



**DAYA HAMBAT EKSTRAK DAUN KOPI ROBUSTA (*Coffea robusta lindl*)
TERHADAP PERTUMBUHAN *Candida albicans* SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh :

**Riza Jayabela Yulesta Putri
111610101012**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2017**



**DAYA HAMBAT EKSTRAK DAUN KOPI ROBUSTA (*Coffea robusta lindl*)
TERHADAP PERTUMBUHAN *Candida albicans* SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

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

Oleh :

Riza Jayabela Yulesta Putri
111610101012

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2017

PERSEMBAHAN

Dengan setulus hati skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Bangsa dan Negaraku yang kujunjung tinggi serta Almamaterku yang akan selalu kujaga nama baiknya.
2. Kedua orang tuaku, ibunda **Puji Lestari** dan ayahanda **Letkol Inf. Yudo Wasono, S.Sos.** Terimakasih yang tak terhingga atas usaha, jerih payah, cinta, kasih sayang, dorongan semangat dan nasehat yang selalu diberikan demi keberhasilan, kesuksesan dan kebahagiaan saya. Ayah dan ibu selama ini selalu menjadi sumber inspirasi, motivator dan keteladanan bagi saya. Kerja keras, perjuangan dan segala pengorbanan ayah dan ibu membuat saya semangat menjalani hidup dan mewujudkan cita-cita. Berkat doa ibu dan ayah juga, saya bisa sampai seperti saat ini. Semoga saya dapat selalu memberikan yang terbaik dan tidak mengecewakan ayah dan ibu, serta apa yang selalu saya lakukan dan perjuangkan dapat membahagiakan dan membanggakan ayah dan ibu. Amin Ya Rob.
3. Adik-adikku tercinta, **Dea Ivana Yulesta Putri, Raka Nokia Yulesta Putra, Rico Ivanada Yulesta Putra** dan semua yang terkasih. Terimakasih telah menjadi sumber semangat dan motivasi untuk segera mewujudkan cita-cita.
4. Sahabat-sahabatku yang selalu memberikan dukungan, semangat, bantuan dan motivasi.

MOTTO

Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan. Maka apabila kamu telah selesai (dari suatu urusan). Kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan) yang lain. Dan hanya Kepada Tuhanmulah hendaknya kamu berharap.
(terjemahan Q.S. Al-Insyirah : 6-8) *)

Orang besar bukanlah orang yang otaknya sempurna, tetapi orang yang mengambil sebaik-baiknya dari otak yang tidak sempurna.
(Nabi Muhammad S.A.W)

Belajarlah mengucap syukur dari hal-hal baik dihidupmu dan belajarlah menjadi pribadi yang kuat dengan hal-hal buruk di hidupmu.
(prof. Dr. Bacharuddin Jusuf Habibie)

*) Departemen Agama Republik Indonesia. 2005. Al Qur'an dan Terjemahannya Special of Women. Jakarta: Yayasan Penterjemah/Pentafsir Al-Qur'an.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Riza Jayabela Yulesta Putri

NIM : 111610101012

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi saya yang berjudul “Daya Hambat Ekstrak Daun Kopi Robusta (*Coffea robusta lindl*) Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* Secara *in Vitro*” adalah benar-benar hasil karya saya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggungjawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 06 Februari 2017

Yang menyatakan,

Riza Jayabela Yulesta Putri

NIM 111610101012

SKRIPSI

**DAYA HAMBAT EKSTRAK DAUN KOPI ROBUSTA (*Coffea robusta lindl*)
TERHADAP PERTUMBUHAN *Candida albicans* SECARA *IN VITRO***

Oleh :

**Riza Jayabela Yulesta Putri
111610101012**

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Dr. drg. Sri Hernawati, M. Kes

Dosen Pembimbing Pendamping : drg. Hengky Bowo Ardhiyanto, MD. Sc

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Daya Hambat Ekstrak Daun Kopi Robusta (*Coffea robusta lindl*) Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* Secara *in Vitro*” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada :

hari, tanggal : 06 Februari 2017

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Penguji Ketua,

Penguji Anggota,

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

drg. Pujiana Endah Lestari, M.Kes

NIP 196705021997022001

NIP197608092005012002

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

Dr. drg Sri Hernawati, M.Kes

drg. Hengky Bowo A, MD.Sc

NIP 197007052003122001

NIP 197905052005011005

Mengesahkan ,

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi

Universitas Jember,

drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes, Sp.Pro

NIP 196901121996011001

RINGKASAN

Daya Hambat Ekstrak Daun Kopi Robusta (*Coffea robusta lindl*) Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* Secara *in Vitro*; Riza Jayabela Yulesta Putri, 111610101012, 2017; 65 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Candida albicans (*C. albicans*) merupakan flora normal rongga mulut yang bersifat komensal oportunistik, yaitu dapat berubah menjadi patogen bila ada faktor-faktor predisposisi seperti menurunnya imunitas, gangguan endokrin, terapi antibiotik dalam jangka waktu yang lama, perokok dan kemoterapi. Salah satu terapi yang digunakan untuk menghilangkan infeksi *C. albicans* adalah dengan menggunakan nistatin. Namun penggunaan nistatin dalam jangka panjang dapat menimbulkan beberapa efek samping seperti diare, mual dan muntah. Untuk mengatasi permasalahan di atas, peneliti ingin mencari obat alternatif pengganti menggunakan obat tradisional yaitu dengan menggunakan daun kopi robusta (*Coffea robusta lindl*). Ekstrak daun kopi robusta diduga memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *C. albicans* karena mengandung senyawa antijamur dan antioksidan tinggi antara lain alkaloid, flavonoid, saponin dan *polyphenol* seperti asam klorogenat. Tujuan penelitian ini adalah menganalisis daya hambat ekstrak daun kopi robusta (*Coffea robusta lindl*) terhadap pertumbuhan *Candida albicans* secara *in vitro*.

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *the post test only control grup design* yang bertempat di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember dan dilaksanakan pada bulan Juni 2016. Sampel berjumlah 24 yang terbagi menjadi 6 kelompok yaitu kelompok kontrol positif, kelompok kontrol negatif, kelompok ekstrak daun kopi robusta konsentrasi 100%, 75%, 50% dan 25%. Kelompok kontrol negatif berupa dimetil sulfoksida 1%, kelompok kontrol positif berupa nistatin, kelompok perlakuan I, perlakuan II, perlakuan III dan perlakuan IV yaitu kelompok perlakuan yang diberi ekstrak daun kopi robusta. Pengamatan

dilakukan dengan mengukur zona hambat disekitar lubang sumuran menggunakan jangka sorong digital.

Hasil uji ekstrak daun kopi robusta terhadap pertumbuhan jamur *C. albicans* menunjukkan bahwa ekstrak daun kopi robusta konsentrasi 25% memiliki rata-rata diameter zona hambat sebesar 6,78 mm dengan nilai efektifitas adalah 0. Konsentrasi 50% memiliki diameter zona hambat sebesar 7,58 mm dengan nilai efektifitas adalah 0,27. Konsentrasi 75% memiliki diameter zona hambat sebesar 8,72 mm dengan nilai efektifitas adalah 0,67. Sedangkan konsentrasi 100% memiliki diameter zona hambat sebesar 9,69 mm dengan nilai efektifitas adalah 1. Hasil uji LSD menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$), yaitu antara kelompok kontrol positif, kelompok perlakuan I (ekstrak daun kopi robusta 25%), kelompok perlakuan II (ekstrak daun kopi robusta 50%), kelompok perlakuan III (ekstrak daun kopi robusta 75%) dan kelompok perlakuan IV (ekstrak daun kopi robusta 100%). Hasil ini menunjukkan bahwa kelompok kontrol positif memiliki daya hambat yang lebih tinggi daripada kelompok perlakuan. Akan tetapi, kelompok perlakuan I (ekstrak daun kopi robusta 25%) memiliki daya hambat yang rendah namun masih mampu memberikan efek daya hambat pada pertumbuhan *C. albicans*.

Aktivitas antijamur yang dimiliki daun kopi robusta (*Coffea robusta lindl*) yaitu berupa senyawa alkaloid, flavonoid dan saponin. Alkaloid dapat menyebabkan kerusakan pada membran sel dengan cara berikatan kuat dengan ergosterol pada membran sel jamur (Mycek, 2001; Setiabudy dan Bahri, 2007). Flavonoid berfungsi dalam menghambat pembentukan spora jamur patogen dengan cara berikatan bersama dinding sel melalui sebuah kompleks protein-fenol, yang melibatkan adanya ikatan hidrogen antara protein dan fenol. Saponin bersifat surfaktan yang berbentuk polar sehingga akan memecah lapisan lemak pada membran sel yang pada akhirnya menyebabkan gangguan permeabilitas membran sel jamur (Sugianitri, 2011). Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat ditarik kesimpulan bahwa ekstrak daun kopi robusta (*Coffea robusta lindl*) dapat menghambat pertumbuhan *C. albicans* dengan konsentrasi paling efektif yaitu sebesar 100%.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Daya Hambat Ekstrak Daun Kopi Robusta (*Coffea robusta lindl*) Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* Secara *in Vitro*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

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

1. Allah S.W.T yang telah memberikan pencerahan serta pertolongan;
2. drg. R. Rahardyan Parnaadji, M. Kes., Sp. Pros. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
3. DR. drg. I. D. A. Susilawati, M. Kes. selaku Pembantu Dekan I Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
4. drg. Izzata Barid, M. Kes. selaku Pembantu Dekan III Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
5. DR. drg. Sri Hernawati, M. Kes. selaku Pembantu Dekan II Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember dan Dosen Pembimbing Utama serta drg. Hengky Bowo Ardhiyanto, MD. Sc selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah meluangkan waktu, pikiran dan perhatian dalam penyusunan skripsi ini;
6. Prof. Dr. drg. I Dewa Ayu Ratna Dewanti, M. Si selaku Dosen Penguji Utama dan drg. Pujiana Endah Lestari, M. Kes selaku Dosen Penguji Anggota yang telah memberikan banyak masukan demi kesempurnaan skripsi ini;
7. drg. Winny Adriatmoko, M. Kes selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing penulis selama kuliah;
8. Ayahanda Letkol Inf. Yudo Wasono, S. Sos, Ibunda Puji Lestari, dan adik-adik saya Dea Ivana Yulesta Putri, Raka Nokia Yulesta Putra, serta Rico

Ivanada Yulesta Putra, yang telah membantu baik moral dan materiil, mendoakan, mendidik dan memberi kasih sayang serta pengorbanan yang tidak terhingga selama ini;

9. Setyo Pindari (Pak Pin) Laboratorium Mikrobiologi FKG Universitas Jember yang telah banyak membantu dalam proses penelitian;
10. Teman-teman seperjuangan FKG UJ 2011 yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu, Terimakasih atas kebersamaannya, semoga kita semua bisa meraih cita-cita dan menjadi kebanggaan almamater;
11. Guru-guru tercinta TK Kartika 36, SDN Ardimulyo 2 Singosari, SDN Ardimulyo 1 Singosari, SDN Kebayoran Lama Selatan 14 Pagi, SMPN 164 Jakarta, SMPN 16 Surabaya, SMAN 18 Surabaya dan seluruh dosen Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, terimakasih atas segala ilmu pengetahuan dan kasih sayang yang telah diberikan;
12. Sahabat-sahabat tercinta, Dian Ayu Kusumawardhani, Zakaria Fahmi Harahap, Rina Wahyu Hardiana, Silvia Dona Tuwaidan, Nailil Masruroh, Ayu Leila Wijaya yang selalu memotivasi dan memberi dukungan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini;
13. Teman-teman seperjuangan skripsi Lulu Rosima, Dewi Martinda Hartono dan Sheila Dian Pradipta yang telah membantu dan saling memotivasi;
14. Orang terkasih Abdillah Irsyad El Nur yang tak kenal lelah untuk selalu memberi semangat, motivasi serta doa disetiap kegiatan akademik saya;
15. Semua pihak yang telah membantu dalam penulisan karya serta laporan skripsi ini.

Semoga skripsi ini dapat memberi manfaat dalam mengembangkan ilmu pengetahuan khususnya untuk disiplin ilmu kedokteran gigi. Kritik dan saran diharapkan terus mengalir untuk lebih menyempurnakan skripsi ini dan diharapkan dapat dikembangkan untuk penelitian-penelitian selanjutnya.

Jember, 06 Februari 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tanaman Kopi Robusta	4
2.1.1 Taksonomi Kopi Robusta	4
2.1.2 Tempat Hidup Kopi Robusta	5
2.1.3 Daun Kopi Robusta.....	5
2.1.4 Kandungan Daun Kopi Robusta	6
2.1.5 Manfaat Daun Kopi Robusta	9
2.2 <i>C. albicans</i>	9
2.2.1 Pengertian <i>C. albicans</i>	9
2.2.2 Morfologi <i>C. albicans</i>	10

2.2.3 Infeksi Candida	13
2.3 Nistatin	14
2.3.1 Pengertian Nistatin	14
2.3.2 Aktivitas Anti Jamur dan Mekanisme Kerja.....	14
2.3.3 Indikasi.....	15
2.3.4 Efek Samping	15
2.3.5 Dosis dan Aturan Pakai.....	16
2.4 Hipotesis	16
2.5 Kerangka Konseptual	17
2.5.1 Kerangka Konsep.....	17
2.5.2 Penjelasan Kerangka Konsep.....	18
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	20
3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	20
3.1.1 Jenis Penelitian	20
3.1.2 Rancangan Penelitian.....	20
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	20
3.2.1 Tempat Penelitian	20
3.2.2 Waktu Penelitian.....	20
3.3 Identifikasi Penelitian	21
3.3.1 Variabel Penelitian.....	21
3.4 Definisi Operasional	21
3.5 Sampel Penelitian	22
3.5.1 Kriteria Penelitian	22
3.5.2 Kelompok Sampel.....	23
3.5.3 Jumlah Ulangan.....	23
3.6 Alat dan Bahan Penelitian	24
3.6.1 Alat.....	24
3.6.2 Bahan	25
3.7 Prosedur Penelitian	26
3.7.1 Tahap Persiapan.....	26

3.7.2 Proses Ekstraksi Daun Kopi Robusta Menggunakan Etanol dengan Metode Maserasi.....	26
3.7.3 Pengenceran Ekstrak Etanol Daun Kopi Robusta.....	28
3.7.4 Pembuatan Media Kultur	28
3.7.5 Pembuatan Suspensi Jamur <i>C. albicans</i>	28
3.7.6 Inokulasi Jamur <i>C. albicans</i>	29
3.7.7 Uji Daya Hambat Antijamur.....	29
3.7.8 Pengukuran Zona Hambat	29
3.8 Analisa Data	30
3.9 Alur Penelitian	31
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	32
4.1 Hasil.....	32
4.2 Analisa Data	34
4.3 Pembahasan.....	36
BAB 5. KESIMPULAN	41
5.1 Kesimpulan.....	41
5.2 Saran	41
DAFTAR PUSTAKA.....	42
LAMPIRAN.....	47

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Daun Kopi Robusta.....	5
2.2 Gambaran Mikroskopik <i>C. albicans</i>	11
2.3 Gambaran Jamur <i>C. albicans</i>	12
2.4 Manifetasi Infeksi <i>C. albicans</i> dalam Bentuk Thrush	13
2.5 Manifetasi Infeksi <i>C. albicans</i> dalam Bentuk Kronik Hiperplastik ..	13
2.6 Manifetasi Infeksi <i>C. albicans</i> dalam Bentuk Denture Stomatitis Tipe I	14
2.7 Manifetasi Infeksi <i>C. albicans</i> dalam Bentuk Denture Stomatitis Tipe II	14
2.8 Manifetasi Infeksi <i>C. albicans</i> dalam Bentuk Denture Stomatitis Tipe III	14
2.9 Manifetasi Infeksi <i>C. albicans</i> dalam Bentuk Angular Cheilitis.....	14
2.10 Bagan Kerangka Konsep	17
4.1 Grafik rata-rata diameter zona hambat kelompok perlakuan	34

DAFTAR TABEL

	Halaman
3.1 Kelompok Perlakuan.....	23
4.1 Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat dan Standart Deviasi <i>C. albicans</i>	33
4.2 Analisis Stasistik Rata-rata Diameter Zona Hambat <i>C. albicans</i> pada Kelompok Perlakuan dan Kelompok Kontrol dengan <i>One Way Anova</i>	35
4.3 Analisis Statistik Rata-rata Diameter Zona Hambat <i>C. albicans</i> dengan Uji LSD, Rata-rata dan Standart Deviasi dari Diameter Zona Hambat yang Dipapar <i>C. albicans</i> setelah Diinkubasi dengan Ekstrak Daun Kopi Robusta	35

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Foto Hasil Penelitian.....	47
B. Data Hasil Penelitian.....	48
C. Analisis Hasil Penelitian.....	49
D. Indeks Nilai Efektifitas.....	52
E. Alat dan Bahan Penelitian	56
F. Dokumentasi Saat Penelitian.....	59
G. Pembuatan Kontrol Negatif DMSO 1%.....	60
H. Pengenceran Ekstrak Etanol Daun Kopi Robusta.....	61
I. Surat Identifikasi Jamur <i>Candida Albicans</i>	63
J. Surat Identifikasi Tanaman Daun Kopi Robusta.....	64
K. Surat Keterangan Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kopi Robusta..	65

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Candida albicans (*C. albicans*) merupakan flora normal rongga mulut yang bersifat komensal oportunistik, yaitu *C. albicans* ini dapat berubah menjadi patogen bila terdapat faktor-faktor predisposisi seperti menurunnya imunitas, gangguan endokrin, terapi antibiotik dalam jangka waktu lama, perokok dan kemoterapi (Komariah, 2012). Pada kondisi tersebut, *C. albicans* akan berpoliferasi sehingga virulensinya meningkat dan menimbulkan infeksi yang disebut dengan oral kandidiasis. Prevalensi terjadinya infeksi jamur pada rongga mulut yang disebabkan oleh *C. albicans* sebesar 85-95% (Carranza *et al*, 2002).

