

UJI MINIMUM BACTERICIDAL CONCENTRATION (MBC) EKSTRAK ETANOL BIJI KOPI ROBUSTA (*Coffea canephora*) GREEN BEAN SEBAGAI ANTIBAKTERI

Yunilda Rosa^{1*}, Suryasin², Khairul Rizal³, Yeni agustin⁴,
Nur Ihsan Kamilah⁵, Sunitra Mardha Lingga⁶, Adi Saputra⁷
^{1,2,3,4,5,6,7}.Program Study Sarjana Farmasi STIK Siti Khadijah
^{1*}Corresponding author email : yunildarosa2018@gmail.com

ABSTRAK

Biji kopi robusta (*Coffea canephora*) green bean adalah salah satu tanaman tradisional yang dapat dimanfaatkan sebagai obat. Kopi robusta green bean (Hijau) mengandung senyawa bioaktif yaitu Asam klorogenat (CGA) sebagai antioksidan, antimikroba dan antiinflamasi. Kafein, saponin dan tanin sebagai stimulan dan antibakteri, asam fenolat dan flavonoid sebagai antimikroba dan penangkal radikal bebas. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*) jenis *green bean* terhadap bakteri *Escherichia coli*. Metode penelitian adalah *Post Eksperimental* dengan Teknik difusi. Ekstraksi menggunakan proses maserasi. Kosentrasi sampel dibedakan atas empat konsentrasi yaitu 10%, 25%, 50% , 75%, kontrol (+). Ciprofloxacin dan kontrol (-) aqua pro. Hasil penelitian diperoleh ekstrak etanol biji kopi robusta (*coffecanephora*) green bean positif untuk alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan terpenoid. Nilai Minimum Bactericidal Concentration (MBC) ekstrak ethanol biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) green bean diperoleh pada konsentrasi 50%, pada kosentrasi ini sudah tidak ditemukan pertumbuhan koloni bakteri *Escherichia coli*.

Kata kunci : Kopi Robusta, *Green bean*, *Escherichia coli*, Nilai Minimum Bactericidal Concentration (MBC)

ABSTRACT

Robusta coffee beans (Coffea canephora) green bean are one of the traditional plants that can be utilized as medicine. Green coffee beans contain bioactive compounds, including chlorogenic acid (CGA) as an antioxidant, antimicrobial, and anti-inflammatory agent; caffeine, saponins, and tannins as antibacterial compounds; and flavonoids as antimicrobial agents and free radical scavengers. This study aimed to determine the antibacterial activity of robusta coffee bean (Coffea canephora) green bean extract against Escherichia coli.

This study employed a post-experimental design using a disc diffusion technique. The extract was prepared through ethanol extraction and tested at concentrations of 10%, 25%, 50%, and 75%, with a positive control (+) of ciprofloxacin and a negative control (-) of distilled water (aqua pro injection). The results demonstrated that robusta coffee bean (Coffea canephora) green bean extract contained alkaloids, flavonoids, tannins, saponins, and terpenoids. The Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of the robusta coffee bean (Coffea canephora) green bean ethanol extract was identified at a concentration of 50%, at which no bacterial colony growth of Escherichia coli was observed.

Keywords: Robusta Coffee, Green Bean, *Escherichia coli*, Minimum Bactericidal Concentration

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri masih menjadi masalah kesehatan utama di berbagai negara, termasuk Indonesia. Penggunaan antibiotik yang tidak rasional menyebabkan meningkatnya resistensi bakteri terhadap berbagai obat antibakteri sehingga diperlukan pencarian sumber antibakteri alami yang lebih aman dan efektif. Tanaman herbal dan bahan alam diketahui memiliki kandungan metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antibakteri, seperti flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, dan fenol (Mewaba, S.G., et al, 2022)

Kopi robusta (*Coffea canephora*) merupakan salah satu spesies kopi utama yang dibudidayakan secara luas di wilayah tropis dan dikenal karena kandungan kafein dan polifenolnya yang relatif tinggi dibandingkan dengan arabika; hal ini menjadikan robusta sebagai kandidat yang menarik untuk pengembangan bahan alam beraktivitas biologis, termasuk aktivitas antibakteri. (Khairani, et al, 2025).

