

## Laporan Penelitian

### Kemampuan antibakteri ekstrak kulit buah kopi robusta dan arabika terhadap pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus*: studi eksperimental

Marina Erlysa Ishimora<sup>1</sup>  
Rendra Chriestedy Prasetya<sup>2</sup>  
I Dewa Ayu Susilawati<sup>2</sup>

\*Korespondensi:  
[rendra.fkg@unej.ac.id](mailto:rendra.fkg@unej.ac.id)

<sup>1</sup>Program Sarjana Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember, Indonesia  
<sup>2</sup>Departemen Biomedik, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember, Indonesia

Submisi: 26 Juli 2023  
Revisi : 10 Oktober 2023  
Penerimaan: 25 Oktober 2023  
Publikasi Online: 30 Oktober 2023  
DOI: [10.24198/pjdrs.v7i3.48658](https://doi.org/10.24198/pjdrs.v7i3.48658)

#### ABSTRAK

**Pendahuluan:** Kulit buah kopi, baik robusta maupun arabika, merupakan hasil sampingan proses pengolahan kopi metode kering yang dianggap sebagai limbah. Limbah tersebut mengandung metabolit sekunder golongan alkaloid, senyawa fenol, saponin, dan terpenoid yang berpotensi sebagai agen antibakteri terapi penyakit di rongga mulut. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kemampuan antibakteri ekstrak kulit buah kopi (EKBK) robusta (R) dan arabika (A) terhadap pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus* (*L. acidophilus*). **Metode:** Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris *in vitro* dengan rancangan *the posttest only control group design*. Kulit buah hasil pengolahan cara kering di ekstraksi dan maserasi dengan etanol 96% (1:5) selama 3 hari. Uji antibakteri menggunakan metode *agar-well diffusion* dengan inokulasi *pour plate method* pada dua kelompok penelitian, yaitu EKBKR dan EKBKA dengan enam sub kelompok masing-masing konsentrasi ekstrak 250, 500, 750, dan 1000 mg/ml, akuades steril (kontrol negatif), dan *chlorhexidine gluconate* 0,1% (kontrol positif). Parameter penelitian berupa diameter zona hambat (bakterisidal dan bakteriostatik) (mm) yang dihitung dengan jangka sorong digital. Data dianalisis dengan uji *Saphiro-Wilk*, *Levene-Test*, *Kruskal-Wallis* diikuti *Mann-Whitney* menggunakan SPSS 26.0. **Hasil:** EKBKR memiliki kemampuan bakterisidal dan bakteriostatik terhadap *L. acidophilus* pada [250 mg/ml], [500 mg/ml], [750 mg/ml], dan [1000 mg/ml]. EKBKA memiliki kemampuan antibakteri yang secara signifikan lebih lemah ( $p < 0,05$ ) daripada EKBKR. EKBKA hanya memiliki aktivitas bakterisidal pada [1000 mg/ml] dan bakteriostatik pada [750 mg/ml]. **Simpulan:** EKBKR dan EKBKA memiliki kemampuan antibakteri terhadap pertumbuhan *L. acidophilus* dengan daya hambat EKBKR lebih kuat dibandingkan EKBKA.

**KATA KUNCI:** *agar-well diffusion*, *chlorhexidine gluconate*, ekstrak etanol 96%, *pour-plate inoculation*.

### Antibacterial activities of robusta and arabica coffee husk extracts against *Lactobacillus acidophilus*: an experimental study

#### ABSTRACT

**Introduction:** Coffee husks (CHs), both Robusta and Arabica, are major dry coffee processing by-products and were considered waste. This waste contains secondary metabolites, such as alkaloids, phenolic compounds, saponins, and terpenoids, and hence has potential as an antibacterial agent for treating oral disease. This research aims to analyze the antibacterial activity of robusta and arabica coffee husk extracts (CHE) against *Lactobacillus acidophilus*. **Methods:** This research used *in-vitro* laboratory experimental research with a *post-test only control group design*. CHs were extracted using a maceration process with 95% ethanol (1:5) for three days. The antibacterial test was conducted using *agar-well diffusion* through a *pour plate inoculation* method in two groups of the research: RCHE and ACHE, with six sub-group of each extract concentration of 250, 500, 750, 1000 mg/ml, negative control (sterile distilled water), and positive control (*chlorhexidine gluconate* 0,1%). The diameter of the inhibition zone (bactericidal and bacteriostatic zone) (mm) was the parameter of the antibacterial test, which was calculated with a digital caliper. Data were analyzed by the *Saphiro-Wilk*, *Levene-Test*, *Kruskal-Wallis*, and followed by *Mann-Whitney* using SPSS 26.0. **Results:** RCHE had bactericidal and bacteriostatic activity on *L. acidophilus* at [250 mg/ml], [500 mg/ml], [750 mg/ml], and [1000 mg/ml] doses. Conversely, ACHE had significantly weaker antibacterial activity ( $p < 0.05$ ) in comparison with RCHE. ACHE only showed bactericidal activity at the [1000 mg/ml] dose and bacteriostatic activity at the [750 mg/ml] dose. **Conclusions:** RCHE and ACHE have antibacterial activity against *L. acidophilus*; additionally, RCHE has a more potent inhibition capacity than ACHE.

**KEY WORDS:** *agar-well diffusion*, *chlorhexidine gluconate*, ethanol extracts, *pour-plate inoculation*.

## PENDAHULUAN

Kopi sebagai salah satu unggulan komoditas perkebunan berperan penting dalam perekonomian Indonesia. Jember sebagai salah satu produsen terbesar kopi setelah Malang dan Banyuwangi, berhasil memproduksi 3.196 ton kopi robusta dan 1.215 kopi arabika pada tahun 2020.<sup>1</sup> Kedua jenis kopi ini setiap tahunnya terus mengalami peningkatan produksi dikarenakan selain kondisi iklim dan tanah yang cocok untuk tempat tumbuh, kopi juga memiliki nilai ekonomis dan peluang bisnis yang sangat menjanjikan bagi Jember. Biji kopi merupakan salah satu bagian dari kopi yang paling banyak dimanfaatkan oleh masyarakat, sedangkan bagian lainnya sangat kurang dan dianggap sebagai limbah. Limbah hasil pengolahan kopi dapat berupa kulit buah basah, kulit gelondong kering, cangkang kering, dan limbah cair mengandung lendir.<sup>2</sup> Pengolahan 1 ton buah basah kopi akan menghasilkan  $\pm 200$  kg kulit kopi kering atau dari produksi 1 kg biji kopi akan dihasilkan juga 1kg kulit kopi.<sup>3</sup> Jumlah tersebut akan terus terakumulasi dikarenakan pemanfaatannya hanya terbatas sebagai pakan ternak yang dijual murah ataupun dibuang langsung di sekitar tanaman oleh masyarakat.