Terapi yang digunakan untuk menghilangkan infeksi *C. albicans* adalah dengan cara menghilangkan faktor-faktor yang memicu timbulnya infeksi dan faktor etiologi. Pengobatan diberikan sesuai dengan lokasi yang terkena infeksi, salah satunya menggunakan nistatin. Nistatin merupakan salah satu obat yang sering digunakan untuk pengobatan oral kandidiasis selain amfoterisin B, ketokonazol dan griseofulvin, dengan kesembuhan klinis mendekati 85% dan sebagian besar lesi akan hilang dalam waktu 2 minggu (Kusumaputra *et al*, 2014). Namun pada penggunaan jangka panjang, obat-obat antijamur yang terbuat dari bahan kimia ini banyak menimbulkan masalah seperti adanya efek samping yang serius, resistensi, aturan pakai yang menyulitkan dan perlunya pengawasan dokter, selain harganya yang juga cukup mahal (Saifudin A, 2011; Rintiswati *et al*, 2004). Pada penggunaan nistatin dalam waktu jangka panjang, dapat menunjukkan gejala seperti diare, mual dan muntah (Brunton *et al*, 2006). Berkaitan dengan masalah di atas, maka diperlukan suatu bahan alternatif yang efektif menyembuhkan infeksi *C. albicans* dengan efek samping minimal. Salah satu bahan yang akan digunakan adalah ekstrak daun kopi robusta.

Daun kopi robusta (*Coffea robusta lindl*) sudah sejak lama digunakan oleh masyarakat Sumatera Barat sebagai minuman penyegar yang disebut “kawa

daun”. ”Kawa daun” dipercaya memiliki khasiat dapat menghangatkan tubuh, menurunkan tekanan darah tinggi dan menambah vitalitas dan stamina. Kebiasaan minum teh dari daun kopi rupanya juga dilakukan di beberapa negara seperti Sudan dan Ethiopia. Beberapa peneliti di Eropa tertarik akan fenomena daun kopi ini dan menurut beberapa ahli, daun kopi mengandung bahan kimia yang bermanfaat bagi kesehatan, sedangkan kadar kafeinnya rendah tidak seperti meminum dari biji kopi yang selama ini menjadi produk utama tanaman kopi. Hasil penelitian dari ilmuwan Inggris dan Perancis melaporkan bahwa teh dari daun kopi mengandung senyawa antijamur dan antioksidan tinggi antara lain alkaloid, flavonoid, saponin dan polyphenol seperti asam klorogenat. Selain antioksidan, pada daun kopi terdapat bahan kimia alami yang disebut mangiferin yang berkhasiat untuk mengatasi peradangan (Rubiyo, 2013).

Antioksidan merupakan senyawa-senyawa yang mampu menghilangkan, membersihkan, menahan pembentukan ataupun memadukan efek spesies oksigen reaktif. Fungsi antioksidan adalah dapat menghambat oksidasi lipid dan mencegah kerusakan, perubahan dan degradasi komponen organik dalam bahan makanan (Kurniawan, 2012). Berdasarkan penelitian yang dilakukan, alkaloid, flavonoid dan saponin mempunyai fungsi sebagai antijamur terhadap pertumbuhan *C. albicans* (Mycek, 2001; Obongoya *et al.*, 2010; Sugianitri, 2011). Dalam penelitian Rahmawati (2011), disebutkan bahwa daun kopi robusta memiliki efek antijamur terhadap *C. albicans* dengan menggunakan metode *Tube Dilution Test* untuk mengetahui kadar hambat minimal (KHM) dan kadar bunuh minimal (KBM) di vagina secara *in vitro*. Sedangkan pada penelitian ini menggunakan metode *Well-Diffusion* (metode difusi sumuran). Kelebihan metode sumuran yaitu lebih mudah mengukur luas zona hambat yang terbentuk karena isolat beraktivitas tidak hanya di permukaan atas nutrien agar tetapi juga sampai ke bawah (Listari Y, 2009).

Berdasarkan latar belakang tersebut, penulis bermaksud untuk melakukan penelitian tentang daya hambat ekstrak daun kopi robusta (*Coffea robusta lindl*) terhadap pertumbuhan *C. albicans* yang berasal dari rongga mulut secara *in vitro*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka perumusan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Apakah ekstrak daun kopi robusta (*Coffea robusta lindl*) mempunyai daya hambat terhadap pertumbuhan *C. albicans* secara *in vitro*?
2. Berapakah konsentrasi paling efektif ekstrak daun kopi robusta (*Coffea robusta lindl*) yang dapat menghambat pertumbuhan *C. albicans*?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas, maka tujuan pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Untuk mengetahui daya hambat ekstrak daun kopi robusta (*Coffea robusta lindl*) terhadap pertumbuhan *C. albicans*.
2. Untuk mengetahui konsentrasi paling efektif ekstrak daun kopi robusta (*Coffea robusta lindl*) dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans*.

1.4 Manfaat Penelitian

Berdasarkan tujuan penelitian di atas, maka manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Memberikan informasi ilmiah tentang daya hambat ekstrak daun kopi robusta (*Coffea robusta lindl*) terhadap pertumbuhan *C. albicans*.
2. Memberikan informasi ilmiah tentang konsentrasi paling efektif ekstrak daun kopi robusta (*Coffea robusta lindl*) dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans*.
3. Memberikan informasi untuk penelitian lebih lanjut mengenai potensi ekstrak daun kopi robusta.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Kopi Robusta

Tanaman kopi bukan tanaman asli Indonesia, melainkan jenis tanaman berasal dari benua Afrika. Dikemukakan bahwa tanaman kopi ini dibawa ke pulau Jawa pada tahun 1696, tetapi pada saat itu masih dalam taraf percobaan. Tanaman kopi ini mendapat perhatian sepenuhnya baru pada tahun 1699, karena tanaman tersebut dapat berkembang dan berproduksi baik. Saat itu bibit kopi Indonesia banyak didatangkan dari Yaman. Pada waktu itu jenis yang didatangkan adalah kopi arabika (AAK, 1988). Terdapat lebih dari 70 jenis kopi di dunia. Pada umumnya jenis kopi yang banyak dikenal yaitu Kopi Arabika, Kopi Robusta, Kopi Ekselse dan Kopi Liberika.

2.1.1 Taksonomi Kopi Robusta

Taksonomi Kopi Robusta menurut UPT Materia Medica (2016) adalah sebagai berikut :

<i>Kingdom</i>	: <i>Plantae (Tumbuhan)</i>
<i>Subkingdom</i>	: <i>Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)</i>
<i>Super Divisi</i>	: <i>Spermatophyta (Menghasilkan biji)</i>
<i>Divisi</i>	: <i>Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)</i>
<i>Kelas</i>	: <i>Dicotyledonae</i>
<i>Bangsa</i>	: <i>Rubiales</i>
<i>Suku</i>	: <i>Rubiaceae</i>
<i>Marga</i>	: <i>Coffea</i>
<i>Jenis</i>	: <i>Coffea robusta Link, ex De Willd</i>

2.1.2 Tempat Hidup Kopi Robusta

Tanaman kopi akan tumbuh dengan baik pada lingkungan yang sesuai. Kopi Robusta dapat tumbuh dengan baik pada ketinggian tempat 300-500 mdpl dengan curah hujan 2000-3000 mm/th serta penyinaran dibawah 80%. Kemiringan tanah yang dapat ditanami kopi kurang dari 45% dengan kedalaman tanah efektif lebih dari 100 cm (Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia, 2006).

2.1.3 Daun Kopi Robusta

Kopi robusta mempunyai daun berbentuk bulat telur dengan ujung agak meruncing seperti yang terlihat dalam Gambar 2.1. Daun tumbuh berhadapan dengan batang, cabang dan ranting-rantingnya. Permukaan atas daun mengkilat, tepi rata, pangkal tumpul, panjang 5-15 cm; lebar 4,0-6,5 cm; pertulangan menyirip, tangkai panjang 0,5-1,0 cm dan berwarna hijau (Najiyati dan Danarti, 2012). Pada umumnya daun kopi robusta lebih besar dari daun kopi arabika (Mutua, 2000).



Gambar 2.1 Daun kopi robusta (Sumber: Hulupi & Martini, 2013)

Daun tersebut tumbuh pada batang, cabang dan ranting-ranting tersusun berdampingan. Pada batang atau cabang-cabang yang tumbuhnya tegak lurus, susunan pasangan daun itu berselang-seling pada ruas-ruas berikutnya. Sedang daun yang tumbuh pada ranting-ranting dan cabang-cabang mendatar, pasangan daun itu terletak pada bidang yang sama, tidak berselang-seling (AAK, 1988). Daun kopi mengandung alkaloida, saponin, flavonoida dan polifenol. Daun, buah dan akar mengandung saponin, flavonoida, dan polifenol, disamping itu buahnya juga mengandung alkaloid. Kopi mengandung banyak komponen kimia yang dapat dibagi menjadi beberapa kelompok, yaitu komponen alifatik, komponen alisiklik, komponen aromatik, komponen heterosiklik, protein, asam amino, dan asam nukleat, karbohidrat, lemak, alkaloid, vitamin, dan komponen anorganik (Scribd, 2011).

2.1.4 Kandungan Daun Kopi Robusta

a. Flavonoid

Flavonoid merupakan golongan terbesar dari fenol yang mampu mendenaturasi dan berfungsi sebagai antibakteri dan antijamur (Bakh *et al.*, 2012; Taiga dan Friday, 2009). Flavonoid dalam daun kopi robusta berfungsi menghambat pembentukan spora patogen. Flavonoid juga efektif dalam menghambat proses pertumbuhan *C. albicans*. Flavonoid berperan dalam pengerusakan dinding sel jamur (Obongoya *et al.*, 2010). Flavonoid sebagai antijamur bekerja dengan mengganggu permeabilitas membran sel jamur dan merubah komponen organik serta *transport* nutrisi yang akhirnya mengakibatkan efek toksik pada jamur (Jupriadi, 2011). Gugus hidroksil yang terdapat pada senyawa flavonoid menyebabkan perubahan komponen organik dan *transport* nutrisi yang akhirnya akan mengakibatkan sel jamur menjadi lisis (Abad, *et al.*, 2007). Menurut Jung pada tahun 2011, terdapat laporan bahwa senyawa flavonoid berikatan dengan protein melalui ikatan hidrogen sehingga mengakibatkan struktur protein menjadi rusak. Ketidakstabilan dari dinding sel dan membran

sitoplasma jamur menyebabkan sel jamur menjadi terganggu. Gangguan integritas sitoplasma menyebabkan lolosnya makromolekul dan ion dari sel sehingga sel jamur kehilangan bentuknya dan menjadi lisis.

b. Alkaloid

Harborne (1999) menyatakan bahwa alkaloid merupakan zat tumbuhan sekunder yang terbesar. Alkaloid merupakan suatu senyawa yang bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen. Rahayu *et al.* (2009), menambahkan bahwa alkaloid memiliki sifat basa $\text{pH} > 7$ dan pahit. Sifat basa ini kemungkinan akan menekan pertumbuhan jamur *C. albicans*, karena jamur tersebut tumbuh pada $\text{pH} 4,5 - 6,5$. Mekanisme yang diduga adalah berikatan dengan ergosterol pada membran sel jamur. Ikatan antara alkaloid dan ergosterol menyebabkan terbentuknya lubang dan kebocoran membran sel jamur, sehingga terjadi kerusakan yang menetap pada sel dan kematian pada jamur (Mycek, 2001; Setiabudy dan Bahri, 2007).

c. Saponin

Saponin bersifat surfaktan yang berbentuk polar sehingga akan memecah lapisan lemak pada membran sel yang pada akhirnya menyebabkan gangguan permeabilitas membran sel, hal tersebut mengakibatkan proses difusi bahan atau zat-zat yang diperlukan oleh jamur dapat terganggu, akhirnya sel membengkak dan pecah (Sugianitri, 2011).

d. Mangiferin

Mangiferin merupakan senyawa golongan xanton yaitu *xanthone C-glucosyl*. Mangiferin merupakan senyawa fenolik yang memiliki banyak aktivitas farmakologi dan menjadi salah satu fitokimia yang sangat penting (Luo *et al.*, 2012). Mangiferin memiliki aktivitas antiinflamasi, immunomodulator, antitumor, antioksidan, antidiabetes, antialergi, antihiperlipidemia dan antikarsinogenik (Talamond *et al.*, 2008; Luo *et al.*, 2012). Penelitian yang dilakukan oleh Morais *et al.* (2012) juga menunjukkan bahwa mangiferin memiliki aktivitas yang dapat menghambat waktu transit pada saluran gastrointestinal. Penelitian terbaru menunjukkan bahwa mangiferin dapat mencegah terjadi penyakit kardiovaskuler (Mirza *et al.*, 2013).

e. Asam Klorogenat

Asam klorogenat dikenal sebagai salah satu polifenol yang berlimpah dalam makanan manusia (Lee *et al.*, 2008). Biji kopi adalah salah satu sumber asam klorogenat terbesar pada makanan yang dikonsumsi manusia seperti pada biji kopi yang tidak disangrai (*green coffee bean*) mengandung asam klorogenat sebesar 6-12% (Clifford, 1999 ; Farah *et al.*, 2005). Dari sudut pandang gizi, asam klorogenat merupakan senyawa dengan aktivitas antioksidan yang kuat (Olthof, 2001). Pada penelitian yang dilakukan oleh Leonardis *et al.* (2008) mengenai potensi asam klorogenat dan metabolitnya sebagai antioksidan, ditemukan bahwa asam klorogenat memiliki aktivitas antioksidan yang paling kuat dibandingkan dengan metabolitnya ketika ditambahkan pada minyak hati ikan cod.

