

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL KOPI
ROBUSTA (*Coffea canephora*) dan BUNGA TELANG (*Clitoria ternatea*
L.) TERHADAP *Staphylococcus aureus***

Karya Tulis Ilmiah

Untuk memenuhi sebagai persyaratan

Mencapai derajat Ahli Madya Farmasi (A.Md Farm)



Disusun oleh:

Rika Aulia Fatmaningrum

A1212027

Kepada

PROGRAM STUDI DIPLOMA III FARMASI

SEKOLAH TINGGI ILMU FARMASI NUSAPUTERA

SEMARANG

2024

HALAMAN PENGESAHAN

Pengesahan Karya Tulis Ilmiah

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL KOPI
ROBUSTA (*Coffea canephora*) dan BUNGA TELANG (*Clitoria ternatea*
L.) TERHADAP *Staphylococcus aureus***

Oleh :

Rika Aulia Fatmaningrum

A1212027

Telah dipertahankan di hadapan tim penguji pada tanggal 15 Juni 2024

Mengetahui,

Pembimbing

Ketua Program Studi Diploma III

Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Nusaputera



apt. Rizky Ardian Hartanto S, M.Farm Apt. Wahyu Setyaningsih, M.Farm.

NIP : 071117057

NIP : 07032093

Tim Penguji

Ketua : Ayu Ina Solichah, M. Pharm.Sci

NIP. 071212149

Anggota : apt. Rizky Ardian Hartanto Sawal, M.Farm.

NIP.071117057



MOTTO DAN PERSEMBAHAN

“Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya.”

(Q.S. Al Baqarah : 286)

“Sesungguhnya bersama kesulitan itu ada kemudahan, maka apabila kamu telah selesai (dari suatu urusan), tetapkanlah bekerja keras (untuk urusan yang lain).”

(Q.S. Al Insyirah : 6-7)

“Selalu ada harga dalam sebuah proses. Nikmati saja lelah-lelah itu. Lebarakan lagi rasa sabar itu. Semua yang kau investasikan untuk menjadikan dirimu serupa yang kau impikan, mungkin tidak akan selalu berjalan lancar. Tapi, gelombang- gelombang itu yang bisa kau ceriakan.”

(Boy Candra)

Ku persembahkan karyaku ini untuk :

1. Orang tua dan keluargaku yang selalu memberikan doa, dukungan baik moral maupun materil.
2. Bapak apt. Rizky Ardian Hartanto Sawal, M.Farm yang telah meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan, kritik, dan saran yang membangun, dukungan, nasihat yang berarti, serta ilmu yang berguna demi terselesaikannya Karya Tulis Ilmiah ini.
3. Pasanganku yang selalu memberikan kasih sayang, semangat dan dukungan setiap harinya.
4. Sahabat-sahabatku yang telah banyak memberi masukan, motivasi dan arahan hingga akhirnya dapat terselesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.
5. Dan terakhir terimakasih untuk diri sendiri, karena mampu berusaha keras dan berjuang sejauh ini.

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam karya tulis ilmiah ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar ahli madya dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini disebutkan dalam daftar pustaka.

Semarang, Juni 2024

Rika Aulia Fatmaningrum

A1212027

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji Syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah yang berjudul “UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL KOPI ROBUSTA (*Coffea canephora*) dan BUNGA TELANG (*Clitoria ternatea L.*) TERHADAP *Staphylococcus aureus*” dengan mudah dan lancar. Meskipun dalam pengerjaan penulis mengalami banyak hambatan, namun dipenuhi rasa syukur dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini tepat pada waktunya.

Penulis menyadari bahwa dalam melaksanakan penelitian dan dalam menyusun Karya Tulis Ilmiah ini tidak mungkin dapat berjalan dengan baik tanpa adanya bimbingan, bantuan, dari berbagai pihak. Oleh karena itu dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Bapak apt. Rizky Ardian Hartanto Sawal, M.Farm., selaku Ketua Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Nusaputera Semarang dan dosen pembimbing yang telah memberikan bimbingan dan arahnya.
2. Ibu apt. Wahyu Setyaningsih, M.Farm., selaku Ketua Program Studi Diploma III Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Nusaputera Semarang.
3. Ibu Ayu Ina Sholichah, M.Pharm.Sci., selaku dosen penguji utama pada sidang terbuka Karya Tulis Ilmiah.
4. Orang tua dan keluargaku tercinta yang selalu memberikan kasih sayang, doa dan dukungan baik moral maupun materil.
5. Sahabat serta teman-teman seperjuangan Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Nusaputera Semarang yang telah memberikan arahan dan motivasi kepada

penulis hingga selesainya pelaksanaan penelitian beserta penyusunan naskah Karya Tulis Ilmiah.

6. Semua pihak yang tidak dapat di sebutkan satu persatu, yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.

Karya Tulis Ilmiah ini disusun dari berbagai sumber dan disajikan dengan Bahasa yang sederhana. Hal ini dimaksudkan agar penulis dalam membuat Karya Tulis Ilmiah penelitian ini dapat tersampaikan. Disadari sepenuhnya bahwa Karya Tulis Ilmiah penelitian ini masih jauh dari sempurna, akan besar manfaatnya bila pembaca berkenan memberi saran dan kritik yang akan penulis gunakan untuk memperbaiki pembuatan Karya Tulis Ilmiah penelitian dimasa yang akan datang. Akhir kata semoga Tuhan Yang Maha Esa memberikan kasih dan berkat yang berlimpah atas segala sesuatu yang telah dikerjakan penulis dalam pembuatan Karya Tulis Ilmiah ini. Amin Ya Rabbal Alamin.

Semarang, Juni 2024

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN COVER.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
MOTTO DAN PERSEMBAHAN.....	iii
PERNYATAAN	iv
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
INTISARI.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang Penelitian	1
B. Perumusan Masalah.....	4
C. Batasan Masalah	4
D. Keaslian Penelitian	5
E. Manfaat Penelitian	6
F. Tujuan Penelitian	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	8
A. Telaah Pustaka.....	8
1. Kopi Robusta (<i>Coffea canephora</i>).....	8
2. Bunga Telang (<i>Clitoria ternatea L.</i>).....	12
3. Simplisia.....	15
4. Ekstraksi.....	18
5. Pelarut.....	23
6. Skrining Fitokimia.....	26
7. Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	34
8. Media.....	37
9. Antibiotik.....	41
10. Kloramfenikol.....	42
11. Uji Antibakteri.....	42
B. Landasan Teori.....	44
C. Hipotesis.....	45

BAB III METODE PENELITIAN	46
A. Tempat dan Waktu Penelitian.....	46
B. Rancangan Penelitian.....	46
C. Populasi, Sampel, dan Teknik Sampling.....	47
D. Identifikasi Variabel Penelitian.....	47
E. Definisi Operasional Penelitian.....	49
F. Instrumen Penelitian.....	50
G. Jalannya Penelitian.....	51
1. Determinasi Tanaman.....	51
2. Pembuatan Simplisia.....	51
3. Pembuatan Ekstrak.....	52
4. Uji Kandungan Senyawa Kimia dengan Metode Tabung.....	53
5. Uji Kandungan Senyawa Kimia dengan KLT.....	54
6. Persiapan Alat dan Sterilisasi.....	56
7. Pembuatan Media.....	56
8. Uji Aktivitas Antibakteri.....	56
H. Analisis Data.....	59
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	62
A. Determinasi Tanaman.....	62
B. Pengumpulan dan Pembuatan Serbuk Kopi Robusta dan Bunga Telang.....	62
C. Pemeriksaan Organoleptis Serbuk Kopi Robusta dan Bunga Telang....	63
D. Penetapan Kadar Air Serbuk Kopi Robusta dan Bunga Telang.....	64
E. Pembuatan Ekstrak Kopi Robusta dan Ekstrak Bunga Telang.....	65
F. Uji Identifikasi Kandungan Senyawa Kimia Ekstrak Kopi Robusta Dan Ekstrak Bunga Telang.....	66
G. Uji Identifikasi Kandungan Senyawa Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	71
H. Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanol Kopi Robusta dan Ekstrak Etanol Bunga Telang.....	74
I. Analisis SPSS.....	80

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	83
A. Kesimpulan.....	83
B. Saran.....	83
DAFTAR PUSTAKA	84
LAMPIRAN.....	92

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Keaslian Penelitian	5
Tabel 2. Pembuatan Konsentrasi Ekstrak	58
Tabel 3. Pemeriksaan Organoleptis Kopi Robbusta dan Bunga Telang.....	63
Tabel 4. Uji Kadar Kelembapan Serbuk Kopi Robusta dan Bunga Telang.....	64
Tabel 5. Presentase Rendeman Ekstrak Etanol.....	64
Tabel 6. Uji Kandungan Kimia Ekstrak Kopi Robusta dan Ekstrak Bunga Telang.....	66
Tabel 7. Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	70
Tabel 8. Diameter Zona Hambat.....	74
Tabel 9. Kategori Zona Hambat Antibakteri.....	74
Tabel 10. Hasil Uji SPSS.....	78
Tabel 11. Hasil Uji ANOVA.....	79

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. (a) Buah Kopi Robusta, (b) Biji Kopi Robusta	9
Gambar 2. Bunga telang	12
Gambar 3. Struktur Kimia Alkaloid	29
Gambar 4. Struktur Kimia Flavonoid.....	31
Gambar 5. Struktur Kimia Saponin	32
Gambar 6. Struktur Kimia Tanin	34
Gambar 7. Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	35
Gambar 8. Pembuatan Ekstrak	60
Gambar 9. Uji Aktivitas Antibakteri	61
Gambar 10. Reaksi Dugaan Alkaloid dengan Reagen Dragendroff.....	67
Gambar 11. Reaksi Dugaan Flavonoid dengan Serbuk Mg dan HCl.....	68
Gambar 12. Reaksi Hidrolisis Saponin.....	69
Gambar 13. Reaksi Dugaan Antara Tanin dengan FeCl ₃	70

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Determinasi Tanaman.....	94
Lampiran 2. Uji Kadar Kelembapan Serbuk.....	95
Lampiran 3. Proses Ekstraksi Maserasi Kopi Robusta dan Bunga Telang.....	96
Lampiran 4. Hasil Uji Tabung Ekstrak Kopi Robusta.....	97
Lampiran 5. Hasil Uji Tabung Ekstrak Bunga Telang.....	98
Lampiran 6. Hasil Uji Kromatografi Lapis Tipis.....	99
Lampiran 7. Proses Pembuatan Media dan Uji Antibakteri.....	100
Lampiran 8. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri.....	101
Lampiran 9. Perhitungan.....	102
Lampiran 10. Uji SPSS.....	104

INTISARI

Bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) dan biji kopi robusta (*Coffea canephora*) merupakan beberapa simplisia yang memiliki metabolit sekunder yang bermanfaat sebagai antibakteri. Ekstrak bunga telang dan ekstrak kopi robusta bersifat antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kombinasi ekstrak bunga telang dan kopi robusta terhadap aktivitasnya sebagai antibakteri pada bakteri *Staphylococcus aureus*.

Proses pembuatan ekstrak bunga telang dan biji kopi robusta dilakukan dengan metode ekstraksi maserasi. Pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi adalah etanol 96%, ekstrak kental dari masing-masing simplisia diidentifikasi dengan uji tabung dan kromatografi lapis tipis untuk senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin. Ekstrak bunga telang dan biji kopi robusta kemudian dikombinasikan dalam tiga konsentrasi 75%:25% ; 50%:50% ; 25%:75%. Untuk diuji aktivitas antibakterinya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan metode disk diffusion. Zona bening yang terbentuk diukur dan dianalisis dengan uji *One Way Anova* kemudian dilanjutkan dengan uji *Post Hoc*.

Hasil penelitian yang didapatkan bahwa kombinasi ekstrak etanol kopi robusta dan bunga telang mampu menghambat *Staphylococcus aureus* dengan zona hambat konsentrasi 75%:25% yaitu 16,09%, konsentrasi 50%:50% yaitu 20,56%, dan konsentrasi 25%:75% yaitu 18,57%. Analisa data menunjukkan data terdistribusi normal tetapi tidak homogen. Pengujian dilanjutkan dengan *One way ANOVA* dan diperoleh nilai $p < 0,05$, pada uji *Post hoc (Games Howell)* dapat ditarik kesimpulan tidak terdapat perbedaan signifikan antar konsentrasi kombinasi ekstrak etanol kopi robusta dan bunga telang, namun konsentrasi 50%:50% paling efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Kata Kunci: *Clitoria ternatea* L. , *Coffea canephora*, Antibakteri, *Staphylococcus aureus*

ABSTRACT

Butterfly pea flowers (*Clitoria ternatea* L.) and robusta coffee beans (*Coffea canephora*) are some simplicia that have secondary metabolites that are useful as antibacterials. Butterfly flower extract and robusta coffee extract are antibacterial against *Staphylococcus aureus* bacteria. This research aims to determine the combination of butterfly pea flower extract and robusta coffee on its antibacterial activity on *Staphylococcus aureus* bacteria.

The process of making butterfly pea flower extract and robusta coffee beans is carried out using the maceration extraction method. The solvent used in the extraction process was 96% ethanol, the thick extract from each simplicia was identified using a tube test and thin layer chromatography for flavonoids, alkaloids, saponins and tannins. The butterfly pea flower extract and robusta coffee beans were then combined in three concentrations of 25%:75%; 50%:50% ; 75%:25%. To test its antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* bacteria using the disk diffusion method. The clear zone formed was measured and analyzed using the One Way Anova test then continued with the Post Hoc test.

The research results showed that the combination of robusta coffee ethanol extract and butterfly pea flower was able to inhibit *Staphylococcus aureus* with an inhibitory zone concentration of 75%:25%, namely 16.09%, concentration of 50%:50%, namely 20.56%, and concentration of 25%:75%. % namely 18.57%. Data analysis shows that the data is normally distributed but not homogeneous. The test was continued with One way ANOVA and obtained a p value <0.05, in the Post hoc test (Games Howell) it could be concluded that there was no significant difference between the concentrations of the combination of Robusta coffee ethanol extract and butterfly pea flower, but the concentration of 50%:50% was the most effective to inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria.

Keywords: Butterfly Flower, Robusta Coffee Beans, Antibacterial, *Staphylococcus aureus*

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Penelitian

Penyakit infeksi adalah penyakit atau gangguan kesehatan yang disebabkan oleh serangan mikroorganisme termasuk bakteri, virus, fungi (jamur), atau parasit. Penyakit infeksi merupakan penyakit utama yang banyak terjadi di negara-negara berkembang, contohnya Indonesia (Joegijantoro, 2019). Penyakit infeksi yang paling umum adalah penyakit kulit. Penyakit kulit merupakan penyakit yang menyerang permukaan kulit tubuh dan disebabkan oleh berbagai macam penyebab dan menginfeksi segala usia. Penyakit ini dapat disebabkan oleh beberapa mikroorganisme seperti bakteri, virus, dan jamur. Mikroorganisme tersebut dapat menyebabkan kerusakan kulit namun tidak pernah berakibat fatal. Salah satu bakteri yang dapat menginfeksi kulit adalah *Staphylococcus aureus* (Indarto dkk, 2019).

Staphylococcus aureus atau *S.aureus* merupakan bakteri pathogen pada manusia. Sekitar 30% dari populasi manusia dikolonisasi oleh *S.aureus*, umumnya bakteri ini terdapat pada kulit saluran pernapasan dan saluran pencernaan tanpa menyebabkan masalah kesehatan (Noor, 2022). Bakteri ini menjadi salah satu masalah ketika terdapat suatu fokus infeksi dan dapat menyebar dari satu orang ke orang lain melalui kontak langsung atau melalui objek terkontaminasi..

Studi epidemiologi menunjukkan bahwa infeksi akibat *S.aureus* di dunia meningkat pada dua dekade terakhir. Data di Amerika Serikat dan

Eropa menunjukkan bahwa *S.aureus* merupakan bakteri patogen tersering penyebab infeksi dengan prevalensi 18-30%, sedangkan di wilayah Asia *S.aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* memiliki angka kejadian infeksi yang hampir sama banyak (Ginarana dkk, 2020).

Salah satu cara untuk mengatasi infeksi yang disebabkan oleh bakteri adalah dengan pemberian antibiotik. Antibiotik pada dasarnya bersifat menghambat (bakteriostatik) bahkan membunuh (bakterisidal) bakteri (Jabbar dkk, 2023). Tetapi penggunaan antibiotik jangka panjang dan tidak tepat dosis dapat mengganggu fungsi kinerja pada organ ginjal, jantung, hati, hingga resistensi antibiotik. Selain itu juga memiliki efek samping seperti resistensi terhadap antibiotik dan iritasi kulit (Muharram dkk, 2022).

Alternatif lain untuk pengobatan infeksi adalah dengan menggunakan bahan herbal sebagai bahan dasar terapi. Bahan herbal dipercaya tidak memiliki efek samping yang berbahaya. Bahan herbal yang dapat digunakan sebagai bahan dasar terapi adalah biji kopi robusta (*coffea canephora*) dan bunga telang (*Clitoria ternatea L.*).

Biji kopi robusta yang biasa dikonsumsi adalah biji kopi robusta yang sudah dipanggang. Selama proses pemanggangan akan terjadi serangkaian perubahan komposisi kimiawi pada biji kopi robusta seperti asam klorogenat dan trigonelin yang merupakan senyawa termolabil serta senyawa yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antibakteri. Senyawa tersebut mengalami degradasi selama proses pemanggangan sehingga kadarnya menjadi lebih sedikit dibandingkan biji kopi hijau robusta

(Rubinadzari dkk, 2022). Oleh karena itu dalam penelitian ini akan menggunakan biji kopi hijau robusta atau bisa disebut *green bean*.

Penelitian Utami (2018) menyatakan bahwa dalam kopi robusta terdapat kandungan alkaloid, tannin, saponin, dan flavonoid. Sedangkan pada penelitian Nurhayati dkk (2023) menyatakan bahwa aktivitas ekstrak kopi hijau (*Coffea canephora*) memiliki aktivitas terhadap bakteri *Propionibacterium acne* dan *S.aureus* dengan zona hambat paling besar pada konsentrasi 50% masing-masing sebesar 30,4 dan 33,1 mm aktivitas tersebut lebih besar daripada ciprofloxacin 5 mikrogram.

Bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) mengandung sejumlah bahan aktif yang memiliki potensi farmakologi dalam area yang luas, antara lain sebagai antioksidan, antimikroba, antidiabetes, dan antikanker (Budiasih, 2022). Ekstrak etanol bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) mampu menghambat pertumbuhan beberapa jenis bakteri yaitu *Bacillus subtilis*, *S.aureus* dan *Escherichia coli*.

Hasil penelitian yang dilakukan Pertiwi *et al.* (2022) menyatakan bahwa ekstrak etanol bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* pada konsentrasi 10%, 15% dan 20%. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) pada konsentrasi 10% dan 15% masuk dalam kategori lemah karena menghasilkan rata-rata diameter zona hambat sebesar 2,31 mm dan 3,05 mm, sedangkan konsentrasi 20% masuk dalam kategori sedang dengan rata-rata diameter zona hambat 6,2 mm.

Berdasarkan latar belakang dari uraian diatas, penulis tertarik untuk melakukan penelitian dengan mengkombinasikan ekstrak etanol kopi robusta (*Coffea canephora*) dan bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) dengan konsentrasi yaitu 25%:75% ; 50%:50% ; 75%:25% sebagai uji aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, dapat dirumuskan masalah sebagai berikut:

1. Apakah kombinasi ekstrak etanol kopi robusta (*Coffea canephora*) dan bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ?
2. Apakah terdapat pengaruh konsentrasi kombinasi ekstrak etanol kopi robusta (*Coffea canephora*) dan bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) terhadap aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus*?

C. Batasan Masalah

Berdasarkan beberapa identifikasi masalah diatas, maka permasalahan yang dikaji perlu dibatasi. Adapun batasan masalah yang dikaji dalam penelitian ini adalah :

1. Bagian tanaman yang digunakan adalah biji kopi robusta (*Coffea canephora*) yang diperoleh dari Wonosobo, Jawa Tengah dan bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) yang diperoleh dari Bantul, Yogyakarta.
2. Ekstrak kopi robusta dan bunga telang yang digunakan untuk uji bakteri diperoleh dengan metode ekstraksi maserasi menggunakan pelarut etanol 96%.

3. Identifikasi senyawa kimia pada ekstrak kopi robusta dan bunga telang dilakukan dengan metode analisis kualitatif uji tabung dan KLT.
4. Bakteri uji yang digunakan adalah bakteri *Staphylococcus aureus*.
5. Metode yang digunakan untuk menguji aktivitas antibakteri yaitu metode difusi cakram.
6. Media kultur yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri yaitu media *Nutrient Agar* (NA).
7. Aktivitas antibakteri yang diamati berupa zona bening yang terbentuk disekitar media pertumbuhan bakteri dan diukur menggunakan jangka sorong.
8. Kontrol positif yang digunakan adalah Kloramfenikol, sedangkan kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO 10%.

D. Keaslian Penelitian

Berdasarkan sepengetahuan penulis tentang penelitian terdahulu terkait penelitian yang akan dilakukan dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Keaslian Penelitian			
NO	PENELITI	JUDUL	HASIL
1.	Nurhayati dkk, (2023)	Uji Ekstrak Biji Kopi <i>Hijau</i> (<i>Coffea canephora</i> var. <i>robusta</i>) terhadap Bakteri <i>Propionibacterium acnes</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i> Secara Difusi	Ekstrak kopi hijau (<i>Coffea canephora</i> L.) memiliki aktivitas terhadap bakteri <i>Propionibacterium acnes</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i> dengan zona hambat paling besar pada konsentrasi 50% masing-masing sebesar 30,4 mm dan 33,1 mm.
2.	Pertiwi et al., (2022)	Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bunga Telang (<i>Clitoria ternatea</i> L.) Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus epidermidis</i>	Ekstrak etanol bunga <i>C.terantea</i> L. memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri <i>Staphylococcus epidermidis</i> pada

			konsentrasi 10%, 15% dan 20%.
3.	Rubinadzari <i>et al.</i> , (2022)	Perbandingan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Hijau dan Sangrai Kopi Robusta (<i>Coffea canephora</i>) Serta Kombinasinya Terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	Ekstrak biji hijau dan sangrai kopi robusta serta kombinasinya memiliki aktivitas antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> pada konsentrasi 50%:50% diameter sebesar 15,12 mm.

Dari keaslian penelitian diatas penulis menyatakan bahwa penelitian tentang Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanol Kopi Robusta (*Coffea canephora*) dan Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) terhadap *Staphylococcus aureus* belum pernah dilakukan sebelumnya.

E. Manfaat Penelitian

1. Bagi Masyarakat

Penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan yang berhubungan dengan adanya daya antibakteri suatu tanaman khususnya kopi robusta (*Coffea canephora*) dan bunga telang (*Clitoria ternatea L.*).

2. Bagi Institusi

Dapat digunakan sebagai bahan Pustaka di perpustakaan yang berupa data ilmiah secara mikrobiologi mengenai aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol kopi robusta (*Coffea canephora*) dan bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) sehingga dapat dilakukan penelitian lebih lanjut

3. Bagi Peneliti

- Dapat mengaplikasikan dan menerapkan ilmu yang didapat semasa menjalankan perkuliahan untuk dikembangkan lebih lanjut.
- Mengetahui manfaat yang terdapat pada kopi robusta (*Coffea canephora*) dan bunga telang (*Clitoria ternatea L.*).

F. Tujuan Penelitian

Berdasarkan penelitian yang ingin dicapai, maka terdapat beberapa tujuan penelitian antara lain sebagai berikut:

1. Mengetahui aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol kopi robusta (*Coffea canephora*) dan bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) terhadap *Staphylococcus aureus*.
2. Untuk mengetahui pengaruh konsentrasi kombinasi ekstrak etanol kopi robusta (*Coffea canephora*) dan bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) terhadap aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Kopi Robusta (*Coffea canephora*)

Kopi robusta adalah spesies kopi yang berasal dari hutan hujan tropis dataran rendah di daerah aliran sungai Kongo sampai Danau Victoria, Uganda. Kopi robusta masuk ke Indonesia pada tahun 1900 karena mempunyai sifat yang lebih unggul, kopi ini sangat cepat berkembang. Kopi robusta menjadi tanaman kopi yang sangat penting di daerah tropis, khususnya di Asia dan Afrika. Di Indonesia Kopi robusta dibudidayakan dalam jumlah yang luas dibandingkan dengan kopi arabika yaitu sekitar 87,1% dari total produksi kopi yang ada. Walaupun dikenal luas dengan nama *Coffea robusta*, nama ilmiah tanaman tersebut adalah *Coffea canephora*. Nama Robusta diambil dari kata “*robust*”, istilah bahasa Inggris yang berarti kuat. Minuman berbahan dasar biji kopi robusta memiliki cita rasa yang kuat dan cenderung lebih pahit dibandingkan arabika (Rawand dkk, 2020). Biji kopi Robusta banyak digunakan sebagai bahan baku kopi siap saji (*instan*), pencampur kopi racikan (*blend*) dan juga digunakan untuk membuat minuman kopi berbasis susu seperti *cappuccinocafe latte* dan *macchiato* (Dermawan dkk, 2018).



