

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK BIJI KOPI ROBUSTA
(*Coffea canephora*) DENGAN *Natural Deep Eutectic Solvent*
(NADES) TERHADAP *Streptococcus mutans***

SKRIPSI



Oleh :

**Nizam Fahimul Fuad
NIM 18040076**

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS dr. SOEBANDI
JEMBER
2022**

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK BIJI KOPI ROBUSTA
(*Coffea canephora*) DENGAN *Natural Deep Eutectic Solvent*
(NADES) TERHADAP *Streptococcus mutans***

SKRIPSI

Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi



Oleh :

**Nizam Fahimul Fuad
NIM 18040076**

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS dr. SOEBANDI
JEMBER
2022**

LEMBAR PERSETUJUAN

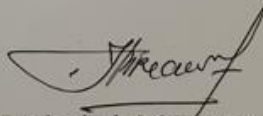
Hasil penelitian ini telah diperiksa oleh pembimbing dan telah disetujui untuk mengikuti seminar hasil pada Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Ilmu

Kesehatan

Universitas dr. Soebandi Jember

Jember, 26 Desember 2022

Pembimbing Utama



Jamhariyah, S.ST., M.Kes
NIDN. 4011016401

Pembimbing Anggota



Alivah Purwanti, M.Si
NIDN. 0709129002

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul “Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Dengan *Natural Deep Eutectic Solvent* (NADES) Terhadap *Streptococcus mutans*” telah diuji dan disahkan oleh Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan pada:

Hari : Jum'at

Tanggal : 06 Januari 2023

Tempat : Program Studi Sarjana Farmasi, Universitas dr. Soebandi

Tim Penguji
Ketua Penguji,

Gumiarti, S.ST., M.PH
NIDN. 4005076201

Penguji II,

Jamhariyah, S.ST., M.Kes.
NIDN. 4011016401

Penguji III,

Aliyah Purwanti, M.Si.
NIDN. 0709129002

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan,
Universitas dr. Soebandi



Ns. Hella Meldy Tursina, S.Kep., M.Kep
NIDN. 0706109104

PERNYATAAN ORISINILITAS SKRIPSI

Yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Nizam Fahimul Fuad

NIM : 18040076

Program Studi : Sarjana Farmasi

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri dan bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau hasil tulisan orang lain.

Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi/laporan tugas akhir ini adalah karya orang lain atau ditemukan adanya pelanggaran terhadap etika keilmuan dalam skripsi ini, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut. Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Jember, 03 Januari 2023

Yang menyatakan



Nizam Fahimul Fuad
/18040076

SKRIPSI

AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK BIJI KOPI ROBUSTA (*Coffea canephora*) DENGAN *Natural Deep Eutectic Solvent* (NADES) TERHADAP *Streptococcus mutans*

Oleh:

Nizam Fahimul Fuad
NIM. 18040076

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Jamhariyah, S.ST ., M.Kes

Dosen pembimbing Anggota : Aliyah Purwanti, M.Si

LEMBAR PERSEMBAHAN

Alhamdulillah segala puji Allah SWT dengan kemurahan dan ridho-Nya, skripsi ini dapat ditulis dengan baik dan lancar hingga selesai. Dengan ini akan saya persembahkan skripsi ini kepada:

1. Tuhan saya, Allah SWT karena hanya atas izin dan karunia-Nya skripsi ini dapat dibuat dan selesai tepat pada waktunya. Puji syukur yang tak terhingga pada Allah SWT yang telah meridhoi dan mengabulkan segala doa.
2. Nabi saya, Nabi Muhammad SAW sebagai panutan umat muslim yang penuh dengan kemuliaan dan ketaatan kepada Allah SWT memberi saya motivasi tentang kehidupan dan mengajari saya hidup melalui sunnah-sunnahnya.
3. Kedua orang tua saya, Syamsul Hadi (Bapak) dan Anis Watin (Ibu) skripsi ini adalah persembahan kecil saya untuk mereka. Terima kasih karena selalu menjaga saya dalam doa-doa serta selalu membiarkan saya mengejar impian saya apapun itu.
4. Dosen Pembimbing, Ibu Jamhariyah, S.ST., M.Kes. selaku dosen pembimbing utama, Ibu Aliyah Purwanti, M.Si. selaku dosen pembimbing anggota, dan Ibu Gumiarti, S.ST., M.PH. selaku dosen penguji saya yang telah bersedia meluangkan waktunya dalam memberikan bimbingan dan arahan dalam proses penyusunan skripsi ini.

MOTTO

Dan (ingatlah) ketika Tuhanmu memaklumkan, "Sesungguhnya jika kamu bersyukur, niscaya Aku akan menambah (nikmat) kepadamu, tetapi jika kamu mengingkari (nikmat-Ku), maka pasti azab-Ku sangat berat."

(QS. Ibrahim Ayat 7)

“Hai orang-orang yang beriman, jadikanlah sabar dan shalat sebagai penolongmu, sesungguhnya Allah bersama orang-orang yang sabar,”

(QS. Al-Baqarah Ayat 153)

ABSTRAK

Fahimul Fuad, Nizam*. Jamhariyah**. Purwanti, Aliyah***. **Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Dengan Natural Deep Eutectic Solvent (NADES) Terhadap *Streptococcus mutans*.**
Skripsi. Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi.

Latar Belakang : *Streptococcus mutans* merupakan salah satu bakteri penyebab terjadinya karies gigi. Ekstrak biji kopi berpotensi sebagai antibakteri untuk menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* karena mengandung senyawa kimia seperti alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan steroid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak NADES (*Natural Deep Eutectic Solvents*) biji kopi robusta terhadap *Streptococcus mutans*

Metode : Desain penelitian ini adalah penelitian eksperimental yang dimulai dengan pembuatan ekstrak biji kopi menggunakan pelarut NADES (*Natural Deep Eutectic Solvents*) kombinasi klorin klorida dan asam laktat dengan metode ekstraksi UAE (*Ultrasonic Assisted Extraction*). Ekstrak yang dihasilkan diskriminasi fitokimia dan diuji aktivitas antibakterinya terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dengan metode difusi cakram

Hasil Penelitian : Hasil dari penelitian ini adalah ekstrak biji kopi robusta positif mengandung senyawa kimia berupa flavonoid, saponin, alkaloid, tannin, dan terpenoid. Hasil dari pengujian aktivitas antibakteri ekstrak biji kopi robusta dapat dilihat dari zona cakram dengan nilai rata-rata zona hambat sebesar $12,77 \pm 2,04$ mm pada konsentrasi 100% dan $24,37 \pm 1,21$ mm pada kontrol positif berupa klorheksidin serta tidak terdapat zona hambat pada kontrol negatif. Hasil analisa statistik menunjukkan terdapat perbedaan signifikan antara ekstrak dan kontrol positif melalui Uji *One Way ANOVA* dengan nilai signifikansi $p = 0,000$.

Kesimpulan : Ekstrak NADES biji kopi robusta memiliki potensi untuk menghambat *Streptococcus mutans*.

Kata Kunci : Kopi Robusta, *Streptococcus mutans*, Antibakteri

*Peneliti

** Pembimbing 1

*** Pembimbing 2

ABSTRACT

Fahimul Fuad, Nizam*. Jamhariyah**. Purwanti, Aliyah***. **Antibacterial Activity Of Robusta Coffea Beans (*Coffea canephora*) extract With Natural Deep Eutectic Solvent (NADES) Against *Streptococcus mutans*.**
Essay. Pharmacy Undergraduate Study Program, University of dr. Soebandi.

Background : *Streptococcus mutans* is a bacteria that caused dental caries. Coffe beans extract has been reported as an antibacteria to detain *Streptococcus mutans* grwoth because It's chemical coumpound such as as alkaloids, flavonoids, tannins, saponins, and steroids had long been known for their antibacterial properties. The purpose of this study was to determine the antibacterial activity of the NADES (*Natural Deep Eutectic Solvents*) extract of robusta coffee beans against *Streptococcus mutans*

Methods : The design of this study is an experimental research started with the preparation of coffee bean extract with NADES (*natural deep eutectic solvents*) combination of chlorine chloride and lactic acid as a solvent. The extraction method used in this research was UAE (*Ultrasonic Assisted Extraction*). The extract result then tested for chemical coumpound and for its antibacterial activity against *Streptococcus mutans* with the disc diffusion method

Result : the results of this study was robusta coffee bean extract contains chemical compounds such as flavonoids, saponins, alkaloids, tannins, and terpenoids. The test results of antibacterial activity from robusta coffee bean extract appear from the inhibition zone around the disc with an average inhibition zone valued of 12. 77±2,04 mm at a concentration of 100% and 24. 37±1,21 mm for chlorhexidine as a positive control. The analysis statistic through One Way Anova test shown that the different was significant with a p value of 0.0000

Conclusion : NADES extract of coffe beans has a potential to prevent the growth of *Streptococcus mutans*.

Keyword : Coffee robusta, *Streptococcus mutans*, Antibacterial activity

*Author

** Advisor 1

*** Advisor 2

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa, atas segala limpahan rahmat, taufik, dan Hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi untuk memenuhi persyaratan memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi yang berjudul “Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Dengan *Natural Deep Eutectic Solvent* (NADES) Terhadap *Streptococcus mutans*”.

Penyusunan skripsi ini dapat terlaksana dengan baik berkat bimbingan dari berbagai pihak, oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Drs. Said Mardijanto, S.Kep., Ns., M.M. selaku Rektor Universitas dr. Soebandi
2. Ibu Hella Meldy Tursina, S.Kep., Ns., M.Kes. selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi
3. Ibu apt. Dhina Ayu Susanti, S.Farm., M.Kes. selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr Soebandi
4. Ibu Jamhariyah, S.ST., M.Kes. selaku Dosen Pembimbing Utama
5. Ibu Aliyah Purwanti, M.Si. selaku Dosen Pembimbing Anggota
6. Ibu Gumiarti, S.ST., M.PH selaku Ketua Penguji

Penulis tentu menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Penulis mengharapkan kritik serta saran dari semua pihak demi kesempurnaan Skripsi ini.

Semoga skripsi ini dapat bermanfaat. Akhir kata penulis mengucapkan terima kasih.

Jember, 03 Januari 2023

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL.....	i
HALAMAN JUDUL	ii
LEMBAR PERSETUJUAN.....	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
PERNYATAAN ORISINILITAS SKRIPSI.....	v
HALAMAN PEMBIMBING SKRIPSI	vi
LEMBAR PERSEMBAHAN	vii
MOTTO	viii
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
KATA PENGANTAR.....	xi
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR SINGKATAN.....	xvi
DAFTAR GAMBAR.....	iii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan Umum.....	4
1.3.2 Tujuan Khusus.....	4
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.4.1 Manfaat Bagi Peneliti	5
1.4.2 Manfaat Bagi Masyarakat.....	5
1.4.3 Manfaat Bagi Mahasiswa	5
1.5 Keaslian Penelitian.....	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	7

2.1	Tanaman Kopi Robusta (<i>Coffea canephora</i>)	7
2.1.1	Klasifikasi Tanaman Kopi Robusta (<i>Coffea canephora</i>)	7
2.1.2	Morfologi Tanaman Kopi Robusta (<i>Coffea canephora</i>)	8
2.1.3	Kandungan Senyawa Kimia	10
2.2	Ekstraksi	13
2.3	Pelarut	19
2.3.1	<i>Natural Deep Eutectic Solvents</i> (NADES).....	20
2.3.2	Klorin Klorida	21
2.3.3	Asam Laktat.....	22
2.4	Bakteri	22
2.4.1	Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Bakteri	23
2.5	<i>Streptococcus mutans</i>	24
2.5.1	Klasifikasi <i>Streptococcus mutans</i>	25
2.5.2	Morfologi <i>Streptococcus mutans</i>	25
2.6	Antibakteri.....	27
2.6.1	Metode Pengukuran Aktivitas Antibakteri	29
BAB 3 KERANGKA KONSEP		31
3.1	Kerangka Konsep	31
3.2	Hipotesis Penelitian.....	32
BAB 4 METODE PENELITIAN.....		33
4.1	Desain Penelitian.....	33
4.2	Populasi Dan Sampel	33
4.2.1	Populasi Penelitian.....	33
4.2.2	Sampel Penelitian	33
4.3	Variabel Penelitian	33
4.3.1	Variabel Bebas.....	34
4.3.2	Variabel Terikat.....	34
4.4	Tempat Penelitian.....	34
4.5	Waktu Penelitian	34
4.6	Definisi Operasional.....	34
4.7	Teknik Pengumpulan Data	35

4.7.1	Determinasi Tanaman.....	35
4.7.2	Pembuatan Serbuk Simplisia Biji Kopi (<i>Coffea canephora</i>) ..	35
4.7.3	Pembuatan Ekstrak Biji Kopi (<i>Coffea canephora</i>).....	36
4.7.4	Skrining Fitokimia.....	37
4.7.5	Pembuatan Media	38
4.7.6	Pembiakan Bakteri <i>Streptococcus mutans</i>	39
4.7.7	Pembuatan Suspensi Bakteri Uji	39
4.7.8	Pembuatan Kontrol Negatif dan Kontrol Positif	39
4.7.9	Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Cakram.....	40
4.8	Teknik Analisa Data.....	40
4.8.1	Pengolahan Data	40
4.8.2	Analisa Data	41
BAB 5 HASIL PENELITIAN		42
5.1	Determinasi Tanaman Kopi Robusta (<i>Coffea canephora</i>).....	42
5.2	Ekstraksi Biji Kopi Robusta (<i>Coffea canephora</i>)	42
5.3	Hasil Uji Skrining Fitokimia Biji Kopi Robusta (<i>Coffea canephora</i>)	42
5.4	Hasil Uji Aktivitas Antibakteri	43
BAB 6 PEMBAHASAN.....		46
6.1	Kandungan Senyawa Kimia Ekstrak NADES Biji Kopi Robusta	46
6.2	Uji aktivitas antibakteri ekstrak NADES Biji Kopi Robusta Terhadap <i>Streptococcus mutans</i>	48
6.3	Konsentrasi Efektif Ekstrak Biji Kopi Robusta Menggunakan Pelarut NADES yang Dapat Menghambat Pertumbuhan Bakteri <i>Streptococcus mutans</i>	50
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN.....		52
7.1	Kesimpulan	52
7.2	Saran.....	52
DAFTAR PUSTAKA.....		53
LAMPIRAN.....		60

DAFTAR TABEL

Tabel 1.1 Keaslian Penelitian.....	5
Tabel 2.1 Daftar Pembuatan NADES	21
Tabel 2.2 Klasifikasi Kategori Zona Hambat Antibakteri	27
Tabel 4.1 Definisi Operasional	35
Tabel 5.1 Hasil Uji Skrining Fitokimia.....	42
Tabel 5.2 Hasil Uji Antibakteri Biji Kopi Robusta (<i>Coffea Canephora</i>)	43

DAFTAR SINGKATAN

NADES	: <i>Natural Deep Eutectic Solvents</i>
DES	: <i>Deep Eutectic Solvents</i>
UAE	: <i>Ultrasonic Assisted Extraction</i>
MAE	: <i>Microwave Assisted Extraction</i>
MHA	: <i>Mueller Hinton Agar</i>
NA	: <i>Nutrient Agar</i>
Ditjen POM	: Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan
ATP	: <i>Adenosine Three Phospate</i>
ILS	: <i>Ionic Liquids</i>
EPS	: <i>Extracellular Polysaccharide</i>
IPS	: <i>Intracellular Polysaccharide</i>
KHM	: Konsentrasi Hambat Minimum
KBM	: Konsentrasi Bunuh Minimum
ChCl	: <i>Choline Chloride</i>
FeCl ₃	: Besi (III) Klorida
BaCl	: Barium Klorida
HCl	: Hidrogen Klorida
H ₂ SO ₄	: Asam Sulfat

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman Kopi Robusta (<i>Coffea canephora</i>)	7
Gambar 2.2 <i>Streptococcus mutans</i> di Bawah Mikroskop dengan Pembesaran 1000x.....	26
Gambar 3.1 Kerangka Konsep Uji Aktivitas Antibakteri Biji Kopi (<i>Coffea canephora</i>) Terhadap <i>Streptococcus mutans</i>	31
Gambar 5.1 Perbandingan Rata-Rata Aktivitas Antibakteri	44

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Determinasi Kopi Robusta (<i>Coffea canephora</i>).....	60
Lampiran 2 <i>Mc Farland</i>	61
Lampiran 3 Hasil Uji Statistik	62
Lampiran 4 Dokumentasi Penelitian	66
Lampiran 5 Perhitungan Data.....	70

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Karies gigi merupakan salah satu penyakit gigi yang terjadi akibat rusaknya struktur dan lapisan gigi. Karies gigi dapat terjadi karena hasil metabolisme dari bakteri tersebut merupakan substansi asam yang dapat menyebabkan lapisan pelindung gigi menipis sehingga terjadi karies gigi. Salah satu penyebab utama terjadinya karies gigi adalah bakteri (Afifah *et al*, 2017). Salah satu bakteri yang terkenal dapat menyebabkan karies adalah *Streptococcus mutans*. *Streptococcus mutans* adalah bakteri patogen yang berkolonisasi pada awal mula tumbuhnya karies gigi dan dapat hidup serta beradaptasi dalam suasana asam (Azzahra, 2018).