Dalam beberapa tahun terakhir, sejumlah manfaat kesehatan yang berhubungan dengan konsumsi makanan dan minuman dengan kandungan asam klorogenat dalam jumlah tinggi telah dijelaskan dari penelitian epidemiologi. Dalam pengaturan dosis tertentu, asam klorogenat terbukti mengurangi risiko terhadap obesitas (Thom, 2007). Dalam beberapa penelitian yang dilakukan pada hewan, asam klorogenat juga menunjukkan aktivitas dalam metabolisme glukosa dan lipid seperti sebagai hipoglikemi, antidiabetes, peningkatan sekresi insulin serta mengurangi kerentanan terhadap oksidasi LDL (Meng *et al.*, 2013). Asam klorogenat juga mempunyai aktivitas sebagai antihipertensi karena metabolit dari asam klorogenat mengurangi terjadinya stress oksidatif yang berefek pada penurunan tekanan darah melalui peningkatan fungsi endotel dan peningkatan bioavailabilitas nitrit oksida di pembuluh darah arteri (Zhao *et al.*, 2011). Laporan lain menunjukkan bahwa senyawa ini terbukti sebagai antikanker, analgesik, antipiretik, antiradang dan antijamur (Lee *et al.*, 2008). Selain itu, asam klorogenat mempunyai aktivitas sebagai antibakteri, antimutagenik, antitumor, antivirus (Harborne *et al.*, 1999).

2.1.5 Manfaat Daun Kopi Robusta

Beberapa peneliti di Eropa tertarik akan fenomena daun kopi ini, karena menurut beberapa ahli daun kopi mengandung bahan kimia yang bermanfaat bagi kesehatan serta memiliki kadar kafein yang rendah tidak seperti meminum langsung dari seduhan biji kopi. Hasil penelitian dari ilmuwan Inggris dan Perancis melaporkan bahwa teh dari daun kopi mengandung senyawa antioksidan tinggi dan bersifat anti-inflamasi. Selain antioksidan, pada daun kopi terdapat bahan kimia alami yang disebut mangiferin yang berkhasiat untuk mengatasi peradangan. Dari 23 spesies tanaman kopi yang diteliti oleh ahli botani bernama Dr. Aron Davies ada tujuh spesies tanaman kopi yang memiliki kandungan zat mangiferin tinggi, dimana yang paling tinggi kandungan mangiferinnya terdapat pada daun kopi arabika. Zat mangiferin ini berefek anti-inflamasi seperti perlindungan terhadap neuron otak serta dapat menurunkan resiko diabetes dan kolesterol atau untuk menurunkan hipertensi atau tekanan darah tinggi (Rubiyo, 2013).

2.2 *Candida albicans*

2.2.1 Pengertian *C. albicans*

C. albicans merupakan anggota flora normal terutama saluran pencernaan, juga selaput mukosa pada saluran pernafasan, vagina serta pada rongga mulut di tempat-tempat seperti inilah jamur dapat menjadi dominan. Infeksi *Candida* pertama kali didapatkan di dalam mulut dilaporkan oleh Francois Valleic pada tahun 1836, dan terdapat lebih dari 150 spesies *Candida* yang telah diidentifikasi. Sekitar 70% infeksi *Candida* pada manusia disebabkan oleh *C. albicans* dan menyebabkan keadaan patologis ketika daya tahan tubuh menurun baik secara lokal maupun sistemik, oleh karenanya *C. albicans* ini bersifat oportunistik (Simatupang, 2009).

C. albicans merupakan fungi patogen yang menyebabkan berbagai penyakit pada manusia seperti sariawan, lesi pada kulit, vulvovaginitis, candiduria, gastrointestinal candidiasis dan oral kandidiasis. Mekanisme infeksi

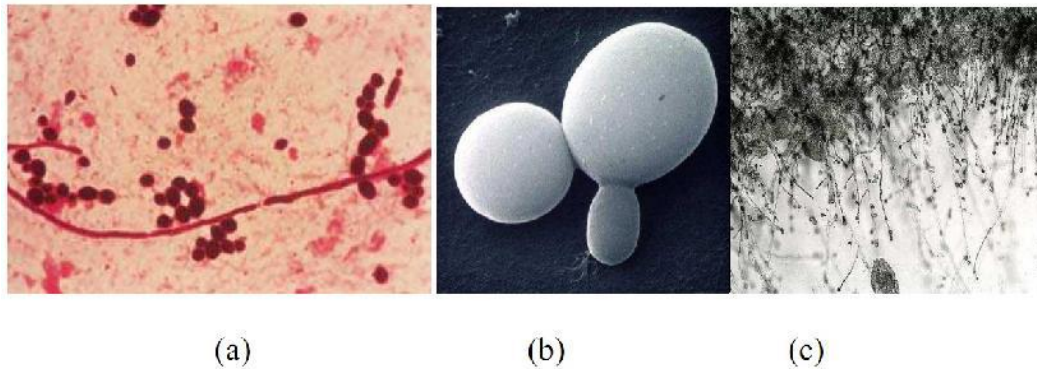
C. albicans sangat kompleks termasuk adhesi dan invasi, perubahan morfologi dari bentuk sel khamir ke bentuk filamen (hifa), pembentukan biofilm dan penghindaran dari sel-sel imunitas inang. Kemampuan *C. albicans* untuk melekat pada sel inang merupakan faktor penting pada tahap permulaan kolonisasi dan infeksi. Perubahan fenotip menjadi bentuk filamen memungkinkan *C. albicans* untuk melakukan penetrasi ke epithelium dan berperan dalam infeksi dan penyebaran *C. albicans* pada sel inang (Kusumaningtyas, 2005).

2.2.2 Morfologi *C. albicans*

Secara histologi, *C. albicans* tampak sebagai ragi yang lonjong, kecil, berdinding tipis, bertunas, gram positif, berukuran 2-3 x 4 μ m, yang memanjang menyerupai hifa. *C. albicans* merupakan jamur dimorfik dengan dua fase pertumbuhan bentuk tunas (*budding cell*) yang disebut blastopora dan hifa. *C. albicans* mempunyai mycelium yang berekor panjang dengan tonjolan yang membentuk pseudomycelium (Simatupang, 2009). Berdasarkan taksonomi *C. albicans* dikelompokkan sebagai berikut :

Kingdom : *Fungi*
Phylum : *Ascomycota*
Subphylum : *Saccharomycotina*
Class : *Saccharomycetes*
Order : *Saccharomycetales*
Family : *Saccharomycetaceae*
Genus : *Candida*
Spesies : *C. Albicans*

Sumber : (Calderone, 2002)



Gambar 2.2 *C. albicans* (a) pemeriksaan sputum dengan pewarnaan gram-positif (b) bentuk *budding yeast* (c) *pseudohyphae* (Sumber : Kayser *et al.*, 2005)

Morfologi koloni *C. albicans* pada medium padat agar SGA, umumnya berbentuk bulat dengan permukaan sedikit cembung, halus, licin dan kadang-kadang sedikit berlipat-lipat terutama pada koloni yang telah tua. Umur biakan mempengaruhi besar kecil koloni. Warna koloni putih kekuningan dan berbau asam seperti aroma tape. Dalam medium cair seperti glucose yeast, extract pepton, *C. albicans* tumbuh di dasar tabung (Soll, 2012).

Pada pemeriksaan mikroskopis dengan pewarnaan Gram-positif, yang terlihat pada Gambar 2.2 (a) dapat ditemukan *C. albicans* dalam bentuk yeast, berbentuk oval dengan diameter kurang lebih $5\mu\text{m}$ dan bereproduksi dengan membentuk budding, yang terlihat pada Gambar 2.2 (b). *C. albicans* sering juga ditemukan dalam bentuk mycelium dengan pseudohyphae, yang terlihat pada Gambar 2.2 (c) dan kadang-kadang dapat ditemukan dalam bentuk septate mycelium (Kayser *et al.*, 2005).

C. albicans memperbanyak diri dengan membentuk tunas yang akan terus memanjang membentuk hifa semu, yang terlihat pada Gambar 2.3. Hifa semu tersebut terbentuk dengan banyak kelompok blastopora yang berbentuk bulat atau lonjong. Pada beberapa *strain*, blastopora ada yang berukuran besar, berbentuk bulat atau seperti botol dan dalam jumlah yang tidak banyak. Blastopora dapat berkembang menjadi klamidospora yang memiliki dinding tebal dan berdiameter sekitar $8-12\mu$ (Calderone, 2002).



Gambar 2.3 Jamur *Candida albicans* (Amelong, 2000)

C. albicans memperbanyak diri dengan membentuk tunas yang akan terus memanjang membentuk hifa semu. *C. albicans* dapat tumbuh pada variasi pH yang luas, tetapi pertumbuhannya akan lebih baik pada pH antara 4,5-6,5. Jamur ini dapat tumbuh dalam perbenihan pada suhu 28°C-37°C. *C. albicans* membutuhkan senyawa organik sebagai sumber karbon dan sumber energi untuk pertumbuhan dan metabolismenya. Unsur karbon ini dapat diperoleh dari karbohidrat. Jamur ini merupakan organisme anaerob fakultatif yang mampu melakukan metabolisme sel, baik dalam suasana anaerob maupun aerob. Proses peragian (fermentasi) pada *C. albicans* dilakukan dalam suasana aerob dan anaerob. Karbohidrat yang tersedia dalam larutan dapat dimanfaatkan untuk melakukan metabolisme sel dengan cara mengubah karbohidrat menjadi CO₂ dan H₂O dalam suasana aerob. Sedangkan dalam suasana anaerob hasil fermentasi berupa asam laktat atau etanol dan CO₂. Proses akhir fermentasi anaerob menghasilkan persediaan bahan bakar yang diperlukan untuk proses oksidasi dan pernafasan. Pada proses asimilasi, karbohidrat dipakai oleh *C. albicans* sebagai sumber karbon maupun sumber energi untuk melakukan pertumbuhan sel (Tjampaksari, 2006).

2.2.3 Infeksi Candida

Menurut Tjampaksari (2006), *C. albicans* sering ditemukan di dalam rongga mulut, feses, kulit, dan di bawah kuku orang sehat. *C. albicans* dapat membentuk blastopora dan hifa, baik dalam biakan maupun dalam tubuh. Bentuk jamur di dalam tubuh dianggap dapat dihubungkan dengan si jamur, yaitu sebagai saproba tanpa menyebabkan kelainan atau sebagai parasit patogen yang menyebabkan kelainan dalam jaringan. Pada umumnya *C. albicans* berada dalam tubuh manusia sebagai saproba dan infeksi baru terjadi bila terdapat faktor predisposisi pada tubuh penjamu.

Faktor-faktor yang dapat mengakibatkan terjadinya infeksi *C. albicans* pada rongga mulut diantaranya kondisi tubuh yang lemah atau keadaan umum yang buruk, misalnya: bayi baru lahir, orang tua renta, penderita penyakit menahun, orang-orang dengan gizi rendah. Diabetes melitus, kehamilan, sekresi air liur yang berkurang, konsumsi obat di antaranya: antibiotik, kortikosteroid, dan sitostatik.

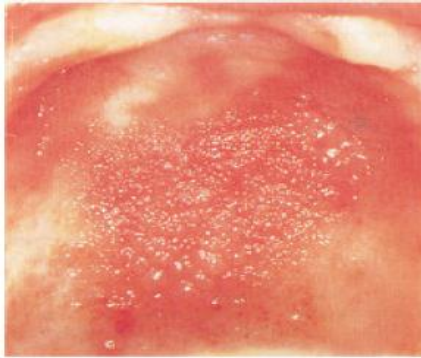
Penderita kandidiasis akan merasakan gejala seperti rasa terbakar dan perubahan rasa kecap. Pada pemeriksaan klinis dapat diklasifikasikan menjadi lima tipe yaitu akut pseudomembran kandidiasis (thrush) yang terlihat pada Gambar 2.4, kronis hiperplastikkandidiasis yang terlihat pada Gambar 2.5, kronis atrofik kandidiasis (denture stomatitis) yang terlihat pada Gambar 2.6;2.7;2.8, akut atrofik kandidiasis dan angular cheilitis yang terlihat pada Gambar 2.9 (Greenberg *et al*, 2008).



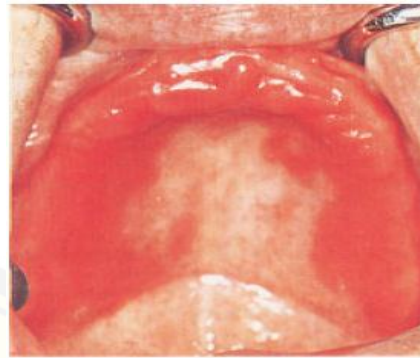
Gambar 2.4 Thrush



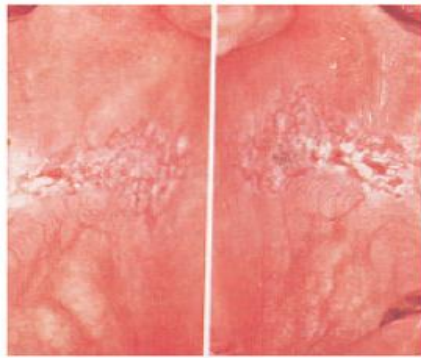
Gambar 2.5 Kronis hiperplastik



Gambar 2.6 Denture Stomatitis Tipe I



Gambar 2.7 Denture Stomatitis Tipe II

Gambar 2.8 Denture Stomatitis Tipe III
Sumber : (Greenberg *et al*, 2008)

Gambar 2.9 Angular Cheilitis

2.3 Nistatin

2.3.1 Pengertian Nistatin

Nistatin merupakan suatu anti jamur polien yang dihasilkan oleh *Streptomyces noursei*. Obat yang berupa bubuk warna kuning kemerahan ini bersifat higroskopis, berbau khas, sukar larut dalam kloroform dan eter. Larutannya mudah terurai dalam air dan plasma. Sekalipun nistatin mempunyai struktur kimia dan mekanisme kerja mirip dengan amfoterisin B, nistatin lebih toksik sehingga tidak digunakan sebagai obat sistemik. Nistatin tidak diserap melalui saluran cerna, kulit maupun vagina (Setiabudy & Bahry, 2007).

2.3.2 Aktivitas Anti Jamur dan Mekanisme Kerja

Nistatin menghambat pertumbuhan berbagai jamur dan ragi, tetapi tidak aktif terhadap bakteri, protozoa dan virus. Nistatin hanya akan diikat oleh jamur atau ragi yang sensitif. Aktifitas anti jamur tergantung dari adanya ikatan dengan *sterol* pada membran sel jamur atau ragi terutama *ergosterol*. Terbentuknya ikatan antara *sterol* dengan anti jamur ini akan mengakibatkan terjadinya perubahan permeabilitas membran sel sehingga sel akan kehilangan berbagai molekul kecil (Setiabudy & Bahry, 2007). Obat ini mempunyai khasiat fungistatik dan fungisidal (Kee & Hayes, 1996).

C. albicans hampir tidak memperlihatkan resistensi terhadap nistatin, tetapi *C. tropicalis*, *C. guilliermondi* dan *C. stellatoides* mulai resisten bahkan sekaligus menjadi tidak sensitif terhadap amfoterisin B. Namun resistensi ini biasanya tidak terjadi *in vivo* (Setiabudy & Bahry, 2007).

2.3.3 Indikasi

Nistatin terutama digunakan untuk infeksi *Candida* di kulit, selaput lendir, dan saluran cerna. Paronikia, vaginitis dan kandidiasis oral serta saluran cerna cukup diobati secara topikal. Kandidiasis di mulut, esofagus dan lambung biasanya merupakan komplikasi dari penyakit darah yang ganas terutama pada pasien yang mendapat pengobatan imunosupresif. Sebagian besar infeksi ini memberikan respon yang baik terhadap nistatin. Namun demikian bila disfagia tidak menunjukkan perbaikan setelah beberapa hari pengobatan atau bila pasien dalam keadaan sakit berat sebaiknya diberikan ketonazol (Setiabudy & Bahry, 2007).

2.3.4 Efek Samping

Seperti amfoterisin B, nistatin merupakan makrolida polien. Obat ini terlalu toksik untuk diberikan secara parental sehingga hanya diberikan secara topikal. Nistatin saat ini tersedia dalam bentuk krim, salep, supositoria dan bentuk

lain untuk digunakan pada kulit dan membran mukosa (Katzung B.G., 2011). Mual, muntah dan diare ringan mungkin didapatkan setelah pemakaian peroral. Iritasi kulit dan selaput lendir jarang ditemukan pada pemakaian topikal (Setiabudy & Bahry, 2007). Penggunaan nistatin berupa salep pada kandidiasis vulvovagina, dapat menimbulkan efek samping seperti rasa gatal, eritema, dan rasa panas (Dressen G, 2012).

