

Perbandingan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Hijau dan Sangrai Kopi Robusta (*Coffea canephora* L.) Serta Kombinasinya Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Nabila Rubinadzari^{a,1*}, Lely Sulfiani Saula^{a,2}, Marsah Rahmawati Utami^{a,3}

^aProgram Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Singaperbangsa Karawang, Karawang

¹rubinadzari@gmail.com*; ²lely.sulfiani@fkes.unsika.ac.id; ³marsah.rahmawati@fkes.unsika.ac.id

*korespondensi penulis

INFO ARTIKEL	ABSTRAK
<p>Diterima : 25-06-2022 Direvisi : 08-07-2022 Disetujui : 11-07-2022</p>	<p><i>Staphylococcus aureus</i> merupakan bakteri dengan prevalensi tertinggi pada luka ulkus diabetikum yang dapat memperlambat proses penyembuhan luka. Hal ini kemudian diperparah dengan adanya resistensi terhadap berbagai antibiotik. Kopi dapat menjadi alternatif lain mengatasi resistensi antibiotik karena memiliki senyawa antibakteri, namun pemanggangan pada biji kopi akan menurunkan senyawa yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi perbedaan aktivitas antibakteri ekstrak biji hijau dan sangrai kopi robusta (<i>Coffea canephora</i> L.) terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>. Penelitian ini menggunakan desain <i>post-test only control group</i> dengan metode agar difusi cakram (<i>Kirby-bauer</i>). Sampel dibagi menjadi 13 kelompok, yaitu kontrol positif <i>clindamycin</i>, kontrol negatif aquades steril, kelompok perlakuan ekstrak biji hijau dan sangrai kopi robusta (25%, 50%, dan 100%), serta kelompok perlakuan kombinasi ekstrak biji hijau dan sangrai kopi robusta (50%:50%, 75%:25%, 25%:75%, 60%:40%, dan 40%:60%). Hasil analisis <i>One Way Anova</i> terhadap kelompok kontrol dan perlakuan didapatkan $p=0,000$. Hasil analisis <i>Post Hoc Tukey HSD</i> terhadap seluruh kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif didapatkan $p=0,000$. Zona hambat terbesar ditemukan pada kelompok kombinasi ekstrak 50%:50% dengan diameter sebesar 15,12 mm dan memiliki efek antibakteri yang sebanding dengan <i>clindamycin</i> dalam menghambat <i>Staphylococcus aureus</i> ($p=0,121$).</p>
<p>Kata kunci: Aktivitas antibakteri; Biji hijau; Biji sangrai; Kopi Robusta (<i>Coffea canephora</i> L.); <i>Staphylococcus aureus</i></p>	<p>ABSTRACT</p> <p><i>Staphylococcus aureus</i> is the bacteria with the highest prevalence in diabetic ulcers which can be delayed the wound healing process. This is then exacerbated by the existence of resistance to various antibiotics. Coffee can be another alternative to overcome antibiotic resistance because it has antibacterial compounds, but roasting coffee beans will reduce the compounds responsible for antibacterial activity. The aim of this study is to identify antibacterial activity differences between green and roasted bean robusta coffee (<i>Coffea canephora</i> L.) extract and its combination against <i>Staphylococcus aureus</i>. This research used a <i>post-test only control group</i> design with an agar disc diffusion method (<i>Kirby-bauer</i>). Samples were divided into 13 groups, positive control clindamycin, negative control water sterile, green and roasted bean robusta coffee extract treatments group (25%, 50%, and 100%), and its combination (50%:50%, 75%:25%, 25%:75%, 60%:40%, and 40%:60%). <i>One Way Anova</i> test results on the control and treatment groups obtained $p=0.000$. <i>Post Hoc Tukey HSD</i> test results of all treatments compared to the negative control group obtained $p=0.000$. The largest inhibition zone was found in a 50%:50% extract combination with 15.12 mm in diameter, and its antibacterial effect was equal to <i>clindamycin</i> in inhibiting <i>Staphylococcus aureus</i> ($p=0.121$).</p>
<p>Key word: Antibacterial activity; Green bean; Roasted bean; Robusta Coffee (<i>Coffea canephora</i> L.); <i>Staphylococcus aureus</i></p>	

This is an open access article under the [CC-BY-SA](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/) license.



Pendahuluan

Ulkus diabetikum merupakan salah satu komplikasi umum pada pasien diabetes melitus yang ditandai dengan adanya luka terbuka yang bersifat kronik di bawah pergelangan kaki yang dapat meningkatkan morbiditas, mortalitas, dan mengurangi kualitas hidup pasien (Perkeni, 2019). Hal ini disebabkan dari lamanya seseorang menderita diabetes melitus yang akan merujuk pada komplikasi mikroangiopati dan menyebabkan timbulnya ulkus pada kaki akibat dari terjadinya neuropati diabetikum (Marissa & Ramadhan, 2017).

Proses penyembuhan ulkus diabetikum sering berjalan lambat salah satunya disebabkan oleh luka infeksi (Hajimohammadi et al., 2019). Pada penelitian yang dilakukan oleh Naeem et al., (2019) menyebutkan bahwa bakteri dengan prevalensi tertinggi yang terdapat pada ulkus diabetikum adalah *S. aureus* sebesar 83%, kemudian diikuti oleh *E.coli* (66%), *K. pneumonia* (40%), dan *P.aeruginosa* (16%).

