

Uji Daya Hambat dan Daya Bunuh Ekstrak Air Kopi Robusta (*Coffea Cenaphora*) terhadap Pertumbuhan Bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus Aureus* (In Vitro)

Asep Duta Amwalia & Yanuar Zulkifli Harun & Hendro Sudjono Yuwono

Prodi Pendidikan Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Bandung, Bandung, Indonesia

email: asepdutaamwalia@gmail.com, yanuarzulkifliharun@unisba.ac.id, hendrosudjono@unisba.ac.id

ABSTRACT: The large number of use of antibiotic drugs that are not suitable for use should result in some bacteria being resistant or resistant to antibiotics commonly used to treat infections by bacteria such as penicillin. Various researches are being conducted in order to develop medicinal properties and the potential of natural ingredients as agents used to fight antibiotic-resistant bacterial infections. Coffee bean is an herbal plant that is currently being carried out research in vitro and in vivo which is believed to inhibit bacterial growth. The bacteria that are resistant to penicillin class antibiotics and the most commonly found are Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). This study aims to determine the antibacterial ability of Robusta coffee beans against Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). This research is quantitative in nature and is an experimental analytical study in vitro with a post test control group design. Robusta coffee extract was grouped into 6 groups with concentrations of 100%, 75%, 50%, 25%, 12.5%, 6.25%, positive control, negative control, and bacterial control. In this study, the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of Robusta coffee water extract with a concentration of 50% was stronger than the positive control, while the Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of Robusta Coffee water extract with a concentration of 75% was found to be stronger than the positive control. This is due to the high concentration of compounds in Robusta coffee beans such as caffeine, chlorogenic acid, and trigonelin which work as an antibiotic agent in bacteria Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA).

Keywords : Antibacterial, MRSA, Resistance, Robusta Coffee Beans

ABSTRAK: Banyaknya penggunaan obat antibiotik yang tidak sesuai dengan penggunaan seharusnya mengakibatkan beberapa bakteri resisten atau tahan terhadap antibiotik yang biasa digunakan untuk mengobati infeksi oleh bakteri seperti penicillin. Berbagai penelitian terus dilakukan dalam rangka pengembangan pengobatan dan potensi bahan alam sebagai agen yang digunakan untuk melawan infeksi bakteri yang resisten terhadap antibiotik. Biji kopi merupakan tanaman herbal yang saat ini dilakukan penelitian secara in vitro dan in vivo yang dipercaya dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Adapun bakteri yang resisten terhadap antibiotik golongan penicillin dan paling sering ditemukan adalah bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan antibakteri biji Kopi Robusta terhadap Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). Penelitian ini bersifat kuantitatif dan merupakan penelitian analitik eksperimental in vitro dengan rancangan post test control group design. Ekstrak Kopi Robusta dikelompokkan menjadi 6 kelompok dengan konsentrasi 100%, 75%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, kontrol positif, kontrol negatif, dan kontrol bakteri. Pada penelitian ini Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak air Kopi Robusta dengan Konsentrasi 50% lebih kuat dibandingkan dengan kontrol positif, sementara Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak air Kopi Robusta dengan Konsentrasi 75% didapatkan lebih kuat dibandingkan dengan kontrol positif. Hal ini diakibatkan oleh tingginya konsentrasi senyawa pada biji Kopi Robusta seperti, kafein, asam klorogenat, dan trigonelin yang bekerja sebagai agen antibiotik pada bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA).

Kata kunci : Antibakteri, Biji Kopi Robusta, MRSA, Resistensi

1 PENDAHULUAN

Banyaknya penggunaan obat antibiotik yang

tidak sesuai dengan penggunaan seharusnya terhadap penyakit infeksi yang diakibatkan oleh

bakteri mengakibatkan beberapa bakteri resisten. Bakteri yang resisten terhadap golongan *penicillin*, dan paling sering menyebabkan berbagai infeksi adalah bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Cara alternatif yang dapat digunakan untuk mengatasi resistensi terhadap antibiotik adalah memanfaatkan zat aktif pembunuh bakteri yang ada dalam bahan yang berasal dari alam. Salah satu penelitian yang dilakukan pada tahun 2014 oleh Hendro Sudjono Yuwono, yang menguji efektifitas antibakteri biji kopi terhadap bakteri MRSA melalui zona inhibisi.

