

PUBLIKASI PENELITIAN TERAPAN DAN KEBIJAKAN

e-ISSN: 2621-8119

DOI : <https://doi.org/10.46774/pptk.v6i2.547>

Perbandingan Aktivitas Antibiofilm Ekstrak Biji Kopi Hijau dan Sangrai Kopi Robusta terhadap *Staphylococcus aureus*

Comparison of The Antibiofilmivities of Green Coffee Seed Extract and Robusta Coffee to Staphylococcus aureus

Sri Khanti Urip*, Tatiana Siska Wardani, Tiara Ajeng Listyani

Program Studi Farmasi, Universitas Duta Bangsa Surakarta, Jawa Tengah, Indonesia

*Korespondensi Penulis: Phone : +628558914531, e-mail: srikhanti7@gmail.com

Diterima : 21 Juli 2023

Direvisi : 24 Oktober 2023

Diterbitkan : 29 Desember 2023



This is an open access article under the CC BY-SA license

(<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0>)

PPTK is indexed Journal and accredited as Sinta 4 Journal (<https://sinta.kemdikbud.go.id/journals/profile/7050>)

ABSTRACT

Green Coffee Beans (*Coffea canephora P.*) and Roasted Robusta Coffee (*Coffea canephora L.*) contain compounds including caffeine, polyphenols, flavonoids, chlorogenic acid. Chlorogenic acid is a phenolic compound contained in coffee beans which functions as an antifungal and antibacterial. Some infectious diseases caused by *Staphylococcus aureus* are boils, acne and wound infections and have the ability to inhibit biofilm. Biofilms are aggregates of microorganisms covered by an extracellular polymer matrix produced by microorganisms. This study aims to test the antibiofilm inhibition and destruction of green coffee bean extract (*Coffea canephora P.*) and roasted robusta coffee (*Coffea canephora L.*) against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. The antibiofilm activity test consists of a biofilm formation test, a biofilm inhibition test, and a destruction of biofilm using the Microtitter Plate Biofilm Assay method on extract samples macerated with 96% ethanol. The antibiofilm activity test used concentrations of 2, 4.8, 16 mg/mL. The results of testing the antibiofilm activity of green coffee bean extract and roasted robusta coffee had inhibitory activity with calculated IC₅₀ values of 4.14 mg/mL and 2.13 mg/mL. The results of the crushing activity of green coffee bean extract and roasted robusta coffee with calculated EC₅₀ values were 10.18 mg/mL and 19.32 mg/mL.

Keywords: biofilm, green coffee, microtitter, robusta coffee, *staphylococcus aureus*

ABSTRAK

Biji Kopi Hijau (*Coffea canephora P.*) dan Sangrai Kopi Robusta (*Coffea canephora L.*) mengandung senyawa antara lain kafein, polifenol, flavonoid, asam klorogenat. Asam klorogenat merupakan senyawa fenolik yang terkandung dalam biji kopi yang berfungsi sebagai antifungi dan antibakteri. Beberapa penyakit infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* adalah bisul, jerawat, dan infeksi luka serta memiliki kemampuan untuk menghambat biofilm. Biofilm adalah agregat mikroorganisme yang tertutup oleh matriks polimer ekstraseluler yang diproduksi oleh mikroorganisme tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk menguji penghambatan dan penghancuran antibiofilm ekstrak biji kopi hijau (*Coffea canephora P.*) dan sangrai kopi robusta (*Coffea canephora L.*) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Uji aktivitas antibiofilm terdiri dari uji pembentukan biofilm, uji penghambatan biofilm, dan uji penghancuran biofilm dengan metode *Microtitter Plate Biofilm Assay* pada sampel ekstrak yang dimaserasi dengan etanol 96%. Uji aktivitas antibiofilm menggunakan konsentrasi 2, 4,8, 16 mg/mL. Hasil pengujian aktivitas antibiofilm ekstrak biji kopi hijau dan sangrai kopi robusta memiliki aktivitas penghambatan dengan perhitungan nilai IC₅₀ 4,14 mg/mL dan 2,13 mg/mL. Hasil aktivitas penghancuran ekstrak biji kopi hijau dan sangrai kopi robusta dengan perhitungan nilai EC₅₀ sebesar 10,18 mg/mL dan 19,32 mg/mL.

Kata kunci: biofilm, kopi hijau, kopi robusta, *microtitter*, *staphylococcus aureus*

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki beragam tumbuhan yang digunakan sebagai pengobatan dikarenakan mengandung bahan kimia yang berperan sebagai obat. Seiring berjalan waktu penggunaan obat kimia mulai dialihkan dengan penggunaan obat tradisional. Salah satu alternatif yang dapat digunakan adalah memanfaatkan zat aktif yang terkandung dalam tanaman obat. Menurut (Iman, 2009) menjelaskan bahwa salah satu tanaman yang secara empiris digunakan sebagai obat antibakteri adalah kopi.