Karies gigi merupakan masalah yang sering terjadi di Indonesia. Hasil riset yang dilakukan oleh Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) menunjukkan peningkatan persentase jumlah penderita penyakit tersebut apabila dibandingkan dengan tahun-tahun sebelumnya. Berdasarkan hasil riset yang telah dilakukan di Indonesia, prevalensi karies di Indonesia adalah sebesar 88,8% dengan Prevalensi karies tertinggi terdapat pada kelompok 55-64 tahun (96,8%) (Riskesdas, 2018). Wilayah di Jawa timur, Kabupaten Jember mempunyai proporsi masalah gigi dengan urutan ke 8 tertinggi di Jawa Timur, dimana kondisi tersebut masih di atas rata-rata masalah gigi wilayah Jawa Timur dengan nilai persentase sebesar 54,22% (Riskesdas, 2018).

Karies gigi merupakan penyakit pada jaringan keras gigi akibat adanya aktivitas dari bakteri yang menghasilkan asam yang mampu melakukan

fermentasi karbohidrat dan di konsumsi oleh manusia. *Streptococcus mutans* menghasilkan asam yang bisa mempercepat pematangan plak pada gigi melalui interaksi pada protein permukaan *Streptococcus mutans* dengan glukosa yang bisa berakibat turunya pH pada permukaan gigi (Gani, 2009). Pengobatan karies yang disebabkan oleh bakteri *Streptococcus mutans* biasanya diawali dengan pemberian antibiotik golongan penisilin yaitu amoksisilin, apabila terdapat gejala resistensi pada pasien maka terapi dilanjutkan dengan cara mengkonsumsi metronidazol. Pemberian antibiotik ini dimaksudkan untuk membunuh bakteri tersebut. Selain antibiotik, pasien juga diberi obat sedatif ataupun analgesik guna menekan rasa sakit akibat infeksi tersebut (Kaligis, 2017). Apabila telah terjadi karies, maka penanganan akan lebih sulit serta membutuhkan biaya mahal. Selain itu, bakteri tersebut dapat beradaptasi dengan antibiotik yang diberikan sehingga menyebabkan resistensi. Oleh karena itu, penggunaan obat herbal merupakan pilihan yang baik serta lebih aman untuk digunakan (Samsudin, 2020).

Kopi robusta diketahui memiliki berbagai kandungan metabolisme sekunder. Kandungan tersebut adalah senyawa alkaloid, tanin, saponin, polifenol, trigolenin, glukosa, protein, teofilina, asam klorogenat, mineral, serta berbagai komponen volatile lainnya (Rohani, 2021). Zat – zat yang terdapat dalam biji kopi diketahui dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme khususnya bakteri *Streptococcus mutans* yang merupakan penyebab utama karies gigi. Selain akses terhadap tumbuhan yang mudah, biji kopi robusta juga telah dikenal oleh masyarakat sehingga masyarakat

Indonesia memiliki pengetahuan yang cukup untuk menggunakan tanaman ini sebagai alternatif antibiotik infeksi yang disebabkan oleh *Streptococcus mutans* (Rohani, 2021).

NADES (*Natural Deep Eutectic Solvents*) merupakan pelarut baru seperti Ionic liquids (ILs) yang mulai digunakan sebagai alternatif pelarut-pelarut lainnya. Pemilihan pelarut ini didasarkan pada sifatnya yang ramah lingkungan serta dapat didaur ulang (Dewi *et al*, 2021). Selain kelarutannya yang tinggi, Pelarut NADES (*Natural Deep Eutectic Solvents*) juga memiliki potensi yang luas serta kompatibilitas yang tinggi dalam penarikan zat pada tumbuhan yang akan digunakan pada penelitian ini. Sifat pelarut yang cenderung fleksibel dapat dimanfaatkan agar penarikan zat yang dibutuhkan menjadi optimal. Dengan mencampurkan dua pelarut dengan rasio yang tepat, maka pelarut akan mencapai titik eutektik (Dewi *et al*, 2021).

Menurut penelitian yang dilakukan oleh (Dewi *et al*, 2021), Ekstraksi yang menggunakan NADES (*Natural Deep Eutectic Solvents*) sebagai pelarut dapat menghasilkan hasil yang baik. Penelitian tentang proses ekstraksi menggunakan pelarut NADES juga mendapatkan hasil yang optimal. Berdasarkan hal tersebut penggunaan pelarut tersebut merupakan pilihan yang baik dilihat dari faktor hasil yang didapat dari penelitian terdahulu serta sifat dari pelarut tersebut yang ramah lingkungan. Pemilihan UAE (*Ultrasonic Assisted Extraction*) didasarkan pada kinerja penarikan metabolisme sekunder yang dibutuhkan dengan cara membuat simplisia mengalami kondisi fragmentasi dan erosi sehingga menyebabkan pecahnya partikel simplisia menjadi lebih kecil. Hal tersebut menyebabkan peningkatan penarikan zat karena luas permukaan yang semakin banyak (Sjahid, 2020).

1.2 Rumusan Masalah

- 1) Bagaimana kandungan senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak NADES (*Natural Deep Eutectic Solvents*) biji kopi (*Coffea canephora*)?
- 2) Apakah ekstrak biji kopi robusta menggunakan pelarut NADES (*Natural Deep Eutectic Solvents*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans*?
- 3) Berapakah konsentrasi efektif ekstrak NADES biji kopi robusta (*Coffea canephora*) dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak biji kopi robusta menggunakan pelarut NADES (*Natural Deep Eutectic Solvents*) terhadap *Streptococcus mutans*.

1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Mengidentifikasi kandungan senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak NADES (*Natural Deep Eutectic Solvents*) biji kopi (*Coffea canephora*)
- b. Menganalisis aktivitas antibakteri ekstrak biji kopi robusta menggunakan pelarut NADES (*Natural Deep Eutectic Solvents*) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*.
- c. Mengidentifikasi konsentrasi efektif ekstrak biji kopi robusta menggunakan pelarut NADES (*Natural Deep Eutectic Solvents*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Bagi Peneliti

Ekstrak biji kopi robusta dengan pelarut NADES (*Natural Deep Eutectic Solvents*) nantinya dapat digunakan sebagai bahan alternatif pengembangan obat baru berbahan herbal.

1.4.2 Manfaat Bagi Masyarakat

Memberikan pengetahuan baru mengenai alternatif pengobatan bahan alam sehingga bisa meningkatkan harga ekonomis dengan penggunaan biji kopi robusta (*Coffea canephora*).

1.4.3 Manfaat Bagi Mahasiswa

- Dapat digunakan sebagai referensi tambahan mahasiswa saat melakukan skripsian.
- Dapat digunakan sebagai dasar penelitian lebih lanjut tentang alternatif penggunaan bahan alam yang berasal dari aktivitas antibakteri ekstrak biji kopi robusta dengan penggunaan pelarut NADES (*Natural Deep Eutectic Solvents*).

1.5 Keaslian Penelitian

Tabel 1.1 Keaslian Penelitian

Nama Penulis	Tahun Terbit	Judul Penelitian	Hasil Penelitian
Angesti Atiqah Ranasatri; Nur Mahmudah; Riandini Aisyah; Retno Sintowati	2021	Aktivitas Antibakteri ekstrak etanol 70% biji kopi robusta (<i>Coffea canephora</i>) terhadap <i>Staphylococcus epidermidis</i> dan <i>Salmonella typhi</i>	Metode maserasi + pelarut etanol 70% disimpulkan bahwa ekstrak biji kopi robusta memiliki aktivitas anti bakteri terhadap <i>Staphylococcus epidermidis</i> dan <i>Salmonella typhi</i> pada konsentrasi 3,125%, 6,25%, 12,5%, dan 25%.

Dwi Puji Rahayu; Retno Sintowati; Dodik Nursanto	2020	Aktivitas antibakteri fraksi etil asetat kopi robusta terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Salmonella typhi</i>	Metode maserasi + pelarut etanol 70% disimpulkan bahwa ekstrak biji kopi robusta memiliki aktivitas antibakteri terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Salmonella typhi</i> . Semakin tinggi konsentrasi fraksi etil asetat semakin tinggi zona hambat yang terbentuk.
Putu Ayu Melati Widyasari; IGM Aman; Agung Nova Mahendra	2020	Aktivitas antibakteri ekstrak etanol biji kopi robusta (<i>Coffea canephora</i>) terhadap bakteri <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228 penyebab infeksi nosokomial	Metode maserasi + pelarut etanol disimpulkan ekstrak etanol biji kopi robusta (<i>Coffea canephora</i>) dapat menghambat pertumbuhan bakteri <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228 dengan konsentrasi hambat minimum (KHM) pada konsentrasi 50% dan diameter zona hambat terbesar pada konsentrasi 100%.
Rr. Nektara Titan Dianastri; Pudji Astuti; Rendra Chriestedy Prasetya	2021	Daya Hambat Ekstrak Biji Kopi Robusta (<i>Coffea canephora</i>) terhadap Bakteri <i>Porphyromonas gingivalis</i> (in vitro)	Metode maserasi + pelarut etanol 96% disimpulkan ekstrak etanol biji kopi robusta pada konsentrasi 1%, 1,25% , 1,5%, dan 3%, mempunyai daya antibakteri terhadap <i>P. gingivalis</i> dan ekstrak biji kopi robusta dengan konsentrasi 1% adalah konsentrasi terkecil dari ekstrak biji kopi Robusta (<i>Coffea canephora</i>) yang dapat menghambat pertumbuhan <i>Porphyromonas gingivalis</i>

Perbedaan penelitian ini dengan penelitian sebelumnya adalah pada penggunaan pelarut ekstraksi yaitu NADES (*Natural Deep Eutectic Solvent*) dengan menggunakan kolin klorida dan asam laktat (1:1) dengan metode ekstraksi UAE (*Ultrasonic Assisted Extraction*) dan bakteri yang digunakan yaitu *Streptococcus mutans*, sedangkan persamaan yang ada pada penelitian ini dengan penelitian sebelumnya yaitu menggunakan ekstrak biji kopi robusta sebagai antibakteri.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Kopi Robusta (*Coffea canephora*)

Kopi Robusta berasal dari Kongo dan masuk ke Indonesia pada tahun 1990. Karena mempunyai sifat lebih unggul, kopi ini sangat cepat berkembang. Bahkan kopi ini merupakan jenis yang mendominasi perkebunan kopi di Indonesia hingga saat ini (Murtafiah *et al.*, 2012)

2.1.1 Klasifikasi Tanaman Kopi Robusta (*Coffea canephora*)

Tumbuhan kopi (*Coffea sp*) merupakan jenis tumbuhan yang berbentuk pohon yang memiliki famili *Rubiaceae* dan termasuk genus *Coffea*.



Gambar 2.1 Tanaman Kopi Robusta (*Coffea canephora*)
(Azmi Ulum, 2020)

Klasifikasi Tanaman Robusta (Murtafiah *et al.*, 2012))

Kingdom : Plantae
Subkingdom : Tracheobionta
Super Divisi : Spermatophyta
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliophyta
Sub Kelas : Asteridae

Ordo : Rubiales
Famili : Rubiaceae
Genus : Coffea
Spesies : *Coffea canephora*

2.1.2 Morfologi Tanaman Kopi Robusta (*Coffea canephora*)

a. Akar

Tanaman kopi memiliki akar tunggang sehingga tidak mudah rebah. Akar tunggang tersebut hanya dimiliki oleh tanaman kopi yang berasal dari bibit semai atau bibit sambung (okulasi) yang batang bawahnya berasal dari bibit semai. Sementara tanaman kopi yang berasal dari bibit stek, cangkok, atau okulasi yang batang bawahnya berasal dari bibit stek tidak memiliki akar tunggang sehingga relatif mudah rebah (Dewi *et al* , 2016)). Meskipun kopi merupakan tanaman tahunan, tetapi umumnya mempunyai perakaran yang dangkal. Oleh karena itu tanaman ini mudah mengalami kekeringan pada kemarau panjang bila di daerah perakarannya tidak diberi mulsa. Secara alami tanaman kopi memiliki akar tunggang sehingga tidak mudah rebah. Tetapi akar tunggang tersebut hanya dimiliki oleh tanaman kopi yang bibitnya berupa bibit semaian atau bibit sambungan okulasi yang batang bawahnya merupakan semaian. Panjang akar tunggang dapat mencapai 45-50 cm, dan terdapat 4-8 akar samping yang tumbuh menurun kebawah sepanjang 2-3 m. selain itu banyak akar cabang samping yang panjang 1-2 m horizontal, sedalam kurang lebih 30 cm, dan bercabang merata (DEWI *et al*, 2016).

b. Batang

Batang pokok memiliki ruas-ruas yang tampak jelas pada saat tanaman itu masih muda. Pada tiap ruas tumbuh sepasang daun yang berhadapan, selanjutnya tumbuh dua macam cabang, yakni cabang orthotrop (cabang yang tumbuh tegak lurus atau vertikal dan dapat menggantikan kedudukan batang bila batang dalam keadaan patah atau dipotong) dan cabang plagiotrop (cabang atau ranting yang tumbuh ke samping atau horizontal) (PTPN XII 2013).

c. Daun

Daun kopi memiliki bentuk bulat telur, bergaris ke samping, bergelombang, hijau pekat, kekar, dan meruncing di bagian ujungnya. Daun tumbuh dan tersusun secara berdampingan di ketiak batang, cabang dan ranting. Sepasang daun terletak di bidang yang sama di cabang dan ranting yang tumbuh mendatar. Kopi Arabika memiliki daun yang lebih kecil dan tipis apabila dibandingkan dengan spesies kopi Robusta yang memiliki daun lebih lebar dan tebal. Warna daun kopi Arabika hijau gelap, sedangkan kopi Robusta hijau terang (Sablik *et al.*, 2012).

d. Bunga

Bunga kopi tersusun dalam kelompok, masing-masing terdiri dari 4–6 kuntum bunga. Pada setiap ketiak daun dapat menghasilkan 2–3 kelompok bunga sehingga setiap ketiak daun dapat menghasilkan 8–18 kuntum bunga atau setiap buku menghasilkan 16–36 kuntum bunga. Bunga kopi berukuran kecil, mahkota berwarna putih dan berbau harum. Kelopak bunga berwarna hijau, pangkalnya menutupi bakal buah yang mengandung dua bakal biji. Benang sari terdiri dari 5–7 tangkai berukuran pendek. Bunga kopi biasanya akan mekar pada awal musim

kemarau. Bunga berkembang menjadi buah dan siap dipetik pada akhir musim kemarau (Sablik *et al.*, 2012).

e. Buah

Buah kopi mentah berwarna hijau muda. Setelah itu, berubah menjadi hijau tua, lalu kuning. Buah kopi matang (ripe) berwarna merah atau merah tua. Ukuran panjang buah kopi Arabika sekitar 12–18 mm, sedangkan kopi Robusta sekitar 8–16 mm. Buah kopi terdiri dari beberapa lapisan, yakni eksokarp (kulit buah), mesokarp (daging buah), endokarp (kulit tanduk), kulit ari dan biji (Sablik *et al.*, 2012)). Kulit buah yang masih muda berwarna hijau tua yang kemudian berangsur-angsur menjadi hijau kuning, dan akhirnya menjadi merah, merah hitam jika buah tersebut sudah masak sekali. Daging buah yang sudah masak akan berlendir dan rasanya agak manis. Biji terdiri dari kulit biji dan lembaga (Sablik *et al.*, 2012).