Staphylococcus aureus merupakan merupakan flora normal pada kulit, saluran pernafasan, dan saluran pencernaan makanan pada manusia. Infeksi oleh *Staphylococcus aureus* ditandai dengan adanya kerusakan jaringan yang disertai abses bernanah (Yaqin & Nurmilawati, 2015). Pada penelitian meta analisis yang dilakukan oleh Deyno et al., (2017) menunjukkan bahwa bakteri *Staphylococcus aureus* resisten terhadap banyak agen antibakteri antara lain amoxicilin (77%), penisilin (76%), ampicilin (75%), tetrasiklin (62%), metisilin (47%), cotrimoxazol (47%), doksisisiklin (43%), dan eritromisin (41%). Salah satu solusi yang menjanjikan untuk mengatasi resistensi antibiotik adalah dengan pemanfaatan senyawa yang berasal dari alam yang sekaligus dapat mengurangi efek samping akibat penggunaan obat kimia (Bakkir, 2017).

Kopi secara empirik telah digunakan sebagai pengobatan luka ulkus diabetikum oleh masyarakat. Dalam catatan sejarah, kopi digunakan sebagai ramuan kuno untuk mengobati luka karena kopi memiliki kandungan senyawa yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antibakteri antara lain kafein, trigonelin, glioksal, metilglioksal, dan asam klorogenat (Yuwono, 2014; Kuntala et al., 2020). Hal ini kemudian dibuktikan dengan penelitian yang dilakukan oleh Yulianti et al., (2018) dan Pangestu (2020) yang menyebutkan bahwa pemberian kopi

robusta pada luka ulkus diabetikum dapat mempercepat proses penyembuhan luka.

Kopi jenis robusta dan arabika merupakan spesies kopi yang paling banyak dijumpai. Perbedaan keduanya terdapat pada kandungan senyawa bioaktif yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antibakteri. Rasa pahit akan lebih terasa pada kopi arabika dibandingkan jenis kopi robusta, namun kopi robusta memiliki senyawa bioaktif antibakteri yang lebih tinggi (Suhayat et al., 2015). Hal ini juga dibuktikan oleh penelitian yang dilakukan oleh Nayeem et al., (2011) yang menunjukkan hasil bahwa kopi robusta memiliki aktivitas antibakteri yang lebih baik dibandingkan kopi arabika.

Berdasarkan beberapa penelitian terkait aktivitas antibakteri kopi robusta menunjukkan bahwa kopi robusta dapat menghambat pertumbuhan bakteri plak gigi, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *E.coli*, dan *Klebsiella pneumonia* (Yaqin dan Nurmilawati, 2015; Nayeem et al., 2011; Suhayat et al., 2015). 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 (Suhayat et al., 2015; Goldemberg et al., 2014). Oleh karena itu, dalam penelitian ini akan dilakukan identifikasi terkait aktivitas antibakteri biji hijau dan sangrai kopi robusta (*Coffea canephora* L.) serta kombinasi keduanya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Metode

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorium dengan desain penelitian *post-test only control group*. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Singaperbangsa Karawang yang dilakukan pada bulan Januari-Maret 2022. Sampel biji kopi yang digunakan dalam penelitian ini telah diidentifikasi oleh Organisasi Riset Ilmu Pengetahuan Hayati di Pusat Riset Biologi Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) dengan surat pemeriksaan B-985/V/DL.05.07/12/2021.

I. Alat dan Bahan

Alat penelitian dalam penelitian ini antara lain alat gelas, mortar, alu, blender, timbangan analitik (Ohaus[®]), *waterbath* (Memmert[®]), cawan petri, pinset steril, mikropipet (Dumo[®]), *vortex mixer* (Thermo Scientific[®]), jarum ose, inkubator (B-one digital IN-65-OL[®]), *Biological Safety Cabinet* (Elisa V60[®]), autoklaf (Analog AA[®]), *rotary evaporator* (Buchi[®]), kuvet, dan Spektrofotometri UV-Vis.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji kopi hijau dan biji kopi sangrai robusta yang diperoleh dari Gunung Puntang Cimaung Bandung, koloni *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *clindamycin*, aquades steril (Otsuka[®]), aqua DM, etanol 96%, NaCl 0,9%, media MHA (Mueller Hinton Agar) (HiMedia[®]), media nutrisi agar (NA) (HiMedia[®]), kertas saring, kapas lidi steril (OneMed[®]), kertas cakram steril (Oxoid[®]), H₂SO₄ 1% , BaCl₂ 1%, reagen Mayer, reagen Dragendroff, logam magnesium, HCl pekat, FeCl₃ 1%, H₂SO₄ pekat, kloroform, asam asetat anhidrat, dan HCl 2N.

2. Jalannya Penelitian

Pembuatan Ekstrak

Ekstrak biji hijau dan biji sangrai kopi robusta diperoleh dengan memblender biji hijau dan biji sangrai kopi robusta secara terpisah sampai menjadi serpihan kecil dan kemudian ditumbuk sehingga menghasilkan tekstur yang lebih halus. Selanjutnya serbuk biji hijau dan sangrai kopi robusta ditimbang sebanyak 300 g dan dimaserasi selama 3x24 jam dengan larutan etanol 96% 3000 ml sambil sesekali diaduk. Kemudian maserat disaring dan dilakukan evaporasi dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C sampai terbentuk ekstrak kental. Selanjutnya ekstrak kental dipekatkan di atas *waterbath* hingga seluruh pelarut etanol menguap untuk mendapatkan ekstrak pekat (Mubarak et al., 2018).

Skrining Fitokimia Ekstrak

- a. Uji kandungan alkaloid
Ekstrak ditambahkan 5 ml amonia 25% dan 20 ml kloroform dalam gelas kimia, kemudian dimasukkan sebanyak 1 ml larutan ke dalam dua tabung reaksi dan ditambahkan dua tetes reagen Mayer dan dua tetes reagen Dragendroff pada tabung reaksi lainnya. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan berwarna putih untuk sampel yang ditetesi reagen Mayer dan endapan jingga cokelat untuk reagen Dragendroff (Wigawati et al., 2018; Afriani et al., 2016).
- b. Uji kandungan flavonoid
Ekstrak ditambahkan 100 ml aquadest dalam gelas kimia, kemudian dipanaskan kurang lebih

lima menit. Setelah dipanaskan, disaring menggunakan kertas saring, lalu kurang lebih sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 0,1 g logam Mg dan lima tetes HCl pekat. Sampel positif flavonoid jika terbentuk larutan berwarna kuning jingga sampai merah (Ergina et al., 2014).

- c. Uji kandungan fenolik
Ekstrak ditambahkan etanol 96% 10 ml dan diambil kurang lebih sebanyak 1 ml larutan kemudian ditambahkan dua tetes larutan FeCl₃ 1%. Sampel dikatakan mengandung senyawa fenolik jika terbentuk larutan berwarna hijau, merah, ungu, biru, atau hitam yang kuat (Tahir et al., 2017).
- d. Uji kandungan steroid dan terpenoid
Ekstrak ditambahkan 3 ml kloroform, 2 ml H₂SO₄ pekat, dan 2 ml asam asetat anhidrat dalam tabung reaksi. Sampel positif mengandung steroid jika terbentuk larutan berwarna biru atau hijau dan positif terpenoid jika terbentuk larutan berwarna merah kecokelatan (Utami et al., 2017).
- e. Uji kandungan saponin
Dalam tabung reaksi, dimasukkan ekstrak dan ditambahkan 10 ml air panas, lalu didinginkan. Setelah dingin, tabung reaksi dikocok dengan kuat selama 10 detik. Sampel positif mengandung saponin jika terbentuk busa yang stabil setelah penambahan satu tetes larutan HCl 2N (Wigawati et al., 2018).

Uji Aktivitas Antibakteri

Peremajaan Bakteri

Bakteri ditanam dengan cara menggores biakan bakteri uji menggunakan jarum ose secara zig zag di atas media nutrisi agar (NA) miring pada tabung reaksi. Kemudian diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C (Putri et al., 2019).

Pembuatan Suspensi Bakteri

Pembuatan suspensi bakteri dilakukan dengan cara menyiapkan tabung reaksi yang berisi larutan 10 ml larutan NaCl 0,9%, setelah itu dimasukkan kurang lebih bakteri uji sebanyak satu ose dan kemudian dihomogenkan dengan *vortex mixer*. Larutan suspensi ini selanjutnya dibandingkan kekeruhannya dengan larutan standar McFarland 0.5. Suspensi bakteri yang sudah setara kekeruhannya dengan McFarland 0.5 kemudian digoreskan pada permukaan media MHA yang sudah memadat menggunakan kapas lidi steril secara merata (Tanauma et al., 2016).

Pengujian Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri dalam penelitian ini dilakukan dengan metode agar difusi (*Kirby-bauer*). Tahapan awal sebelum dilakukan uji aktivitas antibakteri adalah pengenceran ekstrak biji hijau dan sangrai kopi robusta 25% dan 50% dari ekstrak konsentrasi 100%. Selanjutnya kertas cakram steril diletakkan ke dalam larutan uji 25%, 50%, dan 100% selama kurang lebih 30 menit, kemudian diangkat dan didiamkan hingga mengering. Kertas cakram lain disiapkan untuk kontrol negatif berupa aquades steril, dan larutan kontrol positif *clidamycin* 0,25 mg/ml yang dilakukan dengan cara memipet 10 µl ke dalam kertas cakram kosong. Kertas cakram yang sudah kering kemudian diletakkan di atas media MHA yang sudah diinokulasi dengan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus*, selanjutnya dilakukan inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam kemudian diamati zona hambatnya (Wilapangga & Syaputra, 2018).

Pengujian antibakteri kombinasi ekstrak biji hijau dan sangrai kopi robusta dilakukan setelah diketahui hasil aktivitas antibakteri sampel tunggal yaitu ekstrak biji hijau dan ekstrak biji sangrai kopi robusta dengan konsentrasi yang menghasilkan diameter zona hambat tertinggi yang akan dilakukan kombinasi. Jika pada hasil uji aktivitas antibakteri sampel tunggal didapatkan konsentrasi 100% yang menghasilkan zona hambat tertinggi, maka selanjutnya dibuat 5 jenis kombinasi ekstrak biji hijau dan sangrai kopi robusta pada konsentrasi tersebut, yaitu kombinasi 50%:50% (2,5 g ekstrak biji hijau 100%+2,5 g ekstrak biji sangrai 100%), 75%:25% (3,75 g ekstrak biji hijau 100%+1,25 g ekstrak biji sangrai 100%), 25%:75% (1,25 g ekstrak biji hijau 100%+3,75 g ekstrak biji sangrai 100%), 60%:40% (3 g ekstrak biji hijau 100%+2 g ekstrak biji sangrai 100%), dan 40%:60% (2 g ekstrak biji hijau 100%+3 g ekstrak biji sangrai 100%).

Analisa Data

Diameter zona hambat yang dihasilkan kemudian dianalisis dengan analisis statistik parametrik yaitu *One Way Anova* ($p < 0,05$) dan *Post Hoc Tukey HSD* ($p < 0,05$) untuk mengetahui adanya perbedaan signifikan dan besarnya perbedaan signifikan antar kelompok dengan menggunakan program komputer SPSS versi 24.

Hasil dan Pembahasan Skrining Fitokimia Ekstrak

Skrining fitokimia dilakukan terhadap ekstrak biji hijau dan sangrai kopi robusta dengan tujuan sebagai langkah awal untuk mengetahui gambaran

secara umum mengenai golongan senyawa yang terdapat pada ekstrak biji hijau dan sangrai kopi robusta secara kualitatif (Pant et al., 2017). Metode skrining fitokimia dilakukan dengan melihat hasil reaksi berupa warna pada saat penambahan reagen ke dalam sampel tumbuhan (Fardiyah et al., 2020). Berikut adalah hasil skrining fitokimia terhadap ekstrak biji hijau dan biji sangrai kopi robusta yang disajikan dalam Tabel I.

Tabel I. Hasil skrining fitokimia ekstrak biji hijau dan sangrai kopi robusta

Golongan senyawa	Hasil		Keterangan
	Biji Hijau	Biji Sangrai	
Alkaloid	+	+	Endapan jingga
	+	+	Endapan putih
Flavonoid	+	+	Warna jingga
Fenolik	+	+	Warna hitam
Steroid	-	-	-
Terpenoid	+	+	Merah kecoklatan
Saponin	+	+	Terbentuk busa

Keterangan: (+) positif: mengandung golongan senyawa; (-) negatif: tidak mengandung golongan senyawa

Hasil skrining fitokimia terhadap biji hijau dan biji sangrai kopi robusta sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Wigawati et al. (2018) yang menyebutkan bahwa biji kopi robusta memiliki golongan senyawa kimia alkaloid, tanin, saponin, dan flavonoid. Menurut Antonio et al. (2011) biji kopi robusta mengandung senyawa polifenol. Namun, ada sedikit perbedaan pada hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Mahajan & Kapoor (2018) yang menyebutkan bahwa selain senyawa flavonoid, fenolik, terpenoid, dan saponin, biji kopi robusta juga mengandung golongan senyawa steroid. Perbedaan ini mungkin disebabkan karena perbedaan ekologi tempat tumbuh yang berbeda sehingga kadar kandungan senyawa pada biji kopi robusta juga akan berbeda (Utami et al. 2018).

Senyawa yang terkandung di dalam biji hijau dan biji sangrai kopi robusta memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Alkaloid memiliki mekanisme kerja sebagai antibakteri dengan cara merusak lapisan peptidoglikan pada dinding sel bakteri yang menyebabkan sel bakteri lisis. Mekanisme kerja flavonoid sebagai penghambat pertumbuhan bakteri yaitu dengan menghambat enzim DNA *gyrase* pada tahap replikasi DNA bakteri sehingga menghentikan perbanyakan bakteri. Penghambatan pertumbuhan bakteri oleh senyawa fenolik dikaitkan dengan mekanismenya dalam merusak membran sel bakteri sehingga menyebabkan terganggunya proses enzimatik bakteri. Begitu juga golongan senyawa terpenoid yang memiliki peran sebagai antibakteri dengan melibatkan fungsinya sebagai perusak membran sel bakteri melalui

komponen-komponen lipofilik. Serta saponin yang memiliki kemampuan untuk mendenaturasi protein sebagai mekanisme penghambatan pertumbuhan bakteri dengan cara menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri sehingga kemampuan permeabilitas membran sel bakteri menjadi tidak stabil (Badaring et al., 2020; Sudarmi et al., 2017).

Pengujian Antibakteri Ekstrak Biji Hijau dan Sangrai Kopi Robusta

Dalam penelitian ini dilakukan identifikasi dengan cara menguji aktivitas antibakteri serta melihat perbedaan kemampuan ekstrak etanol biji hijau dan biji sangrai kopi robusta (*Coffea canephora* L.) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan metode agar difusi cakram (*Kirby-bauer*) dengan konsentrasi 25%, 50%, dan 100% pada masing-masing ekstrak. Terdapatnya aktivitas antibakteri pada ekstrak dapat diketahui melalui terbentuknya zona hambat di sekitar kertas cakram yang ditandai dengan daerah bening.

Interpretasi diameter zona hambat dari hasil pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan mengikuti petunjuk tabel kategori daya hambat antibakteri yang dikemukakan oleh Davis & Stout (1971) yang ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Kategori daya hambat

No.	Diameter zona hambat (mm)	Kategori
1	> 20	Sangat kuat
2	10 -20	Kuat
3	5-10	Sedang
4	≤ 5	Lemah

Sumber: Davis & Stout (1971)

Hasil pengukuran rata-rata diameter zona hambat ekstrak etanol biji hijau dan biji sangrai kopi robusta ditunjukkan pada Tabel 3 dan Tabel 4.

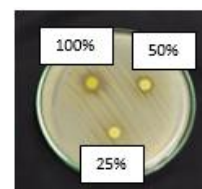
Tabel 3. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak biji hijau kopi robusta

No.	Kelompok	Mean ± SD	Kategori
1	25%	1,62 ± 0,35	Lemah
2	50%	3,73 ± 0,40	Lemah
3	100%	4,90 ± 0,59	Lemah
4	Kontrol (+)	18,28 ± 0,87	Kuat
5	Kontrol (-)	0	Tidak ada

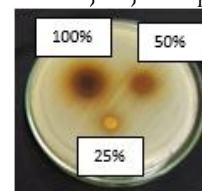
Tabel 4. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak biji sangrai kopi robusta

No.	Kelompok	Mean ± SD	Kategori
1	25%	1,64 ± 0,56	Lemah
2	50%	4,28 ± 0,62	Lemah
3	100%	10,32 ± 0,28	Kuat
4	Kontrol (+)	18,28 ± 0,87	Kuat
5	Kontrol (-)	0	Tidak ada

Berdasarkan Tabel 3 dan Tabel 4 di atas menunjukkan bahwa hasil pengukuran rata-rata diameter zona hambat ekstrak biji hijau dan biji sangrai kopi robusta terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki ukuran yang berbeda-beda dengan diameter zona hambat terkecil pada konsentrasi 25% dan diameter zona hambat terbesar terdapat pada konsentrasi 100%. Kelompok kontrol negatif yang digunakan sebagai pelarut ekstrak yaitu aquades steril tidak menunjukkan adanya zona hambat sedangkan kelompok kontrol positif *clindamycin* memiliki rata-rata zona hambat yang lebih tinggi dibandingkan zona hambat kelompok perlakuan ekstrak biji hijau dan biji sangrai kopi robusta. Adanya zona hambat pada setiap variasi konsentrasi menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji hijau dan biji sangrai kopi robusta memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Berikut adalah diameter zona hambat yang terbentuk pada media MHA yang ditunjukkan pada Gambar 1 dan Gambar 2.



Gambar 1. Diameter zona hambat yang terbentuk pada ekstrak biji hijau kopi robusta



Gambar 2. Diameter zona hambat yang terbentuk pada ekstrak biji sangrai kopi robusta

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak biji hijau dan biji sangrai kopi robusta dengan konsentrasi masing-masing 25%, 50%, dan 100% memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Yaqin & Nurmilawati (2015) yang mendapatkan hasil bahwa ekstrak biji kopi robusta memiliki aktivitas antibakteri pada konsentrasi 12,5%, 25%, 50%, dan 100% dengan rata-rata diameter tertinggi yaitu 7,63 mm pada konsentrasi 100% dan rata-rata diameter terendah sebesar 3,54 mm pada konsentrasi 12,5%.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Djajal et al. (2018) tentang uji aktivitas antibakteri biji hijau kopi robusta terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang menunjukkan hasil rata-rata diameter terbesar pada konsentrasi 200 mg/ml yaitu 32,3 mm dan rata-rata terkecil pada konsentrasi

50 mg/ml yaitu sebesar 21,2 mm. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Tasew et al. (2020) tentang pengujian aktivitas antibakteri biji kopi yang berasal dari berbagai daerah di Ethiopia menyebutkan bahwa terdapat perbedaan diameter zona hambat setiap sampel biji kopi dari setiap daerah yang berbeda. Variasi ini menunjukkan keragaman komposisi senyawa bioaktif di setiap sampel biji kopi yang juga dipengaruhi oleh jenis kopi, genetik tumbuhan, dan tempat tumbuhnya.

Aktivitas antibakteri pada biji sangrai dan biji hijau kopi robusta disebabkan oleh adanya senyawa yang bertanggung jawab terhadap efek antibakteri pada kopi robusta. Senyawa tersebut antara lain kafein, asam klorogenat, trigonelin, dan asam *caffèic* (Patay et al., 2016). Aktivitas antibakteri pada biji sangrai dan biji hijau kopi robusta disebabkan oleh adanya senyawa yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antibakteri pada kopi robusta. Senyawa tersebut antara lain kafein, asam klorogenat, trigonelin, dan asam *caffèic* (Patay et al., 2016). Kafein (1,3,7-trimethylxanthin, $C_8H_{10}N_4O_2$) adalah alkaloid alami atau alkaloid xanthine yang bekerja dengan cara menghambat tahapan sintesis DNA pada bakteri dengan menembus dinding sel bakteri sehingga menurunkan aktivitas sel bakteri (Nonthakaew et al., 2015). Asam klorogenat merupakan senyawa fenolik hasil esterifikasi asam-trans-sinamat (*caffèic*, *ferulic*, dan *p-coumaric*) yang bekerja dengan cara mempengaruhi permeabilitas membran luar dan plasma bakteri sehingga menyebabkan sel bakteri lisis (Lou et al., 2011). Trigoneline (N-methylnicotinic acid, $C_7H_7NO_2$) adalah turunan vitamin B6 yang memberikan rasa pahit. Trigonelin bekerja dengan mempengaruhi stabilitas membran sitoplasma bakteri yang mengakibatkan terganggunya metabolisme sel bakteri (Maheswari et al., 2015; Zhou et al., 2012). Asam *caffèic* adalah senyawa yang diklasifikasikan sebagai asam hidroksisinamat yang mengandung senyawa fenolik dan gugus fungsi akrilik. Asam *caffèic* dapat bertindak sebagai antibakteri melalui mekanisme perubahan permeabilitas membran, penghambatan aktivitas enzim serta merusak struktur protein dan DNA (Khan et al., 2021; Andrade et al., 2015).

Biji hijau kopi robusta memiliki kadar kafein, asam klorogenat, trigonelin, dan asam *caffèic* yang lebih besar dibandingkan biji sangrai kopi robusta sehingga kemampuan antibakteri yang dimiliki biji hijau kopi robusta lebih tinggi dibanding biji sangrai kopi robusta sebagai akibat adanya proses pemanggangan. Namun, dalam penelitian ini menunjukkan bahwa biji sangrai kopi robusta justru memiliki kemampuan antibakteri yang lebih tinggi dibandingkan biji hijau kopi robusta. Hal ini dapat

disebabkan karena adanya pembentukan senyawa baru ketika biji kopi mengalami proses pemanggangan yaitu terbentuknya melanoidin yang memiliki aktivitas antibakteri melalui reaksi Maillard.

Melanoidin adalah polimer yang bertanggung jawab terhadap warna kecoklatan pada kopi yang di produksi pada tahap akhir reaksi Maillard (Rufián-Henares & Pastoriza, 2015). Durasi waktu pemanggangan biji kopi memiliki peran penting terhadap pembentukan senyawa melanoidin. Semakin lama proses pemanggangan biji kopi, maka dapat meningkatkan kadar senyawa melanoidin yang dihasilkan pada tahap akhir reaksi Maillard (Langner & Rzeski, 2014). Melanoidin memiliki kontribusi terhadap aktivitas antioksidan, antihipertensi, dan antibakteri (Kukuminato et al., 2021). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Jiménez-Zamora et al. (2015) dan Langner & Rzeski (2014) menunjukkan bahwa melanoidin yang terdapat pada biji kopi sebagai hasil dari proses pemanggangan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Pengujian Antibakteri Kombinasi Ekstrak Biji Hijau dan Sangrai Kopi Robusta

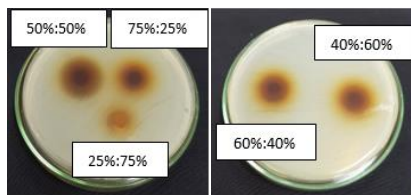
Berdasarkan pengujian aktivitas antibakteri biji sangrai dan biji hijau kopi robusta menunjukkan bahwa konsentrasi terbaik yang menghasilkan diameter zona hambat terbesar adalah pada konsentrasi ekstrak 100%. Dari hasil tersebut maka dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap kombinasi ekstrak biji hijau dan biji sangrai kopi robusta dengan sampel yang digunakan berupa ekstrak dengan konsentrasi 100% yang selanjutnya dibuat menjadi 5 jenis kombinasi dengan perbandingan yaitu 50%:50%, 75%:25%, 25%:75%, 60%:40%, dan 40%:60%. Berikut adalah hasil uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak biji hijau dan sangrai kopi robusta yang ditunjukkan pada Tabel 5.

Tabel 4. Hasil uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak biji hijau dan sangrai kopi robusta

No.	Kelompok	Mean \pm SD	Kategori
1	50%:50%	15,12 \pm 1,07	Kuat
2	75%:25%	5,28 \pm 1,37	Sedang
3	25%:75%	9,37 \pm 1,14	Sedang
4	60%:40%	9,13 \pm 0,45	Sedang
5	40%:60%	10,25 \pm 0,35	Kuat

Biji hijau dan biji sangrai kopi robusta masing-masing memiliki senyawa yang berkontribusi dalam mendukung aktivitas antibakteri, sehingga ketika pengujian aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak biji sangrai dan biji hijau robusta dihasilkan diameter zona hambat yang lebih tinggi dibandingkan

diameter zona hambat ekstrak tunggal. Berikut adalah diameter zona hambat yang terbentuk pada media MHA yang disajikan pada Gambar 3 di bawah ini.



Gambar 3. Diameter zona hambat yang terbentuk pada kelompok kombinasi ekstrak biji hijau dan sangrai kopi robusta

Diameter zona hambat terbesar terdapat pada kombinasi ekstrak biji hijau dan biji sangrai kopi robusta 50%:50%. Hasil ini diduga sebagai akibat dari adanya dua senyawa yang bersinergis satu sama lain terhadap aktivitas antibakteri pada biji hijau dan biji sangrai kopi robusta, 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 α dicarbonyl (glioksal, metilglioksal, dan diacetyl) yang merupakan salah satu produk akhir dari reaksi Maillard pada proses pemanggangan biji sangrai kopi robusta dan memiliki aktivitas antibakteri. Kafein secara sinergis akan meningkatkan aktivitas antibakteri senyawa α dicarbonyl, sehingga dengan adanya kafein pada biji hijau dan biji sangrai kopi robusta, serta senyawa α dicarbonyl pada biji sangrai kopi robusta sebagai produk hasil pemanggangan, menyebabkan kemampuan antibakteri yang lebih besar pada kombinasi ekstrak biji hijau dan biji sangrai kopi robusta konsentrasi 50%:50% (Brighina et al., 2020; Maletta & Were, 2012; Daglia et al., 2007).

Data hasil diameter zona hambat setelah dilakukan analisis statistik *One Way Anova* pada kelompok perlakuan ekstrak biji hijau dan biji sangrai kopi robusta serta kelompok perlakuan kombinasi ekstrak menunjukkan nilai signifikansi = 0,000 ($p < 0,05$) atau kurang dari 0,05 yang artinya terdapat perbedaan yang signifikan pada diameter zona hambat antar semua kelompok.

Analisis dilanjutkan dengan *Post Hoc Tukey HSD* dan menunjukkan nilai signifikansi = 0,000 pada kelompok perlakuan biji hijau dan sangrai kopi robusta serta kombinasinya dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif ($p < 0,05$). Kemudian pada kombinasi ekstrak biji hijau dan biji sangrai kopi robusta dengan perbandingan 50%:50% tidak memiliki perbedaan signifikan terhadap kelompok

kontrol positif, hal ini menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak 50%:50% memiliki efek inhibisi yang sebanding dengan clindamycin dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang ditunjukkan dengan nilai signifikansi lebih dari 0,05 ($p = 0,121$).

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian uji aktivitas antibakteri biji hijau dan biji sangrai kopi robusta (*Coffea canephora* L.) serta kombinasinya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dapat disimpulkan bahwa ekstrak biji hijau dan sangrai kopi robusta serta kombinasinya memiliki aktivitas antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan hasil analisis statistik *One Way Anova* terhadap kelompok kontrol, kelompok perlakuan sampel tunggal dan kelompok perlakuan kombinasi didapatkan $p = 0,000$. Kemudian hasil analisis *Post Hoc Tukey HSD* terhadap seluruh kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif didapatkan $p = 0,000$. Zona hambat terbesar ditemukan pada kelompok kombinasi ekstrak 50%:50% dengan diameter sebesar 15,12 mm dan memiliki efek antibakteri yang sebanding dengan clindamycin dalam menghambat *Staphylococcus aureus* ($p = 0,121$).

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Ibu apt. Lely Sulfiani Saula, S.Farm., M.Si. dan Ibu Marsah Rahmawati Utami, M.Si. selaku pembimbing yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Afriani, N., Idiawati, N., & Alimuddin, A. H. (2016). Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Akar Mentawa (*Artocarpus anisophyllus*) terhadap Larva *Artemia salina*. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 5(1), 58–64.
- Andrade, M., et al., (2015). Fine-tuning of the hydrophobicity of caffeic acid: studies on the antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *RSC Advances*, 5(66), 53915–53925. <https://doi.org/10.1039/c5ra05840f>
- Antonio, A. G., et al., (2011). Inhibitory properties of *Coffea canephora* extract against oral bacteria and its effect on demineralisation of deciduous teeth. *Archives of Oral Biology*, 56(6), 556–564.

- <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2010.12.001>
- Badaring, D. R., et al., (2020). Uji Ekstrak Daun Maja (*Aegle marmelos* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Indonesian Journal of Fundamental Sciences*, 6(1), 16. <https://doi.org/10.26858/ijfs.v6i1.13941>
- Bakkir, L. K. (2017). The antibacterial activity of green coffee and Arabica coffee extracts on cariogenic *Streptococcus mutans* isolated from dental caries: An in vitro study. *University of Thi-Qar Journal of Science*, 6(2), 70–74. <https://doi.org/10.32792/utq/utjsci/vol6/2/16>
- Brighina, S., Restuccia, C., Arena, E., Palmeri, R., & Fallico, B. (2020). Antibacterial activity of 1,2-dicarbonyl compounds and the influence of the in vitro assay system. *Food Chemistry*, 311(November), 125905. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125905>
- Daglia, M., et al., (2007). Isolation, identification, and quantification of roasted coffee antibacterial compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(25), 10208–10213. <https://doi.org/10.1021/jf0722607>
- Davis, W. W., & Stout, T. R. (1971). Disc plate method of microbiological antibiotic assay. II. Novel procedure offering improved accuracy. *Applied Microbiology*, 22(4), 666–670. <https://doi.org/10.1128/aem.22.4.666-670.1971>
- Deyno, S., Fekadu, S., & Astatkie, A. (2017). Resistance of *Staphylococcus aureus* to antimicrobial agents in Ethiopia: A meta-analysis. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 6(1), 1–15. <https://doi.org/10.1186/s13756-017-0243-7>
- Djajal, R., et al., (2018). Antibacterial Activity of Green Coffee Bean Extract Against *Staphylococcus aureus* and *Salmonella enteritidis*. *Biotika*, 1(20), 37–43.
- Ergina, Nuryanti, S., & Purtsari, I. D. (2014). Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder Pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) Yang Diekstraksi Dengan Pelarut Air Dan Etanol Qualitative Test of Secondary Metabolites Compounds in Palado Leaves (Agave). *J. Akad. Kim*, 3(3), 165–172.
- Fardiyah, Q., et al., (2020). Preliminary Phytochemical Screening and Fluorescence Characterization of Several Medicinal Plants Extract from East Java Indonesia. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 833(1). <https://doi.org/10.1088/1757-899X/833/1/012008>
- Goldemberg, D. C., Antonio, A. G., Farah, A., & Maia, L. C. (2014). *Coffea canephora*: A Promising Natural Anticariogenic Product. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409517-5.00069-3>
- Hajimohammadi, K., et al., (2019). NPWT: A gate of hope for patients with diabetic foot ulcers. *British Journal of Nursing*, 28(12), S6–S9. <https://doi.org/10.12968/bjon.2019.28.12.S6>
- Jiménez-Zamora, A., Pastoriza, S., & Rufián-Henares, J. A. (2015). Revalorization of coffee by-products. Prebiotic, antimicrobial and antioxidant properties. *LWT - Food Science and Technology*, 61(1), 12–18. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.11.031>
- Khan, F., Bamunuarachchi, N. I., Tabassum, N., & Kim, Y. M. (2021). Caffeic Acid and Its Derivatives: Antimicrobial Drugs toward Microbial Pathogens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69, 2979–3004. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c07579>
- Kukuminato, S., Koyama, K., & Koseki, S. (2021). Antibacterial Properties of Melanoidins Produced from Various Combinations of Maillard Reaction against Pathogenic Bacteria. *Microbiology Spectrum*, 9(3), 1–10. <https://doi.org/10.1128/spectrum.01114-2-21>
- Langner, E., & Rzeski, W. (2014). Biological properties of melanoidins: A review. *International Journal of Food Properties*, 17(2), 344–353. <https://doi.org/10.1080/10942912.2011.631253>
- Lou, Z., et al., (2011). Antibacterial activity and mechanism of action of chlorogenic acid. *Journal of Food Science*, 76(6). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02213.x>
- Mahajan, R., & Kapoor, N. (2018). Phytochemical