Kopi Robusta memiliki nama ilmiah, yakni *Coffea canephora*. Kopi Robusta memiliki senyawa aktif yang lebih banyak dibandingkan Kopi Arabika. Adapun senyawa antibakteri yang terdapat pada biji kopi diantaranya :

1. Kafein ($C_8H_{10}N_4O_2$) atau nama lainnya *trimethylxanthine* adalah senyawa alkaloid alami. Senyawa ini termasuk senyawa yang tahan terhadap panas dan komposisinya 2 kali lipat lebih banyak pada biji Kopi Robusta dibandingkan Kopi Arabika. Sifat antibakteri dari kafein ini bekerja dengan cara menghambat sintesis DNA dari bakteri.
2. Asam Klorogenat termasuk kedalam golongan fenolik, senyawa ini mempunyai sifat yang larut dalam air dan merupakan hasil esterifikasi dari asam *quinic* dan asam *transcinnamic*. Efek antibakteri dari senyawa ini bekerja dengan cara merusak dinding sel dari bakteri.
3. Trigonelin adalah N-methyl nicotinic acid, senyawa ini merupakan alkaloid piridin yang berasal dari turunan dari atom nitrogen pada asam nikotinat. Senyawa ini memiliki efek antibakteri yang bekerja dengan cara menghambat sintesis enzim dan protein dari bakteri.

Setelah mengkaji berbagai masalah dan literatur, peneliti tertarik untuk melihat berapa banyak bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) yang dapat dihambat dan dibunuh oleh ekstrak air Kopi Robusta.

2 METODE PENELITIAN

Objek Penelitian

Objek penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *Methicillin Resisten*

Staphylococcus aureus (MRSA), bakteri ini dipilih karena merupakan bakteri yang resisten terhadap antibiotik tersering yang ditemui. Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) dipilih karena senyawa aktif kopi ini lebih banyak dibandingkan Kopi Arabika.

Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini adalah analitik eksperimental, bersifat kuantitatif dengan rancangan penelitian *Post Test Control Group Design*.

Variabel Penelitian

Variabel Bebas

1. Ekstrak air Kopi Robusta dengan konsentrasi 100%, 75%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%.

2. Vankomisin

Variabel Terikat

1. KHM bakteri *Methicillin Resisten Staphylococcus aureus*.
2. KBM bakteri *Methicillin Resisten Staphylococcus aureus*.
3. Jumlah Bakteri dalam CFU/mL

Variabel Terkendali

1. Media pertumbuhan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* pada uji sensitivitas adalah media *Mannitol Salt Agar* (MSA) untuk mendapatkan nilai KHM dan KBM
2. Suhu inkubasi untuk menumbuhkan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* 37°C
3. Waktu inkubasi 24 jam pada *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* Penggunaan alat, bahan, dan media yang steril.
4. Waktu pembacaan setelah 24 jam
5. Kopi Robusta yang diambil dari Toko Kopi Aroma Jl. Banceuy No.51 Kota Bandung.

Variabel Tak Terkendali

1. Umur kopi Robusta
2. Keadaan tanah, curah hujan, dan lingkungan asal Kopi Robusta

3 DEFINISI OPERASIONAL

Tabel Definisi Operasional

Tabel 1. Definisi Operasional

	Definisi Operasio nal	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
Ekstrak air Kopi Robusta	Ekstrak kopi robusta yang diberikan pada kultur bakteri MRSA	Alat Timba ng	Mg/m L	Numer ik
Vankomi sin	Kontrol Positif yang diberikan pada kultur bakteri MRSA	Alat Timba ng	µg/µL	Numer ik
KHM	Konsentra si terkecil yang dapat mengham bat pertumbuh an MRSA	Alat Timba ng	%	Numer ik
KBM	Konsentra si terkecil yang dapat membunu h MRSA	Alat Timba ng	%	Numer ik

4 PROSEDUR PENELITIAN

Uji Kelayakan Etik

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan dari Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Bandung dengan nomor persetujuan 083/KEPK-Unisba/X/2020.