2.3.5 Dosis dan Aturan Pakai

Dosis nistatin dinyatakan dalam unit, tiap 1 mg obat ini mengandung tidak kurang dari 200 unit nistatin. Untuk pemakaian klinik tersedia dalam bentuk krim, bubuk, salep, suspensi dan obat tetes yang mengandung 100 ribu unit nistatin per gram atau per mili liter. Untuk pemakaian per oral tersedia tablet 250 ribu dan 500 ribu unit. Untuk kandidiasis mulut dan esophagus pada pasien dewasa diberikan dosis 500 ribu sampai satu juta unit, 3 atau 4 kali sehari. Obat tidak langsung ditelan tetapi ditahan dulu dalam rongga mulut. Pemakaian pada kulit disarankan 2-3 kali sehari (Setiabudy & Bahry, 2007). Dosis minimal nistatin dalam menghambat *Candida* in vitro adalah 100 unit (Khan & Baqai, 2010).

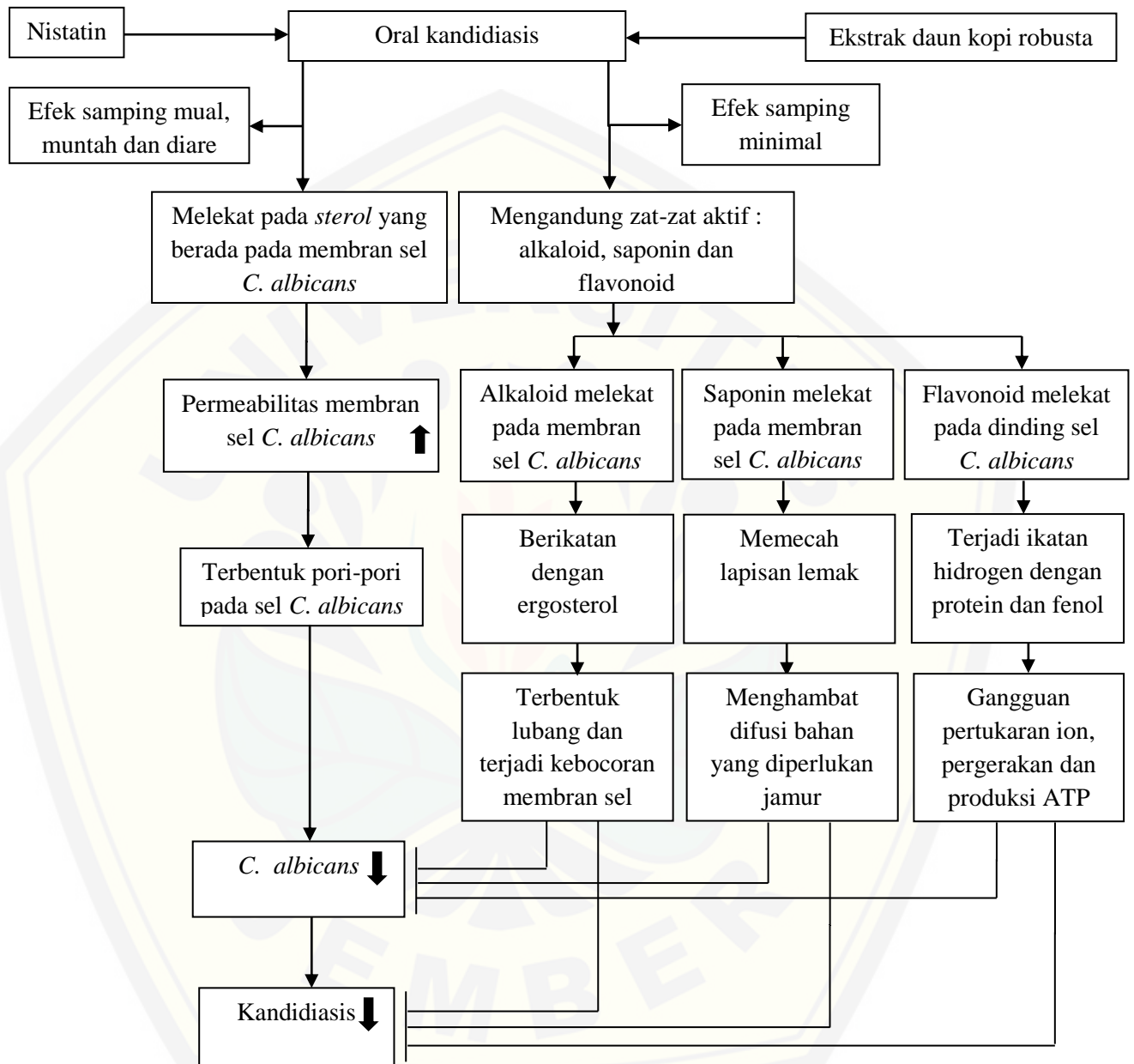
2.4 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Ekstrak daun kopi robusta (*Coffea robusta lindl*) mempunyai kemampuan daya hambat terhadap pertumbuhan jamur *C. albicans*.
2. Ekstrak daun kopi robusta (*Coffea robusta lindl*) konsentrasi 100% paling efektif menghambat terhadap pertumbuhan jamur *C. albicans*.

2.5 Kerangka Konseptual

2.5.1 Kerangka Konsep



Keterangan :

→ : Mempengaruhi

↑ : Meningkatkan

—| : Menghambat

↓ : Menurunkan

Gambar 2.10 Bagan Kerangka Konsep

2.5.2 Penjelasan Kerangka Konsep

Oral kandidiasis dapat diobati dengan obat antijamur yang sudah dikenal luas, yaitu nistatin. Tetapi penggunaan dalam waktu jangka panjang dapat menimbulkan beberapa efek samping seperti mual, muntah dan diare. Mekanisme nistatin yaitu berikatan dengan sterol yang terdapat pada membran sel jamur sehingga menyebabkan perubahan permeabilitas sel *C. albicans*, sel jamur akan kehilangan berbagai molekul kecil sehingga terbentuk pori-pori dan selanjutnya sel jamur lisis dan terjadi kematian sel jamur.

Dengan efek samping yang telah disebutkan diatas, untuk itu diperlukan pengobatan yang memiliki efek samping minimal, salah satu bahan alami yang bisa digunakan yaitu daun kopi robusta (*Coffee Robusta Lindl*) yang mempunyai efek samping minimal dan mempunyai fungsi sebagai antijamur untuk pengobatan oral kandidiasis.

Daun kopi robusta (*Coffee Robusta Lindl*) memiliki banyak kandungan aktif, salah satu kandungan bahan aktif dalam daun kopi robusta yang berperan sebagai antijamur yaitu alkaloid, saponin, dan flavonoid. Daun kopi robusta (*Coffee Robusta Lindl*) di ekstrak dengan etanol 96% menggunakan metode maserasi. Hasil maserasi didapat konsentrasi 100% yang kemudian dilakukan pengenceran konsentrasi 25%, konsentrasi 50%, konsentrasi 75% dan konsentrasi 100%. Mekanisme kerja alkaloid sebagai antijamur dapat menyebabkan kerusakan pada membran sel jamur dengan cara berikatan kuat dengan ergosterol. Ikatan antara alkaloid dan ergosterol menyebabkan terbentuknya lubang dan kebocoran membran sel, sehingga terjadi kerusakan yang menetap pada sel dan kematian pada jamur. Sedangkan aktivitas flavonoid sebagai antijamur bekerja dengan merusak dinding sel jamur. Flavonoid dapat berikatan dengan dinding sel jamur melalui suatu ikatan hidrogen yang melibatkan kandungan protein dan fenol yang menyebabkan kerusakan protein pada dinding sel. Kerusakan yang terjadi menyebabkan matriks intraseluler jamur keluar sehingga terjadi kematian pada sel jamur. Mekanisme saponin bersifat surfaktan yang berbentuk polar sehingga akan memecah lapisan lemak pada membran sel yang pada akhirnya menyebabkan gangguan permeabilitas membran sel, hal tersebut mengakibatkan proses difusi

bahan atau zat-zat yang diperlukan oleh jamur dapat terganggu, akhirnya sel membengkak dan pecah. Akibatnya akan terjadi penurunan jumlah jamur *C. albicans* pada sel *host* dan menyebabkan infeksi oral kandidiasis menurun.



BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

3.1.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental laboratoris yaitu penelitian yang dilakukan dengan mengadakan manipulasi terhadap objek penelitian dan disertai adanya kontrol (Nazir, 2005).

3.1.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *the post test only control grup design* untuk melakukan pengamatan dan pengukuran setelah perlakuan dan hasilnya dibandingkan dengan kontrol (Notoatmodjo, 2010).

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

- a. Identifikasi spesies daun kopi robusta dilakukan di Laboratorium Biologi UPT Materia Medica Batu , Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur.
- b. Pembuatan ekstrak daun kopi robusta dilakukan di Laboratorium Fitokimia UPT Materia Medica Batu, Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur.
- c. Uji aktivitas antijamur dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember.

3.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari 2016 sampai Juni 2016.

3.3 Identifikasi Penelitian

3.3.1 Variabel Penelitian

a. Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak daun kopi robusta dengan konsentrasi 25% konsentrasi 50%, konsentrasi 75%, konsentrasi 100% dan nistatin.

b. Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah daya hambat ekstrak daun kopi robusta terhadap pertumbuhan jamur *C. albicans*.

c. Variabel Terkendali

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah suspensi *C. albicans*, diameter lubang sumuran (5 mm), volume ekstrak daun kopi robusta yang diteteskan pada lubang sumuran dan waktu pengamatan.

3.4 Definisi Operasional

- a. Ekstrak daun kopi robusta (*Coffea Robusta Lindl*) adalah ekstrak yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari serbuk daun kopi robusta menggunakan pelarut etanol 96%. Parameter yang digunakan dalam variabel ini, konsentrasi ekstrak yang digunakan yaitu konsentrasi 100%, 75%, 50%, dan 25%. Pengenceran ekstrak daun kopi robusta menggunakan DMSO 1%.
- b. *Suspensi C. albicans* adalah suatu larutan yang berisi *C. albicans* yang telah diencerkan dengan aquadest steril sehingga mencapai kekeruhan sesuai standar yaitu *Mc Farland* 1 atau sebanding dengan jumlah jamur 3×10^8 CFU/mL.
- c. Pertumbuhan *C. albicans* merupakan jamur *C. albicans* yang pertumbuhannya pada pH 4,5-6,5 yang membentuk dua fase pertumbuhan yaitu tunas yang disebut blastopore dan hifa. Pada penelitian ini pertumbuhan optimal *C. albicans* dilakukan selama 48 jam pada media Sabouraud Dekstrosa Agar (SDA).
- d. Zona hambat pertumbuhan *C. albicans* adalah daya antijamur ekstrak etanol daun kopi robusta (*Coffea Robusta Lindl*) terhadap *C. albicans* yang dilihat

dari zona bening pada masing-masing media Sabouraud Dekstrosa Agar (SDA), yang kemudian diukur menggunakan jangka sorong dalam skala millimeter.

- e. Uji efektifitas adalah penentuan perlakuan terbaik ditentukan berdasarkan metode indeks efektivitas. Metode ini dilakukan berdasarkan variabel yang diurutkan menurut prioritas dan kontribusi terhadap hasil (De Garmo *et al*, 1984). Adapun rumus yang digunakan untuk menghitung nilai efektifitas adalah sebagai berikut :

$$NE = \frac{Np - Npj}{Npb - Npj}$$

Keterangan :

NE : nilai efektifitas

Np : nilai perlakuan

Npj : nilai perlakuan terjelek

Npb : nilai perlakuan terbaik

3.5 Sampel Penelitian

3.5.1 Kriteria sampel

1) Kriteria Inklusi

a. Daun Kopi Robusta (*Coffea Robusta Lindl*)

1. Daun kopi yang berasal dari Desa Rayap, Arjasa, Jember, Jawa Timur.
2. Daun kopi robusta usia tua campuran dari bagian atas dan tengah pohon kopi robusta dari tanaman kopi induk varietas robusta (*Coffea robusta Link, ex De Willd*).
3. Daun kopi segar dan berwarna hijau.

b. *Candida albicans*

1. Koloni *C. albicans* yang tumbuh pada media SDA setelah dipapar dengan perlakuan.
2. Diinkubasi selama 48 jam.

3. Suhu inkubasi 37°C.

2) Kriteria Eksklusi

a. Daun Kopi Robusta

1. Daun kopi kering.
2. Daun kopi yang lubang terkena hama.

b. *Candida albicans*

1. Koloni *C. albicans* yang tumbuh pada media SDA dengan disertai pertumbuhan kontaminan lain.

3.5.2 Kelompok Percobaan

Penelitian ini terdapat 6 kelompok yang terdiri dari kelompok kontrol negatif, kontrol positif, perlakuan I, perlakuan II, perlakuan III, perlakuan IV lebih jelasnya dapat dilihat pada Tabel 3.1

Tabel 3.1 Kelompok Percobaan

Kelompok	Percobaan
Kontrol Negatif (K-)	Dimetil sulfoksida (DMSO) 1%
Kontrol Positif (K+)	Nistatin
Perlakuan I (P1)	Ekstrak daun kopi robusta konsentrasi 25%
Perlakuan II (P2)	Ekstrak daun kopi robusta konsentrasi 50%
Perlakuan III (P3)	Ekstrak daun kopi robusta konsentrasi 75%
Perlakuan IV (P4)	Ekstrak daun kopi robusta konsentrasi 100%

3.5.3 Jumlah Ulangan

Jumlah ulangan yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dengan menggunakan rumus Federer :

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

Keterangan :

t : banyaknya kelompok perlakuan

r : jumlah replikasi (Supriyanto, 2011)

Dalam penelitian ini diketahui jumlah perlakuan (t) = 6, maka dapat dilakukan perhitungan ulangan sebagai berikut :

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

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

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

$$5r - 5 \geq 15$$

$$5r \geq 20$$

$$r \geq 4$$

Dari hasil perhitungan di atas, diperoleh jumlah ulangan yang digunakan dalam penelitian ini 4 untuk setiap kelompok perlakuan. Peneliti menggunakan batas minimal jumlah ulangan yaitu 4 ulangan untuk tiap-tiap perlakuan.