Kulit buah kopi robusta dan arabika secara fitokimia mengandung metabolit sekunder seperti senyawa fenol, alkaloid, saponin, dan terpenoid yang dapat dimanfaatkan sebagai agen antibakteri.<sup>4,5</sup> Bahan alam tersebut telah terbukti mampu menghambat pertumbuhan berbagai jenis bakteri, baik Gram positif maupun negatif dengan mekanisme aktivitas antibakteri yang berbeda satu sama lain.<sup>6-9</sup> Aktivitas antibakteri dapat mengganggu metabolisme-bakteri yang berujung pada kematian sel bakteri tersebut, termasuk salah satunya *Lactobacillus acidophilus*. Bakteri ini termasuk flora normal rongga mulut, tetapi bersifat kariogenik yang banyak ditemukan pada saliva, dorsum lidah, lesi karies, dental plak, dan mukosa.<sup>10</sup> Bakteri menjadi kariogenik ketika kebersihan rongga mulut buruk yang didukung dengan konsumsi gula berlebih dalam waktu yang lama sehingga keseimbangan rongga mulut terganggu menyebabkan gigi rentan terhadap karies.

Bakteri *L. acidophilus* berhubungan langsung dengan karies karena memiliki karakteristik khusus dalam patogenesis karies, yaitu (a) asidogenik, menghasilkan asam laktat dari fermentasi karbohidrat yang dapat menurunkan pH rongga mulut hingga di bawah 4-5 sehingga menyebabkan demineralisasi gigi (b) Asidurik, mampu hidup dalam pH rendah hingga 2,2 sehingga proses fermentasi dan demineralisasi terus berlanjut dan kavitas karies yang terbentuk semakin dalam serta melebar. (c) Hidrofobisitas, mampu menghindari atau menjauh dari media cair sehingga adhesi bakteri pada dental plak tetap terjaga. Adhesi ini juga dibantu oleh *S-layer* protein pada dinding sel menyebabkan lapisan gigi yang rusak oleh asam yang dihasilkan semakin parah. (d) Produksi matriks ekopolisakarida, protein bersifat lengket yang berperan dalam proses adhesi ke permukaan gigi sehingga proses kolonisasi dan maturasi karies terus terjadi.<sup>11,12</sup>

Metode yang banyak digunakan untuk menghambat perlekatan *L. acidophilus* pada permukaan di rongga mulut adalah dengan obat kumur *chlorhexidine gluconate* (CHX), yang memiliki efek bakteristatik, bakterisidal, dan fungisidal.<sup>13</sup> Penggunaan secara terus-menerus CHX perlu diwaspadai, karena bahan ini berisiko menyebabkan perubahan pengecatan sementara, *stain* pada permukaan gigi, mukosa oral, dan bahan restorasi dental.<sup>14</sup> Berdasarkan hal tersebut, pemanfaatan kulit buah kopi diduga berpotensi sebagai alternatif agen antibakteri tambahan berbahan alam yang memberikan efek samping penggunaan bahan obat dalam jangka panjang. Penelitian menggunakan kulit buah kopi sebagai agen antibakteri terhadap *L. acidophilus* masih belum dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kemampuan antibakteri EKBK robusta (R) dan arabika (A) terhadap pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus*.

## METODE

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris *in vitro* dengan rancangan *the posttest only control group design* yang dilakukan di Laboratorium *Biosciences* RSGM Universitas Jember. Penelitian ini terdiri dari dua kelompok, yaitu robusta dan arabika. Kelompok robusta terdiri dari enam sub kelompok, yaitu EKBK R 250, EKBK R 500, EKBK R 750, dan EKBK R 1000, kontrol negatif (aquades steril), dan kontrol positif (CHX 0,1%). Kelompok arabika terdiri dari enam sub kelompok, yaitu EKBK A 250, EKBK A 500, EKBK A 750, dan EKBK A 1000 mg/ml, kontrol negatif (aquades steril), dan kontrol positif (CHX 0,1%). Penelitian dilakukan pada bulan Januari-April 2023.

Material bahan yang digunakan yaitu kulit buah kopi robusta dan arabika (Rumah Kopi Banjarsengon, Jember Jawa Timur), *Lactobacillus acidophilus* (FNCC-0051), akuades steril (Otsuka, Indonesia), etanol 96% (*no brand*), alkohol 70% (OneMed, Indonesia), *Chlorhexidine gluconate* 0,2% (Minosep Indonesia), media pengecatan Gram (Mediss, Indonesia), *Mueller-Hinton Agar* (MHA) (Oxoid, UK), *Mueller-Hinton Broth* (MHB) (Oxoid, UK).

Alat yang digunakan, yaitu blender (Miyako, Indonesia), ayakan 60 mesh (Medicalogy, Indonesia), timbangan analitik (Adam PW 214, Indonesia), tabung erlenmeyer (Duran, Germany), kertas saring Whatman No. 40 (Whatman, UK), *petri dish* ukuran 11 mm (Steriplan, Germany), *sterile borer*, *rotary evaporator* (Heidolph, Germany), *vortex* (Labinco, Netherlands), autoklaf (Gemmy, Taiwan), jangka sorong digital (Taffware, Indonesia).

Persiapan kulit buah kopi kulit buah kopi robusta dan arabika berasal dari buah kopi matang berwarna merah seragam yang bebas dari cacat, penyakit, pecah, ataupun berlubang dari Perkebunan Kopi Banjarsengon, Jember, Jawa Timur. Buah kopi diolah dengan cara kering (*dry process*) dan dipisahkan kulit buah kering dengan bijinya (*hulling*) (Gambar 1a dan 1b). Selanjutnya, kulit buah kopi dikeringkan dengan diangin-anginkan tanpa terkena cahaya matahari langsung selama tiga hari.