Ekstrak kopi robusta berpotensi sebagai pangan fungsional karena kandungan alkaloid, fenolik, dan flavonoidnya yang tinggi serta aktivitas antioksidannya, selain juga berpotensi digunakan sebagai senyawa alami untuk melawan infeksi bakteri (Suryanti, E., dkk 2023)

Biji kopi robusta green bean mengandung berbagai senyawa bioaktif yang penting, antara lain: Asam klorogenat (CGA), merupakan antioksidan utama yang juga memiliki efek antimikroba dan antiinflamasi. Kafein, bersifat stimulan dan antibakteri. Asam fenolat dan flavonoid, memiliki potensi sebagai antimikroba dan penangkal radikal bebas. Saponin dan tanin, senyawa sekunder yang berperan dalam mekanisme perlindungan tanaman dan memiliki efek terhadap bakteri (Prasasti et al., 2024)

Pencarian alternatif antibakteri dari sumber alami menjadi penting karena terjadinya peningkatan resistensi bakteri terhadap antibiotik sintetis,. Penelitian ini

bertujuan untuk menguji aktivitas antibakteri (MBC) ekstrak etanol biji kopi robusta (*Coffea canephora*) green bean terhadap bakteri patogen secara in vitro

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental *Post test only control grup*. Penelitian ini dilakukan di laboratorium dengan cara mengukur Minimum Bactericidal Concentration (MBC). ekstrak etanol Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Green Bean terhadap bakteri *Escherechia coli*.

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan, blender (Philips), rotary evaporator, cabinet dryer, tabung reaksi, autoklaf, erlenmeyer, ose steril, cawan petri, pinset steril, jangka sorong, batang pengaduk, kertas saring, pipet volume, gelas kimia, rak tabung reaksi, laminar air flow, mikro pipet, tip mikro pipet, bunsen, hotplate, spatula.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji kopi robusta (*Coffea canephora*) (green bean) , etanol 96%, suspensi bakteri E. coli, akuades, media NA, TSB dan TSA, ciprofloxacin NaCl 0,85%, spirtus, kapas steril, aluminium foil, kertas wrap, plastik tahan panas.

Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak etanol biji kopi robusta green bean dengan cara maserasi. Satu kg serbuk halus biji kopi robusata (*Coffea canephora*) green bean dimasukan ke dalam botol maserasi, ditambahkan pelarut etanol 96% sebanyak 10 liter untuk 3 kali maserasi (5 L, 2,5 L, dan 2,5L) dan dibiarkan selama 1 x 24 jam sambil sekali kali dilakukan pengadukan, untuk mencegah terjadinya kejenuhan. Proses

tersebut dilakukan selama 3 hari dan tiap harinya dilakukan remaserasi menggunakan pelarut baru. Kemudian maserat yang didapatkan dimasukkan ke dalam botol ditutup dibiarkan ditempat sejuk, terlindung dari cahaya, diendapkan selama dua hari untuk menghindari kemungkinan masih adanya serbuk ikutan hasil penyarian. Setelah diendapkan maserat dipisahkan dari endapan ikutan, maserat ditampung dalam botol, selanjutnya dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* dan dikeringkan menggunakan *waterbath* hingga diperoleh ekstrak kental (Jhessy, 2020)

Skrining Fitokimia

1. Uji Alkaloid

Sebanyak 0,5 g ekstrak ditambahkan 1 mL asam klorida 2 N dan 9 mL air, dipanaskan diatas penangas air selama 2 menit, didinginkan dan disaring. Filtrat dipindahkan masing-masing 3 tetes ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2 tetes larutan pereaksi Mayer, Bouchardat, dan Dragendorf ke dalam masing-masing tabung reaksi. Jika terdapat alkaloid maka dengan Pereaksi Mayer terbentuk endapan menggumpal putih atau kuning, dengan pereaksi Bouchardat terbentuk endapan berwarna coklat sampai hitam, dengan pereaksi Dragendorf terbentuk endapan kuning jingga. Serbuk dikatakan mengandung alkaloid apabila 2 dari 3 reaksi diatas memberikan reaksi positif (Kusumo, *et al*, 2022)

2. Uji Terpenoid

Satu gram ekstrak dalam 1 ml kloroform dan 1 ml asetat anhidrid, ditambahkan melalui dinding tabung reaksi 0,4 ml larutan H_2SO_4 pekat, adanya terpenoid ditunjukkan dengan adanya warna hijau kebiruan pada steroid, orange, jingga kecokelatan atau ungu pada triterpenoid (Octaviani *et al.*, 2019).

3. Uji Flavonoid

Sejumlah 5 gram ekstrak ditambahkan 100 mL air panas, dididihkan selama 15 menit dan disaring dalam keadaan panas. Filtrat yang diperoleh (Larutan A) akan digunakan untuk uji keberadaan senyawa golongan flavonoid, saponin, tanin, dan fenol. Filtrat diambil sebanyak 5 ml, dicampurkan dengan serbuk magnesium (Mg) dan HCl pekat 2N serta amil alkohol. Kemudian tabung reaksi dikocok dengan kuat dan perubahan diamati. Adanya perubahan dengan terbentuknya warna merah, kuning, dan jingga pada campuran menunjukkan keberadaan senyawa flavonoid (Elsya *et al.*, 2020).

