



**PENGARUH ANEKA SAJIAN MINUMAN KOPI ROBUSTA TERHADAP  
AKTIVITAS DAN KAPASITAS FAGOSITOSIS SEL MAKROFAG  
PERITONIUM MENCIT YANG DIINDUKSI *Bacillus cereus***

**SKRIPSI**

Oleh :  
**Sarah Faradillah Safri**  
**NIM 142210101115**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2018**



**PENGARUH ANEKA SAJIAN MINUMAN KOPI ROBUSTA TERHADAP  
AKTIVITAS DAN KAPASITAS FAGOSITOSIS SEL MAKROFAG  
PERITONIUM MENCIT YANG DIINDUKSI *Bacillus cereus***

**SKRIPSI**

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

Oleh :  
**Sarah Faradillah Safri**  
**NIM 142210101115**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2018**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

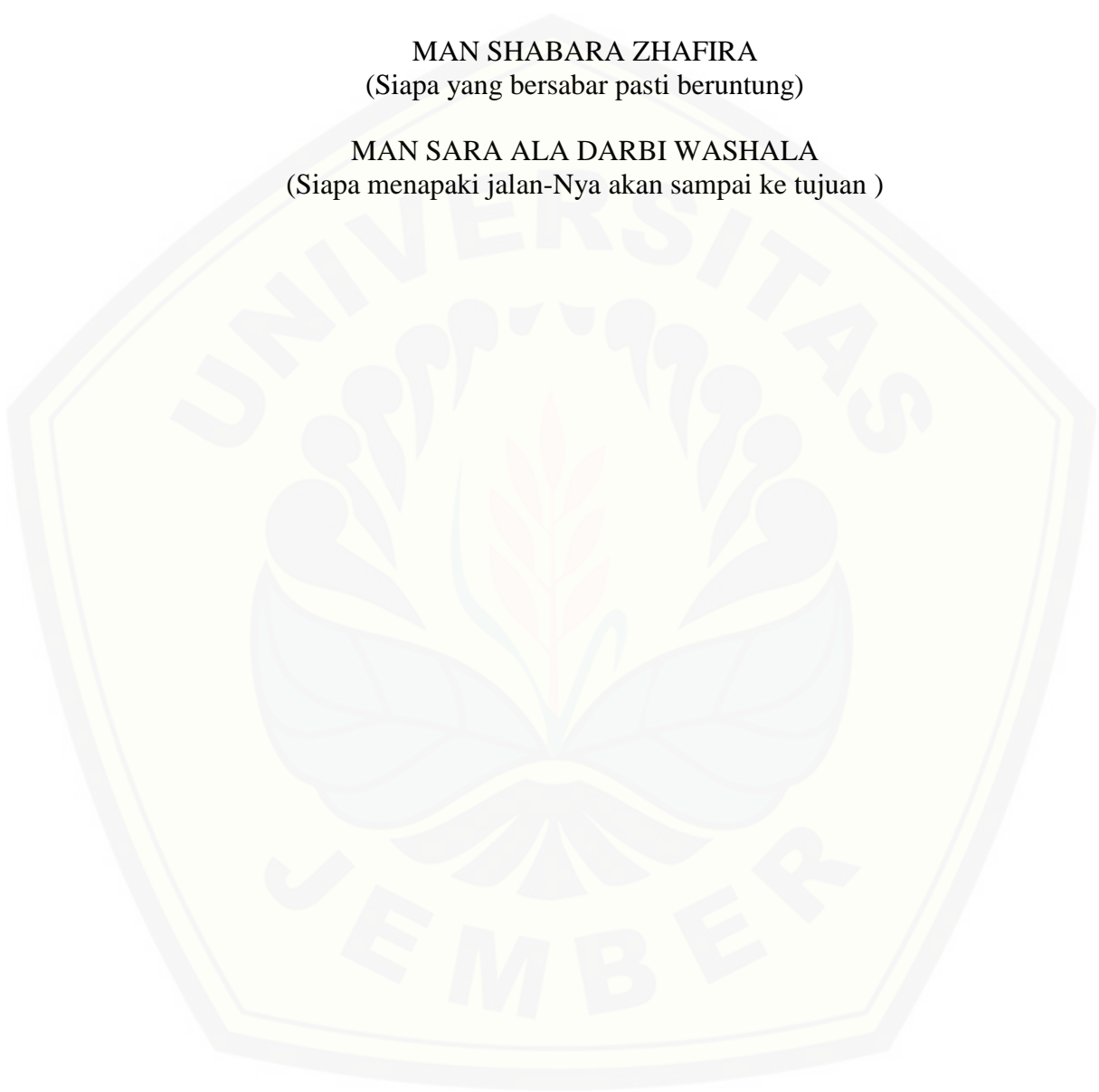
1. Allah SWT yang selalu memberikan petunjuk, rahmat, hidayah, tuntunan, dan kemudahan;
2. Mama Umi Thoriqoh dan Ayah Syaiful Bahri yang telah memberikan semangat, motivasi, dukungan tiada henti serta, Adik Aca, Adik Sibi dan Adik Gray yang selalu menjadi penyemangat dan selalu mendoakan mbak;
3. Ibu Fransiska Maria Christianty, S. Farm., M.Farm., Apt selaku Dosen Pembimbing Utama dan Ibu Indah Purnama Sary, S.Si., M.Farm., Apt Ibu selaku Dosen Pembimbing Anggota yang senantiasa sabar membimbing penulis;
4. Ibu Diana Holidah, SF., M.Farm., Apt dan Ibu Ema Racmawati S.Farm., M. Sc., Apt selaku Dosen Penguji yang dengan penuh kesabaran memberikan masukan kepada penulis;
5. Almamater tercinta Fakultas Farmasi Universitas Jember.

**MOTTO**

MAN JADDA WAJADA  
(Barang siapa bersungguh-sungguh pasti berhasil)

MAN SHABARA ZHAFIRA  
(Siapa yang bersabar pasti beruntung)

MAN SARA ALA DARBI WASHALA  
(Siapa menapaki jalan-Nya akan sampai ke tujuan )



**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Sarah Faradillah Safri

NIM : 142210101115

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Pengaruh Aneka Sajian Minuman Kopi Robusta Terhadap Aktivitas Dan Kapasitas Fagositosis Sel Makrofag Peritoneum Mencit Yang Diinduksi *Bacillus cereus*” 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 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 manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 17 Mei 2018

Yang menyatakan,

Sarah Faradillah Safri

NIM 142210101115

**SKRIPSI**

**PENGARUH ANEKA SAJIAN MINUMAN KOPI ROBUSTA TERHADAP  
AKTIVITAS DAN KAPASITAS FAGOSITOSIS SEL MAKROFAG  
PERITONIUM MENCIT YANG DIINDUKSI *Bacillus cereus***

Oleh  
Sarah Faradillah Safri  
NIM 142210101115

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Fransiska Maria C, S. Farm., M.Farm., Apt.

Dosen Pembimbing Anggota : Indah Purnama Sary, S.Si., M.Farm., Apt.

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Pengaruh Aneka Sajian Minuman Kopi Robusta Terhadap Aktivitas dan Kapasitas Fagositosis Sel Makrofag Peritonium Mencit yang Diinduksi *Bacillus cereus*” karya Sarah Faradillah S telah diuji dan disahkan pada:

Hari,tanggal : Selasa, 17 Juli 2018

Tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim pembimbing

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

Fransiska Maria C, S. Farm., M.Farm., Apt.  
NIP. 198404062009122008

Indah Purnama Sary, S.Si., M.Farm., Apt.  
NIP.198304282008122004

Tim penguji

Dosen Penguji 1

Dosen Penguji 2

Diana Holiday, SF., M.Farm., Apt.  
NIP.197812212005012002

Ema Racmawati S.Farm., M. Sc., Apt.  
NIP.198403082008121004

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember,

Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M. Farm.

NIP.197604142002122001

## RINGKASAN

**Pengaruh Aneka Sajian Minuman Kopi Robusta Terhadap Aktivitas Dan Kapasitas Fagositosis Sel Makrofag Peritonium Mencit Yang Diinduksi *Bacillus cereus***; Sarah Faradillah Safri; 142210101115; 2018; 99 Halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Infeksi dapat disebabkan oleh bakteri, virus, jamur, dan parasit dan menyebabkan terganggunya sistem fungsional tubuh. Sistem imun atau sistem pertahanan alami tubuh akan bertanggungjawab melindungi tubuh dari agen asing penyebab infeksi melalui proses fagositosis. Fagositosis merupakan proses menelan partikel padat yang kemudian akan terbentuk vesikel spesifik (fagosom). Ketika agen asing seperti *Bacillus cereus* menyerang tubuh, maka makrofag akan teraktivasi dan meningkatkan kemampuannya dalam memfagositosis serta mensekresikan berbagai jenis substansi mediator inflamasi, seperti sitokin. Kemampuan dari sel sel efektor untuk melepaskan mediator inflamasi dapat dihambat ataupun didorong oleh bahan-bahan imunomodulator.

Salah satu bahan alam berpotensi menjadi imunomodulator adalah kopi. Kebiasaan minum kopi pada masyarakat Indonesia sudah dilakukan sejak jaman dahulu kala dan turun-temurun. Jenis kopi yang banyak dibudidayakan dan beredar di Indonesia yaitu kopi robusta (*Coffea canephora*). Pada umumnya, kopi disajikan dalam bentuk yang sudah siap minum dengan atau tanpa bahan aditif seperti gula, susu, dan krimer. Kandungan polifenol yang terkandung dalam kopi robusta yaitu asam klorogenat dan kafein telah diketahui berfungsi sebagai antioksidan dan imunomodulator. Penelitian tentang pengaruh aneka sajian minuman kopi robusta terhadap aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag bertujuan ingin mengetahui apakah terdapat pengaruh dari aneka sajian minuman kopi robusta terhadap aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag.

Metode yang digunakan yaitu dengan menghitung aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag dari aneka sajian minuman kopi robusta dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000x. Nilai aktivitas fagositosis makrofag adalah jumlah sel makrofag yang secara aktif melakukan fagositosis terhadap *B. cereus* dalam jumlah keseluruhan sel makrofag. Nilai aktivitas fagositosis berguna untuk mengetahui gambaran aktivasi fungsi (perubahan aktivitas fungsional) sel makrofag selama infeksi *B. cereus*. Nilai kapasitas fagositosis makrofag adalah jumlah bakteri *B. cereus* yang difagositosis oleh 50 sel makrofag aktif. Nilai kapasitas fagositosis berguna untuk mengetahui kemampuan maksimal dari sel makrofag untuk memfagositosis *B. Cereus*. Data yang didapat diuji statistik menggunakan *Kruskall Wallis* dan dilanjutkan uji *post hoc Mann-Whitney*.

Hasil penelitian menunjukkan, nilai aktivitas fagositosis dari yang tertinggi ke terendah yaitu kelompok kopi robsuta + gula sebesar  $946,25 \pm 31,373$ ; kopi kelompok kopi robusta murni sebesar  $98,319 \pm 0,426$ ; kelompok kopi + gula + krimer sebesar  $98,484 \pm 1,652$ ; dan yang terakhir kelompok kopi robusta + gula +



susu sebesar  $96,423 \pm 1,113$ . Hasil penelitian kapasitas fagositosis sejalan dengan aktivitas fagositosis sel makrofag dari yang tertinggi ke yang terendah yaitu kelompok kopi robusta + gula sebesar  $946,25 \pm 31,373$ ; kelompok kopi robusta sebesar  $770,75 \pm 79,596$ ; kelompok kopi robusta + gula + krimer  $590 \pm 27,622$ ; dan yang paling rendah yaitu kelompok kopi robusta + gula + krimer yaitu  $585,666 \pm 57,588$ . Semakin tinggi nilai aktivitas dan kapasitas sel makrofag maka semakin baik kemampuan sel makrofag dalam menyerang *B.cereus*.

Analisis data aktivitas fagositosis sel makrofag menggunakan uji *Kruskall Wallis* menunjukkan keempat kelompok perlakuan berbeda signifikan dengan nilai signifikan sebesar  $p=0.016$  ( $<0.05$ ) dan dilanjutkan uji *Mann-Whitney* dari keempat kelompok perlakuan, kelompok kopi robusta ( $K_1$ ) dengan kelompok kopi robusta + gula + susu ( $K_3$ ), nilai  $p=0.034$  ( $<0.05$ ) memiliki perbedaan signifikan. Sedangkan data kapasitas fagositosis, hasil *Kruskall Wallis* menunjukkan  $p=0.003$  ( $p<0.05$ ) yang berarti terdapat perbedaan signifikan antara satu kelompok dengan kelompok yang lain. Hasil *Mann-Whitney* yaitu Kelompok kontrol negatif ( $K_-$ ) dengan kelompok perlakuan ( $K_1, K_2, K_3, K_4$ ) tidak berbeda signifikan kecuali dengan kelompok kopi robusta + gula ( $K_2$ ) dan kelompok kopi robusta ( $K_1$ ) nilai  $p=0.021$ . Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi landasan untuk penelitian lebih lanjut.

## PRAKATA

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Aneka Sajian Minuman Kopi Robusta Terhadap Aktivitas Dan Kapasitas Fagositosis Sel Makrofag Peritonium Mencit Yang Diinduksi *Bacillus cereus*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Farmasi Universitas Jember.

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

1. Allah SWT yang telah memberikan karunia-Nya sehingga kami dapat menyusun dan menyelesaikan tulisan ini;
2. Ibu Nia Kristiningrum, S.Farm., M.Farm., Apt selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama penulis menjadi mahasiswa;
3. Ibu Fransiska Maria Christianty, S. Farm., M.Farm., Apt selaku Dosen Pembimbing Utama dan Ibu Indah Purnama Sary, S.Si., M.Farm., Apt selaku Dosen Pembimbing Anggota yang senantiasa meluangkan waktu, pikiran, tenaga, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
4. Ibu Diana Holidah, SF., M.Farm., Apt dan Ibu Ema Racmawati S.Farm., M. Sc., Apt selaku Dosen Penguji yang dengan penuh kesabaran memberikan masukan kepada penulis dalam penulisan skripsi ini;
5. Seluruh dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberi banyak ilmu pengetahuan, berbagai pengalaman dan selalu memotivasi penulis selama masa perkuliahan; staff dan karyawan atas segala bantuan yang telah diberikan penulis menjadi mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Jember;
6. Mbak Dini dan Mbak Indri selaku teknisi Laboratorium Farmakologi yang telah membantu dan membimbing penulis selama penelitian;
7. Orang tua tercinta mama Umi thoriqoh dan ayah Syaiful Bahri yang senantiasa memberi doa, kasih sayang, semangat dan motivasi untuk

mengiringi perjalanan hidup penulis; adik Salsabilla Rahmatillah Safri, adik Wildan Sibil Danillah Safri; Adik Grey.