2.1.3 Kandungan Senyawa Kimia

Biji kopi robusta telah lama dikenal dan dinikmati oleh masyarakat Indonesia. Biji kopi robusta selain bermanfaat sebagai antibakteri juga bermanfaat sebagai antioksidan alami serta sebagai penurun kolestrol dalam tubuh.

Metabolit sekunder pada setiap senyawa selalu berbeda-beda, perbedaan metabolit sekunder bahkan dapat ditemukan di satu tumbuhan pada bagian tumbuhan yang berbeda. Seperti contoh, kandungan metabolit sekunder pada batang mungkin tidak akan sama dengan kandungan metabolit sekunder pada bunga tumbuhan tersebut (Roe *et al.*, 2017). Terdapat beberapa jenis tumbuhan yang menggunakan metabolit sekunder untuk pertahanan dari lingkungan yang kurang menguntungkan. Jumlah serta macam–macam metabolit sekunder yang diproduksi

oleh suatu tumbuhan biasanya bervariasi dari kadar ataupun jenisnya (Silalahi, 2017). Biji kopi sendiri memiliki beberapa kandungan senyawa kimia seperti flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin.

Flavonoid terutama berupa senyawa yang larut dalam air. Mereka dapat diekstraksi dengan etanol 70 % dan tetap ada dalam lapisan air setelah ekstrak dikocok dengan eter dan minyak bumi. Flavonoid berupa senyawa fenol, karena itu warnanya berubah bila ditambah basa atau amonia. Flavonoid mengandung sistem aromatik yang terkonyugasi. Pada umumnya terikat pada gula sebagai glikosida dan aglikon. Flavonoid terdapat dalam semua tumbuhan berpembuluh tetapi beberapa kelas lebih tersebar dari pada yang lainnya; flavon dan flavonol tersebar merata.

Mekanisme kerja flavonoid berfungsi sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu keutuhan membran sel bakteri. Mekanisme kerjanya dengan cara mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi (Juliantina, 2008).

a. Alkaloid

Alkaloid merupakan metabolit sekunder terbesar pada tumbuhan. Alkaloid merupakan senyawa yang bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen, biasanya dalam gabungan, sebagian bagian dari sistem siklik. Alkaloid sering beracun bagi manusia dan banyak yang mempunyai kegiatan fisiologi yang menonjol, jadi digunakan secara luas dalam bidang pengobatan. Alkaloid biasanya tak berwarna, sering kali bersifat optis aktif, kebanyakan berbentuk kristal tetapi

hanya sedikit yang berupa cairan (misalnya nikotin) pada suhu kamar. Uji sederhana, tetapi sama sekali tidak sempurna, untuk alkaloid dalam daun atau buah segar adalah rasa pahitnya di lidah. Senyawa penyusun alkaloid yang paling umum adalah asam amino. Meskipun sebenarnya biosintesis kebanyakan alkaloid lebih rumit (Bukhori *et al*, 2017). Senyawa alkaloid memiliki penghambatan dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Juliantina, 2008).

b. Saponin

Saponin merupakan senyawa aktif permukaan dan bersifat seperti sabun, serta dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya membentuk busa dan menghemolisis sel darah. Pencarian saponin dalam tumbuh-tumbuhan telah dirangsang oleh kebutuhan akan sumber sapogenin yang mudah diperoleh dan dapat diubah dilaboratorium menjadi sterol hewan yang berkhasiat penting, misalnya kortison, estrogen kontraseptif, dll. Senyawa yang telah digunakan hekogenin dari Agave, diosgenin, serta yamogenin dari jenis Dioscorea. Dari segi ekonomi saponin penting juga karena kadang-kadang menimbulkan keracunan pada ternak, misalnya saponin alfalfa, *Medicago sativa*, atau karena rasanya manis, misalnya glizirizin dari akar manis, *Glycyrrhiza glabra*. Pola glikosida saponin kadang-kadang rumit, banyak saponin yang mempunyai satuan gula sampai lima dan komponen yang umum ialah asam glukuronat (Ruhimat, 2015).

c. Tanin

Tanin adalah senyawa fenolik kompleks yang memiliki berat molekul 500-3000. Tanin dibagi menjadi dua kelompok atas dasar tipe struktur dan aktivitasnya terhadap senyawa hidrolitik terutama asam, yaitu tanin terkondensasi (condensed tannin) dan tanin yang dapat dihidrolisis (hydrolyzable tannin) (Rara, 2018). Pada umumnya tanin terdistribusi dalam kingdom tumbuhan Gymnospermae dan Angiospermae yang terdapat khusus dalam jaringan kayu. Tanin lebih banyak terdapat dalam tumbuhan dikotil daripada tumbuhan monokotil.

Tanin dalam jaringan tumbuhan terletak pada bagian tunas, daun (diatas epidermis yang dapat digunakan sebagai pelindung dari serangan predator), akar (dalam hipodermis), batang (pada floem sekunder dan xilem) serta lapisan antara epidermis dan korteks (Mutmainnah *et al*, 2018). Tanin memiliki aktivitas antibakteri, secara garis besar mekanisme yang diperkirakan adalah toksisitas tanin dapat merusak membran sel bakteri, senyawa astringent tanin dapat menginduksi pembentukan kompleks ikatan tanin terhadap ion logam yang dapat menambah daya toksisitas tanin. Mekanisme kerja tanin diduga dapat mengekstrutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri (Rachmawaty *et al.*, 2009).

2.2 Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan senyawa dari simplisia dengan metode tertentu. Pelarut yang digunakan harus sesuai dengan zat yang akan ditarik dari simplisia tersebut. Pemilihan pelarut ekstraksi didasarkan pada sifat fisik dan sifat kimia kandungan dari simplisia yang akan digunakan (Dewatisari, 2020).

Berikut merupakan macam-macam metode ekstraksi yang biasa dilakukan.

Berbagai macam metode ekstraksi yang dapat digunakan adalah sebagai berikut:

a. Ekstraksi Dingin

Ekstraksi dengan cara dingin dapat dilakukan dengan beberapa metode sebagai berikut:

1) Maserasi

Maserasi adalah proses ekstraksi yang dilakukan dengan cara merendam simplisia dalam satu atau campuran pelarut selama waktu tertentu pada temperatur kamar dan terlindung dari cahaya. Prinsip dari kerja maserasi adalah proses melarutnya zat aktif berdasarkan sifat kelarutannya dalam suatu pelarut (like dissolved like), proses ekstraksi dari sampel biasanya menggunakan pelarut etanol dan metanol (Marjoni, 2016). Pelarut yang digunakan, akan menembus dinding sel dan kemudian masuk ke dalam sel tanaman yang penuh dengan zat aktif. Pertemuan antara zat aktif dengan pelarut akan mengakibatkan terjadinya proses pelarutan dimana zat aktif dan pelarut akan terlarut ke dalam pelarut. Pelarut yang berada di dalam sel mengandung zat aktif sementara yang berada diluar sel tidak mengandung zat aktif, sehingga terjadi ketidakseimbangan antara konsentrasi zat aktif di dalam dengan diluar sel (Marjoni, 2016).

Perbedaan konsentrasi ini akan mengakibatkan terjadinya proses difusi, dimana larutan dengan konsentrasi tinggi akan terdesak keluar sel dan digantikan oleh pelarut dengan konsentrasi rendah. Proses ini terjadi berulang sampai diperoleh ketidakseimbangan konsentrasi larutan antara didalam sel dengan konsentrasi larutan di luar sel (Marjoni, 2016).

Proses maserasi dilakukan selama waktu tertentu dengan sesekali diaduk, biasanya dibutuhkan waktu 1-6 hari. Selain metanol dan etanol pelarut yang lain yang biasa digunakan antara lain aseton, kloroform, atau sesuai kebutuhan. Setelah waktu tertentu ekstrak yang disebut maserat dipisahkan dengan cara penyaringan. Maserasi biasanya dilakukan pengulangan dengan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat yang pertama yang disebut remaserasi. Remaserasi biasanya dilakukan tiga kali atau sampai senyawa yang diinginkan dalam sampel benar-benar sudah habis. Apabila dalam proses maserasi dilakukan pengadukan terus menerus maka disebut juga dengan maserasi kinetik (Zamrodah, 2016).

2) Perkolasi

Perkolasi yaitu proses ekstraksi dengan pelarut yang dialirkan melalui kolom perkolator yang diisi dengan serbuk simplisia dan ekstraknya dikeluarkan melalui keran secara perlahan (Zamrodah, 2016). Pelarut ini dialirkan secara kontinu dalam waktu tertentu. Pelarut dialirkan secara vertikal dari atas ke bawah melalui serbuk simplisia dan pelarut akan melarutkan zat aktif dalam sel-sel simplisia yang dilaluinya sampai mencapai keadaan jenuh. Gerakan ke bawah disebabkan oleh gaya beratnya sendiri dan berat cairan di atasnya dikurangi gaya kapiler yang cenderung untuk menahan gerakan ke bawah (Marjoni, 2016).

Faktor-faktor yang berperan penting pada proses perkolasi diantaranya adalah gaya berat, kekentalan cairan, daya larut zat aktif, tegangan permukaan, difusi, tekanan osmosis, daya adesi, daya kapiler, dan gaya geseran (Marjoni, 2016). Teknik perkolasi dilakukan pada suhu ruang. Parameter berhentinya penambahan pelarut adalah perkolat sudah tidak mengandung komponen yang akan diambil.

Pengamatan secara fisik pada ekstraksi bahan alam terlihat tetesan perkolat sudah tidak berwarna (Sugiarti *et al*, 2017).

b. Ekstraksi Panas

Ekstraksi secara panas dapat dilakukan dengan beberapa metode berikut:

1) Seduhan

Seduhan merupakan metode ekstraksi yang dilakukan dengan merendam simplisia pada air panas selama waktu tertentu (5-10 menit). (Zamrodah, 2016).

2) Coque (Penggodokan)

Coque merupakan proses ekstraksi yang dilakukan dengan cara merebus simplisia menggunakan api langsung dan hasilnya dapat langsung digunakan sebagai obat baik secara keseluruhan termasuk ampasnya atau hanya hasil rebusannya saja tanpa ampas (Marjoni, 2016).

3) Infusa

Infusdasi merupakan metode ekstraksi dengan pelarut air. Pada proses infusdasi berlangsung, temperatur pelarut air harus mencapai suhu 90°C selama 15 menit. Rasio berat bahan dan air adalah 1 : 10, artinya jika berat bahan 100 gr maka volume air sebagai bahan pelarut adalah 1000 mL (Sujatmiko, 2014).

4) Digesti

Digesti merupakan metode esktraksi yang dilakukan pada suhu 40-50°C. Proses ini dilakukan dengan menempatkan sejumlah bahan pada wadah tertutup, ditambah dengan pelarut dengan perbandingan kira-kira 1 : 7, atau setidaknya semua sampel tercelup. Diamkan selama 1-6 hari pada suhu kamar dan terlindung dari cahaya dengan sekali diaduk. Setelah itu, cairan dipisahkan, dibuang bagian

yang mengendap (Nudiasari *et al*, 2019). Pada saat proses perendaman senyawa organik yang terkandung dalam sampel berdifusi melewati dinding sel untuk melarutkan konstituen dalam sel dan juga memacu larutan dalam sel untuk berdifusi keluar. Sistem yang digunakan dalam metode ini adalah sistem statis, kecuali saat digojok, proses ekstraksiberjalan dengan difusi molekuler, sehingga proses ini berlangsung secara perlahan. Setelah ekstraksi selesai, residu dari sampel harus dipisahkan dengan pelarut dengan didekantir atau di saring (Nudiasari *et al*, 2019).

5) Dekokta

Dekokta merupakan proses ekstraksi yang mirip dengan proses infudasi, perbedaannya adalah waktu pemanasan yang diperlukan lebih lama yaitu > 30 menit dan suhu pelarut sama dengan titik didih air (Dewi and Wuryandari, 2019). Waktu 30 menit ini dihitung setelah suhu mencapai 90°C. Metode dekokta sudah jarang digunakan karena selain proses penyaringan yang kurang sempurna dan juga tidak dapat digunakan untuk mengekstraksi senyawa bersifat tremolabil (Dewi and Wuryandari, 2019).

6) Refluks

Refluks merupakan proses ekstraksi dengan pelarut dengan titik didih pelarut selama waktu dan jumlah pelarut tertentu dengan adanya pendingin balik (kondensor). Proses ini umumnya dilakukan 3-5 kali pengulangan pada residu pertama, sehingga termasuk proses ekstraksi yang cukup sempurna (Ii, 2019).

7) Sokletasi

Sokletasi merupakan proses ekstraksi panas menggunakan alat ekstraktor soklet. Suhu yang digunakan lebih rendah dari suhu metode refluks (Marjoni,

2016). Proses ekstraksi ini menggunakan pelarut yang selalu baru dan alat soklet sehingga terjadi ekstraksi secara konstan dengan adanya pendingin balik. Teknik ini dilakukan dengan cara menempatkan simplisia pada selongsong dengan pembungkus kertas saring, lalu ditempatkan pada soklet yang telah dipasang labu dibawahnya. Pelarut ditambahkan sebanyak 2 kali sirkulasi, kemudian dipasang pendingin balik, dan pemanasan labu. Ekstraksi berlangsung minimal 3 jam interval sirkulasi sekitar 15 menit (Marjoni, 2016).

c. Ekstraksi Non-Konvensional

Selain metode ekstraksi konvensional, terdapat metode lain yaitu ekstraksi Non-Konvensional, metode ekstraksi Non-Konvensional sebagai berikut:

1) *Ultrasonic Assisted Extraction (UAE)*

Ultrasonik adalah metode ekstraksi Non-Konvensional non termal yang dapat mempersingkat waktu laju transfer massa serta memecahkan dinding sel dengan microcavity sehingga dapat mempersingkat proses pada saat ekstraksi serta meningkatkan optimalitas penggunaan pelarut. Penetrasi cairan dan pelepasan komponen sel mengalami peningkatan karena kontak antara ekstrak dan solven dibantu dengan gelombang *ultrasonic* dimana pada gelombang tertentu, pada gelombang suara lebih dari 20kHz, simplisia akan mengalami kondisi yang disebut fragmentasi dan erosi dikarenakan pecahnya partikel simplisia menjadi lebih kecil sehingga meningkatkan luas permukaan partikel sehingga terjadi peningkatan penarikan zat zat penting dari simplisia yang digunakan (Sjahid, 2020).

2) *Microwave Assisted Extraction* (MAE)

Microwave Assisted Extraction (MAE) adalah metode ekstraksi Non-Konvensional yang menggunakan suhu panas serta berinteraksi dengan senyawa polar seperti air dan beberapa komponen organik dalam matriks tumbuhan mengikuti konduksi ionik dan mekanisme rotasi dipol. Metode ini menggunakan energi dari radiasi microwave untuk memanaskan pelarut dengan cepat dan efisien. Teknologi ekstraksinya menggunakan aplikasi termal berdasarkan efisiensi produksi panas (pemanasan selektif). Aplikasinya terdiri dari ekstraksi senyawa bernilai tinggi dari sumber alami, nutraseutikal, bahan pangan fungsional dan bahan aktif dari biomassa. Pada prosesnya terjadi absorpsi gelombang microwave oleh bagian tanaman yang menyebabkan pembengkakan dan pelepasan komponen-komponennya pada fase likuid. Faktor yang perlu diperhatikan dalam menggunakan MAE yaitu pemilihan jenis pelarut, pengaruh kontak luas area sampel dan efek temperatur terhadap senyawa yang diekstrak (Handaratri and Yuniati, 2019).

