

EFEK ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN KOPI ROBUSTA (*Coffea canephora*) TERHADAP *Escherichia coli* PADA STUDI IN VITRO

Siti Nurul Khofifah, Dini Sri Damayanti^{1*}, Citra Destya Rahma Putri²

^{*}Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: Daun kopi robusta (*Coffea canephora*) memiliki efek membunuh pada bakteri. Efek ini dikarenakan pada daun kopi robusta memiliki kandungan diantaranya alkaloid, saponin, flavonoid, dan Tanin. Namun, penelitian pada daun kopi robusta varietas Dampit belum diketahui. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antibakteri pada daun kopi robusta varietas Dampit.

Metode: Penelitian *In Vitro* dengan mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder dengan Skrining Fitokimia dan uji antibakteri untuk mengukur Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dan *Zone of Inhibition* (ZOI) pada pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Analisa data pada Skrining Fitokimia dan KBM menggunakan analisa deskriptif dan pada ZOI dibandingkan dan di uji analisa *Post-hoc Kruskall Wallis*.

Hasil: Skrining fitokimia didapatkan metabolit sekunder pada ekstrak etanol daun kopi robusta (*Coffea canephora*) yaitu alkaloid, saponin, flavonoid dan tanin atau fenolik. Nilai Konsentrasi Bunuh Minimum ekstrak etanol daun kopi robusta (*Coffea canephora*) berada pada konsentrasi 25%. Sedangkan untuk *Zone of Inhibition* (ZOI) berada pada konsentrasi 100% dengan nilai rata-rata 16.57 ± 1.37 mm dan pada konsentrasi 50% dengan nilai rata-rata 12.13 ± 0.81 mm dengan kriteria kuat.

Kesimpulan: Ekstrak etanol daun kopi robusta (*Coffea canephora*) mempunyai potensi antibakteri terhadap *Escherichia coli* dengan potensi kuat.

Kata Kunci: *Coffea canephora*, *Escherichia coli*, ZOI, KBM, Antibakteri.

*Korespondensi

Dr. dr. Dini Sri Damayanti M.Kes

Jl. MT. Haryono 193 Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65144

e-mail: dinisridamayanti@unisma.ac.id

ANTIBACTERIAL EFFECTS OF THE EXTRACT ETHANOL LEAF OF ROBUSTA COFFEE (*Coffea canephora*) ON *Escherichia coli* IN VITRO STUDY

Siti Nurul Khofifah, Dini Sri Damayanti^{1*}, Citra Destya Rahma Putri²

^{*}Faculty of Medicine, University of Islamic Malang

ABSTRACT

Introduction: Leaf of robusta coffee (*Coffea canephora*) have antibacterial activity on Gram-positive and Gram-negative bacteria. The antibacterial effect's because leaf of robusta coffee contain alkaloids, saponins, flavonoids and tannins. However, research on leaf of robusta coffee of the Dampit variety is not yet known. This research aims to determine the antibacterial effect on the leaf of the Dampit variety Robusta coffee.

Methods: *In Vitro* research by identifying secondary metabolite compounds with Phytochemical Screening and antibacterial testing to measure the *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) and *Zone of Inhibition* (ZOI) in the growth of *Escherichia coli* bacteria. Data analysis on Phytochemical Screening and (MBC) used descriptive analysis and the (ZOI) was compared and tested by *post-hoc Kruskall Wallis* analysis.

Results: The phytochemical analysis of the ethanol extract of the leaves of the robusta coffee plant (*Coffea canephora*) revealed the presence of secondary metabolites, including alkaloids, saponins, flavonoids, tannins, and phenolics. The ethanol extract leaf of robusta coffee (*Coffea canephora*) has a Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of 25%. At the same time, when using strong criteria, the Zone of Inhibition (ZOI) measures 16.57 ± 1.37 mm at a 100% concentration and 12.13 ± 0.81 mm at a 50% concentration.

Conclusion: The ethanol extract leaf of robusta coffee (*Coffea canephora*) has strong antibacterial potential against *Escherichia coli*.

Keywords: *Coffea canephora*, *Escherichia coli*, ZOI, KBM, Antibacterial.