8. Rekan dan sahabat diskusi selama skripsi “Yulintan Maulidar” yang senantiasa memberi masukan, semangat, dan mendengarkan keluh kesah penulis;
9. “Afi Naufal Adani”, yang senantiasa memberi dukungan, semangat, dan motivasi untuk penulis;
10. Sahabat “Coyo-Coyo” Ayik, Tiar, Lazu, Moy, Afika, Nilam, Adit, Dipan, Ira, Derry dan “Filza Isnaini” sebagai teman petualangan, untuk semua dukungan, semangat, motivasi dan kebersamaannya dikala susah;
11. Teman kuliah sekaligus sahabat “Getewe”, Presi, Yulintan, Poppy, Iyash, Hesti, dan Dofi yang senantiasa selalu menemani dan memberikan semangat selama menjadi mahasiswa Fakultas Farmasi;
12. Sahabat bermain dan belajar “Bwi”, Erica, Sylfi, Feb, Decy, Bella yang memberikan semangat dan mendengarkan keluh kesah penulis;
13. “Lebih Dari Teman” Nilam, Dina, dan Avin sebagai teman yang selalu ada disaat penulis membutuhkan sesuatu serta dukungan;
14. Teman-teman penelitian di bagian Farmakologi (Lisa, Nadia, Jeany) terima kasih untuk kebersamaannya saat penelitian;
15. Keluarga Besar Pharmagen FF UJ yang berjuang bersama untuk mewujudkan cita-cita;
16. Keluarga Besar UKSM Essensi Fakultas Farmasi atas semua dukungan, semangat, dan persaudaraan yang indah ini;
17. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu, terima kasih atas segala bantuan dan kerjasamanya. Penulis juga menerima kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan penulisan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, 26 April 2017

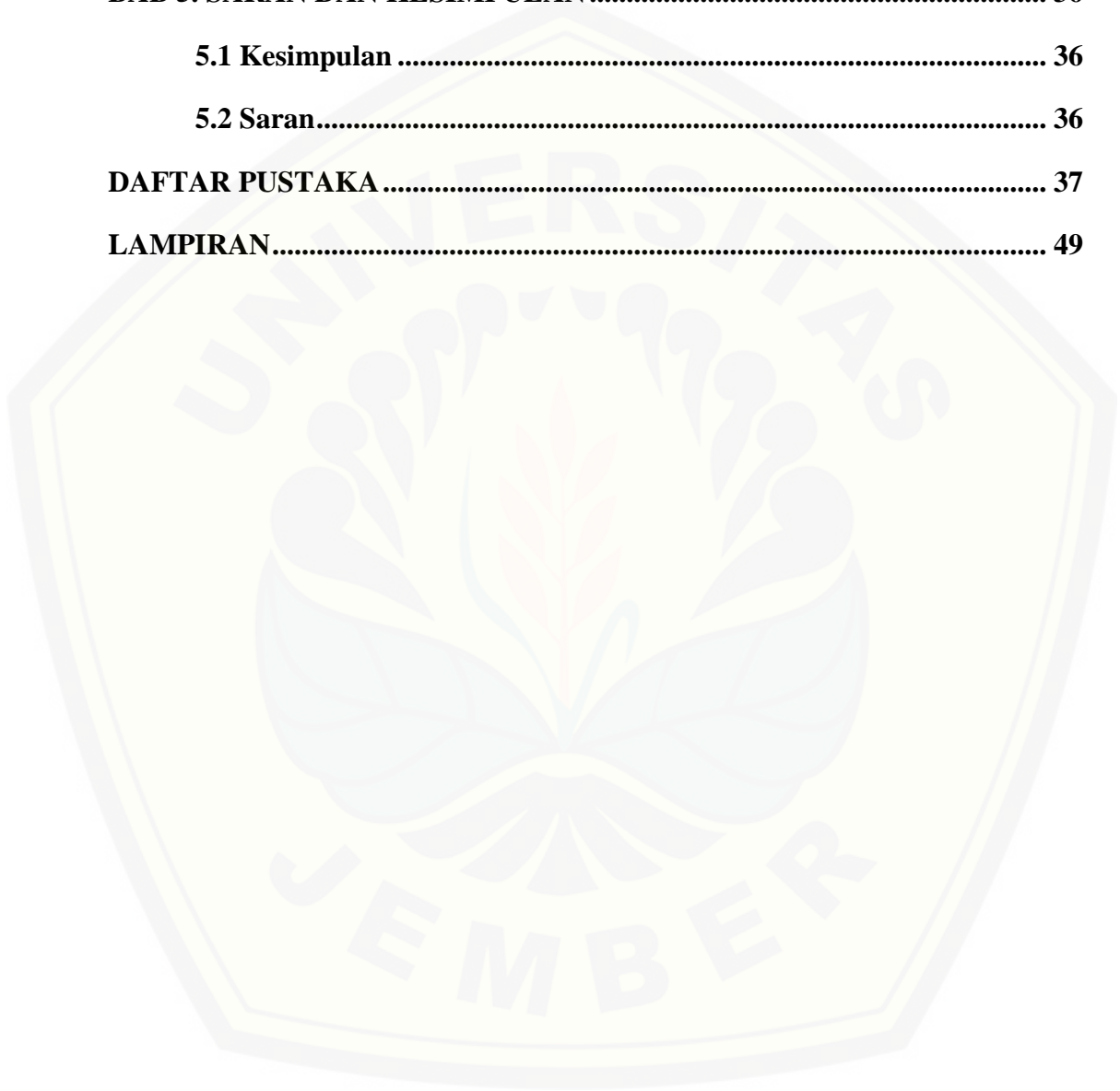
Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL.....	ii
HALAMAN JUDUL .....	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN .....	iii
HALAMAN MOTTO .....	iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
SKRIPSI.....	vi
PENGESAHAN.....	vii
RINGKASAN .....	viii
PRAKATA .....	x
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR TABEL .....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN .....	xvii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Latar Belakang .....</b>	<b>1</b>
<b>1.2 Rumusan Masalah.....</b>	<b>4</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>
2.1.2 Taksonomi Kopi Robusta ( <i>Coffea canephora</i> ) (ITIS, 2014) .....	5
2.1.3 Morfologi Tanaman Kopi Robusta ( <i>Coffea canephora</i> ) .....	6

2.1.4 Kandungan Kopi Robusta .....	7
<b>2.2 Aneka Sajian Minuman Kopi Robusta .....</b>	<b>8</b>
2.2.1 Potensi Kopi .....	10
<b>2.3 Immunomodulator .....</b>	<b>11</b>
2.3.1 Makrofag .....	11
2.3.2 Fagositosis Makrofag .....	13
2.3.3 Metode Uji Aktivitas Immunomodulator .....	14
2.3.4 <i>Bacillus cereus</i> .....	15
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN.....</b>	<b>18</b>
3.1 Jenis Penelitian .....	18
3.2 Rancangan Penelitian .....	18
3.3 Tempat dan Waktu Penelitian .....	19
3.4 Alat dan Bahan .....	19
3.5 Variabel Penelitian .....	20
3.5.1 Variabel Bebas .....	20
3.5.2 Variabel Terikat.....	20
3.5.3 Variabel Terkendali.....	20
3.6 Definisi Operasional.....	20
3.7 Sampel Penelitian .....	21
3.8 Prosedur Penelitian .....	21
3.8.1 Tahap Persiapan .....	21
3.8.2 Uji Fagositosis Sel Makrofag.....	23
3.9 Analisis Data .....	24
3.10 Skema penelitian .....	25
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>26</b>

4.1 Uji Aktivitas Fagositosis Sel Makrofag .....	26
4.2 Uji Kapasitas Fagositosis Sel Makrofag.....	29
4.3 Pembahasan .....	31
<b>BAB 5. SARAN DAN KESIMPULAN .....</b>	<b>36</b>
5.1 Kesimpulan .....	36
5.2 Saran.....	36
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>37</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>49</b>



**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
Gambar 2.1 Buah tanaman kopi robusta ( <i>Coffea canephora</i> ).....	6
Gambar 2.2 Makrofag peritoneal mencit diinfeksi <i>L. monocytogenes</i> .....	12
Gambar 2.3 Makrofag peritoneal mencit memfagositosis bakteri <i>B.anthraxis</i> ....	14
Gambar 2.4 Morfologi <i>B. cereus</i> .....	16
Gambar 3.1 Rancangan Penelitian.....	18
Gambar 3.2 Skema Penelitian.....	26
Gambar 4.1 Gambar sel makrofag peritoneum mencit.....	27

**DAFTAR TABEL**

	Halaman
Tabel 2.1 Komposisi kimia pada biji kopi arabika dan kopi robusta.....	7
Tabel 2.2 Komposisi zat gizi gula pasir (per 100 g berat bahan).....	8
Tabel 2.3 Kandungan krimer nabati dalam 100 g.....	10
Tabel 2.4 Lokasi dan fungsi populasi makrofag.....	13
Tabel 4.1 Nilai Rata-Rata Aktivitas Fagositosis Sel Makrofag .....	28
Tabel 4.2 Nilai Rata-rata Kapasitas Fagositosis Sel Makrofag.....	30





**DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
Lampiran 4.1 Perhitungan Dosis Bahan Uji.....	48
Lampiran 4.2 Perhitungan Dosis Stimulo.....	51
Lampiran 4.3 Hasil Aktivitas Dan Kapasitas Fagositosis.....	52
Lampiran 4.4 Hasil Uji Normalitas dan Homogenitas aktivitas fagositosis.....	58
Lampiran 4.5 Hasil Uji <i>Kruskall Wallis</i> Aktivitas Fagositosis.....	59
Lampiran 4.6 Hasil Uji <i>Mann-Whitney</i> Aktivitas Fagositosis.....	61
Lampiran 4.7 Hasil Uji Normalitas dan Homogenitas kapasitas fagositosis....	70
Lampiran 4.8 Hasil Uji <i>Kruskall Wallis</i> Kapasitas Fagositosis.....	71
Lampiran 4.9 Hasil Uji <i>Mann-Whitney</i> Kapasitas Fagositosis.....	73

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Setiap hari tubuh manusia dapat terkontaminasi dengan ratusan bakteri yang dapat memasuki tubuh melalui berbagai cara hingga dapat menimbulkan suatu infeksi. Infeksi dapat disebabkan oleh bakteri, virus, jamur, dan parasit hingga menyebabkan terganggunya sistem fungsional tubuh (WHO, 2001). Sistem imun atau sistem pertahanan alami tubuh akan bertanggungjawab melindungi tubuh dari agen asing penyebab infeksi melalui proses fagositosis (Cooper dan Alder, 2006). Fagositosis merupakan proses menelan partikel padat yang kemudian akan terbentuk vesikel spesifik (fagosom) (Kusmiyati, 2017). Sel imun yang bertanggungjawab terhadap pertahanan sel imun yaitu monosit, neutrofil, dan makrofag (Silva dan Neves 2010). Makrofag diproduksi oleh sumsum tulang belakang dan banyak ditemukan dalam suatu organ (Gordon dan Taylor, 2005). Makrofag berperan penting dalam sistem pertahanan tubuh karena memiliki kemampuan dalam memfagositosis agen penyebab inflamasi dan menghasilkan berbagai mediator inflamasi (Robinovitch, 1995).

Ketika agen asing seperti *B. cereus* menyerang tubuh, makrofag akan teraktivasi meningkatkan kemampuannya untuk melawan *B. cereus* dan mensekresikan berbagai jenis substansi mediator inflamasi, seperti sitokin (Djamal dan Winiati, 1999). Kemampuan dari sel sel efektor untuk melepaskan mediator inflamasi dapat dihambat ataupun didorong oleh bahan-bahan imunomodulator, yaitu immunosupresor dan juga immunostimulator yang dapat diperoleh dari dalam maupun dari luar tubuh (Wagner, 1990).

Imunomodulator adalah substansi atau senyawa yang dapat menstimulasi, menekan atau memodulasi komponen sistem imun (sistem kekebalan) tubuh (Patil, 2012). Imunomodulator mempunyai fungsi menjaga sistem imun agar tubuh dapat bertahan terhadap serangan agen berbahaya seperti bakteri *B. cereus* (Yusni, 2015; Kusdalinah dan Johan, 2014). Masyarakat pada umumnya menggunakan agen

sintetis untuk meningkatkan fungsi fagositosis makrofag seperti, Levamisol dan Isopirin (Karnen dalam Djajakusumah, 2010; Gunawan, 2011). Namun kekurangan dari agen sintesis dalam bentuk paten yang telah beredar dipasaran dari segi harga masih terbilang mahal dan mayoritas diimpor dari luar negeri (Bellanti, 1993).

Disamping itu kesadaran masyarakat akan manfaat obat herbal sekarang semakin meningkat dan berkembang. Terdapat sediaan fitofarmaka yang sudah mudah dijumpai masyarakat di pasaran dan memiliki khasiat sebagai immunomodulator yaitu dengan komposisi ekstrak meniran. Selain itu, salah satu bahan alam lainnya yang berpotensi menjadi immunomodulator adalah kopi (Haque *et al.*, 2013). Masyarakat Indonesia memiliki kebiasaan minum kopi sejak jaman dahulu kala dan sudah dilakukan secara turun temurun. Faktor lain yang mendukung hal tersebut karena kopi merupakan salah satu komoditas pertanian utama di Indonesia. Salah satu jenis kopi yang banyak di budidayakan adalah kopi robusta. Lebih dari 90% lahan di Indonesia ditanami oleh kopi robusta serta produk kopi instan yang banyak beredar dipasaran yaitu kopi robusta (Subandi, 2011).

Hal tersebut dapat dijadikan referensi untuk memperbaiki kualitas hidup melalui pendekatan pada kebiasaan masyarakat Indonesia dalam mengonsumsi kopi. Perbaikan kualitas hidup yang dimaksud, kaitannya dengan kandungan senyawa dalam kopi yaitu polifenol, *caffein*, dan flavonoid berpotensi menjadi agen immunomodulator (Haque, 2013; Capek, 2014). Polifenol yang terkandung dalam daun kopi robusta yaitu asam klorogenat dan asam hidrosinamat, serta kafein berfungsi sebagai antioksidan dan immunomodulator (Bhuvanewari *et al.*, 2014; Sung dan Lee, 2014).

Hal tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh (Noviga *et al.*, 2011) bahwa rebusan daun kopi robusta dapat meningkatkan aktivitas fagositosis sel monosit dengan bantuan antioksidan. Antioksidan diperlukan untuk menstabilkan (*Reactive Oxidative Species*) ROS yang dihasilkan dari proses seluler seperti fagositosis, akibatnya dapat mencegah kerusakan dan meningkatkan ketahanan sel makrofag dari patogen. Sehingga makrofag dapat menjalankan fungsinya dengan lebih maksimal (Percival 1998; Birben *et al.*, 2012).

Clifford dan Balyaya (1999) menyebutkan bahwa setiap 200 ml cangkir kopi robusta mengandung 70-350 mg asam klorogenat, yang merupakan turunan senyawa asam hidroksisinat (*caffein*, asam kafeat, asam klorogenat, kumari, ferulik, dan sinapik). Asam hidroksisinat dan asam klorogenat merupakan polifenol yang memberikan kontribusi signifikan terhadap asupan polifenol total pada kopi robusta (Minamisawa *et al.*, 2004). Penelitian lain yang dilakukan oleh Asti (2015), menyatakan bahwa ekstrak etanol biji kopi robusta dengan konsentrasi 25% dan 50% berpengaruh dalam meningkatkan aktivitas fagositosis sel monosit secara *in vitro*. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Budirahardjo (2016) seduhan biji kopi robusta mengandung flavonoid yang dapat meningkatkan aktivitas fagositosis sel monosit (secara *in vitro*) dan berpotensi menjadi imunomodulator terhadap *S. mutans* yang menyebabkan karies pada gigi (secara *in vivo*).

Pada umumnya, kopi disajikan dalam bentuk yang sudah siap minum dengan atau tanpa bahan aditif. Keberagaman bahan aditif yang ditambahkan pada kopi juga berpengaruh pada kandungan polifenolnya. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Putri (2017), aneka sajian minuman kopi robusta memiliki kadar polifenol yang bermakna, dan kandungan polifenol paling tinggi yaitu pada sajian kopi robusta + gula + krimer.

Sejauh ini masih belum ada penelitian tentang pengujian imunomodulator dari aneka sajian minuman kopi robusta. Salah satu cara mengetahui kemampuan tersebut adalah dengan mengamati aktivitas dan kapasitas fagositosis dari sel makrofag. Berdasarkan penjelasan diatas penulis tertarik untuk meneliti potensi imunomodulator aneka sajian minuman kopi robusta yaitu kopi robusta murni; kopi robusta + gula; kopi robusta + gula + susu; serta kopi robusta + gula + krimer terhadap aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag yang diinduksi oleh *B. cereus*.

## 1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah pada penelitian ini yaitu sebagai berikut :

- a. Bagaimana perbedaan aktivitas fagositosis sel makrofag pada aneka sajian minuman kopi robusta?
- b. Bagaimana perbedaan kapasitas fagositosis sel makrofag pada aneka sajian minuman kopi robusta?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk menjawab beberapa rumusan masalah yaitu sebagai berikut :

- a. Mengetahui perbedaan aktivitas fagositosis sel makrofag pada aneka minuman kopi robusta.
- b. Mengetahui perbedaan kapasitas fagositosis sel makrofag pada aneka minuman kopi robusta.

## 1.4 Manfaat Penelitian

- a. Sebagai pertimbangan dalam bidang kefarmasian mengenai upaya pencegahan dengan pendekatan pada kebiasaan masyarakat Indonesia dalam mengonsumsi kopi yang memiliki efek meningkatkan aktivitas dan kapasitas sel makrofag terhadap agen penginfeksi.
- b. Sebagai pengetahuan kepada masyarakat bahwa aneka sajian minuman kopi robusta mengandung polifenol yang bermakna sehingga dapat menjadi alternatif untuk meningkatkan ketahanan sistem imun dari agen penginfeksi.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Kopi

Tanaman kopi diketahui salah satu jenis tanaman tropis. Tanaman ini tidak dapat tumbuh di tempat yang terlalu tinggi dengan temperatur sangat dingin ataupun daerah tandus yang tidak cocok bagi kehidupan tanaman. Secara umum Indonesia memiliki 3 jenis kopi yang paling banyak dikembangkan, yaitu kopi arabika, kopi robusta, dan kopi liberika. Kopi arabika merupakan kopi yang banyak diproduksi di dunia karena memiliki ukuran yang lebih besar dan memiliki aroma yang lebih harum, akan tetapi tanaman kopi arabika tidak tahan terhadap perubahan musim, penyakit karat daun, dan tumbuh pada ketinggian 1000-2100 meter di atas permukaan laut (dpl) (Pangabean, 2011).

Cita rasa biji kopi robusta dibawah dari biji kopi arabika, akan tetapi tanaman kopi robusta dapat tumbuh pada ketinggian 100 m dpl sehingga lebih mudah beradaptasi dan tahan terhadap penyakit karat daun, serta biji kopi yang dihasilkan lebih banyak (Prastowo *et al.*, 2010). Dari uraian diatas, dapat menjadi alasan perkebunan kopi di Indonesia didominasi kopi robusta. Sekitar 90% areal perkebunan untuk budidaya tanaman kopi robusta dan sisanya untuk tanaman kopi arabika (Rahardjo, 2012).