4. Uji Saponin

Sebanyak 10 mL larutan A dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dikocok kuat-kuat selama 10 detik (terbentuk buih yang mantap selama tidak kurang dari 10 menit, setinggi 1- 10 cm). Pada penambahan 1 tetes HCl 2 N, buih tidak hilang menunjukkan adanya saponin (Kusumo, *et al*, 2022)

5. Uji Tanin

Sebanyak 10 mL larutan A dimasukan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan gelatin 10%. Jika terbentuk endapan putih maka hal itu menunjukkan adanya senyawa golongan tanin. Pereaksi Stiasny (formaldehid 30% : HCl pekat = 2:1), lalu dipanaskan di atas penangas air sambil digoyang-goyangkan. Jika terbentuk endapan warna merah muda menunjukkan adanya tanin katekat. Endapan disaring, filtrat dijenuhkan dengan serbuk natrium asetat, ditambahkan beberapa tetes larutan $FeCl_3$ 1%, jika terbentuk warna biru tinta maka menunjukkan adanya tanin galat (Kusumo, *et al*, 2022)

Pembuatan Konsentrasi

Pembuatan larutan uji hasil ekstraksi biji Kopi robusta (*Coffea canephora*) green bean dengan berbagai konsentrasi dengan cara berikut:

Tabel 1. Pembuatan Seri Konsentrasi biji Kopi robusta (*Coffea canephora*) green bean

Konsentrasi Ekstrak (%)	Berat Ekstrak (gr)	Volume Pelarut (ml)
Ekstrak biji kopi green bean 10%	1,0 gram	ad 10 ml
Ekstrak biji kopi green bean 25%	2,5 gram	ad 10 ml
Ekstrak biji kopi green bean 50%	5 gram	ad 10 ml
Ekstrak biji kopi green bean 75%	7,5 gram	ad 10 ml

Peremajaan Bakteri

Bakteri uji diambil satu ose menggunakan ose steril selanjutnya digoreskan pada permukaan agar dengan cara silang (*zig-zag*), kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C sehingga didapatkan bakteri yang telah diremajakan.

Uji Minimum Bactericidal Concentration (MBC)

Penentuan MBC menggunakan metode dilusi padat. Metode ini dilakukan secara spread pour plate. Bakteri yang digunakan adalah bakteri berumur 24 jam berjumlah 10-6 CFU/ml. Langkah kerjanya yaitu media Tryptone Soy Broth (TSB) dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian disterilisasi. Setelah itu, ekstrak etanol biji kopi robusta jenis green bean dimasukkan ke dalam tabung. Konsentrasi ekstrak yang digunakan yaitu 10%, 25%, 50%, dan 75%. Selanjutnya, suspensi bakteri 10-6 CFU/ml berumur 24 jam sebanyak 0,1 ml dimasukkan ke dalam tabung yang telah berisi media TSB dan ekstrak, kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam.

Media TSB yang telah diinkubasi diambil 1 ml dan dimasukkan ke dalam cawan petri, kemudian media Tryptone Soy Agar (TSA) dituang ke dalam cawan petri yang berisi TSB secara pour plate untuk dilakukan perhitungan jumlah bakteri, dan selanjutnya diinkubasi selama 48 jam. Setelah diinkubasi, jumlah mikroba yang tumbuh pada media TSA dihitung. Penentuan MBC dilihat dari konsentrasi terendah yang sudah tidak ditumbuhi bakteri (Hyun & Lee , 2021)

HASIL PENELITIAN

Skrining Fitokimia dan Uji MBC Ekstrak Etanol Biji Kopi robusta (*Coffea canephora*) green Bean

Skrining fitokimia merupakan suatu metode yang dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak tanaman.

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Green Bean

No	Kandungan Kimia	Pereaksi	Warna yang diungkitkan	Hasil
1	Ekstrak	Uji Winstone → Serbuk simplisia biji kopi robusta (<i>Coffea canephora</i>) Peaberry sangrai + HCL sebanyak 5 ml + Magnesium stearat	Membentuk warna kuning	Positif (+)
2	Tanin	Serbuk biji kopi robusta (<i>Coffea canephora</i>) Peaberry sangrai + FeCl ₃	Membentuk warna hijau kehitaman	Positif (+)
3	Alkaloid	Serbuk biji kopi robusta (<i>Coffea canephora</i>) Peaberry sangrai + NH ₄ + CHCl ₃ + pereaksi Mayer	Terbentuk endapan putih	Positif (+)
		Serbuk biji kopi robusta (<i>Coffea canephora</i>) Peaberry sangrai + NH ₄ + CHCl ₃ + pereaksi Dragendorff	Terbentuk endapan coklat	Positif (+)
4	Terpenoid	Serbuk biji kopi robusta (<i>Coffea canephora</i>) Peaberry sangrai + 1 ml CHCl ₃ + 1 ml C ₆ H ₆ O + 0,4 ml H ₂ SO ₄ pekat	Membentuk warna jingga kecoklatan hingga ungu	Positif (+)
5	Saponin	Serbuk biji kopi robusta (<i>Coffea canephora</i>) Peaberry sangrai + air panas + HCL	Terjadi busa	Positif (+)

Keterangan :
(+) : Mengandung Senyawa Kimia
(-) : Tidak Mengandung Senyawa Kimia

Berdasarkan Tabel 2, diperoleh hasil skrining fitokimia dengan uji kualitatif ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*) mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan Terpenoid.