*Correspondence

Dr. dr. Dini Sri Damayanti M.Kes

Jl. MT. Haryono 193 Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65144

e-mail: dinisridamayanti@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Ketika mikroorganisme seperti bakteri, virus, parasit, atau jamur menyerang dan berkembang biak di dalam inang, hal ini dikenal sebagai infeksi.¹ Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) memperkirakan bahwa 31 agen berbahaya termasuk bakteri, virus, parasit, racun, dan bahan kimia bertanggung jawab atas 600 juta kasus penyakit dan 420.000 kematian di seluruh dunia.²

Berbagai penelitian telah menunjukkan bahwa bakteri *Escherichia coli* merupakan penyebab utama diare pada 131 kasus (74,9%).³ Lebih jauh, jumlah pencemaran di Indonesia yang disebabkan oleh *Escherichia coli* telah mencapai tingkat yang mengkhawatirkan. Menurut Bappenas (Badan Perencanaan Pembangunan Nasional), 82,96 persen air minum rumah tangga di Indonesia tercemar oleh bakteri tersebut pada September 2021. Bakteri berbentuk batang, Gram-negatif, anaerob fakultatif yang dikenal sebagai *Escherichia coli* termasuk dalam famili *Enterobacteriaceae*.⁴ Mikroflora alami usus besar manusia meliputi *Escherichia coli*, yang dapat menjadi berbahaya dalam kondisi tertentu. Tubuh dapat kehilangan banyak garam dan air saat bakteri ini hadir.¹⁹

Kopi robusta (*Coffea canephora*) merupakan sentra penanaman kopi robusta di Jawa Timur pada tahun 2021. Kabupaten Malang memiliki luas 11.690 ha.⁵ Namun di Kabupaten Malang, daun kopi hanya terbuang begitu saja setelah dipanen. Tidak seperti biji kopi yang hanya tumbuh pada waktu tertentu dalam setahun, daun kopi dapat ditemukan kapan saja. Melihat ketersediaan penelitian tentang biji kopi, dapat diasumsikan bahwa daun kopi kurang dimanfaatkan dan kurang diteliti, ini bisa mengetahui bahwasanya daun kopi yang jarang dimanfaatkan bisa menjadi obat herbal terstandart dengan pemanfaatan daun kopi robusta (*Coffea canephora*) varietas Dampit tersebut. Sama seperti biji kopi, daun kopi Robusta dianggap mengandung sifat antimikroba.

Komponen alami yang ditemukan dalam daun kopi Robusta.⁶ Para peneliti telah menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kopi memiliki sifat membunuh beberapa jenis bakteri dalam penelitian sebelumnya tentang topik kekuatan antibakteri. Pada penelitian sebelumnya efek penghambatan terbaik dari *Escherichia coli* berada pada konsentrasi 15% dengan diameter zona hambat 17,28 mm.⁷ Efek penghambatan bakteri dikarenakan efektivitas zona penghambatan yang terbentuk akibat kepekaan bakteri terhadap senyawa ekstrak.⁸ Pada bakteri Gram-negatif seperti *Escherichia coli*, dinding sel tersusun dari lapisan tipis peptidoglikan yang ditutupi lagi oleh membran luar. Hal ini membuat dinding pada bakteri menjadi dapat hancur.¹⁰ Penjelasan tentang mekanisme kerja obat antibakteri yang menghambat pertumbuhan bakteri dengan menghambat topoisomerase VI dan topoisomerase II (DNA girase).²⁹

Obat kontrol pada penelitian ini menggunakan ciprofloxacin. Kontrol antibiotik ini bertujuan untuk mengetahui bahwasanya bakteri yang dalam penelitian

ini masih sensitif. Sebagai antibiotik yang termasuk golongan fluorokuinolon kelas dua, ciprofloksasin untuk Gram-negatif dan Gram-positif. Infeksi saluran pernapasan bawah, kulit, tulang, sendi, dan diare yang disebabkan oleh *Shigella* atau *Compylobacter* adalah beberapa kondisi yang diobati dengan ciprofloksasin. Dalam hal bakteri Gram-negatif, ciprofloksasin benar benar unggul, terutama dalam hal jenis *Escherichia coli*.¹³ Fluorokuinolon dengan aktivitas bakteri positif atau negatif telah dikembangkan dari generasi yang lebih baru. Antibiotik ini bekerja dengan menghalangi aktivitas enzim utama dalam replikasi dan perbaikan DNA subunit A girase DNA yang merupakan enzim.¹⁴

Maka dari itu, dengan mengukur Zona Hambat (ZOI) pada pertumbuhan *Escherichia coli* secara *in vitro*, Konsentrasi Bakterisida Minimum (MBC) dan mengidentifikasi senyawa aktif secara fitokimia, peneliti akan menyelidiki efek antibakteri daun kopi robusta (*Coffea canephora*) varietas Dampit.

METODE

Desain, Waktu dan Tempat Penelitian

Suatu penelitian dilakukan dalam lingkungan terkendali untuk mengevaluasi efek ekstrak etanol dari daun kopi robusta terhadap *Escherichia coli*. Pada bulan Juni hingga Juli 2024, proses penelitian dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang. Pelaksanaan penelitian telah disetujui oleh Dewan Riset Fakultas Kedokteran UNISMA No. 214/B4/U.10/Dewan Riset/A.40/I/2024.