#### 2.1.2 Taksonomi Kopi Robusta (*Coffea canephora*) (ITIS, 2014)

Taksonomi tanaman kopi robusta yaitu :

Kingdom	: <i>Plantae</i> (tumbuhan).
Subkingdom	: <i>Viridiplantae</i> (tanaman hijau).
Infrakingdom	: <i>Streptophyta</i> (tumbuhan darat).
Superdivision	: <i>Embryophyta</i>
Division	: <i>Tracheophyta</i> (tumbuhan berpembuluh).
Subdivision	: <i>Spermatophytina</i> (tumbuhan penghasil biji).
Class	: <i>Magnoliopsida</i> (tumbuhan berkeping dua).
Superorder	: <i>Asteranae</i>

Order	: <i>Gentianales</i> (tumbuhan berbunga).
Family	: <i>Rubiaceae</i> (suku kopi-kopian).
Genus	: <i>Coffea L.</i> (kopi).
Spesies	: <i>Coffea canephora var.</i>

### 2.1.3 Morfologi Tanaman Kopi Robusta (*Coffea canephora*)

Tanaman kopi robusta termasuk tanaman berkeping dua (dikotil), berakar tunggang. Bentuk dari daun kopi secara umum seperti telur, terdapat garis ke samping, bergelombang dan meruncing pada ujungnya. Tekstur dan ketebalan daun kopi robusta lebih tebal dibandingkan kopi jenis arabika. Warna daun hijau agak terang. Setiap ketiak daun menghasilkan 8-24 kuntum bunga, kelopak bunga berwarna hijau, mahkota bunga 3-8 helai. Buah kopi yang masih mentah berwarna hijau muda, setelah itu berubah menjadi hijau tua, lalu kuning. Apabila buah kopi (Gambar 2.1) sudah matang maka berwarna merah dan merah tua. Ukuran panjang kopi robusta 8-16 mm (Panggabean, 2011). Produksi kopi robusta mencapai 800-1200 kg/hektar/tahun.

Karakteristik fisik biji kopi robusta (Gambar 2.1) sebagai berikut:

- Rendemen kopi robusta lebih tinggi dibandingkan rendemen kopi arabika
- Biji kopi sedikit bulat
- Lengkungan biji tebal
- Garis tengah parit dari atas ke bawah agak rata
- Biji yang sudah diolah, tidak terdapat kulit ari dilekukan atau bagian parit

(Panggabean, 2011).



Gambar 2.1 Buah tanaman kopi robusta (*Coffea canephora*) dan biji kopi robusta (Panggabean, 2011)

#### 2.1.4 Kandungan Kopi Robusta

Komposisi kimia dari biji kopi bergantung pada spesies dan varietas dari kopi tersebut serta faktor-faktor lain yang mempengaruhi, yaitu : lingkungan tempat tumbuh, tingkat kematangan, kondisi penyimpanan, dan proses pengolahan (penyangraian). Kopi robusta memiliki banyak kandungan kimia pada bijinya (Tabel 2.1) seperti karbohidrat, senyawa nitrogen (protein, asam amino bebas, kafein, trigonelin), lemak (minyak kopi, diterpen), mineral, dan polifenol (asam klorogenat) (Farah, 2012).

Tabel 2.1 Komposisi kimia pada kopi (% masa kering)

Komponen	Arabica	Sangrai arabika	Instan arabica	Robusta	Sangrai robusta	Instan robusta
Lemak	3,0 – 4,2	3,5-4,5	0,11	4,0-4,5	4,6-5	0,26
Kafein	9,0 – 1,2	1,0	2,5	1,6-2,4	2	3,8
Trigonelin	1,0 – 1,2	0,5-1,0	0,7	0,6-0,75	0,3-0,6	0,4
Karbohidrat	12–18	14,5-20	46,6	9-13	11-16	44,7
Asam klogenat	5,5-8,0	1,2-2,3	2,6	7-10	3,9-4,6	1,6
Asam amino	1,5-2,0	1,-1,5	6,2	1,5-1,2	1,-1,5	6
Melanoidins	6,0-8,0	0-3,5	25,1	5-7	0-3,5	28,6
Asam organik	2,0	0	8,1	-	0	7,9
Minerals	11-13	13-15	8	-	13-15	7,4

Sumber : Leloup, 2006; Illy, 1995 dalam Janzen 2013

Senyawa-senyawa yang terkandung dalam biji kopi robusta ini memiliki manfaat tertentu seperti asam klorogenat, kafein, trigonelin dan diterpen memiliki peranan penting untuk menghasilkan aroma pada minuman kopi. Selain itu, senyawa fenolik yang terkandung dalam biji kopi robusta seperti asam klorogenat memiliki efek antifungi, antivirus, antioksidan, antiinflamasi, dan efek antibakteri (Amiliyah *et al.*, 2015).



## 2.2 Aneka Sajian Minuman Kopi Robusta

Budaya minum kopi saat ini menjadi tren di berbagai negara, di daerah, maupun di pusat-pusat kota, yang mana bermunculan berbagai menu sajian kopi yang siap untuk dinikmati. Di kalangan pencintanya, kopi menjadi minuman yang memiliki cita rasa yang berbeda-beda dan salah satunya mereka dimanjakan dengan cita rasa kopi robusta. Terdapat banyak cara dalam mengolah minuman kopi robusta, dari cara tradisional seperti diseduh hingga menggunakan teknologi modern yaitu mesin pengolahan kopi bertekanan tinggi. Permintaan konsumen akan produk kopi yang diinginkan sangat tergantung pada kualitas produk, jenis kopi, kualitas kopi, cara pengolahan, komposisi campuran, dan bahan aditif (Nurhayati,2010). Bahan aditif yang biasa ditambahkan pada racikan kopi yaitu :

### a. Gula Pasir

Gula adalah suatu karbohidrat sederhana karena dapat larut dalam air dan langsung diserap tubuh untuk diubah menjadi energi Darwin (2013). Gula merupakan suatu karbohidrat sederhana yang umumnya dihasilkan dari tebu dan mengandung sukrosa. Menurut Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia (2015), terdapat berbagai macam gula yaitu (1) gula pasir, (2) gula putih lunak, (3) gula merah lunak, (4) gula aren. Gula pasir adalah salah satu bahan yang sering ditambahkan pada kopi karena selain mudah untuk didapatkan dan dapat mengurangi rasa pahit pada kopi, gula memiliki zat gizi seperti pada Tabel 2.2

Tabel 2.2 Komposisi zat gizi gula pasir (per 100 g berat bahan)

Zat gizi	Jumlah
Energi (kkal)	364
Protein (g)	0
Lemak (g)	0
Karbohidrat (g)	94
Kalsium (mg)	5
Fosfor (mg)	1

Sumber : Darwin, 2013

## b. Susu

Susu merupakan emulsi lemak dalam air yang mengandung gula, garam-garam, mineral, dan protein dalam bentuk koloid (Buckle *et al.*, 1987). Protein di dalam susu membuat air dan lemak tidak mudah terpisah. Air dalam susu berfungsi sebagai pelarut dan membentuk suatu emulsi, suspensi koloidal. Susu merupakan makanan alami hampir sempurna. Sebagian zat gizi esensial ada dalam susu, diantaranya sumber kalsium, fosfor, dan vitamin A dan tiamin (vitamin B) (Almatsier, 2002).

Kandungan yang terdapat pada susu diantaranya air 87,5%, gula susu (laktosa) 5%, protein 3,5%, dan lemak 3-4% (Widodo, 2004). Menurut Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia (2015), terdapat berbagai macam susu yaitu (1)susu skim bubuk, (2)susu bubuk berlemak (*full cream*), (3)susu bubuk rendah lemak dan susu bubuk kurang lemak, (4)susu kental. Susu skim bubuk merupakan produk susu yang berbentuk bubuk yang sebagian besar lemaknya dihilangkan dengan proses pengeringan pasteurisasi.

Kadar lemak untuk susu skim bubuk yaitu tidak lebih dari 1,25% dan kadar proteinnya tidak kurang dari 2,7%. Kebiasaan minum susu secara rutin akan memberikan dampak positif bagi kesehatan terutama kesehatan tulang karena susu mengandung kalsium yang sangat bermanfaat untuk pertumbuhan tulang dan mencegah kerapuhan tulang (osteoporosis) (Mulijanti dan Sugandi, 2010).

## c. Krimer atau *non dairy creamer*

Krimer atau *non dairy creamer* merupakan produk dari emulsi lemak dalam air terbuat dari minyak nabati yang dihidrogenasi. Bentuk dari krimer biasanya cair atau bubuk (Gardiner, 1977). Kandungan krimer yaitu lemak, protein, dan karbohidrat. Kelebihan krimer dibandingkan dengan susu yaitu tidak mengandung laktosa karena terbuat dari minyak nabati atau minyak kelapa sawit dan minyak palem (Herbst, 1995). Sehingga penggunaan krimer sangat aman untuk penderita *lactose intolerance*. Selain itu harga dari bahan baku krimer lebih murah dibandingkan dengan susu (Putri dkk., 2015). Krimer biasa ditambahkan pada kopi atau teh untuk menambahkan cita rasa gurih, karena krimer mengandung lemak. Krimer memiliki komposisi berupa karbohidrat, protein, dan lemak (Tabel 2.3).

Tabel 2.3 Kandungan krimer nabati dalam 100 g

Jenis nutrisi	Nilai nutrisi
Energi	500 kkal
Karbohidrat	50 g
Protein	0 g
Total lemak	25 g

Sumber : USDA National Nutrient Data Base 2016 ([www.ndb.nal.usda.gov](http://www.ndb.nal.usda.gov))

### 2.2.1 Potensi Kopi

Menurut penelitian yang dimuat dalam *journal of neurology, neurosurgery and psychiatry* (2002) kopi dapat menimbulkan efek ketergantungan, meningkatkan resiko stroke, meningkatkan resiko terjadinya kerusakan dinding pembuluh darah, insomnia, mudah gugup, sakit kepala, merasa tegang. dan cepat marah. Kopi juga berpotensi memunculkan perasaan segar, sedikit gembira, mata terbuka lebar, jantung berdetak lebih kencang, tekanan darah naik, otot-otot berkontraksi dan hati akan melepas gula ke aliran darah yang akan membentuk energi ekstra. Hal tersebut karena adanya kandungan kafein didalam kopi Utami (2011).

Kopi berefek secara psikologis dan fisik, serbuk kopi robusta juga dapat mempercepat penyembuhan luka pada kelinci, hal tersebut telah dibuktikan oleh Arto (2015). Penelitian lain dilakukan oleh Muslim (2017) dan Tanauma (2017). Ekstrak daun dan biji kopi robusta mengandung polifenol sehingga memiliki kemampuan sebagai antimikroba dan antibakteri terhadap *Escheria coli*. Pernyataan tersebut juga sejalan dengan kemampuan ampas bubuk kopi robusta dan seduhan biji kopi robusta dapat menjadi antioksidan dengan cara mempertahankan bentuk suatu sel monosit (Lingga, 2012; Budirahardjo, 2016).

Selain itu ekstrak biji kopi robusta dapat meningkatkan aktivitas fagositosis sel monosit yang dipapar *Candida albicans* secara in vitro (Dewi, 2016; Asti, 2011). Seduhan biji kopi robusta juga dapat meningkatkan aktivitas fagositosis sel monosit yang dipapar *Streptococcus mutans* secara in vitro, dilanjutkan penelitiannya hingga in vivo menggunakan mencit dan didapatkan suatu kesimpulan biji kopi robusta memiliki potensi sebagai imunomodulator terhadap *Streptococcus mutans*

(Budirahardjo, 2016). Mekanismenya yaitu polifenol dapat meningkatkan produksi sitokin dan menstimulasi produksi IL-1 $\alpha$ , TNF- $\alpha$ , dan IFN- $\gamma$  sehingga dapat membantu proses fagositosis.

### 2.3 Immunomodulator

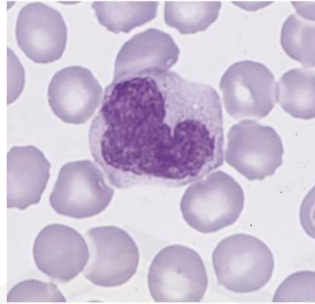
Sistem imun adalah sistem pertahanan pertama makhluk hidup dari agen patogen atau agen asing. Hal ini menghasilkan berbagai sel imun yang mampu mengenali dan menghilangkan patogen atau agen asing yang tidak diinginkan. Modulasi sistem kekebalan menunjukkan adanya perubahan pada respon imun yang dapat melibatkan induksi, ekspresi, amplifikasi atau penghambatan setiap bagian atau fase respon imun.

Dengan demikian, immunomodulator adalah zat yang dapat mempengaruhi sistem imun dengan berperan memperbaiki ketidakseimbangan imun. Cara kerja Immunomodulator meliputi mengembalikan fungsi imun yang terganggu (imunorestorasi), memperbaiki fungsi sistem imun (imunostimulasi) dan menekan respons imun (imunosupresi) (Saroj,2012).

Sistem imun terdiri atas imunitas nonspesifik dan spesifik yang bekerja sama dalam mempertahankan keseimbangan system imun yang ada di dalam tubuh. Penyembuhan infeksi akan lebih cepat bila fungsi sistem imun tubuh ditingkatkan. salah satu senyawa yang dapat memacu sistem imun nonspesifik (makrofag, sel NK) dan sistem imun spesifik (proliferasi sel T, sel B dengan memproduksi antibodi) serta sitokin.

#### 2.3.1 Makrofag

Salah satu sasaran sel imun yang pada umumnya ditingkatkan kemampuannya untuk melawan agen asing dan patogen adalah sel makrofag. Makrofag berukuran 10 – 30  $\mu\text{m}$ , bentuk tidak teratur, inti lonjong atau bentuk ginjal atau berbentuk seperti tapal kuda (Horseshor like), berukuran 6 – 12  $\mu\text{m}$  dengan letak eksentrik, mengandung granula azurofilik (Efendi, 2005). Morfologi makrofag dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Makrofag dengan pengecatan Giemsa pembesaran 40x. (Hrčková dan Velebny, 2016)

Makrofag berasal dari monosit darah yang meninggalkan sirkulasi untuk berdiferensiasi di berbagai jaringan, dapat berpoliferasi secara lokal. Makrofag akan bermigrasi dan beredar di hampir setiap jaringan, berpatroli untuk mendeteksi patogen atau menghilangkan sel-sel mati (Gordon dan Taylor, 2005). Makrofag berperan dalam rangkaian proses sistem kekebalan tubuh. Tugas utama makrofag yaitu mendeteksi, memfagositosis, dan menghancurkan bakteri serta agen penyebab infeksi (Morrissette, 1999). Makrofag mampu mendeteksi produk bakteri dan mikroorganisme lainnya dengan menggunakan sistem reseptor pengenalan seperti reseptor Toll-like (TLRs). Reseptor ini dapat mengikat secara khusus ke berbagai komponen patogen seperti protein gula, RNA, DNA atau ekstraseluler (misalnya flagela dari flagela bakteri). Selain itu, tugas makrofag yaitu sebagai penyaji antigen ke sel T dan memulai peradangan dengan melepaskan senyawa mediator inflamasi seperti sitokin sehingga dapat mengaktifkan sel imun yang lain (Saldana, 2012).

Terdapat perbedaan pada setiap tempat menetapnya makrofag. Adanya perbedaan tempat menetap makrofag, dapat menyebabkan tingkat kespesialisasi makrofag dalam menyerang pathogen. perbedaan ini tercermin dalam morfologi mereka, jenis patogen yang dapat mereka kenali, serta tingkat sitokin inflamasi yang mereka hasilkan (yaitu IL-1, IL-12, IL-6, tumor necrosis factor alpha). Selain itu, dalam proses fagositosis makrofag akan menghasilkan spesies oksigen reaktif, seperti Nitrat Oksida (NO). NO merupakan sebagai produk biokimia hasil metabolisme proses fagositosis dan dapat membunuh bakteri atau agen asing, akan tetapi apabila jumlahnya berlebihan maka dapat merusak sel makrofag itu sendiri.

Tabel 2.4 Lokasi Dan Fungsi Populasi Makrofag

Tipe makrofag	Lokasi	Fungsi
Makrofag alveolar	Paru-paru	Memfagositosis partikel kecil, sel mati atau bakteri. Menginisiasi dan mengontrol imunitas dari patogen respirasi.
Sel kupper	Hati	Menginisiasi respon imun dan remodelling jaringan hati.
Osteoclast	Tulang	Membantu dalam pembentukan tulang.
Microglia	Otak	Menghilangkan sel saraf tua atau mati dan mengontrol imunitas di otak.
Makrofag limpa	Limpa zona marginal	Menghilangkan sel darah merah yang rusak atau tidak berfungsi

Sumber : Varol, 2015

### 2.3.2 Fagositosis Makrofag

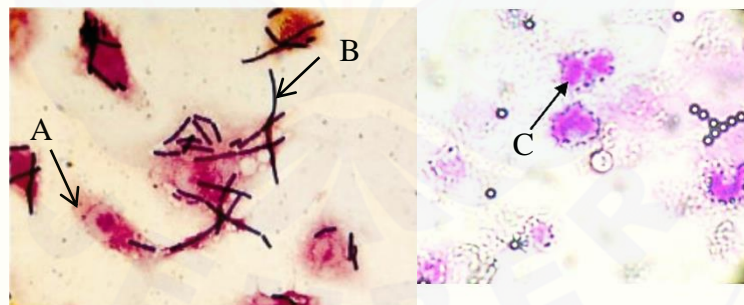
Makrofag memiliki kemampuan untuk melawan atau membunuh benda asing didalam tubuh dengan cara fagositosis. Fase fagositosis secara garis besar terdiri dari 3 tahap, yaitu pengenalan dan pengikatan benda asing (*kemotaksis* dan *adhesi*), penelanan (*ingestion*), dan pencernaan (*degranulasi*). Setelah benda asing ditelan, membran makrofag akan menutup, kemudian partikel tersebut digerakkan ke dalam sitoplasma sel dan akan terbentuk vakuola fagosit (fagosom). Selanjutnya lisosom yang merupakan kantung-kantung yang berisi berbagai jenis enzim bersatu dengan fagosom membentuk fagolisosom. Pada fase tersebut terjadilah pencernaan intraseluler (Abbas, 2000).