(a) (b)
Gambar 1. (a) Buah Kopi Robusta, (b) Biji Kopi Robusta
 (Dokumen pribadi)

a. Klasifikasi Kopi Robusta (*Coffea canephora*)

Klasifikasi tanaman kopi (*Coffea robusta* L.) menurut Rahardjo (2012) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta (Tumbuhan pembuluh)
Super Divisi	: Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi	: Magnoliopsida (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: Magnoliopsida (Berkeping dua)
Sub Kelas	: Asteridae
Ordo	: Rubiales
Famili	: Rubiaceae
Genus	: <i>Coffea</i>
Spesies	: <i>Coffea canephora</i> ,

b. Morfologi kopi robusta (*Coffea canephora*)

Kopi robusta (*Coffea canephora*) merupakan spesies tanaman yang berbentuk pohon. Tanaman ini tumbuh tegak dan bercabang memiliki akar tunggang yang panjangnya dapat mencapai 45 sampai 50 cm dan terdapat 4 sampai 8 akar samping yang tumbuh ke bawah sepanjang 2 sampai 3 m serta akar samping bercabang secara merata dengan panjang cabang akar 1 sampai 2 m (Rizwan, 2021).

Kopi robusta (*Coffea canephora*) memiliki batang dan cabang berkayu tegak lurus dan beruas-ruas berwarna putih keabu-abuan ketinggiannya bisa mencapai 12 meter. Batangnya lebih besar di bagian bawah dan lebih kecil di bagian ujung. Tumbuh kuncup-kuncup pada bagian ruas batang dan cabangnya. Daun kopi robusta berbentuk bulat telur dengan ujung meruncing dan pangkal tumpul daun tumbuh pada batang, cabang dan ranting, pada bagian batang dan cabang daunnya tumbuh berselang-seling sedangkan pada bagian ranting daunnya tumbuh pada bidang yang sama. Karakter morfologi yang khas pada kopi robusta (*Coffea canephora*) adalah memiliki tajuk yang lebar, dan ukuran daunnya lebih besar dibandingkan dengan kopi jenis arabika atau jenis kopi lainnya. Selain itu, daun tanaman kopi robusta jenis tumbuhnya secara berhadapan dengan bagian batang, cabang dan ranting (Andriani dkk, 2022).

Buah kopi robusta berbentuk elips dengan rata-rata panjang buah adalah 12 mm. Buah kopi robusta dapat dipanen setelah berumur 10-11 bulan. Ukuran biji kopi robusta sekitar 20-40% dari ukuran buahnya. Kopi robusta sering disebut dengan biji kopi kelas dua, yang memiliki rasa asam

sedikit bahkan tidak memiliki rasa asam sama sekali (Riastuti dkk, 2021). Bagian dari kulit biji memiliki bentuk selaput tipis berwarna hijau yang membalut biji. Sedangkan endosperma merupakan jaringan dari biji kopi yang kulitnya mengelilingi embrio, embrio kopi robusta berukuran kecil 3 - 4 mm yang terdiri dari axis dan kotiledon (Suhendra dkk, 2020). Kopi robusta (*Coffea canephora*) dapat ditanam pada ketinggian berkisar 400-800 mdpl, kopi robusta juga dapat tumbuh dengan baik pada tanah yang memiliki tingkat kemasaman (pH) sekitar 5-6,5 dan suhu rata-rata berkisar 21°C 24°C. Sedangkan curah hujan yang paling bagus untuk tanaman kopi robusta antara 2.000-3.000 mm/tahun (Dermawan dkk, 2018).

c. Manfaat dan kandungan

Selain rasa dan aromanya, kopi juga mengandung banyak kandungan bermanfaat bagi tubuh, termasuk kafein yang mampu menghambat pertumbuhan sel kanker. Kafein juga membantu mengurangi risiko diabetes militus tipe 2 (dengan menjaga sensibilitas tubuh terhadap insulin), penyakit Parkinson, dan penyakit Alzheimer. Kopi Robusta (*Coffea canephora*) mengandung fitokimia, alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, kafein dan fenol. Kopi mengandung lebih banyak antioksidan dibandingkan buah dan sayuran. Beberapa senyawa antioksidan yang terdapat pada kopi antara lain polifenol, flavonoid, proatycyanidin, kumarin, asam klorogenat, trigonellin, dan tokoferol (Artho dkk, 2015). Didalam serbuk biji kopi robusta terdapat kandungan asam chlorogenic yang memiliki efek sebagai antioksidan dan mampu untuk melindungi tubuh dari efek radikal bebas, juga anti bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) (Pangestu, 2020).

2. Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.).

Clitoria ternatea (bunga telang) ialah bunga yang dapat tumbuh sebagai tanaman hias maupun tanaman liar berkelopak tunggal mempunyai warna ungu. Selain itu, sejak zaman dulu bunga telang (*Clitoria ternatea*) di dunia tradisional dikenal sebagai alternatif obat terapi mata serta pewarna alami makanan (biru). Belakangan ini *Clitoria ternatea* juga sedang ramai dikonsumsi di seluruh dunia akibat dari tren teh bunga yang populer melalui sosial media di Inggris dengan sebutan *Butterfly Pea Tea* (Kusuma, 2019)



Gambar 2. Bunga telang (Budiasih, 2022)

a. Klasifikasi Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.)

Adapun taksonomi tumbuhan telang dikutip dari Budiasih (2022) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Tracheophyta
Infrodivisi	: Angiospermae
Kelas	: Mangnoliopsida
Ordo	: Fabales
Familia	: Fabacea
Genus	: <i>Clitoria</i> L.
Spesies	: <i>Clitoria ternatea</i>

b. Morfologi Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.)

Bunga telang termasuk bagian dari keluarga Fabaceae. Anggota keluarga Fabaceae mempunyai ciri buah berbentuk polong. Tanaman bunga telang ini dapat hidup pada ketinggian 1 hingga 1.800 m dpl pada berbagai jenis tanah antara lain tanah berpasir dan tanah merah dengan pH 5,5 hingga 8,9. Suhu optimal untuk pertumbuhan berkisar antara 19 hingga 28°C dan rata-rata curah hujan 2.000 mm/tahun. Secara morfologi batang telang panjangnya 0,5 sampai 3 m, herbaceous, bulat, permukaannya berbulu, membelit ke kiri (*sinisthorsum volubilis*). Memiliki akar tunggang dengan banyak akar lateral. Daunnya tersusun menyirip berpasangan, bentuknya lonjong, bagian bawahnya berbulu hijau, dan panjang tangkai daunnya mencapai 2,5 cm. Bunganya berwarna biru, ungu muda dan putih, dengan benang sari dan putik tersembunyi. Bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) merupakan bunga setangkup tunggal (*Monosimetris*), dengan 5 kelopak yang saling menempel dan 3 kelopak juga saling menempel. Buahnya berbentuk polong dengan panjang mencapai 14 cm, dengan 8-10 biji di dalamnya (Zahara., 2022).

c. Manfaat dan Kandungan

Menurut Marpaung (2020) bunga telang merupakan tumbuhan herbal yang istimewa karena seluruh bagian nya dapat dimanfaatkan mulai dari bunga hingga akar dan di percaya dapat mengobati berbagai macam penyakit salah satunya dapat memperkuat kinerja organ. Secara khusus menurut pengobatan india bunga telang

memiliki khasiat diantaranya dapat mengobati epilepsyinsomnia, disentri, keputihan, maag, asma, demam, sakit telinga, impetigo, penyakit kulit ekstrim, bronchitis, infeksi kandung kemih, kokik, sembelit dan gonorrhea juga mampu melancarkan menstruasi, mencegah infeksi bisa ular dan sengatan kalajengking. Sebagai antiperiodik (obat untuk mencegah terulangnya penyakit kambuhan seperti malaria), obat cacing, pencahar, diuretan, pendingin, pemicu mual dan muntah sehingga membantu mengeluarkan dahak bronkitis kronis, dan stimulan seksual.

Kandungan senyawa kimia bunga telang terdiri dari fenolik, flavonoid, alkaloid, terpenoid, steroid, saponin, tannin, antosianin, flavonol glikosida, kaempferol glikosida, quersetin glikosida, dan mirisetin glikosida (Abriyani dkk, 2022). Selain itu dari berbagai penelitian bunga telang memiliki potensi farmakologis sebagai anti mikroba, antioksidan, anti depresan, antelmintik, anti kanker dan anti diabetes (Purba, 2020).

Menurut Handito dkk (2022) kadar senyawa aktif pada bunga telang meliputi flavonoid $20,07 \pm 0,55$ mmol/mg bunga, antosianin $5,40 \pm 0,23$ mmol/mg bunga, flavonol glikosida $14,66 \pm 0,33$ mmol/mg bunga, kaempferol glikosida $12,71 \pm 0,46$ mmol/mg bunga, quersetin glikosida $1,92 \pm 0,12$ mmol/mg bunga, mirisetin glikosida $0,04 \pm 0,01$ mmol/mg bunga.

3. Simplisia

a. Definisi Simplisia

Simplisia merupakan bahan alami yang dimanfaatkan sebagai obat-obatan herbal/tradisional yang belum mengalami pengolahan apapun. Obat tradisional salah satunya jamu adalah obat yang diolah secara tradisional, dan dengan mengacu dari warisan resep nenek moyang secara turun temurun, keyakinan dan kebiasaan masyarakat lokal. Kedua hal tersebut tidak dapat dipisahkan satu sama lain (Lutfiah, 2022). Simplisia dibagi menjadi tiga golongan yaitu simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia mineral

b. Jenis Simplisia

1) Simplisia Nabati

Simplisia nabati merupakan simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Yang dimaksud dengan eksudat tanaman adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau yang dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya, atau zat-zat nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tanamannya. Simplisia nabati biasa dikenal masyarakat awam dengan tanaman obat. Tanaman obat sendiri adalah tanaman yang memiliki khasiat menyembuhkan maupun pencegahan penyakit (Lutfiah, 2022).

2) Simplisia Hewani

Simplisia hewani yaitu simplisia yang dapat berupa hewan utuh, bagian dari hewan atau zat berguna yang dihasilkan hewan tetapi bukan berupa zat kimia murni (Utami dkk, 2013).

3) Simplisia Mineral

Simplisia pelikan atau mineral yaitu simplisia yang berupa bahan pelikan atau mineral yang belum mengalami proses pengolahan atau yang telah mengalami proses pengolahan sederhana dan masih berupa bahan kimia campuran (Rosmini dkk, 2020).

c. Proses Pembuatan Simplisia

1) Sortasi Basah

Dilakukan untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing lainnya dari tumbuhan sebelum pencucian dengan cara membuang bagian-bagian yang tidak perlu sebelum pengeringan, sehingga didapatkan herba yang layak untuk digunakan. Cara ini dapat dilakukan secara manual (Wahyuni dkk., 2017).

2) Pencucian

Dilakukan menghilangkan tanah dan pengotor lainnya yang melekat pada tumbuhan. Pencucian dilakukan dengan air bersih, misalnya air dari mata air, air sumur atau air PAM. Pencucian dilakukan sesingkat mungkin agar tidak menghilangkan zat berkhasiat dari tumbuhan tersebut (Handoyo & Pranoto, 2020).

3) Perajangan

Perajangan dilakukan untuk mempermudah pengeringan, pengepakan dan penggilingan. Sebelum dirajang proses tumbuhan dijemur dalam keadaan utuh selama 1 hari. Perajangan dapat dilakukan dengan pisau, atau dengan alat mesin perajang khusus

sehingga diperoleh irisan tipis atau potongan dengan ukuran yang dikehendaki (Rakhmawatie & Marfu'ati, 2023).

4) Pengeringan

Pengeringan dilakukan berbagai macam cara yaitu dengan dikeringkan secara diangin-anginkan dipaparkan cahaya matahari langsung dan dapat menggunakan oven. Pengeringan ini berlangsung hingga diperoleh kadar air $\leq 10\%$ (Fahmi dkk, 2020).

5) Sortasi Kering

Dilakukan untuk memisahkan benda-benda asing seperti bagian-bagian tanaman yang tidak diinginkan dan pengotoran lain yang masih ada dan tertinggal pada simplisia kering. Proses ini dilakukan secara manual (Widodo & Subositi, 2021).

6) Penyimpanan dan Pengepakan

Untuk penyimpanan dipilih wadah yang bersifat tidak beracun dan tidak bereaksi dengan isinya sehingga tidak menyebabkan terjadinya reaksi serta penyimpangan warna, bau, rasa dan sebagainya pada simplisia. Untuk simplisia yang tidak tahan panas diperlukan wadah yang melindungi simplisia terhadap cahaya, misalnya aluminium foil, plastik atau botol yang berwarna gelap kaleng dan sebagainya. Penyimpanan simplisia kering biasanya dilakukan pada suhu kamar 15°C sampai 30°C (Wahyuni dkk, 2017).

4. Ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak larut dengan pelarut cair. Dengan diketahuinya senyawa aktif yang dikandung simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat (Tambun dkk, 2016)

a. Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Tambun dkk, 2016).

Berdasarkan sifatnya ekstrak dapat dibagi menjadi empat yaitu ekstrak encer, ekstrak kental ekstrak kering, dan ekstrak cair. Ekstrak encer (*extractum tenue*) ekstrak yang memiliki konsistensi seperti madu dan dapat dituang ekstrak kental (*extractum spissum*) ekstrak ini dalam keadaan dingin dan tidak dapat dituang yang mengandung air tidak lebih dari 30%, ekstrak kering (*extractum siccum*) memiliki konsistensi kering dan mudah hancur melalui penguapan cairan pengekstraksi dan pengeringan sisanya terbentuk suatu produk yang mengandung air tidak lebih dari 5%, dan ekstrak cair (*extractum fluidum*) memiliki konsistensi cair dan mudah dituang (Anggraini & Khabibi, 2022).

b. Metode Ekstraksi

Jenis-jenis ekstraksi bahan alam yang sering dilakukan adalah sebagai berikut :

1) Maserasi

Maserasi merupakan proses pengambilan senyawa aktif dari tanaman dengan perendaman menggunakan pelarut yang sesuai dengan dilakukan pengadukan pada temperatur ruang. Keuntungan metode maserasi adalah caranya yang mudah dan tidak memerlukan pemanasan sehingga bahan alam kemungkinan kecil mengalami rusak atau terurai (Paramita dkk, 2022). Kekurangan metode maserasi ini yaitu membutuhkan waktu yang lama dalam proses pengerjaan dan juga proses penyarian tidak sempurna (Yulinar & Suharti, 2023). Prinsip kerja ekstraksi dengan metode maserasi adalah proses tercapainya kesetimbangan konsentrasi antara senyawa aktif pada tanaman dengan yang telah berpindah kepelarut.

2) Remaserasi

Remaserasi merupakan ekstraksi yang terjadi pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya. Pelarut kedua ditambahkan sebanyak penambahan pelarut pertama. Keuntungan cara penyarian dengan remaserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Sedangkan kerugiannya adalah pengerjaannya lama, membutuhkan larutan penyari yang lebih banyak dibanding larutan penyari pada metode maserasi dan hasil penyariannya kurang sempurna (Ningsih dkk, 2015)

3) Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi yang dilakukan pada suhu ruangan dengan pelarut yang selalu baru. Prinsip kerja dari perkolasi adalah simplisia dimasukan dalam suatu bejana silinder, yang kemudian bagian bawahnya diberi sekat berporicairan penyari lalu dialirkan dari atas ke bawah melalui siplisia serbuk, cairan penyari yang dialirkan akan melarutkan zat aktif dalam sel- sel dari simplisia dalam keadaan jenuh (Tutik dkk, 2022). Kelebihan dari metode ini adalah sampel senantiasa dialiri oleh pelarut baru. Sedangkan kerugiannya adalah jika sampel dalam perkolator tidak homogen maka pelarut akan sulit menjangkau seluruh area. Selain itu, metode ini juga membutuhkan banyak pelarut dan memakan banyak waktu (Mukhtarini, 2014).

4) Refluks

Refluks adalah cara ekstraksi dengan alat refluks menggunakan pelarut pada suhu titik didih selama waktu tertentu dan menggunakan jumlah pelarut yang terbatas relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Kelebihan dari metode refluks yaitu metode ini dapat digunakan untuk sampel yang bertekstur kasar dan tahan pemanasan secara langsung. Adapun kekurangan metode ini yaitu penggunaan pelarut dengan volume yang besar dan energi dalam proses pemanasan (Yulinar & Suharti, 2023)

5) Metode Soxhletasi

Soxhletasi adalah teknik ekstraksi secara berkesinambungan dengan alat soklet menggunakan pelarut organik pada suhu didih. Jumlah pelarut yang digunakan relatif konstan (Yulinar & Suharti,

2023). Pelarut yang digunakan akan mengalami sirkulasi, dibandingkan dengan cara maserasi, ekstraksi sokletasi memberikan hasil ekstrak yang lebih tinggi. Keuntungan dari metode soxhlet yaitu pada proses ekstraksinya hanya dilakukan dalam satu dalam wadah secara kontinyu, pelarut yang terkondensasi akan menetes dan merendam sampel kemudian membawa senyawa terlarut ke labu penampung. Namun metode soxhlet tidak dapat digunakan untuk senyawa yang termolabil karena adanya pemanasan yang panjang sehingga dapat menyebabkan terjadinya degradasi senyawa (Wijaya dkk, 2019).

6) Metode Destilasi

Destilasi adalah suatu metode pemisahan campuran yang didasarkan pada perbedaan tingkat volalitas (kemudahan suatu zat untuk menguap) pada suhu dan tekanan tertentu. Destilasi merupakan proses fisika dan tidak terjadi adanya reaksi kimia selama proses berlangsung. Dasar utama pemisahan dengan cara destilasi adalah perbedaan titik didih cairan pada tekanan tertentu. Proses destilasi biasanya melibatkan suatu penguapan campuran dan diikuti dengan pendinginan dan pengembunan (Robiah & Permana, 2018). Kelebihan metode distilasi yaitu rendahnya biaya produksi, tetapi penggunaan suhu tinggi dan adanya air dapat menyebabkan kerusakan minyak karena panas yang tinggi dan terjadinya reaksi hidrolisis dengan air, sehingga dapat menurunkan kualitas minyak (Pratiwi dkk, 2016).

7) Infusa

Infusa adalah cara ekstraksi yang digunakan untuk simplisia bersifat lunak seperti daun dan bunga dengan menggunakan pelarut air pada suhu 96°– 98°C selama 15 – 20 menit (dimulai sejak suhu mencapai 96°C) (Yulinar & Suharti, 2023). Keuntungan dari penggunaan metode infusa adalah unit alat yang dipakai sangat sederhana sehingga biaya operasional yang diperlukan relatif rendah. Sedangkan kerugian dari metode ini adalah zat-zat yang tertarik kemungkinan sebagian akan mengendap kembali apabila kelarutannya sudah mendingin (lewat jenuh), hilangnya zat-zat atsiri, dan tidak cocok untuk mengekstraksi senyawa/ simplisia yang tidak tahan panas, disamping itu simplisia yang mengandung zat-zat albumin tentunya zat ini akan menggumpal dan menyukarkan penarikan zat-zat berkhasiat tersebut (Triyana dkk, 2022).

8) Dekok

Dekok adalah cara ekstraksi yang mirip dengan infusa hanya saja waktu ekstaksinya lebih lama dan suhu sampai titik didih air, yaitu pada suhu 90-100°C selama 30 menit. Kelebihan metode dekokta yaitu peralatan yang digunakan sederhana dan biaya yang relative murah, sedangkan kerugian dari metode ini yaitu karena menggunakan pelarut air, maka bisa dipastikan ekstrak yang terjadi tidak awet (mudah ditumbuhi jamur), pada simplisia tertentu akan menghasilkan ekstrak yang berlendir, sehingga sulit dilakukan penyaringan (Yulinar & Suharti, 2023).

5. Pelarut

Pelarut adalah zat yang dapat melarutkan zat terlarut dan menghasilkan larutan. Pelarut biasanya berbentuk cair tetapi bisa juga berbentuk padat, gas, atau fluida superkritis. Pelarut berpengaruh terhadap kandungan zat aktif dari bahan yang terekstraksi. Pelarut dalam proses pembuatan ekstrak diharapkan adalah pelarut yang baik untuk senyawa kandungan yang berkhasiat atau yang aktif, dengan demikian senyawa tersebut dapat terpisahkan dari bahan dan dari senyawa kandungan lainnya, serta ekstrak hanya mengandung sebagian besar senyawa kandungan yang diinginkan. Pelarut yang dipilih harus dapat melarutkan hampir semua metabolit sekunder yang dikandung. Faktor utama untuk pertimbangan pada pemilihan cairan penyari adalah selektivitas, kemudahan bekerja, proses dengan cairan tersebut, ekonomis, ramah lingkungan, dan keamanan (Syamsul dkk, 2020).

a. Macam-macam Pelarut

1) Aquadest

Aquadest merupakan pelarut yang paling mudah didapat dan murah. Pelarut ini bersifat netral dan tidak berbahaya. Lebih baik untuk digunakan karena aquades atau air yang telah disuling memiliki kadar mineral sangat minim. Kelemahannya hanya pada proses evaporasi (penguapan) yang lebih lama karena titik didihnya lebih tinggi dibandingkan dengan pelarut lainnya (Dofianti & Yuniwati, 2018).

2) Etanol

Etanol merupakan pelarut organik yang sering digunakan untuk proses ekstraksi dan sudah banyak penelitian dari penggunaan etanol. Beberapa alasan penggunaan etanol yang sangat luas antara lain karena etanol relatif tidak toksik dibandingkan dengan aseton dan metanol, biaya murah, dapat digunakan pada berbagai metode ekstraksi, serta aman untuk ekstrak yang akan dijadikan obat-obatan dan makanan. Alasan lainnya adalah karena etanol merupakan pelarut yang mudah didapatkan, efisien, aman untuk lingkungan, dan memiliki tingkat ekstraksi yang tinggi (Hakim & Saputri, 2020).

3) *Dimetil Sulfoksida (DMSO)*

Dimetil Sulfoksida (DMSO) adalah senyawa organosulfur, yang dapat melarutkan baik senyawa polar dan nonpolar dan larut dalam berbagai pelarut organik maupun air. DMSO merupakan senyawa yang memiliki toksisitas rendah, memiliki efek antiinflamasi, dan analgetik (Hidayah dkk, 2016). Penggunaan DMSO pada konsentrasi 10% tidak memberikan daya hambat pertumbuhan bakteri sehingga tidak mengganggu hasil penghamatan pengujian aktivitas anti bakteri dengan metode difusi cakram (Lestari dkk, 2020).

4) n- Heksan

Heksana adalah hidrokarbon alkana dengan rumus kimia C_6H_{14} . Heksana merupakan hasil penyulingan minyak mentah. Komposisi dan fraksi dipengaruhi oleh sumber minyak. Biasanya

sekitar 50% dari berat rantai isomer dan mendidih pada suhu 60 - 70 °C. Semua isomer heksana umumnya digunakan sebagai pelarut organik inert karena bersifat nonpolar. Banyak digunakan untuk mengekstrak minyak dari biji, misalnya kenari dan biji rami. Rentang kondisi distilasi sempit, sehingga tidak diperlukan suhu dan energi yang tinggi untuk proses ekstraksi minyak. Dalam industri, heksana digunakan dalam formulasi lem sepatu, produk kulit, dan atap, serta untuk pembersihan. N-heksana juga digunakan sebagai agen pembersih untuk tekstil, furnitur, sepatu, dan produk cetakan (Utomo, 2016).

5) .Etil Asetat

Etil asetat merupakan pelarut yang bersifat polar yang umumnya tidak berbahaya dan tidak mengasimilasi atom air dari lingkungannya baik melalui retensi atau adsorpsi. Etil asetat berbentuk cairan bening tidak berwarna pada suhu kamar, dengan bau khas buah, larut dalam 15 bagian air dicampur dengan etanol dan eter. Senyawa yang dapat larut dalam pelarut ini adalah alkaloid. Etil asetat juga dapat menarik senyawa fenolik seperti: fenol, asam fenolat, fenil propanoid dan antrakuinon (Fitri dkk, 2022).