Kopi secara empiris telah digunakan sebagai pengobatan luka ulkus diabetikum oleh masyarakat. Dalam catatan sejarah, kopi digunakan sebagai ramuan kuno untuk mengobati luka karena kopi memiliki kandungan senyawa yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antibakteri antara lain kafein, trigonelin, glioksial, asam klorogenat (Yuwono, 2014). Kopi jenis robusta memiliki senyawa bioaktif antibakteri yang lebih tinggi dibandingkan dengan kopi jenis arabika (Suhayat *et al.*, 2015). Hal ini juga dibuktikan oleh penelitian (Rubinadzari *et al.*, 2022) yang menunjukkan hasil bahwa kopi robusta memiliki aktivitas antibakteri yang baik.

Jenis kopi yang sering digunakan adalah biji kopi robusta yang sudah di sangrai. Selama proses sangrai senyawa asam klorogenat mengalami degradasi sehingga kadarnya menjadi lebih sedikit dibandingkan dengan kopi hijau. Perbedaan kopi hijau dengan kopi robusta terletak pada bahan baku ekstraksi berupa kopi hijau yang belum di sangrai.

Berdasarkan penelitian (Rubinadzari *et al.*, 2022) terkait aktivitas antibakteri kopi robusta menunjukkan bahwa kopi robusta dapat menghambat pertumbuhan plak gigi, *Staphylococcus aureus*. Beberapa penyakit infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* adalah bisul, jerawat, dan infeksi luka serta memiliki kemampuan untuk menghambat biofilm. Biofilm merupakan agregat mikroorganisme yang tertutup oleh

matriks polimer ekstraseluler yang diproduksi oleh mikroorganisme tersebut.

Berdasarkan uraian diatas, maka dilakukan penelitian untuk mengetahui perbandingan aktivitas antibiofilm ekstrak biji kopi hijau (*Coffea canephora* P.) dan Sangrai Kopi Robusta (*Coffea canephora* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

METODE PENELITIAN

Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan Mei sampai Juni 2023 bertempat di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Duta Bangsa Surakarta dan Laboratorium Biomedik Universitas Sebelas Maret.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Microtiter flate-bottom 96 wells*, autoklav, incubator, freezer, *mark- Biorad Microplate Reader*, *rotary evaporator*, *moisture balance*, *waterbath*, *vaccum*, alat *vortex*, *micropipet*, *Laminar air flow (LAF)*, timbangan analitik, cawan penguap, jarum ose, bunsen, gelas ukur, beaker glass, Erlenmeyer, tabung reaksi, ayakan, lampu spiritus, aluminium foil.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji kopi hijau (*Coffea canephora* P.) dan sangrai biji kopi robusta (*Coffea canephora* L.), bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, Media *Nutrient Agar (NA)*, *Brain Heart Infusion (BHI)*, kristal violet 1%, ammonia 25%, kloroform, reagen mayer, reagen dragondrof, aquadest, serbuk Mg, HCl pekat, etanol 96%, FeCl₃ 1%, H₂SO₄ pekat, asam asetat anhidrat, lugol, safranin, larutan *Mc. Farland 0,5* dan DMSO 10%, Listerin.

Determinasi tanaman pada penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kebenaran tanaman berdasarkan ciri-ciri morfologi yang diinginkan dalam penelitian. Biji kopi hijau dan sangrai kopi robusta yang digunakan dalam penelitian ini dalam bentuk biji yang sudah kering lalu diayak dengan pengayak Mesh No.40.

Serbuk ditimbang sebanyak 198,20 g dan di maserasi selama 5 hari dengan larutan etanol 96% dengan perbandingan 1:10.

Selanjutnya maserat disaring dan dilakukan evaporasi dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C sampai terbentuk ekstrak kental dipekatkan diatas waterbath hingga seluruh pelarut etanol menguap untuk mendapatkan ekstrak pekat (Mubarak *et al.*, 2018).

Penentuan susut pengeringan dengan cara sebanyak 1 g bahan dimasukkan ke dalam krus porselen yang telah di panaskan sebelumnya selama 30 menit pada suhu 105°C dan telah ditara. Dimasukkan pada oven pada suhu 105°C selama 30 menit lalu didiamkan hingga suhu dingin, ditimbang beratnya dan hitung nilai presentasinya dengan 3 kali replikasi (Utami, 2020).

Pada uji kadar air menggunakan alat yang bernama *Moisture balance*. Dua gram serbuk dimasukkan dalam *moisture balance* kemudian alat akan berbunyi lalu catat hasil uji kadar air (Anggraini *et al.*, 2021).

