

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI KRIM EKSTRAK
DAUN KOPI ARABIKA (*Coffea Arabica* L.)
TERHADAP *Staphylococcus aureus*
SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI



Oleh :

BUNGA NANDA RAHMANTIKA

1513206001

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
STIKES KARYA PUTRA BANGSA
TULUNGAGUNG**

2019

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI KRIM EKSTRAK
DAUN KOPI ARABIKA (*Coffea Arabica* L.)
TERHADAP *Staphylococcus aureus*
SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi
(S.Farm.) Program Studi S1 Farmasi
STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung



Oleh :

BUNGA NANDA RAHMANTIKA

1513206001

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
STIKES KARYA PUTRA BANGSA
TULUNGAGUNG**

JULI 2019

SKRIPSI

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI KRIM EKSTRAK
DAUN KOPI ARABIKA (*Coffea Arabica L.*) TERHADAP
Staphylococcus aureus SECARA *IN VITRO***

Yang diajukan oleh :

BUNGA NANDA RAHMANTIKA

1513206001

Telah disetujui oleh :

Pembimbing I,

Pembimbing II,

Dr. Dra. Sri Winarsih, M.Si., Apt.

Choirul Huda, M.Farm., Apt.

NIDN. 0023085401

NIDN.072 603 8502

SKRIPSI

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI KRIM EKSTRAK
DAUN KOPI ARABIKA (*Coffea Arabica L.*) TERHADAP
Staphylococcus aureus SECARA *IN VITRO***

Oleh :

Bunga Nanda Rahmantika

1513206001

Telah lolos uji etik penelitian dan dipertahankan di hadapan Panitia Penguji
Skripsi Program Studi S1 Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa

Tanggal : 22 Juli 2019

Ketua Penguji : Dr. Dra. Sri Winarsih, M.Si., Apt.(.....)

Anggota Penguji : 1. Choirul Huda M. Farm., Apt. (.....)

2. Amalia Eka Putri, M.Farm., Apt. (.....)

3. Yunita Dyah S., M.Si (.....)

Mengetahui,

Ketua STIKes Karya Putra Bangsa

dr. Denok Sri Utami, M.H.

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan diterbitkan dalam daftar pustaka.

Tulungagung, Juli 2019

Penulis,

Bunga Nanda Rahmantika

KATA PENGANTAR

Dengan mengucapkan syukur kehadirat Allah SWT, yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Adapun judul skripsi ini adalah “**Aktivitas Antibakteri Krim Ekstrak Daun Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* secara *In Vitro***”. Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat kelulusan dalam rangka memperoleh gelar Sarjana Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini sangat sulit terwujud sebagaimana yang diharapkan, tanpa bimbingan dan bantuan serta tersedianya fasilitas - fasilitas yang diberikan oleh beberapa pihak. Oleh karena itu, penulis sampaikan terima kasih dan hormat kepada :

1. dr. Denok Sri Utami M.H selaku ketua STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung.
2. Dara Pranidya Tilarso, S.Farm., Apt. selaku Kaprodi S1 Farmasi dan pembimbing akademik STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung.
3. Dr. Dra. Sri Winarsih, M.Si., Apt. selaku pembimbing I yang telah memberikan bimbingan, ilmu, dan pengarahan dalam menyelesaikan skripsi ini.
4. Choirul Huda M.Farm., Apt. selaku pembimbing II yang telah memberikan bimbingan, motivasi, nasehat dan pengarahan dalam menyelesaikan penulisan skripsi ini.
5. Bapak/Ibu Dosen Program Studi S1 Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa yang telah memberikan banyak ilmu, nasehat dan motivasi kepada penulis.
6. Seluruh jajaran Laboran STIKes Karya Putra Bangsa yang telah bersedia meluangkan waktu dan tenaga untuk menemani penulis melakukan penelitian di Laboratorium.
7. Kedua orang tua penulis Bapak Surahmad dan Ibu Titik Sriani serta kakak penulis Beni Rahmad Putra dan seluruh keluarga besar penulis, nenek Karmila terima kasih atas do'a, dukungan serta pengertiannya sehingga

penulis bisa menyelesaikan skripsi dan studi S1 Farmasi di STIKes Karya Putra Bangsa.