Hasil Uji Minimum Bactericidal Concentration (MBC)

Hasil uji Minimum Bactericidal Concentration (MBC) ekstrak etanol biji kopi robusta (*Coffea canephora*) green bean terhadap *Escherichia coli* dengan konsentrasi 10%, 25%, 50%, dan 75%. Ciprofloxacin sebagai kontrol positif dan aquadest sebagai kontrol negatif dengan menggunakan metode dilusi padat (Tabel 3).

Tabel 3. UJI MBC Ekstrak Etanol Biji Kopi robusta (*Coffea canephora*) green bean terhadap *Escherichia coli*

Bahan uji	P I	P II	P III
10%	+	+	+
25%	+	+	+
50%	-	-	-
75%	-	-	-
K+	-	-	-
K-	+	+	+

Ket: (-) = tidak terdapat bakteri yang tumbuh
(+) = terdapat pertumbuhan bakteri

Keterangan :

P I = Pengulangan 1

P II = Pengulangan 2

P III = Pengulangan 3

Uji MBC ekstrak etanol biji kopi robusta (*Coffea canephora*) green bean pada konsentrasi 10%, 25% dan kontrol negatif, masih terlihat pertumbuhan bakteri *E. Coli*, pada konsentrasi 50%, 75% dan kontrol positif, tidak terlihat adanya pertumbuhan bakteri *E.coli*. Untuk membunuh bakteri, suatu zat harus mencapai konsentrasi yang dikenal sebagai konsentrasi bakterisida minimum dan pada pengujian ini didapatkan mulai pada konsentrasi 50%.

PEMBAHASAN

Skrining Fitokimia dan Uji MBC Ekstrak etanol Biji Kopi robusta (*Coffea canephora*) Green Bean terhadap *E. Coli*

Serbuk halus biji kopi robusta (*Coffea canephora*) diperoleh melalui proses penghalusan dengan menggunakan blender. Menurut Wang *et al.*, (2023) tujuan pengserbukan agar memperluas permukaan biji kopi robusta (*Coffea canephora*) green bean yang akan berinteraksi langsung dengan cairan penyaring, sehingga maserasi lebih optimal karena kontak antara biji kopi robusta (*Coffea canephora*) green bean dengan cairan penyaring menjadi lebih luas. Jika terlalu kecil dapat membuat sel biji kopi robusta (*Coffea canephora*) green bean pecah sehingga zat yang tidak diperlukan dapat ikut tersaring, namun jika ukuran serbuk terlalu besar dapat mengakibatkan kurang optimalnya maserasi karena kontak permukaan antara serbuk dan cairan penyaring menjadi kecil

Maserasi adalah teknik yang digunakan untuk menghasilkan ekstrak kental biji kopi robusta (*Coffea canephora*) green bean. Menurut Novitasari (2018), Teknik maserasi merupakan teknik yang sederhana dan alat yang digunakan juga mudah didapat dan metode ini juga dapat menghindari kerusakan komponen senyawa karena tidak menggunakan panas. Pelarut ethanol 96% adalah pelarut yang digunakan pada proses maserasi.

Maserat yang dihasilkan dari produk maserasi selanjutnya dipekatkan dengan *Rotary evaporator* dengan kecepatan 90 rpm dan suhu 60°C.

Rotary evaporator merupakan alat yang digunakan untuk menguapkan sebagian atau seluruh pelarut dari suatu larutan melalui proses evaporasi, sehingga diperoleh ekstrak yang lebih pekat atau kental (Harris, 2020; Skoog *et al.*, 2023).

Rendemen merupakan perbandingan antara berat ekstrak kering yang diperoleh dengan berat awal bahan baku yang digunakan dalam proses ekstraksi dan dinyatakan dalam persen (Harborne, 1998).

Faktor-faktor yang memengaruhi rendemen hasil ekstraksi antara lain metode ekstraksi yang digunakan, ukuran partikel sampel, jenis pelarut, rasio sampel terhadap pelarut, dan lama waktu ekstraksi

(Altemimi et al., 2017). Menurut Hasnaeni, (2019) rendemen dari suatu sampel sangat diperlukan karena untuk mengetahui banyaknya ekstrak yang diperoleh selama proses ekstraksi. Data hasil rendemen tersebut ada hubungannya dengan senyawa aktif dari suatu sampel sehingga apabila jumlah rendemen semakin banyak maka jumlah senyawa aktif yang terkandung dalam sampel juga semakin banyak.