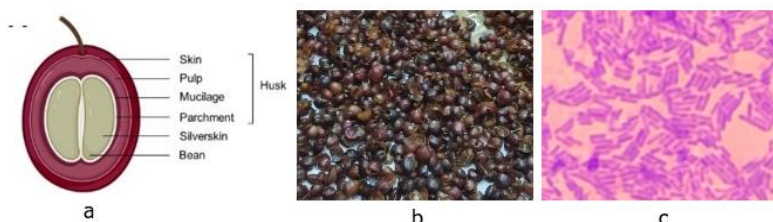
Persiapan EKBK, Kulit buah kopi kering dihaluskan dengan blender dan diayak dengan saringan 60 mesh. Sebanyak 400 gram bubuk diekstraksi maserasi menggunakan etanol 96% (1:5) selama 3x24 jam dan diaduk selama 5 menit setiap harinya. Hasil maserasi difiltrasi dengan kertas saring *Whatman* No. 40 hingga dihasilkan filtrat jernih. Selanjutnya, pelarut dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* dengan kecepatan 125 rpm pada suhu maksimal 50°C. Hasil akhir didapatkan EKBK pekat 100% sebanyak 9,1 gram. Pengenceran dilakukan menjadi dua kelompok dengan konsentrasi berat/volume (%b/v), yaitu kelompok robusta: EKBK R [250 mg/ml], EKBK R [500 mg/ml], EKBKR [750 mg/ml], EKBKR [1000 mg/ml] dan kelompok arabika: EKBKA [250 mg/ml], EKBKA [500 mg/ml], EKBKA [750 mg/ml], EKBKA [1000 mg/ml].<sup>15</sup>

Persiapan Identifikasi *Lactobacillus acidophilus* FNCC-0051 dengan pewarnaan Gram menunjukkan hasil Gram positif, sel berwarna ungu seragam tanpa kontaminasi bakteri lain (Gambar 1c). Bakteri selanjutnya dikultur di dalam MHA selama 48 jam pada suhu 37°C. Suspensi bakteri setara dengan standar 0,5 McFarland dibuat dengan mencampurkan 4-5 koloni bakteri dengan 50 ml MHB yang kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C.

Inokulasi menggunakan metode tuang (*pour plate*), yaitu dengan mencampurkan 36 ml suspensi *L. acidophilus* ke dalam 300 ml MHA. Homogenkan dan pertahankan pada suhu 44-46°C di atas *hot plate stirrer* untuk mencegah memadatnya MHA sehingga seluruh bakteri dapat tersebar merata. Setelah homogen, tuang sebanyak 25 ml ke dalam empat *petridish* berukuran 11 mm dan tunggu selama  $\pm 3$  jam hingga memadat serta siap digunakan.

Uji antibakteri menggunakan metode difusi sumur agar (*agar-well* diffusion) oleh Senthil dan Pavithra *et al.*,<sup>16</sup> dengan modifikasi. Lubang sumur berdiameter 6 mm dibuat menggunakan cetakan steril dengan ketentuan jarak 2 cm dari tepi *petridish* dan 3 cm antar lubang sumur. Sebanyak 30  $\mu$ l bahan uji dimasukkan ke dalam lubang sumur menggunakan mikropipet sesuai dengan label, yaitu kelompok EKBKR dan EKBKA dengan masing-masing konsentrasi 250, 500, 750, dan 1000 mg/ml serta kontrol negatif (K-) akuades steril dan kontrol positif (K+) CHX 0,1%. Inkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Parameter aktivitas antibakteri ditentukan dengan menghitung zona hambat (bakteriostatik dan bakterisidal) yang terbentuk di sekitar lubang sumur menggunakan jangka sorong digital oleh tiga orang pengamat. Zona hambat selanjutnya dikategorikan menurut Susanto *dkk.*,<sup>17</sup> menjadi lemah ( $\leq 5$  mm), sedang (6-10 mm), kuat (11-20 mm), dan sangat kuat ( $\geq 21$  mm).

Analisis data seluruh data dianalisis menggunakan *Statistical Product and Service Solutions* (SPSS) seri 26.0 dengan terlebih dahulu melakukan uji normalitas *Saphiro-Wilk* dan uji homogenitas *Levene*. Uji non parametrik *Kruskal-Wallis* kemudian dilakukan diikuti uji *Mann-Whitney* untuk menentukan kelompok mana yang memiliki perbedaan secara signifikan ( $p < 0,05$ ).



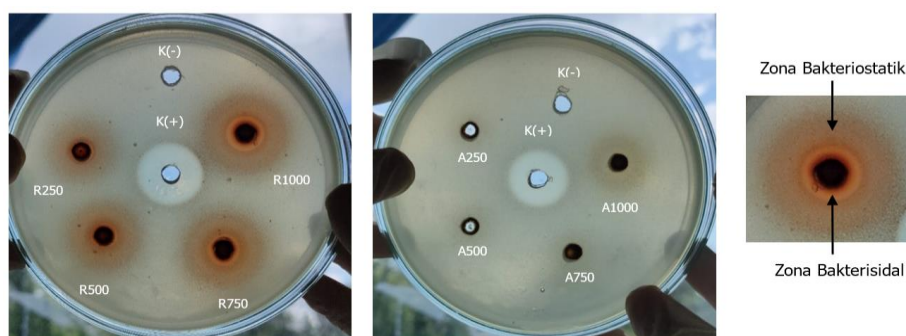
**Gambar 1.** Morfologi Buah Kopi dan *L. acidophilus*, (a) Ilustrasi anatomi buah kopi,<sup>18</sup> (b) *Coffee husks* hasil pengolahan metode kering, dan (c) Hasil pewarnaan Gram *L. acidophilus* menunjukkan Gram positif berwarna ungu seragam berbentuk batang tanpa kontaminasi bakteri.