Pembuatan Ekstrak Air Kopi Robusta

Timbang 500 gram serbuk biji Kopi Robusta , direndam dalam air sulingan. Ekstrak dilakukan dengan cara maserasi pada suhu 28°C selama 72 jam.

Pembuatan Inokulum Bakteri Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus

Siapkan *Nutrient Broth* 10 ml ke dalam tabung reaksi. Lalu ambil 1 koloni biakan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*. Inkubasi selama 4 jam. Ambil 1 ose bakteri MRSA yang sebelumnya. Inkubasi kembali bakteri pada media MSA dengan suhu 37°C selama 24 jam.

Pengujian Metode Khm Terhadap Bakteri Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus Dengan Tpc

96 *well microplate* disiapkan dengan format: Media (Kontrol Negatif), Media + Sampel + Bakteri (Sample Uji), Media + Vankomisin + Bakteri (Kontrol Positif), Kontrol Bakteri. Kemudian, timbang media MHB dengan *aquades* dan homogenkan dengan *magnetic heater*.⁷ Setelah itu dilakukan pencampuran di dalam *microtube* dan diambil sebanyak 100µL dan tuangkan kepada *well* pertama dan dilakukan pengenceran bertingkat di *microplate* , dan dimasukkan suspensi bakteri sebanyak 10µL ke dalam *microplate*. Kemudian seluruh *microplate* diinkubasi pada suhu 37°C selama 16-20 jam.⁷

Pengujian Metode Kbm Terhadap Bakteri Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus

Siapkan 27 cawan petri kosong untuk uji KBM MRSA. Ambil media *Mueller Hinton Agar* dan timbang lalu tambahkan pelarut *aquades* sampai media sebanyak 10-20 ml lalu masukkan ke cawan petri. Homogenkan sampai membentuk media padat. Ambil suspensi cairan hasil uji KHM sebanyak 100µL dari *microplate*, lalu teteskan ke cawan petri. Dan ratakan menggunakan *spreader*. Kemudian bungkus cawan petri dan inkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C, setelah itu lakukan pengamatan.

Perhitungan Jumlah Koloni

Nilai KBM terletak pada konsentrasi terkecil yang tidak menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri.

5 ANALISIS DATA

Hasil yang didapatkan dengan melihat distribusi rata-rata dari jumlah bakteri hasil dari konsentrasi kadar hambat minimum (KHM) dan konsentrasi kadar bunuh minimum (KBM) pada penelitian yang dilakukan dengan menggunakan aplikasi *microsoft excel*.

6 HASIL PENELITIAN

Pada penelitian ini didapatkan dan dianalisis dari variabel tergantung setelah perlakuan pada setiap kelompok. Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris yang bersifat kuantitatif dengan metode penelitian *Post test Control Group Design*. Perlakuan yang diberikan pada penelitian ini terdiri dari 1 perlakuan dalam 6 konsentrasi, yaitu 100%, 75%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, dan 3 kontrol. Pada uji KHM dengan menggunakan *Total Plate Count* pada ekstrak air Kopi Robusta berada pada konsentrasi 50% memiliki rata-rata sebesar $2,98.10^6$ CFU/mL.