Makrofag memiliki 2 proses penting untuk melawan benda asing atau patogen, yaitu : makrofag sebagai APC (Anti gen presenting cell) dan makrofag melakukan fagositosis secara langsung. Proses pertama, makrofag berfungsi sebagai APC akan diaktivasi oleh IFN- $\gamma$  (Interferon-  $\gamma$ ). Setelah makrofag mengalami aktivasi, makrofag akan mempresentasikan benda asing atau patogen pada sel Th. Setelah itu makrofag akan mensekresikan sitokin yang berfungsi

mengaktifkan sel-sel makrofag yang lain untuk melawan patogen. Sehingga peran makrofag disini hanya sebagai APC dan tidak melawan benda asing atau patogen secara langsung (Khairinal, 2012).

Proses yang kedua adalah makrofag melakukan fagositosis secara langsung. Hal pertama yang dilakukan adalah aktivasi makrofag oleh MAF (Macrophage Activating Factor), makrofag akan berikatan dengan benda asing atau patogen tersebut. Makrofag dapat berikatan dengan benda asing atau patogen tersebut karena adanya reseptor Fc- $\gamma$  dari IgG. Makrofag dan IgG akan bekerjasama melisiskan patogen. Makrofag yang sudah teraktivasi akan akan mensekresikan IL-12 (Interleukin-12) yang akan memicu proliferasi dan aktivasi dari sel CD<sub>4</sub><sup>+</sup>, CD<sub>8</sub><sup>+</sup> (sel T), NK, dan TNF (Tumor Necrosis Factor).

Fungsi TNF disini adalah untuk memicu berbagai respon imun seperti enzim lisosom, metabolit reaktif terhadap oksigen dan aktivitas NO (Nitrogen Oksida) terhadap benda asing atau patogen sehingga menyebabkan patogen mengalami kematian. Sisa-sisa hasil lisis tersebut nantinya akan difagositosis kembali oleh makrofag (Muryanto, 2007). Makrofag yang ada di peritoneal mencit melakukan fagositosis dapat dilihat pada Gambar 2.3.



Gambar 2.3 (A)Makrofag peritoneum mencit yang mengfagositosis *B. anthracis* secara in vitro dengan dengan pewarnaan Giemsa (perbesaran 1000x) (B)Bakteri *B.anthraxis* (Dixon, 2000) (C)Makrofag dalam keadaan tidak memfagositosis (Widjaja, 2004)

### 2.3.3 Metode Uji Aktivitas Imunomodulator

Untuk mengetahui suatu senyawa dapat menjadi imunomodulator adalah dengan beberapa metode pengujian yang dapat dilakukan secara in vitro dan in vivo, dengan mengukur pengaruh senyawa kimia terhadap fungsi dan kemampuan

sel imun yaitu (1) metode bersihan carbon, (2) uji granulosit, (3) bioluminensi radikal, (4) uji transformasi limfosit T, (5) aktivitas dan kapasitas makrofag dari peritonium.

Salah satu ciri sel makrofag dapat dilihat dari kapasitas fagositosisnya. Makrofag dapat menelan sejumlah besar partikel asing atau bakteri. Sel makrofag melapisi permukaan benda asing oleh opsonin sejenis enzim dari IgG, permukaan itu dikenali oleh sel imun yang lainnya dan akan menelannya. Kapasitas makrofag untuk fagositosis dibatasi oleh jumlah reseptor fagositik yang ada, dan ketika semuanya telah diinternalisasi atau dihentikan, fagositosis berhenti. Fagositosis akan berhenti apabila terdapat tanda lainnya seperti, beberapa struktur seluler akan berubah selama proses fagositosis hingga mendekati ambang batas, dan ambang batas tersebut menentukan kenyangnya sel makrofag (Gregory dan Canon, 1992).

Aktivitas fagositosis sel makrofag berguna untuk mengetahui gambaran aktivasi fungsi (perubahan aktivitas fungsional) sel makrofag selama adanya infeksi dari agen asing. Sedangkan untuk kapasitas fagositosis berguna untuk mengetahui kemampuan maksimal dari sel makrofag untuk memfagositosis agen asing atau patogen (Wijayanti, 1999). Cara untuk menentukan aktivitas dan kapasitas fagositosis dari sel makrofag dapat menggunakan rumus berikut (Sheehan dan Hrapchak, 1980; Bancroft dan Stevans, 1982)

$$\text{aktivitas fagositosis (\%)} = \frac{\text{jumlah sel makrofag yang aktif memfagositosis} \times 100\%}{\text{jumlah sel makrofag aktif seluruhnya}}$$

$$\text{kapasitas fagositosis (IP)} = \text{Jumlah Bacillus cereus dalam 50 makrofag aktif}$$

#### 2.3.4 *Bacillus cereus*

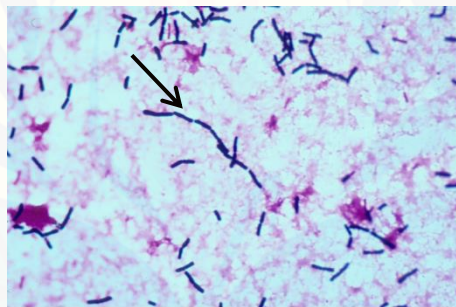
Infeksi merupakan proses invasi dan multiplikasi berbagai mikroorganisme ke dalam tubuh (seperti bakteri, virus, jamur, dan parasit), yang dalam keadaan normal, mikroorganisme tersebut tidak terdapat di dalam tubuh. Sebenarnya, di beberapa tempat dalam tubuh kita pun, seperti di dalam mulut atau usus, terdapat banyak mikroorganisme yang hidup secara alamiah dan biasanya tidak menyebabkan infeksi. Namun, pada kondisi tertentu, beberapa mikroorganisme



tersebut juga dapat menyebabkan penyakit. Salah satu contoh bakteri yang dapat menyebabkan infeksi adalah *Bacillus cereus*.

a. Karakteristik *Bacillus cereus*

Genus *Bacillus* merupakan bakteri gram positif yang dapat membentuk spora. Kelompok *Bacillus cereus*, terdiri dari *B. cereus*, *B. thuringiensis*, *B. mycooides*, *B. Pseudomycooides*, *B. anthracis*, dan *B. weihenstephanensis*. *Bacillus cereus* berbentuk batang ramping lurus atau sedikit melengkung dengan ujung persegi tunggal atau rantai pendek, aerobik fakultatif, berukuran besar (luas permukaan sel > 0,9 μm), terdistribusi di lingkungan secara luas, dan memiliki hubungan fenotipik genetik (16S rRNA) yang dekat dengan beberapa spesies *Bacillus* lainnya, terutama *B. anthracis* (Hart dan Shears, 1996; Labbé dan García, 2001). Morfologi *B. cereus* ditunjukkan oleh Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Morfologi *B.cereus* dengan pewarnaan Giemsa (40x) (J.Edward, 2010)

Di dalam tubuh manusia, *B. cereus* dapat berbentuk spora atau sel vegetatif. Spora dari *B. cereus* terdiri dari inti yang dikelilingi oleh membran dalam, korteks, dan mantel dalam dan luar. Meskipun tidak memiliki aktivitas metabolik, spora *B. cereus* tahan terhadap kondisi lingkungan yang ekstrim termasuk panas, pembekuan, pengeringan, dan radiasi, sehingga dapat dianggap sebagai agen infeksius bakteri ini (J. Edward, 2010).

b. Taksonomi *Bacillus cereus*

Taksonomi dari *Bacillus cereus* sebagai berikut (Frankland, 1887):

Kingdom : Bacteria

Filum : Firmicutes

Kelas : Bacilli  
Ordo : Bacillales  
Famili : Bacillaceae  
Genus : Bacillus  
Spesies : *Bacillus cereus*.

### c. Patogenesis *Bacillus cereus*

*Bacillus cereus* merupakan salah satu jenis bakteri dari genus *Bacillus* yang diketahui merupakan patogen bagi manusia dan hewan, penyebab *foodborne diseases* dan infeksi oportunistik (meningitis, pneumonia, Infeksi saluran kencing, infeksi saluran pencernaan, dll). *Bacillus cereus* sudah lama diketahui sebagai penyebab keracunan pangan, yang dicirikan dengan diare dan sakit perut, muntah-muntah dan pusing (J. Edward, 2010). Bakteri ini menghasilkan beberapa jenis enterotoksin yang bertanggung jawab terhadap penyebab dari keracunan makanan, seperti Hemolisis BL (HBL), enterotoksin nonhemolisis (NHE), enterotoksin T, Haemolisin II, dan sitotoksin K (Kotiranta dkk., 2000).

Enterotoksin NHE biasanya ditemukan pada makanan yang kematangannya tidak sempurna, dan apabila tertelan akan menimbulkan reaksi muntah. HBL merupakan toksin yang menyebabkan diare dan dapat ditemukan pada usus halus (Ceuppens *et al.*, 2013). *Bacillus cereus* juga memiliki persyaratan khusus untuk dapat tumbuh, jika kondisi lingkungan tidak sesuai untuk pertumbuhannya maka *Bacillus cereus* segera melindungi diri terhadap kondisi tersebut dengan cara membentuk spora (Harianja, 2009).

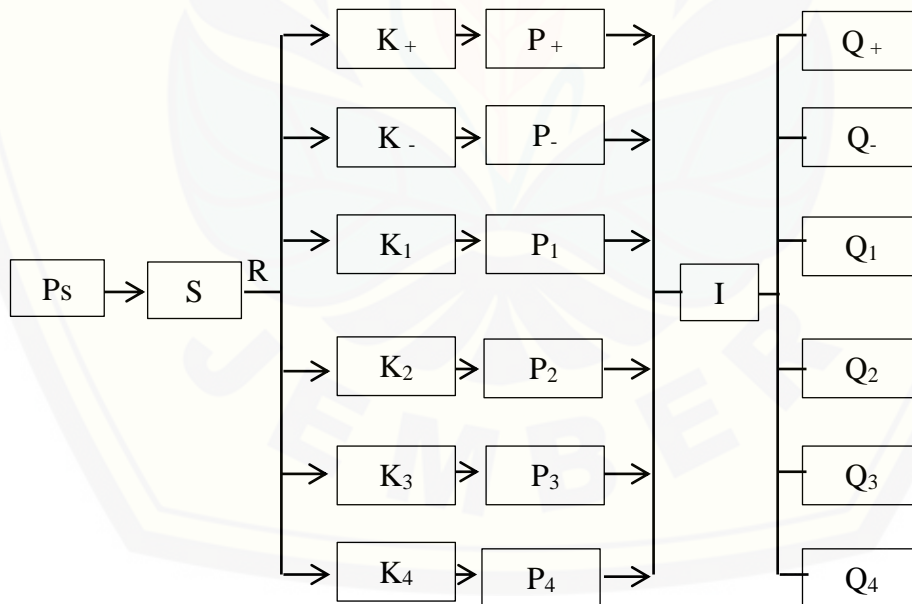
### BAB 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini untuk mengetahui aktivitas fagositosis dan kapasitas fagositosis pada aneka sajian kopi robusta (*Coffea canephora*) menggunakan jenis penelitian eksperimental laboratoris secara *in vivo*.

#### 3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang dilakukan pada penelitian ini adalah *PostTest Only Control Group Design* yang bertujuan untuk menguji pengaruh perlakuan pada kelompok eksperimen dan membandingkan dengan kelompok kontrol. Rancangan penelitian ini terbagi atas kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Kelompok kontrol dan kelompok perlakuan diukur nilai aktivitas dan kapasitas makrofag. Rancangan penelitian ditunjukkan Gambar 3.1



Gambar 3.1 Rancangan Penelitian

Keterangan :

- Ps = Populasi  
S = Sampel  
R = Randomisasi  
K = Kelompok  
P = Perlakuan  
I = Induksi dengan bakteri *Bacillus cereus*  
Q = Hasil setelah diinduksi bakteri *Bacillus cereus*  
+ = kelompok kontrol positif (sediaan fitofarmaka Ekstrak meniran)  
- = kelompok kontrol negatif (aquades)  
1 = kopi robusta murni.  
2 = kopi robusta + gula.  
3 = kopi robusta + gula + susu.  
4 = kopi robusta + gula + krimer.

### 3.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di laboratorium Farmakologi dan Mikrobiologi Fakultas Farmasi Universitas Jember. Waktu pelaksanaannya dimulai pada Desember 2018 sampai selesai.

### 3.4 Alat dan Bahan

#### a. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah papan bedah, Pinset ujung tumpul, Gunting bedah, *Syringe* (OneMed), Objek glass, *Coverslip*, Pipet mikro (Socorex), Pipet tetes, *Mikrotube* (Appendorf), *Yellow tip*, *Blue tip*, *Vortex*, *ballfiller*, Termometer, Mikroskop *inverted* (Olympus), LAF (*Laminar Air Flow*) (*Airtech*), Ose, Autoklaf (ALP), Sentrifuge, Spirtus, Neraca analitik (*Adventurer™ Ohaus*), *Hot plate* (*Ika C Mag*), Spatula logam, Inkubator (*Clifton*), Spektrofotometer UV-Vis (*Genesys 10S*), dan seperangkat alat gelas (Pyrex).

## b. Bahan

Kopi robusta yang berasal dari Cafe Rolas PT. Perkebunan Nusantara XII, Krimer, Gula pasir, Susu bubuk skim, Suspensi *B. cereus* ATCC 11778, Kloroform, Alkohol 70%, Giemsa 1%, Aquades, Medium Nutrient Agar (NA), NaCl 90%, PBS (*Phospat Buffer Saline*), Ekstrak meniran (produk fitofarmaka).

## 3.5 Variabel Penelitian

### 3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dari penelitian ini adalah aneka sajian minuman kopi robusta Lanang Malang Sari dari Cafe Rolas PT. Perkebunan Nusantara XII, yakni kopi robusta murni; kopi robusta dengan penambahan gula; kopi robusta dengan penambahan gula dan susu; kopi robusta dengan penambahan gula dan krimer.

### 3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat disini yaitu persentase aktivitas sel makrofag dan kapasitas sel makrofag yang memfagosit *B. cereus*.

### 3.5.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dari penelitian ini adalah hewan coba, prosedur, media pembiakan *B. cereus*, dan teknik perhitungan sel makrofag yang memfagositosis *B. cereus*.

## 3.6 Definisi Operasional

Berikut Definisi operasional dari penelitian adalah :

- a. Aneka sajian minuman kopi robusta (*Coffea canephora*) adalah minuman yang dibuat dengan menyeduh bubuk (1) kopi robusta murni, (2) kopi robusta murni dengan penambahan gula, (3) kopi robusta murni dengan penambahan gula dan susu, dan (4) kopi robusta murni dengan penambahan gula dan krimer menggunakan air panas bersuhu 85°C.
- b. Nilai aktivitas fagositosis makrofag adalah jumlah sel makrofag yang secara aktif melakukan fagositosis terhadap *Bacillus cereus* dalam jumlah keseluruhan sel

makrofag (Wahyudi, 2010). Nilai aktivitas fagositosis berguna untuk mengetahui gambaran aktivasi fungsi (perubahan aktivitas fungsional) sel makrofag selama infeksi *B. Cereus* (Wijayanti, 1999).

- c. Nilai kapasitas fagositosis makrofag adalah jumlah bakteri *B. cereus* yang difagositosis oleh 50 sel makrofag aktif (Marusin, 2012). Nilai kapasitas fagositosis berguna untuk mengetahui kemampuan maksimal dari sel makrofag untuk memfagositosis *B. cereus* (Wijayanti, 1999).
- d. Bakteri yang digunakan adalah *Bacillus cereus* ATCC (*The American Type Culture Collection*) 11778 diperoleh dari laboratorim Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember.

### 3.7 Sampel Penelitian

Jumlah hewan coba dalam penelitian ini menggunakan rumus Federer, yaitu:

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

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

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

$$5n - 5 \geq 15$$

$$n \geq 4$$

Pada rumus tersebut, t adalah jumlah perlakuan dan n adalah banyaknya sampel tiap kelompok perlakuan. Dengan rumus ini didapat jumlah sampel untuk setiap kelompok perlakuan adalah minimal 4 sampel. Peneliti menggunakan 4 sampel pada setiap perlakuan dengan jumlah kelompok sebanyak 4 kelompok perlakuan, 1 kelompok kontrol positif dan 1 kelompok kontrol negatif. Sehingga seluruh subjek penelitian berjumlah 36 sampel.