## HASIL

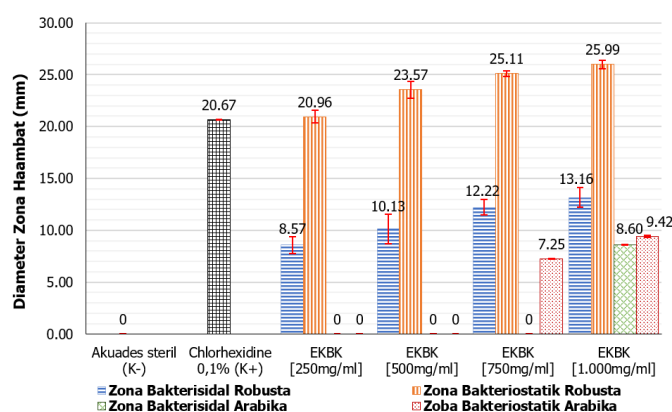
Hasil penelitian menunjukkan terdapat dua zona yang terbentuk di sekitar lubang sumur, yaitu zona bakterisidal (*radical*) dan zona bakteriostatik (*irradical*) (Gambar 2).<sup>19-21</sup> Zona radikal merupakan daerah bening di sekitar lubang sumuran yang sama sekali tidak ditemukan pertumbuhan bakteri sehingga bahan uji bersifat bakterisidal. Namun, zona irradikal mengindikasikan bahan uji bersifat bakteriostatik karena hanya menghambat pertumbuhan bakteri sehingga masih terdapat bakteri yang terlihat di sekitar lubang sumuran.

EKBKR menunjukkan aktivitas bakterisidal terhadap *L. acidophilus* pada konsentrasi 250, 500, 750, dan 1000 mg/ml dengan diameter zona hambat sebesar 8,47; 10,13; 12,22; dan 13,16 mm serta aktivitas bakteriostatik pada konsentrasi yang sama sebesar 20,96; 23,57; 25,11 dan 25,99 mm (Gambar 3). Diameter zona hambat semakin besar seiring dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak dengan diameter terbesar dimiliki oleh EKBKR [1000 mg/ml] pada kedua zona. Berdasarkan klasifikasi zona hambat oleh Susanto *dkk.*,<sup>17</sup> daya hambat zona bakterisidal EKBKR [250 mg/ml] dan [500 mg/ml] termasuk sedang, sedangkan EKBKR [750 mg/ml] dan [1000 mg/ml] termasuk kategori kuat. Seluruh konsentrasi zona bakteriostatik EKBKR tergolong sangat kuat dalam menghambat *L. acidophilus*.

EKBKA menunjukkan aktivitas bakterisidal pada [1000 mg/ml] (8,6mm) serta aktivitas bakteriostatik pada [750 mg/ml] (7,2 mm) dan [1000 mg/ml] (9,42 mm) dalam menghambat *L. acidophilus* (Gambar 3). Daya hambat EKBKA adalah sedang untuk kedua zona pada [750 mg/ml] dan [1000 mg/ml]. Kontrol positif (K+) CHX 0,1% menunjukkan aktivitas bakterisidal dengan rerata diameter sebesar 20,67mm, sedangkan kontrol negatif (K-) akuades steril tidak (0 mm).

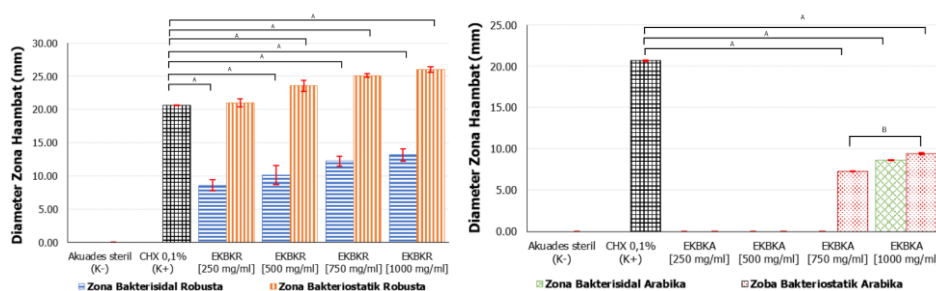


**Gambar 2.** Aktivitas antibakteri EKBK. (a) robusta dan (b) arabika terhadap pertumbuhan *L. acidophilus*, (c) gambaran magnifikasi zona hambat. K(-): kontrol negatif aquades steril, K(+): CHX 0,1%, R250: EKBKR [250 mg/ml], R500: EKBKR [500 mg/ml], R750: EKBKR [750 mg/ml], R1000: EKBKR [1000 mg/ml], A250: EKBKA [250 mg/ml], A500: EKBKA [500 mg/ml], A750: EKBKA [750 mg/ml], A1000: EKBKA [1000 mg/ml].



**Gambar 3.** Aktivitas antibakteri EKBK robusta dan arabika terhadap *L. acidophilus* dengan metode *agar-well diffusion*.

Hasil analisis rerata diameter zona hambat yang terbentuk menunjukkan bahwa data berdistribusi normal ( $p > 0,05$ ) dan tidak homogen ( $p < 0,05$ ). Analisis dilanjutkan dengan uji non parametrik *Kruskal-Wallis* yang menunjukkan hasil  $p < 0,05$ . Uji *Mann-Whitney* kemudian dilakukan untuk menentukan kelompok mana yang memiliki perbedaan secara signifikan yang tertera pada Gambar 4.



**Gambar 4.** Hasil analisis aktivitas antibakteri EKBKR dan EKBKA terhadap *L. acidophilus* dengan metode *agar-well diffusion*. <sup>A</sup>: perbedaan signifikan  $p < 0,05$  terhadap kontrol positif (K+) CHX 0,1%; <sup>B</sup>: perbedaan signifikan  $p < 0,05$  antar konsentrasi EKBKA.

Hasil uji *Mann-Whitney* EKBKR menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ) antara zona bakterisidal kontrol positif K(+) dan EKBKR [250 mg/ml] serta [750 mg/ml] dengan seluruh kelompok perlakuan penelitian (Gambar 4a). Namun, pada zona yang sama, perbedaan yang tidak signifikan ( $p > 0,05$ ) ditemukan antara konsentrasi EKBKR [250 mg/ml] dengan [500 mg/ml] dan EKBKR [750 mg/ml] dengan [1000 mg/ml]. Hasil uji analisis zona bakteriostatik EKBKR menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan ( $p < 0,005$ ) pada keseluruhan kelompok penelitian, kecuali antara kontrol positif K(+) dengan EKBKR [250 mg/ml].