Skrining Fitokimia

Uji skrining fitokimia terhadap biji kopi robusta (*Coffea canephora*) Peaberry sangrai menunjukkan hasil positif untuk alkaloid, flavonoid, tannin, saponin dan terpenoid. Berdasarkan Anggraini, *et al.*, (2021), hasil positif pengujian alkaloid ditandai dengan terbentuk endapan merah hingga jingga. Prayoga *et al.*, (2019), alkaloid mengandung atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas sehingga dapat digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion logam. Menurut Wowor *et al.*, (2022), reaksi antara nitrogen pada alkaloid dengan ion logam K^+ dari kalium tetraiodomercurat (II) membentuk kompleks K- alkaloid yang mengendap.

Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri yaitu dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk utuh dan menyebabkan kematian sel bakteri. Mekanisme lain antibakteri alkaloid yaitu komponen diketahui sebagai interkelator DNA dan menghambat enzim topoisomerase sel bakteri (Gultom, 2020).

Pengujian flavonoid ditandai dengan perubahan warna ekstrak menjadi merah atau jingga (Sianto *et al.*, 2022). Penambahan serbuk Mg dan HCl pekat digunakan untuk mereduksi agar ikatan gula pecah dan mudah ditarik oleh amil alkohol. Sehingga dapat membentuk warna merah, atau jingga (Sulistyarini, Sari, dan Wicaksono, 2019). Selain itu HCl dan logam Mg mampu mereduksi inti benzopiron yang ada pada struktur flavonoid, sehingga terbentuk garam

flavilium berwarna merah atau jingga (Octaviani dkk., 2019).

Mekanisme kerja flavonoid menghambat sintesis asam nukleat terletak cincin B yang berperan penting dalam proses interkalasi atau ikatan hidrogen dengan menumpuk asam basa nukleat yang menghambat penumpukan DNA dan RNA. Mekanisme kerja flavonoid menghambat fungsi membran sel adalah membentuk ikatan kompleks dengan dinding sel dan merusak membran. Flavonoid dapat menghambat metabolisme energi dengan cara menghambat sistem respirasi, karena dibutuhkan energi yang cukup untuk penyerapan aktif berbagai metabolit dan biosintesis makromolekul (Gultom, 2020).

Hasil positif pengujian tanin ditandai dengan terbentuknya warna kehitaman (Karlina *et al.*, 2022). Reaksi tanin dengan $FeCl_3$ yang mampu membentuk senyawa kompleks, dimana ion Fe^{3+} pada $FeCl_3$ berperan sebagai atom pusat dan tanin memiliki atom O dengan pasangan elektron bebas yang mampu berkoordinasi sebagai ligan yang merupakan energi yang dimiliki pada saat proses pembentukan senyawa kompleks (Khafid *et al.*, 2023). Dari senyawa kompleks diatas akan terbentuk reaksi oksidasi dimana reaksi ini akan memberikan warna uji tanin (Fatonah dan Mulyaningsih, 2021)

Mekanisme kerja tannin mempunyai daya antibakteri dengan cara mempresipitasi protein. Efek antibakteri tannin melalui reaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim berfungsi materi genetik. Mekanisme kerja tannin sebagai antibakteri adalah menghambat enzim reverse transcriptase dan DNA sehingga sel bakteri tidak terbentuk (Gultom, 2020)

Pengujian saponin ditandai dengan terbentuknya buih stabil selama tidak kurang dari 10 menit dan buih setinggi 1 cm sampai 10 cm (Sianto *et al.*, 2022). Buih yang terbentuk pada pengujian ini disebabkan oleh struktur senyawa saponin berupa glikosida yang memiliki senyawa sapogenin nonpolar dan rantai samping

polar yang larut dalam air. Pada saat dikocok dengan air, saponin dapat membentuk misel karena adanya gugus polar dan non polar yang bersifat aktif permukaan. Gugus polar akan menghadap keluar sedangkan gugus non polar akan menghadap kedalam. Kondisi inilah yang menyebabkan tampak seperti busa (Sangi *et al.*, 2019). Saponin menghasilkan busa karena adanya kombinasi struktur molekul yang amfilik yaitu rantai sapogenin nonpolar dan rantai samping polar yang larut dalam air (Rachmawati, 2019).

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 (Gultom, 2020).