- analysis and antimicrobial activity of Roasted beans of *Coffea robusta*. *International Journal of Pharmacy and Biological Science*, 8(1), 89–95.
- Maheswari, R. A., Krismariono, A., & Bargowo, L. (2015). Pertumbuhan bakteri plak (Inhibition activity of Robusta coffee bean extract (*Coffea canephora*) on bacterial plaque growth. *Periondotic Journal*, 7(2), 16–20.
- Maletta, A. B., & Were, L. M. (2012). Effect of Coffee Filtrate, Methylglyoxal, Glyoxal, and Caffeine on *Salmonella Typhimurium* and *S. Enteritidis* Survival in Ground Chicken Breasts. *Journal of Food Science*, 77(2), 135–141.
<https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02554.x>
- Marissa, N., & Ramadhan, N. (2017). Kejadian ulkus berulang pada pasien diabetes mellitus. *Sel Jurnal Penelitian Kesehatan*, 4(2), 91–99.
<https://doi.org/10.22435/sel.v4i2.1471>
- Mubarak, F., Sartini, S., & Purnawanti, D. (2018). activity. *International Food Research Journal*, 22(1), 9–14.
- Pangestu, A. R. (2020). Perbandingan Kecepatan Proses Penyembuhan Luka Swiss Webster dengan Kopi Robusta dan Arabika. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*, 12(2), 812–816.
<https://doi.org/10.35816/jiskh.v12i2.414>
- Pant, D. R., et al., (2017). Phytochemical screening and study of antioxidant, antimicrobial, antidiabetic, anti-inflammatory and analgesic activities of extracts from stem wood of pterocarpus marsupium roxburgh. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*, 6(2), 170–176.
<https://doi.org/10.5455/jice.20170403094055>
- Patay, É. B., Bencsik, T., & Papp, N. (2016). Phytochemical overview and medicinal importance of *Coffea* species from the past until now. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 9(12), 1127–1135.
<https://doi.org/10.1016/j.apjtm.2016.11.008>
- Perkeni. (2019). Pedoman Pengelolaan dan Pencegahan DM Tipe 2 Dewasa Indonesia. In *Perkumpulan Endokrinologi Indonesia*.
- Putri, R. M., Diana, V. E., & Fitri, K. (2019). Perbandingan Uji Aktivitas Antibakteri Effect of Ethanol Concentration on Antibacterial Activity of Bligo Fruit Extract (*Benincasa hispida* Thunb) to *Salmonella typhi*. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 5(3), 76.
<https://doi.org/10.24198/ijpst.v5i3.16444>
- Naeem, F., et al., (2019). Isolation and antibiotic sensitivity pattern of drug resistant bacteria in ulcerative foot of type 2 diabetic patients. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 32(4), 1843–1848.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31680081>
- Nayeem, N., Denny, G., & Mehta, S. K. (2011). Comparative phytochemical analysis, antimicrobial and anti oxidant activity of the methanolic extracts of the leaves of *coffea arabica* and *coffea robusta*. *Der Pharmacia Lettre*, 3(1), 292–297.
- Nonthakaew, A., Matan, N., Aewsiri, T., & Matan, N. (2015). Caffeine in foods and its antimicrobial
dari Ekstrak Etanol Bunga, Daun dan Akar Tumbuhan Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Dunia Farmasi*, 3(3), 131–143.
<https://doi.org/10.33085/jdf.v3i3.4487>
- Rufián-Henares, J. A., & Pastoriza, S. (2015). Melanoidins in Coffee. In *Coffee in Health and Disease Prevention*. Elsevier Inc.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409517-5.00020-6>
- Sudarmi, K., Darmayasa, I. B. G., & Muksin, I. K. (2017). Uji Fitokimia dan Daya Hambat Ekstrak Daun Juwet (*Syzygium cumini*) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* ATCC. *Simbiosis Journal of Biological Sciences*, 5(2),
<https://doi.org/10.24843/jsimbiosis.2017.v05.i02.p03>
- Suhyat, C. K., Bahar, M., & Thadeus, M. S. (2015). Perbandingan Hasil Uji Sensitivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Sebelum dan Sesudah Dipanggang Terhadap Isolat Bakteri Plak Gigi Di Poliklinik STAN Tangerang Selatan. *Bina Widya*, 26(3), 135–144.
- Tahir, M., Muflihunna, A., & Syafrianti, S. (2017). Penentuan Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Daun Nilam (*Pogostemon cablin*

- Benth.) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 4(1), 215–218. <https://doi.org/10.33096/jffi.v4i1.231>
- Tanauma, H. A., Citraningtyas, G., & Lolo, W. A. (2016). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Kopi Robusta (*Coffea Canephora*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Pharmacoin*, 5(4), 243–251. <https://doi.org/10.35799/pha.5.2016.14008>
- Tasew, T., et al., (2020). In vitro antibacterial and antioxidant activities of roasted and green coffee beans originating from different regions of Ethiopia. *International Journal of Food Science*, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/8490492>
- Utami, N. F., Nhestricia, N., & Maryanti, S. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan dari Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora* L.) Berdasarkan Perbedaan Ekologi Dataran Tinggi di Pulau Jawa. *Fitofarmaka Jurnal Ilmiah Farmasi*, 8(1), 67–72. <https://doi.org/https://doi.org/10.33751/jf.v8i1.1173>
- Utami, Y. P., Umar, A. H., Syahrini, R., & Kadullah, I. (2017). Standardisasi Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Leilem (*Clerodendrum*). *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences*, 2(1), 32–39.
- Wigawati, E. I., et al., (2018). Uji Karakteristik Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora* Pierre) dari Bogor, Bandung, dan Garut dengan Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). *Fitofarmaka Jurnal Ilmiah Farmasi*, 8(1), 59–66. <https://doi.org/10.33751/jf.v8i1.1172>
- Wilapangga, A., & Syaputra, S. (2018). Analisis Antibakteri metode Agar Cakram dan Uji Toksisitas menggunakan BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) dari Ekstrak Metanol Daun Salam (*Eugenia polyantha*). *Indonesian Journal of Biotechnology and Biodiversity*, 2(2), 50–56. <https://doi.org/https://doi.org/10.47007/ijobb.v2i2.20>
- Yaqin, M. A., & Nurmilawati, M. (2015). Pengaruh Ekstrak Kopi Robusta (*Coffea robusta*) sebagai Penghambat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* The Effect of Robusta Coffe Extract (*Coffea robusta*) as Inhibitors of Growth *Staphylococcus aureus*. *Journal Simki-Techsain*, 867–872.
- Yulianti, Y., Ibrahim, K., & Kurniawan, T. (2018). Effect of Wound Care Using Robusta Coffee Powders on Diabetic Ulcer Healing in Sekarwangi Hospital Sukabumi. *Padjadjaran Nursing Journal*, 6(1), 68–76. <https://doi.org/10.24198/jkp>
- Yuwono, H. S. (2014). The New Paradigm of Wound Management Using Coffee Powder. *Global Journal of Surgery*, 2(2), 25–29. <https://doi.org/10.12691/js-2-2-2>
- Zhou, J., Chan, L., & Zhou, S. (2012). Trigonelline: A Plant Alkaloid with Therapeutic Potential for Diabetes and Central Nervous System Disease. *Current Medicinal Chemistry*, 19, 3523–3531. <https://doi.org/10.2174/092986712801323>