Hasil uji *Mann-Whitney* EKBKA menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ) antara zona bakterisidal kontrol positif K(+) dengan EKBKA [1000 mg/ml] (Gambar 4b). Zona bakteriostatik EKBKA juga menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ) antara kontrol positif K(+) dengan EKBKA [750 mg/ml] dan [1000 mg/ml] serta antara EKBKA [1000 mg/ml] dengan [750 mg/ml].

Kemampuan antibakteri EKBKR memiliki perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ) dengan EKBKA dalam menghambat *L. acidophilus* pada [750 mg/ml] dan [1000 mg/ml].

## PEMBAHASAN

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa EKBKR memiliki kemampuan antibakteri terhadap *L. acidophilus*. Hal tersebut terlihat dari terbentuknya zona hambat berupa bakterisidal dan bakteristatik di sekitar lubang sumur pada konsentrasi 250, 500, 750, dan 1000 mg/ml. Zona bakterisidal berbentuk daerah bening bebas bakteri dengan batas jelas di sekitar lubang sumur, sedangkan zona bakteristatik tampak keruh dengan batas tidak jelas di luar zona bakterisidal.<sup>20</sup> Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Kusumawardhani dan Harahap dkk.,<sup>6</sup> bahwa EKBKR mampu menghambat pertumbuhan beberapa bakteri Gram positif, seperti *S. mutans*, *S. aureus*, dan *L. acidophilus* dengan metode *agar paper-disk diffusion*. Zona bening terbentuk di sekitar kertas cakram pada bakteri uji *S. mutans* dan *S. aureus*, sedangkan zona keruh terbentuk pada *petridish* berisi *L. acidophilus*.<sup>15</sup>

EKBKA juga terbukti memiliki kemampuan antibakteri terhadap *L. acidophilus* dengan terbentuknya zona bakterisidal pada [750 mg/ml] serta zona bakteristatik pada konsentrasi [750 mg/ml] dan [1000 mg/ml]. Hasil penelitian ini didukung oleh Aulah *et al.*,<sup>9</sup> dan Duangjai *et al.*,<sup>22</sup> bahwa EKBKA memiliki kemampuan antibakteri terhadap bakteri Gram positif seperti *S. aureus* dan *S. epidermis* dengan metode *agar paper-disk diffusion*. Zona bening terbentuk di sekitar kertas cakram pada *petridish* berisi *S. aureus*, sedangkan *petridish* berisi *S. epidermis* menunjukkan hasil sebaliknya.

Berdasarkan hasil penelitian, terdapat perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ) antara EKBKR dengan EKBKA dalam menghambat *L. acidophilus* pada [750 mg/ml] dan [1000 mg/ml]. Hal tersebut dipengaruhi oleh perbedaan metabolit sekunder pada masing-masing ekstrak sehingga aktivitas antibakteri yang dimiliki juga berbeda. Kulit buah kopi robusta dan arabika mengandung senyawa polifenol, alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan terpenoid dengan mekanisme antibakteri yang berbeda satu sama lain.<sup>5,8</sup> Namun, kandungan senyawa polifenol pada kulit buah kopi robusta lebih tinggi daripada arabika.<sup>23</sup> Hal tersebut menyebabkan kemampuan EKBKR dalam menghambat bakteri lebih kuat sehingga zona hambat yang terbentuk juga semakin besar seperti pada hasil penelitian.

Aktivitas antibakteri kulit buah kopi diduga berhubungan dengan kandungan metabolit sekunder di dalamnya. Kemampuan antibakteri alkaloid terjadi karena senyawa tersebut mampu menyebabkan mendepolarisasi dinding sel, melakukan interkalasi pada DNA bakteri, dan menghambat transkripsi mRNA.<sup>24</sup> Alkaloid dapat berikatan dengan asam amino peptidoglikan dinding sel yang berfungsi sebagai pelindung dan penjaga tekanan intrasel. Hal tersebut menyebabkan ketidakseimbangan kondisi lingkungan di dalam dengan di luar sel bakteri mengakibatkan dinding sel tidak berbentuk sempurna dan terjadi kebocoran hingga terkeluarnya seluruh komponen intraseluler bakteri.

Flavonoid sebagai salah satu senyawa polifenol yang diduga terdapat di dalam kulit buah kopi memiliki tiga mekanisme antibakteri, yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel, dan menghambat metabolisme energi.<sup>25</sup> Mekanisme tersebut dipengaruhi oleh gugus fungsional cincin A dan B flavonoid yang mampu membentuk ikatan hidrogen dengan bakteri. Sintesis asam nukleat bakteri berhasil dihambat oleh ikatan tersebut sehingga terjadi penumpukan asam nukleat. Flavonoid juga mampu merusak fungsi membran sel sehingga terjadi perbedaan tekanan di dalam dan di luar sel menyebabkan kebocoran sel. Dalam menghambat metabolisme energi, senyawa ini mampu mempengaruhi fungsi membran sel menyebabkan proses transpor nutrisi dan metabolit sel terganggu. Hal ini menyebabkan pasokan energi untuk bakteri terhambat sehingga metabolisme bakteri tidak terjadi.

Senyawa polifenol di dalam kulit buah kopi diduga dapat mengganggu permeabilitas dinding sel dan fungsi membran sitoplasma.<sup>7</sup> Aktivitas ini diperantarai oleh ikatan hidrogen yang terjadi antara gugus hidroksil senyawa polifenol dengan peptidoglikan dinding sel menyebabkan pembentukan penggabungan ikatan asam N-asetilmuramat dengan peptida tidak terjadi. Hal ini mengakibatkan sintesis dinding sel terhambat serta tidak terbentuk secara sempurna hingga terjadi lisisnya sel. Selain itu, senyawa polifenol juga dapat berikatan dengan senyawa non polar berupa fosfolipid di membran sel. Akibatnya, fosfolipid terpecah sehingga permeabilitas membran meningkat menyebabkan terganggunya keseimbangan di dalam sel yang diikuti dengan keluarnya makromolekul dari dalam sel.