Uji bebas etanol dilakukan dengan memasukkan 1 ml ekstrak ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 2 tetes H₂SO₄ dan asam asetat anhidrat kemudian dipanaskan, ekstrak dikatakan bebas bila tidak ada bau ester yang khas dari etanol (Tivani *et al.*, 2021)

Identifikasi kandungan senyawa kimia terdiri dari uji alkaloid, flavonoid, fenolik, steroid dan terpenoid serta saponin. Uji alkaloid yaitu ekstrak ditambahkan 5 ml ammonia 25% dan 20 ml kloroform dalam gelas kimia, kemudian dimasukkan sebanyak 1 ml ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan dua tetes reagen mayer dan dua tetes reagen dragendroff pada tabung reaksi lainnya. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan berwarna putih untuk sampel yang ditetesi reagen mayer dan endapan jingga kecoklatan untuk reagen dragendroff (Wigati *et al.*, 2019).

Uji flavonoid yaitu ekstrak dimasukkan 100 ml ke dalam gelas kimia, lalu dipanaskan kurang lebih lima menit. Setelah dipanaskan, disaring menggunakan kertas saring. 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan

ditambahkan 0,1 g serbuk Mg dan lima tetes HCl pekat. Sampel positif flavonoid jika terbentuk larutan berwarna kuning jingga sampai merah (Ergina, 2014).

Uji fenolik yaitu ekstrak ditambahkan etanol 96% diambil 1 ml lalu ditambahkan 2 tetes FeCl₃ 1%. Sampel dikatakan mengandung senyawa fenolik jika terbentuk larutan berwarna hijau, merah, ungu, biru atau hitam yang kuat (Tahir *et al.*, 2017)

Uji steroid dan terpenoid yaitu ekstrak ditambahkan 3 ml kloroform, 2 ml H₂SO₄ pekat, dan 2 ml asam asetat anhidrat dalam tabung reaksi. Sampel positif mengandung steroid jika terbentuk larutan berwarna biru atau hijau dan positif terpenoid jika terbentuk larutan berwarna merah kecoklatan (Utami, 2018)

Uji saponin yaitu 1 ml ekstrak ditambahkan 10 ml air panas lalu didinginkan. Setelah dingin tabung reaksi dikocok dengan kuat selama 10 detik. Sampel positif mengandung saponin jika terbentuk busa yang stabil setelah penambahan satu tetes larutan HCl 2N (Wigati *et al.*, 2019)

Pembuatan larutan uji dan larutan kontrol dibuat konsentrasi 2,4,8,16 mg/mL ekstrak biji kopi hijau dan sangrai kopi robusta. Kontrol negatif bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang sudah distandarkan dengan kekeruhan *McFarland* 0,5. Sedangkan kontrol positif menggunakan larutan listerin (Wardani, 2018).

Pembuatan media NA yaitu dengan menimbang 0,82 g dilarutkan dalam 40 ml aquadest. Kemudian dipanaskan sambil diaduk diatas *hot plate stirrer* selanjutnya media diisikan ke dalam tabung reaksi disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, dibiarkan pada suhu ruang selama ± 30 menit sampai media memadat.

Pembuatan media BHI dengan menimbang BHI 10g dilarutkan dengan

aquadest setelah homogen disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 30 menit.

Inokulasi dilakukan untuk memindahkan dan meremajakan bakteri. Peremajaan dengan menggunakan media miring NA dengan menggoreskan satu ose ke inokulum pada permukaan agar miring dengan cara zig zag dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C (Wardani, 2018).

Pewarnaan gram dilakukan dengan mengambil 1 ose biakan bakteri pada obyek glass kemudian ditetesi aquadest selanjutnya diratakan setipis mungkin lalu dilewatkan diatas api spirtus. Preparat kemudian ditetesi dengan kristal violet selama ± 1 menit, warna dicuci kemudian tetesi lugol diamkan selama ± 1 menit. Preparat kemudian dilunturkan dengan menggunakan etanol 96% selama ± 1 menit kemudian tetesi safranin dan biarkan selama ± 1 menit. Dibilas menggunakan aquadest, terakhir tetesi minyak emersi. Preparat diamati dibawah mikroskop.

Bakteri *Staphylococcus aureus* yang telah diremajakan di media NA padat diambil menggunakan jarum ose dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi media BHI cair 10 ml lalu divortex selama 1 menit. Kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Suspensi bakteri disesuaikan dengan standar kekeruhan *Mc. Farland* 0,5 (Wardani, 2018).