Koloni bakteri *Escherichia coli* diperoleh dari Laboratorium Penelitian Herbal Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang dan daun kopi robusta (*Coffea canephora*) dikumpulkan dari Kecamatan Dampit, Kabupaten Malang, untuk dijadikan subjek dalam penelitian ini dan diolah menjadi simplisia di UPT Materia Medika kota Batu

Tahapan penelitian melalui pembuatan ekstrak etanol daun kopi robusta, Uji Fitokimia, pengukuran konsentrasi bunuh minimum, uji *zone of inhibition* dan analisa statistik.

METODE PENGAMBILAN SAMPEL

Laboratorium Penelitian Herbal Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang menyediakan koloni *Escherichia coli* yang digunakan dalam penelitian ini. Laboratorium UPT Herbal Materia Medika Batu mengekstrak etanol 96% dari proses maserasi daun kopi robusta (*Coffea canephora*) varietas Dampit.

METODE PENGUMPULAN DATA

Penelitian memiliki teknik pengumpulan data secara observasi untuk hasil perubahan warna pada uji fitokimia, adanya pertumbuhan bakteri untuk

penentuan konsentrasi bunuh minimum dan hasil pengukuran diameter zona bening (mm) untuk mengetahui efek hambat ekstrak etanol daun kopi robusta (*Coffea canephora*) varietas Dampit terhadap pertumbuhan *Escherichia coli*.

PEMBUATAN EKSTRAK ETANOL DAUN KOPI ROBUSTA

Sebelum diangin-anginkan selama kurang lebih tiga hari, daun kopi robusta (*Coffea canephora*) jenis Dampit dicuci bersih dan tidak boleh terkena sinar matahari langsung. Daun kopi diblender hingga menjadi bubuk kering. Daun kopi robusta (*Coffea canephora*) ditimbang terlebih dahulu sebanyak 1,12 kg. Setelah itu, dimasukkan ke dalam toples dan 5 hari kemudian ditambahkan etanol 96% sebanyak 8400 cc. Setelah itu, digunakan penyaring Buchner untuk memisahkan larutan. Ekstrak pekat sebanyak 55 g dengan rendemen 4,9% diperoleh dengan mencampur dan mengonsentrasikan hasil saringan dengan *Rotary Vacuum Evaporator* selama 9 jam pada suhu 40°C.¹⁵

UJI FITOKIMIA

a. Analisis Flavonoid Setelah menyaring beberapa mililiter ekstrak sampel, pindahkan 4 mililiter filtrat ke dalam tabung reaksi, tambahkan 1 mililiter larutan amonia encer, dan kocok dengan baik. Adanya warna merah, kuning, jingga, atau merah bata menandakan hasil positif.¹⁶

a. Uji Alkaloid Keberadaan alkaloid dipastikan dengan terbentuknya endapan putih setelah menambahkan reagen Mayer ke dalam campuran ekstrak, amonia 0,05 N, dan asam sulfat 2 N. Keberadaan alkaloid dipastikan dengan terbentuknya endapan coklat setelah menambahkan amonia 0,05 N dan asam sulfat 2 N ke dalam filtrat, diikuti dengan penambahan reagen Dragendorff.¹⁶

c. Uji Saponin Sebelum menambahkan 2 tetes HCl, campurkan beberapa mililiter ekstrak sampel dengan sepuluh mililiter air dan kocok dengan kuat selama satu menit. Kehadiran saponin dalam ekstrak dapat dipastikan jika busa yang terbentuk bertahan selama sekitar 10 menit.¹⁶

d. Tanin Tambahkan sepuluh tetes FeCl₃ 10% ke beberapa mililiter sampel ekstrak. Jika ekstrak berubah menjadi warna hijau tua atau biru tua, kemungkinan besar mengandung tanin..¹⁶

UJI (KBM) KONSENTRASI BUNUH MINIMUM

Metode pengenceran digunakan untuk memperoleh berbagai konsentrasi. Jarum ose steril digunakan untuk memindahkan preparat *Escherichia coli* dari media agar ke pelat agar miring, yang

kemudian digores pada tempatnya. Kultur bakteri yang digores ditempatkan dalam inkubator yang diatur pada suhu 37°C selama sehari penuh. Ketika kekeruhan mencapai 0,5, bakteri yang dikultur dikeluarkan dari media agar menggunakan jarum ose steril dan ditempatkan ke dalam BHI-B (*Brain-heart Infusion Broth*).¹⁷ Langkah selanjutnya adalah menyiapkan tujuh tabung reaksi bersih. Sebagai kontrol positif, isi salah satu tabung reaksi berlabel K (+) dengan suspensi bakteri yang memenuhi tingkat kekeruhan McFarland sebesar 0,5; empat tabung lainnya akan diberi label 1–5. Mengikuti prosedur ini hingga tabung 5 menghasilkan konsentrasi sebesar 3,13%, 6,25%, 12,5%, 25%, dan 50%.¹⁷