Saponin sebagai salah satu metabolit sekunder kulit buah kopi bersifat seperti deterjen yang mampu menurunkan tegangan permukaan sel serta meningkatkan permeabilitas membran sel.<sup>15</sup> Akibatnya, bakteri mengalami lisis karena seluruh komponen intraseluler dari dalam sel keluar. Aktivitas antibakteri tanin terlihat dari kemampuannya yang dapat menghambat sintesis dinding sel dan mengganggu permeabilitas membran sel dengan cara menonaktifkan enzim untuk sintesis dinding sel atau dengan berikatan pada peptidoglikannya.<sup>26</sup> Selain itu, senyawa ini juga mampu meningkatkan permeabilitas membran sel yang berakibat pada lisisnya bakteri. Terpenoid dalam jumlah sedikit dalam kulit buah kopi juga memiliki kemampuan antibakteri dengan menyebabkan rusaknya ikatan senyawa lipofilik di membran sel bakteri.<sup>27</sup> Permeabilitas dinding sel yang terganggu berujung pada lisisnya sel bakteri.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa zona bakteristatik yang terbentuk lebih besar daripada zona bakterisidal. Hal tersebut terjadi karena pada fase awal inkubasi, metode *agar-well diffusion* memfasilitasi EKBK untuk berkontak langsung dengan agar sehingga difusi segera terjadi tanpa adanya penghalang menyebabkan ekstrak bekerja maksimal dalam menghambat bakteri.<sup>28</sup> Sementara itu, *L. acidophilus* masih berada dalam fase lag, yaitu proses adaptasi dengan lingkungannya pada 0-3 jam pertama sehingga pertumbuhan bakteri belum optimal dan zona bakterisidal terbentuk sempurna.<sup>29</sup> Seiring berjalannya waktu inkubasi, *L. acidophilus* memasuki fase logaritmik sehingga terjadi perbanyakan bakteri yang diikuti dengan tingginya keperluan energi. Hal ini menyebabkan bakteri melakukan fermentasi karbohidrat untuk mendapatkan energi serta menghasilkan bakteriosin, asam organik (asam laktat dan asetat), dan karbondioksida sebagai produk akhir.<sup>30</sup> Asam yang dihasilkan menyebabkan pH lingkungan turun sehingga menghambat kemampuan antibakteri yang dimiliki oleh EKBK. Lamanya waktu inkubasi menyebabkan zona bakteristatik yang terbentuk lebih besar daripada zona bakterisidal.

Kemampuan antibakteri EKBK juga berkaitan dengan proses ekstraksi dan uji antibakteri yang digunakan. Pemakaian etanol 96% pada proses ekstraksi maserasi bertujuan untuk mencari metabolit sekunder di dalam kulit buah kopi secara maksimal. Etanol 96% bersifat semi polar dibandingkan air dan metanol sehingga senyawa polar dan non polar seperti senyawa fenol, alkaloid, tanin, terpen, fitosterol, dan asam lemak dapat terekstraksi lebih banyak.<sup>31</sup> Kedua senyawa tersebut dapat bekerja secara sinergis dalam menghambat *L. acidophilus*. Inokulasi

metode tuang (*pour-plate inoculation*) dilakukan agar aktivitas bakteri terjadi secara menyeluruh hingga ke dalam agar sehingga tepi zona hambat yang terbentuk reguler dan merata serta bakteri tumbuh banyak dan tersebar.<sup>32</sup>

Kontrol positif (K+) CHX 0,1% yang diencerkan dilakukan untuk memperkecil diameter zona hambat tanpa mengurangi kemampuan antibakteri pada penelitian ini. Hal ini didukung oleh Vintimilla *et al.*,<sup>33</sup> bahwa pengenceran CHX 4% menjadi 2% dengan akuades steril menghasilkan zona hambat yang lebih kecil. Aktivitas antibakteri CHX diperantarai oleh ikatan antara muatan positif CHX dengan muatan negatif fosfat pada dinding bakteri menyebabkan molekul CHX berpenetrasi masuk ke dalam sitoplasma bakteri hingga menimbulkan kematian. Lubang sumuran di sekitar kontrol negatif (K-) akuades steril tidak terbentuk zona hambat (0 mm). Hal ini dikarenakan akuades steril merupakan air hasil penyulingan bersifat netral dan tidak memiliki senyawa aktif yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri.<sup>34</sup>

Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan ( $p>0,05$ ) antara zona bakteriostatik EKBKR [250 mg/ml] dengan kontrol positif (K+) CHX 0,1%. Zona bakteriostatik EKBKR [250 mg/ml] memiliki klasifikasi daya hambat kuat yang sebanding dengan CHX 0,1%. Ekstrak tersebut tidak dapat menggantikan peran CHX dalam menghambat *L. acidophilus* dikarenakan CHX merupakan antiseptik dengan spektrum luas yang mampu menghambat ataupun membunuh mikroorganisme di rongga mulut. Penggunaan CHX secara terus-menerus dapat mengganggu keseimbangan flora normal rongga mulut sehingga EKBKR dapat digunakan sebagai alternatif agen antibakteri yang berpotensi dikombinasikan dengan CHX.

Penggunaan EKBKR robusta sebagai agen antibakteri sejalan dengan konsep *green dentistry* dan *zero waste*. Penerapan *green dentistry* tidak hanya berfokus pada kesehatan pasien, tetapi juga lingkungan dan bumi dalam pemanfaatan teknologi, prosedur, dan bahan di kedokteran gigi.<sup>35</sup> Hal tersebut berdampak pada berkurangnya limbah kopi yang tidak dimanfaatkan secara signifikan sehingga pencemaran lingkungan juga dapat dicegah. Selain itu, limbah kopi yang diubah menjadi produk baru juga memberikan peluang usaha karena memiliki nilai jual bagi masyarakat, terutama petani kopi.

## SIMPULAN

Ekstrak kulit buah kopi robusta dan arabika memiliki kemampuan antibakteri terhadap pertumbuhan *L. acidophilus* dengan daya hambat ekstrak kulit buah kopi robusta lebih kuat daripada arabika.