### 3.8 Prosedur Penelitian

#### 3.8.1 Tahap Persiapan

- a. Peremajaan *Bacillus cereus* dan Pembuatan Suspensi *Bacillus cereus*

*Bacillus cereus* dibiakkan pada nutrient agar (NA) miring. Dari satu ose kultur *Bacillus cereus* diinokulasi ke dalam media NA miring, dengan cara

menggoreskan jarum ose yang mengandung bakteri *Bacillus cereus* secara aseptis yaitu dengan mendekatkan mulut tabung reaksi pada nyala api saat menggoreskan jarum ose. Setelah itu media agar miring dalam tabung reaksi ditutup rapat menggunakan plastik kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dalam inkubator. Hasil biakan murni bakteri diambil menggunakan ose secara aseptis dan disuspensikan dalam 10 ml NaCl fisiologis kemudian dihomogenkan dengan *vortex*. Larutan ini berfungsi sebagai biakan aktif. Kekeruhan dibandingkan dengan Mc Farland 0,5.

#### b. Preparasi Bahan Uji

Pada penelitian kali ini, bubuk kopi robusta (*Coffea canephora*) dibuat aneka sajian minuman kopi robusta. Preparasi bahan uji :

- (1) Sediaan 1: Dibuat dengan menimbang kopi robusta murni 3,75 g ditambahkan dengan aquades suhu 85°C sebanyak 50 ml, didiamkan selama 15 menit dan disaring.
- (2) Sediaan 2: Menimbang 3,75 g (kopi robusta murni) + 2,5 g (gula) ditambahkan dengan aquades suhu 85°C sebanyak 50 ml, didiamkan selama 15 menit, dan disaring.
- (3) Sediaan 3: Menimbang 3,75 g (kopi robusta murni) + 2,5 g (gula) + 1,5 g (susu) ditambahkan dengan aquades suhu 85°C sebanyak 50 ml, didiamkan selama 15 menit, dan disaring menggunakan kertas saring.
- (4) Sediaan 4: Menimbang kembali 3,57 g (kopi robusta murni) + 2,5 g (gula) + 1,5 g (krimer) ditambahkan dengan aquades suhu 85°C sebanyak 50 ml, didiamkan selama 15 menit, dan disaring menggunakan kertas saring.

Sedangkan pada kelompok kontrol positif akan diberikan ekstrak meniran (produk fitofarmaka) dengan kekuatan sediaan 25mg/25ml. Perhitungan selengkapnya dapat dilihat pada lampiran.

### 3.8.2 Uji Fagositosis Sel Makrofag

Pemberian aneka sajian minuman kopi robusta dilakukan secara per oral selama 8 hari sebelum mencit diinfeksi *B. cereus*. Pada hari ke-9 peritonium mencit disuntikkan suspensi *B. cereus* dalam NaCl fisiologis dengan volume 1 ml menggunakan *syringe*. Setelah 1 jam, mencit dibuat tidak sadarkan diri dengan dibius kloroform, diletakkan pada papan bedah dengan posisi terlentang dan seluruh permukaan abdomen diolesi dengan alkohol 70%. Kemudian dibuat irisan kecil pada kulit bagian medinal perut menggunakan gunting. Disuntikkan 1 ml PBS ke dalam rongga peritonium mencit, ditunggu selama 3 menit sambil digoyang-goyang secara perlahan.

Cairan peritoneum dikeluarkan dari rongga peritoneum dengan cara menekan rongga peritonium dan diambil menggunakan pipet atau spuit, dipilih bagian yang tidak berlemak dan jauh dari usus. Cairan peritoneal dipulas pada gelas obyek (dibuat preparat apus) dan difiksasi dengan etanol absolut selama 5 menit, kemudian diwarnai dengan pewarnaan *Giemsa* 1%, didiamkan 15 menit, dibilas dengan air mengalir. Setelah sediaan kering, dilihat di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x dihitung aktivitas dan kapasitas fagositosis makrofag. Aktivitas fagositosis ditetapkan berdasarkan presentase jumlah sel makrofag yang aktif melakukan proses fagositosis dalam jumlah seluruh makrofag. Kapasitas fagositosis ditetapkan berdasarkan jumlah bakteri *Bacillus cereus* yang difagositosis oleh 50 sel makrofag aktif.

Perhitungan aktivitas fagositosis makrofag dilakukan dengan cara membagi coverslip menjadi 4 bagian. Selanjutnya dihitung jumlah sel makrofag yang memfagositosis minimal 1 *B.cereus* pada masing-masing bagian. Dijumlahkan makrofag aktif pada seluruh bagian terhadap jumlah makrofag keseluruhan.

$$\% \text{ Aktivitas Fagositosis (\%)} = \frac{\text{jumlah sel makrofag aktif} \times 100\%}{\text{jumlah sel makrofag aktif seluruhnya}}$$

Kapasitas Fagositosis = Jumlah *Bacillus* dalam 50 makrofag aktif  
(Sheehan, 1980; Bancroft, 1982).

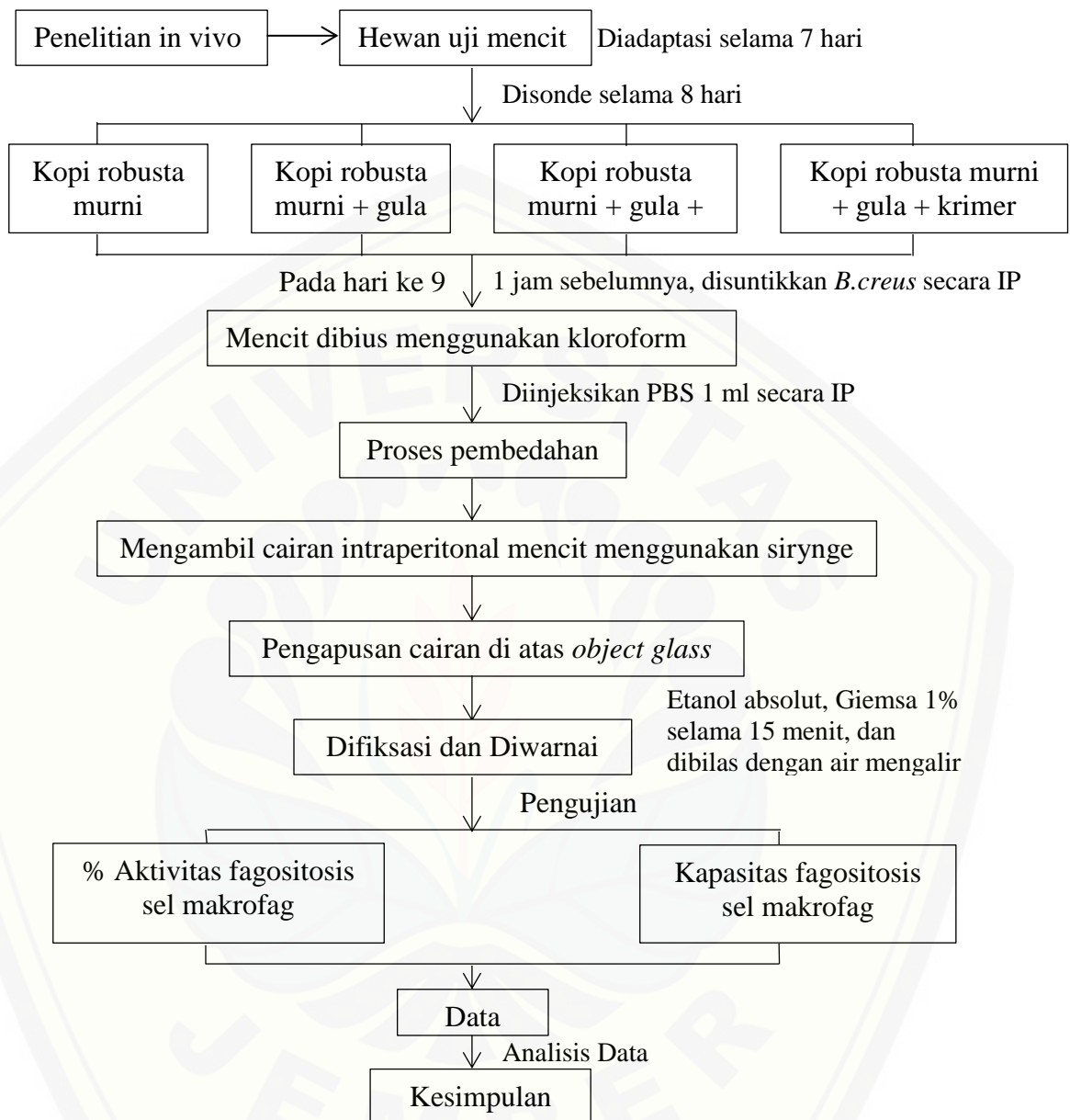


### 3.9 Analisis Data

Data yang diperoleh, aktivitas dan kapasitas fagositosis makrofag dianalisis menggunakan uji *Kruskall Wallis* untuk melihat adanya perbedaan yang bermakna pada semua kelompok, kemudian dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui kelompok mana saja yang memiliki perbedaan yang bermakna. Hasil uji *Kruskall Wallis* dikatakan berbeda signifikan jika  $p < 0.05$  dengan tingkat kepercayaan 95% atau  $\alpha = 0.05$  untuk melihat perbedaan nilai rata-rata yang signifikan dari suatu data yang berjumlah lebih dari dua kelompok (Sudjana, 2000).



### 3.10 Skema penelitian



Gambar 3.2 Skema Penelitian

## BAB 5. SARAN DAN KESIMPULAN

### 5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

1. Aneka sajian minuman kopi robusta dapat meningkatkan nilai aktivitas fagositosis sel makrofag. Nilai rata-rata aktivitas fagositosis sel makrofag secara berurutan dari yang tertinggi ke yang terendah yaitu kelompok kopi robusta + gula; kelompok kopi robusta + gula + krimer; kelompok kopi robusta; dan kelompok kopi robusta + gula + susu. Aktivitas fagositosis sel makrofag yang paling baik adalah pada kelompok kopi + gula sebesar  $98,876\% \pm 1,746\%$ . Hasil uji statistik pada kelompok kopi robusta dengan kelompok kopi robusta + gula + susu memiliki perbedaan yang signifikan ( $p=0,034$ ).
2. Aneka sajian minuman kopi robusta dapat meningkatkan kapasitas fagositosis sel makrofag. Nilai rata-rata kapasitas fagositosis sel makrofag berurutan dari yang tertinggi ke yang terendah yaitu kelompok kopi robusta + gula; kelompok kopi robusta; kelompok kopi robusta + gula + krimer; dan kelompok kopi robusta + gula + susu. Kapasitas fagositosis sel makrofag yang paling baik adalah pada kelompok kopi + gula sebesar  $946,25 \pm 31,373$ . Hasil uji statistik kelompok kopi robusta + gula + susu dengan kelompok kopi robusta + gula + krimer tidak berbeda signifikan dengan nilai ( $p=0,827$ ).

### 5.2 Saran

Adapun saran untuk penelitian ini adalah :

1. Perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai kandungan senyawa-senyawa yang terdapat pada aneka sajian minuman kopi robusta sehingga dapat dikembangkan aktivitas-aktivitas lainnya.
2. Perlu adanya penelitian lebih lanjut dengan dosis kopi robusta dibuat secara bertingkat.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Abbas, A., Litchman, A., and Pober, J. S. 2000. *Cellular and Molecular Immunology, 4th ed.* Philadelphia: WB Saunders Co.
- Agata, Norio. Ohta, Michio. Mori, Masashi, Shibayama, Keigo. Growth Conditions of and Emetic Toxin Production by *Bacillus cereus* in Defined Medium with Amino Acids. *Microbiol Immunol.* 43(1):15-18.
- Aldi, Yufri. Novelin, Frisky. Handayani, Dian. 2015. Aktivitas Beberapa Subfraksi Herba Meniran (*Phyllanthusniruri* Linn.) Terhadap Aktivitas Dan Kapasitas Fagositosis Makrofag. *Scientia.* 5(2):92-96
- Almatsier, S. 2002. *Prinsip Dasar Ilmu Gizi.* Penerbit PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Amiliyah, R., Sumono, A., dan Hidayati, L. 2015. Deformasi plastis Nilon termoplastik setelah direndam dalam ekstrak biji kopi robusta. *Jurnal pustaka kesehatan.* Vol. 3(1): 117-121.
- Artho, Lilian.N., Wusian, Jane. 2015. Efek Serbuk Kopi Robusta (*Coffea Canephora*) Terhadap Penyembuhan Luka Insisi Pada Kelinci (*Oryctolagus Cuniculus*). *Jurnal E-Biomedik (Ebm).* 3(3):743-748.
- Asti, S. I. 2015. Pengaruh Ekstrak Biji Kopi Robusta (*Coffea Robusta*) Terhadap Aktivitas Fagosit Sel Monosit. *Skripsi.* Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia. 2012. *Pedoman Kriteria Cemaran Pada Pangan Siap Saji Dan Pangan Industri Rumah Tangga.* Jakarta: Direktorat SPP, Deputi III Badan POM RI.
- Bancroft, J. D., and Stevens, A. 1982. *Theory And Practice In Histological Techniques.* Churchill, London.
- Baratawidjaja, K. G. dan Rengganis, I. 2014. *Immunologi Dasar.* Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

- Bellanti, J.A. (1993). *Imunologi III*. Penerjemah: Wahab, A.S. & Soerapto, N. Yogyakarta: Gajah Mada Press.
- Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, dan Kalayci O. 2012. Oxidative Stress And Antioxidant Defense. *WAO Journal*. 5:9-19.
- Bhuvaneswari S, Sripriya N, Balamurgan A, Siril A, Kasinathan V, Karthikeyan PT, dan Udaya PNK. 2014. Studies On The Phytochemistry And Bioefficacy Of Industrial Crops – Coffea Canephora And Graviola robusta From Kolli Hills. *International J Of Research in Pharm Sci*. 5(2): 147-151.
- Buckle, K. A., Edwards, R. A., Fleet, G. H., and Wotton, M. 1987. *Ilmu Pangan*. Penerjemah Hari Purnomo dan Adiono. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Budirahardjo, Roedy. 2016. Potensi Imunomodulator Biji Kopi Robusta Terhadap Karies Gigi. *Proceeding ICMHS*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Carel. 1971. Influence of Glucose Levels on the In Vitro Phagocytosis of Bacteria by Human Neutrophils. *Infection And Immunity*. 4(1):54-59.
- Capek, Peter. 2014. Coffea Arabica Instant Coffee—Chemical View And Immunomodulating Properties. *Carbohydrate Polymers*. 103:418-426.
- Cebo C, Vergoten G, Zanetta JP. 2002. Lectin Activities Of Cytokines Functions And Putative Carbohydrate-Recognition Domains. *Biochimic et Biophysica Acta*. 1572:422-34.
- Ceuppens, S. Boon, N., dan Uyttendaele, M. 2013. Diversity Of Bacillus Cereus Group Strains is Reflected in Their Broad Range of Pathogenicity And Diverse Ecological Lifestyles. *Federation of European Microbiological Societies*. 84:433-450.
- Clifford, M. N. 1999. Chlorogenic acids and other cinnamates—nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 79:362-372.

- Chirife, Jorge. Herszage, Le6n. Joseph, Arabella. Kohn, Elisa. 1983. In Vitro Study Of Bacterial Growth Inhibition In Concentrated Sugar Solutions: Microbiological Basis For The Use Of Sugar In Treating Infected Wounds. *Antimicrobial Agents And Chemotherapy*. 23(5):766-773.
- Cooper, Max. Alder, Matthew. 2006. The Evolution of Adaptive Immune System. *Cell*. 124:815-822.
- Darwin, P. 2013. *Menikmati Gula Tanpa Rasa Takut*. Sinar Ilmu. Perpustakaan Nasional.
- Dewi, Arum,K. 2016. Asti, S. I. 2015. Pengaruh Ekstrak Biji Kopi Robusta (Coffea Robusta) Terhadap Aktivitas Fagosit Sel Monosit. *Skripsi*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Dixon, T.C., Fadl, A.A. 2000. Early *Bacillus anthracis*-Macrophage Interaction: Intercellular Survival And Escape. *Cellular Microbiology*. 2(6):453-63.
- Djajakusumah, T. S. 2010. "The Role Of Imunomodulator In The Treatment Of Sexually Transmitted Infections". *Makalah*. Bandung: Fakultas Kedokteran Universitas Padjajaran.
- Djamal, N. Z. Winiati, E. 1999. Peran Sitokin Dalam Patogenesis Berbagai Kelainan Mukosa Mulut. *Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Indonesia*. 6(2):37-42.
- Dupas, Coralie. Baglieri, Agnes. 2006. Coffee Antioxidant Properties: Effects ofMilk Addition and Processing Conditions. *Journal Of Food Science*. 71(3):1-6.
- Efendi, Z. 2003. Daya Fagositosis Makrofag pada Jaringan Longgar Tubuh. *Artikel Digital by USU digital library*.
- Farah, A. 2012. *Coffee Constituents in Coffee: Emerging Health Effects and Disease Revention*. First Edition. United Kingdom: Blackwell Publishing Ltd.