6) Kloroform

Kloroform adalah senyawa haloform dengan rumus kimia CHCl_3 , berupa cairan yang mudah menguap, sukar terbakar (tetapi uapnya mudah terbakar), Kloroform termasuk ke dalam pelarut semipolar yang memiliki nilai indeks bias 1,45 dan merupakan

pelarut yang efektif untuk senyawa organik. Kloroform mudah larut dalam alkohol dan eter. Sifat kloroform inilah yang menjadi dasar digunakannya kloroform sebagai pelarut untuk ekstraksi cair-cair (Mariana, 2018).

7) Petroleum Eter

Petroleum eter merupakan pelarut non polar campuran hidrokarbon air bersifat mudah menguap yang mampu melarutkan senyawa-senyawa yang tak larut air seperti lipida, klorofil, dan karotenoid (Sambada & Prasetyadi, 2014).

6. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan metode yang digunakan untuk mempelajari komponen senyawa aktif yang terdapat pada sampel, yaitu mengenai struktur kimianya, biosintesisnya, penyebarannya secara alamiah dan fungsi biologisnya, isolasi dan perbandingan komposisi senyawa kimia dari bermacam-macam jenis tanaman. Letak geografis, suhu, iklim dan kesuburan tanah suatu wilayah sangat menentukan kandungan senyawa kimia dalam suatu tanaman. Sampel tanaman yang digunakan dalam uji fitokimia dapat berupa daun, batangbuah, bunga dan akarnya yang memiliki khasiat sebagai obat dan digunakan sebagai bahan mentah dalam pembuatan obat modern maupun obat-obatan tradisional (Safutri dkk, 2022).

a. Uji Tabung

Uji tabung merupakan tahap pendahuluan dalam suatu penelitian yang bertujuan memberi gambaran tentang golongan senyawa yang terkandung dalam tanaman yang diteliti. Metode yang dilakukan dengan

melihat reaksi pengujian warna dengan menggunakan suatu pereaksi warna (Dewi, 2013).

b. Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

KLT merupakan metode pemisahan komponen kimia berdasarkan absorpsi dan partisi, yang ditentukan oleh fase diam (adsorben) dan fase gerak (eluen). Komponen kimia akan naik mengikuti fase gerak akibat daya adsorpsi dari fase diam (adsorben) kemampuan menyerap dari fase diam terhadap masing-masing komponen kimia berbeda-beda tergantung tingkat kepolarannya sehingga dengan adanya perbedaan daya serap ini, akan terjadi pemisahan dari masing-masing komponen (Romsiah & Utami, 2018).

Komponen senyawa yang dipisahkan akan dibawa oleh fase gerak dan bergerak melalui fase diam karena pengaruh gaya berat atau lainnya. Komponen dari senyawa akan melewati fase diam dengan tingkatan yang berbeda sehingga memiliki faktor retensi yang berbeda juga. Fase diam berupa lapisan tipis yang terdiri dari bahan padat yang dilapiskan pada permukaan penyangga datar dengan bantuan bahan pengikat. Beberapa bahan yang digunakan sebagai fase diam dalam KLT diantaranya silika gel, alumina, dan selulosa. Sebelum digunakan, plat KLT sebaiknya diaktifkan terlebih dahulu dengan pemanasan pada suhu 110°C selama 30 menit. Sedangkan fase gerak merupakan salah satu bagian penting dalam analisis pemisahan senyawa menggunakan KLT karena polaritas dari fase gerak dapat menentukan pemisahan (Husa & Mita, 2020).

Prinsip kerja KLT yaitu adsorpsi, desorpsi, dan elusi. Adsorpsi terjadi ketika larutan sampel ditotolkan ke fase diam (plat KLT)

menggunakan pipa kapiler, komponen– komponen dalam sampel akan teradsorbsi di dalam fase diam. Desorbsi adalah peristiwa ketika komponen yang teradsorbsi di fase diam didesak oleh fase gerak (eluen), terjadi persaingan antara eluen dan komponen untuk berikatan dengan fase diam. Elusi adalah peristiwa ketika komponen ikut terbawa oleh eluen (Kamar dkk, 2021).

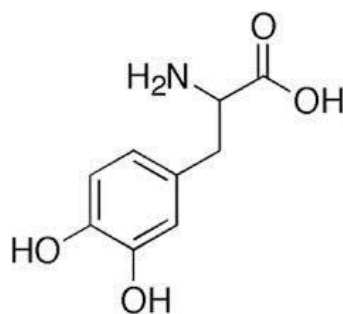
KLT dapat digunakan untuk mengidentifikasi senyawa yang terdapat dalam campuran secara kualitatif, yaitu dengan membandingkan Rf baku pembanding dengan Rf sampel. Selain itu, KLT merupakan teknik analisis yang sederhana, hemat biaya, mudah dilakukan, dan hanya dibutuhkan sedikit cuplikan sampel untuk analisisnya (Kamar dkk, 2021).

c. Senyawa Metabolit Sekunder

1) Alkaloid

Alkaloid adalah senyawa metabolit sekunder terbanyak yang memiliki atom nitrogen, yang ditemukan dalam jaringan tumbuhan. Alkaloid berperan dalam metabolisme dan mengendalikan perkembangan dalam sistem kehidupan tumbuhan. Sebagian besar senyawa alkaloid bersumber dari tumbuh-tumbuhan, terutama angiospermae. Alkaloid dapat ditemukan pada berbagai bagian tanaman, seperti bunga, biji, daun, ranting, akar dan kulit batang. Alkaloid mempunyai struktur kimia berupa sistem lingkaran heterosiklis dengan nitrogen sebagai hetero atomnya. Unsur-unsur penyusun alkaloid adalah karbon, hidrogen, nitrogen, dan oksigen. (Maisarah dkk, 2023).

Ciri-ciri alkaloid umumnya berbentuk padat (kristal), meskipun dalam suhu kamar ada yang cair (misalkan nikotin), memutar bidang polarisasi, terasa pahit, bentuk garam larut dalam air dan larut dalam pelarut organik dalam bentuk bebas atau basanya (Maisarah dkk, 2023). Pengujian alkaloid dapat dilakukan dengan menggunakan 3 pereaksi, yaitu mayer, dragendorff, dan bouchardat. Hasil positif senyawa alkaloid pada pereaksi mayer ditunjukkan dengan terbentuknya endapan putih hingga kekuningan (Sulistyarini dkk, 2020). Alkaloid merupakan senyawa yang memiliki aktivitas antifungi dengan cara menghambat esterase DNA dan RNA *polymerase* (Fatma dkk, 2021). Di dalam senyawa alkaloid terkandung komponen kimia berupa antrakuinon, glikosida dan resin yang mampu menembus dinding sel jamur, sehingga terjadi gangguan pada proses metabolisme didalam sel jamur yang mengakibatkan terganggunya pertumbuhan sel pada konsentrasi tertentu akan berakibat terjadinya kematian pada sel jamur tersebut (Utami dkk, 2022)



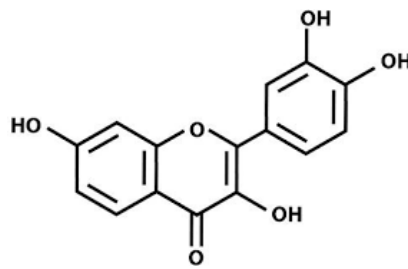
Gambar 3. Struktur Kimia Alkaloid (Endarini, 2016)

2) Flavonoid

Flavonoid adalah golongan terbesar senyawa fenol alam, umumnya terdapat dalam tumbuhan, terikat pada gula sebagai glikosida dan aglikon flavonoid. Dalam tumbuhan, flavonoid mungkin terdapat dalam beberapa kombinasi glikosida. Senyawa flavonoid larut dalam pelarut polar seperti metanol, etanol, etilasetat atau pelarut polar lainnya. Asam fenolik termasuk golongan senyawa fenol yang bersifat polar (Nurhadi dkk, 2020).

Flavonoid termasuk dalam kelompok senyawa fenolik dengan struktur kimia C₆-C₃-C₆. Kerangka flavonoid terdiri dari cincin aromatik A, cincin aromatik B, dan cincin tengah berupa heterosiklik yang mengandung oksigen. Bentuk cincin teroksidasi ini digunakan sebagai dasar untuk mengklasifikasikan flavonoid menjadi subkelompok. Sistem penomoran digunakan untuk membedakan posisi karbon di sekitar molekulnya. Flavonoid merupakan senyawa kimia turunan dari 2-phenyl-benzyl-γ-pyrone dengan biosintesis menggunakan jalur fenilpropanoid (Redha, 2010).

Ada tiga metode yang dapat dilakukan untuk mengetahui ada atau tidak adanya kandungan flavonoid pada suatu ekstrak tanaman, metode tersebut di antaranya adalah Uji *Wilstatter*, Uji *Bate Smith-Matcalfe*, dan Uji dengan NaOH 10% (Aribowo dkk, 2021). Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri yaitu membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri yang diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Amalia dkk, 2017).



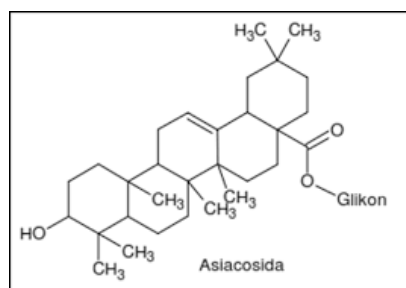
Gambar 4. Struktur Kimia Flavonoid (Gloriana & Siswanto, 2021)

3) Saponin

Saponin merupakan senyawa glikosida kompleks dengan berat molekul tinggi yang dihasilkan terutama oleh tumbuhan, hewan laut tingkat rendah dan beberapa bakteri. Istilah saponin diturunkan dari Bahasa Latin “*sapo*” yang berarti sabun, diambil dari kata *Saponaria vaccaria*, suatu tumbuhan yang mengandung saponin digunakan sebagai sabun untuk mencuci. Struktur kimia saponin merupakan glikosida yang tersusun atas glikon dan aglikon. Bagian glikon terdiri dari gugus gula seperti glukosa, fruktosa, dan jenis gula lainnya. Bagian aglikon merupakan sapogenin. Saponin merupakan senyawa amfifilik. Gugus gula (heksosa) pada saponin dapat larut dalam air tetapi tidak larut dalam alkohol absolut, kloroform, eter dan pelarut organik non polar lainnya. Sedangkan gugus steroid (sapogenin) pada saponin, biasa juga disebut dengan triterpenoid aglikon dapat larut dalam lemak dan dapat membentuk emulsi dengan minyak dan resin (Putri dkk, 2023).

Pengujian identifikasi saponin dilakukan dengan melihat adanya buih yang stabil pada ekstrak sampel tidak kurang dari 10 menit setinggi 1 sampai 10 cm dan dengan penambahan 1 tetes HCl 2 N buih

tidak hilang. Sedangkan uji warna menggunakan pereaksi *Lieberman Burchard* (LB). Jika terbentuk cincin coklat atau violet maka menunjukkan adanya saponin triterpen, sedangkan warna hijau atau biru menunjukkan adanya saponin steroid. Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri yaitu dengan mendanaturasi protein. Karena zat aktif permukaan saponin mirip deterjen maka saponin dapat digunakan sebagai antibakteri dimana tegangan permukaan dinding sel bakteri akan diturunkan dan permeabilitas membran bakteri dirusak (Suleman dkk, 2022).



Gambar 5. Struktur Kimia Saponin
(Chapagain & Wiesman, 2005)

4) Tanin

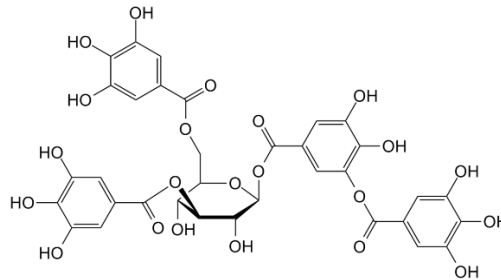
Tanin adalah senyawa polifenol dengan gugus hidroksil yang kompleks dan mempunyai bentuk yang beragam dengan berat molekul tinggi sekitar 500 hingga 20.000 Da. Tanin terdapat pada tanaman dan disintesis oleh tanaman itu sendiri. Struktur tanin terdiri dari cincin benzena (C6) yang terikat pada gugus hidroksil (-OH). Tanin mempunyai fungsi biologis yang kompleks karena dapat mengendapkan protein, gelatin, dan alkaloid. Tanin juga dapat berperan sebagai antioksidan biologis, pengkelat logam dan menangkap radikal bebas. Sifat fisika tanin adalah membentuk koloid

jika dilarutkan dalam air, memiliki bau yang khas, rasa asam dan sepat, berupa serbuk amorf, dan tidak memiliki titik leleh. Sedangkan sifat kimia tanin adalah sulit dipisahkan dan sulit dikristalisasi, larut dalam pelarut organik, dan dapat dihidrolisis oleh asam, basa dan enzim (Hersila dkk, 2023).

Tanin memiliki sifat kelarutan sangat mudah larut dalam air, larut alkohol, larut aseton, larut 1:1 dalam gliserol hangat, praktis tidak larut dalam petroleum, kloroform dan eter (Amelia, 2015). Untuk identifikasi adanya tanin menggunakan larutan uji FeCl_3 , gelatin test, uji penambahan kalium ferisianida dan ammonia, dan uji untuk asam klorogenik. Sedangkan untuk menentukan jenis tanin terkondensasi, terhidrolisis, dan kompleks menggunakan larutan uji FeCl_3 , uji katekin, uji HCl , uji asam asetat ditambah Pb asetat, uji KBr . Jika hasil uji menunjukkan hasil positif pada pengujian tanin terhidrolisis dan terkondensasi, kemungkinan tergolong tanin kompleks. Untuk itu dilakukan uji tambahan dengan menggunakan pereaksi Stiasnya (formaldehid 3%- asam klorida 2:1) dan uji penambahan FeCl_3 pada filtrat hasil refluks. Untuk uji kuantitatif tannin menggunakan metode spektrofotometri dan permanganometri (Ryanata, 2015).

Mekanisme tanin sebagai antibakteri berkaitan dengan inhibisi enzim bakteri, dimana enzim transkriptase dan DNA topoisomerase tidak dapat terbentuk. Selain itu juga tanin memiliki aktivitas antibakteri yang berhubungan dengan menginaktifkan adhesin sel mikroba juga menginaktifkan enzim dan mengganggu transport protein. Untuk memelihara kelangsungan hidupnya, sel mikroba perlu mensintesis

protein yang berlangsung di ribosom, gangguan protein akan berakibat sangat fatal dan anti mikroba dengan mekanisme kerja yang seperti ini memiliki daya anti bakteri yang kuat (Rizky, 2018).



Gambar 6. Struktur Kimia Tanin
(Hidjrawan, 2018)

7. Bakteri *Staphylococcus aureus*

a. Definisi *Staphylococcus aureus*

Bakteri *S.aureus* salah satu bakteri patogen penting yang berkaitan dengan virulensi toksin, invasif, dan ketahanan terhadap antibiotik (Karimela dkk, 2017). *S. aureus* dapat menyebabkan terjadinya berbagai jenis infeksi mulai dari infeksi kulit ringan, keracunan makanan sampai dengan infeksi sistemik. Infeksi yang terjadi misalnya keracunan makanan karena, salah satu jenis faktor virulensi yaitu *Staphylococcus enterotoxin*. Gejala keracunan makanan akibat *S.aureus* adalah kram perut, muntah-muntah yang kadang-kadang diikuti oleh diare (Puspitasari dkk, 2022).

Sebagian bakteri *S.aureus* merupakan flora normal pada kulit, saluran pernafasan, dan saluran pencernaan makanan pada manusia. Bakteri ini juga ditemukan di udara dan lingkungan sekitar (Puspitasari dkk, 2022). *S.aureus* yang patogen bersifat invasi, menyebabkan hemolisis, membentuk koagulase, dan mampu meragikan manitol. *S.aureus* yang terdapat di folikel rambut menyebabkan terjadinya nekrosis pada jaringan

setempat (Ramadhani dkk, 2021). *S.aureus* menyebabkan sindrom infeksi yang luas, mulai dari infeksi kulit ringan, keracunan makanan sampai dengan infeksi sistemik. Infeksi kulit yang biasanya disebabkan oleh *S. aureus* yaitu impetigo, selulitis, folikulitis, dan abses. Infeksi kulit dapat terjadi pada kondisi hangat yang lembab atau saat kulit terbuka akibat penyakit seperti ektrim, luka pembedahan, atau akibat alat intravena. Infeksi *S.aureus* dapat juga berasal dari kontaminasi langsung dari luka, misalnya infeksi pasca operasi *S.aureus* atau infeksi yang menyertai trauma (Rahmi, 2015).

Jika *S.aureus* menyebar dan terjadi bakterimia, maka dapat terjadi endokarditis, osteomielitis hematogen akut, meningitis atau infeksi paru-paru. Setiap jaringan ataupun alat tubuh dapat diinfeksi oleh bakteri *S.aureus* dan menyebabkan timbulnya penyakit dengan tanda-tanda yang khas, yaitu peradangan, nekrosis dan pembentukan abses. *S.aureus* merupakan bakteri kedua terbesar penyebab peradangan pada rongga mulut setelah bakteri *Streptococcus alpha*. *S.aureus* menyebabkan berbagai jenis peradangan pada rongga mulut seperti parotitis, selulitis, angular cheilitis, dan abses periodontal (Hidayatullah & Mourisa, 2023).



Gambar 7. Bakteri *Staphylococcus aureus*
(Rahmi, 2015)

b. Klasifikasi *Staphylococcus aureus*

Klasifikasi *S.aureus* menurut Tammi (2015) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Firmicutes
Class	: Bacili
Orde	: Bacillales
Family	: Staphylococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>

c. Morfologi *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus adalah bakteri Gram-positif yang memiliki morfologi karakteristik. Secara morfologi, *Staphylococcus aureus* adalah bakteri kokus, yang berarti mereka memiliki bentuk bulat atau bulat telur. Mereka biasanya memiliki diameter sekitar 0,5 hingga 1,5 mikrometer. Salah satu ciri khas *S.aureus* adalah pengelompokan mereka dalam gumpalan seperti anggur, fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, dan tidak bergerak. Bakteri *S.aureus* tumbuh pada suhu optimum 37°C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25°C) (Keliat dkk, 2019). Ketika tumbuh, bakteri ini cenderung membentuk kelompok-kelompok yang padat dan berjejer secara acak. Setiap gumpalan tersebut terdiri dari banyak sel bakteri individu yang saling berdekatan. Selain itu, *S.aureus* juga memiliki dinding sel yang tebal. Dinding sel ini terdiri dari lapisan makromolekul peptidoglikan yang tebal dan membran sel selapis yang tersusun oleh protein dan lipid dan asamteichoic. Asam teichoic

berfungsi untuk mengatur fungsi elastisitas, porositas, kekuatan tarik dan sifat elektrostatis dinding sel (Lisa dkk., 2022).

Dalam kondisi pertumbuhan optimal, *S.aureus* dapat membentuk koloni pada perbenihan padat berwarna abu-abu sampai kuning keemasan, berbentuk bundar, halus, menonjol, dan berkilau. Lebih dari 90% isolat klinik menghasilkan *S. aureus* yang mempunyai kapsul polisakarida atau selaput tipis yang berperan dalam virulensi bakteri. *S.aureus* merupakan bakteri koagulase positif, dan memfermentasi mannitol, hal ini yang membedakan *S.aureus* dengan spesies *Staphylococcus* lainnya. Koloni *Staphylococcus* pada medium padat berbentuk halus, bulat, meninggi, dan berkilau (Dewi, 2013).

8. Media

a. Definisi Media

Media adalah bahan yang terdiri dari campuran nutrisi/zat makanan yang digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme. Sebelum menambahkan mikroorganisme, terlebih dahulu harus memahami kebutuhan dasarnya, kemudian mencari lingkungan bagi mikroorganisme yang harus seimbang agar dapat tumbuh sebaik mungkin. Hal ini perlu dikemukakan karena banyak senyawa yang menjadi inhibitor atau racun bagi mikroba jika kadarnya terlalu tinggi. Media yang digunakan untuk kultur mengandung cukup nutrisi bagi bakteri untuk tumbuh. Media kultur ada yang berbentuk padat dan ada pula yang berbentuk cair. Media padat biasanya berupa media agar yang terdapat dalam cawan petri atau tabung reaksi. Media cair yang disebut broth biasanya disimpan dalam tabung reaksi atau botol khusus (Atmanto dkk, 2022).

b. Syarat-syarat Media

Atlas (2013) menyatakan syarat-syarat yang harus dipenuhi oleh suatu media adalah:

- 1) Susunan makanan. Dalam media yang digunakan harus mengandung air, sumber karbon, sumber nitrogen, mineral, vitamin dan gas
- 2) Tekanan osmosis. Bakteri membutuhkan media yang isotonis untuk pertumbuhannya Karena bakteri memiliki sifat sama seperti sifat-sifat sel yang lain terhadap tekanan osmose. Bila media tersebut hipotonis maka akan terjadi plasmoptysis, sedangkan bila media tersebut hipertonis maka akan terjadi plasmolysis.
- 3) Derajat keasaman. Pada umumnya pH suatu media memiliki pH netral. Namun ada bakteri tertentu yang membutuhkan pH yang alkalis untuk pertumbuhan optimum.
- 4) Suhu. Bakteri membutuhkan suhu yang tepat untuk mendapatkan pertumbuhan optimum. Misalnya bakteri patogen membutuhkan temperature 37°C sesuai temperatur badan.
- 5) Steril. Media yang steril merupakan syarat yang sangat penting. Tidak mungkin melakukan pemeriksaan mikrobiologi apabila media yang digunakan tidak steril.

c. Klasifikasi Media

Menurut Atlas (2013) klasifikasi media:

1) Media Sintetik

Media yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri kemoheterotrof. Pada uji kadar vitamin secara mikrobiologis media

yang digunakan harus mengandung semua faktor pertumbuhan yang dibutuhkan oleh bakteri kecuali vitamin yang diuji. Media, bahan media, dan bakteri yang kemudian disatukan, lalu bakteri diamati. Pertumbuhan bakteri yang sebanding dengan kadar asam laktat yang dihasilkan bakteri akan sebanding dengan jumlah vitamin dalam bahan uji. Contoh: plate count agar.

2) Media Komplek

Media ini mengandung nutrisi tinggi, yang terdiri atas ekstrak ragi, ekstrak daging, tumbuhan, ataupun protein dari sumber lain. Vitamin, mineral, dan bahan organik diperoleh dari ekstrak daging maupun ragi yang merupakan sumber nutrisi untuk pertumbuhan bakteri.

3) Media Biakan Khusus

Media ini digunakan untuk menentukan tipe pertumbuhan mikroba dan kemampuannya untuk mengadakan perubahan kimia tertentu. Bakteri aerob membutuhkan O_2 dengan konsentrasi lebih tinggi ataupun lebih rendah dari pada konsentrasi CO_2 di udara.

4) Media selektif dan diferensial

Media selektif dan diferensial digunakan untuk mendeteksi ada tidaknya bakteri spesifik yang berhubungan dengan penyakit atau sanitasi yang buruk. Media selektif digunakan untuk menekan pertumbuhan bakteri yang tidak diinginkan, contoh Bismuth Sulfite Agar digunakan untuk mengisolasi bakteri *Salmonella thypi* pada tinja. Media diferensial memudahkan perbedaan koloni bakteri yang diinginkan dari koloni lain yang tumbuh pada lempeng media yang sama.

d. Macam Media Pertumbuhan

1) Medium *Nutrient Agar* (NA)

Media NA adalah media dengan bentuk serbuk putih kekuningan dan apabila setelah digunakan akan berbentuk padat karena mengandung agar. Pada media ini mengandung protein serta karbohidrat yang didapatkan pada ekstrak daging dan pepton sesuai kebutuhan sebagian besar bakteri (Nurhidayanti, 2022).

2) Medium *Nutrient Broth* (NB)

Nutrient Broth (NB) termasuk ke dalam media umum yang digunakan untuk menumbuhkan biakan secara general. NB diformulasikan dengan sumber karbon dan nitrogen supaya dapat memenuhi kebutuhan nutrisi bakteri. Komposisi NB terdiri dari beef extract sebagai sumber karbon dan pepton sebagai sumber nitrogen (Wahyuningsih & Zulaika, 2019).