Uji Aktivitas antibiofilm ekstrak biji kopi hijau (*Coffea canephora* P.) dan Sangrai kopi robusta (*Coffea canephora* L.) terdiri dari:

Optimasi waktu pembentukan biofilm Staphylococcus aureus ATCC 25923

Pembentukan biofilm dilakukan menggunakan *microtiter plate flate-bottom polystyrene 96 wells* dengan memasukkan 500 μ l suspensi bakteri ke tiap *wells*. variasi waktu inkubasi yang digunakan selama 3 hari. Setelah di inkubasi *microplate* dicuci menggunakan air mengalir tambahkan 500 μ l kristal violet 1% ketiap *well* dan diinkubasi

selama 15 menit. Selanjutnya *microplate* dicuci menggunakan air dan ditambahkan etanol 96% sebanyak 500 μ l ketiap *wells* diinkubasi Kembali selama 15 menit. Tahap terakhir dilakukan pembacaan pertumbuhan biofilm pada absorbansi 595 nm (Wardani, 2018).

Uji Aktivitas Penghambatan biofilm Staphylococcus aureus ATCC 25923

Pengujian penghambatan biofilm dilakukan dengan suspensi bakteri uji 500 μ l dan ekstrak biji kopi hijau dan sangrai kopi robusta dengan varian konsentrasi 2, 4, 8, 16 mg/ml dimasukkan dalam waktu bersamaan kedalam tiap *wells* selanjutnya diinkubasi pada waktu optimum pada suhu 37°C lalu *microplate* dicuci menggunakan air. Lalu tambahkan kristal violet 1% ketiap *wells* diinkubasi Kembali selama 15 menit. Langkah selanjutnya *microplate* dicuci menggunakan air dan ditambahkan etanol 96% diinkubasi selama 15 menit. Selanjutnya dilakukan pembacaan penghambatan biofilm pada absorbansi 595 nm (Wardani, 2018).

Uji Aktivitas Penghancuran biofilm Staphylococcus aureus ATCC 25923

Pengujian ini dilakukan seperti pada uji penghambatan hanya saja ekstrak biji kopi hijau dan sangrai kopi robusta ditambahkan pada biofilm yang telah terbentuk. Biofilm terbentuk setelah masing-masing *wells* diinkubasi selama waktu optimum pada suhu 37°C dengan jumlah suspensi bakteri 500 μ l. suspensi bakteri uji dalam *microplate* dibuang. Kemudian masukkan ekstrak biji kopi hijau dan sangrai kopi robusta dengan variasi konsentrasi 2, 4, 8, 16 mg/mL selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang selamu waktu optimum, kemudian *microplate* dicuci menggunakan air dan ditambahkan etanol 96% dimasukkan ketiap *wells* dan diinkubasi selama 15 menit. Terakhir dilakukan pembacaan penghancuran biofilm pada absorbansi 595 nm (Wardani, 2018).

Analisis data pada penelitian ini menggunakan perangkat lunak SPSS 18 dengan uji *One Way ANOVA (Analysis of Varians)* dan perlu dilakukan uji lanjutan yaitu *Post Hoc*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi dilakukan di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT). Hasil identifikasi tanaman benar merupakan biji kopi hijau (*Coffea canephora* P.) dan biji kopi robusta (*Coffea canephora* L.).

Biji kopi hijau dan sangrai kopi robusta yang digunakan dalam penelitian ini dalam bentuk biji yang sudah kering yang diperoleh dari kampoeng kopi banaran di daerah Semarang, Jawa Tengah.

Serbuk biji kopi hijau dan sangrai kopi robusta yang telah diblender kemudian diayak menggunakan ayakan mesh no. 40. Metode ekstraksi yang digunakan yaitu metode maserasi karena mudah serta alat yang digunakan sederhana dan menggunakan etanol 96% selama 5 hari. Hasil dari maserasi disaring menggunakan *vaccum* kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* dilanjutkan dengan *waterbath* hingga menghasilkan ekstrak kental yang berwarna hijau kecoklatan untuk biji kopi hijau dan ekstrak berwarna coklat pekat kental untuk sangrai kopi robusta. Randemen yang diperoleh dari ekstrak biji kopi hijau 12,60% dan sangrai kopi robusta 10,85%.

Susut pengeringan yang dilakukan pada penelitian ini untuk memberikan batasan minimal tentang besarnya senyawa yang hilang pada saat proses pengeringan. Batas maksimum susut pengeringan menurut (Farmakope Herbal

Indonesia Edisi II Tahun 2017, 2012) tidak lebih dari 10%. Susut pengeringan ekstrak biji kopi hijau ditemukan hasil 0,23% dan sangrai kopi robusta ditemukan hasil 0,22% memenuhi standar susut pengeringan.

Uji kadar air pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui batasan minimal atau rentang besarnya kandungan Batas kadar air menurut (Utami *et al.*, 2017) tidak lebih dari 10%. Berdasarkan hasil uji kadar air yang diperoleh dinyatakan bahwa ekstrak biji kopi hijau memiliki nilai 1,95% dan sangrai biji kopi robusta diperoleh nilai 1,26% memenuhi standar uji kadar air.