3.6 Alat dan Bahan Penelitian

3.6.1 Alat

Alat yang dipakai pada penelitian ini adalah :

- 1) Pembuatan ekstrak daun kopi robusta
 - a. Toples kaca dilengkapi dengan tutupnya
 - b. *Rotary evaporator* besar (Buchi, Switzerland)
 - c. *Erlemeyer* (Pyrex, Japan)
 - d. Spatula
 - e. Blender (Sharp, Indonesia)
 - f. Gelar ukur
 - g. Neraca (Cent-O-Cram, Ohaus, USA)
 - h. *Beaker glass*
 - i. *Shaker* digital (Wise shaker laboratory instrument, USA)

- j. Alkoholmeter (Gay Lussac, Italy)
- k. Kertas saring
- 2) Pengenceran Konsentrasi Ekstrak
 - a. Mikropipet (Eppendorf, Germany)
 - b. Tabung reaksi
 - c. *Thermolyne* (Barnstead, USA)
- 3) Uji antijamur
 - a. Tabung Erlenmeyer (Schoot Duram, Germany)
 - b. *Petridisk* tidak bersekat (d = 9 cm)
 - c. Ose (Nikrom, Indonesia)
 - d. Bunsen (Pyrex, Japan)
 - e. Tabung reaksi (Pyrex, Japan)
 - f. Jangka sorong (Medesy, Italy) dengan derajat ketelitian 0,5 mm
 - g. Mikropipet (Eppendorf, Germany)
 - h. Kompor listrik (Maspion, Indonesia)
 - i. Spektrofotometer (Milton Roy, Spectronic 20+, Germany)
 - j. *Laminar flow* (tipe HF-100, Korea)
 - k. *Incubator* (Binder, tipe 175053099003100, Germany)
 - l. *Autoclave* (Mettler, Germany)
 - m. Sterilisator panas kering (Oven)
 - n. Pinset (Dentica, Stainless steel, France)
 - o. *Stopwatch*
 - p. Pelubang kertas atau *two hole punch*
 - q. Gigaskrin
 - r. Desikator
 - s. *Sterile cork borer*

3.6.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut ini:

- a. Daun kopi robusta dari Desa Rayap Kecamatan Arjasa Kabupaten Jember, Jawa Timur.
- b. Suspensi jamur *C. albicans*
- c. DMSO 1%
- d. Nistatin
- e. Larutan Standar *Mc Farland* 0,5 dan 1
- f. Media SDA
- g. Etanol 96%
- h. Aquadest
- i. Kertas saring kimia
- j. Alkohol 70% (One Med, Indonesia)
- k. Spidol dan kertas label
- l. Masker dan sarung tangan (One Med, Indonesia)

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Tahap Persiapan

a. Identifikasi tanaman

Pada tahap awal penelitian, dilakukan identifikasi daun kopi robusta (*Coffea robusta lindl*) yang akan diambil ekstraknya.

b. Sterilisasi alat

Semua alat yang terbuat dari gelas atau kaca seperti gelas ukur, *petridish*, tabung reaksi dan lain lain disterilkan menggunakan sterilisator panas kering atau oven dengan suhu 171° C selama 60 menit, sedangkan semua alat yang terbuat dari plastik dicuci bersih dan dikeringkan kemudian diulas menggunakan alkohol 70% (Cappucino dan Sherman, 2005).

3.7.2 Prosedur Pembuatan Ekstraksi Daun Kopi Robusta (*Coffea Robusta Lindl*)

Proses pembuatan ekstraksi dilakukan di Laboratorium Fitokimia UPT Materia Medica Batu dengan perincian sebagai berikut :

- a. Proses mengekstrak diawali dengan menyediakan daun kopi robusta (*Coffea Robusta Lindl*) segar yang telah dicuci bersih dan dikeringkan dengan cara kering angin selama satu minggu pada suhu kamar.
- b. Daun kopi robusta (*Coffea Robusta Lindl*) yang sudah dikeringkan tersebut kemudian dihaluskan menggunakan blender lalu disaring untuk mendapatkan serbuk.
- c. Serbuk daun kopi robusta (*Coffea Robusta Lindl*) yang sudah disaring tersebut ditimbang sebanyak 277 gr kemudian dimasukkan ke dalam toples kaca kemudian direndam dengan menggunakan etanol 96% sampai serbuk terendam sebanyak 1.500 ml (pelarut yang digunakan minimal 2 kali berat serbuk atau lebih), setelah itu dilakukan pengadukan menggunakan spatula, ditutup rapat menggunakan tutup toples.
- d. Rendaman didiamkan tersebut selama 24 jam. Kemudian dishaker di atas shaker digital rpm 50.
- e. Memisahkan ampas dan filtrat rendaman dengan cara disaring menggunakan kertas saring kimia lalu tampung ekstrak dalam erlemeyer, untuk memperoleh ekstrak cair daun kopi robusta.
- f. Lakukan remaserasi sebanyak dua kali pada ampas dengan cara dimasukkan kembali dalam toples dan ditambahkan pelarut etanol 96% sampai terendam (minimal 5 cm diatas permukaan serbuk). Kemudian biarkan selama 24 jam dan dishaker. Masing-masing remaserasi menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 1250 ml.
- g. Hasil ekstrak cair pertama sampai dengan terakhir, dijadikan satu dan diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* selama 3 jam 30 menit.
- h. Proses ekstraksi selesai dan diperoleh ekstrak kental daun kopi robusta (*Coffea Robusta Lindl*).

3.7.3 Pengenceran Ekstrak Daun Kopi Robusta (*Coffee Robusta Lindl*)

Untuk penelitian ini digunakan ekstrak daun kopi robusta (*Coffee Robusta Lindl*) dengan konsentrasi 25% 50%, 75% dan 100%. Pengenceran dilakukan dengan rumus sebagai berikut ini (Rohaya, 2014):

$$V1.M1 = V2.M2$$

V1 = Volume awal ekstrak daun kopi robusta

M1 = Konsentrasi awal ekstrak daun kopi robusta

V2 = Volume akhir ekstrak daun kopi robusta

M2 = Konsentrasi Akhir ekstrak daun kopi robusta

Hasil ekstraksi daun kopi robusta (*Coffee Robusta Lindl*) diencerkan dengan pelarut DMSO 1% untuk memperoleh konsentrasi ekstrak yang dikehendaki dalam perlakuan.

3.7.4 Pembuatan Media Kultur

Membuat media kultur SDA untuk media pertumbuhan jamur *C. albicans* dengan cara mencampur 15 gr bubuk SDA dan 300 mL aquades kemudian disterilkan dengan *autoclave* 121° C selama 15 menit dan dibiarkan dingin hingga mencapai suhu 50° C. Selanjutnya dituangkan kedalam *petridish* dan dimasukkan ke inkubator dengan suhu 37° C selama 24 jam.

3.7.5 Pembuatan Suspensi Jamur *C. albicans*

Suspensi *C. albicans* berasal dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember dan dibuat dengan mengambil 1 ose jamur *C. albicans* dan dimasukkan pada media SDA dengan volume 5 mL, kemudian diinkubasi selama 48 jam pada 37°C. Setelah dikeluarkan dari inkubator, suspensi *C. albicans* disesuaikan dengan kekeruhan menurut larutan standar *Mc Farland* 1 atau sebanding dengan jumlah jamur 3×10^8 CFU/mL.

3.7.6 Inokulasi Jamur *C. albicans*

- a. Inokulasi jamur dilakukan menggunakan teknik *pour plate* pada media kultur SDA pada jamur *C. albicans*, media kultur terlebih dahulu dibagi menjadi lima bagian menggunakan spidol.
- b. Suspensi inokulum jamur *C. albicans* diambil sebanyak 200 μL kemudian ditetaskan pada media kultur dan diratakan diatas permukaan media kultur menggunakan gigaskrin.

3.7.7 Uji Daya Hambat Antijamur

- a. Uji daya hambat antijamur dilakukan dengan menggunakan metode *well-diffusion* pada media kultur SDA pada jamur *C. albicans*, kontrol negatif DMSO 1%, dan kontrol positif yaitu nistatin.
- b. Membuat lubang yang sebelumnya telah digambar dengan menggunakan spidol berdiameter 5 mm dengan jumlah lubang yang telah ditentukan sebelumnya.
- c. Lubang tersebut ditetesi dengan ekstrak daun kopi robusta (*Coffee Robusta Lindl*) konsentrasi 25%, 50%, 75%, 100%, DMSO 1% dan nistatin yang di produksi oleh PT. Sanbe Farma masing-masing sebanyak 15 μL menggunakan mikropipet kemudian didiamkan selama satu menit sampai menyerap dan kering (Sudha, S. dkk, 2013).
- d. Masing-masing sampel dibuat empat kali ulangan.
- e. Media kultur dibalik supaya uap pada permukaan tutup media kultur tidak jatuh mengenai permukaan media kultur.
- f. Dilakukan inkubasi selama 48 jam pada suhu 37° C.

3.7.8 Pengukuran Zona Hambat

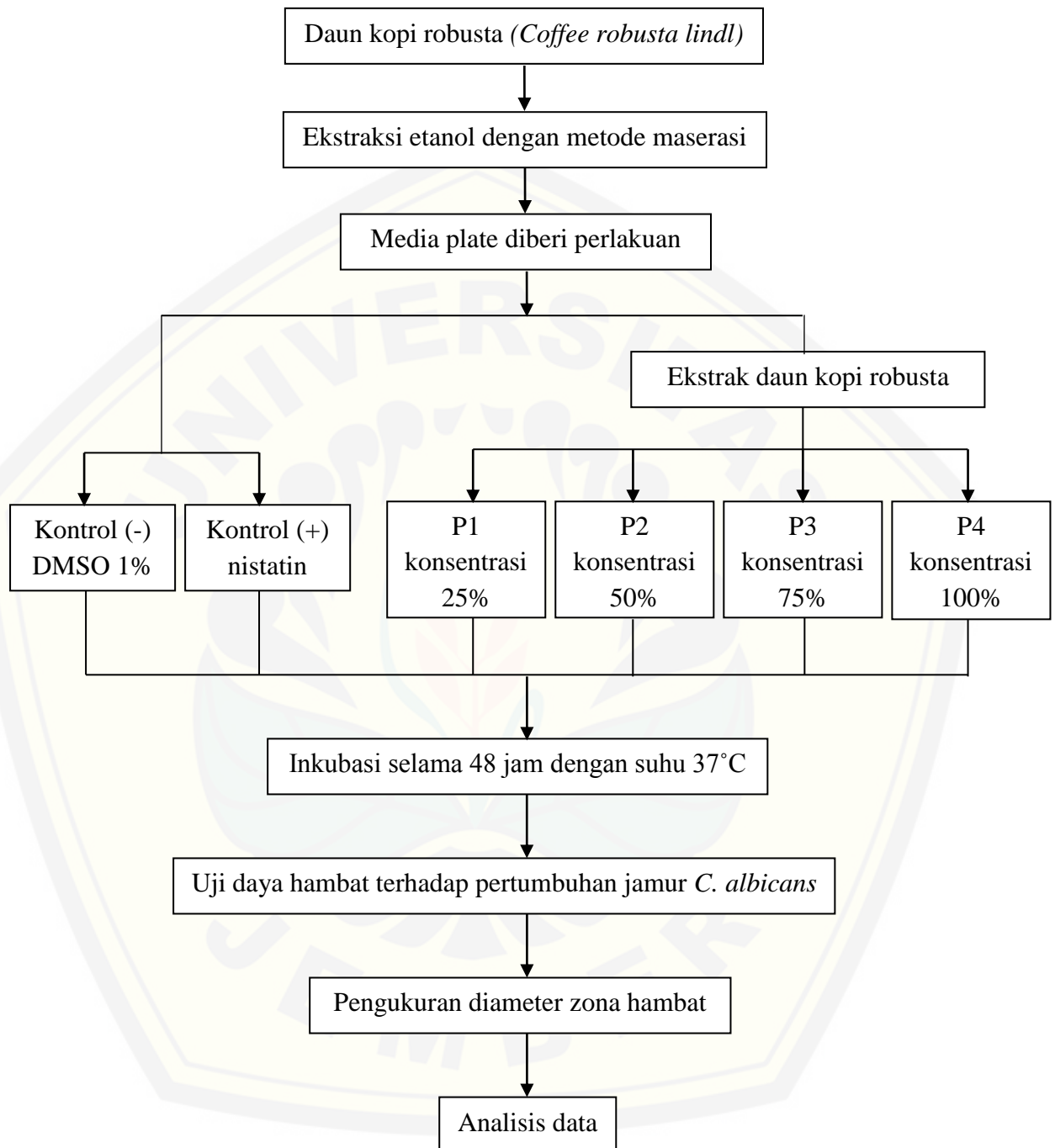
- a. Melakukan pengukuran zona hambat pada media kultur yang telah diberi perlakuan, pengukuran diameter zona hambat pertumbuhan jamur *C. albicans* dilakukan menggunakan jangka sorong digital. Pengukuran dilakukan sebanyak 3 kali oleh 3 orang pengamat yang berbeda dan diambil rata-rata.

- b. Zona hambat pertumbuhan jamur *C. albicans* adalah daerah atau wilayah jernih yang tampak di sekeliling lubang sumuran yang diukur menggunakan jangka sorong dalam skala millimeter untuk mengetahui kekuatan daya hambat ekstrak daun kopi robusta terhadap pertumbuhan jamur *C. albicans*. Diameter zona hambat tersebut dikategorikan daya antijamur berdasarkan penggolongan Conner dan Beuchat (1984) cit Elgayar *et al* (2001), yaitu sebagai berikut :
1. Diameter zona hambat diatas 11 mm artinya daya hambat sangat kuat
 2. Diameter zona hambat 6-11 mm artinya daya hambat lemah
 3. Diameter zona hambat dibawah 6 mm artinya tidak menghambat
- c. Cara pengukuran zona hambat yaitu apabila zona hambat berbentuk lingkaran maka pengukuran dilakukan dengan mengukur diameter dari zona hambat. Apabila zona hambat berbentuk lonjong, maka pengukuran dilakukan pada diameter zona hambat yang panjang (misal a mm) dan diameter zona hambat yang pendek (misal b mm) kemudian keduanya dijumlah dan dibagi dua. Jadi diameter zona hambatnya $=\frac{a+b}{2}$ (Majidah, 2014).

3.8 Analisa Data

Data hasil penelitian diuji menggunakan uji normalitas *kolmogorov-smirnov* ($p>0,05$) dan uji homogenitas *Levene*. Kemudian dilanjutkan dengan uji parametrik ANOVA satu arah (*One Way ANOVA*) dengan derajat kemaknaan 95% ($p<0,05$) dan dilanjutkan dengan uji *Least Significance Different* (LSD) untuk mengetahui besar perbedaan antar kelompok pada data. Namun jika data yang diperoleh tidak berdistribusi normal dan atau tidak homogen, digunakan uji nonparametrik *Kruskal Wallis* dengan derajat kemaknaan 95% ($p<0,05$) dan dilanjutkan dengan uji statistik *Mann Whitney* dengan derajat kemaknaan 95% ($p<0,05$) pada data. Untuk penentuan perlakuan terbaik yang dihasilkan dari penelitian ditentukan berdasarkan metode indeks uji efektivitas.

3.9 Alur Penelitian



BAB 5. KESIMPULAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Ekstrak daun kopi robusta (*Coffea Robusta Lindl*) memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *C. albicans*.
2. Konsentrasi ekstrak daun kopi robusta (*Coffea Robusta Lindl*) paling efektif sebagai daya hambat terhadap pertumbuhan *C. albicans* adalah ekstrak daun kopi robusta (*Coffea Robusta Lindl*) konsentrasi 100%.

5.2 Saran

Saran yang diperoleh dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan uji daya hambat *C. albicans* dengan metode ekstraksi daun kopi robusta (*Coffea Robusta Lindl*) yang berbeda.
2. Perlu dilakukan uji daya hambat *C. albicans* dengan membandingkan ekstraksi jenis daun kopi yang lain.
3. Perlu dilakukan uji kadar hambat minimal (KHM) dan uji daya bunuh minimal (KBM) terhadap *C. albicans* pada rongga mulut.
4. Perlu dilakukan uji toksisitas bahan yang diekstraksi dari daun kopi robusta (*Coffea Robusta Lindl*).

DAFTAR PUSTAKA

- AAK, 1988. *Budidaya Tanaman Kopi*. Yogyakarta: Kanisius.
- Abad, M.J., Ansuategui, M. and Bermejo, P. 2007. *Active antifungal substances from natural sources*. *Arkivoc*. 2, 116-145.
- Amelong, K. 2000. *How To Tell If You Have Candidiasis*. <http://www.optimalhealthnetwork.com/candida-albicans-S1202.htm> [diakses 7 Oktober 2014].
- Bakht, J., Azra., dan Shafi, M. 2012. *Antimicrobial Activity of Nicotiana Tabacum Using Different Solvents Extracts*. Pakistan: Khyber Pukhtum KhwaAgricultural University.
- Brunton, L.L., Lazo, J.S., & Parker, K.L. 2006. *Goodman & Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 11th Edition. New York: Mc. Graw-Hill.
- Calderone, R.A. 2002. *Candida and Candidiasis*, 7,19, 21, 23. Washington D.C: ASM Press.
- Cappuccino, J. G., dan Sherman, N. 2005. *Microbiology: A Laboratory Mannual*. San Fransisco: Person Benjamin Cumming.
- Carranza FA, HH Takei, and MG Newman. 2002. *Clinical Periodontology 9th ed*. Philadelphia: W.B. Saunders Company.
- Clifford, M.N. 1999. Review: Chlorogenic Acids and Other Cinnamates Nature, Occurrence and Dietary Burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 79 : 362-372.
- Cushnie, T. P., Lamb A. J. 2005. Antimicrobial Activity of Flavonoids. *Journal of Antrimicrobial Agents*, 26: 343-345.
- De Garmo, E.P., W.G. Sullivan and J.R. Canada. 1984. *Engineering Economy*. Seventh Edition. Macmillan Pub. Co. New York.
- Dressen G, Kusche W, Neumeister C, Schwantes U. 2012. Diagnosis of Vulvovaginal Candidiasis and Effectiveness of Combined Topical Treatment With Nystatin. *The Open Women's Health Journal* (6): 19-23.