3) Medium Mueller Hinton Agar (MHA)

MHA merupakan media pertumbuhan dan sebagai sumber nutrisi bagi pertumbuhan bakteri aerob maupun anaerob, dan media terbaik untuk pemeriksaan sensibilitas tes khususnya pada metode difusi Kirby-Bauer. MHA mengandung sulfoamida, trimethoprim, dan inhibitor tetrasiklin yang rendah, sehingga mendukung pertumbuhan bakteri non-fastidious yang bersifat patogen (Rahman dkk, 2022)

9. Antibiotik

Antibiotik ialah zat yang dihasilkan oleh suatu mikroba, terutama fungi, yang dapat menghambat atau dapat membasmi mikroba jenis lain. Antibiotik digunakan untuk mengobati berbagai jenis infeksi akibat kuman

atau juga untuk prevensi infeksi, misalnya pada pembedahan besar (Fauziah, 2016). Antibiotik digunakan untuk mengatasi infeksi bakteri yang bersifat bakterisid (membunuh bakteri), contohnya penisilin, sefalosporin, streptomisin, neomisin, kanamisin, gentamisin dan basitrasin, juga bersifat bakteriostatik (mencegah berkembangbiaknya bakteri), contohnya sulfonamid, trimetoprim, kloramfenikol, tetrasiklin, linkomisin dan klindamisin.

Berdasarkan spektrum kerjanya, antibiotik terbagi atas dua kelompok besar, yaitu :

a. Antibiotik spektrum luas (*Broad Spectrum*)

Bekerja terhadap lebih banyak bakteri, baik gram negatif maupun gram positif serta jamur. Contohnya: tetrasiklin dan kloramfenikol.

b. Antibiotik spektrum sempit (*Narrow Spectrum*)

Bekerja terhadap beberapa jenis bakteri saja. Contohnya: penisilin hanya bekerja terhadap bakteri gram positif dan gentamisin hanya bekerja terhadap bakteri gram negatif.

10. Kloramfenikol

Kloramfenikol merupakan antibiotik yang efektif baik pada bakteri gram positif ataupun bakteri gram negatif. Kloramfenikol memiliki aktivitas bakteriostatik dan bakterisidal pada dosis tinggi (Oktaviani dkk, 2022). Mekanisme kerja kloramfenikol yaitu menghambat enzim peptidil transferase yang berperan dalam pembentukan ikatan-ikatan peptida dalam proses sintesis protein bakteri. Pembentukan ikatan peptide akan terus dihambat selama obat tetap terikat pada ribosom.

Antibiotik kloramfenikol sebagai alternatif pada infeksi berat mikroorganisme yang penyebabnya masih suseptibel dengan obat ini, atau apabila pengobatan dengan antimikroba lain yang lebih tidak toksik tidak tersedia atau tidak dapat diberikan. Antibiotik ini diindikasikan pada pasien dengan demam tifoid, infeksi berat lain terutama yang disebabkan oleh *Haemophilus influenzae*, abses serebral, mastoiditis, ganggren, septikemia, pengobatan empiris pada meningitis (Jamilah, 2015).

11. Uji Antibakteri

Antibakteri merupakan zat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan dapat membunuh bakteri patogen. Antibakteri dibedakan menjadi dua yaitu bakteristatik yang menekan pertumbuhan bakteri dan bakterisidal yang dapat membunuh bakteri (Magani dkk, 2020).

Uji aktivitas antibakteri suatu zat digunakan untuk mengetahui kemampuan zat tersebut dalam membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri uji. Uji antibakteri dapat menggunakan dua metode yaitu metode difusi dan metode dilusi (Prisnanda & Wulandari, 2022). Metode pengujian daya antimikroba bertujuan untuk menentukan konsentrasi suatu zat antimikroba sehingga memperoleh suatu sistem pengobatan yang efektif dan efisien (Soleha, 2015). Berikut macam-macam pengujian antibakteri :

a. Metode Difusi

1) Cara Cakram (*Disc Diffusion Methods*)

Metode cakram bertujuan untuk mengetahui aktivitas antimikroba. Metode ini dilakukan dengan menempatkan cakram yang berisi zat antibakteri untuk berdifusi ke dalam media agar. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 hingga 24 jam. Daerah bening di sekitar cakram menunjukkan adanya hambatan pertumbuhan mikroba oleh agen antibakteri (Intan dkk, 2021).

2) Cara Sumur (*Cup Plate Technique*)

Metode difusi sumuran merupakan metode uji antibakteri dengan membuat lubang pada media padat yang telah diinokulasi bakteri, setiap lubang diisi dengan masing – masing konsentrasi ekstrak. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 hingga 24 jam. Adanya zona bening di sekitar celah menunjukkan terhambatnya pertumbuhan mikroba oleh agen antibakteri (Nofita dkk, 2021).

b. Metode Dilusi

1) Dilusi Cair (*Broth Dilution Test*)

Metode dilusi merupakan salah satu metode yang digunakan untuk mengetahui efektivitas senyawa terhadap aktifitas suatu mikroorganisme. Parameter yang digunakan yaitu nilai Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM) (Sari dkk, 2022). Penerapan metode ini dengan pembuatan serangkaian

pengenceran zat antibakteri dalam media cair yang ditambahkan bakteri yang akan diuji. KHM dapat ditentukan dari konsentrasi terendah agen antibakteri yang tampak tanpa adanya pertumbuhan bakteri yang diuji (Fitriana dkk, 2020).

2) Metode Dilusi Padat (*Solid Dilution test*)

Metode ini hampir sama dengan Metode dilusi cair, bedanya metode ini menggunakan media padat. Keuntungan metode ini adalah dapat menguji beberapa bakteri uji menggunakan satu konsentrasi agen antibakteri (Sholehah dkk, 2016).

B. Landasan Teori

Kopi robusta memiliki kandungan metabolit sekunder alkaloid, tannin, saponin dan flavonoid. Senyawa fenolik mengandung suatu asam klorogenik yang mampu mencegah pertumbuhan bakteri gram positif dan negative. Pada penelitian Nurhayanti dkk (2023) menunjukkan bahwa ekstrak biji hijau kopi robusta paling efektif terhadap *Staphylococcus aureus* terdapat pada konsentrasi 50% yaitu dengan lebar daya hambat sebesar $33,1 \pm 0,05$ mm.

Biji kopi robusta menunjukkan adanya aktivitas antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Biji kopi robusta yang di sangrai masih terkandung senyawa termolabil seperti asam klorogenat dan trigonelin yang bertanggung terhadap aktivitas antibakteri. Pada penelitian Rubinadzari dkk (2022) menghasilkan ekstrak biji sangrai kopi robusta pada konsentrasi 25% dan 50% menunjukkan

aktivitas antibakteri dengan kategori lemah dengan rata-rata zona hambat $1,64 \pm 0,56$ mm dan $4,28 \pm 0,62$ mm. Sedangkan pada konsentrasi 100% menunjukkan aktivitas antibakteri dengan kategori kuat dengan rata-rata zona hambat sebesar $10,32 \pm 0,28$ mm.

Bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) merupakan salah satu dari tanaman yang dapat berkhasiat sebagai antibakteri karena pada bunga telang mengandung metabolit sekunder flavonoid dan alkaloid yang dapat berpotensi sebagai antibakteri. Berdasarkan penelitian Pertiwi (2022) aktivitas antibakteri ekstrak etanol bunga telang terhadap bakteri *Staphylococcus epidermis* pada konsentrasi 10% dan 15% masuk dalam kategori lemah dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 2,31 mm dan 3,05 mm, sedangkan pada konsentrasi 20% masuk dalam kategori sedang dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 6,2 mm.

C. Hipotesis

1. Kombinasi ekstrak etanol kopi robusta (*Coffea canephora*) dan bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*
2. Terdapat pengaruh konsentrasi kombinasi ekstrak etanol kopi robusta (*Coffea canephora*) dan bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) terhadap aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus*

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fitokimia dan Mikrobiologi Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Nusaputera dan determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi Universitas Negeri Semarang. Waktu penelitian dimulai dari bulan Januari sampai Maret tahun 2024.

B. Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental untuk mengetahui aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol kopi robusta (*Coffea canephora*) dan bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Dengan cara biji kopi robusta dan bunga telang diekstraksi menggunakan metode maserasi selama 3 x 24 jam, setelah itu filtrat diuapkan menggunakan *Waterbath* suhu 70°C kemudian dilanjutkan uji skrining fitokimia dan KLT. Metode pengujian aktivitas antibakteri menggunakan difusi cakram dan diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C. Aktivitas antibakteri diamati dengan mengukur zona hambat yang terbentuk di sekitar kertas cakram menggunakan jangka sorong.

C. Populasi, Sampel, dan Teknik Sampling

1. Populasi

Populasi dari penelitian ini adalah tanaman kopi robusta (*Coffea canephora*) yang diperoleh dari Wonosobo, Jawa Tengah dan tanaman telang (*Clitoria ternatea L.*) yang diperoleh dari Bantul, Yogyakarta.

2. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji kopi robusta yang masih *green bean* dan bunga telang yang berwarna ungu kebiruan.

3. Teknik Sampling

Teknik sampling yang digunakan dalam penelitian ini adalah teknik purposive random sampling yakni pengambilan sampel secara acak dimana semua populasi berkesempatan sama untuk menjadi sampel

D. Identifikasi Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas merupakan variabel yang mempengaruhi atau menjadi sebab perubahannya atau timbulnya variabel dependen (terikat) (Minarsih, 2019). Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi kombinasi ekstrak etanol kopi robusta dan bunga telang dengan variasi 25%:75% ; 50%:50% ; 75%:25%.

2. Variabel Terikat

Variabel terikat merupakan variabel yang dipengaruhi atau yang menjadi akibat, karena adanya variabel bebas (Minarsih, 2019). Variabel terikat

dalam penelitian ini adalah daya aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol kopi robusta dan bunga telang terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yang ditunjukkan dengan adanya diameter zona bening.

3. Variabel Terkontrol

Variabel kontrol adalah variabel yang dikendalikan atau dibuat konstan sehingga pengaruh variabel independen terhadap dependen tidak dipengaruhi oleh faktor luar yang tidak diteliti (Adam, 2017). Variable terkontrol yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

1. Media yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri adalah NA (*Nutrient Agar*).
2. Media yang digunakan untuk pembuatan suspensi bakteri adalah NB (*Nutrient Broth*).
3. Proses maserasi menggunakan pelarut etanol 96% selama 3x24 jam.
4. Waktu inkubasi 1x24 jam pada suhu inkubasi 37°C.
5. Metode yang digunakan adalah metode difusi cakram.
6. Bakteri yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus* dengan absorbansi yang disetarakan dengan larutan standar Mc. Farland.
7. Penanaman bakteri menggunakan metode *spread plate*.
8. Skrining fitokimia serbuk dan ekstrak kopi robusta dan ekstrak bunga telang serta uji pereaksi warna dan uji penegasan dengan KLT.

E. Definisi Operasional Penelitian

1. Biji kopi robusta (*Coffea canephora*) yang digunakan masih dalam kondisi green bean dan diperoleh dari daerah Wonosobo, Jawa Tengah.

2. Bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) yang digunakan berwarna ungu kebiruan dan diperoleh dari daerah Bantul, Yogyakarta.
3. EKR atau Ekstrak kopi robusta (*Coffea canephora*) adalah sari-sari tumbuhan biji kopi robusta yang telah dipisahkan dari ampasnya.
4. EBT atau Ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) adalah sari-sari tumbuhan bunga telang yang telah dipisahkan dari ampasnya.
5. Kombinasi ekstrak biji kopi robusta dengan ekstrak bunga telang adalah penggabungan kedua ekstrak dengan konsentrasi tertentu.
6. Konsentrasi ekstrak biji kopi robusta dan ekstrak bunga telang adalah banyaknya ekstrak dalam suatu larutan.
7. Maserasi adalah metode ekstraksi dengan proses perendaman bahan dengan pelarut yang sesuai dengan senyawa aktif yang akan diambil dengan pemanasan rendah.
8. Media NA (*Nutrient Agar*). merupakan media berwarna coklat yang memiliki konsistensi yang padat. Media NA berasal dari sintetik dan memiliki kegunaan sebagai media untuk menumbuhkan bakteri.
9. Metode difusi cakram adalah kertas saring yang berisi sejumlah konsentrasi ekstrak yang ditempatkan pada permukaan medium padat, medium sebelum diolesi bakteri uji. Diameter zona hambat sekitar cakram yang digunakan untuk mengukur kekuatan hambat obat dan konsentrasi ekstrak.
10. Pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* adalah koloni bakteri yang setelah diinkubasi. Pertumbuhan bakteri diukur dengan melihat kekeruhan sudah sesuai dengan larutan Mc. Farland kemudian diinkubasi selama 1x24 jam dengan suhu 37°C.

11. Diameter zona hambat adalah diameter lingkaran jernih yang terbentuk di sekitar kertas cakram dan terjadi karena adanya aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Diameter diukur dalam satuan milimeter.
12. Kontrol positif adalah larutan pembanding efek antara obat antibakteri baku dengan larutan ekstrak uji, kontrol positif yang digunakan adalah kloramfenikol, sedangkan kontrol negatif yaitu berfungsi untuk mengetahui pengaruh dari pemberian pelarut terhadap zona hambat yang terbentuk, kontrol negatif yang digunakan adalah *Dimethyl Sufoxide* (DMSO) 10%.

F. Instrumen Penelitian

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah blender (*Cosmos*), coffee grinder, moisture meter (*Ohaus*), beker glass (*Pyrex*), Erlenmeyer (*Pyrex*), neraca analitik (*Mettler Toledo*), tabung reaksi, gelas ukur (*Pyrex*), corong kaca (*Pyrex*), ayakan 44, waterbath, lemari pendingin (*Polytron*), chamber, pipa kapiler, lampu deteksi UV 254 dan 366 nm, alat penyemprot bercak, autoklaf (*All American*), oven (*WTC Binder*), cawan petri, pipet ukur, pipet tetes, mikropipet, jarum ose, bunsen, incubator (*Memmert*), batang pengaduk, lampu spiritus, magnetic stirrer, *Laminar Air Flow* (LAF), jangka sorong.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari biji kopi robusta (*Coffea canephora*) dan bunga telang (*Clitoria ternatea L*), etanol 96%, aquades, asam klorida 2 N, asam klorida pekat, reagen mayer,

reagen bouchardat, reagen dragendorff, serbuk Mg, amil alcohol, n-Heksan, etil asetat, Butanol, asam asetat, toluen, asam sulfat, anisaldehyd, aseton, asam format, silica GF 254 (Merck), disk kloramfenikol, DMSO 10%, NA (*Nutrient Agar*), biakan bakteri *Staphylococcus aureus*, HCL, FeCl₃, NB, McFarland, HCL pekat, *Liebermann-Burchard*.

G. Jalannya Penelitian

1. Determinasi Tanaman

Determinasi kopi robusta dan bunga telang ini bertujuan untuk menetapkan kebenaran sampel yang digunakan untuk penelitian. Determinasi tanaman dilakukan di Universitas Negeri Semarang, Jawa Tengah (UNNES).

2. Pembuatan Simplisia

Tahap awal pembuatan simplisia yaitu biji kopi robusta green bean yang telah dipanen dilakukan sortasi basah untuk memisahkan dari kotoran atau bagian yang tidak digunakan, selanjutnya proses pengeringan dengan cara biji kopi robusta green bean di angin-anginkan pada suhu ruang. Setelah itu biji kopi robusta green bean dihaluskan menggunakan coffe grinder dan diayak menggunakan ayakan ukuran 44. Penyimpanan serbuk simplisia kopi robusta menggunakan wadah tertutup yang terbuat dari kaca supaya kualitas simplisia tetap bagus.

Bunga telang disortasi basah dan dibuang tangkainya dan dicuci bersih menggunakan air mengalir supaya kotoran yang menempel hilang. Selanjutnya bunga telang dikeringkan menggunakan oven pada suhu 42°C, setelah kering simplisia bunga telang di haluskan menggunakan blender dan di ayak menggunakan ayakan nomor 44. Penyimpanan serbuk

simplisia bunga telang menggunakan wadah tertutup rapat yang terbuat dari kaca supaya kualitas simplisia tetap bagus.

a) Pemeriksaan Organoleptis

Pemeriksaan ini meliputi bentuk, warna, bau dan rasa dari serbuk biji kopi robusta dan serbuk bunga telang.

b) Penetapan kadar kelembapan

Susut pengeringan merupakan parameter non-spesifik yang dimaksudkan untuk memberikan batasan (rentang) mengenai jumlah senyawa yang hilang selama proses pengeringan. Parameter penyusutan pengeringan pada dasarnya adalah ukuran jumlah zat yang tersisa setelah pengeringan pada suhu 105°C hingga massa konstan, yang dinyatakan dalam persentase. Simplisia dan ekstrak masing-masing sebanyak 2 g menggunakan pengujian kadar susut pengeringan dengan alat Moisture Balance dengan suhu 105°C selama 3 menit hingga bobot tetap. Nilai susut pengeringan tidak boleh melebihi 10% untuk menentukan susut pengeringan, yang dapat memberikan batas maksimum jumlah senyawa yang hilang selama proses pengeringan (Pambudi dkk, 2023).

3. Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak etanol kopi robusta dan bunga telang menggunakan metode maserasi dengan perbandingan (1:10) masing-masing dimasukkan ke dalam botol maserasi lalu ditambah pelarut etanol 96%. Direndam selama 3 hari sembari sesekali dikocok. Filtrat disaring dan dipisahkan dari ampasnya. Filtrat kemudian diuapkan dengan waterbath suhu 70°C hingga menjadi ekstrak kental. Rendemen

ditimbang dan dicatat. Rumus untuk menghitung rendemen ekstrak yang dihasilkan:

$$\% \text{Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak kental total}}{\text{bobot simplisia}} \times 100\%$$

4. Uji Kandungan Senyawa Kimia dengan Metode Tabung

Uji kandungan senyawa kimia dengan metode tabung meliputi identifikasi alkaloid, flavonoid, saponin dan tannin

a) Uji Senyawa Alkaloid

Sebanyak 0,5 g ekstrak ditambahkan 1 mL asam klorida 2 N dan 9 mL air suling, dipanaskan di atas tangas air selama 2 menit, didinginkan dan disaring. Filtrat yang diperoleh digunakan untuk uji alkaloid. Diambil 3 tabung reaksi, masing-masing dimasukkan 0,5 mL filtrat. Pada masing-masing tabung reaksi ditambahkan 2 tetes pereaksi bouchardat, dan dragendorff. Reagen bouchardat hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan coklat sampai hitam dan reagen dragendroff hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan jingga coklat (Wigati dkk, 2018).

b) Uji Senyawa Flavonoid

Sebanyak 1 gram ekstrak ditambahkan 10 mL air panas, dididihkan selama 5 menit dan disaring dalam keadaan panas. Filtrat yang diperoleh diambil 5 mL lalu ditambahkan sedikit serbuk magnesium dan 1 mL asam klorida pekat, 2 mL amil alkohol, dikocok dan dibiarkan memisah. Bila terbentuk warna kuning, orange atau merah pada lapisan amil alkohol menunjukkan adanya flavonoid (Rubinadzari dkk, 2022).

c) Uji Senyawa Saponin

Sebanyak 0,5 gram ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 10 mL air panas, didinginkan, dikocok selama 10 detik. Jika terbentuk buih selama tidak kurang 10 menit, setinggi 1-10 cm dan tidak hilang jika ditambahkan 1 tetes asam klorida 2 N maka menunjukkan adanya saponin (Rubinadzari dkk, 2022).

d) Uji Senyawa Tanin

Sebanyak 1 gram ekstrak dididihkan dengan 10 ml air suling, selama 3 menit lalu didinginkan dan disaring. Filtrat diencerkan hingga tidak berwarna, ditambahkan 1-2 tetes pereaksi FeCl_3 1%, jika terjadi warna hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin (Wigati dkk, 2018).

5. Uji Kandungan Senyawa Kimia dengan KLT

Uji kandungan senyawa kimia dengan KLT meliputi identifikasi alkaloid, flavonoid, saponin, dan tannin.

a) Uji Senyawa Alkaloid

Lempeng silika gel GF254 disiapkan dengan ukuran Panjang 10 cm dan lebar 3 cm kemudian diaktivasi. ekstrak kental dilarutkan dengan etanol 96% dan ditotolkan pada tepi bawah lempeng kemudian di angin-anginkan. Lempeng dimasukkan dalam chamber yang berisi eluen yaitu campuran N-Heksan : Etil asetat (7:3). Lempeng dibiarkan terelusi hingga eluen merambat sampai tanda garis atas lempeng kemudian dikeluarkan. Lempeng disemprot dengan larutan deteksi yaitu dragendorff kemudian dikeringkan. Pengamatan noda menggunakan lampu UV 254 nm dan 366 nm (Fikayuniar dkk, 2022).

b) Uji Senyawa Flavonoid

Lempeng silika gel GF254 disiapkan dengan ukuran Panjang 10 cm dan lebar 3 cm kemudian diaktivasi. ekstrak kental dilarutkan dengan etanol 96% dan ditotolkan pada tepi bawah lempeng kemudian di angin-anginkan. Lempeng dimasukkan dalam chamber yang berisi eluen yaitu campuran Butanol : Asam asetat : Air (4:1:5). Lempeng dibiarkan terelusi hingga eluen merambat sampai tanda garis atas lempeng kemudian dikeluarkan. Lempeng disemprot dengan larutan deteksi yaitu FeCl_3 kemudian dikeringkan. Pengamatan noda menggunakan lampu UV 254 nm dan 366 nm (Fikayuniar dkk, 2022).

c) Uji Senyawa Saponin

Lempeng silika gel GF254 disiapkan dengan ukuran Panjang 10 cm dan lebar 3 cm kemudian diaktivasi. ekstrak kental dilarutkan dengan etanol 96% dan ditotolkan pada tepi bawah lempeng kemudian di angin-anginkan. Lempeng dimasukkan dalam chamber yang berisi eluen yaitu campuran Toluene : Etil Asetat (7:3). Lempeng dibiarkan terelusi hingga eluen merambat sampai tanda garis atas lempeng kemudian dikeluarkan. Lempeng disemprot dengan larutan deteksi yaitu campuran Anisaldehid : Asam sulfat dengan pemanasan kemudian dikeringkan. Pengamatan noda menggunakan lampu UV 254 nm dan 366 nm (Hanani, 2014).

d) Uji Senyawa Tannin

Lempeng silika gel GF254 disiapkan dengan ukuran Panjang 10 cm dan lebar 3 cm kemudian diaktivasi. ekstrak kental dilarutkan dengan etanol 96% dan ditotolkan pada tepi bawah lempeng kemudian di angin-anginkan. Lempeng dimasukkan dalam chamber yang berisi eluen yaitu

campuran Toluena : Aseton : Asam Format (6:6:1). Lempeng dibiarkan terelusi hingga eluen merambat sampai tanda garis atas lempeng kemudian dikeluarkan. Lempeng disemprot dengan larutan deteksi yaitu FeCl_3 5% kemudian dikeringkan. Pengamatan noda menggunakan lampu UV 254 nm dan 366 nm (Hanani, 2014).

6. Persiapan Alat dan Sterilisasi

Peralatan yang akan digunakan dalam pengujian antibakteri dicuci hingga bersih kemudian dibilas menggunakan alkohol. Peralatan yang telah kering kemudian dibungkus dengan kertas payung dan diikat dengan benang Kasur, peralatan yang telah dibungkus kemudian dilakukan sterilisasi dengan metode sterilisasi basah menggunakan alat autoklaf pada suhu 121°C tekanan 2 atm selama 15 menit bersama dengan media Nutrient Agar dan disimpan di lemari es.

7. Pembuatan Media

a. Media *Nutrient Agar* (NA)

Nutrient Agar (NA) sintetik ditimbang sebanyak 23 gram, kemudian dilarutkan dalam 1 liter aquadest, dan dipanaskan menggunakan *hot plate stirrer* hingga berwarna kuning jernih. *Nutrient agar* disterilisasi dan dituang di dalam cawan petri kemudian dibiarkan memadat. Media NA digunakan untuk proses peremajaan bakteri uji dan uji aktivitas antibakteri (Hudaya dkk, 2014).