2.3 Pelarut

Dalam tanaman terdapat berbagai macam senyawa bioaktif dengan sifat kimia yang berbeda sehingga untuk mendapatkan senyawa satu dengan lainnya dapat digunakan pelarut yang berbeda (Wahyuningtyas *et al*, 2017). Proses ekstraksi dengan pelarut didasarkan pada sifat kepolaran zat dalam pelarut saat ekstraksi. Senyawa polar hanya akan larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, dan air sedangkan senyawa non-polar juga hanya akan larut pada pelarut non-polar seperti eter, kloroform dan n-heksan. Pelarut polar hampir dapat

melarutkan semua jenis senyawa kimia (Sa'adah and Nurhasnawati, 2017), sedangkan pelarut semi polar mampu menarik senyawa termasuk likopen , b-karoten, vitamin C, fenol, terpenoid, alkaloid, aglikon, dan glikosida (Fareta Febriana, 2019). Pelarut yang biasa digunakan untuk ekstraksi komponen zat aktif yaitu Air, Etanol, Metanol, Kloroform dan Etil asetat (Fareta Febriana, 2019).

2.3.1 *Natural Deep Eutectic Solvents (NADES)*

Natural Deep Eutectic Solvents (NADES) adalah pelarut yang menggunakan suatu pelarut spesifik. Pelarut yang digunakan adalah suatu jenis pelarut baru seperti Ionic liquids (ILs). Pelarut ini cenderung ramah lingkungan serta kelarutannya tinggi dan memiliki potensi luas serta kompatibel dengan tumbuhan yang digunakan. Metode ekstraksi *Natural Deep Eutectic Solvent* (NADES) menggunakan kombinasi dua pelarut. Ketika kedua pelarut tersebut dicampur dengan rasio yang tepat, maka akan timbul titik eutektik (Dewi *et al*, 2021).

Pada saat pelarut *Natural Deep Eutectic Solvent* (NADES), beberapa faktor penting suatu pelarut seperti, titik leleh, viskositas, kepolaran, pH, dan densitas akan di modifikasi sehingga pelarut yang digunakan lebih cocok dengan tanaman yang akan digunakan sebagai ekstrak (Dewi *et al*, 2021).

Natural Deep Eutectic Solvents (NADES) dapat dikelompokkan menurut senyawa-senyawa penyusunnya. Kelompok *Natural Deep Eutectic Solvents* (NADES) sebagai berikut:

- a. Cairan ionik, terdiri dari asam-asam organik (asam sitrat, asam maleat, asam laktat) dan senyawa basa diantaranya yaitu choline, chloride, betaine chloride dan betaine

- b. NADES netral, tidak terdapat konstituen ionik, seperti campuran polyalcohols (gliserol, glisin dan 1-2 propandiol)
- c. NADES bersifat asam, terdiri dari senyawa netral, seperti glukosa, fruktosa, sukrosa, maltosa, trehalose dan senyawa asam
- d. NADES bersifat basa, terdiri dari senyawa netral dan senyawa basa
- e. NADES bersifat amfoter, yaitu kombinasi dari asam amino (α -Proline, β Alamine) dan gula *polyalcohol*, atau senyawa-senyawa asam Berikut daftar kombinasi bahan dan rasio molar dalam pembuatan *Natural Deep Eutectic Solvents* (NADES).

Daftar kombinasi rasio berdasarkan molaritas dalam pembuatan *Natural Deep Eutectic Solvents* (NADES) (Ahmad and Prabowo, 2020), yaitu :

Tabel 2.1 Daftar Pembuatan NADES

No.	Komponen 1	Komponen 2	Rasio mol
1.	Kolin klorida	Asam laktat	1:1
2.	Kolin klorida	Asam malonat	1:1
3.	Kolin klorida	Asam maleat	1:1; 1:2
4.	Kolin klorida	Asam sitrat	1:1; 2:1
5.	Kolin klorida	Asam akonitrik	1:1
6.	Kolin klorida	Gliserol	1:1; 3:2
7.	Kolin klorida	Glikol	1:1
8.	Kolin klorida	D-sorbitol	3:1; 5:2
9.	Kolin klorida	Maltosa	4:1
10.	Kolin klorida	Sukrosa	4:1; 1:1

2.3.2 Klorin Klorida

Klorin klorida atau *2-hydroxy-N,N,N trimethylethanaminium chloride* menurut nama IUPACnya merupakan pelarut gram ammonium yang sering digunakan sebagai pembentuk NADES dikarenakan harganya yang murah. Kolin

klorida dapat terurai hayati dan tidak beracun. Hal ini sesuai dengan prinsip NADES (*Natural Deep Eutectic Solvents*) yaitu ramah lingkungan dan murah. Klorin klorida telah disetujui *Council Directive 70/524/EEC8* sebagai aditif nutrisi pada semua spesies (Dewi *et al*, 2021). Berdasarkan keuntungan karakteristik klorin klorida masalah pemurnian dan pembuangan limbah dapat teratasi serta DES yang berasal dari substansi tersebut merupakan biodegradable, biokompatible dan tidak beracun (Dewi *et al*, 2021).

2.3.3 Asam Laktat

Pemilihan *Hydrogen Bonding Donor* (HBD) merupakan hal yang penting dalam pembentukan DES dengan titik beku rendah. Asam laktat memiliki titik beku 16,2° C dimana titik beku tersebut cenderung rendah. Sintesis NADES merupakan suatu pelarut yang murah serta terbuat dari bahan-bahan nabati yang mudah didapat. Asam laktat pada dasarnya adalah suatu substansi yang sering dijumpai pada susu sapi. Oleh karena itu perolehan zat ini sangat mudah serta dapat didaur ulang. Zat yang digunakan merupakan zat yang kompatibel dengan makanan, farmasi dan formulasi kosmetik termasuk salah satunya yaitu asam laktat (Dewi *et al*, 2021).

2.4 Bakteri

Bakteri adalah makhluk yang bersel satu. Pada umumnya, bakteri tidak memiliki klorofil tetapi terdapat beberapa jenis bakteri yang berklorofil sehingga proses reproduksinya dengan cara pembelahan diri. Bakteri merupakan makhluk mikroskopik dengan ukuran yang sangat kecil. Bakteri menurut bentuknya dibedakan menjadi tiga yaitu, basil, *coccus*, dan spiral. Bakteri dengan bentuk

coccus memiliki ukuran rata-rata 1µm. bakteri dengan bentuk basil memiliki ukuran 0,3-1 µm, panjang 1,5-4 µm namun terdapat bakteri dengan bentuk basil dengan Panjang hingga 8µm. bakteri dengan bentuk spiral mempunyai ukuran sekitar 0,5-1 µm, panjang 2-5 µm namun ada juga yang sampai 10µm (Rollando, 2019).

2.4.1 Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Bakteri

Bakteri membutuhkan beberapa hal untuk dapat bermetabolisme, melakukan pembelahan sel dan tumbuh secara optimal pada lingkungan yang menyediakan kebutuhan-kebutuhannya. Secara kimiawi bakteri terbentuk oleh unsur-unsur polisakarida, protein, lipid, asam nukleat dan peptidoglikan (Miftahuddin, 2021).

1. Oksigen

Berdasarkan kebutuhan oksigen, bakteri dapat diklasifikasikan menjadi 4 kelompok (Miftahuddin, 2021) sebagai berikut:

- a. Obligat aerob. Dapat tumbuh ketika terdapat oksigen
- b. Obligat anaerob. Dapat tumbuh jika tidak terdapat oksigen
- c. *Microaerophilic*. Dapat tumbuh dalam lingkungan dengan sedikit oksigen
- d. Fakultatif anaerob. Dapat tumbuh jika adanya oksigen menggunakan oksigen untuk membentuk energi, jika tidak tersedia cukup oksigen menggunakan jalur fermentasi

2. Tingkat Keasaman pH

Menurut (Miftahuddin, 2021) pH akan optimal pada pertumbuhan bakteri yang berkisar antara pH 7,2 – 7,4. Suhu optimal dibutuhkan untuk kerja enzim bakteri yang efektif meskipun bakteri dapat tumbuh pada rentang suhu yang sangat

lebar. Kebutuhan pH dapat diklasifikasikan yaitu mikroorganisme asidofil (pH 1-5,5), neutrofil (pH 5,5-8,0), alkalofil (pH 8,5-11,5) dan alkalofil ekstrim (pH > 10).

3. Suhu

Pada umumnya suhu bakteri dapat tumbuh optimal berdasarkan suhu tubuh manusia. Tetapi, terdapat beberapa bakteri yang dapat tumbuh pada suhu ekstrim misalnya pada suhu yang panas atau dingin (Yusmaniar *et al.*, 2017).

Berdasarkan kemampuan tumbuh pada suhu lingkungan, bakteri dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

- a. Bakteri mesofil yaitu bakteri yang tumbuh pada suhu 20-45°C
- b. Bakteri termofil yaitu bakteri yang tumbuh pada suhu optimal 55-80°C
- c. Bakteri psikofil yaitu bakteri yang tumbuh pada suhu dibawah 20°C

4. Nutrisi

Hidrogen, karbon, ion-ion anorganik seperti nitrogen, sulfur, fosfat, magnesium, kalium dan nutrien organik seperti asam amino, karbohidrat, purin, pirimidin, dan media pertumbuhan merupakan kebutuhan nutrisi bakteri. Media termasuk campuran nutrien atau zat makanan yang dibutuhkan oleh mikroorganisme untuk pertumbuhan. Media juga dapat dibutuhkan untuk isolasi dan inokulasi mikroba (Yusmaniar *et al.*, 2017).

2.5 *Streptococcus mutans*

Streptococcus mutans adalah bakteri gram positif yang berbentuk bola (*coccus*) yang memiliki dinding tebal dan tersusun atas peptidoglikan serta asam teikotik. Peptidoglikan dan asam teikotik berfungsi untuk menjaga dinding sel agar tidak terjadi lisis osmotik protoplasma sel. Dinding sel yang tersusun atas

polisakarida dan berbentuk kapsul memberi kekuan pada dinding sel dimana polisakarida tersebut tersusun atas glukosa dekstran.

2.5.1 Klasifikasi *Streptococcus mutans*

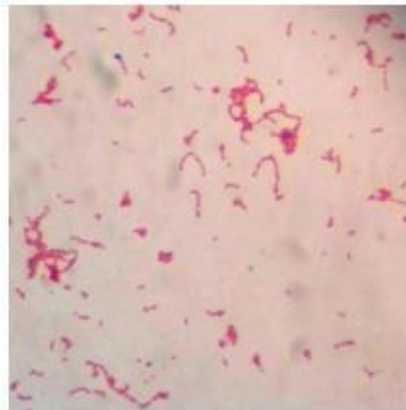
Klasifikasi ilmiah *Streptococcus mutans* adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Lactobacillales
Famili	: Streptococcaceae
Spesies	: <i>Streptococcus mutans</i>

2.5.2 Morfologi *Streptococcus mutans*

Streptococcus mutans merupakan bakteri gram positif yang bersifat tidak bergerak (nonmotil), bakteri ini berbentuk kokus tetapi dijumpai berdampingan dengan bakteri sejenis lain sehingga tampak seperti garis panjang yang tersusun atas lingkaran. *Streptococcus mutans* merupakan bakteri), anaerob fakultatif yang tumbuh secara optimal pada suhu sekitar 18°C-40°C (Alfayyad *et al*, 2021).

Streptococcus mutans dapat tumbuh dalam perbenihan padat sebagai koloni diskoid dengan diameter 1-2 mm dan tumbuh baik pada pH 7,4-7,6. Secara umum, bakteri ini tergolong dalam alfa atau gamma-hemolitik dan dapat tumbuh dalam media yang padat dan membentuk koloni kecil berwarna putih (Abdullah, 2021). Spesies *Streptococcus mutans* yang menjadi pemicu terjadinya karies gigi adalah bakteri dominan *Streptococci* (Abdullah, 2021).



Gambar 2.2 *Streptococcus mutans* di Bawah Mikroskop
dengan Pembesaran 1000x
Sumber : Rosdiana (2016)

Streptococcus mutans merupakan bakteri kokus berbentuk gram positif yang biasanya ditemukan pada rongga mulut manusia dan merupakan penyumbang utama kerusakan gigi (Andries *et al*, 2014). *Streptococcus mutans* mampu memecah gula untuk dijadikan energi dan menghasilkan lingkungan asam yang dapat menghambat proses mineralisasi struktur gigi, sehingga lapisan gigi menjadi hancur. Beberapa karakteristik *Streptococcus mutans* yang dapat meningkatkan sifat kariogeniknya adalah sebagai berikut:

a. Transpor Gula

Tinggi dan rendahnya afinitas sistem transpor sangat berpengaruh dalam pengambilan substrat walau dibawah kondisi ekstrem. Contohnya yaitu pH rendah.

b. Produksi Asam

Jalannya proses glikolisis yang efisien dapat memproduksi nilai pH rendah dalam plak gigi dengan cepat.

c. Asiduritas (Ketahanan Pada Suasana Asam)

Sel memiliki komponen biokimia spesifik yang mampu bertahan atau tetap

hidup, bermetabolisme dan tumbuh pada nilai pH yang rendah.

d. Produksi Polisakarida Ekstraseluler

(*Extracellular Polysaccharide*/EPS) EPS memperbesar matrik plak, menggabungkan pelengkap sel dan dapat menempatkan produk fermentasi yang bersifat asam.

e. Produksi Polisakarida Intraseluler

(*Intracellular Polysaccharide*/IPS) Penggunaan IPS mampu melanjutkan produksi asam tanpa adanya gula

2.6 Antibakteri

Antibakteri adalah suatu zat yang dapat menghambat bahkan membunuh bakteri. Metode antibakteri dalam membunuh bakteri terdiri dari beberapa metode seperti menghambat sintesis dinding sel, menghambat keutuhan permeabilitas dinding sel bakteri, menghambat kerja enzim, dan menghambat sintesis asam nukleat dan protein (Saroh, 2019).

Adapun klasifikasi kategori zona hambat antibakteri menurut Davis dan Stout (1971) dalam (Ranasatri *et al.*, 2021) dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 2.2 Klasifikasi Kategori Zona Hambat Antibakteri	
Daya Hambat Antibakteri	Kategori Daya Hambat Antibakteri
≥ 20 mm	Sangat kuat
10-20 mm	Kuat
5-10 mm	Sedang
≤ 5 mm	Lemah

Berikut beberapa golongan senyawa aktif sebagai antibakteri, antara lain:

1. Flavonoid

Mekanisme kerja flavonoid berfungsi sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu keutuhan membran sel bakteri. Mekanisme kerjanya dengan cara mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi (Saptowo and Supriningrum, 2021).

2 Alkaloid

Senyawa alkaloid memiliki penghambatan dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Saptowo and Supriningrum, 2021).

3. Saponin

Saponin merupakan glikosida yang banyak diproduksi oleh tumbuhan, hewan laut tingkat rendah dan beberapa bakteri. Dari segi kesehatan, saponin mempunyai sifat antioksidan, antiinflamasi, antijamur, penyembuhan luka dan antibakteri (Patel, 2019).

4. Tanin

Tanin memiliki aktivitas antibakteri, secara garis besar mekanisme yang diperkirakan adalah toksisitas tanin dapat merusak membran sel bakteri, senyawa astringent tanin dapat menginduksi pembentukan kompleks ikatan tanin terhadap ion logam yang dapat menambah daya toksisitas tanin. Mekanisme kerja tanin

diguga dapat mengekrutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri (Patel, 2019).

2.6.1 Metode Pengukuran Aktivitas Antibakteri

Penentuan kepekaan bakteri terhadap antibakteri dapat dilakukan dengan salah satu dari dua metode pokok yaitu difusi dan dilusi. Metode standar sangat penting untuk untuk mengendalikan semua faktor yang mempengaruhi aktivitas antibakteri dengan menggunakan bakteri standar dan obat pembanding yang sudah diketahui.

Berikut jenis metode yang dapat dipergunakan untuk mengukur potensi antibiotik lain dalam sampel atau kepekaan mikrobia, yaitu:

a. Metode Difusi

1. Difusi Cakram

Metode difusi cakram adalah metode sebagai penentuan aktivitas agen antibakteri menggunakan kertas cakram dengan diameter $6 \pm \text{mm}$ mengandung senyawa uji yang diletakkan pada permukaan agar yang telah ditanami bakteri uji. Senyawa uji akan berdifusi membentuk zona hambat (Fitriana *et al*, 2020). Metode ini dipengaruhi oleh beberapa faktor fisik dan kimia Hasil dari pengamatan metode ini diperoleh ada atau tidaknya daerah bening yang terbentuk di sekeliling kertas cakram yang menunjukkan zona hambat pertumbuhan bakteri.