Pengujian steroid ditandai dengan Terbentuknya warna ungu atau merah yang berubah menjadi merah kecoklatan (Sianto *et al.*, 2022). Penetasan asam sulfat pekat melalui dinding tabung membuat asam asetat anhidridat bereaksi, sehingga atom C pada anhidrida membentuk karbokation. Karbokation selanjutnya bereaksi dengan atom O pada gugus -OH yang ada pada senyawa steroid/triterpenoid. Adanya triterpen siklik menyebabkan adanya variasi nyata pada sejumlah kelompok struktur terpenoid (Sarker dan Nahar, 2009). Reaksi ini disebut sebagai esterifikasi, yaitu pembentukan senyawa ester oleh senyawa triterpenoid dengan anhidrida asetat (Dewi *et al.*, 2021). Mekanisme kerja terpenoid sebagai antibakteri yaitu bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin (Gultom, 2020).

Berdasarkan hasil, teori terkait dan penelitian terkait, peneliti berasumsi bahwa senyawa metaboli sekunder yang dihasilkan dari ekstrak ethanol biji kopi robusta di duga memiliki aktivitas antibakteri. Sejalan dengan pendapat Cushnie & Lamb (2014),

Cowman, & Finn, (2008)., Tiwari, dkk (2020), umumnya senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, tannin dan terpenoid yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Flavonoid dapat menghambat pertumbuhan bakteri melalui kerusakan membran dan penghambatan enzim. Saponin merusak permeabilitas membran sel bakteri. Aktivitas antibakteri terpenoid melalui gangguan struktur membran dan metabolisme sel bakteri.

Uji MBC Ekstrak etanol Biji Kopi robusta (*Coffea canephora*) Green Bean terhadap E. Coli.

Ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*) Green bean dibuat dengan empat (4) konsentrasi yaitu 10%, 25%, 50% dan 75% dengan pelarut aquadest steril. Kontrol positif yang digunakan adalah bahan baku murni Ciprofloxacin .

Ciprofloxacin digunakan sebagai kontrol positif karena merupakan antibiotik spektrum luas yang aktif terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif, sedangkan aquadest steril digunakan sebagai kontrol negatif karena tidak memiliki aktivitas antibakteri (Faradika, 2014; Putri , Handayani & Karlina , 2021). Penentuan nilai Minimum Bactericidal concentration (MBC) dilakukan dengan mengamati pertumbuhan bakteri pada media padat, di mana media yang jernih tanpa koloni menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri. Kondisi tersebut menandakan bahwa ekstrak bersifat bakterisidal karena mampu membunuh bakteri uji (Kurniawati *et al.*, 2019; Mulyani *et al.*, 2018).

Hasil penelitian yang telah dilakukan mengenai pengujian MBC, diperoleh nilai MBC yaitu pada konsentrasi 50%, yaitu sudah tidak ditemukan pertumbuhan bakteri pada media, hal tersebut ditunjukkan dengan media yang jernih. Nilai MBC ditentukan dengan mengamati pertumbuhan bakteri pada cawan petri, apabila cawan petri terlihat jernih dan hanya terlihat media saja artinya sudah tidak ada pertumbuhan bakteri. Hal ini menandakan bahwa selain

bersifat bakteriostatik, ekstrak biji kopi robusta green bean juga bersifat bakterisidal karena dapat membunuh pertumbuhan bakteri yang diujikan.

Konsentrasi 50% ditetapkan sebagai nilai MBC karena sudah tidak terlihat adanya pertumbuhan bakteri pada media. Bakteri dapat dibunuh pertumbuhannya oleh kandungan antibakteri yang ada pada ekstrak biji kopi robusta green bean.

Flavonoid sebagai senyawa fenol akan masuk ke dalam sel dan merusak membran sitoplasma. Senyawa flavonoid memiliki kemampuan membentuk ikatan kompleks dengan protein sel bakteri melalui ikatan hidrogen. Struktur dinding sel dan membran sitoplasma bakteri yang mengandung protein menjadi tidak stabil dan rusak. Hal ini menyebabkan sel bakteri kehilangan aktivitas biologisnya, akibatnya fungsi permeabilitas sel bakteri terganggu dan sel bakteri akan mengalami lisis yang berakibat pada kematian sel bakteri. Flavonoid juga menyebabkan perubahan pada membran sel bakteri yang diikuti dengan masuknya air yang tidak terkontrol ke dalam sel bakteri, hal ini menyebabkan pembengkakan sel bakteri dan akhirnya membran sel bakteri pecah. Alkaloid berfungsi sebagai antibakteri dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel dan menghambat replikasi DNA itu sendiri, akibatnya terjadi gangguan replikasi DNA yang menyebabkan kematian pada sel (Cushine and Lamb, 2014).