8. Uji Aktivitas Antibakteri

a. Pembuatan Suspensi Bakteri *Staphylococcus Aureus*

Bakteri *Staphylococcus aureus* yang akan digunakan untuk pengujian antibakteri dilakukan peremajaan terlebih dahulu pada media

NA. Sebanyak 1 ose biakan murni bakteri *Staphylococcus aureus* diinokulasi pada cawan petri yang sudah berisi media padat NA kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dan siap digunakan untuk pembuatan larutan bakteri uji. Bakteri yang telah diremajakan diambil sebanyak 1 ose dimasukkan ke dalam 10 ml larutan NaCl fisiologis 0,9%, 1 mL suspensi bakteri uji dari tabung pertama diambil dan dimasukkan dalam kedua yang berisi 9 mL aquadest steril. Langkah tersebut dilakukan berulang hingga tabung ketujuh atau sampai kekeruhan sama dengan Mc Farland 0,5% (Yevani dkk, 2023).

b. Pembuatan larutan kontrol

Kontrol positif menggunakan disk kloramfenikol. Larutan control negatif yang digunakan adalah DMSO yang dibuat dengan konsentrasi 10% yaitu melarutkan DMSO sebanyak 10 mL dengan 100 mL aquadest (Fijriati dkk, 2022).

c. Pembuatan Larutan Standar Mc Farland 0,5 %

Pipet larutan H₂SO₄ 1% sebanyak 9,5 ml masukkan pada tabung reaksi. Tambahkan larutan BaCl₂ 1% sebanyak 0,5 ml kedalam tabung yang berisi H₂SO₄ 1%. Setelah itu dihomogenkan dimana suspensi Mc Farland 0,5% adalah suspensi standar yang menunjukkan kekeruhan sama dengan 1,5 x 10⁸ CFU/ml (Toy dkk, 2015).

d. Pembuatan Larutan Uji Kombinasi Ekstrak Kopi Robusta dengan Ekstrak Bunga telang

Pembuatan larutan induk yaitu 25 gram ekstrak kopi robusta dan 25 gram ekstrak bunga telang ad 25 ml DMSO 10%. Setiap konsentrasi kombinasi ekstrak dibuat 5 ml.

Tabel 2. Pembuatan Konsentrasi Ekstrak

No	Kombinasi Ekstrak	Ekstrak Kopi Robusta 100% (ml)	Ekstrak Bunga Telang 100% (ml)	Perbandingan Kombinasi Ekstrak
1	Ekstrak 1	3,75	1,25	75 : 25
2	Ekstrak 2	2,5	2,5	50 : 50
3	Ekstrak 3	1,25	3,75	25 : 75

e. Pengujian Aktivitas Antibakteri Metode Cakram

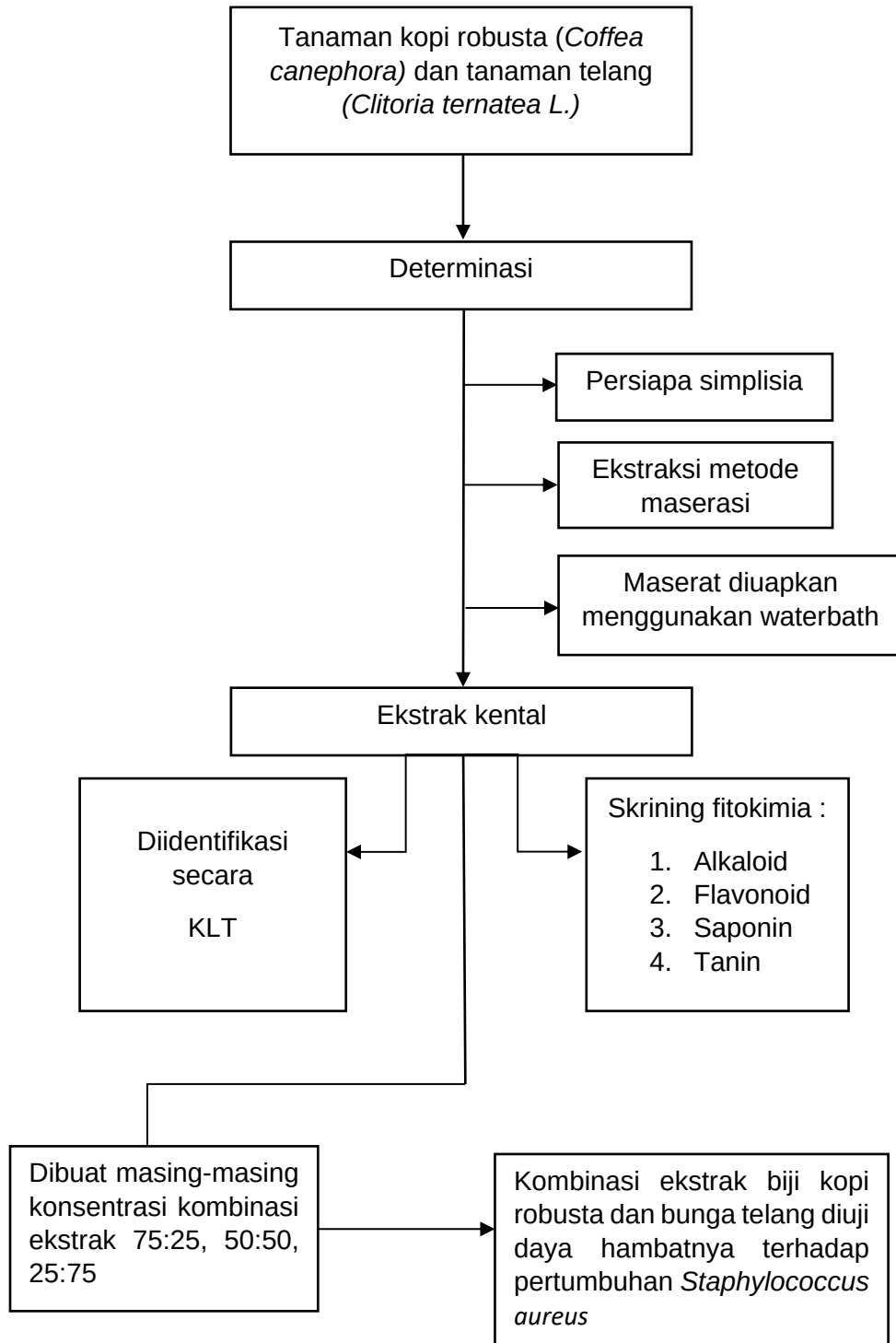
Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram. Diambil kultur bakteri *Staphylococcus aureus* dari suspensi bakteri. Selanjutnya ditanam menggunakan metode *spread plate* dengan mengambil 0,1 ml suspensi bakteri dengan mikropipet kemudian ditetaskan pada permukaan agar yang telah memadat. Trigalski kemudian dibakar dengan api bunsen dan didinginkan selama beberapa detik. Suspensi kemudian diratakan dengan cara digosokkan pada permukaan agar, penyebaran akan lebih efektif bila cawan ikut diputar mengikuti pola angka delapan. Setelah itu dipipet 50 µl larutan kombinasi ekstrak etanol kopi robusta (*Coffea canephora*) dan bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) sesuai dengan konsentrasi yang ditentukan, kemudian direndam pada kertas cakram yang telah disterilkan dan diamkan pada suhu kamar selama 30 menit. Kertas cakram yang telah dijenuhkan dari semua konsentrasi kemudian diletakan diatas media, sebagi pembanding diletakan pula disk antibiotik kloramfenikol sebagai kontrol positif dan sebagai kontrol negatif diletakan kertas cakram yang telah ditetesi DMSO 10%. Replikasi dilakukan sebanyak tiga kali, masa inkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C. Aktivitas antibakteri diamati dengan mengukur diameter hambat yang ditunjukan dengan daerah bening di sekeliling kertas cakram menggunakan jangka sorong.

H. Analisis Data

Data yang diperoleh dari data penelitian di analisa secara kuantitatif menggunakan statistika SPSS dengan taraf kepercayaan 95%. Data hasil pengamatan dihitung menggunakan perangkat lunak SPSS. Data yang terdistribusi normal dan homogen dilakukan uji *One Way* Anova kemudian dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* untuk melihat perbandingan daya hambat bakteri yang dihasilkan. Jika data tidak terdistribusi normal dan homogen maka dilakukan uji *Kruskal Wallis*.

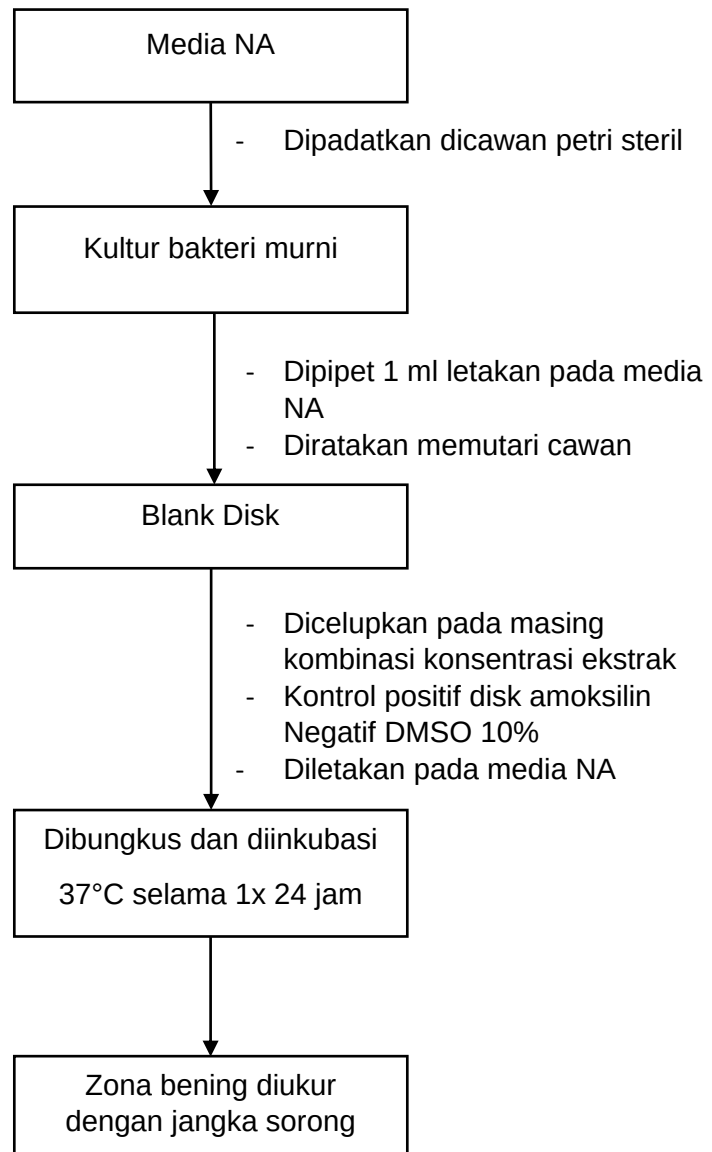
I. Skema Kerja

a. Pembuatan Ekstrak



Gambar 8. Pembuatan Ekstrak

b. Uji Aktivitas Antibakteri



Gambar 9. Uji Aktivitas Antibakteri

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Determinasi Tanaman

Determinasi kopi robusta dan bunga telang dilakukan di Laboratorium Biologi Universitas Negeri Semarang (UNNES). Proses determinasi bertujuan untuk memastikan bahwa bahan yang digunakan berasal dari tanaman kopi robusta dan telang. Hasil determinasi simplisia menunjukkan bahwa bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kopi robusta (*Coffea canephora*) keluarga dari *Rubiaceae* (kopi-kopian), dan juga bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) keluarga dari *Fabacea* (polong-polongan). Hasil dapat dilihat pada lampiran 1.

B. Pengumpulan dan Pembuatan Serbuk Kopi Robusta dan Bunga Telang

Tanaman Kopi robusta diperoleh dari daerah Wonosobo, Jawa Tengah dan tanaman bunga telang diperoleh dari daerah Bantul, Yogyakarta. Kopi robusta yang digunakan yaitu biji kopi robusta yang masih *green bean*, karena untuk mempertahankan komposisi senyawa bioaktif yang bertanggung jawab sebagai antibakteri agar senyawa tidak mengalami degradasi sehingga kadarnya lebih banyak daripada kopi robusta yang sudah dipanggang, dan bunga telang yang berwarna ungu kebiruan karena mengandung pigmen antosianin yang juga berguna sebagai antibakteri.. Biji kopi robusta dan bunga telang yang telah diambil kemudian dilakukan pencucian dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang ada pada biji kopi robusta dan bunga telang. Selanjutnya ditiriskan dan dikeringkan, untuk kopi robusta dikeringkan dengan diangin-

anginkan pada suhu ruang sedangkan bunga telang di keringkan dengan oven pada suhu 45° C. Pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air yang terkandung dalam tanaman juga mencegah terjadinya kerusakan simplisia oleh kapang, bakteri dan mikroorganisme lainnya. Kopi robusta dan bunga telang yang sudah kering kemudian di haluskan tujuannya yaitu untuk memperbesar luas permukaan saat proses ekstraksi, sehingga semakin banyak pula komponen yang terdapat didalam simplisia yang dapat ditarik oleh pelarut. Kopi robusta dihaluskan menggunakan *coffee grinder* dan diayak menggunakan ayakan ukuran 44, sedangkan bunga telang kering dihaluskan menggunakan blender dan di ayak menggunakan ayakan ukuran 44, tujuan pengayakan yaitu untuk menyeragamkan ukuran serbuk simplisia. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan organoleptis dan penetapan kadar kelembapan serbuk kopi robusta dan bunga telang.

C. Pemeriksaan Organoleptis Serbuk Kopi Robusta dan Bunga Telang.

Tabel 3. Pemeriksaan Organoleptis Kopi Robusta dan Bunga Telang

Organoleptis	Hasil	
	Serbuk kopi robusta	Serbuk bunga telang
Bentuk	Serbuk	Serbuk
Warna	Hijau kecoklatan	Biru gelap
Bau	Khas aromatik	Khas aromatik
Rasa	Pahit	Pahit

Uji Organoleptis dilakukan untuk mengetahui kebenaran simplisia menggunakan panca indra dengan mendiskripsikan bentuk, bau, warna dan rasa. Bentuk diamati dengan penglihatan dan bahan uji di atas dasar yang berwarna putih, dilihat warna dan bentuk. Bau diamati dengan penciuman pada bahan uji. Rasa diamati dengan meletakkan bahan uji pada lidah dan dikecap (Zulharmita dkk., 2013). Berdasarkan hasil yang diperoleh yaitu serbuk kopi robusta memiliki bentuk serbuk berwarna hijau

kecoklatan, bau khas aromatik, rasa pahit. Rasa pahit pada ekstrak kopi disebabkan oleh kandungan mineral bersama dengan pecahan serat kasar, asam klorogenat, kafein, tanin, dan beberapa senyawa organik dan anorganik lainnya (Adawiyah dkk, 2023). Untuk serbuk bunga telang memiliki bentuk serbuk, warna biru gelap, bau kas aromatik dan rasa pahit. Warna biru yang dihasilkan pada ekstrak bunga telang berasal dari pigmen antosianin. Antosianin merupakan pigmen alami yang termasuk golongan flavonoid. Rasa pahit yang dihasilkan pada teh bunga telang dapat berasal dari senyawa fenolik dan flavonoid yang terkandung dalam bunga telang (Yuliasari dkk, 2023).

D. Penetapan Kadar Air Serbuk Kopi Robusta dan Bunga Telang

Tabel 4. Uji Kadar Kelembapan Serbuk Kopi Robusta dan Bunga Telang

Simplisia	Berat awal (g)	Susut kering (%)
Serbuk kopi robusta	2	7,971
Serbuk bunga telang	2	3,423

Penetapan penyusutan kering serbuk daun kencur menggunakan alat moisture balance, prinsip kerjanya berdasarkan thermogravimetri atau *Loss on Drying* (LOD) dimana sampel ditimbang menggunakan unit timbangan *moisture balance* sebelum dan sesudah penghilangan uap air untuk menghitung kadar air. Kadar air serbuk daun yang diuji memenuhi syarat dengan nilai serbuk kopi robusta sebesar 7,971% dan serbuk bunga telang 3,423% parameter kadar air serbuk simplisia tidak boleh lebih dari 10%. Karena kadar air yang tinggi atau lebih dari 10% dapat memungkinkan simplisia ditumbuhi oleh jamur yang dapat merusak dan

mempengaruhi kualitas simplisia (Hermawan, dkk 2016). Hasil dapat dilihat pada lampiran 2.

E. Pembuatan Ekstrak Kopi Robusta dan Ekstrak Bunga Telang

Metode pembuatan ekstrak dalam penelitian ini menggunakan metode maserasi, keuntungan metode tersebut yaitu lebih mudah dikerjakan, bahan dan alat yang dibutuhkan tidak mahal dan sederhana, cocok dilakukan untuk senyawa yang tidak tahan panas seperti alkaloid, flavonoid, dan tanin. Proses ekstraksi maserasi kopi robusta dan bunga telang dapat dilihat pada lampiran 3.

Tabel 5. Presentase Rendeman Ekstrak Etanol

Simplisia	Serbuk kering (g)	Ekstrak etanol (g)	Rendeman (%)
Kopi robusta	500	51,0215	10,20%
Bunga telang	900	173,698	19,29%

Tujuan dilakukan perhitungan rendemen yaitu untuk mengetahui seberapa banyak senyawa yang didapatkan. Semakin besar nilai rendemen menunjukkan nilai ekstrak yang dihasilkan semakin banyak. Syarat rendemen ekstrak kental yaitu nilainya tidak kurang dari 10% (Badriyah dkk, 2022). Hasil pada tabel 5 menunjukkan bahwa dari serbuk kopi robusta dibandingkan dengan penelitian Nurhayati (2023) sebanyak 200 g serbuk kopi robusta *green bean* setelah dimaserasi dan diuapkan di dapatkan hasil 16,14 g dengan rendeman 8,07% b/b, untuk bunga telang menurut penelitian Pertiwi dkk, (2022) sebanyak 1.000 g serbuk bunga telang didapatkan ekstrak kental sebanyak 94,5 g dengan rendeman 9,45%. Perbedaan nilai rendemen dapat disebabkan oleh beberapa faktor seperti lokasi tempat pengumpulan simplisia yang berbeda, cuaca pada saat pengambilan simplisia, dan juga bisa dipengaruhi oleh perbandingan

jumlah simplisia dan jumlah pelarut serta lamanya proses ekstraksi, karena semakin lama proses ekstraksi menyebabkan semakin lama kontak antara padatan dan solven yang akan memperbanyak jumlah sel pecah dan bahan aktif yang terlarut (Wahyuni & Wijdarnako, 2015).

F. Uji Identifikasi Kandungan Senyawa Kimia Ekstrak Kopi Robusta Dan Ekstrak Bunga Telang

Uji pendahuluan yang dilakukan dalam penelitian ini yaitu uji identifikasi kandungan senyawa kimia dengan tujuan untuk mengetahui kebenaran kandungan senyawa kimia yang ada didalam ekstrak daun mengkudu dan ekstrak daun alpukat. Uji identifikasi kandungan senyawa kimia dilakukan dengan uji kualitatif metode tabung.

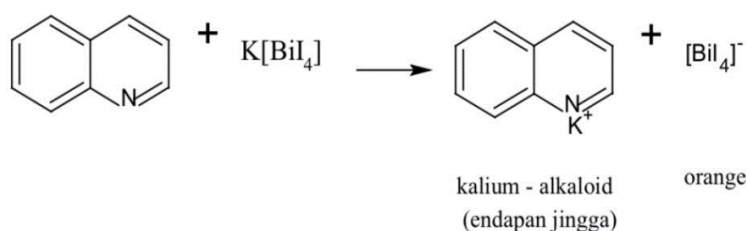
Tabel 6. Uji Kandungan Kimia Ekstrak Kopi Robusta dan Ekstrak Bunga Telang

Golongan Senyawa	Pustaka	Hasil Penelitian	
		Ekstrak kopi robusta	Ekstrak bunga telang
Alkaloid Reagen bouchardat	Hasil positif jika dengan terbentuknya endapan coklat sampai hitam (Wigati dkk, 2018).	Pereaksi bouchardat endapan coklat (+)	Pereaksi bouchardat endapan hitam (+)
Alkaloid dragendroff	Hasil positif jika dengan terbentuknya endapan jingga coklat (Wigati dkk, 2018).	Pereaksi dragendroff endapan merah jingga (+)	Pereaksi dragendroff endapan jingga coklat (+)
Flavonoid	Positif bila terbentuk warna kuning, orange atau merah pada lapisan amil alkohol (Rubinadzari dkk, 2022).	Terbentuk warna kuning (+)	Terbentuk warna merah (+)

Saponin	Positif jika terbentuk buih selama tidak kurang 10 menit, setinggi 1-10 cm dan tidak hilang jika ditambahkan 1 tetes asam klorida 2 N (Rubinadzari dkk, 2022).	Terbentuk buih stabil/permanen (+)	Terbentuk buih stabil/permanen (+)
Tanin	Positif jika terjadi warna hijau kehitaman (Wigati dkk, 2018).	Hijau kehitaman (+)	Hijau kehitaman (+)
Keterangan : (+) : Mengandung golongan senyawa (-) : Tidak mengandung golongan senyawa			

Uji Alkaloid

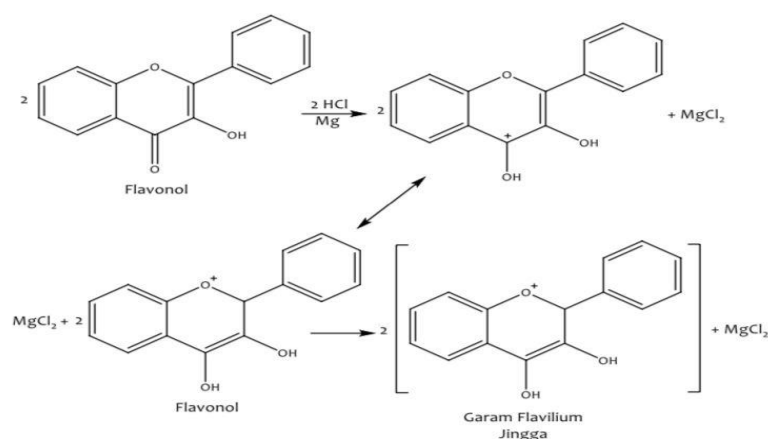
Pada pengujian alkaloid menggunakan reagen dragendroff menunjukkan hasil endapan jingga coklat, jika suatu senyawa mengandung alkaloid, maka pada pengujian dengan reagen dragendorff akan membentuk endapan berwarna coklat orange, atau merah jingga, karena senyawa alkaloid akan berinteraksi dengan ion tetraiodobismutat (III). Jenis alkaloid uji dragendroff yang terbentuk yaitu kalium alkaloid. Hasil positif pada uji bauchardat ditandai dengan terbentuknya endapan coklat kehitaman. Endapan yang terbentuk terjadi karena adanya ikatan kovalen koordinasi antara ion logam K^+ dengan alkaloid sehingga terbentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap. Pereaksi bauchardat mengandung kalium iodida dan iod (Sulistyarini dkk, 2020).



Gambar 10. Reaksi Dugaan Alkaloid dengan Reagen Dragendroff (Zaini & Shofia, 2020)

Uji Flavonoid

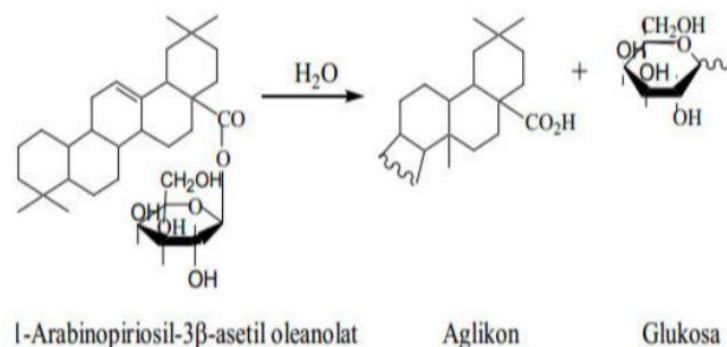
Pada pengujian Flavonoid didapatkan hasil bahwa ekstrak etanol kopi robusta dan ekstrak etanol bunga telang positif mengandung flavonoid. Uji flavonoid menggunakan pereaksi dilakukan dengan menambah serbuk magnesium dan asam klorida pekat pada sampel. keberadaan flavonoid dalam bahan uji dapat diketahui dengan menambahkan serbuk Mg dan HCl pekat kedalam ekstrak alkohol, akan berwarna jingga sampai merah apabila mengandung (flavon), merah sampai merah tua (Flavanol), merah tua sampai magenta (Flavanon) (Mulyani & Leksana 2011). Pada uji ini penambahan asam klorida pekat memiliki fungsi agar terjadinya protonasi flavonoid sehingga terbentuk garam flavonoid. Sampel positif mengandung senyawa flavonoid apabila terbentuk warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol. Hasil reaksinya adalah garam flavilium yang berwarna merah tua (Fadiyah dkk, 2019).