2. Difusi Sumuran

Metode sumuran adalah metode yang dilakukan dengan membuat lubang tegak lurus pada agar yang telah diinokulasi dengan bakteri uji. Jumlah dan letak lubang disesuaikan, kemudian lubang diisi dengan sampel yang akan diuji. Setelah

proses inkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambat disekeliling lubang (Fitriana *et al*, 2020).

3. Cara Parit (*ditch*)

Metode ini dilakukan dengan menempatkan zat antibakteri pada alur yang dibuat dengan memotong media agar dalam cawan petri pada bagian yang mengandung agen bakteri. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Hasil pengamatan yang diberikan pada metode ini yaitu dengan melihat ada tidaknya zona hambat yang akan terbentuk di sekitar parit (Budiarti, 2020).

b. Metode Dilusi

1. Metode Dilusi Cair

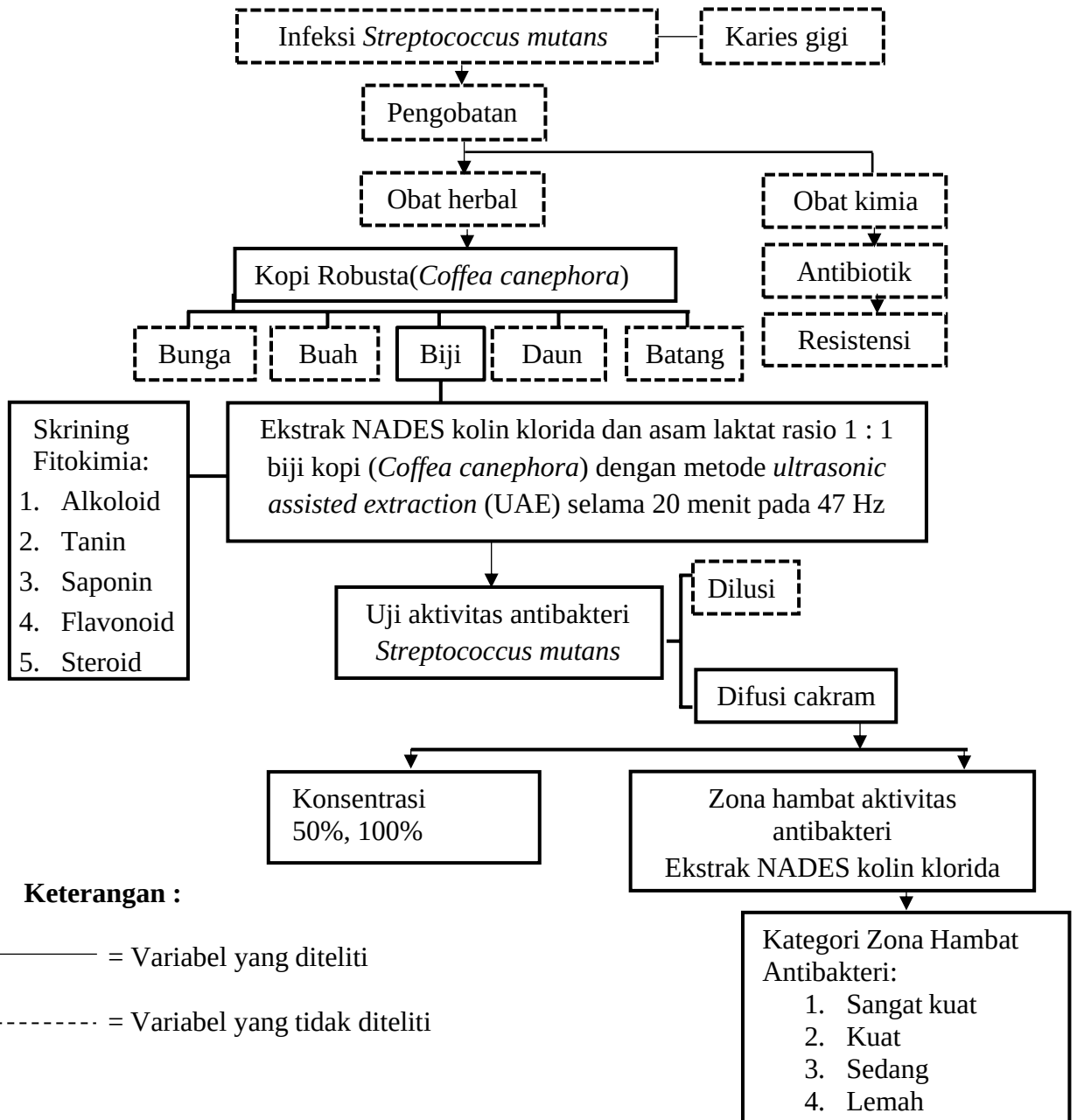
Metode uji pengenceran cair (pengenceran serial) yaitu mengukur KHM (konsentrasi minimum atau kadar bunuh minimum, KBM). Metode yang digunakan terdiri dari pembuatan serangkaian pengenceran agen bakteri dalam media cair yang ditambahkan keorganisme uji. Kemudian, KHM ditumbuhkan dalam media cair tanpa penambahan mikroorganisme uji atau agen antibakteri dan diinkubasi selama 18-24 jam. Medium cair yang terlihat jelas setelah diinkubasidisebut KBM (Sidharta *et al.*, 2021).

2. Metode Dilusi Padat

Metode dilusi padat adalah metode untuk menentukan konsentrasi minimum dari zat antibakteri. Kelebihannya adalah dapat menguji beberapa bakteri uji dengan satu konsentrasi agen antibakteri (Sidharta *et al.*, 2021).

BAB 3 KERANGKA KONSEP

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Kerangka Konsep Uji Aktivitas Antibakteri Biji Kopi (*Coffea canephora*) Terhadap *Streptococcus mutans*

3.2 Hipotesis Penelitian

Hipotesis berasal dari kata *Hypo* yang berarti dibawah dan *thesis* yang artinya kaidah. Sehingga hipotesis merupakan anggapan sementara terhadap hasil penelitian yang harus dibuktikan kebenarannya dengan menggunakan analisis yang sesuai (Sani K., 2018).

H₀ : Tidak ada aktivitas antibakteri ekstrak NADES (*Natural Deep Eutectic Solvents*) biji kopi robusta (*Coffea canephora*) yang diekstraksi dengan metode UAE (*Ultrasonic Assisted Extraction*) terhadap *Streptococcus mutans*.

H_a : Ada aktivitas antibakteri ekstrak NADES (*Natural Deep Eutectic Solvents*) biji kopi robusta (*Coffea canephora*) yang diekstraksi dengan metode UAE (*Ultrasonic Assisted Extraction*) terhadap *Streptococcus mutans*.

BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium menggunakan metode ekstraksi *Ultrasonic Assisted Extraction* dengan pelarut NADES kombinasi kolin klorida dan asam laktat. Metode hambatan yang digunakan pada penelitian ini adalah metode difusi cakram. Desain penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari ekstrak biji kopi (*Coffea canephora*) terhadap *Streptococcus mutans*.

4.2 Populasi Dan Sampel

4.2.1 Populasi Penelitian

Populasi merupakan keseluruhan total dari objek yang akan menjadi bahan penelitian sesuai dengan karakteristik yang diinginkan dalam penelitian (Sani K., 2018). Populasi dalam penelitian ini menggunakan biji kopi (*Coffea canephora*) yang didapatkan dari Puslit Koka (Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia) Kabupaten Jember, Provinsi Jawa Timur, Indonesia.

4.2.2 Sampel Penelitian

Sampel adalah bagian yang dapat mewakili populasi untuk dijadikan sebagai objek dari penelitian. Sampel dalam penelitian ini adalah ekstrak biji kopi (*Coffea canephora*) dengan menggunakan pelarut NADES *Cholin chloride* (ChCl) dan asam laktat.

4.3 Variabel Penelitian

Variabel penelitian adalah poin-poin yang akan menjadi karakteristik suatu penelitian (Sani K, 2018).

4.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas merupakan variabel yang memberikan pengaruh atau faktor yang menyebabkan variabel dependan menjadi berubah (Sani K, 2018). Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak NADES (*Natural Deep Eutectic Solvents*) biji kopi (*Coffea canephora*) dengan metode UAE (*Ultrasonic Assisted Extraction*).

4.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat merupakan variabel akibat dari adanya variabel bebas (Sani K, 2018). Variabel terikat pada penelitian ini adalah kandungan senyawa kimia ekstrak dan aktivitas antibakteri ekstrak NADES biji kopi robusta (*Natural Deep Eutectic Solvents*).

4.4 Tempat Penelitian

Tempat penelitian adalah keterangan tempat peneliti melakukan penelitiannya sesuai dengan tujuan dan desain penelitian yang digunakan (Sani K, 2018). Penelitian dilakukan di Laboratorium Terpadu Universitas dr. Soebandi Jember.

4.5 Waktu Penelitian

Waktu penelitian adalah lama waktu yang dibutuhkan peneliti untuk dapat menyelesaikan penelitian dari mulai penyusunan proposal hingga akhir penelitian (Sani K, 2018). Waktu penelitian yang akan dilaksanakan oleh peneliti dalam rentang waktu bulan Oktober 2022 – November 2022

4.6 Definisi Operasional

Definisi operasional merupakan batasan ruang lingkup variabel yang akan

menjadi bahan penelitian (Sani K, 2018).

Tabel 4.1 Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi	Alat Ukur	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala Data
1	Kandungan senyawa kimia	Hasil dari uji kandungan senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid, tanin, flavonoid, saponin, dan polifenol	Tabung reaksi dan pipet tetes	penambahan pereaksi reagen sesuai senyawa yang akan diuji	Terbentuknya warna atau endapan pada setiap uji kandungan senyawa kimia ekstrak biji kopi robusta	Nominal
2	Aktivitas antibakteri <i>Streptococcus mutans</i>	Zona hambat yang diukur dari daerah sekeliling kertas cakram yang tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri	Jangka sorong	Mengukur diameter zona hambat pada area yang jernih disekitar kertas cakram	Diameter zona hambat (mm)	Rasio

4.7 Teknik Pengumpulan Data

4.7.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman kopi robusta dilakukan di Politeknik Negri Jember untuk memastikan bahwa biji kopi robusta yang akan diuji merupakan spesies (*Coffea canephora*).

4.7.2 Pembuatan Serbuk Simplisia Biji Kopi (*Coffea canephora*)

Sebanyak 500 gram kopi robusta dibersihkan dari kotoran, kemudian dicuci menggunakan air mengalir sampai bersih, lalu ditiriskan kemudian di sangrai hingga kering dan tidak ada air yang tersisa. Sampel yang sudah kering kemudian dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi serbuk. Serbuk yang dihasilkan kemudian diayak menggunakan ayakan sehingga didapat hasil serbuk halus dan

seragam, kemudian hasil ayakan dimasukkan ke dalam wadah gelas tertutup (Ranasatri *et al.*, 2021).

4.7.3 Pembuatan Ekstrak Biji Kopi (*Coffea canephora*)

a. Preparasi Pelarut NADES

Komponen NADES sebagai pelarut ditimbang dengan perbandingan 1 mol kolin klorida (139,62 g) dan 1 mol asam laktat (90,078 g) dengan masing-masing konsentrasi rasio 1:1:18 Kedua bahan dilebur pada suhu 70-80°C ke dalam erlenmeyer, lalu dilakukan pengadukan dengan menggunakan *hotplate stirrer* pada suhu 80°C pada kecepatan 350 rpm. Pemanasan dilakukan sampai diperoleh larutan yang stabil yang ditandai dengan campuran tetap bening, tidak mengendap, mengkristal atau berubah warna (Dewi, Zahrina and Yelmida, 2021).

b. Proses Ekstraksi NADES Biji Kopi Robusta Dengan Metode UAE

Ditimbang 15 gram serbuk biji kopi robusta (*Coffea canephora*) menggunakan timbangan analitik, kemudian dimasukkan kedalam elemeyer. Selanjutnya ditambahkan 150 mL pelarut NADES kolin klorida : asam laktat, kemudian diekstraksi menggunakan waktu 20 menit dengan menggunakan *ultrasonic bath* dalam frekuensi 37 kHz. Kemudian hasil ekstraksi disentrifus selama 20 menit dengan suhu 25°C pada 4500 rpm. Setelah proses sentrifus dilakukan proses filtrasi atau juga disebut dengan penyaringan untuk memisahkan filtrat dan ampas. Penyaringan dilakukan dengan cara disaring dengan menggunakan kertas *whatman* No. 1 kemudian dicatat volume hasil ekstraksi dan filtratnya disimpan pada suhu 20°C sampai digunakan.

4.7.4 Skrining Fitokimia

1. Identifikasi Flavonoid

1 gram ekstrak sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian ditambahkan HCl pekat lalu dipanaskan dengan waktu 15 menit di atas penangas air. Apabila terbentuk warna merah atau kuning berarti positif flavonoid (Ranasatri *et al.*, 2021).

2. Identifikasi Saponin

1 gram ekstrak sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi ditambahkan 10 mL air panas, didinginkan kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Positif mengandung saponin jika terbentuk buih setinggi 1-10 cm tidak kurang dari 10 menit dan pada penambahan 1 tetes HCl 2 N, buih tidak hilang (Ranasatri *et al.*, 2021).

3. Identifikasi Alkaloid

2 gram ekstrak sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi ditetesi dengan 5 mL HCl 2 N dipanaskan kemudian didinginkan lalu dibagi dalam 3 tabung reaksi, masing-masing 1 mL. Tiap tabung ditambahkan dengan masing-masing pereaksi. Pada penambahan pereaksi Mayer, positif mengandung alkaloid jika membentuk endapan putih atau kuning. Pada penambahan pereaksi Wagner, positif mengandung alkaloid jika terbentuk endapan coklat. Pada penambahan pereaksi Dragendrof, mengandung alkaloid jika terbentuk endapan jingga (Muthmainnah, 2019).

4. Identifikasi Tanin

1 gram ekstrak dimasukkan kedalam tabung reaksi ditambahkan 10 mL air panas kemudian dididihkan selama 5 menit kemudian filtratnya ditambahkan FeCl_3 3-4 tetes, menunjukkan hasil positif mengandung senyawa tanin, hal ini ditandai dengan warna hijau kehitaman (Muthmainnah, 2019).

5. Identifikasi Terpenoid

2 gram ekstrak sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi, lalu ditambahkan dengan 2 mL etil asetat dan dikocok. Lapisan etil asetat diambil lalu ditetesi pada plat tetes dibiarkan sampai kering. Setelah kering, ditambahkan 2 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes asam sulfat pekat. Apabila terbentuk warna merah atau kuning berarti positif terpenoid (Muthmainnah, 2019).

4.7.5 Pembuatan Media

Sebelum melakukan proses pembuatan media dan pengujian aktivitas antibakteri alat-alat gelas yang memiliki presisi dan media pertumbuhan bakteri dalam pengujian disterilkan terlebih dahulu di dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Sedangkan kawat ose dan pinset menggunakan api bunsen (Ranasatri *et al.*, 2021).

a. Pembuatan Media Agar Miring *Nutrient Agar* (NA)

Nutrient Agar (NA) sebanyak 0,41 gram dilarutkan dalam 20 mL akuades menggunakan erlenmeyer. Kemudian di homogenkan dengan *stirrer* di atas penangas air sampai mendidih. Kemudian dituangkan masing-masing pada 3 tabung reaksi steril dan ditutup dengan aluminium foil. Media tersebut disterilkan

menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, kemudian dibiarkan pada suhu ruangan selama $\pm$ 30 menit sampai media memadat pada kemiringan 30°. Media Agar miring digunakan untuk inokulasi bakteri (Ranasatri *et al.*, 2021).

b. Pembuatan Media *Mueller Hinton Agar* (MHA)

Ditimbang sebanyak 6,8 gram Mueller Hinton Agar (MHA) dilarutkan dalam 200 mL akuades menggunakan erlenmeyer. Kemudian dihomogenkan dengan stirrer di atas penangas air sampai mendidih. Media yang sudah homogen disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Media MHA dituang ke dalam cawan petri sebanyak 25 mL (Ranasatri *et al.*, 2021).

4.7.6 Pembiakan Bakteri *Streptococcus mutans*

Bakteri Diambil menggunakan kawat ose steril, lalu ditanamkan pada media agar miring dengan cara menggores pada bagian agar. Selanjutnya diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator pada suhu 37°C (Ranasatri *et al.*, 2021).