Sampel diambil dari tabung 1–5 menggunakan kapas untuk uji konsentrasi mematikan minimal. Sampel kemudian dioleskan ke media BHI-B (*Brain-heart Infusion Broth*), yang telah diberi label sesuai dengan konsentrasi ekstrak. Setelah inkubasi, kami memeriksa apakah ada bakteri yang tumbuh di media agar untuk menetapkan konsentrasi mematikan minimal. Konsentrasi mematikan minimal adalah konsentrasi terendah di mana tidak terlihat adanya pertumbuhan bakteri..¹⁸

UJI (ZOI) ZONE OF INHIBITION

Media MHA (*Mueller Hinton Agar*) diinokulasi bakteri uji untuk pengujian penelitian. Pembuatan suspensi biakan *Escherichia coli* dengan mengambil satu koloni menggunakan ose dan dilarutkan dalam 10 ml air aquades steril. Bakteri tersebut diambil dengan menggunakan *cotton bud* lalu diratakan pada media agar dengan merata satu persatu. *Blank disk* ditetesi suspensi (*Coffea canephora*) dari Inkubasi campuran pada suhu 37°C selama 1x24 jam setelah menambahkan konsentrasi hambat minimum ke dalam cawan petri berisi mikroorganisme uji. Zona hambat (ZOI) atau nilai zona hambat ditentukan dengan terlebih dahulu menentukan diameter area bening, kemudian mengukur diameter tersebut dalam satuan milimeter (mm) menggunakan alat ukur jangka sorong digital.

ANALISA STATISTIK

Uji deskriptif analitik dilakukan untuk menganalisa hasil uji fitokimia, cukup rendah untuk menghambat aktivitas, dan cukup tinggi untuk membunuh bakteri. Zona Inhibisi (ZOI) yang terbentuk setelah pemberian *Escherichia coli* ekstrak etanol daun kopi robusta (*Coffea canephora*) dianalisis secara statistik menggunakan ANOVA Satu Arah. Distribusi data yang normal dan homogen merupakan prasyarat untuk menjalankan uji ANOVA Satu Arah. Jika data tidak seragam atau mengikuti distribusi normal, uji Perbandingan Berpasangan $p < 0,05$ digunakan untuk mengidentifikasi perbedaan perlakuan, setelah itu metode *Kruskal Wallis* diterapkan.

HASIL DAN ANALISIS DATA

Hasil Skrining Fitokimia

Hasil skrining fitokimia (*Coffea canephora*) yang tercantum pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan bahan aktif Etanol Daun Kopi Robusta (*Coffea canephora*)

Identifikasi Senyawa	Reagen	Hasil Uji
Alkaloid	2 ml ekstrak + amonia 0,05 N + asam sulfat 2 N + reagen Mayer + amonia 0,05 N + asam sulfat 2 N reagen Dragendorff	(+) Terbentuknya endapan coklat
Saponin	2 ml ekstrak + 1 tetes HCl	(+) Adanya buih yang menetap dalam $\pm$ 15 menit
Flavonoid	2 ml ekstrak + 1 ml ammonia encer	(+) Terdapat perubahan warna menjadi merah bata tua
Tanin/Fenol	2 ml ekstrak + beberapa tetes FeCl_3	(+) Terdapat perubahan warna menjadi coklat kehitaman

Keterangan: (+) = mengandung, (-) = tidak mengandung

Ekstrak etanol daun kopi robusta (*Coffea canephora*) terbukti mengandung empat jenis senyawa, berdasarkan hasil skrining fitokimia. Endapan berwarna coklat menunjukkan adanya alkaloid, terbentuknya busa menunjukkan adanya saponin, perubahan warna menjadi merah bata tua menunjukkan adanya flavonoid, dan perubahan warna menjadi biru kehitaman kecokelatan menunjukkan adanya senyawa tanin atau fenol.

Tabel 2. Perubahan Warna pada Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Kopi Robusta (*Coffea canephora*)

	Alkaloid	Saponin	Flavonoid	Tanin
Parameter	Endapan Coklat	Pembentukan Buih	Merah Bata Tua	Coklat-Biru Kehitaman
Ekstrak Etanol Daun Kopi Robusta				
Hasil	Terbentuknya endapan coklat	Adanya buih yang menetap dalam $\pm$ 15 menit	Terdapat perubahan warna menjadi merah bata tua	Terdapat perubahan warna menjadi coklat kehitaman

Hasil Pengujian Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) *E.coli*

Hasil pengujian konsentrasi bunuh minimum (KBM) dengan Tabel 3.