- Elgayyar., Draughon., Golden., dan Mount. 2001. Antimicrobial Activity of Essential Oils from Plant Against Selected pathogenic and Saprophytic Microorganisms. *Journal of Food Protection*, 64 (7): 1019-1024.
- Farah, A., Paulis, T.D., Trugo, L.C. & Martin, P.R. 2005. Effect of Roasting on the Formation of Chlorogenic Acid Lactones in Coffee. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53 :1505–1513.
- Guyton, A.C., and Hall, J.E. 2002. *Textbook of Medical Physiology*. 10th ed. Philadelphia, PA, USA: Elsevier Saunders.
- Harborne, J.B., Baxter, H. & Moss, G.P. 1999. *Phytochemical Dictionary : A Handbook of Bioactive Compounds from Plants*. London : Taylor & Francis Ltd.
- Hulupi, R & Martini, E. 2013. *Pedoman Budi Daya dan Pemeliharaan Tanaman Kopi di Kebun Campur*. Jember : Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia.
- Jung, W.S., Chung., Kim., Ahmad, A. 2011. In Vitro Antioxidant Activity, Total Phenolics and Flavonoids From Celery Leaves, *JMPR.*, 5 (32): 7022 - 7030.
- Jupriadi, L. 2011. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Waru (*Hibicustilaceus L.*) terhadap Jamur *Malassezia furfur*. *Skripsi*. Malang: Program Studi Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya.
- Katzung B. G. 2011. *Farmakologi Dasar & Klinik ed. 10*. Jakarta: EGC
- Kayser, F.H., Bienz, K.A., Eckert, J., Zinkernage, R.M. 2005. *Medical microbiology*. 10thEdition. Stuttgart : Thieme;. 362-4.
- Kee J & Hayes E. 1996. *Pendekatan Proses Keperawatan*. Alih bahasa : Peter Anugerah; Editor : Yasmin Asih. Jakarta : EGC
- Khan F & Baqai R. 2001. *Original Article : In Vitro Antifungal Sensitivity Of Fluconazole, clotrimazole and Nystatin Against Vaginal Candidiasis In Females Of Childbearing Age*. Pakistan : Department of Microbiology, University of Karachi, Karachi.
- Kicklighter, S. D. 2002. *Antifungal agents and fungal prophylaxis in the neonate*. *Neo Reviews*. 3:e249-54

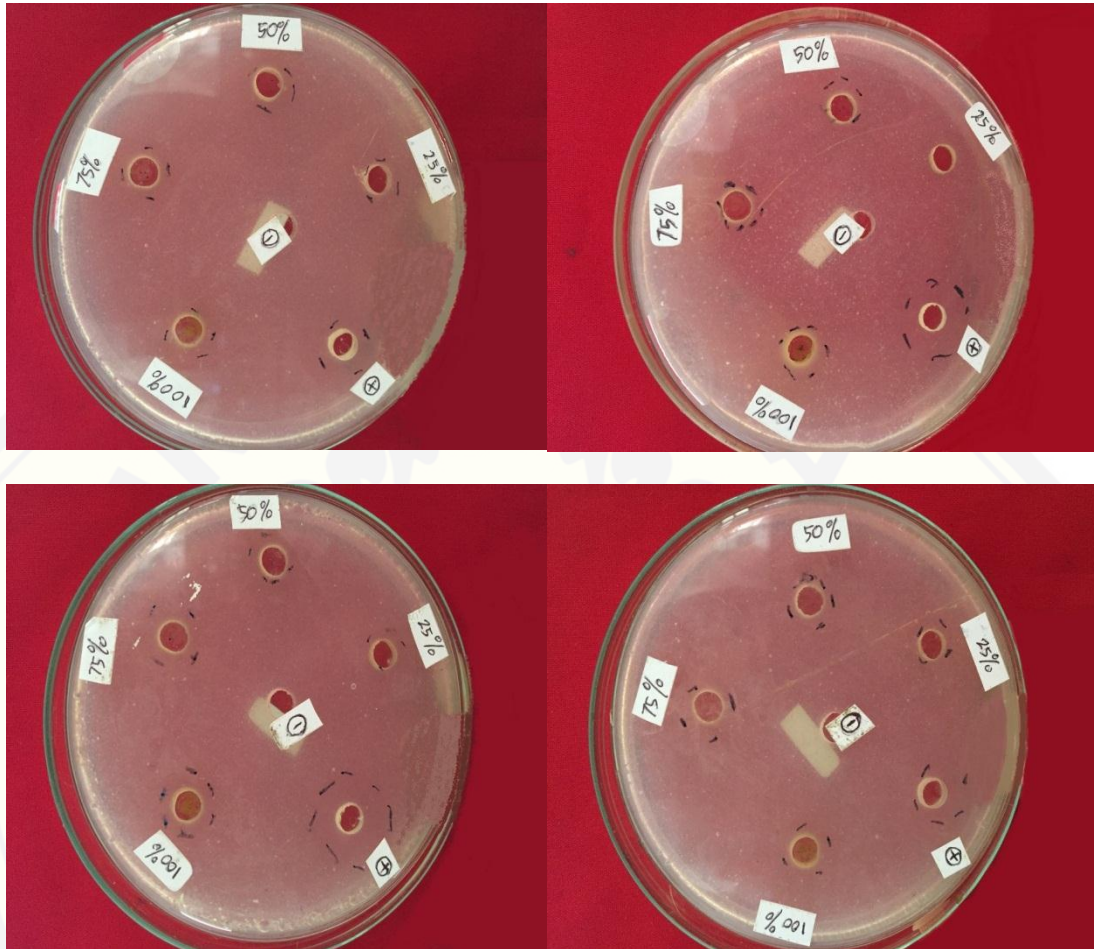
- Komariah, R. S. 2012. Kolonisasi Candida dalam Rongga mulut. *Majalah Kedokteran FK UKI*, Vol : XXVIII no. 1.
- Kurniawan, Dwi. 2015. Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) Terhadap *Candida albicans* Secara In Vitro. *Skripsi*. Pontianak: Program Studi Kedokteran Umum Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura.
- Kusumaningtyas, E. 2005. Mekanisme Infeksi *Candida albicans* pada Permukaan Sel. *Jurnal Lokakarya Nasional Penyakit Zoonosis*: 304-313.
- Kusumaputra B.H & Zulkarnain I. 2014. Periodical of Dermatology & Venereology. *BIKKK*. Vol. 26 : 2.
- Lee, J.H., Park, J.H., Kim, Y.S., & Han, Y. 2008. Chlorogenic Acid, a Polyphenolic Compound, Treats Mice with Septic Arthritis Caused by *Candida albicans*. *International Immunopharmacology*. 8 : 1681–1685.
- Leonardis, D.A., Pizzella, L. & Macciola, V. 2008. Evaluation of Chlorogenic Acid and Its Metabolites as Potential Antioxidants for Fish Oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 110 (10) : 941-948.
- Listari, Y. 2009. Efektivitas Penggunaan Metode Pengujian Antibiotik Isolat *Streptomyces* Dari Rizosfer Familia *Poaceae* Terhadap *Escherichia Coli*. *Skripsi*. Universitas Muhammadiyah : Surakarta.
- Luo, F., Lv, O., Zha, Y., Hu, G., Huang, G., Zhang, I., Sun, C., Li, X. & Chen, K. 2012. *Quantification and Purification of Mangiferin from Chinese Mango (Mangifera indica L) Cultivars and Its Protective Effect on Human Umbilical Vein Endothelial Cells Under H₂O₂-induced Stress*. *International Journal of Molecular Sciences*. Vol. 13:11260-11274.
- Meng, S., Cao, J., Feng, Q., Peng, J. & Hu, Y. 2013. *Roles of Chlorogenic Acid on Regulating Glucose and Lipids Metabolism : A Review*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* : 1-11.
- Mirza, R.H. & Chi, Y. 2013. Therapeutic Potential of The Natural Product Mangiferin in Metabolic Syndrome. *Journal of Nutritional Therapeutics*. Vol. 2: 74-79.

- Moraiz, T.C., Lopes, S.C., Carvalho, K.M.M.B., Arruda, B.R., Souza, F.T., Trevisan M.T.S., Rao, V.S. & Santos, F.A. 2012. High Performance Liquid Chromatographic Method for The Determination of Mangiferin in Rat Plasma & Urine. *World Journal of Gastroentology*. Vol. 18 (25): 3207-3214.
- Mutua, J. 2000. *Post Harvest Handling and Processing of Coffee in African Countries*. [www.fao.org. http://www.fao.org/docrep/003/x6939e/X6939e00.htm](http://www.fao.org/docrep/003/x6939e/X6939e00.htm). [3 Maret 2015].
- Mycek, M.J. 2001. *Farmakologi Ulasan Bergambar*. Edisi 2. Jakarta: Widya Media.
- Nazir. 2005. *Metode Penelitian*. Jakarta: Ghalia Indonesia.
- Najayati, S. & Danarti. 2012. *Kopi, Budidaya dan Penanganan Lepas Panen*. Jakarta : PT. Penebar Swadaya.
- Notoatmodjo, S. 2010. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Cetakan III. Jakarta: PT. Rineka Cipta.
- Obongoya, B. O., Wagai, S. O., dan Odhiambo, G. 2010. Phytotoxic Effect of Selected Crude Plant Extracts on Soil-Borne Fungi of Common Bean. *African Crop Sci. Journal*: 18 (1): 15-22.
- Olthof, M.R., Hollman, P.C.H. & Katan, M.B. 2001. Chlorogenic Acid and Caffeic Acid Are Absorbed in Humans. *Journal of Nutrition*. 131: 66–71.
- Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia. 2006. *Pedoman Teknis Budidaya Tanaman Kopi*. (Tidak dipublikasikan). Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia.
- Rahayu, T dan T. Rahayu. 2009. Uji Antijamur Kombucha Coffee Terhadap *Candida albicans* dan *Tricophyton mentagrophytes*. *Jurnal Penelitian Sains & Teknologi*, Vol. 10 (1) : 10 – 17.
- Rahmawati, W., Winarsih, S., & Nurdiana. 2013. Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Kopi Robusta Terhadap Pertumbuhan *candida albicans* Secara in Vitro. *Skripsi*. Universitas Brawijaya : Malang.
- Rintiswati, N., Winarsih, N.E., & Malueka, R.G. 2004. Potensi Antikandida Enstrak Madu Secara In Vitro dan In Vivo. *BIK*. 36(4): 187-94.

- Rohaya, Syarifah., Hariwati., Retno., Lely., Sujuti dan Hidayat. 2014. Efek Pemberian Ekstrak Kulit Jeruk Keprok (*Citrus Reticulata*) terhadap Cell-Cycle Arrest dan Apoptosis pada Sel Kultur Retinoblastoma. *Skripsi*. Malang: Universitas Brawijaya.
- Rubiyo. 2013. *Majalah Semi Populer Tanaman Industri dan Penyegar*. Sukabumi : Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan.
- Rusli, M. S., Suryani., dan Puspita, P. E. 2011. *Antibacterial Activity of Temanggung Tobacco Extract Variety Genjah Kemloko*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Saifudin, A. 2011. *Standardisasi Bahan Obat Alam*. Yogyakarta: Graha Ilmu. Pp. 1-11
- Scribd, 2011. *Laporan Akhir Kopi*. <http://www.scribd.com>. (15 Februari 2012).
- Setiabudy R & Bahry B. 2007. *Farmakologi dan Terapi Edisi 5*. Jakarta: Balai Penerbit FKUI
- Simatupang, M. M. 2009. *Candida Albicans*. Medan: USU Repository.
- Soll D.R. 2012. *Signal Transduction Pathways Regulating Switching, Mating and Biofilm Formation in Candida albicans and related species*. New York: Springer Press; pp. 85–102.
- Sudha, S. S., Rajamanickam, K., & Rengaramanajum, J. 2013. Microalgae Mediated Synthesis of Silver Nanoparticles and Their Antibacterial Activity Against Pathogenic Bacteria. *Indian J. Exp. Biol.* Vol. 52: 393-399.
- Sugianitri, N.K. 2011. Ekstrak Biji Buah Pinang (*Areca catechu L.*) Dapat Menghambat Pertumbuhan Koloni *Candida albicans* secara in vitro pada Resin Akrilik Heat Cured. *Skripsi : Program Pascasarjana Program Studi Ilmu Biomedik Universitas Udayana, Bali*.
- Supriyanto, S. J.A. Djohan. 2011. *Metodologi Riset Bisnis dan Kesehatan*. Kalimantan: Grafika Wangi.
- Syamsuhidayat, Sugati S., & Ria J. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia I*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.

- Taiga, A., dan Friday, E. 2009. Variations in Phytochemical Properties of Selected Fungicidal Aqueous Extracts of Some Plant Leaves in Kogi State, Nigeria. *American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture*, 3 (3): 407-409.
- Talamond, P., Mondolot, L., Gargadennec, A., Kochko, A., Hamon, S., Fruchies, A., & Campa, C. 2008. First Report on Mangiferin (*C-glucosyl-xanthone*) Isolated from Leaves of a Wild Coffee Plant, *Coffea pseudozanguebariae* (*Rubiaceae*). *Acta Bot. Gallica*. Vol 155 (4): 513-519.
- Tjampaksari, C. R. 2006. *Karakteristik Candida Albicans*. Jakarta: Cermin Dunia Kedokteran. No. 151: 33-36.
- Thom, E. 2007. The Effect of Chlorogenic Acid Enriched Coffee on Glucose Absorption in Healthy Volunteers and Its Effect on Body Mass When Used Long-term in Overweight and Obese People. *The Journal of International Medical Research*. 35 : 900-908.
- UPT Materia Medica. 2016. *Determinasi Tanaman Kopi Robusta*. Malang: Dinas Kesehatan Propinsi Jawa Timur, UPT Materia Medica.
- Zhao, Y., Wang, J., Balleve, O., Luo, H. & Zhang, W. 2011. Antihypertensive Effects and Mechanisms of Chlorogenic Acids. *Hypertension Research*. 2011: 1-5.

Lampiran A. Foto Hasil Penelitian



Gambar A.1 Hasil penelitian uji daya hambat ekstrak etanol daun kopi robusta terhadap pertumbuhan *C. albicans* dengan 4 kali pengulangan.