- Frankland. 1887. *Bacillus Cereus*. [https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search\\_topic=TSN&search\\_value=959821#null](https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=959821#null) [Diakses pada 11 Maret 2018].
- Fuente, M, De. Victor. 2000. Antioxidants As Modulators Of Immune Function. *Immunology and Cell Biology*. 78:49–54.
- Gardiner, D. S. 1977. Non diary creamer compositions. *U.S. Patent and Trademark Office Washington DC*. 4046,926.
- Gary. Gray. 2014. Carbohydrate Digenstion and Absorbtion Role of Small InTestine. *Th New England Journal Medicine*. 292(23):1225-1230.
- Gordon, S. Taylor, P. R. 2005. Monocyte And Macrophage Heterogeneity. *Nature Reviews*. 5:953-964.
- Gregory, J. Cannon. Joel. 1992. The Macrophage Capacity For Phagocytosis. *Journal of Cell Science*. 101:907-913.
- Gunawan, S. G. 2011. *Farmakologi dan Terapi*. Ed.5. Jakarta: Departemen Farmakologi Dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Gunawijaya & Arhana.2000. Peran Nitrogen Oksida pada Infeksi. Denpasar: Sari Pediatri Vol. 2: 2.
- Hart, T. dan P. Shears. 1996. *Mikrobiologi Kedokteran (Color Atlas of Medical Microbiology)*. Jakarta: Hipokrates.
- Harianja, D. S. M. 2009. Kajian Tingkat Keamanan Susu UHT (*Ultra High Temperature*) Impor terhadap Mikroba *Bacillus cereus*. *Tesis*. Bogor: Sekolah Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor
- Hartini, Y. S. Wahyuono, S. Widyarini, S, dan Yuswanto, A. 2008. Aktivitas Fagositosis Makrofag Fraksi dari Ekstrak Metanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav.*) secara *In Vitro*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma.

- Haque, M. R. Ansari, S. H. dan Rashikh, A. 2013. *Coffea arabica* Seed Extract Stimulate the Cellular Immune Function and Cyclophosphamide-induced Immunosuppression in Mice. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 12(1): 101-108.
- Herbst, S.T., Wang., 1995. *Encyclopedia*. Barron's Educational Series, London.
- Hrčková,G. Vendelova, E. Velebný, S. 2016. Phagocytosis In Mesocestoides Vogae-Induced Peritoneal Monocytes/Macrophages Via Opsonin-Dependent Or Independent Pathways. *Institute of Parasitology of the Slovak Academy of Sciences*. 53(1): 3 – 13.
- ITIS.2014.[https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search\\_topic=TSN&search\\_value=506060#null](https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=506060#null) diakses pada tanggal 2 januari 2018 pukul 14:18 WIB
- J,Edward. 2010. *Bacillus cereus*, a Volatile Human Pathogen. *Clinical Microbiology Reviews*. 32(2):382–398.
- Janzen,S. 2013. Chemistry of Coffee. *Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering*. 1-28.
- Jay, J. M. 2000. *Modern Food Microbiology*. 6<sup>th</sup> ed. Maryland: Aspen Publishers.
- Khairinal. 2012. Efek Kurkumin Terhadap Proliferasi Sel Limfosit Dari Limpa Mencit CH3 Bertumor Payudara Secara In Vitro. *Thesis*. Depok: Jurusan Kimia, Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia.
- Kono Y, Kobayashi K, Tagawa S, Adachi K, Ueda A, Sawa Y, Shibata H. 1997. Antioxidant Activity Of Polyphenolics In Diets: Rate Constants Of Reactions Of Chlorogenic Acid And Caffeic Acid With Reactive Species Of Oxygen And Nitrogen. *Biochim Biophys Acta Gen Subj*. 1335(3):335-42.
- Kotiranta, A., K. Lounatmaa, dan M. Haapasalo. 2000. Epidemiology and pathogenesis of *Bacillus cereus* infections. *Microbes and Infection*. 2(2):189– 198.



- Kusadalinah, Johan, A. 2014. Pengaruh Ekstrak Buah Naga Daging Merah (*Hylocereus Polyrhizus*) Terhadap Berat Badan, Indeks Fagositosis Makrofag Dan Produksi Nitrit Oksida Makrofag dan Produksi Nitrit Oksida Makrofag (Studi pada mencit BALB/c yang Diinfeksi *Salmonella typhimurium*). *Jurnal Gizi Indonesia*. 2(2):71-77.
- Kusmiyati, M. 2017. Sel Dan Senyawa-Senyawa Kimia Sebagai Dasar Kehidupan [http://www.bppsdmk.kemkes.go.id/pusdiksdmk/wpcontent/uploads/2017/08/FARS3212\\_BIOKIMIA\\_BAB1-6.pdf](http://www.bppsdmk.kemkes.go.id/pusdiksdmk/wpcontent/uploads/2017/08/FARS3212_BIOKIMIA_BAB1-6.pdf). Diakses pada tanggal 3 Maret 2018.
- Labbé, R. G. dan S. García. 2001. *Guide to Foodborne Pathogens*. USA: John Wiley & Sons, Inc.
- Lestari, Endang. Haryanto, Idha. Mawardi, Surip. 2009. Konsumsi Kopi Masyarakat Perkotaan dan Faktor-Faktor Yang Berpengaruh: Kasus di Kabupaten Jember. *Pelita Perkebunan*. 25(3):216—235.
- Lingga, L. 2012. *The Healing Power of Anti-oxidant*. Jakarta : PT Elex Media Komputindo.
- Llyod, David. Viact, Jacqueline. Werling, Dirk. Role Of Sugars In Surface Microbe–Host Interactions And Immune Reaction Modulation. *Journal Compilation ESVD and ACVD*. 18:197–204.
- Mahyuddin, Y Aldi dan D Handayani. 2013. Uji Aktivitas Beberapa Fraksi Dari Meniran (*Phyllanthus Niruri* Linn.) Terhadap Reaksi Hipersensitivitas Kutan Aktif. *JSTF*.18(1).
- Manzoor. Mir dan Javed. Agrewala. 2008. *Dietary Polyphenols In Modulation Of The Immune System*. India: Nova Science Publishers, Inc.
- Marusin, Sofnie. 2012. Efek Ekstrak Air dan Alkohol Pada Siwak (*Salvadora Persica* L.) Terhadap Peningkatan Aktivitas dan Kapasitas Fagositosis Sel Makrofag. *Media Litbang Kesehatan*. 22 (1).
- Minamisawa, M. Yoshida, S. dan Takai, N. 2004. Determination Of Biologically Active Substances In Roasted Coffee Using A Diode-Array HPLC System. *Analytical Science*. 20:325-328.

- Mitchell, M. S. 2003. Immunotherapy As Part Of Combinations For The Treatment Of Cancer. *International Immunopharmacology*. 3: 1051–1059.
- Morrisette, N. Gold, E. The Macrophage – A Cell For All Seasons. *trends in CELL BIOLOGY*. 9.
- Mulijanti, S. L, dan Sugandi. 2010. Pola Konsumsi Dan Preferensi Susu Di Jawa Barat. *Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*. 461-466.
- Murningsih, D.N.K., Dan Khosa. R.L. 1994. Immunomodulators Of Plant Origin- A Review. *Ancient Science Of Life*. 3(4):326-331.
- Muryanto. 2007. Pengaruh Kombinasi Transfer Factor Cyclophosphamide Terhadap Indeks Apoptosis Dan Jumlah Makrofag Pada Adenocarcinoma Mammary Mice CH3. *Tesis*. Semarang: Program Pendidikan Dokter Spesialis I Ilmu Bedah, Universitas Diponegoro.
- Muslim, Zamharira. Dephinto, Yonaniko. 2017. Perbandingan Efektivitas Antimikroba Ekstrak Daun Kopi Robusta (*Coffea Canephora*) Dengan Variasi Pengeringan Terhadap *Escherichia Coli*. *Jurnal Sains Dan Teknologi Farmasi*. (19):86-88.
- Noviga, Aliful. Wahyukundari, Melok. 2011. Aktivitas Fagositosis Sel Monosit dengan Pemberian Rebusan Daun Kopi Robusta (*Coffea canephora L.*) terhadap *Candida albicans*. *Prosiding The 3th Dentistry Scientific Meeting Of Jember*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Nurhayati, Chasri. 2010. Pengaruh Penambahan Dextrin Terhadap Mutu Kopi Blok. *Dinamika Penelitian BIPA (Balai Riset Dan Standarisasi Industri Palembang)*. (2):38
- Nworu. Akah. Okoye. dan Proksch. 2010. The Effects of Phyllanthus niruri Aqueous Extract on the Activation of Murine Lymphocytes and Bone Marrow-Derived Macrophages. *Immunological Investigations*. 39:245-267.
- Okuda T. Ito H. 2011. Tannins Of Constant Structure In Medicinal And Food Plants Hydrolyzable Tannins And Polyphenols Related To Tannins. *J Molecules*. 16:2191-2217.

- Oze, Nworu, Esimone, Okore. 2014. Immunomodulatory Activities of Methanol Extract of The Whole Aerial Part of *Phyllanthus niruri*. *Journal of Pharmacognocny and Phytotherapy*. 6(4):41-46.
- Panggabean, Edy. 2011. *Buku Pintar Kopi*. Jakarta: Agro Media Pustaka.
- Patil,U. Jaydeokar, A. Bandawane, D. 2012. Immunomodulator : A Pharmalogical Review. *International Journal Of Pharmacy And Pharmaceutical Sciences*. 1(4).
- Percival, M. 1998. Antioxidants. *Clinical Nutrition Insight*. 31:1-4.
- Prastowo, Bambang.,dkk. 2010. *Budidaya dan Pasca Panen Kopi*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan. Jakarta.
- Putri, H. L. R., A. Hidayati, T. D. Widyaningsih, N. Wijayanti, dan J. M. Maligan. 2015. Gendapenlian Kualitas Non Dairy Creamer Pada Kondisi Proses Pengeringan Semprot di PT. Kievit Indonesia, Salatiga. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 4(1):443-448.
- Putri, R. R. 2017. Penetapan Kadar Polifenol Dan Uji Aktivitas Antioksidan Pada Aneka Sajian Minuman Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Menggunakan Metode DPPH. *Skripsi*. Jember: Fakultas Farmasi Universitas Jember.
- Purwanti, M. Sudarwanto, M. Rahayu, W. P., dan Sanjaya, A. W. 2008. Pertumbuhan *Bacillus cereus* dan *Clostridium perfringens* Pada Makanan Tambahan Pemulihan Yang Dikonsumsi Balita Penderita Gizi Buruk. *Forum pascasarjana*. 31(2):239-250.
- Rahardjo, Pudji. 2012. *Panduan Budidaya dan Pengolahan Kopi Arabika dan Robusta*. Penebar Swadaya: Jakarta.
- Ramlawati. Hamka. 2017. Sistem Organ Pada Manusia. *Sumber Belajar Penunjang PLPG 2017*.
- Reni, Sofiyatin. Sumarno. Widjadjanto, edi. 2010. susu Kuda Sumbawa Meningkatkan Respon Imun Seluler Makrofag Peritoneal Mencit terhadap *Salmonella typhimurium*. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. 26(1):14-19.

- Renouf, Mathieu. Marmet, Cynthia. Guy, Philippe. 2009. Nondairy Creamer, But Not Milk, Delays The Appearance Of Coffee Phenolic Acid Equivalents In Human Plasma. *The Journal of Nutrition Nutrient Physiology, Metabolism, and Nutrient-Nutrient Interactions*. 259-263.
- Ridwansyah. 2003. *Pengolahan Kopi*: Medan, Jurusan Teknologi Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Sumatra Utara.
- Robinovitch, M. 1995. Professional And Non-Professional Phagocytes: An Introduction. *Trends in Cell Biology*. 5:85-87.
- Saldana, J.I 2012. *Macrophages*. British society immunology.
- Saroj, Priyanka. Verma, Mansi. 2012. An Overview On Immunomodulation. *Journal Of Advanced Scientific Research*. 3(1): 07-12.
- Sheehan, P.C., Hrapchak B.R.1980. *Theory and Practice of Histotechnology*, Second Edition, St Louis, hal. 157.
- Siebert KJ, Troukhanova NV, Lynn PY. 1996. Nature of polyphenol-protein interaction. *J Agric Food Chem*. 44(1):80-5.
- Silva, Manuel. Silva, Nazare. Appelberg. 1989. Neutrophil-Macrophage Cooperation In The Host Defense Against Mycobacterial Infection. *Microbial Pathogenesis*. 6:369-380.
- Silva, Manuel dan Neves, Margarida. Neutrophils and Macrophages: The Main Partners of Phagocyte Cell Systems. *Frontiers In Immunology*. 3(174):1-6.
- Sjahrurachman A, Sukmana, N, Setiati S, Munazir Z, Rubiana H, Nelwan, Lesmana dan Dianiati. 2004. Pemberian Terapi Imunomodulator Herbal. *Jurnal HTA Indonesia*. 37-40.
- Sugiyanto, C. 2007. Permintaan gula di Indonesia. *Jurnal Ekonomi Pembangunan*, 8(2):113-127.

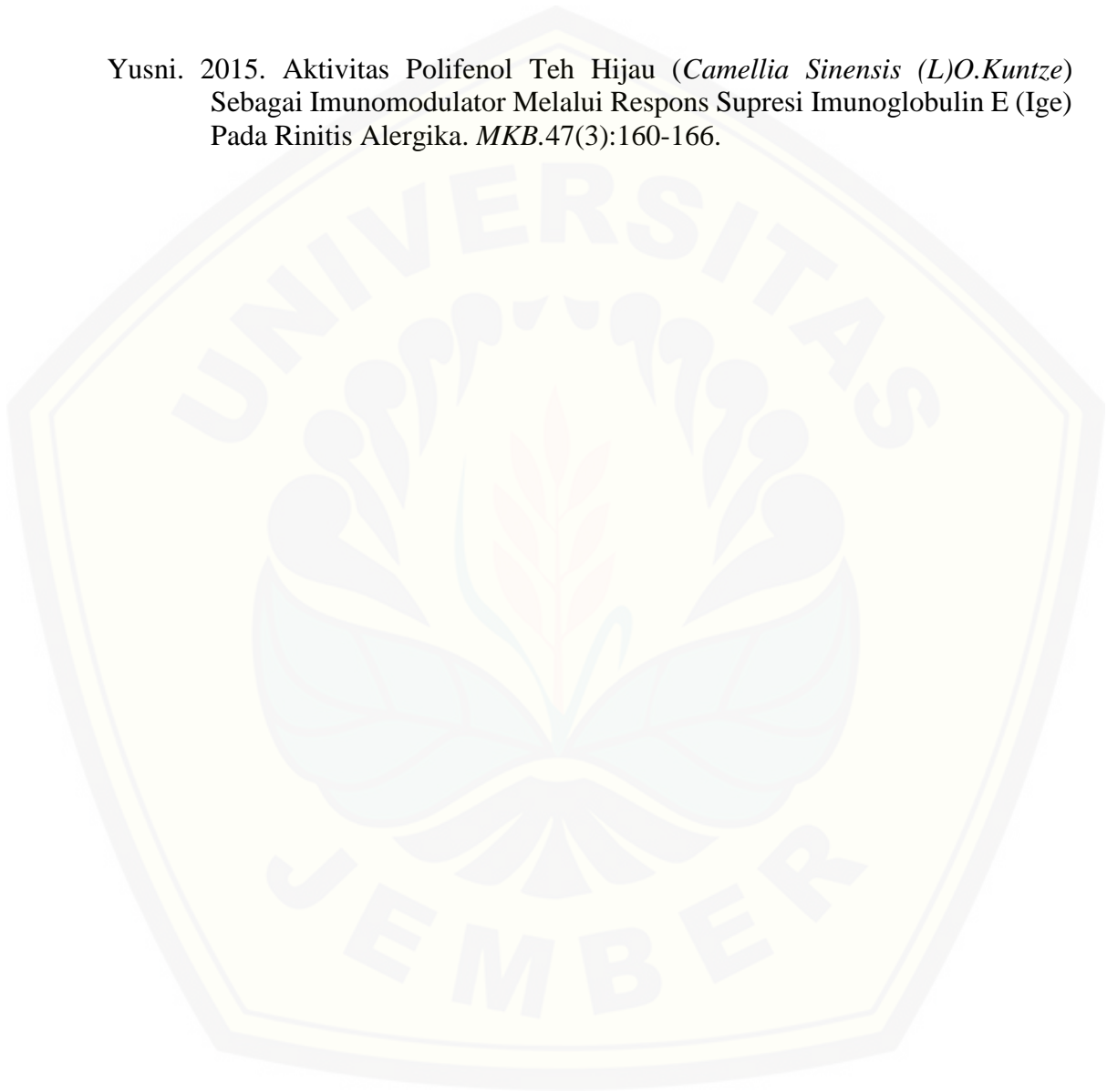
- Sofieana, R. 2011. Gambaran Konsumsi Minuman Kopi Masyarakat Kota Medan tahun 2010. *Jurnal untuk pemenuhan tugas Universitas Sumatera Utara*; 6-12.
- Steck, Ryan. 2014. Pharmacologic Immunomodulation of Macrophage Activation by Caffeine. *Thesis*. Brigham: Department of Microbiology and Molecular Biology Brigham Young University.
- Subandi, H.M. 2011. *Budidaya Tanaman Perkebunan*. Bandung: Gunung Djati Express.
- Sudjana. 2000. *Metode Statistika*. Bandung: Tarsito.
- Suhirman, Sintha. 2010. Prospek dan Fungsi Tanaman Obat Sebagai Immunomodulator. Balai Penelitian Tanaman Obat Dan Aromatik.
- Sung WS dan Lee DG. 2014. Antifungal Action Of Chlorogenic Acid Against Pathogenic Fungi, Mediated By Membrane Disruption. *Pure Appl. Chem.* 82(1): 219-226.
- Tallent, S. M. Kotewicz, K. M., dan Strain, E. A. 2012. Efficient Isolation and Identification of *Bacillus cereus* Group. *Journal of AOAC International*. 95(2):446-451.
- Tanauma, Hizkia. Citraningtyas, Gayatri. 2016. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Kopi Robusta (*Coffea Canephora*) Terhadap Bakteri *Escherichia Coli*. *Pharmakon Jurnal Ilmiah Farmasi-UNSTRAT*. 4(5):243-251.
- Tjahajati, Ida. Prodjoharjono, Subronto. 2004. Peningkatan Aktivitas Fagositosis Makrofag Peritonium Kucing Yang Diinfeksi Dengan *M.tuberculosis*. *J.Sain.Vet.*22(2):1-9.
- Tran, Seav. Ramarao, Nalini. 2013. Minireview Bacillus Cereus Immune Escape: A Journey Within Macrophages. *FEMS Microbiol Lett.* 347:1-6.
- Ulum, Amalia. Ulfah, Maria. Sasmito, Ediati. 2011. Uji Aktivitas Immunomodulator Fermentasi Teh Hitam Jamur Kombucha Terhadap Fagositosis Makrofag Mencit Galur Balb/C Secara *In Vitro*. Semarang: Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang.