Tabel 3. Hasil uji Etanol daun Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Terhadap *Escherichia coli*

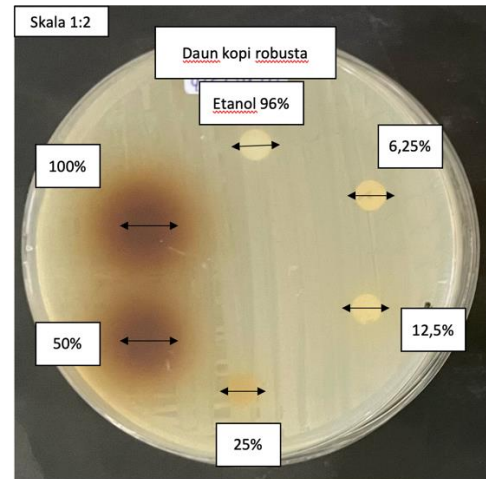
	Ekstrak 50% (n=5)	Ekstrak 25% (n=5)	Ekstrak 12,5% (n=5)	Ekstrak 6,25% (n=5)	Ekstrak 3,13% (n=5)
Uji KBM (n=3)	-	-	+	+	+

Keterangan: (n=3) = pengulangan sebanyak 3 kali, (n=5) = pengulangan sampel, (-) = tidak terdapat bakteri yang tumbuh, (+) = terdapat pertumbuhan bakteri.

Dalam uji konsentrasi bakterisida minimum (KBM), pada konsentrasi 50% dan 25% membunuh *E.coli*. Pada konsentrasi tersebut, hasil menunjukkan bahwa tidak terjadi pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dari pengulangan pertama hingga kelima. Sebaliknya, pada konsentrasi 12,5%, 6,25%, dan 3,13%, pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* diamati dari pengulangan pertama hingga kelima. Untuk membunuh bakteri, suatu zat harus mencapai konsentrasi yang dikenal sebagai konsentrasi bakterisida minimum dan pada pengujian ini didapatkan pada konsentrasi 25%.

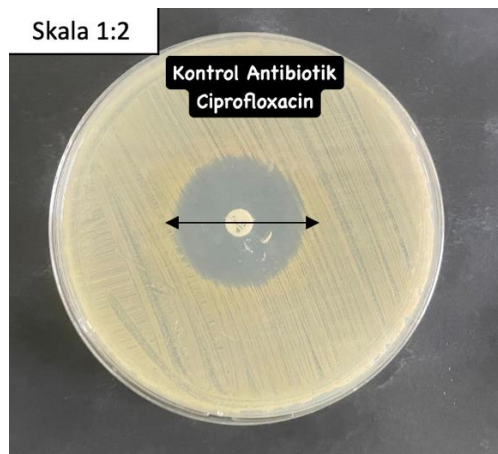
Hasil Pengukuran ZOI *Escherichia coli*

Pada penelitian ini di ulang sebanyak 3 kali pada 3 hari yang berbeda sehingga didapatkan n=9. Kontrol negatif pada penelitian ini yaitu etanol 96% sedangkan untuk kontrol positifnya menggunakan Ciprofloxacin.



Gambar 2. Hasil Pengukuran ZOI Ekstrak Etanol Daun Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Terhadap *Escherichia coli*

Keterangan: konsentrasi 100% ; konsentrasi 50% ; konsentrasi 25% ; konsentrasi 12,5% ; konsentrasi 6,25% : etanol 96%.

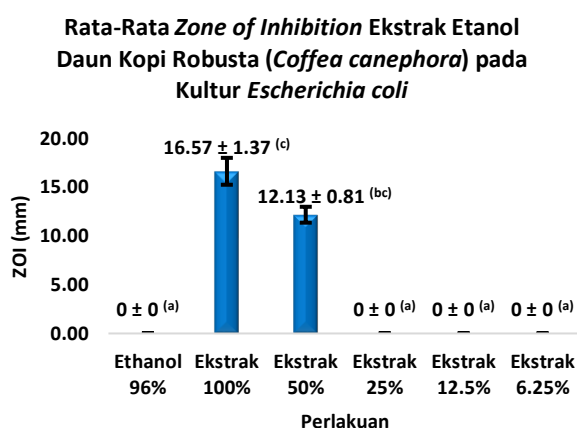


Gambar 3. Hasil Pengukuran ZOI Kontrol Positif (antibiotik Ciprofloxacin 5 mg) Terhadap *Escherichia coli*
Keterangan: Kontrol Positif menggunakan antibiotik Ciprofloxacin 5 mg digunakan sebagai kontrol untuk memastikan bahwa hasil pengujian yang diperoleh akurat dan tidak terkontaminasi.