Gambar 11. Reaksi Dugaan Flavonoid dengan Serbuk Mg dan HCl (Nurjannah.,dkk 2022)

Uji Saponin

Pada uji saponin ekstrak etanol kopi robusta dan ekstrak etanol bunga telang didapatkan hasil positif ditandai dengan timbulnya busa stabil, terbentuknya busa stabil menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya. Saponin merupakan senyawa yang memiliki gugus hidrofilik dan hidrofobik. Gugus hidrofilik berikatan dengan air dan gugus hidrofobik berikatan dengan udara sehingga membentuk buih ketika dikocok. Penambahan HCl pekat bertujuan agar tingkat kepolaran bertambah, sehingga gugus hidrofilik memiliki ikatan yang lebih kuat dan busa yang terbentuk stabil (Puspa dkk, 2017).



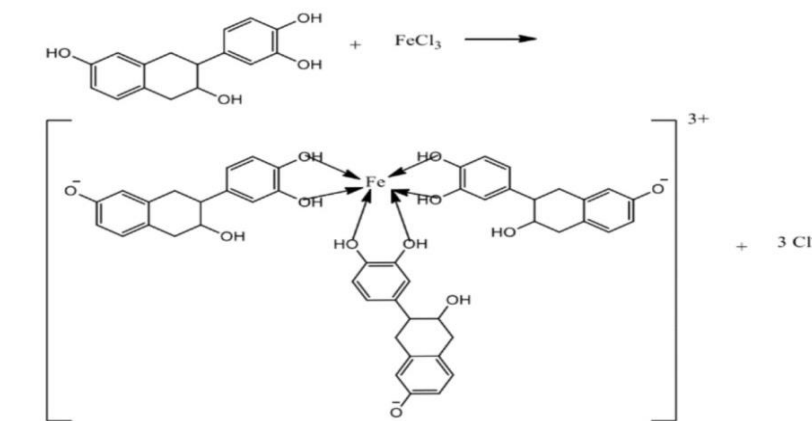
Gambar 12. Reaksi Hidrolisis Saponin (Fadhila & Etika, 2023)

Uji Tanin

Pengujian senyawa tanin pada ekstrak etanol kopi robusta dan bunga telang menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya warna hijau kehitaman. Uji fitokimia dengan menggunakan $FeCl_3$ bertujuan untuk menentukan apakah sampel mengandung gugus fenol. Gugus fenol ditunjukkan dengan warna hijau kehitaman atau biru tua setelah

ditambahkan dengan FeCl_3 , sehingga apabila pada saat pengujian fitokimia dengan FeCl_3 memberikan hasil positif dimungkinkan dalam sampel terdapat senyawa fenol dan dimungkinkan salah satunya adalah tannin karena tannin merupakan senyawa polifenol.

Terbentuknya warna hijau kehitaman atau biru tinta pada ekstrak setelah ditambahkan dengan FeCl_3 karena tannin akan membentuk senyawa kompleks dengan ion Fe^{3+} (Abriyani dkk, 2022).



Gambar 13. Reaksi Dugaan Antara Tanin dengan FeCl_3 (Dewi, 2020)

Hasil skrining fitokimia terhadap biji kopi hijau sejalan dengan penelitian Nurhayati dkk (2023) yang menyatakan bahwa biji kopi hijau mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin. Serta hasil dari penelitian Pertiwi dkk (2022) bahwa bunga telang mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saonin dan tanin. Senyawa yang terkandung di dalam biji kopi hijau dan bunga telang memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Untuk uji tabung dapat dilihat pada lampiran 4 dan 5.

G. Uji Identifikasi Kandungan Senyawa Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

Uji Kromatografi Lapis Tipis ini dilakukan dengan tujuan untuk mendukung data uji fitokimia menggunakan reagen dengan melihat pola spot yang dihasilkan. Pemisahan senyawa dari fraksi n-heksan dilakukan dengan menggunakan plat silika GF 254 sebagai fase diam. Plat yang digunakan pada KLT ini sebelumnya diaktifkan terlebih dahulu dalam oven pada suhu 100 °C selama 10 menit yang bertujuan untuk menghilangkan kadar air yang terdapat pada plat (Wahyuni dkk, 2020).

Ekstrak ditotolkan pada plat silika yang telah aktif dengan menggunakan pipa kapiler. Sebelum dilakukan pengelusian eluen dalam chamber dijenuhkan terlebih dahulu agar campuran eluen dapat mengelusi dengan baik dan untuk mempercepat reaksi yang nantinya bercampur sempurna (Asra dkk, 2017). Plat yang sudah ditotol dengan sampel dimasukkan dalam chamber, diamati prosesnya. Plat bisa diangkat dari chamber jika eluen sudah naik sampai batas garis atas yang telah ditentukan, kemudian plat didiamkan sebentar hingga kering. Lalu diamati dibawah sinar UV 254 nm dan 366 nm.

Noda yang tampak ditandai dengan pensil. Saat penyinaran lampu UV diperoleh noda dengan beberapa nilai R_f yang berbeda. Secara teoritis, komponen suatu senyawa akan terdistribusi dalam dua fase yang berbeda dalam kesetimbangan dinamis. Komponen senyawa masing-masing akan terpisah. Hal ini dikarenakan setiap senyawa memiliki kemampuan yang berbeda terhadap fase diam dan fase geraknya, sehingga menyebabkan komponen senyawa tersebut terpisah.

Tabel 7. Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Senyawa	Eluen	Ekstrak Kopi Robusta	Ekstrak Bunga Telang	Rf Pembanding
Alkaloid	N-Heksan : etil asetat (7:3)	0,63	0,81	0,78
Flavonoid	Butanol : asam asetat : air (4:1:5)	0,9	0,862	0,8
Saponin	Toluen : etil asetat (7:3)	0,775	0,875	0,565
Tanin	Toluen : aseton : asam format (6:6:1)	0,625	0,65	0,737

Hasil dari pengujian KLT ekstrak etanol kopi robusta memiliki nilai Rf nya 0,63 dan nilai Rf ekstrak etanol bunga telang adalah 0,81 berdasarkan penelitian Mindawati dkk (2024) menyatakan bahwa nilai Rf standar pembanding untuk senyawa alkaloid yaitu 0,2-0,8, Jadi nilai Rf sampel dengan Rf standar pembanding alkaloid mempunyai nilai yang hampir sama sehingga ekstrak etanol kopi robusta dan ekstrak etanol bunga telang disimpulkan mengandung alkaloid. Setelah di semprot dengan pereaksi dragendroff pada sinar tampak terdapat bercak berwarna merah jingga. Bercak berwarna merah jingga ini menandakan adanya senyawa golongan alkaloid. Senyawa alkaloid bereaksi dengan dragendrof yaitu membentuk ikatan kovalen koordinat dengan K⁺ yang merupakan ion logam (Kapondo dkk, 2020).

Hasil pengujian KLT untuk kandungan senyawa flavonoid yaitu berwarna hijau kemerahan setelah di semprot penampak bercak, reaksi FeCl₃ dengan sampel membuat pembentukan warna pada uji ini, yang berperan adalah ion Fe³⁺ yang mengalami hibridisasi. nilai Rf ekstrak etanol kopi robusta yaitu 0,9 dan nilai Rf ekstrak etanol bunga telang yaitu

0,862 ini menunjukan ekstrak etanol kopi robusta dan bunga telang mengandung senyawa flavonoid karena mendekati nilai Rf standar pembanding yaitu 0,8 (Mindawati, dkk 2024).

Kemudian hasil pengujian KLT senyawa saponin, didapatkan nilai Rf untuk ekstrak etanol kopi robusta sebesar 0,775 dan ekstrak etanol bunga telang sebesar 0,875, jadi nilai Rf sampel dengan nilai standar pembanding hampir sama sehingga disimpulkan ekstrak etanol kopi robusta dan ekstrak etanol bunga telang mengandung senyawa saponin. Setelah disemprot dengan pereaksi anisaldehyd : asam sulfat pada sinar tampak berwarna merah, Saponin jika dideteksi dengan pereaksi semprot anisaldehyd-asam sulfat akan memberikan warna biru sampai biru violet terkadang berupa bercak warna merah, kuning, biru tua, ungu, hijau, atau berupa kuning coklat pada sinar tampak. Saponin tanpa perlakuan kimia (pereaksi semprot) di bawah sinar UV 254 nm tidak terjadi pemadaman bercak dan di bawah sinar UV 365 nm bercak tidak berfluorosensi (Jawa La dkk, 2021). Reaksi dengan anisaldehyd-asam sulfat menyebabkan perpanjangan gugus kromofor sehingga serapan senyawa bergeser kearah panjang gelombang yang lebih tinggi dan terjadi peningkatan intensitas warna yang dapat dilihat secara visual. Penampak bercak ini dapat menunjukkan adanya aglikon saponin titerpenoid (Wigati dkk, 2018)

Untuk hasil pengujian KLT menunjukan bahwa ekstrak etanol kppi robusta dan ekstrak etanol bunga telang mengandung senyawa tanin hal ini ditunjukan dengan adanya bercak berwarna biru kehijauan setelah disemprot pereaksi FeCl_3 . Menurut Abriyani dkk (2022) pengujian tanin dengan penambahan pereaksi FeCl_3 maka teramati warna biru kehijauan

tannin, dan hijau kekuningan. Reaksi tanin dengan FeCl_3 akan bereaksi dengan ion Fe^{3+} dan akan membentuk senyawa kompleks triasianoferitri kaliumferri (III). Untuk ekstrak etanol kopi robusta didapatkan nilai R_f yaitu 0,625 sedangkan pada ekstrak etanol bunga telang yaitu 0,65, nilai R_f sampel dengan nilai R_f pembanding tidak jauh berbeda berarti dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol kopi robusta dan ekstrak etanol bunga telang mengandung senyawa tanin.

Berdasarkan penelitian uji KLT yang dilakukan oleh Walid & Putri (2023) menunjukkan bahwa terdapat kandungan golongan senyawa dalam fraksi etil asetat ekstrak etanol kopi robusta adalah alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin, Serta pada penelitian yang dilakukan oleh Nurgustiyanti dkk (2021) menunjukkan bahwa terdapat kandungan golongan senyawa dalam fraksi etil asetat ekstrak etanol bunga telang yaitu alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin. Hasil uji KLT dapat dilihat pada lampiran 6.

H. Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanol Kopi Robusta dan Ekstrak Etanol Bunga Telang

Sterilisasi alat dan bahan harus dilakukan sebelum pengujian daya hambat antibakteri dilakukan dengan tujuan untuk mencegah tumbuhnya mikroba lain yang tidak diinginkan sehingga mengganggu proses pengamatan dan kesalahan penafsiran hasil. Metode sterilisasi pada penelitian ini menggunakan metode pemanasan basah dengan autoklaf pada suhu 121°C pada tekanan 2 atm, atoklaf pada suhu yang tinggi akan mendenaturasi protein, terutama enzim-enzim dan membran sel mikroorganisme sehingga dapat mematikan mikroorganisme lain (Wulandari dkk, 2021).

Pengujian aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol kopi robusta dan bunga telang dibuat konsentrasi EKR : EBT (75% : 25%), EKR : EBT 50% : 50%), EKR : EBT (25% : 75%). Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah kloramfenikol, karena kloramfenikol merupakan antibiotik dengan spektrum luas yang bersifat bakteristatik dan bakterisidal yaitu memiliki kepekaan terhadap bakteri gram positif dan gram negatif. Kontrol negatif yang digunakan yaitu DMSO 10% karena pelarut organik yang bersifat tidak bakterisida dan dapat melarutkan senyawa polar maupun non polar (Rizki dkk, 2021).

Media yang digunakan untuk uji daya hambat antibakteri adalah media *Nutrient Agar* karena media *Nutrient Agar* merupakan media umum yang dapat digunakan untuk menumbuhkan bakteri *Staphylococcus aureus*. Pengujian aktivitas antibakteri pada penelitian ini menggunakan metode difusi cakram. Dasar pemilihan metode ini yaitu karena metode ini lebih cepat, mudah dikerjakan, sederhana dalam pengerjaannya, tidak membutuhkan peralatan khusus dan relatif murah (Handayani dkk, 2020). Pembuatan media dan pengujian antibakteri dapat dilihat pada lampiran 7.

Penanaman bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan metode *spread plate* karena koloni bakteri dapat tersebar secara merata dan mikroorganisme tidak terpapar pada suhu dimana agar masih cair sehingga memungkinkan didapatkannya jumlah yang lebih tinggi dari volume yang sama dibandingkan dengan metode *pour plate*. Daya hambat antibakteri dalam penelitian ini ditandai dengan terbentuknya daerah bening disekeliling kertas cakram dan diukur menggunakan jangka sorong

(Kurniawan dkk, 2023). Hasil penelitian diperoleh data diameter zona bening dapat dilihat pada lampiran 8.

Tabel 8. Diameter Zona Hambat

Konsentrasi	Diameter Zona Hambat (mm)			
	R1	R2	R3	Rata-rata $\pm$ SD
A	14,51	14,81	18,97	16,09 $\pm$ 2,03
B	20,15	20,91	20,62	20,56 $\pm$ 0,31
C	16,12	20,04	18,97	18,37 $\pm$ 1,65
Kontrol (+)	25,8	32,25	33	30,35 $\pm$ 3,23
Kontrol (-)	0	0	0	0

Keterangan :

A = 75% EKR : 25% EBT

B = 50% EKR : 50% EBT

C = 25% EKR : 75% EBT

Berdasarkan hasil pengukuran diameter zona hambat menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak etanol kopi robusta dan bunga telang memiliki daya hambat kuat hingga sangat kuat terhadap *Staphylococcus aureus*. Sedangkan pada kontrol negatif tidak terbentuk zona hambat, hal ini menunjukkan bahwa DMSO 10% tidak mempunyai aktivitas antibakteri. Aktivitas zona hambat dapat dikelompokkan menjadi 4 kategori yaitu, lemah, sedang, kuat, sangat kuat (Emelda, dkk 2021).

Tabel 9. Kategori Zona Hambat Antibakteri

Kategori	Ukuran Zona Hambat (mm)
Lemah	<5mm
Sedang	5-10
Kuat	10-20
Sangat kuat	>20-30

Dari tabel diatas dapat dilihat kategori penghambatan antibakteri berdasarkan diameter zona hambat dapat disimpulkan bahwa konsentrasi

A memiliki daya hambat kuat, konsentrasi B memiliki daya hambat sangat kuat, dan konsentrasi C memiliki daya hambat kuat, sedangkan pada kontrol positif memiliki daya hambat sangat kuat. Pada penelitian Nurhayati dkk (2023) menyatakan bahwa konsentrasi 100% ekstrak etanol kopi hijau robusta dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan zona bening yang terukur sebesar 33,1 mm, sedangkan berdasarkan penelitian Pisacha dkk (2023) ekstrak etanol bunga telang dengan konsentrasi 100% mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan zona bening sebesar 15,47 mm.

Diameter zona hambat terbesar terdapat pada konsentrasi B. Hasil ini diduga sebagai akibat dari adanya dua senyawa yang bersinergis satu sama lain terhadap aktivitas antibakteri pada kopi robusta dan bunga telang, sehingga ketika dikombinasikan dalam jumlah yang sama besar akan semakin meningkat efek antibakterinya dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Salah satu senyawa antibakteri dalam biji kopi robusta, yaitu kafein memiliki kemampuan meningkatkan aktivitas senyawa lain yaitu senyawa *alpha dicarbonyl* (*glioksal, metilglioksal, dan diacetyl*) (Rubinadzari dkk, 2022).

Kegunaan bahan tumbuhan sebagai bahan obat bertumpu pada kandungan senyawa bioaktif yang diproduksi oleh sel-sel tumbuhan tersebut di dalam sistem jalur biosintesis metabolit sekundernya. Senyawa-senyawa aktif tersebut dapat dipisahkan dari tanamannya melalui proses yang disebut dengan ekstraksi. Mekanisme dari masing-masing metabolit sekunder yang terkandung pada ekstrak etanol kopi robusta dan bunga

telang seperti alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin memberikan daya hambat pada pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Menurut Sari dkk (2022), gugus basa yang mengalami kontak dengan bakteri akan bereaksi dengan senyawa asam amino yang menyusun dinding sel dan DNA bakteri. Perubahan susunan rantai asam amino pada DNA akan menimbulkan perubahan keseimbangan genetik sehingga DNA bakteri akan mengalami kerusakan. Kerusakan DNA pada inti sel bakteri ini juga akan mendorong terjadinya lisis pada inti sel bakteri. Lisisnya inti sel bakteri akan menyebabkan juga kerusakan sel pada bakteri karena inti sel merupakan pusat kegiatan sel. Kerusakan sel pada bakteri ini lama kelamaan akan membuat sel-sel bakteri tidak mampu melakukan metabolisme sehingga juga akan mengalami lisis. Dengan demikian bakteri akan menjadi inaktif dan hancur.

Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri dan mekanisme penghambatan dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut. Selain itu, alkaloid juga menghambat pembentukan sintesis protein sehingga dapat mengganggu metabolisme bakteri. Golongan senyawa alkaloid dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif maupun gram negatif (Anggraini dkk, 2019).

Flavonoid memiliki sifat antibakteri dimana mekanisme kerjanya adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler. Senyawa flavonoid pada konsentrasi

rendah dapat merusak membran sitoplasma dan dapat menyebabkan kebocoran inti sel sedangkan pada konsentrasi tinggi senyawa flavonoid berkoagulasi dengan protein seluler. Flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri (Haryati dkk, 2015).

Saponin merupakan senyawa metabolit sekunder yang bersifat basa, sehingga saponin berbentuk buih menyerupai sabun yang dapat larut pada pelarut polar, mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar. Hal ini dapat menyebabkan sitoplasma bocor keluar dari sel yang mengakibatkan kematian sel. Agen antimikroba ini yang mengganggu membran sitoplasma bersifat bakterisida (Widowati dkk, 2019).

Tanin memiliki aktivitas antibakteri yang berhubungan dengan kemampuannya untuk menginaktifkan adhesin sel mikroba, menginaktifkan enzim, dan mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel. Tanin juga mempunyai target pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna. Hal ini menyebabkan sel bakteri menjadi lisis karena tekanan osmotik maupun fisik sehingga sel bakteri akan mati. Kompleksasi dari ion besi dengan tanin dapat menjelaskan toksisitas tanin. Mikroorganisme yang tumbuh di bawah kondisi aerobik membutuhkan zat besi untuk berbagai fungsi, termasuk reduksi dari prekursor ribonukleotida DNA. Enzim reverse transcriptase

dan DNA topoisomerase sel bakteri tidak dapat terbentuk oleh kapasitas pengikat besi yang kuat oleh tanin (Khatin & Rian, 2022).

I. Analisis SPSS

Hasil dari ekstrak etanol kopi robusta dan bunga telang selanjutnya dianalisa menggunakan SPSS yaitu uji anova bertujuan untuk mengetahui adakah perbedaan ekstrak etanol kopi robusta dan bunga telang.

Tabel 10. Hasil Uji SPSS

		Hasil (sig.)	Kesimpulan
Normalitas	Kontrol +	0,181	Normal
	Konsentrasi A	0,115	Normal
	Konsentrasi B	0,740	Normal
	Konsentrasi C	0,510	Normal
Homogenitas		0,006	Tidak homogen
		0,600	Homogen
		0,621	Homogen
		0,011	Tidak homogen

Pertama dilakukan uji normalitas, tujuan dari uji normalitas adalah untuk mengetahui data zona hambat yang diperoleh dalam penelitian menunjukkan bahwa sebaran tersebut terdistribusi normal, uji normalitas kali ini dengan menggunakan *Shapiro-wilk* karena jumlah sampel yang digunakan kurang dari 50. Hasil uji normalitas menunjukkan data ekstrak etanol kopi robusta dan bunga telang terdistribusi normal dimana nilai signifikan $>0,05$.

Kemudian dilanjut uji homogenitas yang bertujuan untuk menguji kesamaan varian setiap data kelompok, hasil uji homogenitas menunjukan data ekstrak etanol kopi robusta dan bunga telang memiliki varian data yang tidak homogen dimana nilai *p-value* yang lebih kecil daripada 0,05 (*p-value* $<0,05$). Berdasarkan uji normalitas dan homogenitas pada uji

normalitas data terdistribusi normal yang artinya memenuhi syarat untuk uji parametrik maka diputuskan uji perlakuan menggunakan uji *One Way ANOVA* dan dilanjutkan dengan uji *Post hoc (Games howell)* (Bactiar dkk, 2023).

Tabel 11. Hasil Uji ANOVA

One Way ANOVA	Hasil (sig.)	Kesimpulan
Diameter Zona Hambat	0,000	Terdapat perbedaan yang signifikan

Hasil uji one way anova diperoleh nilai signifikan sebesar 0,000 yang lebih kecil daripada 0.05 ($p\text{-value} < 0.05$). Ini menunjukkan bahwa perlakuan ekstrak etanol kopi robusta dan bunga telang terhadap kontrol yang diberikan berpengaruh signifikan pada daya hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Kemudian dilanjutkan menggunakan uji *Post hoc (Games howell)*. Uji *Post hoc* dilakukan untuk melihat perbedaan signifikan antar perlakuan antibakteri.

Pada uji *Post hoc* jika memiliki nilai $p\text{-value}$ lebih kecil dari 0,05 ($p\text{-value} < 0,05$) berarti data tersebut signifikan, namun jika nilai $p\text{-value}$ lebih besar dari 0,05 ($p\text{-value} < 0,05$) maka data tersebut tidak signifikan. Hasil uji *Post hoc* pada tabel diatas menunjukkan bahwa antara konsentrasi A, B dan C tidak terdapat perbedaan yang signifikan tetapi pada konsentrasi A terdapat perbedaan yang signifikan terhadap kontrol positif dan negatif, sedangkan pada konsentrasi B dan C tidak berbeda signifikan terhadap kontrol positif namun terdapat perbedaan yang signifikan terhadap kontrol negatif. Ini berarti kekuatan daya hambat yang dihasilkan antara konsentrasi A, B, dan C tidak berbeda jauh, namun berdasarkan nilai statistika konsentrasi B dan C lebih mendekati kontrol positif, tetapi pada

nilai rata-rata zona hambat konsentrasi B lebih besar daya hambat nya yaitu sebesar 20,56 sedangkan konsentrasi C lebih kecil yaitu 18,3 maka dari itu dapat disimpulkan bahwa konsentrasi B lebih efisien dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil uji SPSS dapat dilihat pada lampiran 9.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Kombinasi ekstrak etanol kopi robusta dan ekstrak etanol bunga telang memiliki efek terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.
2. Kekuatan daya hambat yang dihasilkan antara konsentrasi A, B, dan C tidak berbeda jauh, namun konsentrasi B (50% EKR : 50% EBT) paling efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

B. Saran

1. Penarikan senyawa kimia dari ekstrak etanol kopi robusta dan ekstrak etanol bunga telang dapat dilanjutkan hingga tahapan isolasi atau menggunakan metode penyarian lain.
2. Penelitian ekstrak etanol kopi robusta dan ekstrak etanol bunga telang dapat dikembangkan untuk lebih fokus pada bidang kefarmasian berdasarkan kandungan yang terdapat didalamnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Adam, F. (2017). Kemampuan Mengidentifikasi Variabel-Variabel Pada Fenomena Fisika Dalam Kehidupan Sehari-Hari Peserta Didik Kelas XII SMA Barrang Lompo. *Jurnal Pendidikan Fisika*, 5(3), 290–300.
- Agung Rizky, T. (2018). Uji aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi daun jati (*Tectona grandis* Linn.F) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus* secara in vitro. *Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal*, 3(1), 93–105.
- Abriyani, E., Mulyawan, I., Shakira, N. A., Haryadi, R., & Kholisoh, T. (2022). Aktivitas Antioksidan Pada Bunga Telang (*Clitoria Ternatea* L.) Secara Metode Spektrofotometeri Uv-Visible. *Journal of Comprehensive Science (JCS)*, 1(5), 1351-1354.
- Aini, H. N., & Chairul Saleh, E. (2015). Uji toksisitas dan aktivitas antibakteri ekstrak daun merah tanaman pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kimia*, 13(1), 35-40.
- Amalia, A., Sari, I., & Nursanty, R. (2017). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Sembung (*Blumea balsamifera* (L.) DC.) terhadap Pertumbuhan Bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Jurnal UIN Ar-Raniry*, 5(1), 387–391.
- Anggraini, R., & Khabibi, J. (2022). Karakteristik Ekstrak Serbuk Gergajian Kayu Tembesu (*Fagraea fragrans*), Rengas (*Gluta renghas*) dan Medang (*Litsea* Sp) sebagai Larvasida Lalat Rumah (*Musca domestica*). *Jurnal Ilmiah Universitas Batanghari Jambi*, 22(2), 996.
- Anggraini, W., Nisa, S. C., Ramadhani DA, R., & Ma'arif ZA, B. (2019). Aktivitas antibakteri ekstrak etanol 96% buah Blewah (*Cucumis melo* L. var. *cantalupensis*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. *Pharmaceutical journal of Indonesia*, 5(1), 61-66.
- Artho, L. N., Wuisan, J., & Najoran, J. A. (2015). Efek Serbuk Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Terhadap Penyembuhan Luka Insisi Pada Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*). *Jurnal E-Biomedik*, 3(3).
- Asra, R., Zulharmita, Z., & Amrul, M. (2017). Evaluasi Penggunaan Kromatografi Lapis Tipis Kinerja Tinggi (KLTKT) Densitometri Silika Gel 60 F254 Pada Penetapan Kadar Vitamin C Yang Terdapat Pada Daging Buah Naga Ungu (*Hylocereus polyrhizus*). *Jurnal Farmasi Higea*, 9(1), 76-84.
- Atmanto, Y., Asri, L., & Kadir, N. (2022). Media Pertumbuhan Kuman. *Jurnal Medika Hutama*, 4(1), 3072–3073.
- Bachtiar, R., Asmah, N., & Arif, A. C. (2023). Efek Antibakteri Ekstrak Buah Kurma Ajwa (*Phoenix Dactylifera* L) Terhadap Bakteri *Porphyromonas gingivalis*. *Indonesian Journal of Public Health*, 1(3), 260-267.