- USDA Report. 2016. Non Dairy Creamer. [www.ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/58392](http://www.ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/58392) [diakses tanggal 1 Maret 2018].
- Utami, Sri. 2011. *Aneka Manfaat Dan Kerugian Kopi*.
- Varol, C. Mildner, A. 2015. Macrophages: Development and Tissue Specialization. *Annual Review of Immunology*. 33:643–75.
- Wagner H. Search For Plant Derived Natural Products With Immunostimulatory Activity (Recent Advances). *Pure Appl. Chem.* (1990) 62: 1217-1222.
- Wang, Yu dan Tangho, Chi. 2009. Polyphenolic Chemistry of Tea and Coffee: A Century of Progress. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57: 8109–8114.
- Wibowo AS, 2009, Efek Imunostimulan Ekstrak Meniran (*Phyllanthus niruri* L) secara in vivo pada Tikus (Immunostimulan Effect of Extract in vivo on Rat). *Jurnal Bahan Alam Indonesia*.
- Widodo, W. 2002. *Bioteknologi Fermentasi Susu*. Malang: Pusat Pengembangan Bioteknologi Universitas Muhammadiyah Malang.
- Wijaja, A. Andi. 2015. Ekstrak Etanol Biji Jintan Hitam (*Nigella Sativa*) Meningkatkan Aktivitas Fagositosis Makrofag Mencit Swiss Yang Diinfeksi *Lysteria Monocytogenes*. *Jurnal Kedokteran Hewan*. 9(2).
- Wijayanti, M. A. 1999. Kemampuan Fagositosis Makrofag Peritonium Mencit Yang Diimmunisasi Selama Infeksi *Plasmodium berghei*. *Berkala Ilmu Kedokteran*. 31(4): 213-218.
- Wijnands, L. M. Duffrenne, J. B., dan Leusden, F. M., 2005. *Bacillus Cereus: Characteristics, Behaviour In The Gastro-InTestinal Tract, And Interaction With Caco-2 Cells*. 9-10.
- Winberger, Steven. Cockrill, Barbara. Mandel. Jess. 2014. *Principles of Pulmonary Medicine*. 6<sup>th</sup> ed. Boston: Elsvier Inc.

Winkelstein, Jerry. Dan Beltime. 1973. Opsonins: Their Function, Significance Identity, and Clinical. *The Journal of Pediatrics*. 82(5):747-753.

World Health Organization (WHO). 2001. *Infections And Infectious Diseases*. European : WHO Regional Office for Europe.

Yusni. 2015. Aktivitas Polifenol Teh Hijau (*Camellia Sinensis (L)O.Kuntze*) Sebagai Imunomodulator Melalui Respons Supresi Imunoglobulin E (Ige) Pada Rinitis Alergika. *MKB*.47(3):160-166.



## LAMPIRAN

### A Lampiran 4.1 Perhitungan Dosis Bahan Uji

Dimisalkan berat badan 1 ekor mencit adalah 20 g.

Jumlah mencit yang diberi bahan uji tiap klompok dosis sebanyak 4 mencit.

Lamanya pemberian adalah 7 hari, sediaan dibuat setiap 1 hari.

#### a. Seduhan kopi robusta (sediaan 1)

Rata-rata manusia minum kopi 1 kali perhari. Satu kali minum, kopi yang digunakan sebanyak 15 gram dan ditambahkan aquades suhu 85°C sebanyak 200 ml.

Jumlah kopi robusta yang ditimbang untuk manusia apabila sediaan dibuat dalam 50 ml:

$$\frac{15 \text{ g} \times 50 \text{ ml}}{200 \text{ ml}} = 3,75 \text{ g} \text{ ditambahkan aquades suhu } 85^{\circ}\text{C} \text{ sebanyak } 50 \text{ ml.}$$

setelah diaduk dan tercampur rata, didiamkan selama 15 menit dan disaring.

Didapatkan volume setelah penyaringan  $\pm 45$  ml.

Volume kopi robusta untuk mencit (20 g) = 50 ml x 1 x 0,0026 = 0,13 ml

Jadi, ditimbang kopi robusta sebanyak 3,75 g, kemudian ditambahkan aquadest suhu 85°C sebanyak 50 ml. Diambil 0,13 ml dan disondekan ke mencit (20 g).

#### b. Seduhan kopi robusta + gula (sediaan 2)

Jumlah gula yang ditimbang untuk manusia apabila sediaan dibuat dalam 50 ml:

$$= \frac{10 \text{ g} \times 50 \text{ ml}}{200 \text{ ml}} = 2,5 \text{ g}$$

Jumlah kopi robusta yang ditimbang 3,75 g.

Dicampur 3,75 g (kopi robusta) + 2,5 g (gula) ditambahkan aquades suhu 85°C sebanyak 50 ml. Setelah diaduk dan tercampur rata, didiamkan selama 15 menit dan disaring. Didapatkan volume setelah penyaringan  $\pm 45$  ml.



Volume kopi robusta + gula untuk mencit (20 g) =  $50 \text{ ml} \times 1 \times 0,0026 = 0,13 \text{ ml}$

Jadi, ditimbang sebanyak 3,75 g (kopi robusta) + 2,5 g (gula), kemudian ditambahkan aquadest suhu  $85^{\circ}\text{C}$  sebanyak 50 ml. Diambil 0,13 ml dan disondekan ke mencit (20 g).

c. Seduhan kopi robusta + gula + susu (sediaan 3)

Jumlah susu yang ditimbang untuk manusia apabila sediaan dibuat dalam 50ml:

$$= \frac{5 \text{ g} \times 50 \text{ ml}}{200 \text{ ml}} = 1,25 \text{ g}$$

Jumlah kopi robusta yang ditimbang 3,75 g.

Jumlah gula yang ditimbang 2,5 g.

Dicampur 3,75 g (kopi robusta) + 1,25 g (gula) 1,25 (susu) ditambahkan aquades suhu  $85^{\circ}\text{C}$  sebanyak 50 ml. Setelah diaduk dan tercampur rata, didiamkan selama 15 menit dan disaring. Didapatkan volume setelah penyaringan  $\pm 45 \text{ ml}$ .

Volume kopi robusta + gula + susu untuk mencit (20 g) =  $50 \text{ ml} \times 1 \times 0,0026$   
 $= 0,13 \text{ ml}$

Jadi, ditimbang sebanyak 3,75 g (kopi robusta) + 2,5g (gula) + 1,25g (susu), kemudian ditambahkan aquadest suhu  $85^{\circ}\text{C}$  sebanyak 50 ml. Diambil 0,13 ml dan disondekan ke mencit (20 g).

d. Seduhan kopi robusta + gula + krimer (sediaan 4)

Jumlah krimer yang ditimbang untuk manusia apabila sediaan dibuat dalam 50ml:

$$= \frac{5 \text{ g} \times 50 \text{ ml}}{200 \text{ ml}} = 1,25 \text{ g}$$

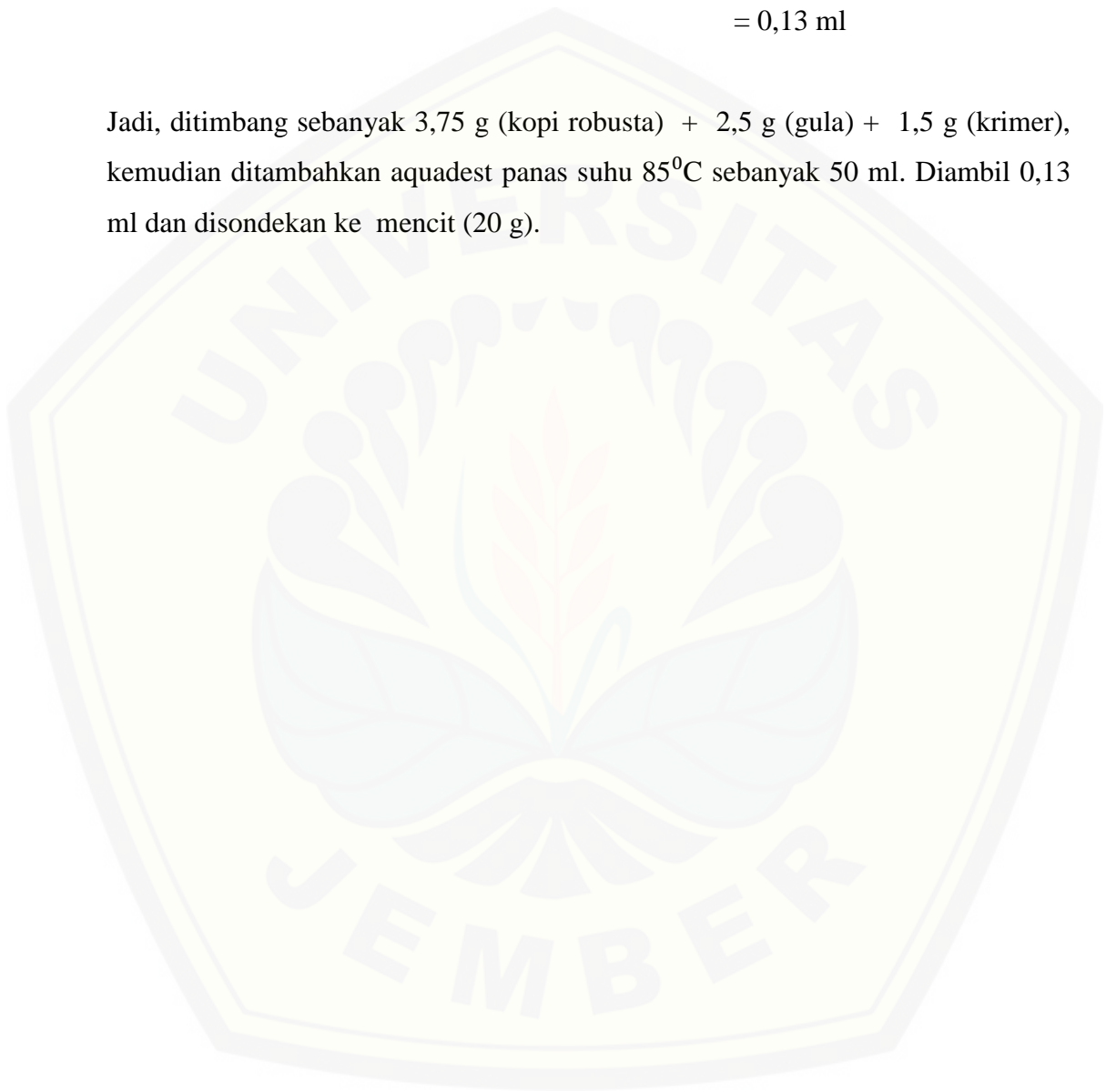
Jumlah kopi robusta yang ditimbang 3,75 g.

Jumlah gula yang ditimbang 1,25 g.

Dicampur 3,75 g (kopi robusta) + 2,5 g (gula) + 1,25g (krimer) ditambahkan aquades suhu 85°C sebanyak 50 ml. Setelah diaduk dan tercampur rata, didiamkan selama 15 menit dan disaring. Didapatkan volume setelah penyaringan ± 45 ml.

$$\begin{aligned}\text{Volume kopi robusta + gula + susu untuk mencit (20 g)} &= 50 \text{ ml} \times 1 \times 0,0026 \\ &= 0,13 \text{ ml}\end{aligned}$$

Jadi, ditimbang sebanyak 3,75 g (kopi robusta) + 2,5 g (gula) + 1,5 g (krimer), kemudian ditambahkan aquadest panas suhu 85°C sebanyak 50 ml. Diambil 0,13 ml dan disondekan ke mencit (20 g).



**Lampiran 4.2 Perhitungan Dosis Stimuno**

Dimisalkan berat badan mencit 20 g

Dosis stimuno 50 mg/hari

Kekuatan sediaan sirup stimuno = 25 mg/5 ml

Diencerkan menjadi 25 mg/25 ml

Konversi dosis stimuno dari manusia ke mencit = 50 mg x 0,0026

$$= 0,13 \text{ mg}$$

Volume yang diambil dari sediaan sirup stimuno =  $\frac{25 \text{ ml}}{25 \text{ mg}} \times 0,13 \text{ mg}$

$$= 0,13 \text{ ml}$$

Jadi stimuno yang disondekan ke mencit (20g) adalah 0,13 ml.

## Lampiran 4.3 Hasil Aktivitas Dan Kapasitas Fagositosis

## a. Kelompok kontrol negatif (K.)

Sampel / Lapang pandang		$\Sigma$ makrofag seluruhnya	$\Sigma$ makrofag aktif	Aktivitas Fagositosis (%)	$\Sigma$ <i>Bacillus cereus</i> dalam 50 makrofag aktif
K. (Replikasi 1)	1	157	118	88,131	691
	2	230	197		
	3	262	246		
	4	261	241		
Jumlah		910	802		
K. (Replikasi 2)	1	169	151	88,989	559
	2	273	232		
	3	202	189		
	4	237	212		
Jumlah		881	784		
K. (Replikasi 3)	1	330	308	73,38	658
	2	437	121		
	3	290	256		
	4	401	385		
Jumlah		1458	1070		
K. (Replikasi 4)	1	33	29	78,461	535
	2	65	43		
	3	27	24		
	4	70	57		
Jumlah		195	153		
<b>Rata-Rata aktivitas fagositosis makrofag (%)</b>				<b>82,240</b>	
<b>Standart Devisiasi</b>				<b>7,594</b>	
<b>Rata – Rata <math>\Sigma</math> <i>Bacillus cereus</i> dalam 50 makrofag</b>					<b>610,75</b>
<b>Standart Devisiasi</b>					<b>75,473</b>

b. Kelompok kontrol positif ( $K_+$ )

Sampel / Lapang pandang		$\Sigma$ makrofag seluruhnya	$\Sigma$ makrofag aktif	Aktivitas Fagositosis Makrofag (%)	$\Sigma$ <i>Bacillus cereus</i> dalam 50 makrofag aktif
$K_+$ (Replikasi 1)	1	1691	1687	99,359	782
	2	1600	1588		
	3	1933	1916		
	4	2116	2103		
Jumlah		7340	7294		
$K_+$ (Replikasi 2)	1	424	415	98,740	766
	2	693	684		
	3	426	426		
	4	442	435		
Jumlah		1985	785		
$K_+$ (Replikasi 3)	1	1264	1253	99,436	785
	2	1245	1243		
	3	1411	1403		
	4	1577	1567		
Jumlah		5497	5466		
$K_+$ (Replikasi 4)	1	1644	1607	98,496	801
	2	803	777		
	3	960	949		
	4	1647	1645		
Jumlah		5054	4978		
<b>Rata-Rata aktivitas fagositosis makrofag (%)</b>				<b>99,00</b>	
<b>Standart Devisiasi</b>				<b>0,462</b>	
<b>Rata – Rata <math>\Sigma</math> <i>Bacillus cereus</i> dalam 50 makrofag</b>					<b>783,5</b>
<b>Standart Devisiasi</b>					<b>14,341</b>

c. Kelompok Kopi Robusta (K<sub>1</sub>)

Sampel / Lapang pandang		$\Sigma$ makrofag seluruhnya	$\Sigma$ makrofag aktif	Aktivitas Fagositosis (%)	$\Sigma$ <i>Bacillus cereus</i> dalam 50 makrofag aktif
K <sub>1</sub> (Replikasi 1)	1	1948	1918	98,144	827
	2	2003	1963		
	3	838	827		
	4	870	846		
Jumlah		5659	5545		
K <sub>1</sub> (Replikasi 2)	1	531	523	98,226	745
	2	713	713		
	3	512	498		
	4	669	648		
Jumlah		5659	5554		
K <sub>1</sub> (Replikasi 3)	1	876	876	98,939	919
	2	769	767		
	3	621	611		
	4	186	172		
Jumlah		2452	2426		
K <sub>1</sub> (Replikasi 4)	1	260	249	97,970	902
	2	264	262		
	3	158	158		
	4	205	200		
Jumlah		887	869		
<b>Rata-Rata aktivitas fagositosis makrofag (%)</b>				<b>98,319</b>	
<b>Standart Devisiasi</b>				<b>0,426</b>	
<b>Rata – Rata <math>\Sigma</math> <i>Bacillus cereus</i> dalam 50 makrofag</b>					<b>770,75</b>
<b>Standart Devisiasi</b>					<b>79,596</b>

d. Kelompok kopi robusta + gula (K<sub>2</sub>)