Tabel 4. Hasil Uji Ekstrak Etanol Tiga Kali Uji Zona Hambat pada Daun Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Terhadap *Escherichia coli*

Sampel	Rerata ZOI (mm)±SD	Interpretasi Davis & Stout (1971)
Ekstrak 100%	16.57 ± 1.37 ^(c)	kuat
Ekstrak 50%	12.13 ± 0.81 ^(bc)	kuat
Ekstrak 25%	0 ± 0 ^(a)	lemah
Ekstrak 12,5%	0 ± 0 ^(a)	lemah
Ekstrak 6,25%	0 ± 0 ^(a)	lemah
Etanol 96%	0 ± 0 ^(a)	lemah

Keterangan: Hasil ZOI ditulis dalam rata-rata±standart deviasi dengan satuan milimeter; Interpretasi Davis & Stout (1971) berdasarkan diameter ZOI yang terbentuk dengan kriteria adanya perbedaan yang signifikan ditunjukkan dengan notasi yang berbeda ($p < 0.05$).



Gambar 4. Hasil Pengukuran ZOI Ekstrak Etanol Daun Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Terhadap *Escherichia coli*

Keterangan: Interpretasi Davis dan Stout berdasarkan diameter ZOI yang terbentuk dengan kriteria jika diameter zona bening < 5 mm dikategorikan lemah, zona bening 5- 10 mm dikategorikan sedang, zona bening 10-20 mm di kategorikan kuat dan zona bening > 20 mm dikategorikan sangat kuat.

Identifikasi tingkat kekuatan daya hambat bakteri menurut Davis dan Stout (1971) maka dapat disimpulkan bahwa pada ekstrak 100% dengan rata-rata 16.57 ± 1.37 mm dan pada ekstrak 50% dengan rata-rata 12.13 ± 0.81 termasuk kategori daya hambat kuat. Sedangkan pada kontrol negatif, ekstrak 25%, ekstrak 12,5% dan ekstrak 6,25% tidak didapatkan aktivitas antibakteri.

Berdasarkan data di atas, kelompok yang diberi ekstrak daun kopi robusta (*Coffea canephora*) 100% memiliki rata-rata zona hambat paling besar, yang berbeda secara signifikan dengan kelompok yang diberi etanol 96%, ekstrak 25%, ekstrak 12,5%, dan ekstrak 6,25 persen, tetapi tidak berbeda dengan kelompok ekstrak 50%.

Meskipun terdapat perbedaan yang signifikan secara statistik antara kelompok perlakuan (Etanol 96%), (Ekstrak 25%), (Ekstrak 12,5%), dan (Ekstrak 6,25%), konsentrasi ekstrak daun kopi robusta (*Coffea canephora*) tidak berbeda secara signifikan (Ekstrak 100%).

PEMBAHASAN

Kandungan Senyawa Aktif Ekstrak Etanol Daun Kopi Robusta (*Coffea canephora*)

Tumbuhan menghasilkan molekul kimia yang disebut metabolit sekunder. Zat kimia ini tidak memiliki peran langsung dalam pematangan, perkembangbiakan, atau pemeliharaan organisme hidup. Alkaloid, flavonoid, tanin, terpenoid, saponin, dan masih banyak lagi senyawa yang termasuk dalam kategori metabolit sekunder.¹⁶

Ekstrak daun kopi (*Coffea canephora*) dan kandungan komponen metabolit sekundernya menghasilkan beberapa senyawa diantaranya alkaloid yang Zat-zat tersebut diidentifikasi dengan adanya: terbentuknya endapan coklat, saponin (busa atau buih yang mengendap dalam waktu ± 15 menit), flavonoid (perubahan warna menjadi merah bata tua), dan tanin (atau fenolik) (perubahan warna menjadi coklat kehitaman).⁷ Baik kulit maupun biji buah kopi robusta mengandung banyak senyawa. Biji buah kopi robusta juga mengandung beberapa senyawa, termasuk steroid.⁷ Di antara berbagai kegunaan untuk keempat zat kimia yang diidentifikasi oleh analisis fitokimia adalah di bidang medis. Mekanisme kerja antibiotik bervariasi di antara tanin, saponin, flavonoid, dan alkaloid. Sebagai antibiotik, tanin bekerja dengan cara merusak permeabilitas dinding sel bakteri dan menghalangi

kemampuan bakteri untuk menggunakan oksigen, yang pada gilirannya menghambat metabolisme energi mereka. Bakteri mengonsumsi energi selama produksi makromolekul.²² Lebih jauh lagi, tanin tidak hanya merusak membran sel bakteri tetapi juga memicu sekresi bahan kimia di dalam sel itu sendiri.²³

Ada bukti bahwa alkaloid memiliki sifat antibakteri, bakterisida, dan bakteristatik. Ketika digunakan, alkaloid bekerja dengan menghancurkan komponen sel bakteri, yang menyebabkan lisis bakteri.²⁴

Selain itu, bahan kimia flavonoid mengubah fluiditas daerah hidrofilik dan hidrofobik membran plasma bakteri, sehingga menghambat aktivitas membran. Selain itu, flavonoid dapat mengubah aktivitas transpeptidase peptidoglikan, yang dapat menyebabkan pecahnya dinding sel.¹⁰