Tabel 2. Hasil Uji Kadar KHM Ekstrak Air Kopi Robusta

No	Konsentrasi	Jumlah Bakteri Rep I	Jumlah Bakteri Rep II	Jumlah Bakteri Rep III	Rata-rata	Keterangan
1	Ekstrak Kopi 100%	0 CFU/mL	0 CFU/mL	0 CFU/mL	0 CFU/mL	Tidak Tumbuh
2	Ekstrak Kopi 75%	0 CFU/mL	0 CFU/mL	0 CFU/mL	0 CFU/mL	Tidak Tumbuh
3	Ekstrak Kopi 50%	$2,94.10^4$ CFU/mL	3.10^4 CFU/mL	3.10^4 CFU/mL	$2,98.10^4$ CFU/mL	Tumbuh
4	Ekstrak Kopi 25%	$>3.10^4$ CFU/mL	$>3.10^4$ CFU/mL	$>3.10^4$ CFU/mL	$>3.10^4$ CFU/mL	Tumbuh
5	Ekstrak Kopi 12,5%	$>3.10^4$ CFU/mL	$>3.10^4$ CFU/mL	$>3.10^4$ CFU/mL	$>3.10^4$ CFU/mL	Tumbuh
6	Ekstrak Kopi 6,25%	$>3.10^4$ CFU/mL	$>3.10^4$ CFU/mL	$>3.10^4$ CFU/mL	$>3.10^4$ CFU/mL	Tumbuh
7	Kontrol Positif	$>3.10^4$ CFU/mL	$>3.10^4$ CFU/mL	$>3.10^4$ CFU/mL	$>3.10^4$ CFU/mL	Tumbuh
8	Kontrol Negatif	0 CFU/mL	0 CFU/mL	0 CFU/mL	0 CFU/mL	Tidak Tumbuh
9	Kontrol Bakteri	$>3.10^4$ CFU/mL	$>3.10^4$ CFU/mL	$>3.10^4$ CFU/mL	$>3.10^4$ CFU/mL	Tumbuh

Selain menggunakan metode uji KHM pada penelitian ini juga dilakukan uji KBM, yang dinilai melalui pertumbuhan bakteri pada ekstrak air Kopi Robusta berada. Hasil uji KBM ekstrak air Kopi Robusta didapatkan pada konsentrasi 75% yang ditunjukkan dengan tidak terdapatnya pertumbuhan bakteri.

Tabel 3. Hasil Uji Kadar Konsentrasi Bunuh Minimum Ekstrak Air Kopi Robusta *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*

No	Konsentrasi	Pertumbuhan Bakteri I	Pertumbuhan Bakteri II	Pertumbuhan Bakteri III	Keterangan
1	Ekstrak Kopi 100%	-	-	-	Tidak Tumbuh
2	Ekstrak Kopi 75%	-	-	-	Tidak Tumbuh
3	Ekstrak Kopi 50%	+	+	+	Tumbuh
4	Ekstrak Kopi 25%	+	+	+	Tumbuh
5	Ekstrak Kopi 12,5%	+	+	+	Tumbuh
6	Ekstrak Kopi 6,25%	+	+	+	Tumbuh
7	Kontrol Positif (V)	+	+	+	Tumbuh
8	Kontrol Negatif	-	-	-	Tidak Tumbuh
9	Kontrol Bakteri	+	+	+	Tumbuh

7 PEMBAHASAN

Pada penelitian ini menggunakan 2 kelompok yang terdiri dari kelompok perlakuan dan 3 kelompok kontrol. Pada tabel uji KHM, menunjukkan nilai KHM ekstrak air Kopi Robusta berada pada konsentrasi 50%. Pada tabel uji KBM, menunjukkan nilai KBM ekstrak air Kopi Robusta berada pada 75%. Hasil penelitian ini menunjukkan adanya aktivitas antibakteri ekstrak air Kopi Robusta terhadap bakteri MRSA yang ditandai dengan berkurangnya pertumbuhan bakteri MRSA pada ekstrak air Kopi Robusta dengan konsentrasi 50% dan tidak adanya pertumbuhan bakteri pada ekstrak air Kopi Robusta dengan konsentrasi 75%. Berdasarkan hasil penelitian ini ditemukan bahwa efektifitas antibakteri ekstrak air Kopi Robusta pada konsentrasi 50%, 75%, dan 100% lebih kuat daya hambat dan daya bunuhnya dibandingkan dengan Vankomisin. Hal ini diakibatkan oleh tingginya konsentrasi senyawa antibakteri seperti kafein, asam klorogenat, dan trigonelin pada ekstrak air Kopi Robusta dengan konsentrasi 50%, 75%, dan 100%.

8 KETERBATASAN PENELITIAN

Adapun keterbatasan yang dilakukan dalam penelitian ini adalah :

1. Sampel Bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* yang digunakan tidak memiliki *American Type Culture Collection* atau ATCC, sehingga tidak dapat diketahui strain ataupun kode dari bakteri MRSA yang digunakan dalam penelitian ini.
2. Dalam melakukan penelitian ini, identifikasi tidak dilakukan sampai uji biokimia. Identifikasi bakteri yang dilakukan hanya dari penggunaan agar selektif, pewarnaan gram, serta identifikasi morfologi makro dan mikro.

9 SARAN PENELITIAN

Berdasarkan penelitian ini, terdapat beberapa hal yang dapat dilakukan untuk mengembangkan penelitian lebih lanjut, di antaranya:

1. Diharapkan pada tahap selanjutnya dilakukan penelitian lebih lanjut seperti fraksi maupun isolasi terhadap aktivitas antibakteri ekstrak air Kopi Robusta (*Coffea cenaphora*) terhadap MRSA
2. Dilakukan uji aktivitas antibakteri ekstrak air Kopi Robusta (*Coffea cenaphora*) yang memiliki daya antibakteri terhadap MRSA dengan menggunakan metode atau dengan pelarut lain seperti ekstrak etanol, methanol, etil asetat.
3. Dilakukan uji lebih lanjut terkait toksisitas ekstrak air Kopi Robusta (*Coffea cenaphora*) dan uji klinis untuk melihat efektifitas antibakteri ekstrak air Kopi Robusta (*Coffea cenaphora*) pada manusia.

10 KESIMPULAN

Efektifitas antibakteri ekstrak air Kopi Robusta pada konsentrasi 50%, 75%, dan 100% lebih kuat daya hambat dan daya bunuhnya dibandingkan dengan Vankomisin pada kultur bakteri MRSA.

11 UCAPAN TERIMA KASIH

Orang Tua, Hendro Sudjono Y, Yanuar Zulkifli H, Nanan Sekarwana, Ratna Damailia, Meitha, Jessy, dan para sahabat. Dalam penelitian ini tidak terdapat konflik kepentingan, dan pada penelitian ini menggunakan dana mandiri dari peneliti.

DAFTAR PUSTAKA

- Yaqin M, Nurmilawati M. Pengaruh Ekstrak Kopi Robusta (*Coffea robusta*) sebagai Penghambat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *Semin Nas XII Pendidik Biol FKIP UNS*. 2015:867-872.
- Lakhundi S, Zhang K. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Molecular Characterization, Evolution, and Epidemiology. *Clin Microbiol Rev*. 2018;31(4).
- Melo ACM. *J Chem Inf Model*. 2013;53(9):1689-1699.
- Yuwono HS. The New Paradigm of Wound Management Using Coffee Powder. *Glob j*

Surg. 2014;2(2):25-29.

Fauzi MR, Lindawati Y. EFEK EKSTRAK BIJI KOPI ROBUSTA (*coffeacaneophora*) TERHADAP pH SALIVA dan PERTUMBUHAN BAKTERI *Staphylococcus aureus* (ATCC ® 29213 TM) (IN VITRO). 2013:309-312.

Farah A. Coffee Constituents. *Coffee Emerg Heal Eff Dis Prev*. 2012:21-58.

Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically ; Approved Standard — Ninth Edition. Vol 32.; 2012.