- Badriyah, L., & Farihah, D. (2022). Optimalisasi ekstraksi kulit bawang merah (*Allium cepa* L) menggunakan metode maserasi. *Jurnal Sintesis: Penelitian Sains, Terapan dan Analisisnya*, 3(1), 30-37.
- Budiasih, K. S. (2022). Potensi Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L) Sebagai Antifungi *Candida albicans* , *Malassezia furfur* , *Pityrosporum*. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 1(2), 30–36.
- Chapagain, B. P., & Wiesman, Z. (2005). Larvicidal activity of the fruit mesocarp extract of *Balanites aegyptiaca* and its saponin fractions against *Aedes aegypti*. *Dengue Bulletin*, 29(December 2005), 203–207.
- Denta Kusuma, A. (2019). Potensi Teh Bunga Telang (*Clitoria ternatea*) sebagai Obat Pengencer Dahak Herbal Melalui Uji Mukositas. *Risenologi*, 4(2).
- Dermawan, S. T., Mega, I. M., & Kusmiyarti, T. B. (2018). Evaluasi Kesesuaian Lahan untuk Tanaman Kopi Robusta (*Coffea canephora*) di Desa Pajahan Kecamatan Pupuan Kabupaten Tabanan. *Jurnal Agroekoteknologi Tropika*, 7(2), 230–241.
- Dewi, I. D. A. D. Y., Astuti, K. W., & Warditiani, N. K. (2013). Identifikasi kandungan kimia ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Jurnal Farmasi Udayana*, 2(4), 13-18.
- Dewi, I. S., Saptawati, T., & Rachma, F. A. (2021, December). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit dan Biji Terong Belanda (*Solanum betaceum* Cav.). In *Prosiding Seminar Nasional Unimus* (Vol. 4).
- Dewi, N. (2020). Uji kualitatif dan kuantitatif metabolit sekunder ekstrak etanol daun awar-awar (*Ficus septica* Burm. f) dengan metode spektrofotometri UV-VIS. *Acta Holist. Pharm*, 2(1), 16-24.
- Dofianti, H., & Yuniwati, M. (2018). Pembuatan Serbuk Pewarna Alami Tekstil Dari Ekstrak Daun Jati Muda (*Tectona grandis* linn. F.) Metode Foam-Mat Drying Dengan Pelarut Aquadest. Hanifa. *Jurnal Inovasi Proses*, 3(2), 59–66.
- Endang Hanani. (2014). Analisis Fitokimia. Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- La, E. O. J., Sawiji, R. T., & Yuliani, N. M. R. (2021). Identifikasi Kandungan Metabolit Sekunder dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak n-Heksana Kulit Jeruk Bali (*Citrus maxima* Merr.). *Jurnal Surya Medika (JSM)*, 6(2), 185-200.
- Ermi Abriyani, Indra Mulyawan, Nabila Atqia Shakira, Rendi Haryadi, T. K. (2022). Aktivitas Antioksidan Pada Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) Secara Metode Spektrofotometri UV-Visible. *Journal of Comprehensive Science*, 1(8.5.2017), 2003–2005.
- Evi Indah Wigati, Esti Pratiwi, T. F. N. dan N. F. U. (2018). Uji Karakteristik Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora* Pierre) Dari Bogor, Bandung dan Garut Dengan metode DPPH. 8(1), 1–26.

- Fadhila, D., & Etika, S. B. (2023). Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Daun Cemara Sumatra (*Taxus sumatrana*). *Jurnal Pendidikan Kimia Universitas Riau*, 8(1), 66-73.
- Fadiyah, I., Lestari, I., & Victory, S. (2019). Antioxidant Activity Test for Rukam Fruit (*Flacourtia rukam*) Of Maseration Extract. *Stannum: Jurnal Sains dan Terapan Kimia*, 1(1), 14-19.
- Fahmi, N., Herdiana, I., & Rubiyanti, R. (2020). Pengaruh Metode Pengeringan Terhadap Mutu Simplisia Daun Pulutan(*Urena lobata* L.). *Media Informasi*, 15(2), 165–169.
- Fatma, M., Chatri, M., Fifendy, M., & Handayani, D. (2021). Pengaruh Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap Diameter Koloni dan Persentase Penghambatan Pertumbuhan *Fusarium oxysporum*. *Serambi Biologi*, 6(2), 9–14.
- Fauziah, E. B. (2016). Kepatuhan Penggunaan Obat pada Pasien yang Mendapat Terapi Antibiotik di Puskesmas Mendawai Pangkalan Bun. *Jurnal Surya Medika*, 2(1), 38–46.
- Fijriati, L., Maulana, L. H., & Pudjono. (2022). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava*,L.) dengan Penyari Etanol dan Kloroform terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *Pharmacy Peradaban Journal*, 2(1), 33–38.
- Fikayuniar, L., Abriyani, E., Safitri, S. N., & Mulya, D. J. (2022). SKRINING FITOKIMIA DAN UJI AKTIFITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN TELANG (*Clitoria ternatea* L.) TERHADAP BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa*. *Jurnal Buana Farma*, 2(1), 1–5.
- Fitri, M., Mayani, N., & Erida, G. (2022). Uji Aktivitas Bioherbisida Ekstrak Metanol Teki (*Cyperus rotundus* L.) Terhadap Pertumbuhan Bayam Duri (*Amaranthus spinosus* L.). *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pertanian*, 7(4), 62–71.
- Fitriana, Y. A. N., Fatimah, V. A. N., & Fitri, A. S. (2020). Aktivitas Anti Bakteri Daun Sirih: Uji Ekstrak KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bakterisidal Minimum). *Sainteks*, 16(2), 101–108.
- Ginarana, A., Warganegara, E., & Oktafany. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Formulasi Gel Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*) terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Majority*, 9, 21–25.
- Hakim, A. R., & Saputri, R. (2020). Narrative Review: Optimasi Etanol sebagai Pelarut Senyawa Flavonoid dan Fenolik. *Jurnal Surya Medika*, 6(1), 177–180.
- Handayani, W., Aristyawan, A. D., & Safitri, O. E. (2020). Uji In Vitro Interaksi Cefadroxil dengan Pisang dan Susu terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dengan Metode Difusi Cakram. *Jurnal Pharmaxis*, 5(2), 87-91.

- Handito, D., Basuki, E., Saloko, S., Dwikasari, L. G., & Triani, E. (2022). Analisis Komposisi Bunga Telang (*Clitoria ternatea*) Sebagai Antioksidan Alami Pada Produk Pangan. *Prosiding SAINTEK*, 4(November 2021), 64–70.
- Hermawan, D. S., Lukmayani, Y., & Dasuki, U. A. (2016). Identifikasi senyawa flavonoid pada ekstrak dan fraksi yang berasal dari buah berenuk (*Crescentia cujete* L.). *Prosiding Farmasi*, 253-259.
- Hidayah, N., Hisan, A. K., Solikin, A., Irawati, I., & Mustikaningtyas, D. (2016). Uji Efektivitas Ekstrak *Sargassum muticum* Sebagai Alternatif Obat Bisul Akibat Aktivitas *Staphylococcus aureus*. *Journal of Creativity Student*, 1(2).
- Hidayatullah, S. H., & Mourisa, C. (2023). Uji Efektivitas Akar Karamunting (*Rhodomirtus Tomentosa* (Aiton) Hassk) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus*. . *Jurnal Ilmiah Kohesi*, 7(1), 34–40.
- Husa, F., & Mita, S. R. (2020). Identifikasi Bahan Kimia Obat dalam Obat Tradisional Stamina Pria dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis. *Farmaka*, 18(2), 16–25.
- Indarto, I., Narulita, W., Anggoro, B. S., & Novitasari, A. (2019). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong Terhadap *Propionibacterium Acnes*. *Biosfer: Jurnal Tadris Biologi*, 10(1), 67–78.
- Intan, K., Diani, A., & Nurul, A. S. R. (2021). Aktivitas Antibakteri Kayu Manis (*Cinnamomum burmanii*) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *JURNAL KESEHATAN PERINTIS (Perintis's Health Journal)*, 8(2), 121–127.
- Jamilah. (2015). Evaluasi Keberadaan Gen *catP* terhadap Resistensi Kloramfenikol Pada Penderita Demam Tifoid. *Prosiding Seminar Nasional Mikrobiologi Kesehatan Dan Lingkungan*, 146–152.
- Kamar, I., Fazrina Zahara¹, D. Y., & Umairah, R. U. (2021). Identifikasi Parasetamol dalam Jamu Pegal Linu Menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) *Quimica : Jurnal Kimia Sains dan Terapan. Jurnal Kimia Sains Dan Terapan*, 3(April), 1.
- Kapondo, G. L., & Jayanti, M. (2020). Isolasi, Identifikasi Senyawa Alkaloid Dan Uji Efektivitas Penghambatan Dari Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *eBiomedik*, 8(2).
- Karimela, E. J., Ijong, F. G., & Dien, H. A. (2017). Characteristics of *Staphylococcus aureus* Isolated Smoked Fish Pinekuhe from Traditionally Processed from Sangihe District. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 20(1).
- Keliat, S. P. ., Darniati, D., Harris, A., Erina, E., Rinidar, R., & Fahrurrazi, F. (2019). 25. The effect of Fingerroot Rhizome (*Boesenbergia pandurata*) Extract on the Growth of *Staphylococcus aureus* in Vitro. *Jurnal Medika Veterinaria*, 13(2), 178–184.

- Khatin, A. M., & Oktiansyah, R. (2022). POTENSI KULIT BATANG SUNKAI (*Peronema canescens* Jack) SEBAGAI ANTIBAKTERI *Salmonella typhi*. In *Prosiding Seminar Nasional Pendidikan Biologi* (Vol. 5, No. 1, pp. 152-165).
- Kurniawan, S. Y., Ariami, P., & Rohmi, R. (2023). SI PINTER Sebagai Alat Penghitung Koloni Bakteri Penunjang Laboratorium Mikrobiologi. *Jurnal Biotek*, 11(1), 87-97.
- Lady Yunita Handoyo, D., & Pranoto, M. E. (2020). Pengaruh Variasi Suhu Pengeringan Terhadap Pembuatan Simplisia Daun Mimba (*Azadirachta Indica*). *Jurnal Farmasi Tinctura*, 1(2), 45–54.
- Lestari, G., Noptahariza, R., & Rahmadina, N. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Formulasi Sabun Cair Ekstrak Kulit Buah Durian (*Durio Zibethinus L.*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*. *Cendekia Journal of Pharmacy*,
- Lisa, P., Niwele, A., & soulisa mardiana, A. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Buah Pepaya (*Carica Papaya L.*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dengan Menggunakan Metode Difusi Sumuran. *Jurnal Rumpun Ilmu Kesehatan*, 2(1), 2827–8372.
- Lully Hanni Endarini. (2016). *Farmakognisi dan Fitokimia*. Modul Bahan Ajar Cetak. Jakarta Selatan : Pusdik SDM Kesehatan.
- Lutfiah, L. (2022). Aplikasi Kamus Simplisia Dan Resep Obat Tradisional (Sidota) Berbasis Android. *Jurnal Sains Dan Informatika*, 8(1), 61–69.
- Magani, A. K., Tallei, T. E., & Kolondam, B. J. (2020). Uji Antibakteri Nanopartikel Kitosan terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Bios Logos*, 10(1), 7.
- Maisarah, M., Chatri, M., & Advinda, L. (2023). *Characteristics and Functions of Alkaloid Compounds as Antifungals in Plants*. *Abstrak Meode Penelitian*. 8(2), 231–236.
- Mariana, 2018. (2018). Validasi Metode Penetapan Kuantitatif Metanol dalam Urin Menggunakan Gas Chromatography-Flame Ionization Detector. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 7(3), 277–284.
- Marpaung, A. M. (2020). Tinjauan manfaat bunga telang (*clitoria ternatea l.*) bagi kesehatan manusia. *Journal of Functional Food and Nutraceutical*, 1(2), 63–
- Medeleine Gloriana, E., & Siswanto Sagita, L. (2021). Karakterisasi Flavonoid Daun Kitolod dengan Metode Maserasi dan Enkapsulasi. *Journal of Chemical and Process Engineering Jurnal ChemPro*, 2(2), 44–51.
- Minarsih, M. M. (2019). Strategi Perusahaan dalam Penanganan Berkurangnya Fokus Pegawai di Kecamatan Gunungpati. *Jurnal Ilmu Manajemen Dan Akuntansi Terapan (JIMAT)*, 10(2), 149–166.

- Mindawati, E., Nurhamidah, W., Nurhalimah, N., Chaerunnisa, C., Solihat, S., & Fikayuniar, L. (2024). Pemantauan Ekstrak Simplisia Biji Kopi Hijau (*Coffea Canephora* Var. *Robusta*) Dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis. *Jurnal Kesehatan Tambusai*, 5(1), 588-592.
- Muarif, A., Bahri, S., Sylvia, N., Kurniawan, E., & Fibarzi, W. U. (2023). Pengaruh Temperatur Roasting Biji Kopi Terhadap Kandungan Kafein Menggunakan Spektrofotometri UV-VIS. *Chemical Engineering Journal Storage (CEJS)*, 3(1), 86-95.
- Muhammad Rizwan. (2021). *Budidaya Kopi*. Sumatra Barat : CV. AZKA PUSTAKA.
- Muharram, L. H., Syaputri, F. N., Pertiwi, W., & Saputri, R. F. (2022). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Bawang Hitam Variasi Waktu Aging Terhadap Pencegahan Dysbiosis Kulit Penyebab Jerawat. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 4(2), 181–188.
- Mukhtarini. (2014). Mukhtarini, "Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif," *J. Kesehat.*, vol. VII, no. 2, p. 361, 2014. *J. Kesehat.*, VII(2), 361.
- Mulyani, S., & Laksana, T. (2011). Analisis flavonoid dan tannin dengan metoda mikroskopi-mikrokimiawi. *Majalah Obat Tradisional*, 16(3), 109-114.
- Ningsih, G., Utami, S., & Nugrahani, R. (2015). Pengaruh Lamanya Waktu Ekstraksi Remaserasi Kulit Buah Durian Terhadap Rendemen Saponin Dan Aplikasinya Sebagai Zat Aktif Anti Jamur. *Jurnal Konversi Universitas Muhammadiyah Jakarta*, 4(1), 107565.
- Nurgustiyanti, N., Abriyani, E., & Mursal, I. L. P. (2021). Skrining Fitokimia dari Ekstrak Daun Bunga Telang (*Clitoria Ternatea* L.) dan Uji Antibakteri terhadap *Escherichia coli*. *Jurnal Buana Farma*, 1(4), 21-28.
- Nofita, A. D. (2021). Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Bawang Merah (*Allium cepa* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Dalam Media Mueller Hinton Agar (MHA). *Media Informasi*, 16(1), 1–7.
- Noor, H. Astuti M., Amin, Riafany F., Annisa M., Brenda M., Agriana, Dwi D., Septianingrum, dkk. (2022). *NJurnal Biology Science & Education*, 11(1), 96–104.
- Novi Fajar Utami, Nhadira Nhestricia, Sri Maryanti, & Tien Tisya, S. M. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan Dari Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora* P.) Berdasarkan Perbedaan Ekologi Dataran Tinggi di Pulau Jawa. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 8(1), 67–72.
- Tensiska, T., Nurhadi, B., Wulandari, E., & Ratri, Y. A. L. (2020). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Dedak Hanjeli (*Coix lachryma-jobi* L.) Dengan Beberapa Jenis Pelarut. *Jurnal Agro Industri*, 10, 1–11.

- Nurhayati, N., Septiarini, A. D., & Aisyah, P. (2023). Uji Ekstrak Biji Kopi Hijau (*Coffea canephora* var. *robusta*) terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus aureus* Secara Difusi. *Publikasi Penelitian Terapan Dan Kebijakan*, 6(1), 56–64.
- Nurhidayanti, N. (2022). Perbandingan Media Alternatif Kacang Kedelai dan Media Nutrient Agar Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Indobiosains*, 4(2), 47.
- Nurjannah, I., Mustarini, B. A. A., & Suryani, N. (2022). Skrining Fitokimia Dan Uji Kombinasi Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) Dan Kelor (*Moringa oleifera* L.) Sebagai Zat Aktif Pada Sabun Antibakteri. *Spin Jurnal kimia & Pendidikan Kimia*, 4(1), 23-36.
- Oktaviani, M., Alifiar, I., & Yuliana, A. (2022). Beyond Use Date (BUD) Sediaan Tetes Mata Kloramfenikol., *Prosiding Seminar Nasional Diseminasi*. 2, 41–48.
- Pambudi, D. R., Susiani, E. F., Hervina Sari, R., Rahmah, N., & Torizellia, C. (2023). Perbandingan Hasil Penetapan Parameter Spesifik Dan Non- Spesifik Antara Simplisia Terhadap Ekstrak Metanol Purun Tikus (*Eleocharis Dulcis*). *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, 6(1), 42–54.
- Pangestu, A. R. (2020). Perbandingan Kecepatan Proses Penyembuhan Luka Swiss Webster dengan Kopi Robusta dan Arabika. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*. 9, 812–816.
- Paramita, O., Kusumastuti, A., Ansori, M., Astuti, P., & Murfianti, E. T. (2022). Optimalisasi Jenis Pelarut Pada Perwarna Kulit Ubi Ungu. *Inovasi Kimia*, 1, 222–252.
- Pertiwi, F. D. ., Rezaldi, F. ., & Puspitasari, R. (2022). Uji Aktivitas Dan Formulasi Sediaan Liquid Body Wash Dari Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L) Sebagai Antibakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Jurnal Ilmiah Kedokteran Dan Kesehatan*, 1(1), 53–66.
- Pisacha, I. M., Safutri, W., & Rahayu, K. W. (2023). Review Artikel : Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Journal Pharmacy Aisyah*, 2(2), 68-74.
- Pratiwi, L., Rachman, M. S., & Hidayati, D. N. (2016). Ekstraksi Minyak Atsiri Dari Bunga Cengkeh Dengan Pelarut Etanol Dan N-Heksana. *The 3rd University Research Colloquium*, 655–661.
- Prisnanda, Y. A., & Wulandari, D. (2022). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) Terhadap Bakteri *Salmonella typhi*. *EduNaturalia: Jurnal Biologi Dan Kependidikan Biologi*, 3(2), 86.
- Pudji Rahardjo. (2012). *Kopi Panduan Budidaya dan Pengolahan Kopi Arabika dan Robusta*. Depok:Penebar Swadaya.

- Purba, E. C. (2020). Kembang telang (*Clitoria ternatea* L.): pemanfaatan dan bioaktivitas. *Edu Mat Sains*, 4(2), 111–124.
- Puspitasari, R. N., Sofaria, R., Choirutussanijah, & Syarifah, M. C. (2022). Sosialisasi Herbal Kunyit Sebagai Antimikroba Pada Santriwati di Pondok Pesantren Hidayatulloh Al Muhajirin Bangkalan. *Jurnal Paradigma*, 4(2), 26–29.
- Putri, R., Mursiti, S., & Sumarni, W. (2017). Aktivitas antibakteri kombinasi temu putih dan temulawak terhadap *Streptococcus mutans*. *Indonesian Journal of Mathematics and Natural Sciences*, 40(1), 43-47.
- Rahman, I. W., Fadlilah, R. N., Ka'bah, Kristiana, H. N., & Dirga, A. (2022). Potensi Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava*) dalam Menghambat Pertumbuhan *Serratia marcescens*. *Jurnal Ilmu Alam Dan Lingkungan*, 13(1), 14–22.
- Rahmi. (2015). Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus* Pada Preputium dan Vagina Kuda (*equus caballus*). *Jurnal Medika Veterinaria*, 9(2), 154–157,
- Rakhmawatie, M. D., & Marfu'ati, N. (2023). Pembuatan Simplisia dan Teknik Penyiapan Obat Tradisional Jahe Merah dan Daun Pepaya untuk Standardisasi Dosis. *Berdikari: Jurnal Inovasi Dan Penerapan Ipteks*, 11(1), 12–24.
- Ramadhani, S., Fifendy, M., Erlinda, & Yuniarti, E. (2021). Kultur dan Sensitivitas Antibiotik Pus Di UPTD Laboratorium Kesehatan Sumatera Barat. *Prosiding SEMNAS BIO 2021, 2011*, 889–897.
- Ramdani, R., Nurgustiyanti, N., Abriyani, E., & Frianto, D. (2021). Skrining Fitokimia Dan Uji Antibakteri Ekstrak Daun Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Buana Farma*, 1(4), 1–7.
- Rawand, R., Mutam, R., Surya, H., & Dewi, B. S. (2020). The Effect of Robusta Coffee Management on the Socio-Economic Conditions of the Community at HKM Binawana Register 45B Tri Budisukur Village, Sugarcane Plantation District, West Lampung, Lampung. *Jurnal JOPFE*, 1(1), 1–10.
- Redha, A. (2010). Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif dan Peranannya Dalam Sistem Biologis. *Jurnal Berlin*, 9(2), 196–202.
- Riastuti, A. D., Komarayanti, S., & Utomo, A. P. (2021). Karakteristik morfologi biji kopi robusta (*Coffea Canephora*) pascapanen di kawasan lereng meru betiri sebagai sumber belajar smk dalam bentuk e-modul. *Jurnal Ilmu Pendidikan*, 5(2), 1–13.

- Rizki, S. A., Latief, M., Fitriyaningsih, F., & Rahman, H. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak N-heksan, Etil asetat, dan Etanol Daun Durian (*Durio zibethinus* Linn.) terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*. *Jambi Medical Journal: Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*, 10(3), 442-457.
- Rizky Amelia, F. (2015). Penentuan Jenis Tanin dan Penetapan Kadar Tanin dari Buah Bungur Muda (*Lagerstroemia speciosa* Pers.) secara Spektrofotometri dan Permanganometri. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*, 4(2), 1.
- Robiah, & Permana, S. H. A. (2018). Ekstraksi Minyak Atsiri Dari Kulit Jeruk Sebagai Bahan Peluruhan Styrofoam. *Distilasi*, 3(2), 16–21.
- Romsiah, & Utami, D. P. (2018). Identifikasi Sakarin dan Siklamat Pada Minuman Es Tidak Bermerk yang Dijual di Pasar 16 Ilir Palembang Dengan Menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis. *Jurnal Ilmiah Bakti Farmasi (JIBF)*, 3(1), 47–52.
- Ronald M. Atlas, J. W. S. (2013). *Handbook of Media for Clinical and Public Health Microbiology* (1st Editio). CRC Press.
- Rosmini, Lasmini, S. A., Ete, A., Wulandari, D. R., Edy, N., Hayati, N., & Taeyeb, A. (2020). Bimbingan Teknik Budidaya Tumbuhan Obat Untuk Penyediaan Simplisia Obat Herbal Bagi Masyarakat. *Dinamisia: Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat*, 5(2), 294–299.
- Rubinadzari, N., Sulfiani Saula, L., Rahmawati Utami, M., Studi Farmasi, P., Ilmu Kesehatan, F., & Singaperbangsa Karawang, U. (2022). Perbandingan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Hijau dan Sangrai Kopi Robusta (*Coffea canephora* L.) Serta Kombinasinya Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 3(2), 221–230.
- Rudy Joegijantoro. (2019). Penyakit Infeksi. Malang : Intimedia.
- Jabbar, A., Malik, F., Trinovitasari, N., Saputra, B., Fauziyah, C., Haming, F. F., & Sari, Y. A. (2023). Edukasi Penggunaan Antibiotik Pada Masyarakat Desa Leppe Kecamatan Soropia Kabupaten Konawe. *Mosiraha: Jurnal Pengabdian Farmasi*, 1(1), 25-30.
- Safitri, E. A., & Fatmawati, A. (2021). Inhibition Activity Of Ethanolic Extract Of *Ulva lactuca* Against *Staphylococcus aureus*. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, 7(1), 43-48.
- Safutri, W., Karim, D. D. A., & Fevinia, M. (2022). Skrining Fitokimia Simplisia di Kabupaten Pringsewu. *Jurnal Farmasi* , 1(1), 23–27.
- Sambada, F. A. R., & Prasetyadi, A. (2014). Karakteristik Petroleum Eter Dan Dietil Eter Sebagai Fluida Kerja Pompa Air Energi Termal. *Jurnal Penelitian Saintek*, 19(1), 9–22.