Sedangkan untuk bahan kimia berikutnya, saponin bekerja sebagai antibakteri dengan mengurangi sel bakteri dan merusak permeabilitas membran. Hal ini menyebabkan pelepasan protein dan enzim dari dalam sel. Jika membran sel ini rusak, bakteri tidak akan mampu bertahan hidup. Saponin menempel pada sel setelah berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rapuh proses ini mengurangi stabilitas membran dan mengganggu sel. Sel mati akibat sitoplasma yang bocor keluar.¹⁰

Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Terhadap *Escherichia coli*

Uji analisis *Kruskall-Wallis* menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kopi robusta (*Coffea canephora*) memiliki daya hambat paling kuat pada konsentrasi etanol 100% ($16,57 \pm 1,37$ mm), diikuti oleh konsentrasi etanol 50% ($12,13 \pm 0,81$ mm), dan terakhir pada konsentrasi etanol 96%, 25%, 12,5%, dan 6,25% diperoleh 0 ± 0 mm yang berarti tidak terdapat zona hambat pada konsentrasi tersebut dan menunjukkan tidak adanya aktivitas antibakteri. Temuan ini menunjukkan adanya penghambatan yang cukup besar menurut kriteria Davis dan Stout (1971)¹¹, karena diameter zona hambat berkisar antara 10 hingga 20 mm. Penelitian sebelumnya memperkuat temuan penelitian ini yang menunjukkan bahwa daun kopi robusta (*Coffea canephora*) memiliki sifat antibakteri terhadap *Escherichia coli*. Ekstrak dari daun kopi robusta, menunjukkan diameter zona penghambatan masing-masing sebesar 22,5 mm, 24 mm, dan 27 mm dalam penelitian tersebut. Uji zona penghambatan menunjukkan bahwa dampak bahan kimia metabolit sekunder sebanding dengan diameter zona penghambatan atau zona bening.¹²

Ekstrak etanol daun kopi stronga (*Coffea canephora*) lebih efektif melawan *Escherichia coli* daripada *Staphylococcus aureus* sebagai agen antibakteri.²⁵ Penelitian sebelumnya telah memberikan

dukungan untuk hal ini, khususnya menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kopi robusta membunuh *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi.²⁷ Tidak adanya asam teikoat, membran luar, dan lapisan dinding sel dengan struktur peptidoglikan yang lebih tipis membuat dinding sel *Escherichia coli* Gram-negatif lebih rentan terhadap gangguan fisik, yang menjadi penyebab perbedaan kekuatan.²⁵ Bahan kimia polar juga menargetkan bakteri Gram-negatif lebih efektif dengan sifat antimikrobanya.²⁶ Penyerapan senyawa metabolit sekunder lebih terbatas pada *Staphylococcus aureus* dibandingkan dengan *Escherichia coli* karena bakteri Gram-positif memiliki peptidoglikan yang lebih tebal, yang membatasi masuknya molekul asing.²⁸

Pengujian antibakteri berikutnya dilakukan pada Konsentrasi Pembunuhan Minimum; pada konsentrasi 50% dan 25% tidak ada bakteri yang terdeteksi, pada konsentrasi 12,5%, 6,25%, dan 3,13% terdapat bakteri. Untuk membasmi bakteri, perlu menggunakan konsentrasi yang lebih rendah dari Konsentrasi Pembunuhan Minimum masih terjadi pertumbuhan bakteri pada konsentrasi 12,5%, 6,25%, dan 3,13%, menurut hasil uji Konsentrasi Pembunuhan Minimum dengan ekstrak etanol daun kopi robusta (*Coffea canephora*) terhadap *Escherichia coli*. Fakta bahwa jumlah zat metabolit sekunder yang ada lebih rendah daripada yang ada pada 50% dan 25% menjadi salah satu alasan mengapa dosis 12,5%, 6,25%, dan 3,13% masih gagal menghambat dan membunuh bakteri.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa:

1. Alkaloid, saponin, flavonoid, tanin, dan fenolik diidentifikasi dalam menggunakan skrining fitokimia.
2. Kapasitas penghambatan atau efek zona Ekstrak 100% memiliki hasil uji ZOI terbesar, rata-rata $16,57 \pm 1,37$ mm, sedangkan ekstrak 50% memiliki ZOI tertinggi kedua, rata-rata $12,13 \pm 0,81$ mm.
3. Konsentrasi Bunuh Minimum adalah pada konsentrasi 25%.

SARAN

1. Menggunakan berbagai bakteri Gram-positif dan Gram-negatif untuk menyelidiki sifat antibakteri ekstrak etanol dari biji kopi robusta (*Coffea canephora*).
2. Bereksperimen dengan berbagai pelarut untuk mengumpulkan komponen tambahan metabolit sekunder dalam ekstrak.