8. Teman - teman program studi S1 Farmasi angkatan 2015 terima kasih untuk kebersamaannya, dukungan, motivasi, semangat, serta do'anya.
9. Sahabat tercinta penulis Desy Wulandari, my Handsome Little Prince and his Father yang telah menjadi orang – orang yang selalu membantu dan menghibur, serta kasih sayangnya.
10. Teman – teman Departemen Bahan Alam Hima, Rabia, Ajie, Dian, Malik dan teman – teman yang lain atas kerjasama dan kebersamaan yang begitu hangat selama melaksanakan penelitian ini.
11. Semua pihak yang telah ikut membantu penulis selama proses penelitian ini berlangsung (Bedjoe squad, team julid, team dakwah, trio wekwek, bismillah menuju halal, tetangga julid, Farid idris, Mas Prida, Pak Adib, Binti Istikomatul, Leo Deka, Siti Inayah, Binti Jariyah, Mbak Lisa, Dedek Yusril, Luk luil Maknun, Alief, Yesi, Riska, Kartika, Damara, Mas Bayu, Galih, Amel, Laila, Vony, Mbak Ayu, Yuni, Eva, Harisma, Vicky dan adkom) tidak lupa akan jasa Indihome dan Indomaret.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini belum sempurna. Oleh karena itu penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun demi perbaikan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis dan pembaca.

Tulungagung, Juli 2019

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINAL	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
INTISARI	xvi
ABSTRAK	xvii
BAB IPENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Hipotesis Penelitian	3
1.5 Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Obat Tradisional	5
2.2 Kopi Arabika	5
2.2.1 Klasifikasi	5
2.2.2 Morfologi	6
2.2.2.1 Batang	6
2.2.2.2 Daun	6
2.2.2.3 Bunga	7
2.2.2.4 Buah	7
2.2.2.5 Biji	7
2.2.3 Kandungan	7

2.2.3.1	Flavonoid	8
2.2.3.2	Tanin	8
2.2.3.3	Saponin	9
2.2.4	Khasiat Kopi	10
2.3	Simplisia	10
2.3.1	Definisi.....	10
2.3.2	Syarat	11
2.3.3	Penyiapan simplisia.....	11
2.3.3.1	Sortasi basah.....	11
2.3.3.2	Pencucian.....	11
2.3.3.3	Perajangan.....	11
2.3.3.4	Pengeringan.....	12
2.3.3.5	Sortasi kering.....	12
2.3.3.6	Pengemasan dan penyimpanan.....	12
2.3.3.7	Serbuk dan kadar air simplisia.....	13
2.4	Ekstraksi.....	13
2.4.1	Metode Ekstraksi.....	14
2.4.1.1	Maserasi.....	14
2.4.1.2	Perkolasi.....	14
2.4.1.3	Refluks.....	15
2.4.1.4	Soxhletasi.....	15
2.4.1.5	Digesti.....	16
2.4.1.6	Infus.....	16
2.4.1.7	Dekok.....	16
2.4.2	Pelarut.....	16
2.4.2.1	Air	17
2.4.2.2	Etanol	17
2.4.2.3	N-heksana.....	18
2.4.2.4	Etil asetat.....	18
2.4.2.5	Metanol.....	18
2.5	Krim.....	18

2.5.1	Uji Evaluasi Sediaan.....	19
2.5.1.1	Uji organoleptis.....	19
2.5.1.2	Uji pH.....	19
2.5.1.3	Uji homogenitas.....	19
2.5.1.4	Uji daya sebar.....	20
2.5.1.5	Uji daya lekat.....	20
2.5.1.6	Uji daya proteksi.....	20
2.5.1.7	Uji stabilitas fisik.....	20
2.5.2	Monografi Bahan Sediaan Krim	21
2.5.2.1	Asam stearat.....	21
2.5.2.2	Setil alkohol.....	21
2.5.2.3	Trietanolamin.....	21
2.5.2.4	Gliserin.....	22
2.5.2.5	Metil paraben.....	22
2.5.2.6	Akuades.....	22
2.6	Bakteri.....	23
2.6.1	Definisi.....	23
2.6.2	Penggolongan Bakteri	23
2.6.2.1	Bakteri Gram positif	23
2.6.2.2	Bakteri Gram negatif	23
2.7	<i>Staphylococcus aureus</i>	24
2.7.1	Klasifikasi	24
2.7.2	Morfologi	24
2.7.3	Identifikasi <i>Staphylococcus aureus</i>	25
2.7.3.1	Pewarnaan Gram.....	25
2.7.3.2	<i>Mannitol salt agar</i>	25
2.7.3.3	Uji katalase	25
2.7.3.4	Uji koagulase	26
2.8	Antibakteri	26
2.8.1	Mekanisme kerja antibakteri.....	27
2.8.1.1	Penghambatan sintmetabolisme sel	27

2.8.1.2	Penghambatan sintesis dinding sel	27
2.8.1.3	Pengubahan membran sel	27
2.8.1.4	Penghambatan protein sel	27
2.8.1.5	Penghambat sintesis asam nukleat.....	28
2.9	Uji Aktivitas Antibakteri	28
2.9.1	Metode difusi	28
2.9.1.1	Metode <i>disk diffusion</i>	28
2.9.1.2	Metode <i>E-test</i>	29
2.9.1.3	<i>Ditch-plate technique</i>	29
2.9.1.4	<i>Cup-plate technique</i>	29
2.9.2	Metode dilusi.....	30
2.9.2.1	Metode dilusi cair.....	30
2.9.2.2	Metode dilusi padat.....	30
2.10	Kloramfenikol	30
BAB III METODE PENELITIAN		32
3.1	Kerangka Konsep.....	32
3.2	Bahan	33
3.3	Alat	34
3.4	Populasi Penelitian.....	34
3.5	Sampel Penelitian	34
3.6	Definisi Operasional.....	35
3.7	Variabel Penelitian.....	35
3.6.1	Variabel bebas	35
3.6.2	Variabel terikat.....	35
3.8	Prosedur Penelitian	35
3.8.1	Determinasi tanaman	35
3.8.2	Pembuatan simplisia.....	35
3.8.3	Uji kadar air serbuk simplisia.....	36
3.8.4	Pembuatan ekstrak.....	36
3.8.5	Uji bebas etanol ekstrak.....	37
3.8.6	Skrining fitokimia.....	37

3.8.6.1	Flavonoid.....	37
3.8.6.2	Tanin.....	37
3.8.6.3	Saponin.....	37
3.8.7	Sterilisasi alat dan bahan.....	37
3.8.8	Pembuatan media.....	38
3.8.8.1	Pembuatan media <i>nutrien broth</i> (NB).....	38
3.8.8.2	Pembuatan media <i>manitol salt agar</i> (MSA).....	38
3.8.8.3	Pembuatan media <i>nutrien agar</i> (NA).....	38
3.8.9	Uji identifikasi <i>Staphylococcus aureus</i> dengan MSA.....	38
3.8.10	Pembuatan suspensi bakteri.....	38
3.8.11	Pembuatan formulasi krim.....	39
3.8.12	Pembuatan krim.....	39
3.8.13	Evaluasi krim.....	40
3.8.13.1	Uji organoleptis.....	40
3.8.13.2	Uji pH.....	40
3.8.13.3	Uji homogenitas.....	40
3.8.13.4	Uji daya sebar.....	40
3.8.13.5	Uji daya lekat.....	40
3.8.13.6	Uji daya proteksi.....	40
3.8.13.7	Uji stabilitas fisik.....	41
3.8.13.8	Uji antibakteri krim ekstrak daun kopi.....	41
3.9	Jalan Penelitian.....	41
3.10	Replikasi Kelompok Penelitian.....	42
3.11	Analisis Statistika.....	42
3.11.1	Uji normalitas data.....	43
3.11.2	Uji homogenitas.....	43
3.11.3	Uji one way anova.....	43
3.11.4	Uji korelasi.....	44
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	45
4.1	Determinasi Tanaman.....	45
4.2	Uji Kadar Air Simplisia.....	45

4.3	Ekstrak Daun Kopi.....	46
4.4	Uji Bebas Etanol	47
4.5	Skrining Fitokimia	47
	4.5.1 Uji flavonoid.....	48
	4.5.2 Uji tanin.....	49
	4.5.3 Uji Saponin.....	49
4.6	Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	50
	4.6.1 Uji Pewarnaan Gram.....	51
	4.6.2 Uji koagulase.....	51
	4.6.3 Uji katalase.....	52
	4.6.4 Identifikasi MSA.....	52
4.7	Evaluasi Sediaan Krim.....	53
	4.7.1 Uji Organoleptik.....	53
	4.7.2 Uji pH.....	54
	4.7.3 Uji Homogenitas.....	55
	4.7.4 Uji daya sebar.....	56
	4.7.5 Uji daya lekat.....	57
	4.7.6 Uji daya proteksi.....	58
4.8	Uji Aktivitas Antibakteri Krim Ekstrak Daun Kopi	59
4.9	Analisis Statistika.....	62
	4.9.1 Uji normalitas data.....	63
	4.9.2 Uji homogenitas data.....	63
	4.9.3 Uji one way anova.....	64
	4.9.4 Uji korelasi.....	65
BAB V PENUTUP.....		67
5.1	Kesimpulan	67
5.2	Saran	67
DAFTAR PUSTAKA		68

DAFTAR TABEL

TABEL	Hal
II.1 Kategori respon hambatan pertumbuhan bakteri berdasarkan diameter	
zona hambat	29
III.1 Formulasi standar krim	39
III.2 Formulasi krim ekstrak daun kopi arabika	39
IV.1 Uji kadar air simplisia serbuk <i>Coffea arabica</i> L.....	45
IV.2 Hasil uji susut pengeringan daun kopi	46
IV.3 Hasil rendemen ekstrak daun kopi	46
IV.4 Hasil uji bebas etanol ekstrak daun kopi.....	47
IV.5 Hasil skrining fitokimia ekstrak daun kopi	47
IV.6 Hasil uji identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	50
IV.7 Hasil uji organoleptik.....	53
IV.8 Hasil uji pH.....	54
IV.9 Hasil uji homogenitas.....	55
IV.10 Hasil uji daya sebar.....	56
IV.11 Hasil uji daya lekat.....	57
IV.12 Hasil uji daya proteksi.....	58
IV.13 Hasil pengukuran diameter zona hambat krim ekstrak daun kopi terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	60
IV.10 Hasil Uji Normalitas Data.....	63
IV.11 Hasil Uji Homogenitas Data	63
IV.12 Hasil Uji <i>One Way Anova</i>	64
IV.13 Homogeneous	64
IV.14 Hasil Uji Korelasi	66

DAFTAR GAMBAR

GAMBAR	Hal
2.1 Daun kopi(<i>Coffea arabica</i> L.)	6
2.2 Struktur flavonoid	8
2.3 Struktur tanin.....	9
2.4 Struktur saponin	9
2.5 Pewarnaan bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	24
4.1 Hasil uji bebas etanol ekstrak daun kopi	47
4.2 Skrining fitokimia	48
4.3 Reaksi flavonoid dengan H ₂ SO ₄	49
4.4 Reaksi tanin dengan FeCl ₃	49
4.5 Reaksi saponin dengan air.....	50
4.6 Pewarnaan bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	50
4.7 Hasil uji identifikasi <i>Staphylococcus aureus</i>	51
4.8 Uji organoleptik.....	53
4.9 Uji pH.....	54
4.10 Uji homogenitas.....	55
4.11 Uji daya sebar.....	56
4.12 Uji daya lekat.....	57
4.13 Uji daya proteksi.....	58
4.14 Uji aktivitas antibakteri krim ekstrak daun kopi.....	59
4.15 Diagram distribusi rata - rata dan standar deviasi zona hambat krim ekstrak daun kopi terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	61

DAFTAR LAMPIRAN

1. Hasil Determinasi Tanaman Kopi (<i>Coffea arabica</i> L.).....	79
2. Dokumentasi Penelitian	80
3. Kerangka Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Difusi Cakram.....	88
4. Perhitungan Pembuatan Media Pertumbuhan Bakteri	89
5. Perhitungan Hasil	90
6. Formulasi dan Perhitungan Bahan Sediaan Krim	91
7. Data Hasil Penelitian.....	93
8. Hasil Analisa Statistik.....	96
9. Alur Prosedur Kerja	99
10. Jadwal Penelitian.....	109

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI KRIM EKSTRAK DAUN KOPI ARABIKA
(*Coffea arabica* L.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* SECARA *IN VITRO*
BUNGA NANDA RAHMANTIKA**

Prodi S1 Farmasi

INTISARI

Daun kopi arabika merupakan salah satu tanaman obat tradisional yang telah dipercaya dalam penyembuhan berbagai macam penyakit. Efek farmakologis yang terkandung dalam daun kopi memiliki aktivitas sebagai agen antibakteri, sehingga perlu dikembangkan menjadi suatu sediaan farmasi untuk meningkatkan kemudahan dalam penggunaannya, salah satunya adalah sediaan krim. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ekstrak daun kopi arabika dalam sediaan krim memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* secara *in vitro* dengan menggunakan metode difusi agar. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif berbentuk kokus yang bersifat patogen dan terlibat dalam banyak infeksi kulit. Setiap jaringan yang terinfeksi, biasanya muncul tanda – tanda yang khas seperti peradangan dan pertumbuhan abses. Ekstraksi daun kopi arabika dilakukan menggunakan metode soxhlet dengan etanol 70%. Ekstrak daun kopi arabika dibuat menjadi sediaan krim dengan konsentrasi 10%, 20%, dan 30%. Antibiotik pembanding krim yang mengandung ekstrak daun kopi arabika adalah krim kloramfenikol. Kloramfenikol merupakan antibiotika golongan *amphenicol* yang bersifat bakterisid dengan aktivitas spektrum luas aktif terhadap bakteri yang patogen. Sediaan krim diuji stabilitas fisiknya dan aktivitas antibakteri diketahui dari besarnya diameter zona hambat disekitar cakram. Analisis data dilakukan dengan uji *kolmogorov-smirnov*, *levene statistic*, *One Way Anova* dan *spearman*.

Hasil pengujian aktivitas antibakteri krim ekstrak daun kopi arabika menunjukkan krim ekstrak daun kopi arabika mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. Krim ekstrak daun kopi arabika dengan konsentrasi 10%; 20%; dan 30% secara berurutan memiliki rata-rata zona hambat sebesar 9,25 mm; 14 mm; dan 21 mm. Aktivitas antibakteri diduga berasal dari aktivitas senyawa flavonoid, tanin dan saponin dalam ekstrak daun kopi arabika. Krim ekstrak daun kopi arabika memiliki daya hambat lebih kecil dibanding dengan krim kloramfenikol yang memiliki rata-rata zona hambat sebesar 37,75 mm. Hasil analisis *One Way Anova* menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan ($p < 0,05$). Krim ekstrak daun kopi arabika memenuhi syarat uji organoleptis, homogenitas, pH, daya sebar, daya lekat, dan daya proteksi serta stabil dalam masa penyimpanan.

Kata kunci : Antibakteri, *Coffea arabica* L., Krim, *Staphylococcus aureus*

ABSTRACT
ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF THE CREAM EXTRACT OF ARABICA
(*Coffea arabica* L.) LEAF LEAVES TOWARDS *Staphylococcus aureus* IN
VITRO

*Arabica coffee leaves are one of the traditional medicinal plants that have been trusted in healing various kinds of diseases. The pharmacological effects contained in coffee leaves have activity as an antibacterial agent, so it needs to be developed into a pharmaceutical preparation to increase ease of use, one of which is a cream preparation. This study aims to determine the arabica coffee leaf extract in cream preparations having antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* in vitro using agar diffusion method. *Staphylococcus aureus* is a Gram positive bacterium in the form of cocci which is pathogenic and is involved in many skin infections. Every infected tissue, typical signs usually appear such as inflammation and abscess growth. The extraction of arabica coffee leaves was carried out using the soxhletation method with 70% ethanol. Arabica coffee leaf extract is made into cream preparations with concentrations of 10%, 20%, and 30%. Comparative antibiotic cream contained arabica coffee leaf extract is chloramphenicol cream. Chloramphenicol is an amphenicol antibiotic which is bactericidal with a broad-spectrum active activity against pathogenic bacteria. The cream preparations were tested for physical stability and antibacterial activity was known from the diameter of the inhibition zone around the disc. Data analysis was carried out by the Kolmogorov-Smirnov test, Levene statistic, One Way Anova and Spearman.*

*The results of testing the antibacterial activity of arabica coffee leaf extract cream showed that arabica coffee leaf extract cream had antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*. Cream of arabica coffee leaf extract with a concentration of 10%; 20%; and 30% respectively have an average inhibition zone of 9.25 mm; 14 mm; and 21 mm. Antibacterial activity is thought to originate from the activity of flavonoids, tannins and saponins in arabica coffee leaf extract. The arabica coffee leaf extract cream had a smaller inhibitory power compared to chloramphenicol cream which has an average inhibition zone of 37.75 mm. the results of One Way Anova analysis showed a significant difference between treatment groups ($p < 0.05$). Arabica coffee leaf extract cream fulfills the organoleptic test requirements, homogeneity, pH, dispersion, adhesion, and protection power and is stable during the storage period.*

Keywords: *Antibacterial, Coffea arabica L., Cream, Staphylococcus aureus*

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu dari tiga negara dengan kekayaan sumber daya alam hayati terbesar di dunia selain Brazil dan Zaire atau Republik Demokratik Kongo (Bappenas, 1993). Indonesia dikenal sebagai salah satu negara *megabiodiversity* kedua setelah Brazil (Ersam, 2004). Hutan Indonesia juga kaya akan tumbuhan obat dan terdapat 20.000 jenis tumbuhan obat dimana 1.000 jenis tumbuhan telah didokumentasi dan 300 jenis telah dimanfaatkan sebagai obat tradisional (Hariana, 2005). Tanaman kopi (*Coffea sp*) termasuk familia *Rubiaceae* dan merupakan tanaman tropis yang banyak diperdagangkan di dunia. Menurut perwakilan dari *Indonesia Coffea and Cocoa Research Institute (ICCRI)* Indonesia merupakan negara terbesar ketiga penghasil kopi di dunia setelah Brazil dan Vietnam (Radydjencole, 2011).

Daun kopi arabikamerupakan salah satu tanaman obat tradisional yang telah dipercaya dalam penyembuhan berbagai macam penyakit. Efek farmakologis yang terkandung dalam daun kopi memiliki aktivitas yaitu sebagai : agen antibakteri (Dogasaki *et al.*, 2002), antioksidan (Olthof dkk, 2001), pengobatan asma (Schwartz dan Weiss, 1992), antihiperlipidemia (Yukawa *et al.*, 2004), pengobatan pankreatitis (Morton *et al.*, 2004), antidiabetes, pencegahan penyakit Parkinson (Higdon dan Frei, 2007), hepatoprotektor, antihipertensi, dan antikanker (Farhaty, 2017). Penelitian yang dilakukan oleh Retnaningtyas dkk (2016) menunjukkan bahwa daun kopi arabika mengandung senyawa fenol, flavonoid, alkaloid, dan tanin. Dari hasil uji aktivitas antibakteri oleh Anggraeni (2014) menunjukkan bahwa ekstrak daun kopi arabika mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif berbentuk kokus dengan diameter 1µm yang tersusun dalam bentuk yang tidak teratur (Melnick J and Adelberg's, 2013). *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif

termasuk flora normal pada kulit (Foster *et al.*, 2015) dan terlibat dalam banyak infeksi kulit (Miller *et al.*, 2012). Setiap jaringan yang terinfeksi, biasanya muncul tanda-tanda yang khas seperti peradangan dan pembentukan abses (Zhang *et al.*, 2015). Kloramfenikol merupakan antibiotika golongan *amphenicol* yang bersifat bakterisid dengan aktivitas spektrum luas aktif terhadap bakteri yang patogen (Martaleni, 2007). Oleh karena masalah yang timbul akibat penggunaan antibiotik, maka dicari alternatif lain dalam mencegah infeksi yaitu dengan menggunakan bahan – bahan dari alam (Djajadisastra, 2009). Pengambilan zat aktif sebagai antibakteri di dalam suatu tanaman obat dapat dilakukan menggunakan metode ekstraksi. Salah satu metode ekstraksi senyawa dari suatu bahan ialah dengan soxhletasi.

Berdasarkan aktivitas antibakteri yang dimiliki daun kopi arabika, maka perlu dikembangkan menjadi suatu sediaan farmasi untuk meningkatkan kemudahan penggunaannya. Salah satu sediaan farmasi yang mudah dalam penggunaannya adalah krim. Keuntungan sediaan krim ialah kemampuan penyebarannya yang baik pada kulit, memberikan efek dingin karena lambatnya penguapan air pada kulit, mudah dicuci dengan air, serta pelepasan obat yang baik. Selain itu tidak terjadi penyumbatan dikulit dan krimnya tampak putih dan bersifat lembut (Voight, 1994). Sediaan krim merupakan salah satu sediaan semi padat yang relatif kurang stabil zat aktifnya dibandingkan sediaan padat sehingga perlu dilakukan uji stabilitas. Uji stabilitas merupakan bagian penting program uji bahan obat. Stabilitas sediaan setengah padat tergantung pada basis dan sifat kimia zat aktifnya. Komposisi dan pembuatan sediaan setengah padat juga menjadi perhatian (Cartensen dan Rhodes, 2000). Banyak faktor yang mempengaruhi stabilitas produk farmasi, seperti stabilitas dari bahan aktif, interaksi antara bahan aktif dan bahan tambahan, proses pembuatan, proses pengemasan, dan kondisi lingkungan selama pengangkutan, penyimpanan, dan penanganan, dan jangka waktu produk antara pembuatan hingga pemakaian (Vadas, 2010).

Berdasarkan latar belakang diatas maka peneliti merasa perlu untuk dilakukan suatu penelitian yang bertujuan untuk membuktikan aktivitas

antibakteri dari krim ekstrak daun kopi arabika terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil penelitian diharapkan dapat menjadi informasi penting bagi perkembangan pemanfaatan bahan alam sebagai obat.

1.2 Rumusan Masalah

- 1.2.1 Apakah ekstrak daun kopi arabika dalam sediaan krim menurunkan jumlah koloni *Staphylococcus aureus* secara *in vitro* ?
- 1.2.2 Apakah efektivitas krim ekstrak daun kopi arabika tidak berbeda dengan krim kloramfenikol dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro* ?
- 1.2.3 Bagaimana stabilitas fisik sediaan krim yang mengandung ekstrak daun kopi arabika ?

1.3 Tujuan Penelitian

- 1.3.1 Mengetahui bahwa ekstrak daun kopi arabika dalam sediaan krim mampu menurunkan jumlah koloni *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*.
- 1.3.2 Mengetahui bahwa efektivitas krim ekstrak daun kopi arabika tidak berbeda dengan krim kloramfenikol dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*.
- 1.3.3 Mengetahui stabilitas fisik sediaan krim yang mengandung ekstrak daun kopi arabika.

1.4 Hipotesis Penelitian

- 1.4.1 Krim ekstrak daun kopi arabika menghambat pertumbuhan bakteri terhadap *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*, makin tinggi dosis makin luas zona hambat yang terbentuk.
- 1.4.2 Zona hambat krim ekstrak daun kopi arabika tidak berbeda dengan zona hambat krim kloramfenikol terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*.

1.5 Manfaat Penelitian

1.5.1 Bagi Peneliti

Dengan adanya penelitian ini peneliti dapat memberikan informasi ilmiah tentang daya hambat krim ekstrak daun kopi arabika terhadap *Staphylococcus aureus*.

1.5.2 Bagi Instansi

Memberikan informasi ilmiah dalam penemuan antibakteri dari bahan alam seperti daun kopi arabikayang diolah menjadi krim antibakteri dan menjadi dasar penelitian lebih lanjut untuk mencari senyawa aktif antibakteri yang terkandung dalam daun kopi arabika.

1.5.3 Bagi Masyarakat

Dapat memberikan informasi kepada masyarakat mengenai kemampuan krim ekstrak daun kopi arabika dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Obat Tradisional

Obat Tradisional adalah bahan atau ramuan bahan yang berupa bahan tumbuhan, bahan hewan, bahan mineral, sediaan sarian (galenik) atau campuran dari bahan tersebut yang secara turun temurun telah digunakan untuk pengobatan, dan dapat diterapkan sesuai dengan norma yang berlaku di masyarakat (BPOM, 2014).

2.2 Kopi Arabika

Kopi arabika berasal dari hutan pegunungan di Etiopia, Afrika. Di habitat asalnya, tanaman ini tumbuh di bawah kanopi hutan tropis yang rimbun dan merupakan jenis tanaman berkeping dua (dikotil) yang memiliki akar tunggang. Kopi arabika banyak ditumbuh di dataran dengan ketinggian di atas 500 meter dpl. Kopi arabika akan tumbuh maksimal bila ditanam di ketinggian 1000 -2000 meter dpl. Dengan curah hujan berkisar 1200 - 2000 mm per tahun. Suhu lingkungan paling cocok untuk tanaman ini berkisar 15-24°C. Tanaman ini tidak tahan pada temperatur yang mendekati beku dibawah 4°C (Hiwot, 2011).

2.2.1 Klasifikasi

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: Magnoliopsida (Berkeping dua / dikotil)
Sub Kelas	: Asteridae
Ordo	: Rubiales
Famili	: Rubiaceae (Suku kopi - kopian)

Genus : *Coffea*
 Spesies : *Coffea arabica* L. (Hiwot, 2011).

2.2.2 Morfologi



Gambar 2.1 *Coffea arabica* L. (Anggraeni, 2014 ; Panggabean, 2011)

2.2.2.1 Batang

Kopi arabika berbentuk semak tegak atau pohon kecil yang memiliki tinggi 5 m sampai 6 m dan memiliki diameter 7 cm saat tingginya setinggi dada orang dewasa. Kopi Arabika dikenal oleh dua jenis cabang, yaitu *orthogeotropicyang* tumbuh secara vertikal dan *plagiogeotropicyang* cabang yang memiliki sudut orientasi yang berbeda dalam kaitannya dengan batang utama. Selain itu, kopi arabika memiliki warna kulit abu - abu, tipis, dan menjadi pecah - pecah dan kasar ketika tua (Hiwot, 2011).

2.2.2.2 Daun

Daun kopi arabika berbentuk bulat, ujungnya agak meruncing sampai bulat dengan bagian pinggir yang bergelombang (Wachjar, 1984). Panjang daun 12-15 cm x 6 cm (Prastowo *et al.*, 2010). Karakteristik permukaan daun halus dan mengkilat (Prastowo *et al.*, 2010). Daun kopi berdasarkan umurnya diketahui terdiri dari daun muda dan daun tua. Daun muda merupakan daun yang masih memiliki penampilan mengkilap yang berumur sekitar 10 – 30 hari. Daun tua merupakan daun yang dibentuk pada musim tanam sebelumnya, umurnya bervariasi sekitar 6 sampai 12 bulan (Kushalappa & Eskes, 1989).

Menurut Salgado *et al.*, (2008), daun muda adalah daun yang berwarna hijau terang dan teksturnya lembut yang tumbuh pada cabang *plagiotrop* yang

terletak di bagian tengah pohon kopi. Daun muda terletak pada pasangan pertama daun kopi. Daun tua adalah daun yang berwarna hijau tua dan teksturnya kasar yang tumbuh pada cabang *plagiotrop* yang terletak di bagian tengah pohon kopi.