Sampel / Lapang pandang		$\Sigma$ makrofag seluruhnya	$\Sigma$ makrofag aktif	Aktivitas Fagositosis (%)	$\Sigma$ <i>Bacillus cereus</i> dalam 50 makrofag aktif
K <sub>2</sub> (Replikasi 1)	1	2164	2162	99,837	952
	2	1782	1780		
	3	1874	1868		
	4	2164	2161		
Jumlah		7984	7971		
K <sub>2</sub> (Replikasi 2)	1	1977	1974	99,698	980
	2	1467	1464		
	3	2290	2282		
	4	1242	1235		
Jumlah		6976	6955		
K <sub>2</sub> (Replikasi 3)	1	2299	2291	99,713	905
	2	1694	1684		
	3	1473	1472		
	4	2226	2223		
Jumlah		7692	7670		
K <sub>2</sub> (Replikasi 4)	1	272	269	96,259	956
	2	352	334		
	3	281	257		
	4	298	298		
Jumlah		1203	1158		
<b>Rata-Rata aktivitas fagositosis makrofag (%)</b>				<b>98,876</b>	
<b>Standart Devisiasi</b>				<b>1,746</b>	
<b>Rata – Rata <math>\Sigma</math> <i>Bacillus cereus</i> dalam 50 makrofag</b>					<b>946,25</b>
<b>Standart Devisiasi</b>					<b>31,373</b>

e. Kelompok Kopi Robusta + Gula + Susu (K<sub>3</sub>)

Sampel / Lapang pandang		$\Sigma$ makrofag seluruhnya	$\Sigma$ makrofag aktif	Aktivitas Fagositosis (%)	$\Sigma$ <i>Bacillus cereus</i> dalam 50 makrofag aktif
K <sub>3</sub> (Replikasi 1)	1	2556	2507	97,447	582
	2	1760	1703		
	3	2746	2667		
	4	2146	2096		
Jumlah		9208	8973		
K <sub>3</sub> (Replikasi 3)	1	1080	1029	96,586	645
	2	1665	1623		
	3	2343	2256		
	4	1940	1882		
Jumlah		7030	6790		
K <sub>3</sub> (Replikasi 4)	1	1033	930	95,238	530
	2	1105	1015		
	3	2268	2220		
	4	1748	1696		
Jumlah		6154	5861		
<b>Rata-Rata aktivitas fagositosis makrofag (%)</b>				<b>96,423</b>	
<b>Standart Deviasi</b>				<b>1,113</b>	
<b>Rata – Rata <math>\Sigma</math> <i>Bacillus cereus</i> dalam 50 makrofag</b>					<b>585,666</b>
<b>Standart Deviasi</b>					<b>57,588</b>



f. Kopi robusta + gula + krimer (K<sub>4</sub>)

Sampel / Lapang pandang		$\Sigma$ makrofag seluruhnya	$\Sigma$ makrofag aktif	Aktivitas Fagositosis (%)	$\Sigma$ <i>Bacillus cereus</i> dalam 50 makrofag aktif
K <sub>4</sub> (Replikasi 1)	1	2987	2987	99,421	564
	2	2844	2832		
	3	2276	2259		
	4	2439	2417		
Jumlah		10546	10485		
K <sub>4</sub> (Replikasi 2)	1	987	940	96,577	587
	2	1023	991		
	3	772	744		
	4	1250	1219		
Jumlah		4032	3894		
K <sub>4</sub> (Replikasi 3)	1	2430	2428	99,456	619
	2	2125	2112		
	3	1898	1883		
	4	2202	2185		
Jumlah		8655	8608		
<b>Rata-Rata aktivitas fagositosis makrofag (%)</b>				<b>98,484</b>	
<b>Standart Deviasi</b>				<b>1,652</b>	
<b>Rata – Rata <math>\Sigma</math> <i>Bacillus cereus</i> dalam 50 makrofag</b>					<b>590</b>
<b>Standart Deviasi</b>					<b>27,622</b>

**Lampiran 4.4 Hasil Uji Normalitas Dan Homogenitas Aktivitas Fagositosis Sel Makrofag**

	perlakuan	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
aktivitasfagositosis	k +	.276	4	.	.876	4	.322
	k-	.281	4	.	.879	4	.336
	k1	.337	4	.	.847	4	.216
	k2	.431	4	.	.662	4	.004
	k3	.225	3	.	.984	3	.758
	k4	.381	3	.	.759	3	.020

a. Lilliefors Significance Correction

***Test of Homogeneity of Variances***

aktivitasfagositosis

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
19.490	5	16	.000

**Lampiran 4.5 Hasil Uji *Kruskall Wallis* Aktivitas Fagositosis**

**NPAR TESTS**

/K-W=aktivitasfagositosis BY perlakuan(1 6)  
 /STATISTICS DESCRIPTIVES  
 /MISSING ANALYSIS.

**NPar Tests**

Notes		
Output Created		11-Jul-2018 12:00:36
Comments		
Input	Active Dataset	DataSet0
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	22
Missing Value Handling	Definition of Missing	User-defined missing values are treated as missing.
	Cases Used	Statistics for each <i>Test</i> are based on all cases with valid data for the variable(s) used in that <i>Test</i> .
Syntax		NPAP TESTS /K-W=aktivitasfagositosis BY perlakuan(1 6) /STATISTICS DESCRIPTIVES /MISSING ANALYSIS.
Resources	Processor Time	00:00:00.079
	Elapsed Time	00:00:00.052
	Number of Cases Allowed <sup>a</sup>	112347

a. Based on availability of workspace memory.

[DataSet0]

**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
aktivitasfagositosis	22	9.53865E1	7.071815	73.380	99.837
perlakuan	22	3.32	1.701	1	6

**Kruskal-Wallis Test****Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank
aktivitasfagositosis	K +	4	15.25
	K-	4	2.50
	K1	4	12.00
	K2	4	17.25
	K3	3	7.33
	K4	3	14.33
	Total	22	

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

	aktivitasfagositosis
Chi-Square	13.984
df	5
Asymp. Sig.	.016

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: perlakuan

**Lampiran 4.6 Hasil Uji Mann-Whitney Aktivitas Fagositosis**

NPAR TESTS

/M-W= aktivitasfagositosis BY perlakuan(1 2)

/MISSING ANALYSIS.

**NPar Tests**

		Notes
Output Created		25-Jun-2018 11:30:18
Comments		
Input	Active Dataset	DataSet0
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	22
Missing Value Handling	Definition of Missing Cases Used	User-defined missing values are treated as missing. Statistics for each <i>Test</i> are based on all cases with valid data for the variable(s) used in that <i>Test</i> .
Syntax		NPAR TESTS /M-W= aktivitasfagositosis BY perlakuan(1 2) /MISSING ANALYSIS.
Resources	Processor Time	00:00:00.046
	Elapsed Time	00:00:00.038
	Number of Cases Allowed <sup>a</sup>	112347

a. Based on availability of workspace memory.

**Mann-Whitney Test****Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
aktivitasfagositosis	K +	4	6.50	26.00
	K-	4	2.50	10.00
	Total	8		

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

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

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

[DataSet0]

**Mann-Whitney Test****Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
aktivitasfagositosis	K +	4	6.00	24.00
	K1	4	3.00	12.00
	Total	8		

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

	aktivitasfagositosis
Mann-Whitney U	2.000
Wilcoxon W	12.000
Z	-1.732
Asymp. Sig. (2-tailed)	.083
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.114 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

[DataSet0]

**Mann-Whitney Test**

**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
aktivitasfagositosis	K +	4	3.50	14.00
	K2	4	5.50	22.00
	Total	8		

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

	aktivitasfagositosis
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	14.000
Z	-1.155
Asymp. Sig. (2-tailed)	.724
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.343 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

**Mann-Whitney Test**

**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
aktivitasfagositosis	K +	4	5.50	22.00
	K3	3	2.00	6.00
	Total	7		

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

	aktivitasfagositosis
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.057 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

**Mann-Whitney Test****Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
aktivitasfagositosis	K +	4	3.75	15.00
	K4	3	4.33	13.00
	Total	7		

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

	aktivitasfagositosis
Mann-Whitney U	5.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-.354
Asymp. Sig. (2-tailed)	.248
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.857 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

**Mann-Whitney Test****Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
aktivitasfagositosis	K-	4	2.50	10.00
	K1	4	6.50	26.00
	Total	8		

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

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

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan



**Mann-Whitney Test****Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
aktivitasfagositosis	K-	4	2.50	10.00
	K2	4	6.50	26.00
	Total	8		

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

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

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

**Mann-Whitney Test****Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
aktivitasfagositosis	K-	4	2.50	10.00
	K3	3	6.00	18.00
	Total	7		

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

	aktivitasfagositosis
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.057 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

**Mann-Whitney Test****Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
aktivitasfagositosis	K-	4	2.50	10.00
	K4	3	6.00	18.00
	Total	7		

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

	aktivitasfagositosis
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.057 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

**Mann-Whitney Test****Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
aktivitasfagositosis	K1	4	3.50	14.00
	K2	4	5.50	22.00
	Total	8		

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

	aktivitasfagositosis
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>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

**Mann-Whitney Test****Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
aktivitasfagositosis	K1	4	5.50	22.00
	K3	3	2.00	6.00
	Total	7		

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

	aktivitasfagositosis
<i>Mann-Whitney U</i>	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.057 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

**Mann-Whitney Test****Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
aktivitasfagositosis	K1	4	3.50	14.00
	K4	3	4.67	14.00
	Total	7		

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

	aktivitasfagositosis
<i>Mann-Whitney U</i>	4.000
Wilcoxon W	14.000
Z	-.707
Asymp. Sig. (2-tailed)	.480
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.629 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

**Mann-Whitney Test****Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
aktivitasfagositosis	K2	4	5.00	20.00
	K3	3	2.67	8.00
	Total	7		

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

	aktivitasfagositosis
Mann-Whitney U	2.000
Wilcoxon W	8.000
Z	-1.414
Asymp. Sig. (2-tailed)	.157
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.229 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

**Mann-Whitney Test****Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
aktivitasfagositosis	K1	4	4.75	19.00
	K4	3	3.00	9.00
	Total	7		

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

	aktivitasfagositosis
Mann-Whitney U	3.000
Wilcoxon W	9.000
Z	-1.061
Asymp. Sig. (2-tailed)	.289
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.400 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

**Mann-Whitney Test****Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
aktivitasfagositosis	K3	3	2.67	8.00
	K4	3	4.33	13.00
	Total	6		

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

	aktivitasfagositosis
<i>Mann-Whitney U</i>	2.000
Wilcoxon W	8.000
Z	-1.091
Asymp. Sig. (2-tailed)	.275
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.400 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

#### 4.7 Lampiran Hasil Uji Normalitas Dan Homogenitas Kapasitas Fagositosis Sel Makrofag

##### Tests of Normality

perlakuan	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kapasitas k +	.208	4	.	.977	4	.885
fagositosis k-	.254	4	.	.895	4	.407
k1	.250	4	.	.918	4	.523
k2	.298	4	.	.923	4	.555
k3	.192	3	.	.997	3	.895
k4	.210	3	.	.991	3	.820

a. Lilliefors Significance Correction

##### Test of Homogeneity of Variances

kapasitasfagositosis

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.124	5	16	.013

**Lampiran 4.8 Hasil Uji *Kruskall Wallis* Kapasitas Fagositosis**

NPAR TESTS

/K-W=kapasitasfagositosis BY perlakuan(1 6)

/STATISTICS DESCRIPTIVES

/MISSING ANALYSIS.

**NPar Tests**

**Notes**

Output Created	25-Jun-2018 12:20:09	
Comments		
Input	Active Dataset	DataSet0
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	22
Missing Value Handling	Definition of Missing	User-defined missing values are treated as missing.
	Cases Used	Statistics for each <i>Test</i> are based on all cases with valid data for the variable(s) used in that <i>Test</i> .
Syntax	NPAR TESTS /K-W=kapasitasfagositosis BY perlakuan(1 6) /STATISTICS DESCRIPTIVES /MISSING ANALYSIS.	
Resources	Processor Time	00:00:00.016
	Elapsed Time	00:00:00.011
	Number of Cases Allowed <sup>a</sup>	112347

a. Based on availability of workspace memory.

[DataSet0]

**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
kapasitasfagositosis	22	740.45	151.424	530	980
perlakuan	22	3.32	1.701	1	6

**Kruskal-Wallis Test****Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank
kapasitasfagositosis	K +	4	13.50
	K-	4	6.00
	K1	4	15.75
	K2	4	20.25
	K3	3	4.67
	K4	3	5.67
	Total	22	

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

	kapasitasfagositosis
Chi-Square	17.968
df	5
Asymp. Sig.	.003

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: perlakuan



**Lampiran 4.9 Hasil Uji Mann-Whitney Kapasitas Fagositosis**

NPAR TESTS

/M-W= kapasitasfagositosis BY perlakuan(1 2)

/STATISTICS=DESCRIPTIVES

/MISSING ANALYSIS.

**NPar Tests**

**Notes**

Output Created	25-Jun-2018 12:22:14	
Comments		
Input	Active Dataset	DataSet0
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	22
Missing Value Handling	Definition of Missing Cases Used	User-defined missing values are treated as missing. Statistics for each <i>Test</i> are based on all cases with valid data for the variable(s) used in that <i>Test</i> .
Syntax	NPAR TESTS /M-W= kapasitasfagositosis BY perlakuan(1 2) /STATISTICS=DESCRIPTIVES /MISSING ANALYSIS.	
Resources	Processor Time	00:00:00.047
	Elapsed Time	00:00:00.011
	Number of Cases Allowed <sup>a</sup>	112347

a. Based on availability of workspace memory.

[DataSet0]

**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
kapasitasfagositosis	22	726.36	157.296	517	980
perlakuan	22	3.32	1.701	1	6

**Mann-Whitney Test****Ranks**

perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kapasitasfagositosis K +	4	6.50	26.00
K-	4	2.50	10.00
Total	8		

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

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

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

**Mann-Whitney Test****Ranks**

perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kapasitasfagositosis K +	4	3.50	14.00
K1	4	5.50	22.00
Total	8		

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

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

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

**Mann-Whitney Test****Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kapasitasfagositosis	K +	4	2.50	10.00
	K2	4	6.50	26.00
	Total	8		

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

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

a. Not corrected for ties.

a. Grouping Variable:  
perlakuan

**Mann-Whitney Test****Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kapasitasfagositosis	K +	4	5.50	22.00
	K3	3	2.00	6.00
	Total	7		

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

	kapasitasfagositosis
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.057 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

**Mann-Whitney Test****Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kapasitasfagositosis	K +	4	5.50	22.00
	K4	3	2.00	6.00
	Total	7		

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

	kapasitasfagositosis
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.057 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

**Mann-Whitney Test****Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kapasitasfagositosis	K-	4	2.50	10.00
	K1	4	6.50	26.00
	Total	8		

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

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

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

**Mann-Whitney Test****Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kapasitasfagositosis	K-	4	2.50	10.00
	K2	4	6.50	26.00
	Total	8		

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

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

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

**Mann-Whitney Test****Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kapasitasfagositosis	K-	4	4.50	18.00
	K3	3	3.33	10.00
	Total	7		

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

	kapasitasfagositosis
<i>Mann-Whitney U</i>	4.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-.707
Asymp. Sig. (2-tailed)	.480
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.629 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

**Mann-Whitney Test**

**Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kapasitasfagositosis	K-	4	4.00	16.00
	K4	3	4.00	12.00
	Total	7		

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

	kapasitasfagositosis
Mann-Whitney U	6.000
Wilcoxon W	12.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

**Mann-Whitney Test**

**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kapasitasfagositosis	K1	4	2.75	11.00
	K2	4	6.25	25.00
	Total	8		

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

	kapasitasfagositosis
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>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

**Mann-Whitney Test****Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kapasitasfagositosis	K1	4	4.75	19.00
	K3	3	3.00	9.00
	Total	7		

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

	kapasitasfagositosis
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.057 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

**Mann-Whitney Test****Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kapasitasfagositosis	K1	4	5.50	22.00
	K4	3	2.00	6.00
	Total	7		

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

	kapasitasfagositosis
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.057 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

**Mann-Whitney Test**

**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kapasitasfagositosis	K2	4	5.50	22.00
	K3	3	2.00	6.00
	Total	7		

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

	kapasitasfagositosis
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.057 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

**Mann-Whitney Test**

**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kapasitasfagositosis	K2	4	5.50	22.00
	K4	3	2.00	6.00
	Total	7		

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

	kapasitasfagositosis
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.057 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan



**Mann-Whitney Test****Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kapasitasfagositosis	K3	3	3.33	10.00
	K4	3	3.67	11.00
	Total	6		

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

	kapasitasfagositosis
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-.218
Asymp. Sig. (2-tailed)	.827
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan