

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN  
KOPI ROBUSTA LAMPUNG BARAT (*Coffea canephora*) DENGAN METODE  
*ULTRASONIC ASSISTED EXTRACTION***

**(Skripsi)**

**Oleh:  
JESICA VIRGINIA  
2018031016**



**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2024**

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL  
DAUN KOPI ROBUSTA LAMPUNG BARAT (*Coffea canephora*) DENGAN  
METODE *ULTRASONIC ASSISTED EXTRACTION***

**Oleh**

**Jesica Virginia**

**Skripsi**

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar  
SARJANA FARMASI**

**Pada**

**Program Studi Farmasi  
Fakultas Kedokteran Universitas Lampung**



**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2024**

Judul Skripsi : **AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN KOPI ROBUSTA LAMPUNG BARAT (*Coffea canephora*) DENGAN METODE *ULTRASONIC ASSISTED EXTRACTION***

Nama Mahasiswa : **Jesica Virginia**

No. Pokok Mahasiswa : **2018031016**

Program Studi : **Sarjana Farmasi**

Fakultas : **Kedokteran**

**MENYETUJUI**

**1. Komisi Pembimbing**

**apt. Muhammad Iqbal, M.Sc**  
**NIP.198612052022031003**

**apt. Ramadhan Triyandi, M.Si**  
**NIP. 198705202020121015**

**MENGETAHUI**

**2. Dekan Fakultas Kedokteran**

**Dr.dr. Evi Kurniawaty, M.Sc**  
**NIP. 197601202003122001**

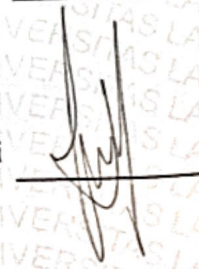
**MENGESAHKAN**

1. **Tim Penguji**

**Ketua : apt. Muhammad Iqbal, M.Sc**



**Sekretaris : apt. Ramadhan Triyandi, M.Si**

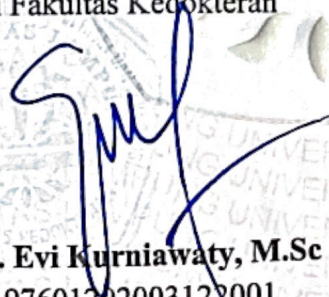


**Penguji  
Bukan Pembimbing : Femmy Andrifianie, M.Farm**



2. **Dekan Fakultas Kedokteran**

**Dr.dr. Evi Kurniawaty, M.Sc**  
**NIP. 197601202003122001**



**Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 01 April 2024**



## LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya, bahwa:  
Skripsi dengan judul **“AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN KOPI ROBUSTA LAMPUNG BARAT (*Coffea canephora*) DENGAN METODE *ULTRASONIC ASSISTED EXTRACTION*”** adalah hasil karya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai tata etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau disebut plagiarism. Hal intelektual atas karya ilmiah ini disertakan sepenuhnya kepada Universitas Lampung,

Atas pernyataan ini, apabila di kemudian hari ternyata ditemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya.

Bandar Lampung, 01 April 2024  
Pembuat Pernyataan



Jessica Virginia

## **RIWAYAT HIDUP**

Penulis Jesica Virginia lahir di Lampung Barat pada tanggal 30 Juli 2001. Lahir dari pasangan Bapak Yordania dan Ibu Juli Elisa dan merupakan anak kedua dari dua bersaudara. Penulis memiliki riwayat pendidikan sebagai berikut: TK Sai Betik dimulai pada tahun 2007 hingga 2008; di tahun 2008 melanjutkan pendidikan di SD Negeri 2 Way Petai hingga tahun 2014; melanjutkan pendidikan menengah pertama di SMP Negeri 1 Sumberjaya sejak tahun 2014 hingga tahun 2017 dan melanjutkan pendidikan menengah atas di SMA 1 Sumberjaya hingga tahun 2020.

Penulis diterima dan mulai menjalani perkuliahan di Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung pada tahun 2020 melalui jalur Seleksi Bersama Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN). Penulis menjalani perkuliahan dengan aktif dan ikut serta dalam beberapa organisasi mahasiswa seperti bergabung di organisasi Himpunan Mahasiswa Farmasi Universitas Lampung selama 2 tahun sebagai anggota Departemen Kajian Strategi dan Advokasi. Penulis juga bergabung di organisasi Forum Studi Islam Ibnu Sina Fakultas Kedokteran Universitas Lampung selama 2 tahun sebagai anggota Divisi Akademik serta bergabung di organisasi Lampung University Medical Research sebagai anggota Divisi Program Kreativitas Mahasiswa selama 2 tahun.

## SANWACANA

Puji syukur penulis ucapkan atas kehadiran Allah SWT, karena atas nikmat, rahmat, dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “**Aktivitas Antioksidan Dan Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kopi Robusta Lampung Barat (*Coffee Canephora*) Dengan Metode *Ultrasonic Assisted Extraction***”. Dan tak lupa shalawat serta salam penulis curahkan kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW.

Penulis menyadari bahwa selama melaksanakan perkuliahan di Program Studi Farmasi dan selama menyelesaikan skripsi ini, penulis mendapatkan bimbingan, bantuan, masukan, arahan, dorongan, kritik dan saran dari berbagai pihak sehingga segalanya dapat berjalan dengan baik dan lancar. Dengan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E,A., I.P.M selaku Rektor Universitas Lampung;
2. Dr. dr Evi Kurniawaty, S.Ked, M.Sc selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
3. Dr. Oktafany, S.Ked, M.Pd.Ked selaku Ketua Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
4. apt. Muhammad Iqbal, S.Farm., M.Sc selaku pembimbing I yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran dalam memberikan arahan, motivasi, masukan, kritik, dan saran membangun kepada penulis selama penyusunan skripsi ini;
5. apt. Ramadhan Triyandi, S.Farm., M.Si selaku pembimbing kedua yang telah bersedia untuk meluangkan waktu, tenaga dan pikiran dalam memberikan arahan, arahan, motivasi, masukan, kritik, dan saran membangun kepada penulis selama penyusunan skripsi ini;

6. Femmy andrifianie, S.Farm., M.Farm selaku pembahas yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran serta memberikan masukan dan dorongan kepada penulis dalam proses penyusunan skripsi ini;
7. Andi Nafisah Tendri Adjeng M, M.Sc selaku pembimbing akademik yang telah memberikan nasihat dan masukan yang bermanfaat selama perkuliahan;
8. Seluruh dosen Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang telah memberikan ilmu yang bermanfaat selama proses perkuliahan;
9. Seluruh staf dan civitas akademik Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang telah membantu proses penyusunan skripsi ini;
10. Seluruh staf Laboratorium Kimia Analisis Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang telah membantu selama proses penelitian;
11. Seluruh staf Laboratorium LTSIT Universitas Lampung yang telah membantu selama proses penelitian;
12. Kedua orang tua tercinta, mamah dan papah yang selalu menjadi support sistem terbaik penulis dalam menyelesaikan skripsi ini yang tiada hentihentinya memberikan kasih sayang dan motivasi. Terimakasih untuk semua doa, dukungan, semangat, motivasi, nasihat, waktu, dan tenaga sehingga penulis bisa sampai di titik ini;
13. Kakak-kakak penulis, Abang Alvin dan Mba Lia yang juga menjadi support sistem terbaik dengan memberikan, dukungan, doa, serta semangat kepada penulis serta keponakan tersayang Arcelio yang selalu menjadi mood booster penulis;
14. Keluarga besar penulis yang selalu memberikan doa dan dukungan selama proses pengerjaan skripsi;
15. Daniel, yang juga menjadi support sistem penulis dengan memberikan bantuan, semangat, motivasi, doa serta dukungan penuh. Terimakasih karna sudah menjadi rumah tempat penulis berkeluh kesah dan menemani penulis selama proses penyusunan dan pengerjaan skripsi ini;
16. Sahabat Sepenelitian, Nadia, Suci, Fitri dan Intan yang telah kebersamai penulis dari awal mulai penelitian sampai selesai. Terimakasih untuk segala bantuan, kebersamaan, kerja sama dan rasa kekeluargaan yang diciptakan



selama proses penelitian di laboratorium, dan berkontribusi banyak untuk menyelesaikan skripsi ini;

17. Sahabat Sekamar Ghina. yang sudah menemani kehidupan penulis 24/7, teman suka dan duka, teman makan, teman curhat, teman healing yang selalu membantu dan menemani penulis dalam masa pengerjaan skripsi hingga selesai;
18. Sahabat BBQ Dinop, Billa, Salsa, Cipa, Noni dan Gemi yang sudah menemani kehidupan penulis sebagai teman-teman yang selalu siap untuk dihubungi ketika penulis butuhkan, selalu memberikan kontribusi terbaik dari segi doa, perhatian, dan dukungan kepada penulis.
19. Sahabat KKN Lintik Family Meta, Cela, Sabrina, Ariyanto, Arvient dan Faziah yang selalu memberikan dukungan, semangat, menjadi tempat berbagi cerita dan selalu menghibur penulis;
20. Keluarga besar HIMAFARSI, FSI IBNU SINA dan LUNAR FK UNILA yang telah menjadi keluarga, tempat bertumbuh, belajar berorganisasi, dan menjalin relasi;
21. Teman-teman Farmasi 2020, terimakasih untuk segala kebersamaannya selama 4 tahun ini, yang senantiasa memberikan semangat, dukungan, dan keceriaan yang menjadi peran penting dalam perjalanan studi penulis mulai dari awal hingga akhir;
22. Teman-Teman Trombosit 2020, terimakasih atas kebersamaannya selama ini. Semoga kedepannya kita dapat menjadi teman sejawat yang saling membantu dan mendukung;
23. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan namanya satu-persatu yang telah memberikan bantuan dan dukungan kepada penulis;

Peneliti menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan. Peneliti berharap agar skripsi ini dapat bermanfaat bagi orang banyak dan dapat menambah pengetahuan serta informasi bagi pembaca.

Bandar Lampung, 1 April 2024

Penulis,

Jesica Virginia

## ABSTRACT

### ANTIOXIDANT AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ETHANOL EXTRACT OF WEST LAMPUNG ROBUSTA COFFEE LEAVES (*Coffea canephora*) USING THE *ULTRASONIC ASSISTED EXTRACTION*

By

JESICA VIRGINIA

**Background:** Coffee plants usually have their leaves pruned to avoid complicating harvesting and to encourage flowering and increase fruiting. Coffee leaves resulting from pruning are usually just thrown away so they need further utilization, where coffee leaves have the potential as a therapeutic agent in traditional medicine and have the potential to have antioxidant and antibacterial activity due to their high phenol content. This research aims to determine the antioxidant and antibacterial activity contained in robusta coffee leaves.

**Method:** This research is a laboratory scale experimental research. Extraction was carried out using the sonication method, measuring total phenolics using the *Folin-Ciocalteu* method and measuring total flavonoids using the colorimetric method. Antioxidant activity test using the DPPH method and antibacterial activity test using the cylinder diffusion method.

**Results:** Robusta coffee leaf extract has very strong antioxidant activity with an  $IC_{50}$  value of 34,26 ppm, a total phenolic content value of 219,46 mg GAE/g and a total flavonoid content of 261,93 mg QE/g, and produces the highest inhibitory zone diameter against *Staphylococcus aureus* bacteria was 11,1 mm and against *Escherichia coli* bacteria was 9,5 mm at a concentration of 1000 ppm.

**Conclusion:** Robusta coffee leaves have very strong antioxidant activity with high levels of total phenolics and flavonoids and have a good ability to inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria.

**Keywords:** Robusta coffee leaves, sonication, total phenolics, total flavonoids, antioxidants, antibacterial, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*

## ABSTRAK

### AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN KOPI ROBUSTA LAMPUNG BARAT (*Coffea canephora*) DENGAN METODE *ULTRASONIC ASSISTED EXTRACTION*

Oleh

JESICA VIRGINIA

**Latar Belakang:** Tanaman kopi biasanya dipangkas daunnya agar tidak menyulitkan hasil pemanenan dan mendorong pembungaan serta meningkatkan pembuahan. Daun kopi hasil pemangkasan biasanya terbuang begitu saja sehingga perlu pemanfaatan lebih lanjut, dimana daun kopi memiliki potensi sebagai agen terapi dalam pengobatan tradisional dan berpotensi memiliki aktivitas antioksidan dan antibakteri karena kandungan fenolnya yang tinggi. Penelitian ini, bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan antibakteri yang terkandung pada daun kopi robusta.

**Metode:** Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental skala laboratorium. Ekstraksi dilakukan dengan metode sonikasi, pengukuran total fenolik dengan metode *Folin-Ciocalteu* dan pengukuran total flavonoid dengan metode kolorimetri. Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH serta uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi silinder.

**Hasil:** Ekstrak daun kopi robusta memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat dengan nilai  $IC_{50}$  34,26 ppm, Nilai kadar total fenolik sebesar 219,46 mg GAE/g dan kadar total flavonoid 261,93 mg QE/g, serta menghasilkan diameter zona hambat tertinggi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 11,1 mm dan terhadap bakteri *Escherichia coli* sebesar 9,5 mm pada konsentrasi 1000 ppm.

**Simpulan:** Daun kopi robusta memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan kadar total fenolik dan flavonoid yang tinggi serta memiliki kemampuan yang baik dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

**Kata kunci:** Daun kopi robusta, sonikasi, total fenolik, total flavonoid, antioksidan, antibakteri, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	i
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	v
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	vi
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	vii
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1 Tujuan Umum.....	4
1.3.2 Tujuan Khusus.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1 Bagi Peneliti .....	4
1.4.2 Bagi Peneliti Selanjutnya .....	5
1.4.4 Bagi Ilmu Pengetahuan dan Teknologi .....	5
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	6
2.1 Tanaman Kopi Robusta ( <i>Coffea canephora</i> ).....	6
2.1.1 Definisi Kopi Robusta.....	6
2.1.2 Sejarah Kopi Robusta.....	7
2.1.3 Taksonomi Kopi Robusta.....	7
2.1.4 Morfologi Kopi Robusta .....	8
2.1.5 Kandungan Kopi Robusta .....	9
2.2 Stres Oksidatif .....	11
2.3 Antioksidan .....	13
2.3.1 Definisi Antioksidan .....	13

2.3.2	Klasifikasi Antioksidan .....	14
2.3.3	Mekanisme Kerja Antioksidan .....	15
2.4	Uji Aktivitas Antioksidan.....	16
2.4.1	Pengertian Uji Antioksidan .....	16
2.4.1	Metode DPPH.....	16
2.5	<i>Staphylococcus aureus</i> .....	18
2.5.1	Definisi <i>Staphylococcus aureus</i> .....	18
2.5.2	Klasifikasi <i>Staphylococcus aureus</i> .....	19
2.5.3	Morfologi <i>Staphylococcus aureus</i> .....	19
2.5.4	Patogenesis <i>Staphylococcus aureus</i> .....	20
2.6	<i>Escherichia coli</i> .....	20
2.6.1	Definisi <i>Escherichia coli</i> .....	20
2.6.2	Klasifikasi <i>Escherichia coli</i> .....	21
2.6.3	Morfologi <i>Escherichia coli</i> .....	22
2.6.4	Patogenesis <i>Escherichia coli</i> .....	22
2.7	Ekstraksi dan <i>Ultrasonic - Assisted Extraction (UAE)</i> .....	23
2.7.1	Definisi Ekstraksi.....	23
2.7.2	<i>Ultrasonic Assisted Extraction (UAE)</i> .....	23
2.8	Antibakteri.....	25
2.8.1	Pengertian Antibakteri .....	25
2.8.2	Uji Antibakteri Difusi Silinder .....	25
2.9	Kerangka Teori.....	28
2.10	Kerangka Konsep .....	29
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>		<b>30</b>
3.1	Desain Penelitian.....	30
3.2	Tempat dan Waktu Penelitian .....	30
3.2.1	Tempat Penelitian .....	30
3.2.2	Waktu Penelitian.....	31
3.3	Sampel dan Preparasi Sampel .....	31
3.3.1	Sampel.....	31
3.3.2	Preparasi Sampel.....	31
3.4	Bahan dan Alat Penelitian .....	31
3.4.1	Bahan Penelitian .....	31

3.4.2	Alat Penelitian .....	32
3.5	Prosedur Penelitian.....	32
3.5.1	Determinasi Tanaman .....	32
3.5.2	Pemilihan Daun Kopi Robusta .....	32
3.5.3	Pengekstrakan Daun Kopi Robusta dengan Metode Sonikasi .	32
3.5.4	Analisis kualitatif Fitokimia .....	33
3.5.5	Pengukuran Kadar Total Fenolik.....	34
3.5.6	Pengukuran Kadar Total Flavonoid .....	36
3.5.7	Pengukuran Aktivitas Antioksidan .....	37
3.5.8	Aktivitas Antibakteri dengan Uji Difusi Silinder .....	39
3.6	Variabel Penelitian .....	41
3.6.1	Variabel Bebas.....	41
3.6.2	Variabel Terikat .....	41
3.7	Diagram Alur Penelitian.....	42
3.7.1	Pembuatan Ekstrak.....	42
3.7.2	Pengukuran Kadar Total Fenolik.....	43
3.7.3	Pengukuran Kadar Total Flavonoid .....	44
3.7.5	Penguujian Aktivitas Antibakteri .....	46
3.8	Analisis Data .....	46
3.9	Etika Penelitian .....	47
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>		<b>49</b>
4.1	Hasil Penelitian .....	49
4.1.1	Determinasi Tanaman .....	49
4.1.2	Ekstraksi Daun Kopi Robusta.....	50
4.1.3	Uji Kualitatif Fitokimia.....	50
4.1.4	Uji Total Fenolik.....	50
4.1.5	Uji Total Flavonoid.....	52
4.1.6	Uji Aktivitas Antioksidan.....	53
4.1.7	Uji Aktivitas Antibakteri .....	56
4.1.8	Analisis Data Aktivitas Antibakteri .....	57
4.2	Pembahasan .....	61
4.2.1	Ekstraksi Sampel.....	61
4.2.2	Uji Kualitatif Fitokimia .....	64
4.2.3	Pengukuran Kadar Total Fenolik.....	66

4.2.4 Pengukuran Kadar Total Flavonoid .....	68
4.2.5 Uji Aktivitas Antioksidan.....	69
4.2.6 Uji Aktivitas Antibakteri .....	73
<b>BAB V SIMPULAN DAN SARAN</b> .....	<b>81</b>
5.1 Simpulan.....	81
5.2 Saran.....	81
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	<b>83</b>



## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar</b>	<b>Halaman</b>
<b>Gambar 1.</b> Kopi Robusta .....	8
<b>Gambar 2.</b> Stres Oksidatif .....	11
<b>Gambar 3.</b> Pembentukan Radikal Bebas .....	12
<b>Gambar 4.</b> Pengaruh Stres Oksidatif .....	13
<b>Gambar 5.</b> Radikal Bebas dan Antioksidan .....	14
<b>Gambar 6.</b> Mekanisme DPPH .....	17
<b>Gambar 7.</b> <i>Staphylococcus aureus</i> .....	19
<b>Gambar 8.</b> <i>Escherichia coli</i> .....	21
<b>Gambar 9.</b> <i>Ultrasonic Probe</i> dan <i>Ultrasonic Bath</i> .....	24
<b>Gambar 10.</b> Difusi Silinder .....	26
<b>Gambar 11.</b> Kerangka Teori .....	28
<b>Gambar 12.</b> Kerangka Konsep.....	29
<b>Gambar 13.</b> Bagan Pembuatan Ekstrak .....	42
<b>Gambar 14.</b> Bagan Pengukuran Kadar Total Fenolik .....	43
<b>Gambar 15.</b> Bagan Pengukuran Kadar Total Flavonoid .....	44
<b>Gambar 16.</b> Bagan Pengukuran Antioksidan .....	45
<b>Gambar 17.</b> Bagan Pengujian Antibakteri.....	46
<b>Gambar 18.</b> Kurva Regresi Linear Asam Galat.....	51
<b>Gambar 19.</b> Kurva Regresi Linear Kuersetin .....	53
<b>Gambar 20.</b> Kurva Regresi Linear Asam Askorbat .....	54
<b>Gambar 21.</b> Kurva Regresi Linear Ekstrak Etanol Daun Kopi Robusta .....	55
<b>Gambar 22.</b> Hasil Uji Antibakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	74
<b>Gambar 23.</b> Hasil Uji Antibakteri <i>Escherichia coli</i> .....	75
<b>Gambar 24.</b> Mekanisme Kerja Antibiotik .....	77

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
<b>Tabel 1.</b> Tingkatan Aktivitas Antioksidan .....	18
<b>Tabel 2.</b> kategori Diameter Zona Hambat .....	27
<b>Tabel 3.</b> Hasil Rendemen Ekstrak Daun Kopi Robusta .....	50
<b>Tabel 4.</b> Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Kopi Robusta .....	50
<b>Tabel 5.</b> Absorbansi Asam Galat.....	51
<b>Tabel 6.</b> Total Fenolik Ekstrak Daun Kopi Robusta .....	51
<b>Tabel 7.</b> Absorbansi Kuersetin .....	52
<b>Tabel 8.</b> Total Flavonoid Ekstrak Daun Kopi Robusta .....	53
<b>Tabel 9.</b> Persentase Inhibisi Asam Askorbat.....	54
<b>Tabel 10.</b> Persentase Inhibisi Ekstrak Etanol Daun Kopi Robusta .....	55
<b>Tabel 11.</b> Hasil Uji Antibakteri pada <i>Staphylococcus aureus</i> .....	56
<b>Tabel 12.</b> Hasil Uji Antibakteri pada <i>Escherichia coli</i> .....	57
<b>Tabel 13.</b> Hasil Analisis Univariat <i>Staphylococcus aureus</i> .....	58
<b>Tabel 14.</b> Hasil Analisis Univariat <i>Escherichia coli</i> .....	58
<b>Tabel 15.</b> Hasil Uji Normalitas dan Homogenitas <i>Staphylococcus aureus</i> .....	59
<b>Tabel 16.</b> Hasil Uji <i>One Way Anova Staphylococcus aureus</i> .....	60
<b>Tabel 17.</b> Hasil Uji Normalitas dan Homogenitas <i>Escherichia coli</i> .....	60
<b>Tabel 18.</b> Hasil Uji <i>One Way Anova Escherichia coli</i> .....	60

**DAFTAR LAMPIRAN**

<b>Lampiran</b>	<b>Halaman</b>
<b>Lampiran 1.</b> Surat Hasil Determinasi .....	100
<b>Lampiran 2.</b> Surat Persetujuan Etik.....	101
<b>Lampiran 3.</b> Proses Ekstraksi .....	102
<b>Lampiran 4.</b> Pengujian Aktivitas Antioksidan Sampel .....	106
<b>Lampiran 5.</b> Hasil Perhitungan Aktivitas Antioksidan .....	107
<b>Lampiran 6.</b> Pengukuran Kadar Total Fenolik.....	109
<b>Lampiran 7.</b> Hasil Perhitungan Kadar Total Fenolik .....	110
<b>Lampiran 8.</b> Pengukuran Kadar Total Flavonoid.....	111
<b>Lampiran 9.</b> Hasil Perhitungan Kadar Total Flavonoid .....	112
<b>Lampiran 10.</b> Pengujian Aktivitas Antibakteri.....	113
<b>Lampiran 11.</b> Analisis Data SPSS <i>Staphylococcus aureus</i> .....	114
<b>Lampiran 12.</b> Analisis Data SPSS <i>Escherichia coli</i> .....	115

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Daun kopi robusta (*Coffea Canephora Sp Var. Robusta*) merupakan bagian dari tanaman kopi yang mudah ditemukan di Indonesia. Menurut data Badan Pusat Statistika (BPS) Provinsi Lampung (2019), Kabupaten Lampung Barat merupakan daerah penghasil produksi kopi terbanyak dengan jumlah 52.543 ton atau 40%. Hal ini disebabkan karena wilayahnya yang luas dan juga penduduknya yang mayoritas melaksanakan pekerjaan sebagai petani kopi (Virhananda *et al.*, 2022). Salah satu usaha yang dilakukan untuk meningkatkan produksi buah kopi yaitu dengan pemangkasan daun secara teratur. Tanaman kopi biasanya dipangkas daunnya agar tidak menyulitkan hasil pemanenan dan mendorong pembungaan serta meningkatkan pembuahan (Rahardjo, 2017). Daun kopi hasil pemangkasan biasanya terbuang begitu saja sehingga perlu pemanfaatan lebih lanjut karena selain memiliki kadar polifenol yang cukup tinggi, daun kopi juga memiliki rasa yang tidak kalah nikmat dari biji kopi (Hasanah & Pane, 2021). Kandungan kimia yang dimiliki kopi robusta lebih tinggi dibandingkan pada kopi jenis lain sehingga dapat dimanfaatkan dalam bidang kesehatan (Nayeem *et al.*, 2013). Oleh karena itu, penelitian mengenai daun kopi robusta ini sangat menarik untuk diteliti.

Tubuh manusia membutuhkan keseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan. Jika keseimbangan antara produksi radikal bebas dan pertahanan antioksidan berkurang, sel-sel imun akan memiliki efek buruk pada fungsi tubuh dan menyebabkan terjadinya stres oksidatif (Hajian, 2015). Daun kopi robusta merupakan salah satu contoh tumbuhan yang memiliki potensi sebagai agen terapi dalam pengobatan tradisional dan berpotensi memiliki aktivitas

antioksidan. Daun kopi mengandung fenol yang tinggi, terutama asam klorogenat yang berperan sebagai modulasi respon imun dan antioksidan (Rosyidi *et al.*, 2020). Review artikel yang dilakukan oleh Sari *et al.* (2023), antioksidan tertinggi pada kopi robusta sebesar 9,88 ppm sedangkan pada kopi arabika antioksidan tertinggi sebesar 17,79 ppm. Hasil penelitian uji aktivitas antioksidan yang dilakukan oleh Hasanah *et al.* (2017), ekstrak daun kopi robusta yang diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi diperoleh nilai  $IC_{50}$  sebesar 43,83 ppm. Selain senyawa fenol dalam daun kopi robusta juga terkandung flavonoid, alkaloid dan saponin (Hasanah *et al.*, 2017). Dengan demikian, daun kopi robusta memiliki potensi antioksidan yang menjanjikan.

*Staphylococcus aureus* adalah patogen utama bagi manusia yang menyebabkan penyakit dengan tingkat keparahan yang bervariasi, mulai dari keracunan makanan hingga infeksi kulit ringan sampai berat yang berbahaya bagi tubuh (Triana, 2014). Salah satu penyakit yang sering disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* yaitu pneumonia, dimana menurut Kementerian Kesehatan pada tahun (2013), prevalensinya naik dari 2,1% menjadi 2,7% dalam kurun waktu 5 tahun (Agustina *et al.*, 2019). Selain itu, di Indonesia juga sering dijumpai penyakit pencernaan diare yang banyak disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli* (Sulaiman, 2018). Berdasarkan pola penyebab kematian semua umur, diare merupakan penyebab peringkat ke-13 dengan proporsi 3,5% dilihat dari segi penularan penyakit, diare merupakan peringkat ketiga penyebab kematian setelah Tuberkulosis dan Pneumonia (Wasliah *et al.*, 2020). Jadi dapat dikatakan bahwa bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri yang banyak menginfeksi masyarakat Indonesia.

Meningkatnya angka resistensi terhadap antibiotik dihubungkan dengan efek samping yang merugikan pada tubuh, termasuk hipersensitivitas, penekanan kekebalan, dan reaksi alergi (Panche *et al.*, 2013). Alternatif yang dapat ditempuh untuk menemukan produk antibiotik baru yang berpotensi untuk menghambat atau membunuh bakteri dengan harga yang terjangkau adalah dengan memanfaatkan zat aktif pembunuh bakteri yang terkandung dalam

tanaman obat (Tanauma *et al.*, 2016). Salah satu tanaman yang secara empiris digunakan sebagai obat antibakteri adalah kopi (Widjajanti, 2019).

Penelitian yang dilakukan oleh Muslim & Yonaniko (2018), diperoleh hasil daya hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang dihasilkan oleh ekstrak etanol 70% daun kopi robusta pada konsentrasi 1000 ppm diperoleh diameter zona hambat dengan rata-rata 8,2 mm. Saat ini penelitian mengenai daun kopi robusta masih jarang ditemukan dibandingkan dengan penelitian bijinya. Selain itu, penelitian sebelumnya hanya sebatas menggunakan metode ekstraksi maserasi. Oleh karena itu, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian terhadap daun kopi robusta dengan menggunakan metode ekstraksi terbaru yaitu metode sonikasi menggunakan pelarut etanol. Dimana metode sonikasi ini memiliki kelebihan pada prosesnya yaitu tidak menyebabkan perubahan yang signifikan terhadap struktur kimia sehingga menghasilkan ekstrak yang lebih baik (Wang & Xu, 2014).

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang yang telah diuraikan, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Kandungan metabolit sekunder apa sajakah yang terkandung dalam ekstrak etanol daun kopi robusta (*Coffea canephora*)?
2. Bagaimanakah aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun kopi robusta (*coffee canephora*) yang diekstraksi dengan metode sonikasi?
3. Bagaimanakah kadar total fenolik dan flavonoid ekstrak etanol daun kopi robusta (*coffee canephora*) yang diekstraksi dengan metode sonikasi?

4. Bagaimanakah aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kopi robusta (*coffee canephora*) yang diekstraksi dengan metode sonikasi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*?

### **1.3 Tujuan Penelitian**

#### **1.3.1 Tujuan Umum**

Mengetahui potensi aktivitas antioksidan dan antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dari ekstrak etanol daun kopi robusta (*Coffee canephora*) dengan menggunakan metode sonikasi.

#### **1.3.2 Tujuan Khusus**

1. Mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak etanol daun kopi robusta (*Coffee canephora*) yang diekstraksi dengan metode sonikasi.
2. Mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun kopi robusta (*coffee canephora*) yang diekstraksi dengan metode sonikasi.
3. Mengetahui kadar total fenolik dan flavonoid ekstrak etanol daun kopi robusta (*coffee canephora*) yang diekstraksi dengan metode sonikasi?
4. Mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kopi robusta (*Coffee canephora*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

### **1.4 Manfaat Penelitian**

#### **1.4.1 Bagi Peneliti**

Dapat menambah ilmu pengetahuan dan wawasan peneliti mengenai potensi dari daun kopi robusta (*Coffee canephora*) di wilayah Lampung

yang diekstraksi dengan menggunakan metode sonikasi terhadap aktivitasnya sebagai antioksidan dan antibakteri.

#### **1.4.2 Bagi Peneliti Selanjutnya**

Dapat memberikan informasi mengenai aktivitas antioksidan dan antibakteri ekstrak etanol daun kopi robusta (*Coffea canephora*) yang diekstraksi dengan metode sonikasi sehingga dapat dijadikan alternatif pengobatan terkait suatu penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

#### **1.4.3 Bagi institusi Pendidikan dan Masyarakat**

Memberikan informasi mengenai aktivitas antioksidan dan antibakteri ekstrak etanol daun kopi robusta (*Coffea canephora*).

#### **1.4.4 Bagi Ilmu Pengetahuan dan Teknologi**

Dapat dijadikan sebagai suatu referensi atau sumber pengetahuan tambahan terkait dengan potensi antioksidan dan antibakteri pada daun kopi robusta (*Coffea canephora*).



## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Tanaman Kopi Robusta (*Coffea canephora*)**

##### **2.1.1 Definisi Kopi Robusta**

Kopi robusta adalah satu jenis tanaman kopi dengan nama ilmiah *Coffea canephora*. Berbentuk pohon yang tumbuh tegak, bercabang dan bila dibiarkan akan mencapai tinggi 12 m (Mahbubah *et al.*, 2015). Kondisi lingkungan tumbuh tanaman kopi yang paling berpengaruh terhadap produktivitas tanaman kopi adalah tinggi tempat dan tipe curah hujan. Sebab itu, jenis tanaman kopi yang ditanam harus disesuaikan dengan kondisi tinggi tempat dan curah hujan di daerah setempat (Muljana 2010). Lingkungan tempat tumbuh merupakan faktor utama yang dapat mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan tanaman kopi. Antara jenis kopi satu dengan lainnya menghendaki lingkungan tumbuh yang berbeda-beda (Widayani & Usodri, 2020). Faktor-faktor lingkungan sangat mempengaruhi pertumbuhan tanaman kopi seperti, ketinggian tempat, curah hujan, kondisi tanah, intensitas cahaya dan angin harus disesuaikan agar pertumbuhannya bisa optimal (Priyono *et al.*, 2021).

Kopi robusta (*Coffea canephora*) merupakan komoditas tanaman paling banyak ditanam di Indonesia yaitu sebesar 91% lebih banyak dibandingkan dengan kebun kopi arabika dan berpotensi besar dalam menyumbangkan devisa negara (Hamni *et al.*, 2013). Kopi robusta sesuai namanya bersifat robust yakni pohonnya lebih kuat, tahan

terhadap hama dan penyakit serta tahan terhadap iklim, Oleh karena itu, luas area tanaman kopi robusta di Indonesia lebih banyak sehingga produksi kopi robusta lebih tinggi (Rahardjo, 2012).

### 2.1.2 Sejarah Kopi Robusta

Tanaman kopi di Indonesia pertama kali ditanam oleh pemerintah Hindia Belanda pada tahun 1699 karena Indonesia beriklim tropis, sehingga banyak tanaman dapat tumbuh dengan subur, termasuk tanaman kopi (Raharjo, 2012). Kopi robusta diperkenalkan dan masuk ke Indonesia pada tahun 1900 dan pada tahun 1901 banyak perkebunan di Jawa mengimpor tanaman jenis baru. Semua tanaman ini diperoleh dari perusahaan pembibitan *L'Horticole Coloniale* di Brussel, dengan nama yang dipilih di pasaran *Coffea robusta L* (Anam *et al.*, 2023). Setelah diteliti tanaman tersebut dipastikan lebih tahan terhadap penyakit karat daun. Kemudian pada tahun 1907 tanaman kopi liberika diganti dengan kopi robusta. Upaya kali ini berhasil, jenis kopi robusta terbukti memiliki daya tahan yang lebih baik terhadap penyakit karat daun (Solichah *et al.*, 2020).

Kopi robusta memiliki kemampuan adaptasi yang tinggi dan lebih baik jika dibandingkan dengan spesies kopi lainnya (Galanakis, 2017). Selain tahan penyakit karat daun, kopi ini juga memerlukan syarat tumbuh dan pemeliharaan yang ringan, sedangkan produksinya jauh lebih tinggi (Thamrin *et al.*, 2020). Oleh karena itu, kopi ini cepat berkembang dan mendesak kopi-kopi lainnya. Saat ini lebih dari 90% dari area pertanaman kopi Indonesia terdiri atas kopi robusta (Prastowo *et al.*, 2010).

### 2.1.3 Taksonomi Kopi Robusta

Klasifikasi Kopi robusta (Hirarki Taksonomi) yang bersumber dari *Integrated Taxonomic Information System* (ITIS, 2023) dalam (Anam *et al.*, 2023) yaitu sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Sub kingdom	: <i>Viridiplantae</i>
Super Divisi	: <i>Embryophyte</i>
Divisi	: <i>Tracheophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Sub Kelas	: <i>Asteridae</i>
Ordo	: <i>Gentianales</i>
Famili	: <i>Rubiaceae</i>
Genus	: <i>Coffea L</i>
Spesies	: <i>Coffea canephora Pierre ex A. Froehner</i>



Gambar 1. Kopi Robusta (Riyanti *et al.*, 2020)

#### 2.1.4 Morfologi Kopi Robusta

##### a. Daun

Daun berbentuk oval, ujung meruncing dan bergelombang, ukuran daunnya bervariasi antara 15-25 cm dengan panjangnya 10-15 cm dan melebar di bagian tengah yang tumbuh pada bagian cabang, batang dan ranting. Secara umum ukuran daun kopi robusta lebih lebar daripada daun kopi arabika. Daun bagian batang dan cabang tumbuh berselang seling, sedangkan daun bagian ranting tumbuh dibidang yang sama (Anam *et al.*, 2023). Warna daun kopi robusta cenderung berwarna hijau yang dominan pada permukaan daun, pucuk daun kopi robusta berwarna hijau kecoklatan, dan daun tua

akan berubah menjadi kuning kecoklatan, dimulai dari bagian ujung daun ke pangkal daun (Setiawan *et al.*, 2015).

**b. Bunga**

Bunga pada tanaman kopi robusta tumbuh lebat dan berkelompok pada nodus, berwarna putih, dan baunya harum (Anam *et al.*, 2023).

**c. Buah**

Buah pada tanaman kopi robusta ukurannya lebih kecil dibandingkan dengan buah jenis kopi arabika, kulit buahnya berwarna hijau ketika muda dan saat matang berwarna merah. Buahnya tidak mudah rontok meskipun sudah matang tetap menempel kuat di tangkainya (Anam *et al.*, 2023).

**d. Akar**

Kopi robusta memiliki perakaran tunggang, dimana akar lateral tumbuh dan berkembang di bagian atas permukaan tanah dengan warna kuning muda (Randriani *et al.*, 2016).

### **2.1.5 Kandungan Kopi Robusta**

Kopi robusta memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder, diantaranya yaitu senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, kafein dan polifenol (Millah & Sauqi, 2022). Senyawa polifenol yang cukup dominan yang berasal dari asam fenolik yaitu kafein, asam klorogenat, asam fumarat, asam ferulat, dan asam sinapinik (Muslim & Yonaniko, 2019). Jenis, letak geografis, dan cara pengolahan sangat berpengaruh terhadap kandungan polifenol yang terdapat pada kopi tersebut (Marhaenanto *et al.*, 2015). Daun kopi robusta tua memiliki berbagai keunggulan dibandingkan robusta muda, seperti lebih tahan hama, ukuran daun yang lebih besar, memiliki kadar kafein yang lebih rendah daripada teh hijau, dan memiliki kadar fenol total yang lebih tinggi (Kartika *et al.*, 2019). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Pristiana *et al.* (2017), kadar total fenol daun kopi robusta tua sebesar

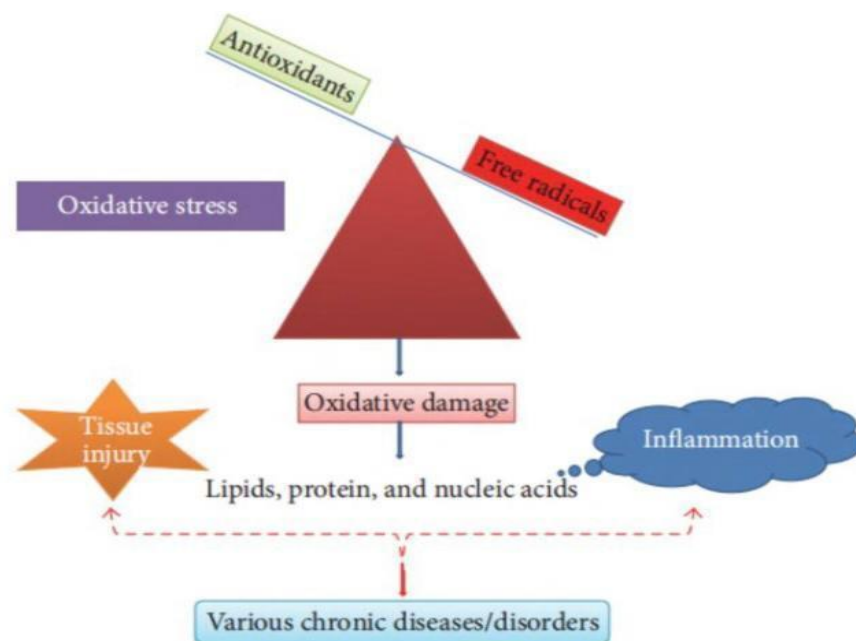
35,7 mg GAE/g, sedangkan pada daun kopi robusta muda sebesar 20,09 mg GAE/g.

Antioksidan pada daun kopi berasal dari aktivitas senyawa metabolit sekunder yang memiliki beberapa mekanisme. Mekanisme flavonoid sebagai antioksidan dengan cara bereaksi dengan radikal bebas, termasuk anion superoksida, radikal peroksil dan radikal hidroksil (Arifin & Ibrahim, 2018). Polifenol bekerja dengan membentuk ion fenoksida yang dapat memberikan satu elektronnya pada radikal bebas sehingga akan menstabilkan radikal bebas (Dhianawaty & Panigoro, 2013). Sedangkan tanin bekerja sebagai antioksidan dengan menghentikan pembentukan radikal bebas dengan cara mengkelat logam besi (Fithriani, 2015). Alkaloid bekerja sebagai antioksidan primer dengan mendonorkan atom hidrogen pada radikal bebas, berbeda dengan saponin yang bekerja sebagai antioksidan sekunder dengan mekanisme membentuk hidroperoksida sehingga menghambat pembentukan lipid peroksida (Kartika *et al.*, 2020).

Selain itu, senyawa metabolit sekunder juga memiliki aktivitas antibakteri. Alkaloid dengan mekanisme menghambat sintesis asam nukleat dan perubahan fungsi membran plasma (Farhadi *et al.*, 2018). Mekanisme kerja flavonoid dibagi menjadi 3 yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energi (Egra *et al.*, 2019). Polifenol dapat mendenaturasi protein sehingga menyebabkan komponen sel rusak dan menghambat kinerja enzim pada dinding sel bakteri (Noviyandri *et al.*, 2020). Saponin, yaitu dengan cara menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel bakteri (Marcellia *et al.*, 2021). Tanin meliputi reaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim, dan penghancuran atau inaktivasi fungsi materi genetik dan sebagai antibakteri diduga dengan cara menghambat sintesis dinding sel sehingga menyebabkan sel mengalami lisis (Muslim & Dephinto, 2019).

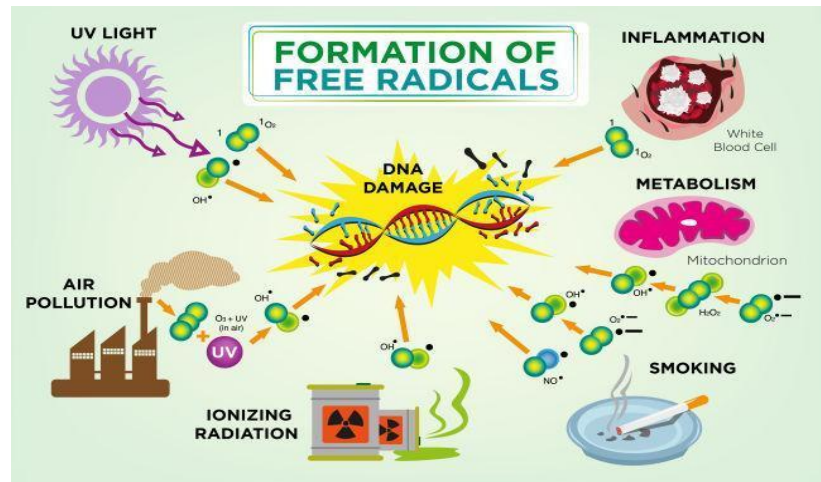
## 2.2 Stres Oksidatif

Dalam proses fisiologis tubuh, radikal bebas yang tidak terkendali dan melebihi batas kapasitas antioksidan di dalam tubuh akan membentuk stres oksidatif. Stres oksidatif dapat merusak komponen lipid, protein, dan karbohidrat (Saputra *et al.*, 2021). Ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan yang mendukung oksidan menimbulkan gangguan sinyal dan kontrol redok dan atau menyebabkan kerusakan molekuler (Handajani, 2019).



**Gambar 2.** Stres Oksidatif (Handajani, 2019)

Stres oksidatif dapat disebabkan karena berkurangnya kadar antioksidan atau enzim antioksidan. Penurunan antioksidan dan mikronutrien yang diperlukan untuk fungsi dari enzim antioksidan (katalase, SOD atau glutathion peroksidase) mengakibatkan akumulasi radikal bebas sehingga memicu terjadinya stres oksidatif (Arulsevan *et al.*, 2016). Selain itu, stresor lingkungan (asap rokok, UV, radiasi pengion, polutan, dan logam berat) dan xenobiotik (obat anti plastik) berkontribusi meningkatkan produksi ROS, sehingga menyebabkan ketidakseimbangan yang mengarah pada kerusakan sel dan jaringan sehingga memicu stres oksidatif (Rahmawati *et al.*, 2023)

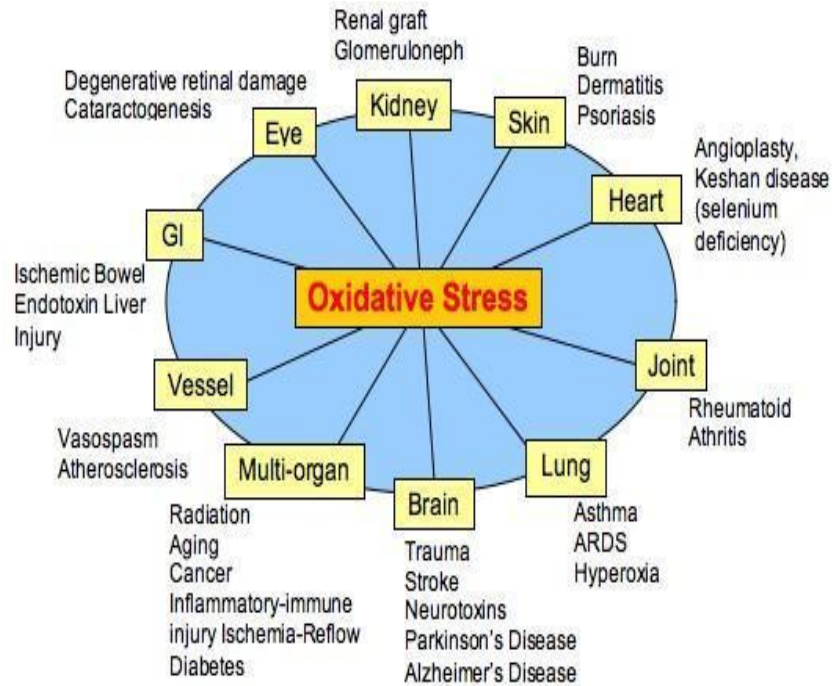


**Gambar 3.** Pembentukan Radikal Bebas (Rahmawati *et al.*, 2023)

Menurut Widyaningsih *et al.* (2017), kerusakan sel yang disebabkan oleh stres oksidatif dipercaya menjadi penyebab berbagai penyakit degeneratif. Stres oksidatif pada sistem biologis sering ditandai dengan beberapa parameter yaitu:

1. Peningkatan radikal bebas dan oksidan lainnya
2. Penurunan antioksidan
3. Ketidakseimbangan reaksi redoks pada sel
4. Kerusakan pada komponen sel seperti, lemak, protein, dan DNA

Stres oksidatif menjadi penyebab utama sebagian besar penyakit, seperti obesitas, diabetes, kanker, penyakit kardiovaskuler, stroke dan penyakit neurodegeneratif. Stres oksidatif merupakan keadaan ketidakseimbangan antara antioksidan dengan oksidan di dalam tubuh yang dapat dipicu oleh radikal bebas yang dapat berasal dari luar (eksogen/paparan faktor lingkungan) atau produk endogen yang berasal dari proses metabolisme seluler dalam kondisi normal (Sunarti, 2021).



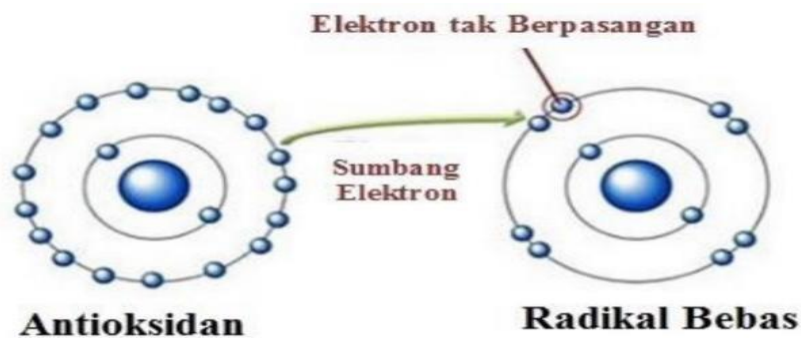
**Gambar 4.** Pengaruh Stres Oksidatif (Sunarti, 2021)

## 2.3 Antioksidan

### 2.3.1 Definisi Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang berguna untuk mengatasi kerusakan oksidatif akibat radikal bebas di dalam tubuh sehingga berperan mencegah berbagai macam penyakit (Syarif *et al.*, 2015). Antioksidan dalam pengertian kimia adalah senyawa pemberi elektron (Erlindawati *et al.*, 2018). Peran antioksidan akan menambahkan atau menghilangkan satu elektron untuk menetralkan ROS, sehingga radikal bebas menjadi stabil dan menghambat proses oksidasi (Mahardani & Yuanita, 2021). Istilah antioksidan berarti semua senyawa yang dapat meredakan dampak negatif radikal bebas dengan menunda, memperlambat dan mencegah terjadinya reaksi oksidasi dari radikal bebas dalam oksidasi lipid (Yuslianti, 2018).





**Gambar 5.** Radikal bebas dan antioksidan (Widyaningsih *et al.*, 2017)

Antioksidan dari tumbuhan merupakan kelompok besar senyawa bioaktif yang terdiri dari flavonoid, senyawa fenolik, senyawa yang mengandung belerang, tanin, alkaloid, diterpen fenolik, dan vitamin (Ibroham *et al.*, 2022). Daun kopi mengandung flavonoid, alkaloid, saponin, kafein, dan polifenol. Asam fenolik yang terkandung dalam daun kopi merupakan senyawa antioksidan yang dapat berfungsi menghilangkan radikal bebas di dalam tubuh (Kusbandari *et al.*, 2014).

### 2.3.2 Klasifikasi Antioksidan

Antioksidan diklasifikasikan menjadi dua kelompok, yaitu antioksidan sintetik (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesis reaksi kimia) dan antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alami) (Erlindawati *et al.*, 2018).

1. Beberapa contoh antioksidan sintetik yang penggunaannya diizinkan untuk makanan dan telah sering digunakan, yaitu *butil hidroksi anisol* (BHA), *butil hidroksil toluen* (BHT), propil galat, *tert-butil hidoksi quinon* (TBHQ) dan tokoferol. Antioksidan diatas merupakan antioksidan alami yang telah diproduksi secara sintetis untuk tujuan komersial (Yuslianti, 2018).
2. Antioksidan alami banyak berasal dari tumbuhan dan senyawa ini tersebar pada beberapa bagian tumbuhan, seperti akar, batang, kulit, daun, bunga, buah, dan biji. Antioksidan alami berfungsi sebagai reduktor, penekan oksigen singlet, perangkap radikal bebas

dan sebagai pengkhelat logam. Antioksidan tersebut meliputi golongan senyawa turunan fenol (Erlindawati *et al.*, 2018).

### 2.3.3 Mekanisme Kerja Antioksidan

Mekanisme kerja dari antioksidan untuk mengurangi senyawa radikal bebas adalah dengan menunda, mencegah, dan menghilangkan kerusakan oksidatif dari molekul target dengan pendinginan radikal bebas, perhelatan logam, menurunkan kadar enzim yang membantu pembentukan radikal bebas, dan menstimulasi enzim antioksidan internal (Arnanda & Nuwarda, 2019). Selain itu antioksidan juga bertanggung jawab dalam menstabilkan radikal bebas dengan menyumbangkan atom hidrogen yang membentuk kompleks senyawa yang lebih stabil (Yadav *et al.*, 2016).

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antioksidan digolongkan menjadi tiga kelompok, yaitu antioksidan primer, sekunder, dan tersier (Yuslianti, 2018).

#### 1. Antioksidan Primer

Bekerja dengan mengubah reaktivitas radikal bebas menjadi kurang reaktif, membuatnya tidak berbahaya bagi sel tubuh manusia dan mencegah pembentukan radikal bebas baru.

#### 2. Antioksidan Sekunder

Merupakan senyawa yang mempunyai fungsi untuk menangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi berantai sehingga tidak menimbulkan kerusakan. Antioksidan dapat diperoleh dari berbagai sumber makanan seperti sayur dan buah-buahan.

#### 3. Antioksidan Tersier

Bekerja dengan cara memperbaiki sel dan jaringan yang rusak akibat serangan radikal bebas.

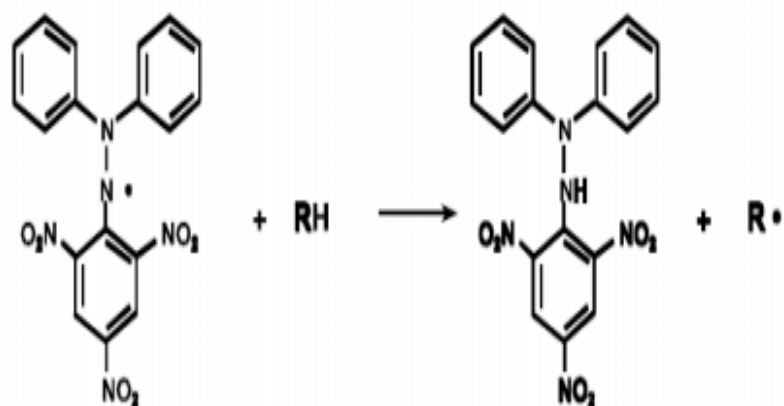
## 2.4 Uji Aktivitas Antioksidan

### 2.4.1 Pengertian Uji Antioksidan

Uji antioksidan adalah uji yang dilakukan untuk mendeteksi senyawa antioksidan pada suatu sampel. Antioksidan adalah sifat dari suatu senyawa yang dapat melawan radikal bebas. Uji aktivitas antioksidan terdiri atas metode *in vivo* dan *in vitro*. Namun para peneliti lebih mengembangkan metode *in vitro* karena metode *in vivo* membutuhkan waktu pengerjaan yang lama. Metode antioksidan secara *in vitro* terbagi menjadi metode *1,1-difenil-2-pikrilhidrazil* (DPPH), xantin oksidase, tiosianat, dan deoksiribosa (Sharma, 2014).

### 2.4.1 Metode DPPH

DPPH atau (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) merupakan suatu radikal bebas sintetik yang dapat larut dalam senyawa polar seperti etanol dan metanol (Malik *et al.*, 2013). Metode DPPH adalah metode yang paling sering digunakan dalam pengukuran aktivitas antioksidan dalam sampel dengan melihat kemampuannya dalam menangkal radikal bebas (Kurniasih *et al.*, 2015). Dimana prinsipnya adalah pengukuran kadar berdasarkan jumlah elektron ganjil pada molekul DPPH yang memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 517 nm yang berwarna ungu (Alam *et al.*, 2013).



**Gambar 6.** Mekanisme DPPH (Irianti *et al.*, 2021)

Senyawa antioksidan bereaksi dengan radikal DPPH melalui mekanisme pemberian atom hidrogen yang menyebabkan terjadinya perubahan warna dari ungu ke kuning (Setiawan *et al.*, 2018). Semula DPPH yang berwarna ungu pekat memberikan serapan pada panjang gelombang 517 nm namun setelah mengalami reduksi maka DPPH akan berubah menjadi senyawa *difenil pikril hidrazin* yang warnanya akan memudar menjadi warna kuning dan nilai serapannya akan sebanding dengan jumlah elektron yang diterima (Wulansari, 2018). Hasil senyawa uji DPPH biasanya dibandingkan dengan nilai  $IC_{50}$  dari vitamin C, vitamin E, atau kuersetin yang merupakan senyawa antioksidan alami (Sami *et al.*, 2019).

Kelebihan metode DPPH yaitu memerlukan sampel dalam jumlah sedikit, metodenya sederhana, mudah, cepat dan peka. Selain itu juga mudah diterapkan karena senyawa radikal DPPH yang digunakan bersifat relatif lebih stabil dibanding metode lainnya (Rahmawati *et al.*, 2016). Metode DPPH dapat digunakan dalam bentuk sampel larutan atau padat, metode ini juga akurat dan murah untuk menguji kemampuan komponen dalam menjebak senyawa radikal (Mariani *et al.*, 2018). Penyimpanan bahan lebih stabil dan tidak mudah rusak dibandingkan dengan bahan pada metode ABTS dan FRAP (Ibroham

*et al.*, 2022). Namun, pengujian menggunakan DPPH terbatas karena DPPH hanya dapat dilarutkan dalam pelarut organik sehingga agak sulit untuk menganalisis senyawa yang bersifat hidrofilik (Wulansari, 2018).

Tingkatan aktivitas antioksidan pada metode DPPH diklasifikasikan menjadi:

**Tabel 1.** Tingkatan Aktivitas Antioksidan (Kurniawati & Sutoyo, 2021)

Nilai IC <sub>50</sub> (ppm)	Kekuatan Antioksidan
<50	Sangat kuat
50-100	Kuat
100-150	Sedang
150-200	Lemah
>200	Sangat lemah

Hasil dari uji aktivitas antioksidan dinyatakan dengan nilai IC<sub>50</sub> yaitu konsentrasi antioksidan yang diperlukan untuk menghambat 50% radikal DPPH (Kurniawati & Sutoyo, 2021).

## 2.5 *Staphylococcus aureus*

### 2.5.1 Definisi *Staphylococcus aureus*

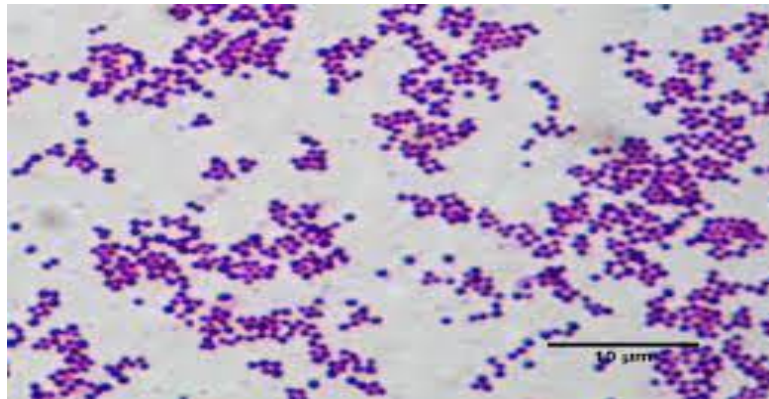
*Staphylococcus aureus* adalah salah satu bakteri patogen penting yang berkaitan dengan virulensi toksin, invasif, dan memiliki ketahanan terhadap antibiotik (Rahmi *et al.*, 2015). *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu bakteri penyebab infeksi tersering di dunia dengan tingkat keparahan infeksi yang bervariasi, mulai dari infeksi minor di kulit, infeksi traktus urinarius, infeksi traktus respiratorius, sampai infeksi mata dan *Central nervous system* (Septiani *et al.*, 2017). Beberapa penyakit yang disebabkan bakteri *Staphylococcus aureus* adalah mastitis, dermatitis, infeksi saluran pernafasan, impetigo, abses, sindrom syok toksik dan keracunan makanan dengan gejala seperti mual muntah dan diare (Wikananda *et al.*, 2019). *Staphylococcus*

*aureus* merupakan penyebab utama infeksi kulit dan jaringan lunak pada manusia. Infeksi kulit yang diderita umumnya dapat sembuh dengan sendirinya namun akibat dari infeksi kulit tersebut juga dapat memberikan jalan masuk bagi patogen lain untuk menyerang jaringan tubuh yang lebih dalam (Kwiecinski & Horswill, 2020).

### 2.5.2 Klasifikasi *Staphylococcus aureus*

Klasifikasi ilmiah bakteri genus *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut (Soedarto, 2015) :

Domain : *Bacteria*  
Kingdom : *Eubacteria*  
Phylum : *Firmicutes*  
Class : *Bacilli*  
Ordo : *Bacillales*  
Family : *Staphylococcaceae*  
Genus : *Staphylococcus*  
Species : *Staphylococcus aureus*



**Gambar 7.** *Staphylococcus aureus* (Brooks *et al.*, 2013).

### 2.5.3 Morfologi *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif berbentuk bulat berdiameter 0,7-1,2  $\mu\text{m}$ , yang tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur, fakultatif anaerob, tidak

membentuk spora, dan tidak bergerak (Jawetz *et al.*, 2012). *Staphylococcus aureus* berbentuk bulat atau oval. Bakteri ini merupakan jenis bakteri yang tidak bermigrasi dan setelah terjadinya pembelahan sel-sel anak bakteri cenderung tetap berada pada sel induknya (Liesenborghs, 2018). *Staphylococcus aureus* adalah bakteri gram-positif (pewarnaan ungu oleh pewarnaan gram) yang berbentuk coccus dan cenderung tersusun dalam kelompok. Di media, organisme ini dapat tumbuh dalam garam hingga 10%, dan koloni seringkali berwarna emas atau kuning (Krihariyani *et al.*, 2016). Pada pewarnaan jika diamati di bawah mikroskop akan terlihat bentuk bulat-bulat bergerombol seperti anggur (Soedarto, 2015).

#### **2.5.4 Patogenesis *Staphylococcus aureus***

*Staphylococcus aureus* menyebabkan penyakit pada manusia melalui invasi jaringan atau karena pengaruh toksin yang dihasilkannya. Infeksi dimulai dari tempat koloni patogen pada tubuh, lalu ditularkan melalui tangan ke tempat bakteri dapat memasuki tubuh (Soedarto, 2015). *Staphylococcus aureus* menghasilkan berbagai macam produk akhir metabolisme dan ada yang memiliki peran dalam patogenitas. Seperti koagulase, leukosidin, hemolisin dan enterotoksin. Koagulase dapat menyebabkan pembekuan darah, leukosidin mampu melisis sel-sel darah putih, hemolisin aktif melawan sel-sel darah merah dan enterotoksin bertanggungjawab atas suatu tipe gastroenteritis (Cappuccino & Sherman, 2014).

## **2.6 *Escherichia coli***

### **2.6.1 Definisi *Escherichia coli***

*Escherichia coli* adalah salah satu jenis spesies dari bakteri gram negatif yang biasanya ditemukan pada saluran pencernaan manusia dan hewan (Meilisnawaty *et al.*, 2015). *Escherichia coli* disebut oportunistik, karena sering dijumpai dan dapat hidup pada jaringan tubuh makhluk hidup, bahkan dapat dijumpai dalam tanah dan sampah (Kuswiyanto,

2014). *E coli* juga merupakan bakteri penyebab infeksi dan penyakit yang bersifat patogen yang ditemukan di dalam usus manusia dan berperan dalam proses pengeluaran zat sisa pada saluran pencernaan dan dapat menginfeksi usus sehingga menimbulkan diare (Puteri & Milanda, 2017).

*Escherichia coli* adalah bakteri anaerob fakultatif yang dapat tumbuh pada keadaan aerob maupun anaerob. Bakteri yang tergolong dalam anaerob fakultatif merupakan bakteri patogen yang sering dijumpai, memiliki bentuk batang pendek dengan ukuran 0,4-0,7  $\mu\text{m}$  x 1,4  $\mu\text{m}$ , bersifat motil (dapat bergerak), tidak memiliki nukleus, organel eksternal maupun sitoskeleton tetapi memiliki organel eksternal yakni vili yang merupakan filamen tipis dan lebih panjang (Mahon, 2015).

#### 2.6.2 Klasifikasi *Escherichia coli*

Klasifikasi *Escherichia coli* adalah sebagai berikut (Sutiknowati, 2016):

Kingdom : *Eubacteria*  
Filum : *Proteobacteria*  
Kelas : *Gammaproteobacteria*  
Ordo : *Enterobacteriales*  
Famili : *Enterobacteriaceae*  
Genus : *Escherichia*  
Spesies : *Escherichia coli*



Gambar 8. *Escherichia coli* (CDC, 2015).



### 2.6.3 Morfologi *Escherichia coli*

*Escherichia coli* termasuk pada famili *Enterobacteriaceae* yang merupakan bakteri gram negatif yang berbentuk batang pendek atau sering disebut kokobasil. Bakteri ini mempunyai flagel, yang mempunyai ukuran 0,4-0,7  $\mu\text{m}$  x 1,4  $\mu\text{m}$  dan memiliki simpai (Radji, 2011). *Escherichia coli* memiliki panjang sekitar 2  $\mu\text{m}$ , diameter 0,7  $\mu\text{m}$ , lebar 0,4-0,7  $\mu\text{m}$ , dan bersifat anaerob fakultatif, serta membentuk koloni yang bundar, cembung, dan halus dengan tepi yang nyata (Hidayati *et al.*, 2016). *Escherichia coli* merupakan bakteri yang memiliki 150 tipe antigen O, 50 tipe antigen H, dan 90 tipe antigen K. Beberapa antigen O dapat dibawa oleh mikroorganisme lain, sehingga sama seperti yang dimiliki oleh *Shigella*. Terkadang penyakit yang spesifik berhubungan dengan antigen O, dapat ditemukan pada penyakit infeksi saluran kemih dan diare (Karsinah, 2011).

### 2.6.4 Patogenesis *Escherichia coli*

Bakteri ini akan menjadi patogen jika jumlahnya di dalam saluran pencernaan meningkat atau berada di luar usus (Jawetz, 2005). Menurut Radji (2010), bakteri *Escherichia coli* memiliki faktor virulensi berupa:

1. Antigen permukaan : *Escherichia coli* memiliki sedikitnya 2 tipe fimbria yaitu tipe manosa sensitif dan tipe manosa resisten untuk membantu pelekatan pada sel hospes.
2. Enterotoksin : *Escherichia coli* menghasilkan 2 jenis enterotoksin yaitu toksin termolabil (LT) yang dapat menyebabkan peningkatan permeabilitas sel epitel usus sehingga menyebabkan diare dan toksin termostabil (ST) yang dapat menyebabkan gangguan absorpsi klorida dan natrium.
3. Hemolisin : merupakan protein yang bersifat toksik terhadap sel pada biakan jaringan. serotipe *Escherichia coli* hemolitik bersifat lebih patogen.

## **2.7 Ekstraksi dan *Ultrasonic - Assisted Extraction* (UAE)**

### **2.7.1 Definisi Ekstraksi**

Ekstraksi merupakan suatu proses penyarian zat aktif dari bagian tanaman obat yang bertujuan untuk menarik komponen kimia. Proses ekstraksi pada dasarnya adalah proses perpindahan massa dari komponen zat padat yang terdapat pada simplisia ke dalam pelarut organik yang digunakan. Pelarut organik akan menembus dinding sel dan akan masuk kedalam rongga sel tumbuhan yang mengandung zat aktif, yang kemudian akan terlarut dalam pelarut organik pada luar sel untuk selanjutnya berdifusi ke dalam pelarut (Marjoni, 2016). Pemilihan metode ekstraksi yang ideal didasarkan beberapa alasan tertentu seperti sifat bahan alam, kestabilan metabolit sekunder, rendemen ekstrak, kualitas yang diinginkan, maupun karena alasan kemudahan, biaya dan waktu (Agung, 2017).

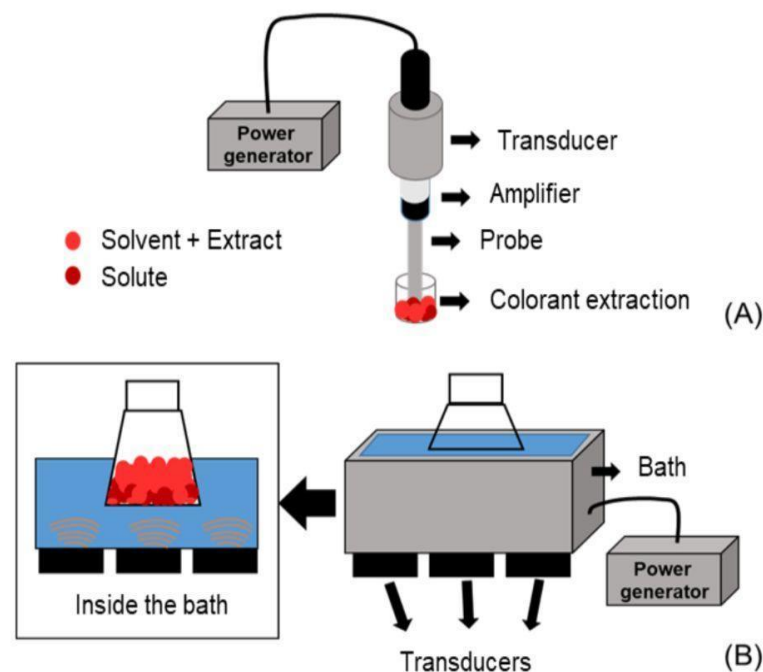
Ekstrak adalah sediaan kering, kental, atau cair yang dihasilkan dengan mengekstraksi simplisia nabati atau hewani dengan cara yang tepat (Tambun *et al.*, 2016). Setelah dilakukan ekstraksi kemudian pelarut diuapkan dengan masa yang tersisa yang diperlukan sedemikian rupa sehingga memenuhi standar bahan baku yang digunakan (Nugroho, 2017). Salah satu faktor yang menentukan kualitas hasil ekstraksi adalah jenis pelarut dan lama waktu ekstraksi. Secara umum etanol merupakan pelarut yang banyak digunakan untuk memisahkan senyawa organik dari bahan alam karena dapat melarutkan semua golongan metabolit sekunder (Yuswi, 2017).

### **2.7.2 *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE)**

*Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) yang biasanya juga dikenal sebagai ekstraksi ultrasonik dan sonikasi adalah metode ekstraksi yang memanfaatkan energi yang berasal dari gelombang ultrasonik (Zhang *et al.*, 2018). *Ultrasound-Assisted Extraction* menawarkan alternatif

yang murah, ramah lingkungan, cepat dan efisien daripada teknik ekstraksi konvensional. Peningkatan ekstraksi yang diperoleh dengan menggunakan *ultrasound* terutama disebabkan oleh efek kavitasi akustik yang dihasilkan dalam pelarut. Metode ini juga memberikan efek mekanis yang memungkinkan penetrasi pelarut menjadi lebih besar ke dalam matriks sampel, meningkatkan area permukaan kontak antara fase padat dan cair, dan sebagai hasilnya zat terlarut lebih cepat berdifusi dari fase padat ke dalam pelarut (Tiwari & Cullen, 2013).

Sampel yang sudah disiapkan kemudian dicampur dengan pelarut untuk ekstraksi yang sesuai dan dimasukkan ke dalam alat ultrasonik (Abu & Mainul, 2020). *Ultrasound-Assisted Extraction* menggunakan energi akustik (energi mekanik yang tidak diserap oleh molekul tetapi ditransmisikan ke seluruh media) dan pelarut untuk mengekstraksi senyawa target dari berbagai matriks tanaman. Gelombang ultrasonik ditransmisikan melalui media melalui gelombang tekanan dengan menginduksi getaran molekul yang secara bergantian menekan dan meregangkan struktur molekul medium (Mandal *et al.*, 2015)



**Gambar 9.** A). *Ultrasonic Probe* dan (B). *Ultrasonic Bath* (Martins *et al.*, 2019)

## 2.8 Antibakteri

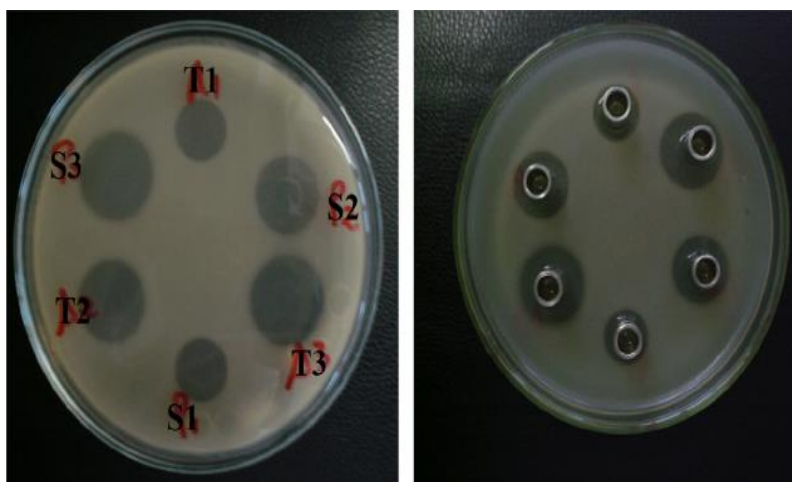
### 2.8.1 Pengertian Antibakteri

Pertumbuhan bakteri penyebab infeksi dan penyakit perlu dihambat dengan antibakteri (Paju *et al.*, 2013). Senyawa antibakteri adalah senyawa kimiawi atau biologis baik alami maupun sintetik yang dapat menghambat pertumbuhan dan aktivitas bakteri (Nurhayati *et al.*, 2020). Antibakteri termasuk kedalam antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri yang dimaksudkan untuk mencegah penyebaran penyakit dan infeksi, membasmi mikroorganisme pada inang yang terinfeksi, dan mencegah pembusukan serta kerusakan bahan oleh mikroorganisme (Utomo *et al.*, 2018). Faktor-faktor yang mempengaruhi aktivitas zat antibakteri adalah pH, suhu stabilitas senyawa, jumlah bahan yang ada, lamanya inkubasi pada aktivitas metabolisme bakteri (Ermawati & Yuli, 2020). Mekanisme kerja antibakteri dapat melalui berbagai cara, seperti menghambat sintesis dinding sel, menghambat ketahanan permeabilitas dinding sel, menghambat protein dinding sel, menghambat sintesis asam nukleat, dan menghambat metabolisme sel mikroba (Jawetz *et al.*, 2005).

### 2.8.2. Uji Antibakteri Difusi Silinder

Uji aktivitas antibakteri dilakukan untuk mengetahui efektivitas suatu senyawa antibakteri dalam menghambat pertumbuhan suatu bakteri (Jawetz *et al.*, 2012). Pengujian aktivitas antibakteri adalah teknik untuk mengukur berapa besar potensi atau konsentrasi suatu senyawa untuk dapat memberikan efek bagi mikroorganisme berdasarkan acuan ketentuan kekuatan aktivitas antibakteri dari diameter zona hambatan yang terbentuk (Sari *et al.*, 2022). Uji aktivitas antibakteri terdiri dari dua metode, yaitu metode difusi dan dilusi (Soleha, 2015). Metode difusi yang banyak digunakan diantaranya metode difusi cakram, difusi sumuran dan difusi silinder, metode gradient antimikroba dan metode sumuran. Sedangkan pada metode dilusi yang sering digunakan yaitu metode dilusi broth dan metode dilusi agar (Balouiri *et al.*, 2016).

Metode silinder adalah metode pengujian aktivitas antibakteri yang dilakukan dengan cara meletakkan silinder gelas steril yang terbuat dari besi di atas media agar yang telah diinokulasi bakteri. Tiap silinder ditempatkan sedemikian rupa sehingga berdiri di atas media agar, kemudian silinder diisi dengan larutan sampel yang akan diuji dan diinkubasi selama 24 jam. Kemudian dilihat adanya zona bening disekitar silinder. Zona bening tersebut kemudian diukur diameternya menggunakan jangka sorong (Tenda *et al.*, 2017). Kelebihan metode ini yaitu metodenya sederhana karena penggunaannya yang mudah digunakan, dapat menampung lebih banyak ekstrak dan jumlah zat yang dimasukkan pada media agar jelas sedangkan kekurangannya memiliki resiko tinggi karena silinder dapat jatuh (Jawetz *et al.*, 2005).



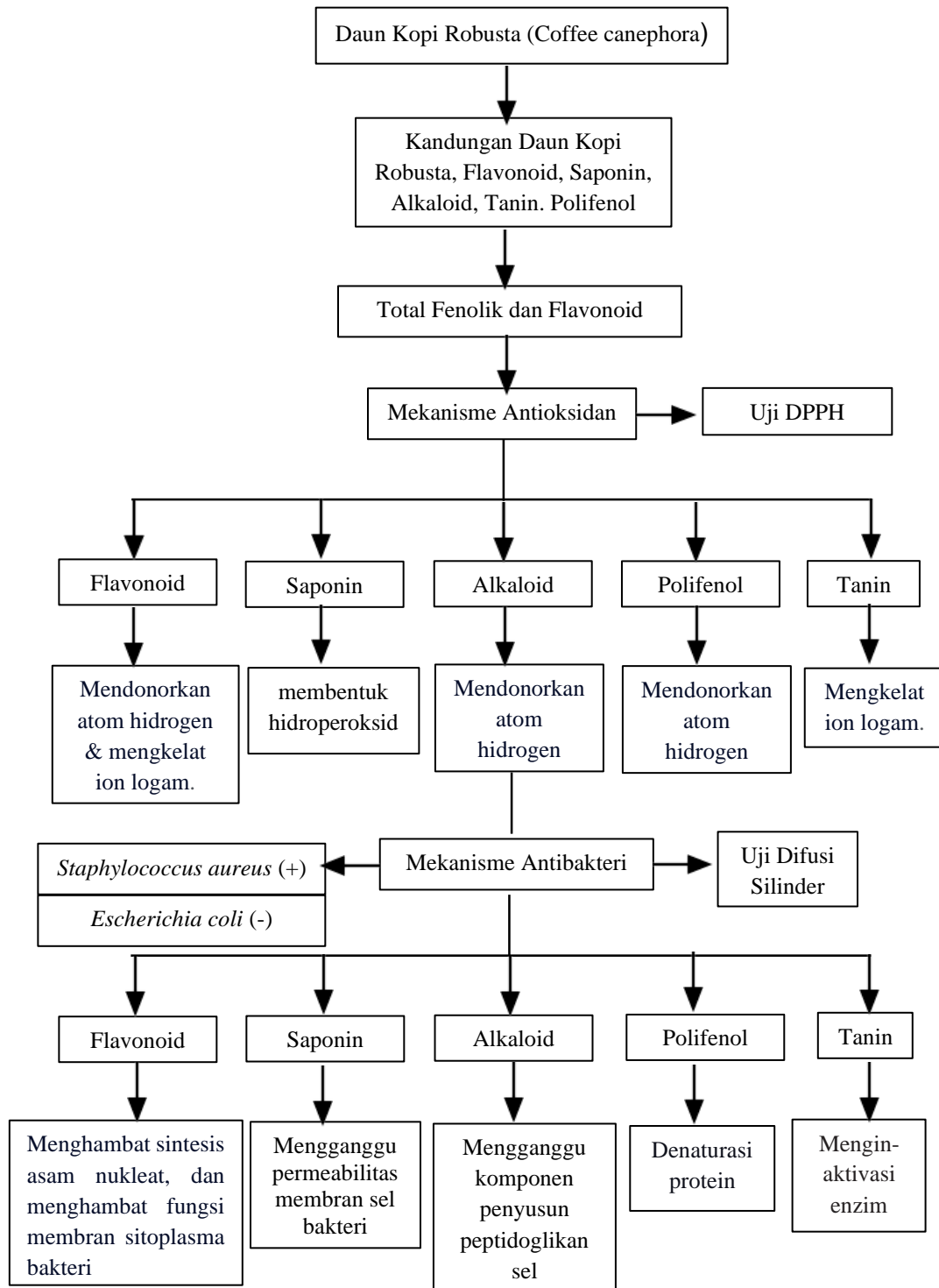
**Gambar 10.** Difusi Silinder (Costa *et al.*, 2014).

Interpretasi hasil metode difusi silinder dibagi menjadi kategori daya hambat lemah, sedang, kuat, dan sangat kuat, berdasarkan pengukuran diameter zona hambat yang didapatkan seperti pada tabel (Surjowardojo *et al.*, 2015).

**Tabel 2.** kategori diameter zona hambat (Surjowardojo *et al.*, 2015)

Diameter zona hambat	Kategori
< 5 mm	Lemah
6-10 mm	Sedang
11-20 mm	Kuat
> 21	Sangat kuat

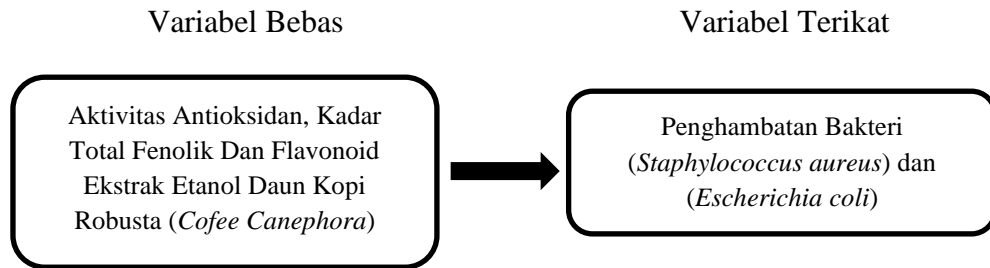
## 2.9 Kerangka Teori



Gambar 11. Kerangka Teori

## 2.10 Kerangka Konsep

Adapun kerangka konsep pada penelitian ini adalah sebagai berikut:



**Gambar 12.** Kerangka Konsep



## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Desain Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen skala laboratorium. Ekstraksi daun kopi robusta (*Coffea canephora*) dilakukan dengan menggunakan metode *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) menggunakan pelarut etanol 96%. Pengukuran total fenolik menggunakan metode *Folin-Ciocalteu* dan pengukuran total flavonoid dilakukan menggunakan metode kolorimetri yaitu dengan penambahan  $AlCl_3$ . Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dan untuk menguji aktivitas antibakteri digunakan metode uji difusi silinder terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

#### **3.2 Tempat dan Waktu Penelitian**

##### **3.2.1 Tempat Penelitian**

Determinasi sampel dilakukan di Laboratorium Botani, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Pembuatan ekstrak, analisis kualitatif fitokimia, uji kadar total fenolik, uji kadar total flavonoid dan uji antioksidan dilakukan di Laboratorium Kimia Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung. Uji antibakteri (*Staphylococcus aureus*) dan (*Escherichia coli*) dilakukan di Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi (LTSIT), Universitas Lampung.

### 3.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan November 2023 sampai Januari 2024.

## 3.3 Sampel dan Preparasi Sampel

### 3.3.1 Sampel

Sampel penelitian menggunakan daun kopi robusta Lampung Barat yang berusia tua karena memiliki kadar fenol total lebih tinggi dibandingkan dengan daun muda.

### 3.3.2 Preparasi Sampel

Daun kopi robusta yang segar dicuci bersih di air mengalir kemudian dilakukan proses pengeringan dengan penjemuran dibawah sinar matahari menggunakan penutup kain berwarna hitam. Setelah kering sampel dihaluskan untuk mendapatkan simplisia. Sampel ekstrak daun kopi robusta (*Coffea canephora*) diperoleh dari ekstraksi dengan menggunakan metode *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) menggunakan pelarut etanol 96% dan untuk mendapatkan ekstrak kental dilakukan proses penguapan pelarut dengan menggunakan *rotary evaporator*.

## 3.4 Bahan dan Alat Penelitian

### 3.4.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kopi robusta (*Coffea canephora*) yang diperoleh dari Lampung Barat, Pelarut etanol 96%, pereaksi *Lc Bouchart*, pereaksi *Dragendorff*, pereaksi HCl pekat, pereaksi  $\text{FeCl}_3$ , serbuk zink, kloroform. *Folin-Ciocalteu*.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7,5%, asam galat,  $\text{AlCl}_3$ , asam asetat, kuersetin, *1-Difenil-2-Pikrilhidrazil*, asam askorbat, metanol pro analisis, aquades steril, DMSO (*Dimethylsulfoxide*) 5%, *Nutrient Agar*, *Tryptic Soy Broth* (TSB), NaCl

0,9%, larutan standar 0,5 Mc Farland, antibiotik amoksisilin, mikroorganisme berupa patogen bakteri gram positif (*Staphylococcus aureus*) dan bakteri gram negatif (*Escherichia coli*).

### **3.4.2 Alat Penelitian**

Alat yang digunakan yaitu jas lab, masker, *handscoon*, *beaker glass*, gelas ukur, labu ukur, labu alas bulat, batang pengaduk, erlenmeyer, corong, rak dan tabung reaksi, neraca analitik, gunting, kertas saring, kertas perkamen, aluminium foil, plastik wrap, blender, seperangkat alat *rotary evaporator* merk IKA, *ultrasonic cleaning bath* merek BAKU BK-2000, autoklaf, inkubator, oven, *laminar air flow*, dan spektrofotometer UV-Vis, inkubator, mikropipet, silinder, bunsen, pipet volume, blue tip, yellow tip, tabung reaksi, rak tabung reaksi, cawan petri, kapas lidi steril, jarum ose dan jangka sorong.

## **3.5 Prosedur Penelitian**

### **3.5.1 Determinasi Tanaman**

Determinasi daun kopi robusta (*Coffea canephora*) Lampung Barat dilakukan di Laboratorium Botani Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

### **3.5.2 Pemilihan Daun Kopi Robusta**

Sampel yang dipilih merupakan daun kopi robusta Lampung Barat yang berusia tua karena memiliki kadar fenol total lebih tinggi dibandingkan dengan daun muda.

### **3.5.3 Pengekstrakan Daun Kopi Robusta dengan Metode Sonikasi**

Serbuk simplisia daun kopi ditimbang sebanyak 30 gram dan dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer 250 ml, kemudian tambahkan pelarut etanol 96% sebanyak 200 ml dan ekstraksi menggunakan *ultrasonic bath* pada suhu 40°C selama 30 menit. Setelah proses ekstraksi selesai, hasilnya disaring dengan menggunakan kertas saring

lalu dimasukkan ke labu erlenmeyer. Selanjutnya ekstrak cair yang telah disaring dilakukan pemekatan dalam *rotary evaporator* pada suhu 40°C agar diperoleh ekstrak kental. Setelah diperoleh ekstrak kental baru ditentukan persentase rendemennya.

#### 3.5.4 Analisis kualitatif Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan suatu metode yang dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak tanaman (Putri *et al.*, 2013). Ekstrak tanaman yang ingin diuji terlebih dahulu dimasukan dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan dengan reagen pendeteksi. Perubahan yang terjadi pada ekstrak akan menentukan kandungan senyawa yang terkandung dalam ekstrak tanaman tersebut (Purwati *et al.*, 2017). Pada hakikatnya skrining fitokimia merupakan analisis secara kualitatif pada kandungan kimia yang terdapat di dalam tanaman, terutama kandungan metabolit sekunder yang merupakan senyawa bioaktif seperti alkaloid, antrakuinon, flavonoid, kumarin, saponin, tanin, polifenol dan minyak atsiri (Marjoni & Ismail, 2016).

##### 1. Uji Saponin

Sebanyak 2-3 ml ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 10 ml air panas lalu didinginkan, kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik lalu ditambahkan 1 tetes HCl<sub>2</sub>N. Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang stabil setinggi 1-10 cm selama tidak kurang dari 10 menit (Wahid & Safwan, 2019).

##### 2. Uji Flavonoid

Pada uji flavonoid sebanyak 1 ml ekstrak dimasukan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan serbuk *Zinc Hydrochloride* 0,5 gr dan 1 ml HCl pekat kemudian dikocok. Jika terdapat perubahan magenta berarti sampel tersebut positif mengandung flavonoid (Abubakar & Mainul, 2020).

### 3. Uji Tanin

Sebanyak 1 ml ekstrak yang dilarutkan dalam etanol ditambahkan dengan pereaksi  $\text{FeCl}_3$ . Ekstrak yang mengandung tanin akan berwarna biru atau hijau kehitaman (Novriyanti *et al.*, 2022).

### 4. Uji Alkaloid

#### a. Uji *Mayer*

Sebanyak 1 ml larutan ekstrak ditambahkan 5 tetes reagen mayer di sepanjang sisi tabung reaksi. Uji positif ditunjukkan dengan warna kuning atau endapan putih (Shaikh & Patil, 2020).

#### b. Uji *Wagner*

Sebanyak 1 ml larutan ekstrak ditambahkan 5 tetes reagen wagner di sepanjang sisi tabung reaksi. Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna kemerahan atau endapan coklat (Shaikh & Patil, 2020).

#### c. Uji *Dragendorf*

Sebanyak 1 ml larutan ekstrak ditambahkan 5 tetes reagen *dragendorf* di sepanjang sisi tabung reaksi. Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna kemerahan atau endapan coklat (Shaikh & Patil, 2020).

### 5. Uji Polifenol

Sebanyak 1 ml larutan ekstrak ditambahkan beberapa tetes  $\text{FeCl}_3$ . Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau-biru kehitaman (Kusumo *et al.*, 2022).

### 3.5.5 Pengukuran Kadar Total Fenolik

Uji total fenolik dilakukan untuk mengetahui berapa kandungan total fenolik yang terdapat pada ekstrak daun kopi menggunakan metode *Folin-Ciocalteu* sesuai dengan yang telah dilakukan oleh (Rahman *et al.*, 2021) dengan beberapa modifikasi.

#### 1. Pembuatan Reagen

- a. Pembuatan larutan induk asam galat (100 ppm) Sebanyak 10 mg asam galat dicampur dengan 0,5 ml etanol pro analisis, kemudian ditambahkan aquades sampai mencapai volume 100 ml.
  - b. Pembuatan larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7,5%  
Sebanyak 7,5 g  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  dicampur dengan 80 ml aquades, kemudian campuran dididihkan dan dibiarkan terus mendidih sampai bubuk  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  larut seluruhnya. Setelah itu, campuran tersebut didiamkan selama 24 jam, disaring, dan ditambahkan aquades hingga volumenya mencapai 100 ml.
2. Analisis Kadar Total Fenolik Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis
- a. Penentuan panjang gelombang maksimal  
Sebanyak 200  $\mu\text{l}$  larutan asam galat dimasukkan ke labu ukur 10 ml dan ditambahkan 0,5 ml reagen *Folin-Ciocalteu*. Lalu ditambahkan 2 ml larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7,5%, ditambahkan aquades sampai tanda batas dan digojog sampai homogen, kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 60 menit. Absorbansi kemudian diukur pada panjang gelombang 600-800 nm.
  - b. Penentuan kurva baku asam galat  
Larutan asam galat dibuat dalam seri konsentrasi 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm, dan 5 ppm. Kemudian, masing-masing larutan ditempatkan dalam labu ukur 10 ml. Tambahkan 0,5 ml reagen *Folin-Ciocalteu* dan 2 ml larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7,5%, lalu ditambahkan aquades sampai tanda batas labu ukur 10 ml dan digojog sampai homogen. Inkubasi pada suhu kamar selama 60 menit. Setelah 60 menit, semua larutan diukur absorbansinya pada panjang gelombang absorbansi maksimum, kemudian kurva kalibrasi dibuat untuk

menggambarkan hubungan antara konsentrasi asam galat dengan nilai absorbansi.

c. Pengukuran kadar total fenolik ekstrak

Sebanyak 100 mg ekstrak daun kopi dilarutkan dengan pelarut etanol, kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 100 ml dan ditambahkan aquades sampai tanda batas. Pipet 200  $\mu$ l larutan ekstrak lalu dimasukkan ke labu ukur 10 ml, tambahkan 0,5 ml reagen *Folin-Ciocalteu* dan 2 ml larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7,5%, lalu ditambahkan aquades sampai tanda batas dan digojog. Inkubasi pada suhu kamar selama 60 menit. Setelah 60 menit, diukur absorbansi larutan ekstrak dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang absorbansi maksimum. Pengukuran total fenolik dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan.

### 3.5.6 Pengukuran Kadar Total Flavonoid

Uji total flavonoid dilakukan untuk mengetahui berapa kandungan total flavonoid yang terdapat pada ekstrak daun kopi menggunakan metode kolorimetri sesuai dengan yang telah dilakukan oleh (Azizah *et al.*, 2020) dengan beberapa modifikasi.

1. Pembuatan Reagen

- a. Pembuatan larutan induk kuersetin (500 ppm). Sebanyak 25 mg kuersetin dilarutkan dengan metanol pro analisis, kemudian ditambahkan aquades sampai mencapai volume 50 ml.
- b. Pembuatan larutan  $\text{AlCl}_3$   
Sebanyak 10 g  $\text{AlCl}_3$  dilarutkan dengan metanol pro analysis, kemudian ditambahkan aquades sampai mencapai volume 100 ml.
- c. Pembuatan larutan asam asetat  
Sebanyak 12,5 ml asam asetat ditambahkan aquades sampai mencapai volume 250 ml.

## 2. Analisis Kadar Total Flavonoid Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis .

### a. Penentuan kurva baku kuersetin

Larutan kuersetin dibuat seri konsentrasi dalam 15, 30, 45, 60, dan 75 ppm, kemudian masing-masing konsentrasi dipipet 1,5 ml dan ditempatkan dalam labu ukur 10 ml. Setelah itu, tambahkan  $\text{AlCl}_3$  sebanyak 1,5 ml dan tambahkan asam asetat sampai tanda batas. Lalu, inkubasi pada suhu kamar selama 15 menit. Setelah 15 menit, semua larutan diukur absorbansinya pada panjang gelombang absorbansi maksimum, kemudian kurva kalibrasi dibuat untuk menggambarkan hubungan antara konsentrasi kuersetin dengan nilai absorbansi.

### b. Penetapan kadar total flavonoid

Dibuat larutan induk sampel daun kopi (1000 ppm), Sebanyak 100 mg ekstrak daun kopi dilarutkan dengan pelarut etanol, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml dan ditambahkan aquades sampai tanda batas. Pipet 1,5 ml larutan ekstrak, masukkan ke dalam labu ukur 10 ml dan ditambahkan 1,5 ml  $\text{AlCl}_3$ . Setelah itu tambahkan asam asetat sampai tanda batas sehingga diperoleh larutan ekstrak dalam konsentrasi 150 ppm.. Inkubasi pada suhu kamar selama 15 menit. Setelah 15 menit, diukur absorbansi larutan ekstrak dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang absorbansi maksimum. Pengukuran total flavonoid dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan.

### 3.5.7 Pengukuran Aktivitas Antioksidan

Larutan DPPH dibuat dalam 1000 ppm dengan menimbang sebanyak 15,76 mg, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml dan ditambahkan metanol pro analisis hingga tanda batas kocok sampai



homogen. Selanjutnya, dilakukan pembuatan larutan kontrol dengan cara dipipet metanol pro analisis sebanyak 3 ml dan ditambahkan DPPH sebanyak 1 ml. Biarkan selama 30 menit dan diukur absorbansinya (Hasanah *et al.*, 2017).

Konsentrasi larutan baku pembanding asam askorbat yang digunakan yaitu 100 ppm dan dibuat seri konsentrasi dalam 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm dan 10 ppm. Dilakukan pemipetan sebanyak 1 ml pada masing-masing sering konsentrasi kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi, tambahkan larutan DPPH 1 ml dan metanol pro analisis sebanyak 2 ml, Inkubasi selama 30 menit pada ruangan gelap. Setelah itu lakukan pengukuran absorbansi.

Larutan sampel ekstrak etanol daun kopi robusta dibuat dalam 200 ppm dengan cara ditimbang sebanyak 20 mg ekstrak dan ditambahkan dengan etanol 100 ml. Kemudian dibuat seri konsentrasi dalam 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm dan 100 ppm. Lakukan pemipetan sebanyak 1 ml pada masing-masing ekstrak, kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi, lalu tambahkan larutan DPPH 1 ml dan metanol pro analisis 2 ml, Inkubasi selama 30 menit pada ruangan gelap. Berubahnya warna ungu menjadi warna kuning menunjukkan efisiensi penangkal radikal bebas (Hasanah *et al.*, 2017). Absorbansi diukur dengan Spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang serapan maksimum DPPH. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan untuk masing-masing konsentrasi larutan uji dan larutan pembanding secara berurutan (Sibarani *et al.*, 2019).

Aktivitas antioksidan sampel ditentukan oleh besarnya hambatan serapan radikal DPPH melalui perhitungan persentase inhibisi serapan DPPH dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi Kontrol} - \text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi Kontrol}} \times 100\%$$

Nilai persen inhibisi yang diperoleh dihitung persamaan garis regresi linier untuk menentukan nilai IC<sub>50</sub> dengan menghitung konsentrasi larutan uji yang bisa menghasilkan hambatan radikal bebas (% inhibisi) sebesar 50 berdasarkan persamaan garis regresi linear korelasi % Inhibisi dengan konsentrasi menggunakan rumus :

$$y = bx + a$$

Keterangan :

$$y = 50$$

x = Konsentrasi larutan uji

Aktivitas antioksidan berdasarkan nilai ini dibagi menjadi sangat kuat (<50 ppm), kuat (50 – 100 ppm), sedang (101 – 150 ppm), lemah (151 – 200 ppm), dan sangat lemah (>200 ppm) (Lestari *et al.*, 2021).

### 3.5.8 Aktivitas Antibakteri dengan Uji Difusi Silinder

#### 1. Sterilisasi Alat

Alat-alat kaca disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Pinset dan ose disterilkan dengan dipijarkan diatas api bunsen (Rahayu *et al.*, 2020).

#### 2. Pembuatan Media Agar

Pembuatan Media nutrien agar sebanyak 25 gram serbuk nutrien agar dilarutkan dalam 1 liter air suling dan dipanaskan sampai mendidih, sambil sesekali diaduk hingga homogen. Kemudian media nutrien agar disterilkan di dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah itu, media nutrien agar dituangkan sebanyak 20 ml ke dalam cawan petri steril, kemudian ditutup dengan plastik wrap dan diinkubasi selama 24 jam (Azizah *et al.*, 2020).

#### 3. Peremajaan Bakteri

Peremajaan bakteri dilakukan dengan mengambil satu jarum ose biakan murni kemudian digoreskan dalam biakan agar dengan permukaan miring, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Fitriani & Nashihah, 2021).

#### 4. Pembuatan Larutan *Mc Farland*

Dipakai sebagai standar kekeruhan suspensi bakteri uji. Larutan *Mc Farland* 0,5 dibuat dengan melarutkan larutan  $\text{BaCl}_2$  1 % sebanyak 0,05 ml dan larutan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1 % sebanyak 9,95 ml. Larutan kemudian di vortex sampai tercampur sempurna (Rosmania & Fitri, 2020).

#### 5. Pembuatan inokulum bakteri

Dari biakan bakteri uji yang telah dibuat, diambil satu ose untuk setiap bakteri uji dan dilarutkan dalam tabung yang berisi 5 ml *Tryptic Soy Broth* (TSB). Kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu  $37^\circ\text{C}$  (Klau *et al.*, 2021).

#### 6. Pembuatan Suspensi Bakteri

Biakan bakteri yang telah berumur 24 jam diambil dari agar miring sebanyak 2 ose. Koloni bakteri uji disuspensikan ke dalam 10 ml  $\text{NaCl}$  0,9 % steril dalam tabung reaksi steril. Kemudian dihomogenkan dengan vortex. Kekeruhan dibandingkan dengan *Mc farland* (Muljono *et al.*, 2016).

#### 7. Pembuatan Larutan Uji

Penelitian ini menggunakan seri konsentrasi ekstrak daun kopi yang dilarutkan dengan *Dimethylsulfoxide* (DMSO) 5%. Ekstrak daun kopi dengan konsentrasi 0,15 mg/ml dibuat dengan melarutkan 0,15 mg ekstrak dalam 1 ml DMSO 5%, konsentrasi 0,25 mg/ml dibuat dengan melarutkan 0,25 mg ekstrak dalam 1 ml DMSO 5%, konsentrasi 0,5 mg/ml dibuat dengan melarutkan 0,5 mg ekstrak dalam 1 ml DMSO 5%, dan konsentrasi 1 mg/ml dibuat dengan melarutkan 1 mg ekstrak dalam 1 ml DMSO 5%.

#### 8. Uji Diameter Zona Hambat

Silinder yang terbuat dari gelas atau besi tahan karat yang diletakkan diatas media yang telah diinokulasikan dengan bakteri. Kemudian tiap silinder diisi dengan kontrol positif, kontrol negatif dan larutan sampel uji dalam beberapa konsentrasi yaitu 150 ppm, 250 ppm, 500 ppm dan 1000 ppm (0,15 mg/ml; 0,25

mg/ml; 0,5 mg/ml; 1 mg/ml). Setelah itu media disimpan dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam dan diamati pertumbuhan bakteri untuk melihat ada atau tidaknya daerah hambat di sekeliling silinder (Harmita & Radji, 2008). Amoksisilin 1 mg/ml sebagai kontrol positif, dan pelarut DMSO 5% sebagai kontrol negatif. Uji antibakteri ini dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan. Terdapat empat jenis aktivitas zona hambat antimikroba, yaitu lemah (<5 mm), sedang (5-10 mm), kuat (>10- 20 mm), dan sangat kuat (>20-30 mm) (Lestari *et al.*, 2021).

### **3.6 Variabel Penelitian**

#### **3.6.1 Variabel Bebas**

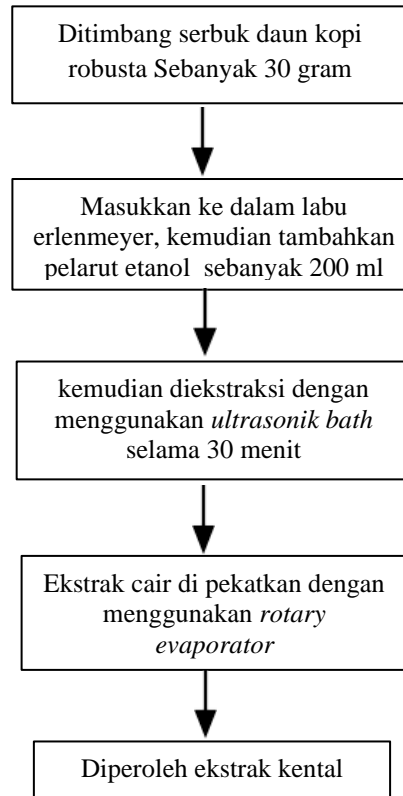
Variabel bebas dalam penelitian ini adalah aktivitas antioksidan, kadar total fenolik dan kadar total flavonoid ekstrak etanol daun kopi robusta (*Coffea canephora*) yang diekstraksi dengan metode sonikasi.

#### **3.6.2 Variabel Terikat**

Variabel terikat pada penelitian ini adalah lebar diameter zona hambat yang terbentuk oleh senyawa uji ditandai dengan adanya daerah bening disekitar senyawa uji yang terdapat pada media agar-agar sebagai parameter menentukan adanya daya hambat pertumbuhan bakteri (*Staphylococcus aureus*) dan (*Escherichia coli*).

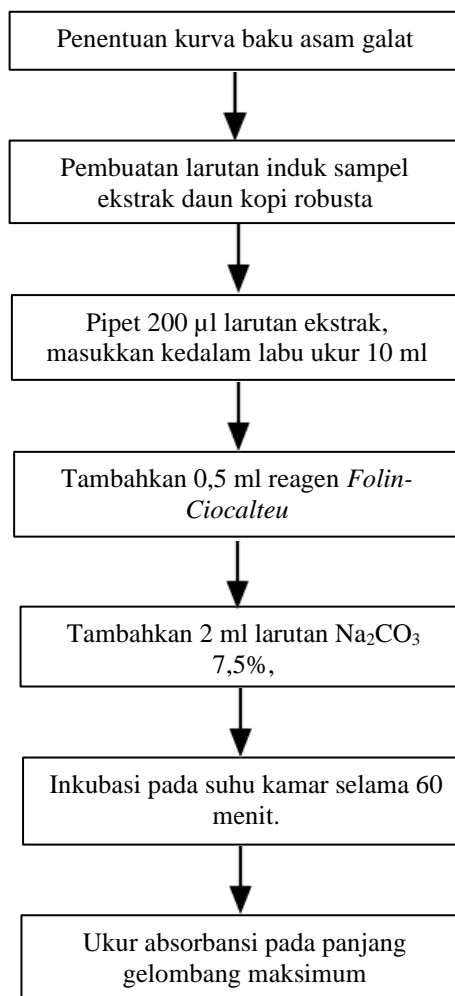
### 3.7 Diagram Alur Penelitian

#### 3.7.1 Pembuatan Ekstrak



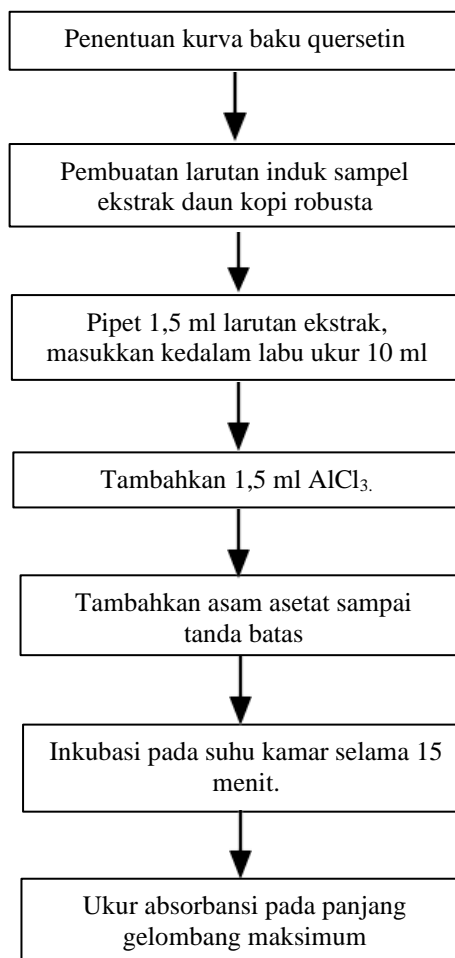
**Gambar 13.** Bagan Pembuatan Ekstrak

### 3.7.2 Pengukuran Kadar Total Fenolik



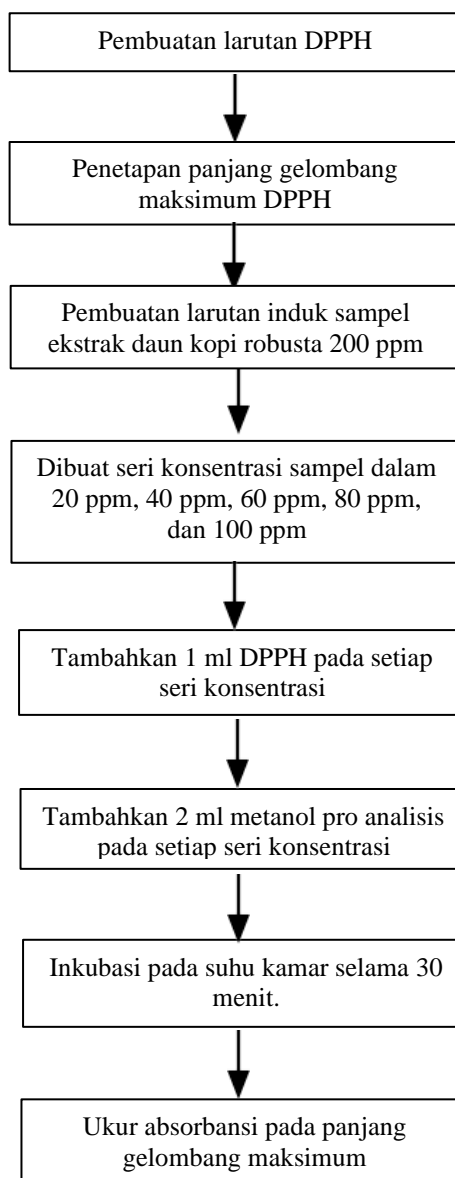
**Gambar 14.** Bagan Pengukuran Kadar Total Fenolik

### 3.7.3 Pengukuran Kadar Total Flavonoid



**Gambar 15.** Bagan Pengukuran Kadar Total Flavonoid

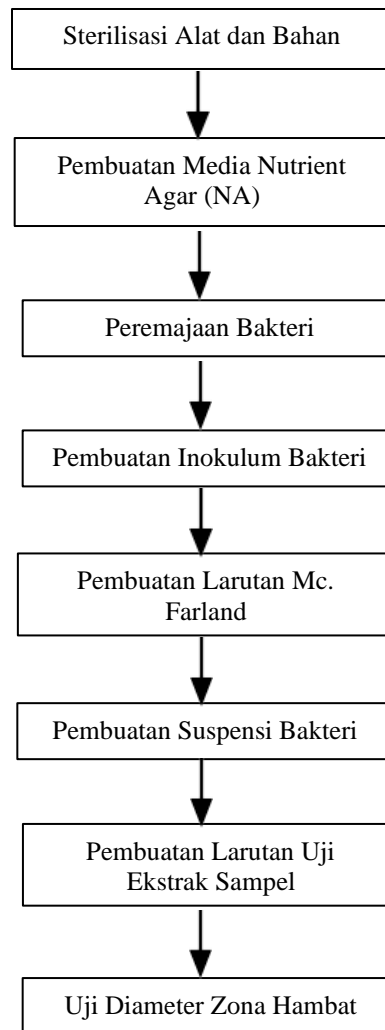
### 3.7.4 Pengukuran Aktivitas Antioksidan



**Gambar 16.** Bagan Pengukuran Antioksidan



### 3.7.5 Pengujian Aktivitas Antibakteri



**Gambar 17.** Bagan Pengujian Antibakteri

### 3.8 Analisis Data

Analisis data pada penelitian ini akan diambil data-data untuk melakukan pengolahan sehingga data tersebut dapat dianalisa. Teknik pengolahan data pada pengukuran kadar total fenolik dan flavonoid dengan memasukkan ke dalam persamaan regresi linier  $y = ax + b$  yang didapatkan dari kurva kalibrasi larutan baku standar, baru kemudian dihitung total kadarnya. Teknik pengolahan data pada hasil uji antioksidan dilakukan dengan membandingkan konsentrasi dengan nilai % inhibisi aktivitas antioksidan masing-masing

sampel dalam sebuah grafik regresi linear, kemudian dihitung nilai  $IC_{50}$ . Untuk analisis data uji antibakteri dilakukan secara deskriptif dengan cara melakukan pengamatan berupa pengukuran zona hambat pada daerah yang berwarna bening, yang terbentuk dari masing-masing konsentrasi ekstrak etanol daun kopi robusta terhadap pertumbuhan bakteri (*Staphylococcus aureus*) dan (*Escherichia coli*) kemudian dianalisis menggunakan SPSS dengan uji normalitas, homogenitas dan *one way anova*.

### **3.9 Etika Penelitian**

Penelitian ini telah diajukan dan disetujui oleh bagian Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dengan nomor persetujuan etik 346/UN26.18/PP.05.02.00/2024.

## **BAB V**

### **SIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Simpulan**

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak etanol daun kopi robusta mengandung senyawa metabolit sekunder seperti saponin, tanin, alkaloid, flavonoid dan polifenol.
2. Ekstrak etanol daun kopi robusta memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 34,26 ppm.
3. Ekstrak etanol daun kopi robusta memiliki kadar total fenolik sebesar 219,46 mg GAE/g dan kadar total flavonoid sebesar 261,93 mg QE/g.
4. Ekstrak etanol daun kopi robusta menghasilkan diameter zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 150 ppm, 250 ppm, 500 ppm, dan 1000 ppm, dengan rata-rata diameter zona hambat yakni 7,4 mm, 9,0 mm, 9,7 mm dan 11,1 mm sedangkan pada bakteri *Escherichia coli* menghasilkan diameter zona hambat sebesar 2,8 mm, 4,3 mm, 7,7 mm dan 9,3 mm.

#### **5.2 Saran**

1. Perlu dilakukannya fraksinasi dan isolasi terhadap senyawa metabolit sekunder agar didapatkan kadar total fenolik, kadar total flavonoid, aktivitas antioksidan dan aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kopi robusta yang lebih optimal.
2. Perlu dilakukannya penelitian lebih lanjut mengenai daun kopi robusta dengan menggunakan metode ekstraksi yang berbeda.

3. Perlu dilakukannya eksplorasi polaritas pelarut terkait pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kopi robusta.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abubakar, A. R., & Haque, M. 2020. Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*. 12(1):1–10.
- Arifin, B. & Ibrahim, S. 2018. Struktur bioaktivitas dan antioksidan flavonoid. *Jurnal Zarah*, 6(1):21-29.
- Arnanda, Q. P., & Nuwarda, R. F. 2019. Penggunaan radiofarmaka teknesium-99m dari senyawa glutation dan senyawa flavonoid sebagai deteksi dini radikal bebas pemicu kanker. *Jurnal Farmaka*. 17(2):236-243.
- Adelberg, Jawetz, & Melnick. 2012. *Medical microbiology*, 27 ED. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Agbor, G.A., Joe, A.V., & Patrick, E.D. 2014. Folin-ciocalteu reagent for polyphenolic assay. *International Journal of Food Science, Nutrition and Dietetics*. 3(8):147-156.
- Agung N. 2017. *Buku Ajar : Teknologi bahan alam*. Banjar Baru: Lambung Mangkurat University Press.
- Agustina, D., Mufida, D. C., A.S., H. R., & Dharmawan, D. K. 2019. Antibiotic sensitivity test on staphylococcus aureus detected in sputum of patients with pneumonia treated in hospitals. *Journal of Agromedicine and Medical Sciences*. 5(1):20-24.
- Alam, M. N., Bristi, N. J., & Rafiquzzaman, M. 2013. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 21(2):143–152.
- Anam, K., Marthen, P, S., Sangkala, Nurwahyuningsih, Araz, M., Alexander, B, M., Norbertus, C, I., & Hatmiyami, T, H. 2023. *Budidaya tanaman kopi*

dan olahannya bagi kesehatan. Makassar: Tohar Media.

- Anjani, G., Widyastuti, N., Masruroh, Z., Yuliana, R. A. D., Almira, V. G., Tsani, A. F. A., Nissa, C., & Prawira-Atmaja, M. I. (2020). Bioactive components and antibacterial activity in robusta coffee leaves (*coffea canephora*). *International Journal of Pharmaceutical Research*. 12(3):1374–1382.
- Arulselvan, Fard, M. T., Tan, W. S., Gothai, S., Fakurazi, S, Norhaizan, M. E., & Kumar, 2016. Role of antioxidants and natural products in inflammation. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 20(16):1-15.
- Azizah, D. N., Kumolowati, E., & Faramayuda, F. 2014. Penetapan kadar flavonoid metode alcl3 pada ekstrak metanol kulit buah kakao (*theobroma cacao l.*). *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi*. 2(2):45-49.
- Azizah, Z., Elvis, F., Zulharmita, Misfadhila, S., Chandra, B., & Yetti, R. D. 2020. Penetapan kadar flavonoid rutin pada daun ubi kayu (*Manihot esculenta Crantz*) secara spektrofotometri sinar tampak. *Jurnal Farmasi Higea*. 12(1):90–98.
- Blacow, G., & Koeswandro, E. S. 1982. *Martindale, the extra pharmacopeia* 28th ed. London: The pharmaceutical press.
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S. K. 2016. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 6(2):71–79.
- Brooks, G. F., Carroll, K. C, Butel, J. S., & Morse, L. 2013. *Mikrobiologi kedokteran jawetz, melnick, & adelberg*. Ed. 25. Jakarta: EGC.
- Cappuccino, J. G., & Sherman, N. 2014. *Manual laboratorium mikrobiologi edisi*. 8. Jakarta: EGC.
- Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A. G., Meullemiestre, A., Fabiano, A.S., & Abert, V. M. 2017. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. *ultrasonics sonochemistry*. 34(1):540-560.
- Costa, M. C. N., Barden, A. T., Andrade, J., & Oppe, T. P. 2014. Quantitative evaluation of besifloxacin ophthalmic suspension by hplc, application to bioassay method and cytotoxicity studies. *Journal Talanta*. 119(2014):367-374.
- Dewi, R., Wenas, M., & Febriani. 2019. Uji aktivitas antimikroba ekstrak metanol

- daun sirih (*piper betle* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *propionibacterium acnes* dan khamir *malassezia furfur*. *Sainstech Farma*. 12(1):32-38.
- Departemen Kesehatan RI. 2000. Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dhianawaty, D., & Panigoro, R. 2013. Antioxidant activity of the waste water of boiled *zea mays* (sweet corn) on the cob. *Int J Res Pharm Sci*. 4(2):266–9
- Egra, S., Mardhiana, Rofin, M., Adiwena, M., Jannah, N., Kuspradini, H., & Mitsunaga, T. 2019. Aktivitas antimikroba ekstrak bakau (*rhizophora mucronata*) dalam menghambat pertumbuhan *ralstonia solanacearum* penyebab penyakit layu. *Agrovigor: Jurnal Agroekoteknologi*. 12(1):26-31.
- Erlindawati, Safrida, Mukhlis. 2018. Potensi antioksidan sebagai antidiabetes. Aceh: Syiah kuala press.
- Ermawati, & Yuli, D. U. 2020. Formulasi dan uji daya hambat krim ekstrak buah pepaya (*carica papaya* L.) terhadap *propionibacterium acnes*. *Jurnal Kesehatan Yamas Makassar*. 4(1):15–21.
- Evaristus, N. A., Wan Abdullah, W. N., & Gan, C. Y. 2018. Extraction and identification of  $\alpha$ -amylase inhibitor peptides from *nephelium lappacheum* and *nephelium mutabile* seed protein using gastro-digestive enzymes. *Peptides*. 102 (2018):61–67.
- Farhadi, F., Khameneh, B., Iranshahi, M., & Iransahy, M. 2018. Antibacterial activity of flavonoids and their structure activity relationship: an update review. *Phytherapy Research*. 33(1):1-28.
- Farida, R., & Nisa, F. C. 2015. Ekstraksi antosianin limbah kulit manggis metode microwave assisted extraction (lama ekstraksi dan rasio bahan : pelarut) extraction anthocyanin mangosteen peel waste with microwave (length of extraction time and ratio of material : solvent). *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*. 3(2):62–373.
- Fatchurozak, Suranto, & Sugiyarto. 2013. Pengaruh ketinggian tempat terhadap kandungan vitamin c dan zat antioksidan pada buah *carica pubescens* di Dataran tinggi dieng. *Jurnal Pasca UNS*. 1(1):24-31.
- Fithriani, D., Amini, S., Melanie, S., & Susilowati, R., 2015, Uji fitokimia, kandungan total fenol dan aktivitas antioksidan mikroalga *spirulina* sp.,

- chlorella sp., dan nanochloropsis sp. Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan, 10(2):101-109.
- Fitriana, Y. A. N., Fatimah, V. A. N., & Fitri, A. S. 2019. Aktivitas antibakteri daun sirih: uji ekstrak khm (kadar hambat minimum) dan kbm (kadar bakterisidal minimum). Jurnal Sainteks. 16(2):101-108.
- Fitriani, T., & Nashihah, S. 2021. Uji daya hambat ekstrak etanol daun rambai (*Sonneratia caseolaris* (L.) Engl) terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*. Jurnal Farmasi Indonesia: 13(1):40-53.
- Galanakis, C.M. 2017. Handbook of coffee processing by-products: sustainable applications. United Kingdom: Academic Press.
- Hamni, A., Akhyar, G., Suryadiwansa, Burhanuddin, Y., & Tarkono. 2013. Potensi pengembangan teknologi proses produksi kopi Lampung. Jurnal Mechanical. 4(1):45-51.
- Handajani, F. 2019. Oksidan dan antioksidan pada beberapa penyakit dan proses penuaan. Jawa Timur: Zifatama Jawara.
- Hanif, A. Q., Nur, Y., & Rijai L. Aktivitas antioksidan ekstrak kulit batang kenit (Chrysophyllum cainito L.) dengan dua metode ekstraksi. Proceeding Mulawarman Pharm Conf. 8(2018):8-13.
- Harborne, J. B. 1987. Metode fitokimia penuntun cara modern menganalisis tumbuhan. Bandung: ITB.
- Hariyati, T., Soelistya, D., Jekti, D., & Andayani, Y., 2015. Pengaruh ekstrak etanol daun jambu air (*Syzygium aqueum*) terhadap bakteri isolat klinis. Jurnal Penelitian Pendidikan IPA. 1(2):32-34.
- Hasanah, M. B. 2017. Daya antioksidan ekstrak dan fraksi daun kopi robusta (*Coffea robusta*) terhadap pereaksi DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology. 4(2):42-49.
- Hasanah Hsb, U., & Pane, H. W. 2021. Pemanfaatan daun kopi (kawa daun) sebagai penurun tekanan darah tinggi pada akseptor KB suntik. Jurnal Kesehatan Komunitas. 6(3):292-297.
- Harmita, & Radji, M. 2008. Buku ajar analisis hayati edisi 3. Jakarta: Kedokteran EGC



- Hidayati, S. N. 2016. Pertumbuhan *escherichia coli* yang diisilasi dari feses anak ayam broiler terhadap ekstrak daun salam (*sygium polyanthum*). *Jurnal Medika Veterinaria*. 10(2):1-104.
- Hendry, G. A. F., & Houghton, J. D. 1996. *Natural food colorants* 2nd ed. London: Blackie Academic & Professional.
- Hidayati, S. N., Darmawi, Rosmaidar, Armansyah, T., Dewi, M., Jamin, F., & Fakhrurrazi. 2016. Pertumbuhan *escherichia coli* yang diisolasi dari feses anak ayam broiler terhadap ekstrak daun salam. *Jurnal Medika Veterinaria*.10(2):101-104.
- Huda, C., Putri A. E., & Sari D.W. 2019. Uji aktivitas antibakteri fraksi dari maserat *zibethinus folium* terhadap *escherichia coli*. *Jurnal Sains Health*. 3(1):7-14.
- Ibroham, M. H., Jamilatun, S., & Kumalasari, I. D. 2022. A review: potensi tumbuhan-tumbuhan di indonesia sebagai antioksidan alami. *Jurnal UMJ*. 1-13.
- Irianti, T., Kuswandi., & Sindu, N. 2021. *Antioksidan dan kesehatan*. Yogyakarta: UGM press.
- Jawetz, E., Melnick, J.L. & Adelberg, E.A. 2005. *Mikrobiologi kedokteran*, Ed XXII. Jakarta: Salemba Medika.
- Kambey, B., Sudewi, S., Jayanto, I. 2019. Analisis korelasi antara kandungan fenol total dengan aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi *abelmoschus manihot* l. terhadap *escherichia coli*. *Jurnal Pharmacon*.8(2):472-479
- Karsinah, Lucky, H. M., Suharto, & Mardiasuti, H. W. 2011. *Buku ajar mikrobiologi kedokteran: batang negatif gram escherichia*. Tangerang : Binarupa Aksara Publishe.
- Kartika, I., Yuliawati, K. M., & Sadiyah, E. R. 2019. Isolasi senyawa flavonoid yang berpotensi memiliki aktivitas antioksidan dari daun kopi robusta (*coffea canephora pierre ex froehner*). *Jurnal Prosiding Farmasi*. 5(1):496-503.
- Kartika, L., Ardana, M., & Rusli, R. 2020. Aktivitas antioksidan tanaman genus *artocarpus*. *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*. 12(1):237-244.
- Katrin, D, N., Idiawati, & Sitorus B. 2015. Uji aktivitas antibakteri dari ekstrak

- daun malek (*litsea graciae* vidal) terhadap bakteri *staphylococcus aureus* dan *escherichia coli*. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*. 4(1):7-12.
- Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. 2013. Riset Kesehatan Dasar tahun 2013. Jakarta: Kementrian Kesehatan Republik Indonesia
- Klau, M. L. C., Indriarini, D., & Nurina, R. L. 2021. Uji aktivitas ekstrak etanol daun kemangi (*ocimum sanctum* l.) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara *in vitro*. *Cendana Medical Journal*. 9(1):102– 111.
- Komala, P. T. H., & Husni, A. 2021. Pengaruh suhu ekstraksi, terhadap aktivitas antioksidan ekstrak metanolik *eucheuma spinosum*. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 24(1):1–10.
- Krihariyani, D., Woelansari, E. D., & Kurniawan, E. 2016. Pola pertumbuhan *staphylococcus aureus* pada media agar darah manusia golongan o, ab, dan darah domba sebagai kontrol. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kesehatan*. 3(2): 191-200.
- Kurniasih, N., Kusmiyati, M., Sari, R. P. & Wafdan, R. 2015. Potensi daun sirsak (*annona muricata* linn), daun binahong (*anredera cordifolia* (ten) steenis), dan daun benalu mangga (*dendrophthoe pentandra*) sebagai antioksidan pencegah kanker. *Jurnal ISTEK*. 9(1):162-183.
- kurniawati, i. f., & sutoyo, s. 2021. Review artikel: potensi bunga tanaman sukun (*artocarpus altilis* fosberg) sebagai bahan antioksidan alami. *UNESA Journal of Chemistry*. 10(1):1–11.
- Kusbandari, A., Prasetyo, D. Y., & Susanti, H. 2018. Penetapan kadar fenolik total dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun kopi kawa dengan metode dpph. *Media Farmasi: Jurnal Ilmu Farmasi*. 15(2):1-72.
- Kusbiantoro, D., & Purwaningrum, Y. 2018. Pemanfaatan kandungan metabolit sekunder pada tanaman kunyit dalam mendukung peningkatan pendapatan masyarakat. *Jurnal Kultivasi*. 17(1):544–549.
- Kusumo, D. W., Susanti, Ningrum, E. K., Makayasa, C. H. A. 2022. Skrining fitokimia senyawa metabolit sekunder pada ekstrak etanol bunga pepaya (*carica papaya* l). *JCPS*. 5(2):478-483.
- Kuswiyanto. 2014. *Bakteriologi 2: buku ajar analis kesehatan*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.

- Kwiecinski, J. M., & Horswill, A. L. 2020. *Staphylococcus aureus* bloodstream infections: pathogenesis and regulatory mechanisms. *HHS Publis Acces*. 53(1):51-60.
- Leo, G. A. P., Wirianata, H., & Santosa, T. N. 2023. Analisis pengaruh curah hujan terhadap produktivitas kopi (*coffea sp.*) kec. gemawang, kab. temanggung, jawa tengah. *Jurnal Agroforetech*. 1(1):95-102.
- Lestari, L. G. M., Antara, N. S., & Suwariani, N. P. (2021). pengaruh suhu awal dan waktu infusi terhadap aktivitas antibakteri dan antioksidan ekstrak minuman herbal daun kopi robusta. *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*. 9(1):85-98.
- Liesenborghs, L., Verhamme, P., & Vanasche, T. 2018. *Staphylococcus aureus*, master manipulator of the human hemostatic system. *Journal of thrombosis and haemostatis*. 1(16):441-454.
- Lung, J.K.S. & Destiani, D. P., 2017. Uji aktivitas antioksidan vitamin a, c, e dengan metode dpph. *Jurnal Farmaka*. 15(1):53-62.
- Mahardani, O, T., & Yuanita, L, 2021. Efek metode pengolahan dan penyimpanan terhadap kadar senyawa fenolik dan aktivitas antioksidan. *Unesa Journal of Chemistry*. 10(1):64-78.
- Mahbubah, D. N., Putro, D., Setyohadi, S., & Arifianto, A. S. 2015. Sistem pendukung keputusan pemilihan lahan untuk penanaman kopi robusta di kabupaten jember. *Jurnal Semnaskit*. 135–139.
- Mahon. 2015. *Textbook of diagnostic microbiollogi* 4th ed. USA: Saunders Elsevier
- Malik, A., Ahmad, A. R., & Najib, A. 2013. daun teh hijau dan jati belanda. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 4(2):238–240.
- Mandal, S.C., Mandal, V., & Das, A. K. 2015, *Essentials of Botanical Extraction: Principles and Application*. India: Elsevier Press.
- Marcellia, T., Olivia, W., & Juliantri. 2021. Efektivitas antibakteri ekstrak daun pacar air (*impatiens balsamina l.*) terhadap pertumbuhan *porphyromonas gingivalis*. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 5(4):10-17.
- Marhaenanto, B., Soedibyo, D. W., & Farid, M. 2015. Penentuan lama sangrai kopi terhadap variasi derajat sangrai menggunakan model warna rgb pada

- pengolahan citra digital (digital image processing). *Jurnal Agroteknologi*. 9(2):1–10.
- Mariani, S., Rahman, N., Supriadi. 2018. Uji aktivitas antioksidan ekstrak buah semangka (*Citrullus lanatus*). *Jurnal Akademika Kimia*. 7(2): 96-101.
- Marjoni, R. 2016. *Dasar-dasar fitokimia* Jakarta: CV. Trans Info Media.
- Marjoni, R., & Ismail, T. 2016. *Dasar-dasar fitokimia untuk diploma III* 1st ed. Jakarta: Trans Info Media.
- Martins, S, M., Keven Silva, E., Angela A., & Meireles, M. 2019. Specific energy: a new approach to ultrasound-assisted extraction of natural colorants. *Food and Public Health*. 9(2):45–52.
- Meilisanawaty, D., Suryanto, D., & Fauziah, I. 2015. Pemeriksaan *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella* pada es jus jeruk. *Jurnal Biolink*. 2(1): 55-64.
- Millah, Z., & Syauqi, A. 2022. Pengaruh ekstrak biji dan daun robusta (*Coffea canephora*) dari desa kemiri, jabung-malang sebagai penghambat pertumbuhan *Escherichia coli*. *Paradigma: Jurnal Filsafat, Sains, Teknologi, dan Sosial Budaya*. 28(1):44–51.
- Mondong, F. R., Sangi, M. S., & Kumaunang, M. 2015. Skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun patikan emas (*Euphorbia prunifolia* Jacq.) dan bawang laut (*Proiphys amboinensis* L. herb). *Jurnal MIPA*. 4(1):81-87.
- Muljana, W. 2010. *Bercocok tanam kopi*. Jakarta: CV Aneka Ilmu.
- Muljono, P. F., & Manampiring, A. E. 2016. Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun mayana jantan (*Coleus atropurpureus* Benth) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus* sp. dan *Pseudomonas* sp. *Jurnal Biomedik*. 4(1):164-172.
- Muslim, Z., & Yonaniko, D. 2019. Antibacterial activity of robusta coffee (*Coffea canephora* L.) leaves to *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Asian Journal Of Pharmaceutical and Clinical Research*. 12(12):113-115.
- Muslim, Z., & Yonaniko, D. 2018. Perbandingan efektivitas antimikroba ekstrak daun kopi robusta (*Coffea canephora*) dengan variasi pengeringan terhadap *Staphylococcus aureus*. *UNES Journal of Sciencetech Research*. 3(1):76-80.
- Nayeem, N., Gladsy D., & Shalini K. M. 2013. Comparative phytochemical analysis, antimicrobial and antioxidant activity of the methanolic extracts of

- the leaves of *coffea arabica* and *coffea robusta*. *Journal Der Pharmacia Lettre*. 3(1):292-297.
- Noviyandri, Nuza, D., & Sungkar, S. 2020. Effect of ethanol extract of robusta coffee leaves (*coffea canephora* var. *robusta*) against *streptococcus mutans* growth. *Jurnal of Syiah Kuala Dentistry Society*. 5(2):75-79.
- Novriyanti, R., Putri, N. E. K., & Rijai, L. 2022. Skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit jeruk nipis (*citrus aurantifolia*) menggunakan metode dpph. *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*.165–170.
- Nugraha, T., Kiki, M., & Kodir, A. R. 2016. Pengujian aktivitas antioksidan pada fraksi berbeda dan penentuan kadar flavonoid total dari daun jalantir (*erigeron sumatrensis* retz .) yang berasal dari jawa barat indonesia. *Jurnal Prosiding Farmasi*. 2(2):755–762.
- Nugroho, A. 2017. Buku ajar: teknologi bahan alam. Banjarmasin: Lambung Mangkurat University Press.
- Nurhayati, L. S., Yahdiyani, N., & Hidayatulloh, A. 2020. Perbandingan pengujian aktivitas antibakteri starter yogurt dengan metode difusi sumuran dan metode difusi cakram. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*. 1(2):41-46.
- Paju, N., Paulina V. Y., Yamlean, & Novel, K. 2013. Uji efektivitas salep ekstrak daun binahong pada kelinci (*oryctolagus cuniculus*) yang terinfeksi bakteri *staphylococcus aureus*. *Pharmacon Jurnal Ilmiah Farmasi*. 2(1):51-59.
- Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. 2016. flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science*. 5 (57):1-15.
- Pelczar, M. J. dan R. D. Reid, 1972. *Microbiology*. New York: McGraw-Hill Book Co. Inc.
- Pelczar, Michael J., & Chan, E. C. S. 1986. *Dasar-dasar mikrobiologi*. Jakarta : Universitas Indonesia Press.
- Prastowo, B, E., Karmawati, Rubijo, Siswanto, C., Indrawanto, & Munarso. 2010. *Budidaya dan pasca panen kopi*. Bogor : ISBN.
- Pratiwi, R. H. 2017. Mekanisme pertahanan bakteri patogen terhadap antibiotik. *Jurnal Pro-Life*. 4(3):418-429.

- Prijono, S., Atiqah, A. H., Jiyanti, Y. S., Afifatul, K., Yusuf, M. N., & Dinda M. Y. 2021. Pengelolaan tanah di kebun kopi. Malang: Brawijaya Press.
- Pristiana, D. 2017. Aktivitas antioksidan dan kadar fenol berbagai ekstrak daun kopi (*coffea sp.*): potensi aplikasi bahan alami untuk fortifikasi pangan. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. 6(2):89–92.
- Purwati, S., Lumowa, S. V., & Samsurianto, S. 2017. skrining fitokimia daun saliera (*lantana camara l*) sebagai pestisida nabati penekan hama dan insidensi penyakit pada tanaman hortikultura di kalimantan timur. *Jurnal Prosiding Seminar Kimia*. 153-158.
- Putri, W. S., Warditiani, N. K., & Larasanty, L. P. F. 2013. Skrining fitokimia ekstrak etil asetat kulit buah manggis (*garcinia mangostana l*). *Journal Pharmacon*. 09(4):56– 59.
- Puteri, T., & Milanda, T. 2016. Uji daya hambat ekstrak daun lidah buaya (*aloe vera l.*) terhadap bakteri *escherichia coli* dan *staphylococcus aureus*. *Jurnal Farmaka Suplemen*. 14(2):9–17.
- Qodrie, E. N. P., Windradi, F. I., & Praptiwi, D. S. 2022. Potensi antibakteri, antioksidan, kadar total fenolik dan flavonoid ekstrak *trigonachras celebensis* dari kepulauan banggai, sulawesi tengah, Indonesia. *Pros Semnas Masy Biodiv Indonesia*. 8(1):46-52.
- Radji, M. 2011. Buku ajar mikrobiologi panduan mahasiswa farmasi & kedokteran, Jakarta: Buku kedokteran EGC.
- Rahardjo, P. 2017. Berkebun kopi. Jakarta : Penebar Swadaya.
- Rahardjo, P. 2012. Panduan budi daya dan pengolahan kopi arabika dan robusta. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Rahmawati, Rosyenne, K., & Izna, N. M. 2023. Peran nutrasetikal pada penyakit neurodegeneratif. Sumatera Barat: Global Eksekutif Teknologi.
- Rahayu, S., Rozi, I., & Purwiyanto, A. I. S. 2019. Daya hambat senyawa bioaktif pada mangrove *rhizophora sp.* sebagai antibakteri dari perairan tanjung api-api, sumatera selatan. *Jurnal Penelitian Sains*. 21(3):151-162.
- Rahayu, D. P., Retno, S., & Dodik, N. 2020. Aktivitas antibakteri fraksi etil asetat kopi robusta terhadap *staphylococcus aureus* dan *salmonella typhi*. *Jurnal JIMKI*. 8(2):10-16.

- Randriani, E., Supriadi, H., & Syafaruddin. 2016. Ekspresi fenotipik klon kopi robusta “Sidodadi” pada tiga ketinggian tempat. *Jurnal Tanaman Industri dan Penyegar*. 3(3):151–158.
- Raharjeng, A. R. 2015. Pengaruh faktor abiotik terhadap hubungan kekerabatan tanaman sansevieria trifasciata l. *Jurnal Biota*. 1(1):33-41.
- Rahmi, Y., Darmawi, Mahdi A., Faisal, J., Fakhurrrazi, & Yudha, F. 2015. Identification of staphylococcus aureus in preputium and vagina of horses (equus caballus). *Journal Medika Veterinaria*. 9(2):15-158.
- Ridwan, & Kaharudin, L. O. 2022. Identifikasi dan uji kandungan metabolit sekunder tumbuhan obat. *Jurnal Biosaintropis (Bioscience-Tropic)*. 7(2):46–56.
- Riyanti, E., Silviana, E., & Santika, M. 2020. Analisis kandungan kafein pada kopi seduhan warung kopi di kota banda aceh. *Lantanida Journal*. 8(1):1-95.
- Rosalia, E., Marcelia, S., & Ulfa, A. M. 2021. Uji aktivitas antioksidan sediaan lotion dari ekstrak daun kopi robusta (*Coffea canephora*) menggunakan metode dpph (2,2-difenil-1-pikrihidazil). *Jurnal Ilmu Kedokteran Dan Kesehatan*. 8(4):342-349.
- Rosmania & Fitri Y. 2020. Perhitungan jumlah bakteri di laboratorium mikrobiologi menggunakan pengembangan metode spektrofotometri. *Jurnal Penelitian Sains*. 22(2):76-86.
- Rosyidi, D., Qosimah, D., Amri, I. A., Prasetyo, D., Shodiq, F., Anisa, A. K., Putri, L. R., Saputri, N. A., Wulandari. Leuricha, Y., & Radiati, L. K. 2020. Immunomodulator effect of robusta lampung coffee extract (coffee canephora var robusta) in layer chicken infected with salmonella enteritidis bacteri. *Journal Animal and Veterinary Sciences*. 30(1):69-79.
- Sami F. J., Soekarno N. H., Firdaus, & Latip, J. 2019. Uji aktivitas antioksidan ekstrak alga coklat sargassum polycystum dan turbinaria deccurens asal pulau dutung sulawesi selatan terhadap radikal dpph. *Jurnal Kima Riset*. 4(1):1–6.
- Sari, R., Apridamayanti, P., & Pratiwi, L. 2022. Efektivitas snedds kombinasi fraksi etil asetat daun cengkodok (*melasthoma malabathricum*)-antibiotik terhadap bakteri hasil isolat dari pasien ulkus diabetik. *Pharmaceutical*

- Journal of Indonesia. 7(2):105–114.
- Sari, A. P., Iqbal, M., Rahayu, I. D., & Triyandi, R. 2023. Perbandingan kadar antioksidan kopi robusta (*coffea canephora*) dan kopi arabika (*coffea arabica*). *Jurnal Agromedicine*.10(1):61-64.
- Sasmita, S. O., Purwanti, N., Sadiyah, E. R. 2019. Perbandingan aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun, kulit buah dan biji kopi arabika (*coffea arabica* l.) dengan metode peredaman radikal bebas dpph. *Jurnal Prosiding Farmasi*. 5(2):699-705.
- Setiawan, E. A., Rahardian, D., & Siswanti. 2015. Pengaruh penyaringan daun kopi robusta (*coffea robusta*) terhadap karakteristik kimia dan sensory minuman penyegar. *Jurnal Teknosains Pangan*. 1(1):41-48.
- Setiawan, F., Yunita, O., & Kurniawan, A. 2018. Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol kayu secang (*caesalpinia sappam*) menggunakan metode dpph, abts dan frap. *Jurnal Farmasi Udayana*. 2(2):82-88.
- Septiani, Nurcahya, E., & Wijayanti, I. 2017. Aktivitas antibakteri ekstrak lamun (*cymodocea rotundata*) terhadap bakteri *staphylococcus aureus* dan *escherichia coli*). *Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology*. 13(1):1-6.
- Shaikh, J., & Patil, M. 2020. Qualitative tests for preliminary phytochemical screening: an overview. *International Journal of Chemical Studies*. 8(2): 603–608.
- Sharma, V., Janmeda, P. 2014. Extraction, isolation and identification of flavonoid from *euphorbia nerifollia* leaves. *Arabian Journal of Chemistry*. 10(4):509-514.
- Sibarani, S. I. M., Yudistira, A., & Mpila, D. A. 2020. Uji aktivitas antioksidan spons *stylissa* sp. dengan menggunakan metode dpph (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Jurnal Pharmacon*. 9(3):419-424.
- Soedarto. 2015. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Sagung Seto
- Sofyani, C. M., Chaerunnisa, A. Y., & Rusdiana, T. 2018. Validasi metode analisis kromatografi cair kinerja tinggi untuk penetapan kadar uji disolusi terbanding tablet amoksisilin. *Jurnal Farmaka*. 16(1):324-330.
- Solichah, C., Wicaksono, D., Waluya, W., & Brotodjojo, R. R. 2020. Pengendalian



- hayati hama dan penyakit tanaman kopi. Yogyakarta: UPN Press.
- Soleha, T. U. 2015. Uji kepekaan terhadap antibiotik. *Juke Unila*. 5(9):120-124
- Stokes, J. M., Lopatkin, A. J., Lobritz, M. A., & Collins, J. J. 2019. Bacterial Metabolism and Antibiotic Efficacy. *Cell Metabolism*, 30(2):251–259.
- Sulaiman. 2018. Identifikasi kandungan escherichia coli pada es dawet di jalan urip sumohardjo kota makassar. *Window of Public Health Journal*. 3(1):96-101.
- Sulastrianah, Imran, & Suci, F. E. 2014. Uji daya hambat ekstrak daun sirsak (*annona muricata l.*) dan daun sirih (*piper betle l.*) terhadap pertumbuhan bakteri escherichia coli. *Jurnal medulla*. 76-84.
- Sunarti. 2021. Antioksidan dalam penanganan sindrom metabolik. Yogyakarta: UGM Press.
- Surjowardojo, P., Susilorini, Tri. E., Sirait, & Gabriel, R. B. 2015. daya hambat dekok kulit apel manalagi (*malus sylvestris mill.*) terhadap pertumbuhan staphylococcus aureus dan pseudomonas sp. *Jurnal Ternak Tropika*. 6(2):40–48
- Sutiknowati, L. I. 2016. Bioindikator pencemar bakteri escherichia coli. *Jurnal Oseana*. 4 (4):63–71.
- Syarif, R. A., Muhajir, Ahmad, A. R., & Malik, A. 2015. Radikal dpph ekstrak etanol. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 2(1):83–89.
- Tambun R., Harry, P., Christika, P., & Ester, M. 2016. Pengaruh ukuran partikel, waktu dan suhu pada ekstraksi fenol. *Jurnal Teknik Kimia*. 5(4):53–56.
- Tanauma, H. A., Citaningtyas, G., & Lolo, W. A. 2016. Aktivitas antibakteri ekstrak biji kopi robusta (*coffea canephora*) terhadap bakteri escherichia coli. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 5(4):I230-2493.
- Tenda, P. E., Lenggu, M. Y., & Ngale, M. S. 2017. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol kulit pohon fal oak (*sterculia sp.*) terhadap bakteri staphylococcus aureus. *Jurnal Info Kesehatan*. 15(1):227–238.
- Thamrin, M., Andini, R., & Zaelani, A. 2020. Sains kopi indonesia. Malang: Universitas Brawijaya Press.
- Triana, D. 2014, Frekuensi  $\beta$ -lactamase hasil staphylococcus aureus secara iodometri di laboratorium mikrobiologi fakultas kedokteran universitas andalas. *Journal Gradien*. 10(2):992–995.

- Tiwari, B. K., & Cullen, P.J. 2013. Extraction of red beet pigments. red beet biotechnology: food and pharmaceutical applications. New York: Springer.
- Utomo, S. B., Mita, F., Warih, F. L., & Sri, M. 2018. Antibacterial activity test of the c-4- methoxyphenylcalix resorcinarene compound modified by hexadecyltrimethylammonium-bromide against staphylococcus aureus and escherichia coli bacteria. *Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia*. 3(3):201-208.
- Virhananda, M. R. P., Suroso, E., & Nurainy, F., Satyajaya. 2022. Analisis kadar asam klorogenat dan kafein berdasarkan perbedaan lokasi penanaman dan suhu roasting pada kopi robusta (*c. canephora pierre*). *Jurnal Agroindustri Berkelanjutan*. 1(2):245–252.
- Wahid, A. R., & Safwan, S. 2020. Skrining fitokimia senyawa metabolit sekunder terhadap ekstrak tanaman ranting patah tulang (*euphorbia tirucalli l.*). *Jurnal Ilmu Kefarmasian*. 1(1):24-26.
- Wang X, & Xu LP. 2014. Ultrasonic-assisted extraction and antibacterial properties of polyphenols of sweet corn cob. *Advanced Materials Research*. 374-379.
- Wardaningrum, R. Y. 2019. Perbandingan aktivitas antioksidan ekstrak etanol terpurifikasi ubi jalar ungu (*ipomoea batata l*) dengan vitamin e. *Jurnal Artikel*. 52(1): 1-5.
- Warnis, M., Salsabila, J., & Rulianti, M. R. 2021. Pemeriksaan rendemen, kadar sari larut air, dan kadar sari larut etanol dari ekstrak batang brotowali. *Jurnal Kesehatan Farmasi*. 3(2): 118-123.
- Wasliah, I., Syamdarniati, S., Danul, A. 2020. Pemberian edukasi kesehatan tentang pencegahan diare pada anak di posyandu wilayah kerja puskesmas dasan agung kota mataram. *Jurnal Abdimas Kesehatan Perintis*. 2(1):13–16.
- Wen, C., Zhang, J., Zhang, H., Dzah, C. S., Zandile, M., Duan, Y., Ma, H., & Luo, X. 2018. Advances in ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from cash crops - a review. *Ultrasonics Sonochemistry*. 1(48):538-549.
- Widayani, D.P., & Usodri, K. S. 2020. Kajian kesesuaian lahan perkebunan kopi rakyat kawasan lereng gunung arjuna kabupaten malang. *Jurnal Agrinika: Jurnal Agroteknologi dan Agribisnis*. 4(2):108-118.
- Widjajanti. 1999. Obat-obatan. Yogyakarta: Penerbit Kanisi.

- Widyaningsih, T. W., Novita, W., & Nur, I. P. 2017. Pangan fungsional. Malang: Brawijaya Press.
- Wigati, E. I., Pratiwi, E., Nisa, T. F., & Utami, N. F. 2018. Uji karakteristik fitokimia dan aktivitas antioksidan biji kopi robusta (*coffea canephora pierre*) dari bogor, bandung dan garut dengan metode dpph (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). *Fitofarmaka Jurnal Ilmiah Farmasi*. 8(1): 59-66.
- Wikananda, I. D. A. R. N., Hendrayana, M. A., & Pinatih, K. J. P. 2019. Efek antibakteri ekstrak ethanol kulit batang tanaman cempaka kuning (*m. champaca l.*) terhadap pertumbuhan *staphylococcus aureus*. *Jurnal Medika Udayana*. 8(5):1-5.
- Winata, E. W., & Yunianta. 2015. Ekstraksi antosianin buah murbei (*morus alba l.*) metode ultrasonic bath (kajian waktu dan rasio bahan: pelarut). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 3(2):773-783.
- Wulaisfan, R., & Hasnawati. 2017. Uji daya hambat ekstrak daun sukun (*artocarpus altilis*) terhadap pertumbuhan bakteri *staphylococcus epidermidis*. *Jurnal Warta Farmasi*. 6(2):90-99.
- Wulan, K. D., Kusuma, N, E., & Hayu, A. D. 2022. Skrining fitokimia senyawa metabolit sekunder pada ekstrak etanol bunga pepaya (*carica papaya l.*). *Journal Of Current Pharmaceutical Sciences*. 5(2):2598-2095.
- Wulansari, A.N. 2018. Alternatif cantini ungu (*vaccinium varingiaefolium*) sebagai antioksidan alami. *Jurnal Farmaka Suplemen*.16(2):420-421.
- Yadav, A., Kumari, R., Yadav, A., Mishra, J.P., Srivatva, S. & Prabha, S. 2016. Antioxidants and its functions in human body-a review. *Res. Environ. Life Sci*. 9(11):1328-1331.
- Yamin, S., & Kurniawan, H. 2014. *Spss complete: teknik analisis statistik terlengkap dengan software spss*. Jakarta: Salemba Infotek.
- Yulian, M., & Safrijal. 2018. Uji aktivitas antioksidan daun benalu kopi (*loranthus ferrugineus roxb.*) dengan metode dpph (1,1 – difenil -2- pikrilhidrazil). *Journal Lantanida*. 6(2):192-202.
- Yulistian, D., Prielananta, P. U., Edi, S. M., Ulfa, E., & Yusnawan. 2015. Studi pengaruh jenis pelarut terhadap hasil isolasi dan kadar senyawa fenolik

- dalam biji kacang tunggak (*vigna unguiculata* l) sebagai antioksidan. *Jurnal Ilmu Kimia Universitas Brawijaya*. 1(1): 819-825.
- Yuslianti, E. R. 2018. pengantar radikal bebas dan antioksidan. Yogyakarta: Deepublish.
- Yusnowo, E., & Utomo, J. S. 2017. Mikroanalisis kandungan senyawa fenolik total ekstrak biji kedelai dengan reagen folin-ciocalteu. *Jurnal Penelitian Pertanian Tanaman Pangan*. 1(1):73-81.
- Yuswi, N. C. R. 2017. Ekstraksi etanolik bawang dayak (*eleutherine palmifolia*) dengan metode ultrasonic bath (kajian jenis pelarut dan lama ekstraksi). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 5(1):71-79.
- Zaidar, E., Bulan, R., Firman, S., Zulham, M., & Wahyuni. 2019. Uji antioksidan dan antibakteri ekstrak etanol buah mengkudu (*morinda citrifolia* l.) terhadap bakteri *escherichia coli* dan *staphylococcus aureus*. *Jurnal Talenta Conference Science and Technology*. 2(2):1-8.