Lampiran B. Data Hasil Penelitian

B.1 Hasil pengukuran diameter zona hambat (skala mm) dan rata-rata pertumbuhan jamur *C. albicans*

Kelompok	Pengamat 1				Pengamat 2				Pengamat 3			
	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
Kontrol +	10,77	10,15	10,34	10,26	10,90	10,00	10,50	10,20	10,96	10,32	10,27	10,15
Kontrol -	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
(25%)	6,93	6,32	7,87	6,15	7,21	6,00	8,00	6,00	6,50	6,63	7,68	6,17
(50%)	7,44	7,53	7,67	7,64	7,00	7,45	7,50	7,60	7,65	7,59	7,84	7,96
(75%)	8,45	8,85	8,97	8,71	8,65	8,80	8,75	8,99	8,72	8,95	8,79	8,17
(100%)	9,95	9,54	9,91	9,70	9,15	9,67	9,70	9,95	9,69	9,70	9,61	9,82

Kelompok	Rata-rata Diameter Zona Hambat				Rata-rata Total Diameter Zona Hambat Kelompok Perlakuan
	A	B	C	D	
Kontrol +	10,87	10,15	10,37	10,20	10,40
Kontrol -	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
(25%)	6,88	6,31	7,85	6,10	6,78
(50%)	7,36	7,52	7,67	7,73	7,58
(75%)	8,60	8,86	8,83	8,62	8,72
(100%)	9,59	9,63	9,74	9,82	9,69

B.2 Hasil Perhitungan Standar Deviasi

Kelompok	Rata-rata Diameter Zona Hambat (mm)	Standart Deviasi (\pm)
K -	5,00	0,00
K +	10,40	0,33
P1	6,78	0,78
P2	7,58	0,17
P3	8,72	0,14
P4	9,69	0,10

Lampiran C. Analisis Hasil Penelitian

Uji Normalitas Kolmogorov-Smirnov

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kontrol (+)	Kontrol (-)	Konsentrasi 25%
N		4	4	4
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	10,3975	5,0000	6,7850
	Std. Deviation	,32877	,00000 ^c	,78275
Most Extreme Differences	Absolute	,283		,228
	Positive	,283		,228
	Negative	-,226		-,191
Kolmogorov-Smirnov Z		,567		,456
Asymp. Sig. (2-tailed)		,905		,985

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. The distribution has no variance for this variable. One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test cannot be performed.

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Konsentrasi 50%	Konsentrasi 75%	Konsentrasi 100%
N		4	4	4
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	7,5700	8,7275	9,6950
	Std. Deviation	,16553	,13647	,10472
Most Extreme Differences	Absolute	,227	,285	,233
	Positive	,167	,285	,233
	Negative	-,227	-,274	-,166
Kolmogorov-Smirnov Z		,454	,569	,465
Asymp. Sig. (2-tailed)		,986	,902	,982

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Uji Homogenitas Levene-Statistic

Test of Homogeneity of Variance^a

		Levene Statistic	df 1	df 2	Sig.
Diameter Inhibisi	Based on Mean	3,017	4	15	,052
	Based on Median	2,982	4	15	,054
	Based on Median and with adjusted df	2,982	4	4,79	,136
	Based on trimmed mean	3,976	4	15	,021

Oneway Anova

Descriptives

Diameter Inhibisi

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol (+)	4	10,398	,329	,164	9,874	10,921	10,15	10,87
Kontrol (-)	4	5,000	,000	,000	5,000	5,000	5,00	5,00
Konsentrasi 25%	4	6,785	,783	,391	5,539	8,031	6,10	7,85
Konsentrasi 50%	4	7,570	,166	,083	7,307	7,833	7,36	7,73
Konsentrasi 75%	4	8,728	,136	,068	8,510	8,945	8,60	8,86
Konsentrasi 100%	4	9,695	,105	,052	9,528	9,862	9,59	9,82
Total	24	8,029	1,883	,384	7,234	8,824	5,00	10,87

ANOVA

Diameter Inhibisi

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	79,225	5	15,845	122,232	,000
Within Groups	2,333	18	,130		
Total	81,559	23			

Uji LSD

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Diameter Inhibisi
LSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol (+)	Kontrol (-)	5,39750*	,25459	,000	4,8626	5,9324
	Konsentrasi 25%	3,61250*	,25459	,000	3,0776	4,1474
	Konsentrasi 50%	2,82750*	,25459	,000	2,2926	3,3624
	Konsentrasi 75%	1,67000*	,25459	,000	1,1351	2,2049
	Konsentrasi 100%	,70250*	,25459	,013	,1676	1,2374
Kontrol (-)	Kontrol (+)	-5,39750*	,25459	,000	-5,9324	-4,8626
	Konsentrasi 25%	-1,78500*	,25459	,000	-2,3199	-1,2501
	Konsentrasi 50%	-2,57000*	,25459	,000	-3,1049	-2,0351
	Konsentrasi 75%	-3,72750*	,25459	,000	-4,2624	-3,1926
	Konsentrasi 100%	-4,69500*	,25459	,000	-5,2299	-4,1601
Konsentrasi 25%	Kontrol (+)	-3,61250*	,25459	,000	-4,1474	-3,0776
	Kontrol (-)	1,78500*	,25459	,000	1,2501	2,3199
	Konsentrasi 50%	-,78500*	,25459	,006	-1,3199	-,2501
	Konsentrasi 75%	-1,94250*	,25459	,000	-2,4774	-1,4076
	Konsentrasi 100%	-2,91000*	,25459	,000	-3,4449	-2,3751
Konsentrasi 50%	Kontrol (+)	-2,82750*	,25459	,000	-3,3624	-2,2926
	Kontrol (-)	2,57000*	,25459	,000	2,0351	3,1049
	Konsentrasi 25%	,78500*	,25459	,006	,2501	1,3199
	Konsentrasi 75%	-1,15750*	,25459	,000	-1,6924	-,6226
	Konsentrasi 100%	-2,12500*	,25459	,000	-2,6599	-1,5901
Konsentrasi 75%	Kontrol (+)	-1,67000*	,25459	,000	-2,2049	-1,1351
	Kontrol (-)	3,72750*	,25459	,000	3,1926	4,2624
	Konsentrasi 25%	1,94250*	,25459	,000	1,4076	2,4774
	Konsentrasi 50%	1,15750*	,25459	,000	,6226	1,6924
	Konsentrasi 100%	-,96750*	,25459	,001	-1,5024	-,4326
Konsentrasi 100%	Kontrol (+)	-,70250*	,25459	,013	-1,2374	-,1676
	Kontrol (-)	4,69500*	,25459	,000	4,1601	5,2299
	Konsentrasi 25%	2,91000*	,25459	,000	2,3751	3,4449
	Konsentrasi 50%	2,12500*	,25459	,000	1,5901	2,6599
	Konsentrasi 75%	,96750*	,25459	,001	,4326	1,5024

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Lampiran D. Indeks Nilai Efektifitas

Hasil nilai efektifitas dari masing-masing kelompok perlakuan adalah sebagai berikut :

- a. Konsentrasi 25%

$$NE = \frac{N_p - N_{pj}}{N_{pb} - N_{pj}}$$
$$NEP1 = \frac{6,78 - 6,78}{9,69 - 6,78} = \frac{0}{2,91} = 0$$

- b. Konsentrasi 50%

$$NE = \frac{N_p - N_{pj}}{N_{pb} - N_{pj}}$$
$$NEP2 = \frac{7,58 - 6,78}{9,69 - 6,78} = \frac{0,8}{2,91} = 0,27$$

- c. Konsentrasi 75%

$$NE = \frac{N_p - N_{pj}}{N_{pb} - N_{pj}}$$
$$NEP3 = \frac{8,72 - 6,78}{9,69 - 6,78} = \frac{1,94}{2,91} = 0,67$$

- d. Konsentrasi 100%

$$NE = \frac{N_p - N_{pj}}{N_{pb} - N_{pj}}$$
$$NEP4 = \frac{9,69 - 6,78}{9,69 - 6,78} = \frac{2,91}{2,91} = 1$$

Lampiran E. Alat dan Bahan Penelitian



Gambar 1. Daun kopi robusta segar



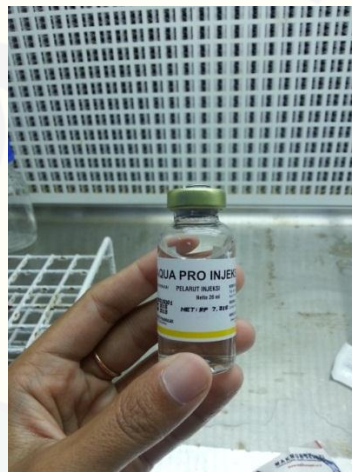
Gambar 2. Daun kopi robusta kering



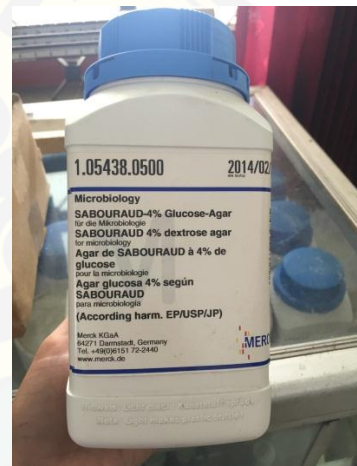
Gambar 3. Syringe



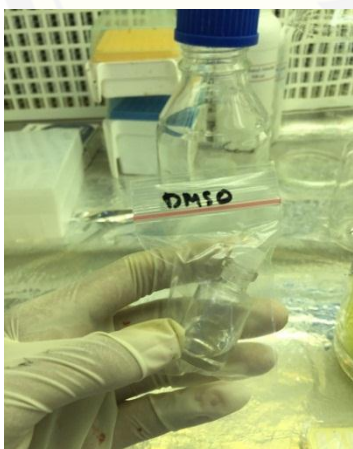
Gambar 4. Ethanol 96%



Gambar 5. Aquadest steril



Gambar 6. Bubuk SDA



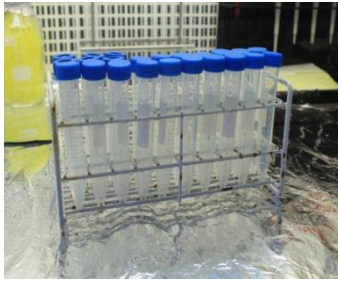
Gambar 7. DMSO



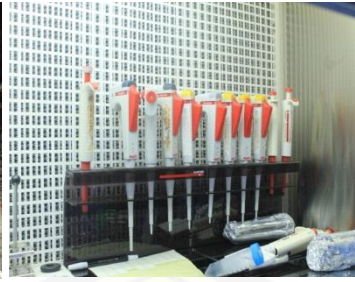
Gambar 8. Autoclave



Gambar 9. Rotary evaporator



Gambar 10. Tabung falcon



Gambar 11. Mikropipet dan rak tabung digital



Gambar 12. Jangka sorong



Gambar 13. Centrifuge



Gambar 14. Mixing vortex



Gambar 15. Spektrofotometer



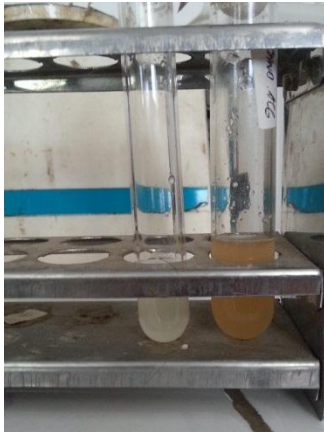
Gambar 16. Yellow tip



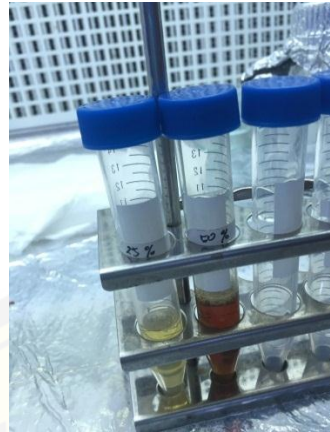
Gambar 17. Blue tip



Gambar 18. Blender



Gambar 19. Suspensi *C. albicans*



Gambar 20. Ekstrak daun kopi *robusta*



Gambar 21. Neraca ohaus



Gambar 22. Inkubator



Gambar 23. Oven



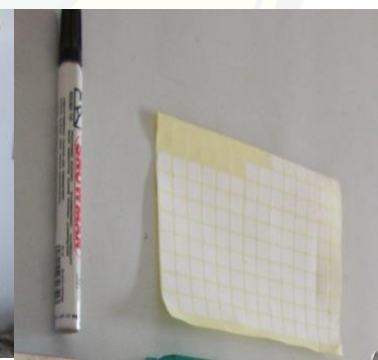
Gambar 24. Petridish



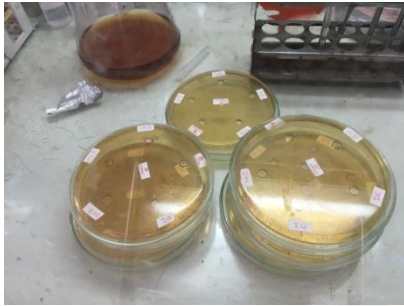
Gambar 25. Masker dan sarung tangan



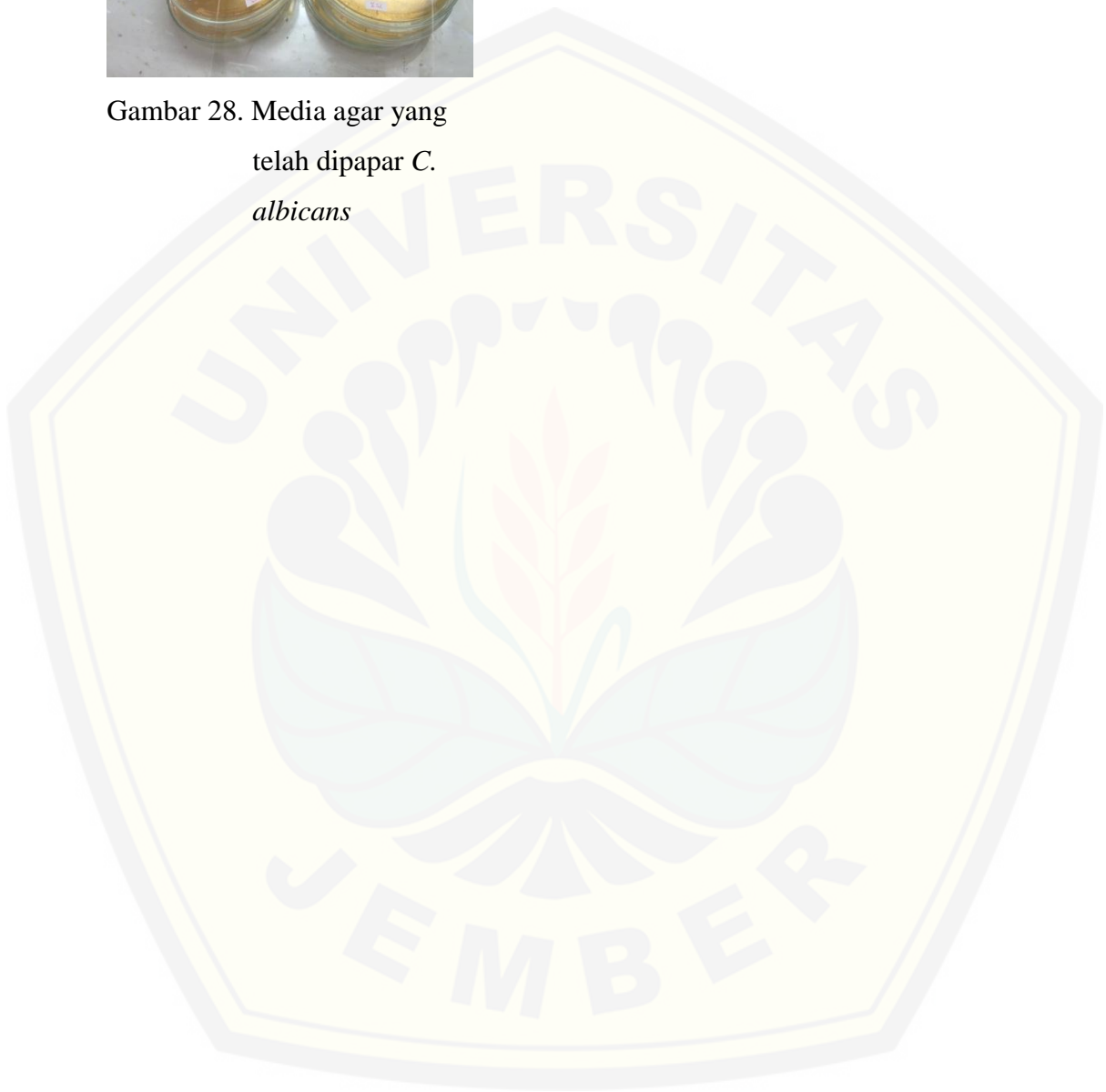
Gambar 26. *Laminar flow*



Gambar 27. Spidol dan kertas label



Gambar 28. Media agar yang telah dipapar *C. albicans*



Lampiran F. Dokumentasi Saat Penelitian

Gambar E.1 Daun kopi robusta yang sudah kering dan dipotong kecil diblender kemudian disaring untuk diambil serbuk halusanya. Setelah itu ditimbang sebanyak 277 gr.