Uji bebas etanol dilakukan untuk mengetahui bahwa ekstrak yang akan digunakan sudah bebas sehingga saat digunakan sebagai uji aktivitas antibiofilm bukan etanol yang membunuh bakteri melainkan ekstrak biji kopi hijau dan sangrai kopi robusta (Anggraini *et al.*, 2021). Pada penelitian ini didapatkan hasil tidak tercium bau ester yang khas dari etanol.

Ekstrak biji kopi hijau dan sangrai kopi robusta dilakukan menggunakan metode tabung dengan reaksi berwarna bertujuan untuk mengetahui senyawa yang ada pada biji kopi hijau dan sangrai kopi robusta.

Berikut adalah hasil uji kandungan senyawa kimia terhadap biji kopi hijau dan sangrai kopi robusta yang disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Kandungan Senyawa Kimia ekstrak biji kopi hijau dan sangrai kopi robusta

Golongan Senyawa	Hasil		Keterangan
	Biji Kopi Hijau	Sangrai Biji Kopi robusta	
Alkaloid	+	-	Endapan putih, Endapan cokelat
Flavonoid	+	+	Endapan cokelat
	+	+	Kuning kehijauan, Merah
Fenolik	+	+	Biru, Hitam
Steroid	-	-	-
Terpenoid	+	+	Merah kecoklatan
Saponin	+	+	Terbentuk busa

Keterangan : (+) Positif : mengandung golongan senyawa; (-) Negatif: tidak mengandung golongan senyawa

Hasil uji kandungan senyawa kimia terhadap biji kopi hijau dan sangrai kopi

robusta sejalan dengan penelitian yang dilakukan (Rubinadzari *et al.*, 2022) yang

menyebutkan bahwa biji kopi hijau dan sangrai kopi robusta memiliki golongan senyawa kimia alkaloid, flavonoid, fenolik, fenolik, terpenoid dan saponin. Namun ada sedikit perbedaan pada hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan (Mahajan & Kapoor, 2018) yang menerangkan selain senyawa alkaloid, flavonoid, terpenoid, fenolik dan saponin biji kopi hijau dan sangrai kopi robusta juga memiliki kandungan steroid. Perbedaan ini terjadi mungkin disebabkan terjadinya perbedaan tempat tumbuh yang berbeda sehingga kadar kandungan senyawa yang terdapat pada biji kopi hijau dan sangrai kopi robusta juga akan berbeda (Utami, 2018).

Pewarnaan gram dilakukan menggunakan cat Gram A (Kristal violet), Gram B (lugol), Gram C (etanol 96%), Gram D (safranin) diamati

dibawah mikroskop dengan minyak emersi. Pewarnaan gram dilakukan bertujuan untuk mengetahui bahwa bakteri yang digunakan tergolong gram positif atau gram negatif. Hasil pewarnaan gram pada bakteri *Staphylococcus aureus* menunjukkan gram positif dikarenakan tampak sel berwarna ungu, berbentuk bulat dan bergerombol.

Uji Aktivitas Antibiofilm

Optimasi dan pembentukan biofilm

Tujuan dilakukan optimasi waktu biofilm untuk memastikan bahwa bakteri uji saat waktu inkubasi optimal dalam membentuk biofilm terbaik. Hasil optimasi waktu pembentukan biofilm dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil optimasi pembentukan biofilm ekstrak biji kopi hijau (data diperoleh dari pengolahan sendiri)

Keterangan	Absorbansi 595 nm		
	Hari Ke-1	Hari Ke-2	Hari Ke-3
KH 2 mg	0,038	0,036	0,035
KH 4 mg	0,051	0,036	0,041
KH 8 mg	0,043	0,046	0,051
KH 16 mg	0,043	0,062	0,049
K +	0,064	0,061	0,073
K-	0,044	0,064	0,098
Rata- Rata	0,047 ± 0,009	0,050 ± 0,013	0,057 ± 0,024
KR 2 mg	0,060	0,062	0,047
KR 4 mg	0,055	0,062	0,054
KR 8 mg	0,068	0,060	0,058
KR 16 mg	0,067	0,065	0,061
K +	0,064	0,061	0,073
K-	0,044	0,064	0,098
Rata-Rata	0,059 ± 0,009	0,062 ± 0,002	0,065 ± 0,018

Pada tabel 2 terlihat ekstrak kopi hijau dan sangrai kopi robusta dapat membentuk biofilm terbaik dan pada waktu inkubasi selama 3 hari sejalan dengan penelitian sebelumnya (Wardani, 2018). Pembentukan biofilm ekstrak biji kopi hijau paling optimal sebesar 0,057 sedangkan pada sangrai kopi robusta paling optimal sebesar 0,065.

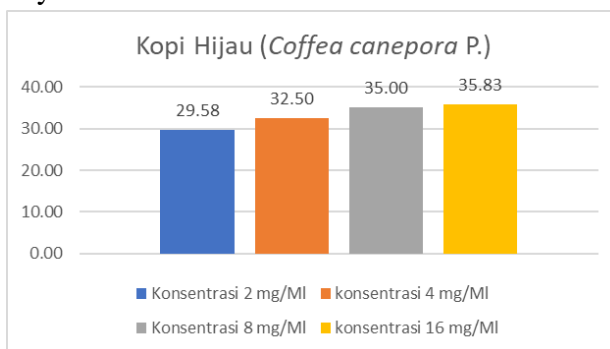
a. Uji Aktivitas Penghambatan Biofilm

Uji kedua yang dilakukan pada penelitian ini adalah uji penghambatan biofilm. Ekstrak dimasukkan secara bersamaan dengan bakteri uji bertujuan agar ekstrak biji kopi hijau dan sangrai kopi robusta dapat menghambat biofilm bakteri uji.

Ekstrak biji kopi hijau dan sangrai kopi robusta yang diuji sebanyak 4 varian konsentrasi. Konsentrasi yang digunakan pada penelitian ini yaitu 2 mg/mL, 4 mg/mL, 8 mg/mL, 16 mg/mL.

Aktivitas penghambatan biofilm ekstrak biji kopi hijau mendapatkan hasil yang semakin meningkat seiring dengan penambahan dosis ekstrak, terlihat pada konsentrasi 16 mg/mL dengan persentase daya hambat

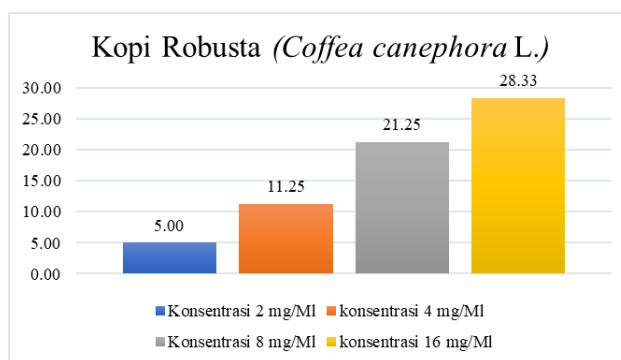
35,83% sedangkan aktivitas daya hambat terendah terlihat pada konsentrasi 2 mg/mL dengan persentase daya hambat 29,58%. Hasil uji aktivitas penghambatan biofilm dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Persentase aktivitas penghambatan biofilm ekstrak kopi hijau

Aktivitas penghambatan biofilm kopi robusta mendapatkan hasil yang semakin meningkat seiring dengan penambahan dosis ekstrak, terlihat pada konsentrasi 16 mg/mL dengan persentase daya hambat 28,33%

sedangkan aktivitas daya hambat terendah terlihat pada konsentrasi 2 mg/mL dengan persentase daya hambat 5%. Hasil uji aktivitas penghambatan biofilm dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Persentase aktivitas penghambatan biofilm sangrai kopi robusta

Kemudian ditentukan nilai IC_{50} dengan regresi linear. Harga IC_{50} berbanding terbalik dengan aktivitas penghambatan biofilm yang artinya semakin besar harga IC_{50}

maka aktivitas penghambatan biofilm semakin kecil. Perhitungan IC_{50} dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil IC₅₀ ekstrak biji kopi hijau dan sangrai kopi robusta

Sampel ekstrak	Regresi Linear	Hasil IC ₅₀
Biji Kopi Hijau	$Y = 0,0119 x + 0,7247$	4,14
Sangrai Kopi Robusta	$Y = 0,0213 x + 0,5905$	2,13

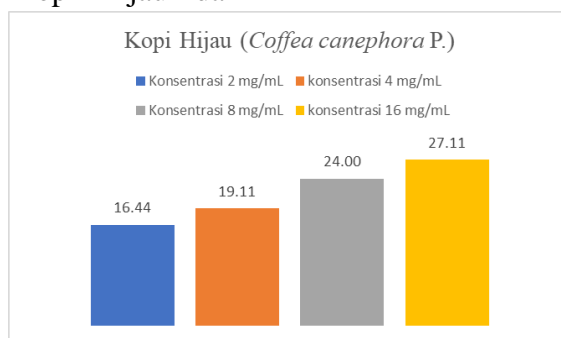
Hasil % penghambatan biofilm pada ekstrak biji kopi hijau memberikan nilai IC₅₀ 4,14 mg/mL dan untuk sangrai kopi robusta 2,13 mg/mL.

b. Uji Aktivitas Penghancuran biofilm

Hasil uji penghancuran biofilm pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan ekstrak biji kopi hijau dan

sangrai kopi robusta dalam menghancurkan biofilm.