- Sari, R., Apridamayanti, P., & Pratiwi, L. (2022). Efektivitas SNEDDS Kombinasi Fraksi Etil Asetat Daun Cengkodok (*Melasthoma malabathricum*)-Antibiotik terhadap Bakteri Hasil Isolat dari Pasien Ulkus Diabetik. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, 7(2), 105–114.
- Sari, S. N., Fakhrurrazi, F., Abrar, M., & AK, M. D. (2021). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* (Antibactery Activity Of Ethanol Extract Robusta Coffea (*Coffea canephora*) On Bacteria *Pseudomonas aeruginosa*). *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Veteriner* 6(1).
- Soleha, T. U. (2015). Uji Kepekaan Terhadap Antibiotik. *Juke Unila*, 5(9), 121.
- Suhendra, D., Efendi, S., & Anwar, A. (2020). Efek Perubahan Kondisi Fisik Benih Kopi Terhadap Konsentrasi Hormon Giberellin (GA3) dan Perendaman Suhu Air yang Berbeda. *Agrosains : Jurnal Penelitian Agronomi*, 22(2), 109.
- Suleman, I. F., Sulistijowati, R., Mantau, S. H., & Nento, W. R. (2022). Identifikasi Senyawa Saponin Dan Antioksidan Ekstrak Daun Lamun (*Thalassia hemprichii*). *Jambura Fish Processing Journal*, 4(2), 94–102.
- Sulistyarini, I., Sari, D. A., & Wicaksono, T. A. (2020). Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Batang Buah Naga (*Hylocereus polyrhizus*). *Cendekia Eksakta*, 5(1).
- Syamsul, E. S., Anugerah, O., & Supriningrum, R. (2020). Penetapan Rendeman Ekstrak Daun Jambu Mawar (*Syzygium jambos* L. Alston) Berdasarkan Variasi Konsentrasi Etanol Dengan Metode Maserasi. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 2(3), 147–157.
- Tambun, R., Limbong, H. P., Pinem, C., & Manurung, E. (2016). Pengaruh Ukuran Partikel, Waktu Dan Suhu Pada Ekstraksi Fenol Dari Jahe. *Teknik Kimia USU, Vol. 5, No. 4 (Desember 2016)*, 5(4), 53–56.
- Tammi, A. (2015). Aktifitas Antibakteri Buah Makasar (*Brucea javanica*) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Agromed Unila*, 2(2), 99–103.
- Toy, T. S. S., Lampus, B. S., & Hutagalung, B. S. P. (2015). Uji Daya Hambat Ekstrak Rumpun Laut *Gracilaria* Sp Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus*. *E-GIGI*, 3(1).
- Tutik, T., Putri, G. A. R., & Lisnawati, L. (2022). Perbandingan Metode Maserasi , Perkolasi Dan Ultrasonik Terhadap Aktivitas Antioksidan Kulit Bawang Merah (*Allium cepa* L.). *Jurnal Ilmu Kedokteran Dan Kesehatan*, 9(3), 913–923.
- Utami, F., Novi, Nhestricia., N, Maryati., S, Tisya., T, & Maysaroh., S, (2018). Uji Aktivitas Antioksidan Dari Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora* P.) Berdasarkan Perbedaan Ekologi Dataran Tinggi Di Pulau Jawa. *Jurnal Fitofarmaka*, 8(1).

- Utami, M., Advinda, L., Violita, V., & (2022). The Effectiveness Of Noni Leaf Extract (Morinda citrifolia L.) As Antifungal Against The Growth Of Sclerotium rolfsii In Vitro. *Jurnal Serambi*, 7(2), 199–204.
- Utami, M., Widiawati, Y., & Hidayah, H. A. (2013). Keragaman dan Pemanfaatan Simplisia Nabati yang Diperdagangkan di Purwokerto. *Majalah Ilmiah Biologi Biosfera A Scientific Journal*, 30(1), 1–10.
- Utomo, S. (2016). Pengaruh Konsentrasi Pelarut (n-Heksana) Terhadap Rendeman Hasil Ekstraksi Minyak Biji Alpukat Untuk Pembuatan Krim Pelembab Kulit. *Jurnal Konversi*, 5(1), 39.
- Wulandari, S., Nisa, Y. S., Taryono, T., Indarti, S., & Sayekti, R. S. (2022). Sterilisasi peralatan dan media kultur jaringan. *Agrotechnology Innovation (Agrinova)*, 4(2), 16-19.
- Wahyuni, D. T., & Widjanarko, S. B. (2015). Pengaruh jenis pelarut dan lama ekstraksi terhadap ekstrak karotenoid labu kuning dengan metode gelombang ultrasonik. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 3(2), 390-401.
- Wahyuningsih, N., & Zulaika, E. (2019). Perbandingan Pertumbuhan Bakteri Selulolitik pada Media Nutrient Broth dan Carboxy Methyl Cellulose. *Jurnal Sains Dan Seni ITS*, 7(2), 7–9.
- Walid, M., & Putri, D. N. (2023). Skrining Senyawa Metabolit Sekunder Dan Total Fenol Kopi Robusta (Coffea canephora Pierre Ex a. Froehner) Di Daerah Petungkriyono Pekalongan. *Pena: Jurnal Ilmu Pengetahuan dan Teknologi*, 37(1), 1-10.
- Widodo, H., & Subositi, D. (2021). Penanganan dan Penerapan Teknologi Pascapanen Tanaman Obat. *Agrointek: Jurnal Teknologi Industri Pertanian*, 15(1), 253–271.
- Widowati, R., Handayani, S., & Lasdi, I. (2019). Aktivitas antibakteri minyak nilam (Pogostemon cablin) terhadap beberapa spesies bakteri uji. *Jurnal Pro-Life*, 6(3), 237-249.
- Wigati, D., & Rahardian, R. R. (2018). Penetapan standarisasi non spesifik ekstrak etanol hasil perkolasi umbi bawang dayak (Eleutherine palmifolia (L.) Merr). *Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik*, 15(2), 36-40.
- Wijaya, D. R., Paramitha, M., & Putri, N. P. (2019). C. Kata kunci: Oleoresin, jahe, ekstraksi, soklet. *Jurnal Konversi*, 8(1), 9–16.
- Yevani, F., Yasinta Moi, M., & Ernaningsih, D. (2023). Daya Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Kligong (Crassocephalum Crepidioides) terhadap Pertumbuhan Bakteri Escherichia Coli dan Staphylococcus Aureus. *Jurnal Syntax Admiration*, 4(1), 1–16.

- Yuliasari, H., Ayuningtyas, L. P., & Erminawati, E. (2023). Identifikasi senyawa bioaktif dan evaluasi kapasitas antioksidan seduhan simplisia bunga telang (*Clitoria ternatea* L.). *Jurnal Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian*, 18(1), 1-9.
- Yulinar, F., & Suharti, P. H. (2023). Seleksi Proses Ekstraksi Daun Sirih Pada Pra Rancangan Pabrik Hand Sanitizer Daun Sirih Dengan KapYulinar, F., & Suharti, P. H. (2023). Seleksi Proses Ekstraksi Daun Sirih Pada Pra Rancangan Pabrik Hand Sanitizer Daun Sirih Dengan Kapasitas Produksi 480 T. *DISTILAT: Jurnal Teknologi Separasi*, 8(1), 146–153.
- Zahara, M. (2022). Ulasan singkat: Deskripsi Kembang Telang (*Clitoria ternatea* L.) dan Manfaatnya. *Jurnal Jeumpa*, 9(2), 719–728.
- Zaini, M., & Shofia, V. (2020). Skrining Fitokimia Ekstrak *Carica papaya* radix, *Piper ornatum* folium dan *Nephelium lappaceum* Semen Asal Kalimantan Selatan. *Jurnal Kajian Ilmiah Kesehatan dan Teknologi*, 2(1), 15-27.
- Zulharmita, Z., Afrina, R., & Wahyuni, R. (2017). Ekstraksi Asam Lemak Dari Daging Buah Alpukat. *Jurnal Farmasi Higea*, 5(1), 91-97.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil determinasi tanaman



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
LABORATORIUM TERPADU FMIPA

Gedung D12, Dekanat FMIPA UNNES
Kampus Sekaran, Gunungpati, Kota
Semarang 50229
Telp. (024) 86008700 Ext. 400
Laman: <https://fmipa.unnes.ac.id>
Surel: mipa@mail.unnes.ac.id

SERTIFIKAT HASIL PENGUJIAN

Nomor: 190 /UN.37/SHP/Lab. Taksonomi Tumbuhan/IX/2023

Nama	: apt. Rizky Ardian H. Sawal, M.Farm. – NIDN: 0620029301
Instansi	: Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Nusaputra
Telepon	: 024-6747012
Identifikasi sampel	: Dua jenis tumbuhan kopi dan kembang telang
Tanggal diterima sampel	: 01 September 2023
Tanggal pengujian sampel	: 05 September 2023
Informasi Hasil Pengujian	: Hasil identifikasi adalah sebagai berikut.

TAKSON	SPESIMEN 1	SPESIMEN 2
Divisio	: Tracheophyta	: Tracheophyta
Classis	: Magnoliopsida	: Magnoliopsida
SuperOrdo	: Asteranae	: Rosanae
Ordo	: Gentianales	: Fabales
Familia	: Rubiaceae	: Fabaceae
Genus	: Coffea	: Clitoria
Species	: <i>Coffea canephora</i> Peirre ex Froehner	: <i>Clitoria ternatea</i> L.
Vern. name	: Kopi arabika/ <i>Robusta coffee</i>	: Bunga telang, Kembang telang/ <i>Asian pigeonwings, Butterfly pea</i>

Catatan: 1. Hasil yang ditampilkan hanya berhubungan dengan contoh yang diuji
2. Laporan hasil pengujian tidak boleh digandakan kecuali atas persetujuan tertulis dari laboratorium

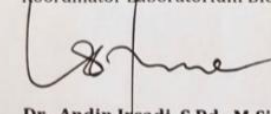
Semarang, 08 September 2023

Kepala Laboratorium Terpadu FMIPA



Dr. Sigit Priatmoko, M.Si.
NIP: 196504291991031001

Koordinator Laboratorium Biologi



Dr. Andin Irsadi, S.Pd., M.Si.
NIP: 197403102000031001

Lampiran 2. Uji kadar kelembapan serbuk



Hasil susut pengering serbuk kopi
robusta

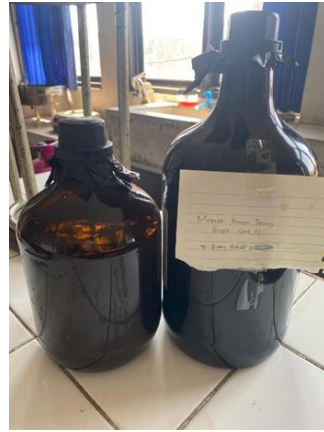


Hasil susut pengering serbuk
bunga telang

Lampiran 3. Proses ekstraksi maserasi kopi robusta dan bunga telang



Serbuk kopi robusta



Proses perendaman kopi robusta dan bunga telang



Proses penyaringan



Proses pemekatan filtrat



Hasil ekstrak kopi robusta

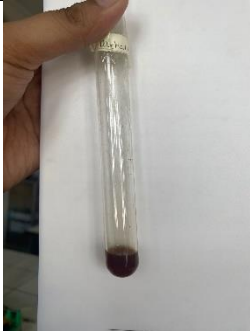
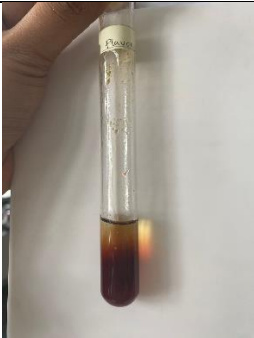


Hasil ekstrak bunga telang

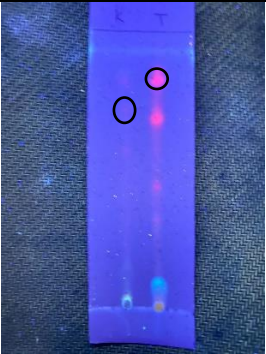
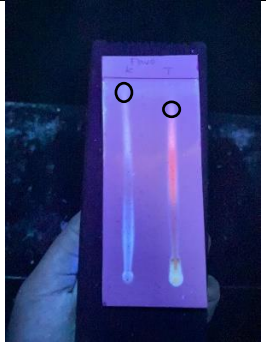
Lampiran 4. Hasil uji tabung ekstrak kopi robusta

No.	Identifikasi senyawa	Hasil	Keterangan
1.	(a) Alkaloid pereaksi dragendroff (b) Alkaloid pereaksi bouchardat	  (a) (b)	Positif
3.	Flavonoid		Positif
4.	Saponin		Positif
5.	Tanin		Positif

Lampiran 5. Uji tabung ekstrak bunga telang

No.	Identifikasi senyawa	Hasil	Keterangan
1.	(a) Alkaloid pereaksi dragendroff (b) Alkaloid pereaksi bouchardat	  (a) (b)	Positif
2.	Flavonoid		Positif
3.	Saponin		Positif
4.	Tanin		Positif

Lampiran 6. Hasil uji kromatografi lapis tipis

Senyawa	Eluen	Rf		Hasil uji
		Kopi robusta	Bunga Telang	
Alkaloid	N-Heksan : etil asetat (7:3)	0,63	0,81	
Flavonoid	Butanol : asam asetat : air (4:1:5)	0,9	0,862	
Saponin	Toluen : etil asetat (7:3)	0,775	0,875	
Tanin	Toluen : aseton : asam format (6:6:1)	0,625	0,65	

Lampiran 7. Proses pembuatan media dan uji antibakteri



Penimbangan media NA



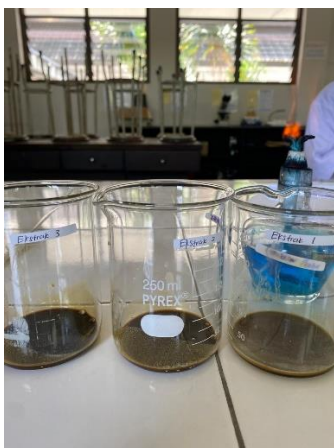
Pembuatan media NA



Proses autoclave alat dan bahan yang digunakan agar tetap steril



Pembuatan suspensi bakteri menggunakan NaCl disamakan kekeruhan dengan larutan Mc farland

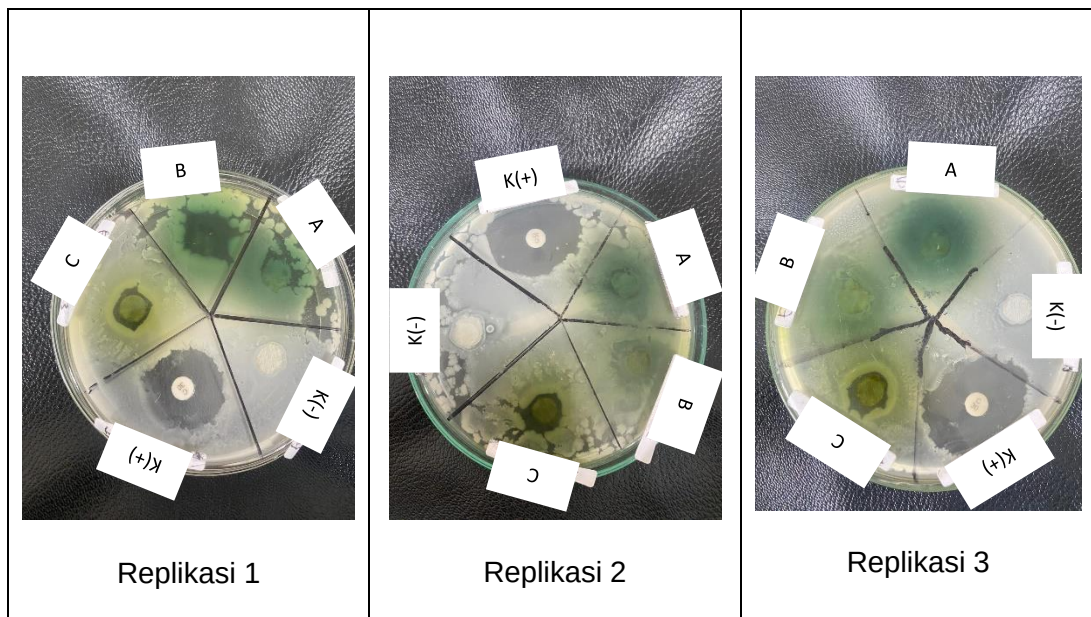


Pembuatan kombinasi ekstrak kopi robusta dan bunga telang



Penanaman bakteri *S.aureus* menggunakan metode *Spread plate*

Lampiran 8. Hasil uji aktivitas antibakteri



Keterangan :

A = 75 Ekstrak kopi robusta : 25 Ekstrak bunga telang

B = 50 Ekstrak kopi robusta : 50 Ekstrak bunga telang

C = 25 Ekstrak bunga telang : 75 Ekstrak kopi robusta

K(+) = Kontrol positif

K(-) = Kontrol negatif

Lampiran 9. Perhitungan

1. Perhitungan rendeman ekstrak

$$\begin{aligned}\text{Ekstrak kopi robusta} = \% \text{ Rendeman} &= \frac{\text{Bobot ekstrak kental (g)}}{\text{Bobot serbuk kering}} \times 100\% \\ &= \frac{51,021}{500} \times 100\% = 10,20\%\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Ekstrak bunga telang} = \% \text{ Rendeman} &= \frac{\text{Bobot ekstrak kental (g)}}{\text{Bobot serbuk kering}} \times 100\% \\ &= \frac{173,698}{900} \times 100\% = 19,29\%\end{aligned}$$

2. Perhitungan konsentrasi kombinasi

25 gram ekstrak ad 25 ml DMSO 10%

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi } 75 : 25 &= \frac{75}{100} \times 5 \text{ ml} = 3,75 \text{ ml (ekstrak kopi robusta)} \\ &= \frac{25}{100} \times 5 \text{ ml} = 1,25 \text{ ml (ekstrak bunga telang)}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi } 50 : 50 &= \frac{50}{100} \times 5 \text{ ml} = 2,5 \text{ ml (ekstrak kopi robusta)} \\ &= \frac{50}{100} \times 5 \text{ ml} = 2,5 \text{ ml (ekstrak bunga telang)}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi } 25 : 75 &= \frac{25}{100} \times 5 \text{ ml} = 1,25 \text{ ml (ekstrak kopi robusta)} \\ &= \frac{75}{100} \times 5 \text{ ml} = 3,75 \text{ ml (ekstrak bunga telang)}\end{aligned}$$

3. Perhitungan eluent dan Rf untuk KLT

Senyawa	Fase gerak	Rf Kopi robusta	Rf bunga telang
Alkaloid	N-heksan : Etil asetat (7:3) Kalibrasi : 14 ml $\text{N-heksan} = \frac{7}{10} \times 14 \text{ ml} = 9,8 \text{ ml}$ $\text{Etil asetat} = \frac{3}{10} \times 14 \text{ ml} = 4,2 \text{ ml}$	Rf : $\frac{5,1}{8}$: 0,63	Rf : $\frac{6,5}{8}$: 0,81
Flavonoid	Butanol : Asam asetat : Air (4:1:5) Kalibrasi 10 ml	Rf : $\frac{7,2}{8}$: 0,9	Rf : $\frac{6,9}{8}$: 0,862

	Butanol $= \frac{4}{10} \times 10 \text{ ml} = 4 \text{ ml}$ Asam asetat $= \frac{1}{10} \times 10 \text{ ml} = 1 \text{ ml}$ Air $= \frac{5}{10} \times 10 \text{ ml} = 5 \text{ ml}$		
Saponin	Toulen : Etil asetat (7:3) Kalibrasi 5 ml Toulen $= \frac{7}{10} \times 5 \text{ ml} = 3,5 \text{ ml}$ Etil asetat $= \frac{3}{10} \times 5 \text{ ml} = 1,5 \text{ ml}$	Rf : $\frac{6,2}{8} : 0,775$	Rf : $\frac{7}{8} : 0,875$
Tanin	Toulen : Aseton : Asam format (6:6:1) Kalibrasi 5,1 ml Toulen $= \frac{6}{13} \times 5,1 \text{ ml} = 2,3 \text{ ml}$ Aseton $= \frac{6}{13} \times 5,1 \text{ ml} = 2,3 \text{ ml}$ Asam format $= \frac{1}{13} \times 5,1 \text{ ml} = 0,5 \text{ ml}$	Rf : $\frac{5}{8} : 0,625$	Rf : $\frac{5,2}{8} : 0,65$

Lampiran 10. Uji SPSS

Tests of Normality

	Kelompok uji	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Diameter zona hambatan	Kontrol positif	.351	3	.	.827	3	.181
	Kontrol negatif	.	3	.	.	3	.
	Konsentrasi A (75:25)	.364	3	.	.800	3	.115
	Konsentrasi B (50:50)	.229	3	.	.982	3	.740
	Konsentrasi C (25:75)	.282	3	.	.936	3	.510
a. Lilliefors Significance Correction							

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Diameter zona hambatan	Based on Mean	6.952	4	10	.006
	Based on Median	.716	4	10	.600
	Based on Median and with adjusted df	.716	4	4.234	.621
	Based on trimmed mean	5.852	4	10	.011

ONEWAY

ANOVA

Diameter zona hambatan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1447.734	4	361.933	69.244	.000
Within Groups	52.270	10	5.227		
Total	1500.003	14			

POST HOC TEST

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Diameter zona hambat

Games-Howell

(I) Kelompok uji	(J) Kelompok uji	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol positif	Kontrol negatif	30.35000*	2.28528	.017	12.7668	47.9332
	Konsentrasi A (75:25)	14.25333*	2.70074	.040	1.0096	27.4970
	Konsentrasi B (50:50)	9.79000	2.29598	.146	-7.5057	27.0857
	Konsentrasi C (25:75)	11.97333	2.56730	.071	-1.7081	25.6547
Kontrol negatif	Kontrol positif	-30.35000*	2.28528	.017	-47.9332	-12.7668
	Konsentrasi A (75:25)	-16.09667*	1.43927	.024	-27.1706	-5.0227
	Konsentrasi B (50:50)	-20.56000*	.22143	.000	-22.2637	-18.8563
	Konsentrasi C (25:75)	-18.37667*	1.16985	.012	-27.3776	-9.3757
Konsentrasi A (75:25)	Kontrol positif	-14.25333*	2.70074	.040	-27.4970	-1.0096
	Kontrol negatif	16.09667*	1.43927	.024	5.0227	27.1706
	Konsentrasi B (50:50)	-4.46333	1.45621	.252	-15.1025	6.1758
	Konsentrasi C (25:75)	-2.28000	1.85474	.741	-10.7068	6.1468
Konsentrasi B (50:50)	Kontrol positif	-9.79000	2.29598	.146	-27.0857	7.5057
	Kontrol negatif	20.56000*	.22143	.000	18.8563	22.2637
	Konsentrasi A (75:25)	4.46333	1.45621	.252	-6.1758	15.1025
	Konsentrasi C (25:75)	2.18333	1.19062	.519	-6.3040	10.6706
Konsentrasi C (25:75)	Kontrol positif	-11.97333	2.56730	.071	-25.6547	1.7081
	Kontrol negatif	18.37667*	1.16985	.012	9.3757	27.3776
	Konsentrasi A (75:25)	2.28000	1.85474	.741	-6.1468	10.7068
	Konsentrasi B (50:50)	-2.18333	1.19062	.519	-10.6706	6.3040

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