_Zona_Hambat	K(-)	.	4	.	.	4	.
	K(+)	.252	4	.	.882	4	.348
	R1000	.267	4	.	.904	4	.453
	R750	.235	4	.	.885	4	.361
	R500	.207	4	.	.967	4	.824
	R250	.207	4	.	.938	4	.640

a. Lilliefors Significance Correction

		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Kelompok Robusta Irradikal	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Diameter_Zona_Hambat	K(-)	.	4	.	.	4	.
	K(+)	.252	4	.	.882	4	.348
	R1000	.245	4	.	.949	4	.709
	R750	.351	4	.	.784	4	.076
	R500	.151	4	.	.994	4	.978
	R250	.298	4	.	.833	4	.176

a. Lilliefors Significance Correction

		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Kelompok Aranika Radikal	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Diameter_Zona_Hambat	K(-)	.	4	.	.	4	.
	K(+)	.250	4	.	.958	4	.765
	A1000	.152	4	.	.997	4	.989
	A750	.	4	.	.	4	.
	A500	.	4	.	.	4	.
	A250	.	4	.	.	4	.

a. Lilliefors Significance Correction

		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Kelompok Aranika Irradikal	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Diameter_Zona_Hambat	K(-)	.	4	.	.	4	.
	K(+)	.250	4	.	.958	4	.765
	A1000	.351	4	.	.839	4	.192
	A750	.293	4	.	.918	4	.528
	A500	.	4	.	.	4	.
	A250	.	4	.	.	4	.

a. Lilliefors Significance Correction

Lampiran 4.3 Hasil Analisis Uji Homogenitas *Levene Test***Test of Homogeneity of Variances**

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Diameter_Zona_Hambat	Based on Mean	5.445	5	18	.003
	Based on Median	4.552	5	18	.007
	Based on Median and with adjusted df	4.552	5	10.033	.020
	Based on trimmed mean	5.432	5	18	.003

**Test of Homogeneity of Variances**

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Diameter_Zona_Hambat	Based on Mean	6.070	5	18	.002
	Based on Median	5.465	5	18	.003
	Based on Median and with adjusted df	5.465	5	8.708	.015
	Based on trimmed mean	6.018	5	18	.002

**Test of Homogeneity of Variances**

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Diameter_Zona_Hambat	Based on Mean	4.500	5	18	.008
	Based on Median	4.254	5	18	.010
	Based on Median and with adjusted df	4.254	5	4.929	.070
	Based on trimmed mean	4.497	5	18	.008

**Test of Homogeneity of Variances**

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Diameter_Zona_Hambat	Based on Mean	3.822	5	18	.016
	Based on Median	1.778	5	18	.168
	Based on Median and with adjusted df	1.778	5	6.425	.244
	Based on trimmed mean	3.460	5	18	.023

Lampiran 4.4 Hasil Analisis Uji Non-Parametrik *Kruskal-Wallis***Test Statistics<sup>a,b</sup>**

	Diameter	Zona	Hambat
Kruskal-Wallis H			21.403
df			5
Asymp. Sig.			.001

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Kelompok\_Robusta\_Radikal

**Test Statistics<sup>a,b</sup>**

	Diameter	Zona	Hambat
Kruskal-Wallis H			21.855
df			5
Asymp. Sig.			.001

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Kelompok\_Robusta\_Irradikal

**Test Statistics<sup>a,b</sup>**

	Diameter	Zona	Hambat
Kruskal-Wallis H			22.716
df			5
Asymp. Sig.			.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Kelompok\_Arabika\_Radikal

**Test Statistics<sup>a,b</sup>**

	Diameter	Zona	Hambat
Kruskal-Wallis H			22.657
df			5
Asymp. Sig.			.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Kelompok\_Arabika\_Irradikal

Lampiran 4.5 Hasil Analisis Uji *Mann-Whitney*

A. Kulit Buah Kopi Robusta Zona Radikal

1) Antara R1000 dan R750

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	Diameter_Zona_Ham bat
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	14.000
Z	-1.155
Asymp. Sig. (2-tailed)	.248
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.343 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Kelompok\_Robusta

b. Not corrected for ties.

2) Antara R1000 dan R500

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	Diameter_Zona_ Hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Kelompok\_Robusta

b. Not corrected for ties.

3) Antara R1000 dan R250

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	Diameter_Zona_Ham bat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Kelompok\_Robusta

b. Not corrected for ties.

4) Antara R750 dan R500

**Test Statistics<sup>a</sup>**

	Diameter_Zona_ Hambat
Mann-Whitney U	1.000
Wilcoxon W	11.000
Z	-2.021
Asymp. Sig. (2-tailed)	.043
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.057 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: Kelompok\_Robusta

b. Not corrected for ties.

5) Antara R750 dan R250

**Test Statistics'**

	Diameter_Zona_Ham bat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>b</sup>

- a. Grouping Variable: Kelompok\_Robusta  
b. Not corrected for ties.

6) Antara R500 dan R250

**Test Statistics'**

	Diameter_Zona_ Hambat
Mann-Whitney U	3.000
Wilcoxon W	13.000
Z	-1.443
Asymp. Sig. (2-tailed)	.149
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.200 <sup>b</sup>

- a. Grouping Variable: Kelompok\_Robusta  
b. Not corrected for ties.

B. Kulit Buah Kopi Robusta Zona Iradikal

1) Antara K+ dan R250

**Test Statistics'**

	Diameter_Zona_Ham bat
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	18.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 <sup>b</sup>

- a. Grouping Variable:  
Kelompok\_Robusta\_Irradikal  
b. Not corrected for ties.

2) Antara R1000 dan R750

**Test Statistics'**

	Diameter_Zona_ Hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>b</sup>

- a. Grouping Variable:  
Kelompok\_Robusta\_Irradikal  
b. Not corrected for ties.

## 3) Antara R1000 dan R500

**Test Statistics'**

	Diameter_Zona_Ham bat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable:

Kelompok\_Robusta\_Irradikal

b. Not corrected for ties.

## 4) Antara R1000 dan R250

**Test Statistics'**

	Diameter_Zona_ Hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021

Exact Sig. [2\*(1-tailed Sig.)]

a. Grouping Variable:

Kelompok\_Robusta\_Irradikal

## 5) Antara R750 dan R500

**Test Statistics'**

	Diameter_Zona_Ham bat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable:

Kelompok\_Robusta\_Irradikal

b. Not corrected for ties.

## 6) Antara R750 dan R250

**Test Statistics'**

	Diameter_Zona_ Hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable:

Kelompok\_Robusta\_Irradikal

b. Not corrected for ties.

5) Antara R750 dan R500

Test Statistics'	
	Diameter_Zona_Ham bat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>b</sup>

- a. Grouping Variable:  
Kelompok\_Robusta\_Irradikal
- b. Not corrected for ties.

C. Kulit Buah Kopi Arabika Zona Radikal  
1) Antara K+ dan A1000

Test Statistics'	
	Diameter_Zona_ Hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>b</sup>

- a. Grouping Variable:  
Kelompok\_Arabika\_Radikal
- b. Not corrected for ties.

D. Kulit Buah Kopi Arabika Zona Irradikal  
1) Antara K+ dan A1000

Test Statistics'	
	Diameter_Zona_Ham bat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>b</sup>

- a. Grouping Variable: Kelompok\_Arabika\_Irradikal
- b. Not corrected for ties.

2) Antara K+ dan A750

Test Statistics'	
	Diameter_Zona_ Hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>b</sup>

- a. Grouping Variable:  
Kelompok\_Arabika\_Irradikal
- b. Not corrected for ties.