Gambar E.2 Serbuk dimasukkan toples dan dicampur dengan ethanol 96% sebanyak 1500 mL. setelah itu, rendaman diaduk menggunakan spatula dan ditutup rapat. Rendaman didiamkan selama 24 jam, kemudian dishaker di atas shaker digital rpm 50. Ampas dan filtrat dipisah menggunakan kertas saring dan ditampung dengan erlemeyer (lakukan remaserasi dengan ethanol 96% sebanyak 1250 mL seperti diatas). Hasil ekstrak diuapkan dengan *rotary evaporator* selama 3 jam 30 menit dan akhirnya proses ekstrasi selesai dilanjutkan dengan pengenceran konsentrasi ekstrak dengan DMSO 1%.



Gambar E.3 Hasil pengenceran konsentrasi ekstrak kemudian di *mixing vortex* agar homogen. Timbang bubuk SDA 15 gr dan dicampurkan dengan 300 mL aquadest lalu dipanaskan di dalam panci yg berisi air dan diaduk terus menerus agar homogen. Disterilkan menggunakan autoclave 121° C selama 15 menit dan dibiarkan dingin hingga mencapai suhu 50° C.



Gambar E.4 Suspensi jamur yang telah dibuat dihomogenkan menggunakan *thermolyne*. Media agar yang tadi sudah dibuat lalu dimasukkan ke dalam petridish setinggi 5 mm yang sebelumnya sudah dilabeli menurut kelompok perlakuan.



Gambar E.5 Media agar yang sudah dingin lalu ditetesi dengan suspensi jamur *C. albicans* menggunakan *syringe* dan *gigaskrin*. Didiamkan hingga media agar beku lalu dilubangi sejumlah kelompok perlakuan.



Gambar E.6 Media kultur yang telah diberi perlakuan didiamkan selama 30 menit hingga meresap dibungkus menggunakan kertas dan diselotip agar tidak jatuh lalu diinkubasi dalam inkubator bersuhu 37° C selama 2 x 24 jam.

Lampiran G. Pembuatan Kontrol Negatif DMSO 1%

Larutan DMSO 1% dibuat dengan menambahkan DMSO 100% dengan aquadest steril berdasarkan hitungan berikut ini :

- a. Volume DMSO 100% yang dibutuhkan

$$V1.M1 = V2.M2$$

$$V1.100 = 50.1$$

$$V1 = 0,5 \text{ mL}$$

- b. Volume aquadest steril yang dibutuhkan

$$= V2 - V1$$

$$= 50 \text{ mL} - 0,5 \text{ mL}$$

$$= 49,5 \text{ mL}$$

Jadi, untuk membuat 50 mL DMSO 1% dibutuhkan larutan DMSO 100% sebanyak 0,5 mL dan 49,5 mL aquadest steril.

Lampiran H. Pengenceran Ekstrak Etanol Daun Kopi Robusta

Pengenceran ekstrak etanol daun kopi robusta konsentrasi 25% dilakukan berdasarkan perhitungan berikut ini :

- a. Volume ekstrak etanol daun kopi robusta 100% yang dibutuhkan

$$V1.M1 = V2.M2$$

$$V1.100 = 5.25$$

$$V1 = 1,25 \text{ mL}$$

- b. Volume DMSO 1% yang dibutuhkan

$$= V2 - V1$$

$$= 5 \text{ mL} - 1,25 \text{ mL}$$

$$= 3,75 \text{ mL}$$

Jadi, untuk mendapatkan 5 mL ekstrak etanol daun kopi robusta konsentrasi 25% dibutuhkan ekstrak etanol daun kopi robusta konsentrasi 100% sebanyak 1,25 mL dan 3,75 mL DMSO 1%

Pengenceran ekstrak etanol daun kopi robusta konsentrasi 50% dilakukan berdasarkan perhitungan berikut ini :

- a. Volume ekstrak etanol daun kopi robusta 100% yang dibutuhkan

$$V1.M1 = V2.M2$$

$$V1.100 = 5.50$$

$$V1 = 2,5 \text{ mL}$$

- b. Volume DMSO 1% yang dibutuhkan

$$= V2 - V1$$

$$= 5 \text{ mL} - 2,5 \text{ mL}$$

$$= 2,5 \text{ mL}$$

Jadi, untuk mendapatkan 5 mL ekstrak etanol daun kopi robusta konsentrasi 50% dibutuhkan ekstrak etanol daun kopi robusta konsentrasi 100% sebanyak 2,5 mL dan 2,5 mL DMSO 1%.

Pengenceran ekstrak etanol daun kopi robusta konsentrasi 75% dilakukan berdasarkan perhitungan berikut ini :

- a. Volume ekstrak etanol daun kopi robusta 100% yang dibutuhkan

$$V1.M1 = V2.M2$$

$$V1.100 = 5.75$$

$$V1 = 3,75 \text{ mL}$$

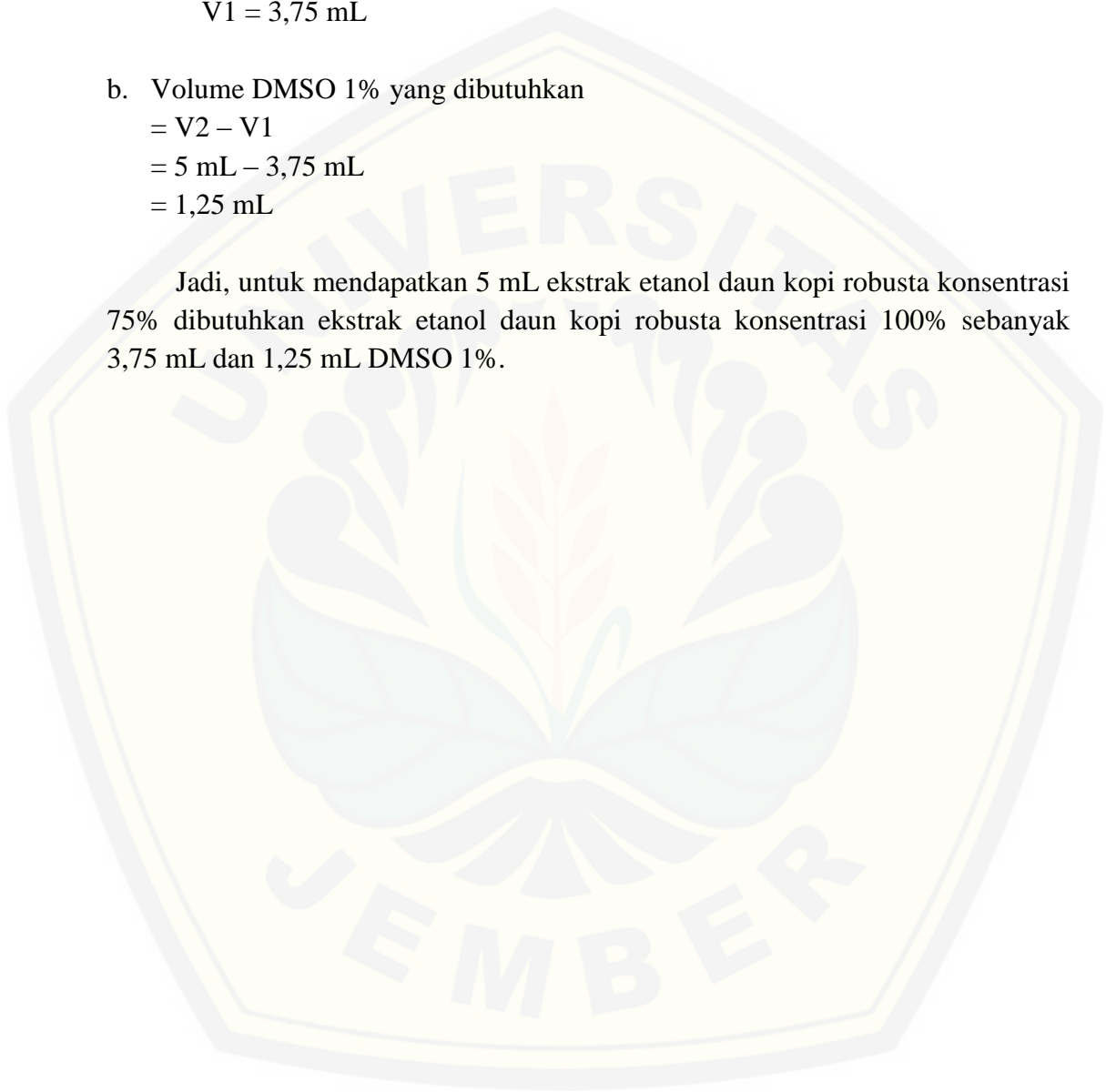
- b. Volume DMSO 1% yang dibutuhkan

$$= V2 - V1$$

$$= 5 \text{ mL} - 3,75 \text{ mL}$$

$$= 1,25 \text{ mL}$$

Jadi, untuk mendapatkan 5 mL ekstrak etanol daun kopi robusta konsentrasi 75% dibutuhkan ekstrak etanol daun kopi robusta konsentrasi 100% sebanyak 3,75 mL dan 1,25 mL DMSO 1%.



Lampiran I. Surat Identifikasi Jamur *Candida Albicans*



LABORATORIUM MIKROBIOLOGI
BAGIAN BIOMEDIK KEDOKTERAN GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER

SURAT KETERANGAN
No. 0119/ MIKRO/ S.KET/ 2017

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

Nama : RizaJayabelaYulestaPutri
NIM : 111610101012
Fakultas : Kedokteran Gigi
Keperluan : Penelitian Skripsi

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

Jember, 02Februari 2017

Mengetahui,



Kepala Bagian Biomedik Kedokteran Gigi

(drg. Suhartni, M. Biotech)
NIP. 1979092622006042002



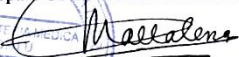
Penanggung Jawab Lab. Mikrobiologi

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

Lampiran J. Surat Identifikasi Daun Kopi Robusta

 DINAS KESEHATAN PROPINSI JAWA TIMUR UPT MATERIA MEDICA Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396 Batu (65313) KOTA BATU	
Nomor	: 074/101/101.8/2015
Sifat	: Biasa
Perihal	: <u>Determinasi Tanaman Kopi Robusta</u>
Memenuhi permohonan saudara :	
Nama	: RIZA JAYABELA YILISTA P.
NIM	: 111610101012
Fakultas	: FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI UNIVERSITAS JEMBER
<p>1. Perihal determinasi tanaman kopi robusta</p> <p>Kingdom : Plantae (Tumbuhan) Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh) Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji) Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga) Kelas : Dicotyledonae Bangsa : Rubiales Suku : Rubiaceae Marga : Coffea Jenis : <i>Coffea robusta</i> Link, ex De Willd. Sinonim : <i>Coffea canephora</i> var <i>robusta</i> Kunci Determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14b-16a-239b-243b-244b- 248b-249b-250a-251a-252b-1b-3b-4b-5b-6b-7a-1a</p> <p>2. Morfologi : Habitus: Perdu, tahunan, tinggi ± 5 m. Batang: Berkayu, keras, tegak, putih keabu-abuan. Daun: Tunggal, bulat telur, mengkilat, ujung runcing, tepi rata, pangkal tumpul, panjang 5-15 cm, lebar 4-6.5 cm, pertulangan menyirip, tangkai panjang 0.5-1 cm, hijau, pangkal daun membulat. Bunga: Majemuk, bentuk payung, di ketiak daun, kelopak berbagi lima, hijau, mahkota bentuk bintang, putih, benang sari lima, tangkai sari putih, kepala sari hitam, panjang putik ± 3 cm, kepala putik coklat, putih. Buah: Bulat telur, diameter ± 5 mm, masih muda hijau setelah tua merah. Biji: Bulat telur, berbelah dua, keras, putih kotor. Akar: Tunggang, kuning muda.</p> <p>3. Nama Simplisia : Coffeae Semen/ Biji Kopi.</p> <p>4. Kandungan : Daun kopi robusta mengandung alkaloid, saponin, flavonoida dan polifenol. Biji kopi robusta mengandung kafein dalam jumlah yang tinggi, ethyphenol, quinic acid, dicaffeoylquinic acid, dimethyl disulfide, putrescine, trigoneline, protein, dan asam amino.</p> <p>5. Penggunaan : Penelitian (Skripsi)</p> <p>6. Daftar Pustaka</p> <ul style="list-style-type: none"> • Anonim. http://www.plantamor.com/kopi, diakses tanggal 17 Desember 2010. • Anonim. http://www.warintek.ristek.go.id/Kopi, diakses tanggal 21 Oktober 2010. • Syamsuhidayat, Sri Sugati dan Hutapea, Johny Ria. 1991. <i>Inventaris Tanaman Obat Indonesia I</i>. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Badan Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan. • Van Steenis, CGGJ. 2008. <i>FLORA</i>. Pradnya Paramita, Jakarta. 	
Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.	
Batu, 03 Maret 2016 Kepala UPT Materia Medica Batu  Dr. Husin RM, Drs., Apt., MKes. NIP.19611102 199103 1 003	

Lampiran K. Surat Keterangan Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kopi Robusta

	
DINAS KESEHATAN PROVINSI JAWA TIMUR UPT MATERIA MEDICA Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396 Batu (65313) KOTA BATU	
Nomor	: 074 / 102 / 101.8 / 2015
Sifat	: Biasa
Perihal	: <u>Surat Keterangan Ekstrak tanaman Kopi Robusta</u>
Memenuhi permohonan saudara :	
Nama	: RIZA JAYABELA YILISTA P.
NIM	: 111610101012
Fakultas	: FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI UNIVERSITAS JEMBER
<p>Kami menerangkan bahwa yang bersangkutan telah melakukan ekstraksi untuk bahan penelitian dari tanaman kopi robusta (<i>Coffea robusta Link, ex De Willd.</i>). Adapun proses pembuatan di lakukan di Laboratorium Fitokimia UPT Materia Medica Batu dengan perincian sebagai berikut :</p>	
BAHAN	: Serbuk daun kopi robusta Etanol 96 % Kertas saring
Alat	: Toples bertutup Corong gelas Timbangan analitik Gelas ukur Botol
	Erlenmeyer Rotary evaporator besar Beaker glass Alkoholmeter Shaker digital
Cara Kerja :	
<ol style="list-style-type: none"> 1. Timbang serbuk daun kopi robusta sebanyak 277 g. 2. Lakukan pembasahan serbuk dengan pelarut etanol 96% secukupnya. 3. Masukkan serbuk daun kopi robusta yang telah dibasahi dengan pelarut kedalam toples, diratakan dan sambil ditambahkan pelarut etanol 96% sampai serbuk terendam (pelarut yang digunakan minimal 2 kali berat serbuk atau lebih, jadi total yang digunakan sebanyak 1.500 mL. Tutup toples dengan rapat selama 24 jam. Dan dishaker di atas shaker digital rpm 50. 4. Saring ekstrak cair dengan penyaring kain. Tampung ekstrak dalam Erlenmeyer. 5. Lakukan remaserasi sebanyak dua kali pada ampas dengan cara dimasukkan kembali dalam toples dan ditambahkan pelarut sampai terendam (minimal 5 cm diatas permukaan serbuk). Kemudian biarkan semalam / 24 jam dan dishaker. Masing-masing remaserasi menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 1.250 mL. 6. Hasil ekstrak cair pertama sampai dengan terakhir, dijadikan satu dan diuapkan dengan menggunakan rotary evaporator. Diperlukan waktu 3 jam 30 menit untuk evaporasi. 	
Hasil :	
<ol style="list-style-type: none"> 1. Dari serbuk daun kopi robusta 277 g dan diekstraksi menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 4 L dihasilkan ekstrak cair sebanyak 120 mL. 	
Demikian keterangan ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.	
 Batu, 16 November 2015 Kepala UPT Materia Medica Batu  Dr. Husin RM, Drs., Apt. M.Kes. NIP.19611102 199103 1 003	