4.7.7 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Bakteri uji yang telah diinokulasi diambil menggunakan kawat ose steril lalu disuspensikan ke dalam tabung yang berisi larutan NaCl 0,9% hingga diperoleh kekeruhan yang sama dengan standar kekeruhan 0,5 Mc. Farland. Pembuatan standar kekeruhan 0,5 Mc. Farland dibuat dari campuran H₂SO₄ 1% sebanyak 9,95 mL dan larutan BaCl₂ 1% sebanyak 0,05 mL. Kemudian dikocok sampai terbentuk larutan yang keruh (Ranasatri *et al.*, 2021).

4.7.8 Pembuatan Kontrol Negatif dan Kontrol Positif

Kontrol negatif yang digunakan adalah pelarut NADES yaitu campuran kolin klorida dan asam laktat. Kontrol positif yang digunakan sebagai pembanding yaitu

antibakteri klorheksidin dimana hal ini mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh (Mahmudah and Atun, 2017) dapat mencegah timbulnya plak dan karies karena memiliki kemampuan bakterisid dan bakteriostatik terhadap bakteri rongga mulut termasuk *Streptococcus mutans*.

4.7.9 Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Cakram

Metode uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram menggunakan media *Mueller Hinton Agar* (MHA) pada cawan petri dan kertas cakram (*paper disc*) berdiameter 6 mm. Sebelum bakteri ditanam pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA), bagian depan cawan petri dibagi menjadi tiga bagian yang terdiri dari ekstrak NADES biji kopi, kontrol positif dan kontrol negatif.

Suspensi bakteri uji dari media larutan NaCl 0,9% dipipet sebanyak 100 µL dimasukkan ke dalam cawan petri media *Mueller Hinton Agar* (MHA), Kemudian cawan petri diputar secara perlahan untuk menyebarkan biakan bakteri secara merata. Lalu 4 buah kertas cakram (*paper disc*) dalam masing-masing perlakuan ekstrak NADES biji kopi konsentrasi 50% dan 100%, pemilihan konsentrasi tersebut dilakukan agar diketahui perbedaan aktivitas sehingga dapat ditemukan konsentrasi efektif yang dapat memunculkan aktivitas antibakteri. Perlakuan lain berupa kontrol positif dan kontrol negative. Kertas cakram lalu diletakkan pada permukaan media tanam yaitu *Mueller Hinton Agar* (MHA). Lalu media diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

4.8 Teknik Analisa Data

4.8.1 Pengolahan Data

Pengukuran aktivitas antibakteri dilakukan melalui perhitungan diameter

zona hambat pada media agar yaitu zona bening pada daerah sekeliling kertas cakram (*paper disc*) terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dengan menggunakan jangka sorong dalam satuan mm.

4.8.2 Analisa Data

Data yang sudah diperoleh selanjutnya dianalisis statistik menggunakan aplikasi SPSS yaitu uji *One Way ANOVA* untuk mengetahui seberapa besar daya hambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* terhadap ekstrak biji kopi robusta (*Coffea Canephora*), kemudian kandungan senyawa kimia dianalisis menggunakan analisis deskriptif.

BAB 5 HASIL PENELITIAN

5.1 Determinasi Tanaman Kopi Robusta (*Coffea canephora*)

Determinasi tanaman adalah suatu proses tahap awal yang menentukan nama jenis tumbuhan secara spesifik. Berdasarkan hasil determinasi yang dilakukan di Politeknik Negeri Jember dapat diperoleh kepastian bahwa yang digunakan dalam penelitian ini adalah kopi robusta (*Coffea canephora*) dengan surat identifikasi yang dilihat pada lampiran 1.

5.2 Ekstraksi Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) .

Serbuk simplisia biji kopi robusta (*Coffea canephora*) yang ditimbang sebanyak 15 gram, Diperoleh hasil ekstraksi sebanyak 100 mL dengan karakter warna coklat kekuningan.

5.3 Hasil Uji Skrining Fitokimia Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*)

Uji skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada biji kopi robusta. Hasil skrining fitokimia yang sudah dilakukan dapat dilihat pada tabel 5.1

Tabel 5.1 Hasil Uji Skrining Fitokimia

Golongan Senyawa	Pereaksi	Teori	Hasil	Keterangan
Flavonoid	HCl Pekat	Jika terdapat merah atau kuning (Ranasatri <i>et al.</i> , 2021)	Terbentuk warna merah kekuningan	+
Saponin	Air panas dan kocok kuat	Jika terdapat buih (Ranasatri <i>et al.</i> , 2021)	Terbentuk buih	+
Alkaloid	HCL 2N + Dragendrof	Jika terdapat endapan warna jingga (Muthmainnah, 2019)	Terdapat endapan warna jingga	+
Tanin	FeCl ₃	Jika terdapat warna hijau kehitaman (Muthmainnah, 2019)	Terdapat warna hijau kehitaman	+

Terpenoid	Etil asetat + Asam anhidrat + Asam sulfat	Jika terdapat warna merah atau kuning (Muthmainnah, 2019)	Terdapat warna merah atau kuning	+
-----------	---	---	--	---

Keterangan : (+) Mengandung senyawa kimia pada ekstrak biji kopi robusta

(-) Tidak mengandung senyawa kimia pada ekstrak biji Kopi robusta

5.4 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

Pada uji standar *Mc Farland* 0,5, hasil absorbansi yang diperoleh yaitu 0,091 dan untuk uji kekeruhan suspensi bakteri nilai yang didapat adalah 0,091. Hasil ini dapat dilihat pada lampiran 4. Hasil uji aktivitas antibakteri yang sudah dilakukan dapat dilihat pada tabel 5.2

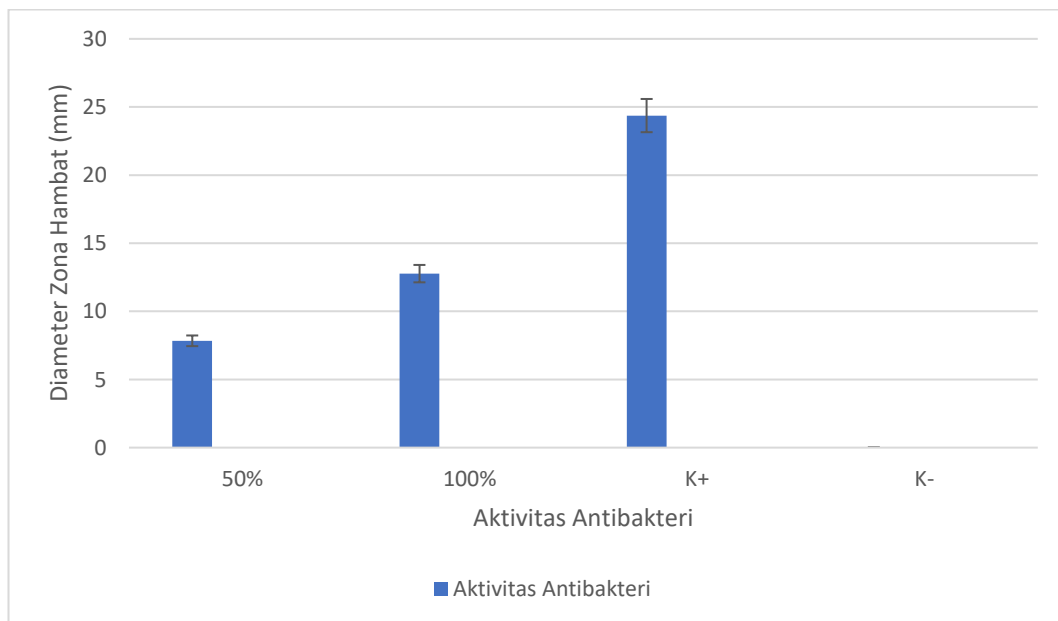
Tabel 5.2 Hasil Uji Antibakteri Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*)
Diameter Zona Hambat (mm)

Bakteri Uji	Replikasi	Konsentrasi ekstrak Biji Kopi Robusta (<i>Coffea canephora</i>)		Kontrol	
		50%	100%	K ⁺	K ⁻
<i>Streptococcus mutans</i>	1	9,82	13,78	23,05	0
	2	12,85	14,78	24,90	0
	3	7,69	13,93	26,23	0
	4	5,24	13,15	25,03	0
	5	5,69	11,94	23,70	0
	6	5,80	9,08	23,35	0
Rata-rata±SD		7,84±2,98	12,77±2,04	24,37±1,21	0

Keterangan : K⁺ = Kontrol positif (klorheksidin)

K⁻ = Kontrol negatif (Larutan NADES)

Hasil aktivitas antibakteri yang didapat kemudian dibandingkan masing-masing konsentrasi sehingga diketahui konsentrasi efektif yang dapat memunculkan aktivitas antibakteri. Berikut data perbandingan aktivitas antibakteri dalam skala milimeter.



Gambar 5.1 Perbandingan Rata-Rata Aktivitas Antibakteri

Hasil pengujian antibakteri ekstrak NADES biji kopi robusta konsentrasi 50% memiliki hasil rata-rata diameter zona hambat sebesar 7,84 mm. konsentrasi ekstrak 100% memiliki hasil rata-rata diameter zona hambat lebih besar yaitu sebesar 12,77 mm. Aktivitas ekstrak NADES biji kopi robusta dalam menghambat bakteri masuk dalam kategori sedang pada konsentrasi 50% dan kuat pada konsentrasi 100%, sedangkan untuk kontrol positif memiliki kategori sangat kuat. Setelah dilakukan perbandingan hasil aktivitas antibakteri kemudian di uji statistik *one way ANOVA* menggunakan program perangkat lunak SPSS versi 2.5. Sebelum dilakukan uji *one way ANOVA* data yang didapat diuji homogenitas serta normalitasnya untuk mengetahui distribusi data tersebut. Data hasil uji normalitas menunjukkan hasil baik dengan nilai signifikansi $P=0,670$, sedangkan data hasil uji homogenitas mendapat hasil yang baik pula dengan nilai signifikansi $P=0,76$. Data

hasil uji didapat dapat dikatakan baik apabila nilai signifikansi dari uji normalitas melebihi 0,05 dan hasil uji homogenitas dengan nilai signifikansi p kurang dari 0,05. Sehingga dapat disimpulkan bahwa data hasil uji antibakteri biji kopi robusta terdistribusi secara normal dan homogen.

Setelah dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas data kemudian di uji *one way ANOVA*. Hasil Analisa data aktivitas antibakteri biji kopi robusta mendapat nilai p 0,000. Nilai uji *one way ANOVA* dapat dikatakan baik apabila nilai p yang didapat kurang dari 0,05.

Dari data yang didapat dapat disimpulkan bahwa data aktivitas antibakteri memiliki perbedaan secara signifikan diantara kelompok uji. Hal tersebut menandakan bahwa H_a diterima sehingga dapat dikatakan bahwa ekstrak NADES biji kopi robusta dengan konsentrasi berbeda dapat memberikan perbedaan yang signifikan dalam menghambat bakteri *Streptococcus mutans*.

BAB 6 PEMBAHASAN

6.1 Kandungan Senyawa Kimia Ekstrak NADES Biji Kopi Robusta

Pada penelitian ini, metode ekstraksi yang digunakan adalah metode *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) dimana metode tersebut merupakan metode ekstraksi non-konvensional yang memiliki prinsip kerja dengan cara memberikan getaran ultrasonik 37 kHz pada simplisia yang akan diekstrak. Pelarut yang digunakan merupakan campuran dari kolin klorida dan asam laktat dengan perbandingan rasio mol yaitu 1:1. Ekstrak NADES biji kopi robusta yang didapat yaitu sebanyak 100 mL. Ekstrak yang didapat kemudian dilakukan uji kandungan senyawa kimia dengan cara mereaksikan dengan berbagai macam reagen sesuai dengan kandungan senyawa kimia yang akan diujikan pada ekstrak. Hasil pengujian kandungan senyawa kimia pada ekstrak NADES biji kopi robusta positif mengandung flavonoid, saponin, alkaloid, tanin, dan terpenoid.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Arauzo, *et al* (2020) tentang peningkatan pemulihan senyawa fenolik dari ampas kopi bekas dengan menggunakan delignifikasi hidrotermal dengan bantuan *Ultrasonic Assisted Extraction*. Pada penelitian tersebut dilakukan pengestrakan ampas kopi yang diperoleh kantin Universitas Hohenheim, Jerman. Pada penelitian tersebut, biji kopi yang digunakan terlebih dahulu disangrai pada berbagai macam suhu lalu diekstrak dengan bantuan ultrasonik. Ekstrak yang didapat di uji kandungan fenolik dengan total kandungan fenol sebanyak 20,3mg GAE/mg. Penelitian lain yang dilakukan oleh López-Linares, *et al* (2020) tentang ekstraksi biji kopi dengan penggunaan kombinasi pelarut NADES berupa Klorin Klorida (ChCl) dan asam laktat. Pada

penelitian tersebut terdapat beberapa kandungan yang diujikan termasuk flavonoid dan polifenol. Kombinasi pelarut NADES klorin klorida dengan asam laktat diketahui mampu menarik kandungan senyawa kimia fenol sebanyak 1,7mg GA/g.

Ultrasonic assisted Extraction (UAE) diketahui dapat menarik kandungan senyawa kimia dari ekstrak dengan cara memberikan getaran ultrasonik lebih dari 20 kHz. Pada gelombang tersebut, kopi dalam pelarut mengalami fragmentasi dimana partikel kopi akan pecah menjadi bagian yang lebih kecil sehingga luas permukaan akan meningkat menyebabkan penarikan senyawa kandungan kimia menjadi lebih baik. Pelarut NADES dapat disebut juga sebagai pelarut hijau karena sifat dari pelarut tersebut yang ramah lingkungan dan mudah untuk didaur ulang. NADES dapat dimodifikasi sesuai dengan kebutuhan terkait sampel yang akan diekstraksi. Kombinasi klorin klorida dan asam laktat diketahui mampu dengan baik menarik kandungan senyawa kimia dari biji kopi robusta dilihat dari beberapa penelitian yang telah dilakukan meskipun terdapat perbedaan pada rasio atau cara pemrosesan biji kopi yang digunakan. Hasil baik tersebut diketahui mungkin terjadi karena viskositas atau kepolaran yang cocok untuk digunakan untuk ekstraksi biji kopi. Pengkombinasian pelarut NADES kombinasi klorin klorida dan asam laktat dengan teknik ekstraksi *Ultrasonic assisted Extraction* (UAE) juga merupakan pilihan yang tepat dilihat dari mekanisme kerja dari proses ekstraksi tersebut. Pengujian kandungan senyawa kimia ekstrak NADES biji kopi robusta positif mengandung flavonoid, saponin, alkaloid, tanin, dan terpenoid. Hasil positif dalam pengujian tersebut menandakan bahwa ekstrak NADES kombinasi klorin klorida dan asam laktat dapat dengan baik menarik kandungan senyawa kimia dari biji kopi.

6.2 Uji aktivitas antibakteri ekstrak NADES Biji Kopi Robusta Terhadap

Streptococcus mutans

Pada penelitian ini, dilakukan uji aktivitas antibakteri dari biji kopi robusta yang diekstraksi menggunakan teknik *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) dengan pelarut NADES kombinasi klorin klorida dengan asam laktat. Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode kertas cakram dengan media *Mueller Hinton Agar* (MHA). Pengujian kelompok dilakukan dengan cara mengkonsentrasikan kertas cakram melalui pencelupan kertas cakram terhadap perlakuan yang akan diujikan. Replikasi pada penelitian ini dilakukan sebanyak 6 kali dengan cara menghitung sesuai dengan rumus perhitungan replikasi pada penelitian ini. Hasil aktivitas antibakteri ekstrak NADES biji kopi robusta dengan dua macam konsentrasi mendapat hasil yang berbeda dengan konsentrasi 50% masuk dalam kategori aktivitas antibakteri sedang dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 7,84mm dan pada konsentrasi 100% masuk dalam dalam kategori aktivitas antibakteri kuat dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 12,77mm. Kontrol positif dalam penelitian ini menggunakan klorheksidin dengan zona hambat rata-rata sebesar 24,37mm (sangat kuat). Kontrol negatif yang digunakan berupa pelarut NADES kombinasi klorin klorida dan asam laktat yang tidak dapat memunculkan zona hambat karena tidak terdapat kandungan senyawa biji kopi robusta yang dapat memunculkan aktivitas antibakteri.

Penelitian yang dilakukan oleh Suhayat, *et al* (2015) tentang perbedaan aktivitas antibakteri biji kopi robusta sebelum dan sesudah dipanggang terhadap pertumbuhan beberapa macam bakteri salah satunya *Streptococcus mutans*. Hasil

pada penelitian tersebut membuktikan bahwa ekstrak biji kopi robusta dapat memunculkan aktivitas antibakteri. Hasil diameter zona hambat pada penelitian tersebut dari konsentrasi terkecil yaitu 10% hingga 80% adalah 0,5477mm hingga 2,5552mm. Penelitian yang dilakukan oleh Fauzi, *et al* (2022) tentang aktivitas antibakteri ekstrak biji kopi robusta terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes* mendapat hasil aktivitas antibakteri yang meningkat seiring dengan bertambahnya konsentrasi biji kopi robusta yang digunakan. Zona hambat dari ekstrak biji kopi robusta dari konsentrasi terkecil yaitu 25% hingga 100% berkisar antara 7,93mm hingga 15,75mm. terdapat perbedaan terhadap bakteri yang digunakan dimana pada penelitian yang dilakukan bakteri yang digunakan adalah bakteri *Streptococcus mutans* sedangkan pada jurnal terkait adalah *Streptococcus pyogenes*. Perbedaan juga terdapat pada penggunaan metode ekstraksi dimana pada penelitian terkait metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi.

Terdapat beberapa perbedaan dari penelitian pembandingan dengan penelitian yang dilakukan seperti perbedaan metode ekstraksi dan pelarut yang digunakan. Pada penelitian pembandingan diatas, metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi dengan pelarut etanol 70%. Selain itu, pada peneltian pembandingan tidak dilakukan standarisasi kultur bakteri yang akan diujikan. Terdapat penelitian pembandingan kedua dimana dilakukan pengujian aktivitas antibakteri biji kopi robusta terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. Pada penelitian tersebut pelarut yang digunakan adalah etanol 94% dengan menggunakan maserasi sebagai metode ekstraksi. Hasil zona hambat rata-rata pada konsentrasi 100% biji kopi robusta adalah 10.33 mm. Perbedaan zona hambat pada ketiga penelitian pembandingan

dengan penelitian ini cenderung besar, hal tersebut dapat dimungkinkan karena penggunaan metode ekstraksi *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) dengan pelarut klorin klorida dan asam laktat dapat lebih baik menarik kandungan senyawa kimia dari biji kopi melalui fragmentasi yang terjadi pada saat proses ekstraksi dan komponen pelarut NADES yang cenderung mendukung penarikan kandungan senyawa kimia pada biji kopi melalui sifat-sifat yang terdapat dalam pelarut tersebut. Biji kopi robusta diketahui memiliki aktivitas antibakteri melalui kandungan senyawa kimia yang terdapat didalamnya. beberapa kandungan senyawa kimia yang dapat memunculkan aktivitas antibakteri adalah alkaloid, flavonoid, dan terpenoid. Gugus basa dalam alkaloid akan bereaksi dengan senyawa asam amino pada bakteri yang berperan penting dalam menyusun dinding sel dan DNA bakteri yang merupakan penyusun utama sel. Reaksi tersebut pada akhirnya akan menyebabkan bakteri rusak sehingga terjadi lisis

6.3 Konsentrasi Efektif Ekstrak Biji Kopi Robusta Menggunakan Pelarut NADES yang Dapat Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans*.

Hasil aktivitas antibakteri biji kopi robusta dengan menggunakan pelarut NADES klorin klorida dan asam laktat pada penelitian ini berkisar antara 5,24mm hingga 14,78mm. terdapat peningkatan diameter zona hambat yang dihasilkan dari konsentrasi ekstrak 50% hingga konsentrasi ekstrak 100%. Peningkatan tersebut dapat dikatakan signifikan karena kenaikan zona hambat yang dihasilkan 3 kali lebih luas apabila dibandingkan dengan zona hambat terkecil pada penelitian ini.

Peningkatan zona hambat juga terjadi pada penelitian ini dikarenakan peningkatan konsentrasi dari 50% ke konsentrasi 100%. Peningkatan konsentrasi tersebut memungkinkan terjadinya peningkatan kandungan senyawa kimia yang dapat memunculkan aktivitas antibakteri seperti senyawa fenol berupa flavonoid dan beberapa kandungan senyawa lain pada ekstrak yang digunakan. Peningkatan konsentrasi sebanyak 2x lipat tersebut menyebabkan peningkatan zona hambat rata-rata dari 7,84mm dari konsentrasi 50% hingga 12,77mm dari konsentrasi ekstrak biji kopi 100%. Peningkatan zona hambat juga dapat dilihat dari hasil uji statistik *one way ANOVA* dengan nilai signifikansi $p= 0,000$ yang menandakan bahwa perbedaan zona hambat yang dihasilkan signifikan. Pada penelitian yang dilakukan oleh Murtafiah (2012) juga terdapat peningkatan luas zona hambat seiring dengan bertambahnya konsentrasi biji kopi yang diberikan terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*.

BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil yang diperoleh dalam penelitian ini dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak NADES biji kopi robusta memiliki kandungan senyawa kimia berupa flavonoid, saponin, alkaloid, tanin, dan terpenoid melalui hasil uji kandungan senyawa kimia yang dilakukan.
2. Ekstrak NADES biji kopi robusta memiliki aktivitas antibakteri dan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* melalui zona hambat yang dihasilkan.
3. Konsentrasi ekstrak NADES biji kopi robusta yang efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* adalah 100% dengan rata-rata zona hambat yang dihasilkan yaitu 12,77mm

7.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini, dapat disarankan beberapa hal yaitu :

1. Perlu dilakukan uji kadar secara kuantitatif terhadap kandungan senyawa kimia ekstrak NADES biji kopi robusta dengan metode UAE untuk mengetahui kandungan senyawa kimia yang lebih spesifik terhadap kandungan ekstrak NADES biji kopi robusta.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang ekstrak NADES biji kopi robusta terhadap *Streptococcus mutans* dengan varian konsentrasi, metode ekstraksi dan metode uji aktivitas antibakteri lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, Andi Asna (2021) 'Uji Aktivitas Antimikroba Terhadap *Streptococcus mutans* Dan Skrining Fitokimia Dari Ekstrak Kulit Batang Durian (*Durio zibenthinus*) Antimicrobial Assay Against *Streptococcus mutans* And Phytochemical Screening Of Durian (*Durio zibenthinus*) Cortex Extra'.
- Ahmad, I. and Prabowo, W.C. (2020) 'OPTIMASI METODE EKSTRAKSI BERBANTU MIKROWAVE DENGAN PELARUT HIJAU (ASAM SITRAT-GLUKOSA) TERHADAP KADAR POLIFENOL TOTAL DARI DAUN KADAMBA (Mitragyna speciosa Korth. Havil) MENGGUNAKAN RESPONSE SURFACE METHODOLOGY', *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, 24(1), pp. 11–16. Available at: <https://doi.org/10.20956/mff.v24i1.9456>.
- Afifa (2011) 'Efek Penambahan Tragakan Sebaagai Bindder Dan Kalsium Karbonat Sebagai Abraasive Terhadap Sifat Fisis Pasta Gigi Ekstra Air-Al Ohol D Un Sirih (*Piper betle* L.)'.
- Alfayyad, A.R., Syafnir, L. and Maulana, I.T. (2021) 'Studi Literatur Potensia Aktivitasa Antibakteria dari Ekstraka Daun Binahong (Anredera cordifolia (Ten .) Steenis.) terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif', *Prosiding Farmasi*, 7(2), pp. 157–160.
- Andries, J.R., Gunawan, P.N. and Supit, A. (2014) 'UJI EFEK ANTI BAKTERI EKSTRAK BUNGA CENGKEH TERHADAP BAKTERI Streptococcus mutans SECARA IN VITRO', *e-GIGI*, 2(2). Available at: <https://doi.org/10.35790/eg.2.2.2014.5763>.
- Azzahra (2018)' MIKROBIOLOGI KEPERAWATAN GIGI. Available at: <https://books.google.co.id/books?hl=id&lr=&id=Hrk-EAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR1&dq=Salah+satu+bakteri+yang+terkenal+dapat+menyebabkan+karies+adalah+Streptococcus+mutans.+Streptococcus+mutans+adalah+bakteri+patogen+yang+berkolonisasi+pada+awal+mula>

+tumbuhnya+karies+gigi+dan+dapat+hidup+serta+beradaptasi+dalam+su
 asana+asam&ots=VHIxwmXpwl&sig=6g98IY4WgosXdlAOGvtj1kYxbT
 8&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false (Accessed: 4 August 2022).

Budiarti, Novi Yulia (2020) 'DAYA HAMBAT EKSTRAK DAUN SIRIH HIJAU (Piper betle L.) PADA PERTUMBUHAN BAKTERI Escherichia coli', *Sustainability (Switzerland)*, 4(1), pp. 1–9. Available at: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/en/mdl20203177951%0Ahttp://dx.doi.org/10.1038/s41562-020-0887>

Bukhori, Dewi, S.S. and Wilson, W. (2017) 'Daya Hambat Ekstrak Daun Salam (Syzygium Polyanthum [Wight] Walp) Terhadap Pertumbuhan Staphylococcus Aureus', *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), pp. 1689–1699. Available at: shorturl.at/imwFU.

Dewatisari, W.F. (2020) 'Perbandingan Pelarut Kloroform dan Etanol terhadap Rendemen Ekstrak Daun Lidah Mertua (Sansevieria trifasciata Prain .) Menggunakan Metode Maserasi', *Journal. Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Alauddin Makassar*, (September), pp. 127–132. Available at: <http://journal.uin-alauddin.ac.id/index.php/psb/>.

Dewi, S.U. and Wuryandari, W. (2019) 'AKTIVITAS ANTIFUNGI REBUSAN DAUN PANDAN WANGI (Pandanus amaryllifolius Roxb.) TERHADAP PERTUMBUHAN candida albicans DENGAN VARIASI LAMA WAKTU REBUSAN', *Thesis*, pp. 1–11.

Dewi, Y.P., Zahrina, I. and Yelmida (2021) 'Karakteristik Nades (Natural Deep Eutectic Solvents)', *Jom FTEKNIK*, 8, pp. 1–5.

Fareta Febriana, A.I.O. (2019) 'Perbedaan kadar flavonoid total dari ekstrak daun kejibeling (Strobilanthus crispus l. Blume) hasil metode maserasi dan perkolasi', *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), pp. 1689–1699.

Fitriana, Y.A.N., Fatimah, V.A.N. and Fitri, A.S. (2020) 'Aktivitas Anti Bakteri

Daun Sirih: Uji Ekstrak KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bakterisidal Minimum)', *Sainteks*, 16(2), pp. 101–108. Available at: <https://doi.org/10.30595/st.v16i2.7126>.

Gani (2009). Penyebaran Infeksi Odontogen dan Tatalaksana: Dasar Pemahaman tentang Available at: https://books.google.co.id/books?hl=id&lr=&id=eTNTDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA1&dq=Pengobatan+karies+yang+disebabkan+oleh+bakteri+Streptococcus+mutans+biasanya+diawali+dengan+pemberian+antibiotik+golongan+penisilin+yaitu+amoksisilin,+apabila+terdapat+gejala+resistensi+pada+pasien+maka+terapi+dilanjutkan+dengan+cara+mengonsumsi+metronida&ots=iuD2tBzI4d&sig=tI0Cic0iXaRwgjWMVQzbXNW1Bf8&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false (Accessed: 4 August 2022).

Handaratri, A. and Yuniati, Y. (2019) 'Kajian Ekstraksi Antosianin dari Buah Murbei dengan Metode Sonikasi dan Microwave', *Reka Buana : Jurnal Ilmiah Teknik Sipil dan Teknik Kimia*, 4(1), p. 63. Available at: <https://doi.org/10.33366/rekabuana.v4i1.1162>.

Julianti, Dewi, S.S. and Wilson, W. (2008) 'Daya Hambat Ekstrak Daun Salam (*Syzygium Polyanthum* [Wight] Walp) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus Aureus*', *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), pp. 1689–1699. Available at: shorturl.at/imwFU.

Kaligis. (2017) 'Fisioterapi Obat', *Obat (Biomedik Farmakologi)*, p. 38. Available at: <http://www.yoyoke.web.ugm.ac.id>.

Ii, B.A.B. (2019) '13 Institut Teknologi Nasional', *Institut Teknologi Nasional*, pp. 13–32.

Mahmudah and Atun (2017) 'Uji Aktivitas Kulit Kopi Terhadap Bakteri *Escherichia coli*'.

Miftahuddin (2021) 'ISOLASI, KARAKTERISASI KITIN DAN KITOSAN DARI CANGKANG KEONG SAWAH (*Pila ampullacea*) SERTA

APLIKASINYA SEBAGAI ANTIBAKTERI SECARA INVITRO’.

Murtafiah, A. *et al.* (2012) (*Coffea robusta*) TERHADAP *Streptococcus mutans*
DAYA HAMBAT EKSTRAK BIJI KOPI ROBUSTA (*Coffea robusta*)
TERHADAP *Streptococcus mutans*.

Mutmainnah, N., Chadijah, S. and Qaddafi, M. (2018) *PENENTUAN SUHU DAN
WAKTU OPTIMUM PENYEDUHAN BATANG TEH HIJAU (Camelia
Sinensis L.) TERHADAP KANDUNGAN ANTIOKSIDAN KAFEIN, TANIN
DAN KATEKIN*, *Lantanida Journal*. Available at:
<https://doi.org/10.22373/lj.v6i1.1984>.

Nudiasari, V., Suhariyadi and Istanto, W. (2019) ‘Efektivitas Ekstraksi antara
Maserasi dengan Digesti terhadap Kadar Flavonoid Buah Naga Putih
(*Hylocereus undatus*)’, *Jurnal Analisis Kesehatan*, 8(1), pp. 677–682.

Patel (2019) ‘Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70% Daun Kecipir’, pp. 9–25.

PTPN XII (2013) ‘Pengaruh Lama Perendaman Dan Konsentrasi Asam Sulfat
Terhadap Perkecambahan Dan Vigor Bibit Kopi Robusta’, *Acta Materialia*,
33(10), pp. 348–352. Available at:
<http://dx.doi.org/10.1016/j.actamat.2015.12.003>
https://inis.iaea.org/collection/NCLCollectionStore/_Public/30/027/30027298.pdf?r=1&r=1%0Ahttp://dx.doi.org/10.1016/j.jmrt.2015.04.004.

Rachmawaty, F.J. *et al.* (2009) ‘Manfaat Sirih Merah (*Piper crocatum*) sebagai
Agen Anti Bakterial terhadap Bakteri Gram Positif dan Bakteri Gram
Negatif’, *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*, 1(1), pp. 12–20.
Available at: <https://doi.org/10.20885/jkki.vol1.iss1.art3>.