3. Menerapkan larutan antibakteri dengan konsentrasi ekstrak 100% atau 50%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih kepada Dosen Pembimbing, kepada tim penelitian, IOM (Ikatan Orangtua Mahasiswa) FK UNISMA yang telah mendanai penelitian dan drh. K.H.M. Zainul Fadli, M.Kes sebagai *peer reviewer*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Arisanti RR, Indriani C, Wilopo SA. Kontribusi Agen dan Faktor Penyebab Kejadian Luar Biasa Keracunan Pangan di Indonesia: Kajian Sistematis. *Ber Kedokt Masy*. 2018;34(3):99.
2. Fitriana NF. Gambaran Pengetahuan Pertolongan Pertama Keracunan Makanan. *J Kesehat Tambusai*. 2021;2(3):173–8.
3. Grady C, Dickert N, Jawetz T, Gensler G, Emanuel E. An Analysis of U.S. Practices of Paying Research Participants. *Contemp Clin Trials*. 2005;26(3):365–75.
4. Zahra I, Erikania S, Dewi O. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* ATCC 25922 Secara in Vitro. *MEDFARM J Farm dan Kesehat*. 2021;10(1):28–34.
5. Ardhana A. Implementasi Pengendalian Persediaan Bahan Baku Kopi Olahan Pada Perusahaan Daerah Perkebunan Kabupaten Jember Jl. Gajah Mada 245 Jember. Skripsi. Universitas Jember; 2021.
6. Rahmawati N, Sudjarwo E, Widodo E. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Herbal Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *J Ilmu-Ilmu Peternak*. 2014;24(3):24–31.
7. Febriani A, Koriah S, Syafriana V. Literature Review on Antibacterial Activity of Leaf, Fruit Peel, Seed Extracts of Arabica (*Coffea arabica*) and Robusta (*Coffea canephora*) Coffee Against Various Bacteria. *Sainstech Farma J Ilmu Kefarmasian*. 2023;16(2):94–102.
8. Marcellia S, Tutik T, Romadhon S. Uji Efektifitas Ekstrak Daun Kopi Robusta (*Coffea robusta*) Sediaan Gel Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes*. *J Farm Malahayati*. 2021;4(1):61–71.
9. Millah Z. Pengaruh Ekstrak Biji dan Daun Robusta (*Coffea chanophora*) dari Desa Kemiri, Jabung-Kab. Malang sebagai Penghambat Pertumbuhan *Escherichia coli*.
10. Hamida F, Miftuopah A, Wahidin W, Fahrudin F. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 96% Biji Kecapi (*Sandoricum koetjape* (Burm.f.) Merr.) terhadap *Propionibacterium acnes* dan *Escherichia coli*. *Pharm J Farm Indones (Pharmaceutical J Indones)*. 2023;19(2):194.
11. Davis WW, Stout TR. Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay. *Appl Microbiol*. 1971;22(4):659–65.
12. Virginia J, Iqbal M, Triyandi R, Andrifanie F. Review Article: Pharmacological Activity of Robusta Coffee Plants (*Coffea canephora*). *Med Prof J Lampung*. 2024;14(4):617–21.
13. Maimuna M, Sidoretno WM, Wardianati I. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Matoa (*Pometia Pinnata* J.r & g . Forst) Terhadap *Escherichia Coli*. *JFARM - J Farm*. 2023;1(1):7–11.
14. Raini M. Antibiotik Golongan Fluorokuinolon: Manfaat dan Kerugian. *Media Penelit dan Pengemb Kesehat*. 2016;26(3):163–74.
15. Nugroho A. Teknologi Bahan Alam. Buku Ajar. Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin. 2017.
16. Ma'arif B, Mahardiani A, Mirza DM. Fitokimia dan aplikasinya.
17. Mpila D, Fatimawali F, Wiyono W. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun mayana (*Coleus atropurpureus* [L] Benth) terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* secara in-vitro. *Pharmacon*. 2012 Aug 1;1(1).
18. Fitriana YA, Fatimah VA, Fitri AS. Aktivitas anti bakteri daun sirih: uji ekstrak KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bakterisidal Minimum). *Sainteks*. 2020 Apr 6;16(2).
19. Tanjung R. Uji Efek Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Afrika (*Vernonia Amygdalina* Del.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia Coli*.
20. Rahmawati N, Sudjarwo E, Widodo E. Uji aktivitas antibakteri ekstrak herbal terhadap bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal ilmu-ilmu peternakan*. 2014;24(3):24–31.
21. Labagu R, Naiu AS, Yusuf N. Kadar saponin ekstrak buah mangrove (*Sonneratia alba*) dan daya hambatnya terhadap radikal bebas DPPH. *Jambura Fish Processing Journal*. 2022 Jan 7;4(1):1–1.
22. Cushnie T, Lamb A.,. Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal Antimicrobial Agents*. 2005.
23. Nuria, Cut. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jarak pagar (*Jatropha curcas* L.).