**Kontribusi Penulis:** Kontribusi peneliti "Konseptualisasi, M.E.I., R.C.P., dan I. D. A. S.; metodologi, M.E.I.; perangkat lunak, M.E.I.; validasi, M.E.I., R.C.P., dan I. D. A. S.; analisis formal, M.E.I.; investigasi, M.E.I., R.C.P., dan I. D. A. S.; sumber daya, M.E.I.; kurasi data, M.E.I.; penulisan penyusunan draft awal, M.E.I., R.C.P., dan I. D. A. S.; penulisan tinjauan dan penyuntingan, M.E.I., R.C.P., dan I. D. A. S.; visualisasi, M.E.I.; supervisi, R.C.P., dan I. D. A. S.; administrasi proyek, I. D. A. S.; perolehan pendanaan, M.E.I. Semua penulis telah membaca dan menyetujui versi naskah yang diterbitkan."

**Pendanaan:** Penelitian ini dibiayai secara mandiri oleh penulis.

**Pernyataan persetujuan etik:** tidak ada karena tidak meneliti terhadap manusia dan hewan

**Pernyataan Ketersediaan Data:** Ketersediaan data penelitian ini akan diberikan seizin semua penulis melalui email korespondensi sesuai dengan kode etik penelitian yang berlaku.

**Konflik Kepentingan:** Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan dalam penelitian.

## DAFTAR PUSTAKA

- Direktorat Jenderal Perkebunan. Statistik Perkebunan Non Unggulan Nasional 2020-2022. Jakarta: Kementerian Pertanian; 2020. h. 1–572.
- Widyotomo S. Potency and Technology of Coffee Trash Diversification Product to Increase Good Quality and Added Value. Review Penelitian Kopi dan Kakao. 2013; 1(1): 63–80.
- Indra Wardhana D, Ruriani E, Nafi A. Karakteristik Kulit Kopi Robusta Hasil Samping Pengolahan Metode Kering dari Perkebunan Kopi Rakyat Di Jawa Timur. Agrotrop. 2019; 17(2): 220–9. DOI: [10.32528/agrotrop.v17i2.2569](https://doi.org/10.32528/agrotrop.v17i2.2569)
- Oliveira LS, Franca AS. An Overview of the Potential Uses for Coffee Husks. In: Coffee in Health and Disease Prevention. Brazil: Academic Press; 2015. hal. 283–91. DOI: [10.1016/B978-0-12-409517-5.00031-0](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409517-5.00031-0)
- Ridwan Harahap M. Identifikasi Daging Buah Kopi Robusta (Coffea Robusta) Berasal dari Provinsi Aceh. Elkawnie: Journal of Islamic Science and Technology. 2017; 3(2): 201–10. DOI: [10.22373/ekw.v3i2.2770](https://doi.org/10.22373/ekw.v3i2.2770)
- Ridwan Harahap M. Aktivitas Daya Hambat Limbah Daging Buah Kopi Robusta (Coffea robusta L.) Aceh terhadap Bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Jurnal Kesehatan. 2018;9(1):93–8. DOI: [10.26630/jk.v9i1.759](https://doi.org/10.26630/jk.v9i1.759)
- Rante H, Subehan, Wulandari R, Evary YM. Antibacterial Activity of Robusta Coffee (Coffea robusta L.) Peel Extract Against Human Pathogenic Bacteria. Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences. 2021;9(2):264–8. DOI: [10.18006/2021.9\(Spl-2-ICOPMES\\_2020\).S264.S268](https://doi.org/10.18006/2021.9(Spl-2-ICOPMES_2020).S264.S268)
- Munira M, Mastura N, Nasir M. Uji Antibakteri Kulit Buah Kopi (Coffea arabica L.) Gayo Berdasarkan Tingkat Kematangan Terhadap Escherichia coli. Indonesian Journal for Health Sciences. 2020;4(2):84–90. DOI: [10.24269/ijs.v4i2.2640](https://doi.org/10.24269/ijs.v4i2.2640)
- Duangjai A, Suphrom N, Wungrath J, Ontawong A, Nuengchuanruang A. Comparison of Antioxidant, Antimicrobial Activities and Chemical Profiles of Three Coffee (Coffea arabica L.) Pulp Aqueous Extracts. Integrative Medicine Research. 2016;5(4):324–31. DOI: [10.1016/j.imr.2016.09.001](https://doi.org/10.1016/j.imr.2016.09.001)
- Samaranayake, Lakshman. Essential Microbiology for Dentistry. 5<sup>th</sup> Ed. Elsevier Ltd. All rights reserved. New York: Elsevier; 2018. 392 hal.
- Hasslöf P. Probiotic Lactobacilli in The Context of Dental Caries As a Biofilm-mediated Disease. 2013. 57 hal.
- Singh Ahirwar S, Gupta MK, Snehi SK, Dadasaheb Kalmegh S. Dental Caries and Lactobacillus: Role and Ecology in the Oral Cavity. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research 4818 IJPSR. 2019;10(11):4818–29. DOI: [10.13040/IJPSR.0975-8232.10\(11\).4818-29](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.10(11).4818-29)
- Pariati, Angki J. Perbedaan Kumur Chlorhexidine Terhadap Skor Gingivitis Pasien Ortho Cekat Usia 15-30 Tahun di Praktek Drg. Sofyan Makassar. Media Kesehatan Gigi. 2019;18(1):59–67. DOI: [10.32382/mkg.v18i1.925](https://doi.org/10.32382/mkg.v18i1.925)
- Prahasanti C. Efektivitas Obat Kumur Chlorhexidine, Essential Oil, Triclosan-sodium Fluoride dalam Pencegahan Pembentukan Bakteri Plak. Dentofasial. 2014; 13(1): 55–8.
- Kusumawardani AR, Machbub AM, Prasetya RC, Fatimatuzzahro N, Ermawati T. Antibacterial Activity of Robusta Coffee (Coffea robusta) Husk Extract Against Streptococcus mutans and Lactobacillus: In Vitro Study. Journal of Orofacial Sciences. 2023; 14(2):88–92.
- Senthilkumaran R, Pavithra E. In-vitro Sensitivity of Bacterial and Fungal Pathogens to Datura alba - An Antimicrobial Approaches. International Journal of Advanced Research in Biological Sciences. 2014; 1(1): 101–10.
- Sudrajat S, Sadani S, Sudiastuti S. Analisis Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Kasar Etanol Daun Meranti Merah (Shorea leprosula Miq.) dan Sifat Antibakterinya terhadap Staphylococcus aureus dan Escherichia coli. J Tropical Pharmacy Chemistry. 2012; 1(4): 303–11. DOI: [10.25026/jtpc.v1i4.41](https://doi.org/10.25026/jtpc.v1i4.41)
- Rebollo-Hernanz M, Cañas S, Taladrí D, Benítez V, Bartolomé B, Aguilera Y, et al. Revalorization of Coffee Husk: Modeling and Optimizing The Green Sustainable Extraction of Phenolic Compounds. Foods. 2021; 10(653): 2. DOI: [10.3390/foods10030653](https://doi.org/10.3390/foods10030653)
- Pelczar MJ, Chan EC. Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid I. Vol. 66, Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid I. 2008.
- Baloui M, Sadiki M, Ibnouda SK. Methods for In Vitro Evaluating Antimicrobial Activity: A Review. Journal of Pharmaceutical Analysis. 2016;6(2):71–9. DOI: [10.1016/j.jpha.2015.11.005](https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005)