Tanin dalam mekanisme penyerangan bakteri, akan menyerang inti sel. Ion H^+ dari senyawa fenol dan turunannya akan menyerang gugus polar (gugus fosfat) sehingga molekul fosfolipida akan terurai menjadi gliserol, asam karboksilat dan asam fosfat. Hal ini mengakibatkan fosfolipida tidak mampu mempertahankan bentuk sitoplasma sehingga membran sitoplasma akan bocor. Hal ini mengakibatkan transport zat ke dalam sel maupun ke luar sel menjadi tidak

terkontrol. Zat yang berada di dalam sel seperti enzim, asam amino dan nutrisi dapat keluar dari sel, sedangkan target tanin di inti sel adalah merusak enzim (Daglia, 2012, Retnowati, 2011)

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

1. Ekstrak etanol biji kopi robusta (*coffecanephora*) green bean positif mengandung alkaloid, flavonoid, tannin, saponin dan terpenoid.
2. Nilai Minimum Bactericidal Concentration (MBC) ekstrak ethanol biji Kopi Robusta (*Coffea Canephora*) green bean diperoleh pada konsentrasi 50%, pada konsentrasi ini sudah tidak ditemukan pertumbuhan koloni bakteri.

SARAN

Penelitian lebih lanjut dapat dilakukan dengan melakukan uji fraksi ekstrak ethanol biji kopi robusta (*Coffea canephora*) green bean, dan atau melakukan uji antibakteri dengan metode dan teknik yang lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Altemimi, A., Watson, D. G., Kinsel, M., & Lightfoot, D. A. (2017). Phytochemicals: Extraction, isolation, and identification of bioactive compounds from plant extracts. *Pharmaceuticals*, 10. (3)
- Anggarini, D., Raharjeng, W. S., Safitri, H. N. I. C., Pangestuti, Z. 2021. Formulasi Dan Evaluasi Serum Anti Jerawat Berbasis Minyak Atsiri

- Curcuma zedoaria*. Artikel *Pemakalah Paralel*, 409.
- Cowman, M. M., & Finn, R. D. (2008). Antimicrobial activity of saponins. *Journal of Medicinal Plants Research*, 2(9), 243–248.
- Cushine., T.P. Benjamart Lamb. J.A. 2014. Alkaloids an Overview of Their Antibacterial Antibiotic-Enhancing and Antivirulence Activities. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 381-2383.
- Daglia, M. (2012). Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*, 23(2), 174–181.
- Dewi, R. K., Nurhayati, S., & Lestari, D. (2021). Skrining fitokimia dan identifikasi golongan senyawa metabolit sekunder pada ekstrak tanaman menggunakan uji warna. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 18(2), 123–130.
- Elsya, N.M. et al., 2020. *Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder dari Simplisia dan Ekstrak Air Daun Bidara Arab (Ziziphus spina-christi L.)*. Prodi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung.
- Faradika, A. (2014). Uji aktivitas antibakteri antibiotik terhadap bakteri penyebab diare. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*, 10(2), 85–92.
- Fatonah, S., & Mulyaningsih, T. (2021). Identifikasi senyawa tanin pada ekstrak tumbuhan menggunakan pereaksi besi(III) klorida (FeCl₃). *Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 8(2), 85–92.
- Gultom, E. S. 2020. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata*) Terhadap Bakteri MDR (*Multi Drug Resistant*) Dengan Metode KLT Bioautografi. *Jurnal Biosains*, 6(2), 45–52.
- Harris, D. C. (2020). *Quantitative chemical analysis* (9th ed.). W. H. Freeman and Company.
- Harborne, J. B. (1998). *Phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant analysis* (3rd ed.). Springer.
- Hasnaeni, Wisdawati, & Usman, S. (2019). Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen Dan Kadar Fenolik Ekstrak Tanaman Kayu Beta-Beta (*Lunasia amara Blanco*). *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy)*, 5 (2) : 175-182.
- Hyun, J.E. & Lee, S.Y. (2021). Comparison of measurement methods at determining the target sites injured by antimicrobials in *Escherichia coli*. *Food Science and Biotechnology*, 30(8), 1117–1127.
- Jhessy Y.I.P. 2020. Uji Banding Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Dan Daging Buah Pisang Mas (*Musa acuminata colla*) Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes* Secara In Vitro. Program Studi Farmasi Stik Siti Khadijah. Palembang
- Karlina, L., Putri, A. R., & Handayani, S. (2022). Skrining fitokimia dan aktivitas antibakteri ekstrak etanol tanaman obat. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 9(1), 45–52.
- Khafid, A., Wiraputra, M. D., Putra, A. C., Khoirunnisa, N., Putri, A. A. K., Suedy, S. W. A., & Nurchayati, Y.

2023. Uji Kualitatif Metabolit Sekunder pada Beberapa Tanaman yang Berkhasiat sebagai Obat Tradisional. *Buletin Anatomi Dan Fisiologi*, 8(1), 61-70.
- Khairani, I. A., Anisa, H. A. N., Mulyana, J. S., Riana, E. N., & Lestari, W. D. (2025). *Phytochemical analysis, antioxidant and antibacterial activity of robusta coffee (Coffea canephora) extract from West Lampung*. Elkawnie: Journal of Islamic Science and Technology, 11(1) 1–16. <https://doi.org/10.22373/ekw.v11i1.26200>
- Kurniawati, A., Fitriyanti, L., & Wijayanti, E. (2019). Penentuan MIC dan MBC ekstrak etanol tanaman obat terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 16(1), 45–52.
- Kusumo, D.W., dkk. 2022. Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit sekunder Pada Ekstrak Etanol Bunga Pepaya (*Carica papaya* L). *Journal Current Pharmaceutical Sciences JCPS*, Vol. 5 No.2.
- Mewaba, S.G. et. al. 2022. Antibacterial compounds of the cultivated Robusta coffee: *Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner. *Scientific African journal*. 16.
- Mulyani, S., Rahayu, D., & Putra, A. R. (2018). Aktivitas antibakteri ekstrak tanaman penen tuan sifat bakteriostatik dan bakterisidal. *Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia*, 7(3), 55–62.
- Novitasari, D. 2018. Validasi Metode Penetapan Kadar Genistein Ekstrak Edamame (*Gycine max* L. Merrill) Terfermentasi *Rhizopus oligosporus* dengan Metode KLT-Densitometri.
- Octaviani, M., Fadhli, H., & Yuneistya, E. 2019. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol Kulit Bawang Merah (*Allium cepa* L.) Dengan Metode Difusi Cakram. *Pharmaceutical Sciences & Research*, 6(1), 8.
- Prasasti, A., Prayudeni, S., & Sundari, F. (2024). *Antibacterial activity of tofethanol extract of robusta coffee beans (Coffea canephora) on Staphylococcus aureus and Escherichia coli bacteria*. Nursing Update: Jurnal Ilmiah Ilmu Keperawatan.
- Prayoga et al. 2019 ‘Antioksidan Ekstrak Kasar Daun Pepe (*Gymnema reticulatum* Br.) Pada Berbagai Jenis Pelarut’, *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*, 8(2), pp. 111–121.
- Rachmawati, P. A. (2019). Biodegradable detergent dari saponin daun waru dan ekstraksi bunga tanjung. *Indonesian Chemistry and Application Journal*, 2(2), 1-4.
- Retnowati, Y., Nurhayati B dan Posangi N. W. 2011. Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* pada Media yang Diekspos dengan Infus Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*). *Saintek*. Vol. 6 No. 2 Hal: 1-9.
- Sangi, M., Runtuwene, MR, Simbala, HE, & Makang, VM (2019). Analisis fitokimia tumbuhan obat di Kabupaten Minahasa Utara. *Kemajuan Kimia*, 1 (1), 47-53
- Sarker, S. D., & Nahar, L. (2009). *Chemistry for pharmacy students: General, organic and natural product chemistry*. John Wiley & Sons
- Sianto, B. V., Rollando, R., & Tambun, S. H. 2022. Uji Aktivitas

- Antikolesterol Kombinasi Ekstrak Daun Afrika (*Vernonia amygdalina*) Dan Daun Pinus Merkusii Secara *In Vitro*. *Sainsbertek Jurnal Ilmiah Sains & Teknologi*, 3(1), 322-333.
- Skoog, D. A., Holler, F. J., & Crouch, S. R. (2023). *Principles of instrumental analysis* (7th ed.). Cengage Learning.
- Sulistiyarini, I., Sari, D. A., & Wicaksono, T. A. 2019. Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Batang Buah Naga (*Hylocereus polyrhizus*). *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta*, 56–62
- Suryanti, E., Retnowati, D., Prastya, M. E., Ariani, N., Yati, I., Permatasari, V., Mozef, T., Dewijanti, I. D., Yuswan, A., Asril, M., Riana, E. N., & Batubara, I. (2023). *Chemical composition, antioxidant, antibacterial, antibiofilm, and cytotoxic activities of robusta coffee extract (Coffea canephora)*. HAYATI Journal of Biosciences, 30(4).
- Tiwari, R., Rana, C. S., & Kumari, P. (2020). Terpenoids as antibacterial agents: A review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 11(1), 1–12.
- Putri, A. R., Handayani, S., & Karlina, L. (2021). Penggunaan ciprofloxacin sebagai kontrol positif dalam uji aktivitas antibakteri ekstrak bahan alam. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 8(1), 12–19.
- Wang, L., Yang, B., Yan, B., Yao, X., & Huang, Y. (2023). Influence of particle size on solid–liquid extraction efficiency and diffusion behavior. *Scientific Reports*
- Wowor, M. G. G., Tampara, J., Suryanto, E., & Momuat, L. I. 2022. Skrining fitokimia dan uji antibakteri masker peel-off ekstrak etanol daun kalu burung (*Barleria prionitis* L.). *Jurnal Ilmiah Sains*, 22(1), 75-86.