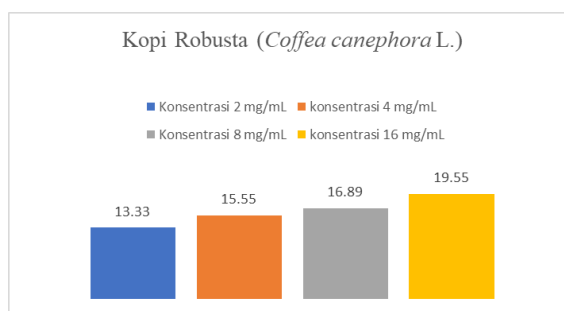
Aktivitas penghancuran biofilm ekstrak biji kopi hijau tertinggi terlihat pada konsentrasi 16 mg/ml yaitu sebesar 27,11%. Hasil aktivitas penghancuran dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. Persentase aktivitas penghancuran biofilm ekstrak biji kopi hijau

Aktivitas penghancuran biofilm sangrai kopi robusta tertinggi terlihat pada konsentrasi 16 mg/ml yaitu sebesar 19,55%.

Hasil aktivitas penghancuran dapat dilihat pada gambar 4.



Gambar 4. Persentase aktivitas penghancuran sangrai kopi robusta

Hasil % penghancuran biofilm kemudian ditentukan nilai EC₅₀ dengan regresi linear.

Hasil EC₅₀ ekstrak biji kopi hijau dan sangrai kopi robusta dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil EC₅₀ biofilm ekstrak biji kopi hijau dan sangrai kopi robusta

Sampel Ekstrak	Regresi Linear	Hasil EC ₅₀ biofilm
Biji kopi hijau	$Y = 3,6877 x + 12,455$	10,18
Sangrai kopi robusta	$Y = 2,0007 x + 11,328$	19,32

Hasil % penghancuran biofilm pada ekstrak biji kopi hijau memberikan nilai EC₅₀ sebesar 10,18 mg/m dan untuk sangrai kopi robusta 19,32 mg/mL.

Hasil Analisis Data

Analisis Data Uji Penghambatan Biofilm

Analisis data pada penelitian ini menggunakan uji *One Way Anova* yang dilanjutkan dengan uji *Post Hoc*

dengan metode *Bonferroni*. Dari hasil uji *One-Sample Kolmogrove-Smirnov* untuk kopi hijau diperoleh sig 0,914 > 0,05 dan untuk sangrai kopi robusta diperoleh sig 0,925 > 0,05 maka H_0 diterima, data tersebut dinyatakan terdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji homogenitas (*levene*) diperoleh hasil untuk ekstrak kopi hijau sig 0,263 > 0,05 dan sangrai kopi robusta diperoleh sig 0,232 maka H_0 diterima, data tersebut dinyatakan bervariasi homogen sehingga dapat dilanjutkan uji *One-Way Anova* hasil dari uji ANOVA untuk ekstrak kopi hijau adalah 0,093 > 0,05 dan sangrai kopi robusta 0,000 < 0,05 yang artinya sangrai kopi robusta memiliki perbedaan antar konsentrasi.

Analisis Data Uji Penghancuran Biofilm

Analisis data pada penelitian ini menggunakan uji *One Way Anova* yang dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* dengan metode *Bonferroni*. Dari hasil uji *One-Sample Kolmogrove-Smirnov* untuk kopi hijau diperoleh sig 0,987 > 0,05 dan sangrai kopi robusta dengan sig 0,945 > 0,05 maka H_0 diterima, data tersebut terdistribusi normal. Selanjutnya dilanjutkan uji homogenitas (*levene*) diperoleh hasil untuk ekstrak biji kopi hijau dengan sig 0,584 > 0,05 dan sangrai kopi robusta dengan sig 0,215 > 0,05 maka H_0 diterima, data tersebut bervariasi homogen sehingga dapat dilanjutkan dengan uji *One-Way Anova* hasil dari uji ANOVA untuk ekstrak kopi hijau adalah 0,041 < 0,05 dan untuk sangrai kopi robusta dengan sig 0,845 > 0,05 yang artinya ekstrak kopi hijau memiliki perbedaan antar konsentrasi.

KESIMPULAN

Hasil penelitian ini menyatakan bahwa ekstrak biji kopi hijau dan sangrai kopi robusta memiliki aktivitas antibiofilm terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Hasil dari ekstrak biji kopi hijau (*Coffea canephora* P.) memiliki aktivitas antibiofilm berupa penghambatan tertinggi pada konsentrasi 16 mg/ml dan untuk perhitungan IC_{50} didapatkan hasil 4,14 mg/mL. sedangkan untuk aktivitas antibiofilm berupa penghancuran tertinggi pada konsentrasi 16 mg/ml dan untuk perhitungan nilai EC_{50} didapatkan hasil 10,18 mg/mL.