Ranasatri, A.A. *et al.* (2021) ‘AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL
70% BIJI KOPI ROBUSTA (*Coffea canephora*) TERHADAP
Staphylococcus epidermidis DAN *Salmonella typhi* ANTIBACTERIAL
ACTIVITY 70% ETHANOLIC EXTRACT OF ROBUSTA COFFEE
BEAN (*Coffea canephora*) AGAINST *Staphylococcus epidermidis*’, 13(2),

- pp. 101–110. Available at: <https://doi.org/10.23917/biomedika.v13i>.
- Riskesdes Jatim (2018) 'InfoDATIN Kesehatan Gigi Nasional September 2019', Pusdatin Kemenkes RI, pp. 1–6.
- Roe, Anita , And Hidyat (2017) 'Produksi Metabolit Sekunder Melalui Kultur Jaringan Ellok p. 32.
- Rohani, S. (2021) *Digital Repository Repository Universitas Universitas Jember Jember Digital Digital Repository Repository Universitas Universitas Jember Jember, Digital Repository Universitas Jember*.
- Rollando, R. (2019) 'UJI ANTIMIKROBA MINYAK ATSIRI MASOYI (Massoia aromatica) TERHADAP BAKTERI Streptococcus mutans', *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, 23(2), pp. 52–57. Available at: <https://doi.org/10.20956/mff.v23i2.6585>.
- Ruhimat, U. (2015) 'DAYA HAMBAT INFUSUM DAUN SEMBUNG (Blumea balsamifera) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI Escherichia coli DENGAN METODE DIFUSI CAKRAM', *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu-ilmu Keperawatan, Analis Kesehatan dan Farmasi*, 13(1). Available at: <https://doi.org/10.36465/jkbth.v13i1.26>.
- Sa'adah, H. and Nurhasnawati, H. (2017) 'PERBANDINGAN PELARUT ETANOL DAN AIR PADA PEMBUATAN EKSTRAK UMBI BAWANG TIWAI (Eleutherine americana Merr) MENGGUNAKAN METODE MASERASI', *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 1(2), p. 149. Available at: <https://doi.org/10.51352/jim.v1i2.27>.
- Silalahi et al. (2017) 'Properties of AdeABC and AdeIJK efflux systems of Acinetobacter baumannii compared with those of the AcrAB-TolC system of Escherichia coli', *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), p. 6. Available at: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/35612/1/Trabajo de>
- Samsudin, C.M. (2020) 'DETERMINAN KEJADIAN PUTUS OBAT PADA

PASIENT TB-MDR DI RUMAH SAKIT UMUM DAERAH LABUANG BAJI KOTA MAKASSAR PERIODE 2018 – 2019’, *Konstruksi Pemberitaan Stigma Anti-China pada Kasus Covid-19 di Kompas.com*, 68(1), pp. 1–12. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ndteint.2014.07.001><https://doi.org/10.1016/j.ndteint.2017.12.003><http://dx.doi.org/10.1016/j.matdes.2017.02.024>.

Sani K, F. (2018) ‘Metodelogi Penelitian Farmasi Komunitas dan Eksperimental Dilengkapi Dengan Analisis Data Program SPSS’.

Saptowo, A. and Supriningrum, R. (2021) ‘UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK KULIT BATANG SEKILANG (*Embeliaborneensis* Scheff) TERHADAP BAKTERI *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*’, pp. 93–97.

Sidharta, R. *et al.* (2021) ‘VIABILITAS *Porphyromonas gingivalis* SECARA IN VITRO THE EFFECTIVENESS OF WATER HYANCITH (*Eichhornia crassipes*) LEAF EXTRACT FOR *Porphyromonas gingivalis* VIABILITY BY IN VITRO) PENDAHULUAN Bakteri koloni bakteri adalah merupakan obat herbal . (WHO) Wo’, *Journal of Dentistry*, 5(1), pp. 403–413. Available at: <https://eprodenta.ub.ac.id/index.php/eprodenta/article/view/220/67>.

Sjahid, L.R., Aqshari, A. and Sediarto, S. (2020) ‘Penetapan Kadar Fenolik dan Flavonoid Hasil Ultrasonic Assisted Extraction Daun Binahong (*Anredera cordifolia* [Ten] Steenis)’, *Jurnal Riset Kimia*, 11(1), pp. 16–23. Available at: <https://doi.org/10.25077/jrk.v11i1.348>.

Sugiarti, L., Suwandi, A. and Syawaalz, A. (2017) ‘GINGEROL PADA RIMPANG JAHE MERAH (*Zingiber officinale*, Roscoe) DENGAN METODE PERKOLASI TERMODIFIKASI BASA’, *Jurnal Sains Natural*, 1(2), p. 156. Available at: <https://doi.org/10.31938/jsn.v1i2.25>.

Sujatmiko, Y.A. (2014) ‘Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii* B.) Dengan Cara Ekstraksi yang Berbeda Terhadap *Escherichia*

coli Sensitif dan Multiresisten Antibiotik', *Ilmiah*, pp. 1–12.

Wahyuningtyas, S.E.P., Permana, I.D.G.M. and Wiadnyani, A.A.I. (2017) 'Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Kandungan Senyawa Kurkumin Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kunyit (*Curcuma domestica* Val.)', *Itepa*, 6(2), pp. 61–70. Available at: <https://ojs.unud.ac.id/index.php/itepa/article/view/36950/22387>.

Yusmaniar and Komalasari, M. (2017) 'ANGKA LEMPENG TOTAL (ALT) PADA BAKTERI *Bacillus subtilis* ATCC 6051 SEBELUM DAN SESUDAH DILIOFILISASI DAN DISIMPAN 30 HARI PADA SUHU 4°C', *Angewandte Chemie International Edition*, 6(11), 951–952., pp. 5–24.

Zamrodah, Y. (2016) 'Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Pohon Kersen ', 15(2), pp. 1–23.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Determinasi Tanaman Kopi Robusta (*Coffea canephora*)

Kode Dokumen : FR-AUK-064
Revisi : 0



**KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN,
RISET DAN TEKNOLOGI
POLITEKNIK NEGERI JEMBER
UPA. PENGEMBANGAN PERTANIAN TERPADU**
Jalan Matrip Kotak Pos 164 Jember - 68101 Telp. (0331) 333532 - 333534 Fax. (0331) 333531
E-mail : Polije@polije.ac.id Web Site : <http://www.Polije.ac.id>

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TANAMAN
No: 176/PL.17.8/PG/2022

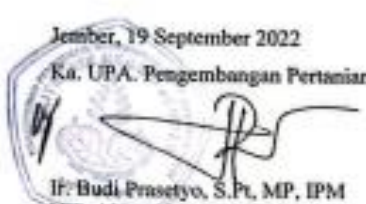
Menindaklanjuti surat dari Dekan Universitas dr. Soebandi Program Studi S1 Farmasi No: 3149/FIKES.UDS/U/IX/2022 perihal Permohonan Identifikasi Tanaman dan berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirimkan ke UPA. Pengembangan Pertanian Terpadu, Politeknik Negeri Jember oleh:

Nama : Nizam Fahimul Fuad
NIM : 18040076
Jur/Fak/PT : Prodi S1 Farmasi/ Universitas dr. Soebandi

maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut di bawah ini (terlampir) adalah:
Kingdom: Plantae; Divisio: Spermatophyta; Sub Divisio: Magnoliophyta; Kelas: Magnoliopsida; Sub Kelas: Asteridae; Ordo: Rubiales; Famili: Rubiaceae; Genus: Coffea; Spesies: Coffea canephora, Pierre.

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Jember, 19 September 2022
Ka. UPA. Pengembangan Pertanian Terpadu



IF: Budi Prasetyo, S.Pt, MP, IPM
NIP-197106212001121001

Lampiran 2 *Mc Farland*

Photometry Test Report

File Name:Photometry 1	Test Time:
Software Version:UV V1.92.0	
Operator:Lab Kimia Farmasi	Company:

Test Record List.

No.	WL(nm)	Abs	Trans(%)	Test Time	Sample Name
1	625.0	0.091	81.1	27/09/2022 13:53:00	McFarland
2	625.0	0.091	81.1	27/09/2022 14:06:28	S.mutans

Lampiran 3. Hasil Uji Statistik

a. Uji Normalitas

Tests of Normality							
	kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
daya_hambat	1.00	.	6	.	.	6	.
	2.00	.211	6	.200*	.928	6	.566
	3.00	.254	6	.200*	.867	6	.670
	4.00	.239	6	.200*	.878	6	.260

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Syarat uji annova data harus terdistribusi normal apabila nilai signifikan >5,00 maka data tersebut dapat dikatakan normal. Hasil uji data zona hambatan diketahui nilai normalitas signifikan > 5,00 sehingga data terdistribusi normal. Maka dapat dilanjutkan pada uji homogeneity.

b. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances					
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
daya_hambat	Based on Mean	5.506	3	20	.006
	Based on Median	3.086	3	20	.051
	Based on Median and with adjusted df	3.086	3	10.076	.076
	Based on trimmed mean	4.824	3	20	.011

Syarat uji homogenitas data harus terdistribusi normal apabila nilai signifikan >5,00 maka data terdistribusi homogen. Hasil uji data zona hambatan diketahui nilai homogeneity signifikan > 5,00 sehingga data terdistribusi homogen. Maka dapat dilanjutkan pada uji one way ANOVA.

c. Uji one way Anova

ANOVA

daya_hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1876.644	3	625.548	171.738	.000
Within Groups	72.849	20	3.642		
Total	1949.493	23			

Hasil uji one way ANOVA $<0,005$ artinya terdapat perbedaan aktivitas bakteri setiap kelompok. Karena nilai signifikan $<0,05$ (0,00) maka H_0 ditolak dan H_a diterima. Untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan signifikan maka dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* yaitu uji *Duncan*.

d. Uji lanjut post hoc

Multiple Comparisons

Dependent Variable: daya_hambat

			Mean Difference			95% Confidence Interval	
	(I) kelompok	(J) kelompok	(I-J)	Std. Error	Sig.	Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	1.00	2.00	-24.37667*	1.10189	.000	-27.4608	-21.2926
		3.00	-7.84833*	1.10189	.000	-10.9324	-4.7642
		4.00	-12.77667*	1.10189	.000	-15.8608	-9.6926
	2.00	1.00	24.37667*	1.10189	.000	21.2926	27.4608
		3.00	16.52833*	1.10189	.000	13.4442	19.6124
		4.00	11.60000*	1.10189	.000	8.5159	14.6841
	3.00	1.00	7.84833*	1.10189	.000	4.7642	10.9324
		2.00	-16.52833*	1.10189	.000	-19.6124	-13.4442
		4.00	-4.92833*	1.10189	.001	-8.0124	-1.8442
	4.00	1.00	12.77667*	1.10189	.000	9.6926	15.8608
		2.00	-11.60000*	1.10189	.000	-14.6841	-8.5159
		3.00	4.92833*	1.10189	.001	1.8442	8.0124
LSD	1.00	2.00	-24.37667*	1.10189	.000	-26.6752	-22.0782
		3.00	-7.84833*	1.10189	.000	-10.1468	-5.5498
		4.00	-12.77667*	1.10189	.000	-15.0752	-10.4782
	2.00	1.00	24.37667*	1.10189	.000	22.0782	26.6752
		3.00	16.52833*	1.10189	.000	14.2298	18.8268

	3.00	4.00	11.60000*	1.10189	.000	9.3015	13.8985
		1.00	7.84833*	1.10189	.000	5.5498	10.1468
		2.00	-16.52833*	1.10189	.000	-18.8268	-14.2298
	4.00	4.00	-4.92833*	1.10189	.000	-7.2268	-2.6298
		1.00	12.77667*	1.10189	.000	10.4782	15.0752
		2.00	-11.60000*	1.10189	.000	-13.8985	-9.3015
		3.00	4.92833*	1.10189	.000	2.6298	7.2268

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Uji *Duncan* digunakan untuk menguji perbedaan antar kelompok yang berbeda pada nilai beda nyata yang ukurannya semakin besar memiliki daya hambat bakteri yang baik.

Lampiran 4 Dokumentasi Penelitian

a. Preparasi pelarut NADES (*Natural Deep Eutectic Solvent*)



Penimbangan Bahan



Peleburan 3 Bahan



Larutan Belum Stabil

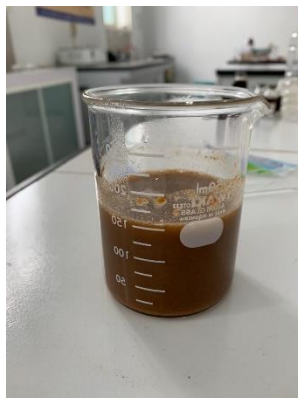


Larutan Stabil

b. Proses Ekstraksi



Penimbangan Bahan



Serbuk + NADES



UAE



Hasil Penyaringan

c. Uji Kandungan Senyawa kimia



Flavonoid



Saponin



Alkaloid



Tanin



Terpenoid

e. Inokulasi Bakteri *Streptococcus mutans*



f. Pembuatan Mc Farland



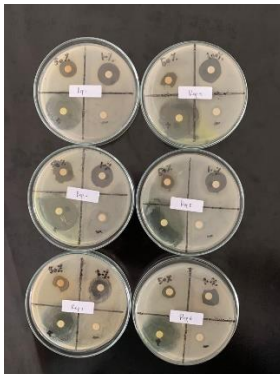
g. Pembuatan NaCl



i. Uji Aktivitas Antibakteri



j. Hasil Uji Antibakteri



Lampiran 5 Perhitungan

a. Preparasi Pelarut NADES

- 1 mol $\text{CHCl}_3 \rightarrow \text{Mol} \times \text{mr} = \text{massa}$
 $1 \text{ mol} \times 139,62 \text{ g/mol} = \text{massa}$
 $139,62 \text{ gram} = \text{massa}$
- 1 mol asam laktat $\rightarrow \text{Mol} \times \text{mr} = \text{massa}$
 $1 \text{ mol} \times 90,08 \text{ g/mol} = \text{massa}$
 $90,08 \text{ gram} = \text{massa}$

Asam laktat dalam bentuk larutan

$$\text{Massa jenis} = \frac{m}{v}$$

$$90,08 \text{ g/mol} = \frac{90,08 \text{ g}}{v}$$

$$V = 1 \text{ mL asam laktat}$$

- 18 mol akuades

Diketahui = Berat jenis air = 1

$$\text{mr air} = 1 \text{ mol air} = 18 \text{ gram}$$

$$\begin{aligned} \text{Jika 18 mol akuades} &= 18 \text{ mol} \times 18 \text{ gram} \\ &= 324 \text{ gram} \end{aligned}$$

Dikonversikan dalam bentuk larutan

$$\text{Massa jenis} = m / V$$

$$1 \text{ g/mL} = 324 \text{ g/V}$$

$$V = 324 \text{ g} \times 1 \text{ g/mL}$$

$$V = 324 \text{ mL}$$

b. Perhitungan Mc Farland

$$\text{BaCl}_2 1\% : 0,05 \text{ mL}$$

$$\text{H}_2\text{SO}_4 1\% : 9,95 \text{ mL}$$

$$\text{BaCl} 1\% = 1 \text{ gram} \sim 100 \text{ mL}$$

$$x \text{ gram} \sim 100 \text{ mL}$$

$$x = 1 \text{ gram dalam } 100 \text{ mL aquadest}$$

$$\text{H}_2\text{SO}_4 \text{ 1\%} = 1 \text{ mL dalam 100 mL}$$

$$x \text{ mL} \sim 100 \text{ mL}$$

$$x = 1 \text{ mL dalam 100 mL aquadest}$$

c. Perhitungan Konsentrasi Ekstrak

$$\begin{aligned} 1. \text{ Konsentrasi 50\%} &= \frac{50}{100} \times 5 \text{ mL} \\ &= 2,5 \text{ gram ad 5 mL ad aquadest} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 2. \text{ Konsentrasi 100\%} &= \frac{100}{100} \times 5 \text{ mL} \\ &= 5 \text{ gram ad 5 mL ad aquadest} \end{aligned}$$

d. Perhitungan Pembuatan Media

$$1. \text{ Media Nutrient Agar (NA)} = 20 \text{ gram} \sim 1000 \text{ mL aquadest}$$

$$= \frac{20 \text{ gram}}{1000 \text{ mL}} \times 20 \text{ mL}$$

$$= 0,4 \text{ gram}$$

$$2. \text{ Media Mueller Hinton Agar (MHA)} = 34 \text{ gram} \sim 1000 \text{ mL aquadest}$$

$$= \frac{34 \text{ gram}}{1000 \text{ mL}} \times 200 \text{ mL}$$

$$= 6,8 \text{ gram}$$

Replikasi	Perhitungan Diameter Zona Hambat		
	Kontrol Positif	50%	100%
1	29,05 – 6 = 23,05	15,82 – 6 = 9,82	19,78 – 6 = 13,78
2	30,90 – 6 = 24,90	18,85 – 6 = 12,85	20,73 – 6 = 14,73
3	32,23 – 6 = 26,23	13,69 – 6 = 7,69	19,93 – 6 = 13,93
4	31,03 – 6 = 25,03	11,24 – 6 = 5,24	19,15 – 6 = 13,15
5	29,70 – 6 = 23,70	11,69 – 6 = 5,69	17,94 – 6 = 11,94
6	29,45 – 6 = 23,35	11,80 – 6 = 5,80	15,08 – 6 = 9,08