21. Samirana PO, Murti YB, Jenie RI, Setyowati EP. Antibacterial and cytotoxic activities of supernatant and mycelium extracts from fermentation of fungal symbiont *Trichoderma reesei* TV221. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2021; 11(12): 090–9. DOI: [10.7324/JAPS.2021.1101207](https://doi.org/10.7324/JAPS.2021.1101207)
22. Aulah J, Maliza R, Aji OR. Antibacterial Activity of Coffee Arabica (*Coffea arabica* L.) Pulp Methanol Extracts on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* Bacteria. *Bioscience*. 2020; 4(2): 162–71. DOI: [10.24036/0202042108692-0-00](https://doi.org/10.24036/0202042108692-0-00)
23. Sholichah E, Apriani R, Desnilasari D, Karim MA. Produk Samping Kulit Kopi Arabika dan Robusta sebagai Sumber Polifenol untuk Antioksidan dan Antibakteri. *Jurnal Industri Hasil Perkebunan*. 2019;14(2):57–66. DOI: [10.33104/ijhp.v14i2.5195](https://doi.org/10.33104/ijhp.v14i2.5195)
24. Jafaar HJ, Isbilen O, Volkan E, Sariyar G. Alkaloid Profiling and Antimicrobial Activities of *Papaver glaucum* and *P. decaisnei*. *BMC Research Notes*. 2021;14(1):1–7. DOI: [10.1186/s13104-021-05762-x](https://doi.org/10.1186/s13104-021-05762-x)
25. Xie Y, Yang W, Tang F, Chen X, Ren L. Antibacterial Activities of Flavonoids: Structure-Activity Relationship and Mechanism. *Current Medicinal Chemistry*. 2015;22(1):132–49. DOI: [10.2174/0929867321666140916113443](https://doi.org/10.2174/0929867321666140916113443)
26. Farha AK, Yang QQ, Kim G, Li H Bin, Zhu F, Liu HY, et al. Tannins As An Alternative to Antibiotics. *Food Bioscience*. 2020;38(9):1–14. DOI: [10.1016/j.fbio.2020.100751](https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100751)
27. Wulansari ED, Lestari D, Khoirunissa MA. Kandungan Terpenoid dalam Daun Ara (*Ficus carisa* L.) sebagai Agen Antibakteri Terhadap Bakteri Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *PHARMACON*. 2020; 9(2): 219–25. DOI: [10.35799/pha.9.2020.29274](https://doi.org/10.35799/pha.9.2020.29274)
28. Nomer NMGR, Duniaji AS, Nocianitri KA. Kandungan Senyawa Flavonoid dan Antosianin Ekstrak Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.) serta Aktivitas Antibakteri Terhadap *Vibrio cholerae*. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan (ITEPA)*. 2019; 8(2): 216–25. DOI: [10.24843/itepa.2019.v08.i02.p12](https://doi.org/10.24843/itepa.2019.v08.i02.p12)
29. Wya Saraswati P, Nocianitri KA, Hapsari Arihantana NMI. Pola Pertumbuhan *Lactobacillus* sp. F213 Selama Fermentasi Pada Sari Buah Terung Belanda (*Solanum betaceum* Cav.). *Itepa: Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*. 2021;10(4):621–33. DOI: [10.24843/itepa.2021.v10.i04.p08](https://doi.org/10.24843/itepa.2021.v10.i04.p08)
30. Sutrisna R, Ekowati CN, Sinaga ES. Pengaruh pH Terhadap Produksi Antibakteri oleh Bakteri Asam Laktat dari Usus Itik. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*. 2017;15(3):234–8. DOI: [10.25181/jppt.v15i3.135](https://doi.org/10.25181/jppt.v15i3.135)
31. da Silva MR, Jelley RE, Carneiro RL, Fedrizzi B, Weber CC, Funari CS. Green Solvents for The Selective Extraction of Bioactive Compounds From By-products of The Coffee Production Chain. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 1 Juni 2023; 86(6). DOI: [10.1016/j.ifset.2023.103365](https://doi.org/10.1016/j.ifset.2023.103365)
32. Pyar H, Peh KK. Characterization and Identification of *Lactobacillus acidophilus* Using Biolog Rapid Identification System. *Int J Pharmacy Pharmaceutical Sciences*. 2014; 6(1): 189–93.
33. Vintimilla DR, Chambers L, Mauffrey C, Parry JA. Just Add Water? Chlorhexidine's Antimicrobial Properties are Minimally Affected by Dilution in Saline Compared to Water. *European Journal of Orthopaedic Surgery and Traumatology*. 1 Mei 2020; 30(4): 613–5. DOI: [10.1007/s00590-019-02609-x](https://doi.org/10.1007/s00590-019-02609-x)
34. Khotimah H, Anggraeni EW, Setianingsih A. Karakterisasi Hasil Pengolahan Air Menggunakan Alat Destilasi. *Jurnal Chemurgy*. 2018; 1(2): 34. DOI: [10.30872/cmug.v1i2.1143](https://doi.org/10.30872/cmug.v1i2.1143)
35. Rastogi V, Sharma R, Yadav L, Satpute P, Sharma V. Green Dentistry, A Metamorphosis Towards an Eco-friendly Dentistry: A Short Communication. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 2014; 8(7): 7–8. DOI: [10.7860%2FJCDR%2F2014%2F8084.4556](https://doi.org/10.7860%2FJCDR%2F2014%2F8084.4556)