Hasil dari sangrai kopi robusta (*Coffea canephora* L.) memiliki aktivitas antibiofilm berupa penghambatan tertinggi pada konsentrasi 16 mg/mL dan untuk perhitungan nilai IC_{50} didapatkan hasil 2,13 mg/mL. sedangkan untuk aktivitas antibiofilm berupa penghancuran tertinggi pada konsentrasi 16 mg/mL dan untuk perhitungan nilai EC_{50} didapatkan hasil 19,32 mg/mL.

SARAN

Bagi peneliti selanjutnya perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui mekanisme yang terjadi pada aktivitas terhadap biofilm ekstrak biji kopi hijau dan sangrai kopi robusta dengan menggunakan metode yang berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggraini, P. H., Septiarini, A. D., & Siska, T. W. (2021). Uji Daya Hambat Ekstrak Dan Fraksi N-Hekasan, Fraksi Etil Asetat, Fraksi Air Daun Kersen (*Muntingia calabura* L) Terhadap BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *Duta Pharma Journal*, 1(2), 8–19.
- Ergina, S. N. (2014). Ergina, Siti Nuryanti dan Indarini Dwi Pursitasari Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder Pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) Yang Diekstraksi Dengan Pelarut Air Dan Etanol Qualitative Test of Secondary Metabolites Compounds in Palado Leaves (*Agave A. J. Akad. Kim*, 3(3).
- Farmakope Herbal Indonesia Edisi II Tahun 2017. (2012). *Formularies. Pocket Handbook of Nonhuman Primate Clinical Medicine*, 213–218.

- Iman, M. N. (2009). *Aktivitas antibakteri ekstrak metanol bunga pepaya jantan*.
- Mahajan, R., & Kapoor, N. (2018). Phytochemical analysis and antimicrobial activity of Roasted beans of *Coffea robusta*. *International Journal of Pharmacy and Biological Science*, 8(1).
- Mubarak, F., Sartini, S., & Purnawanti, D. (2018). Effect of Ethanol Concentration on Antibacterial Activity of Bligo Fruit Extract (*Benincasa hispida* Thunb) to *Salmonella typhi*. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 5(3).
- Rubinadzari, N., Sulfiani Saula, L., Rahmawati Utami, M., Studi Farmasi, P., Ilmu Kesehatan, F., & Singaperbangsa Karawang, U. (2022). Perbandingan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Hijau dan Sangrai Kopi Robusta (*Coffea canephora* L.) Serta Kombinasinya Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 3(2), 221–230.
- Suhayat, C. K., Bahar, M., & Thadeus, M. S. (2015). Perbandingan Hasil Uji Sensitivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Sebelum dan Sesudah Dipanggang Terhadap Isolat Bakteri Plak Gigi di Poliklinik Stan Tangerang Selatan. *Bina Widya*, 26(3), 135–144.
- Tahir, M., Muflihunna, A., & Syafrianti, S. (2017). Penentuan Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Daun Nilam (*Pogostemon Cablin* Benth.) Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 4(1).
- Tivani, I., Amananti, W., & Putri, A. R. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Handwash Ekstrak Daun Turi (*Sesbania grandiflora* L) Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 7(1), 86–91.
- Utami. (2018). *Uji Aktivitas Antioksidan Dari Biji Kopi Robusta (Coffea Canephora P.) Berdasarkan Perbedaan Ekologi Dataran Tinggi Di Pulau Jawa*. 8(1), 67–72.
- Utami, Y. P. (2020). Pengukuran Parameter Simplisia Dan Ekstrak Etanol Daun Patikala (*Etlingera Elatior* (Jack) R.M. Sm) Asal Kabupaten Enrekang Sulawesi Selatan. *Majalah Farmasi Dan Farmakologi*, 24(1), 6–10.
- Utami, Y. P., Umar, A. H., Syahrini, R., & Kadullah, I. (2017). Standardisasi Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Leilem (*Clerodendrum*). *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences*, 2(1), 32–39.
- Wardani. (2018). *Fraksi Teh Hijau (Camelia Sinesis L) Terhadap Antibiofilm Bakteri Pseudomonas Aeruginosa ATCC 27853 dan Staphylococcus Aureus ATCC 25923*. 1–127.
- Wigati, E. I., Pratiwi, E., Nissa, T. F., & Utami, N. F. (2019). 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).
- Yuwono, H. S. (2014). The New Paradigm of Wound Management Using Coffee Powder. *Global Journal of Surgery*, 2(2).