2.2.2.3 Bunga

Bunga kopi arabika memiliki mahkota yang berukuran kecil, kelopak bunga berwarna hijau, dan pangkalnya menutupi bakal buah yang mengandung dua bakal biji. Benang sari pada bunga ini terdiri dari 5 - 7 tangkai yang berukuran pendek. Kopi arabika umumnya akan mulai berbunga setelah berumur ± 2 tahun. Mula-mula bunga ini keluar dari ketiak daun yang terletak pada batang utama atau cabang reproduksi. Bunga yang jumlahnya banyak akan keluar dari ketiak daun yang terletak pada cabang primer. Bunga ini berasal dari kuncup - kuncup sekunder dan reproduktif yang berubah fungsinya menjadi kuncup bunga. Kuncup bunga kemudian berkembang menjadi bunga secara serempak dan bergerombol (Budiman, 2012).

2.2.2.4 Buah

Buah tanaman kopi terdiri atas daging buah dan biji. Daging buah terdiri atas tiga lapisan, yaitu kulit luar (*eksokarp*), lapisan daging (*mesokarp*) dan lapisan kulit tanduk (*endokarp*) yang tipis tapi keras. Buah kopi umumnya mengandung dua butir biji, tetapi kadang – kadang hanya mengandung satu butir atau bahkan tidak berbiji (hampa) sama sekali (Budiman, 2012).

2.2.2.5 Biji

Biji kopi terdiri atas kulit biji dan lembaga. Lembaga atau sering disebut *endosperm* merupakan bagian yang bisa dimanfaatkan sebagai bahan untuk membuat kopi (Tim Karya Tani Mandiri, 2010).

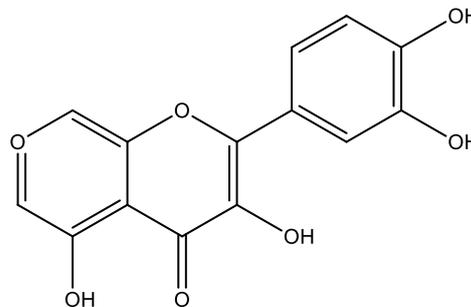
2.2.3 Kandungan

Kopi mengandung banyak komponen kimia yang dapat dibagi menjadi beberapa kelompok, yaitu komponen alifatik, komponen alisiklik, komponen aromatik, komponen heterosiklik, protein, asam amino, dan asam nukleat, karbohidrat, lemak, alkaloid, vitamin, dan komponen anorganik (Wulandari, 2014).

Kulit buah kopi mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder yaitu kafein dan golongan polifenol (Marcelinda, dkk., 2016). Sedangkan daun kopi mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, kafein dan polifenol (Wulandari, 2014). Menurut penelitian Retnaningtyas, dkk (2015) menunjukkan bahwa air seduhan teh herbal kopi arabika yang sudah dipekatkan mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin.

2.2.3.1 Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan didalam jaringan tanaman. Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa fenolik dengan struktur kimia C₆-C₃-C₆ (Cook dalam Abdi, 2010). Flavonoid merupakan senyawa polar yang umumnya mudah larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, dan lain-lain (Markham, 1998). Menurut Yudani (2012) aktifitas biologis senyawa flavonoid terhadap bakteri dilakukan dengan merusak dinding sel dari bakteri yang terdiri atas lipid dan asam amino akan bereaksi dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid sehingga dinding sel akan rusak dan senyawa tersebut dapat masuk kedalam inti sel bakteri.

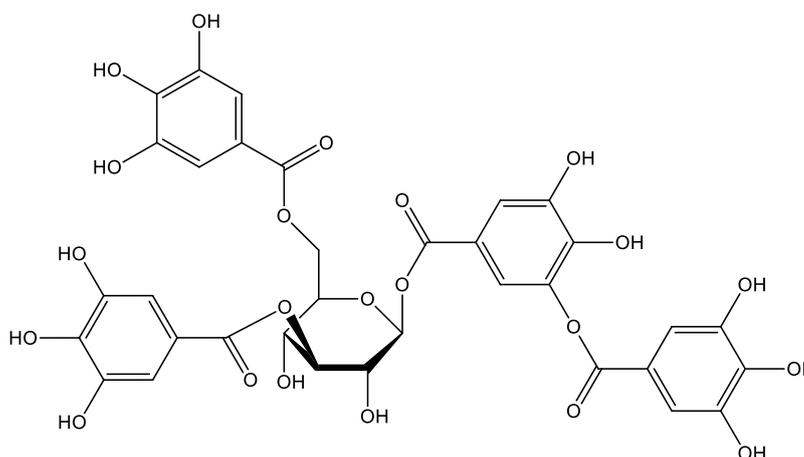


Gambar 2.2 Struktur Flavonoid(Chastelyna, 2016)

2.2.3.2 Tanin

Tanin adalah senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada beberapa tanaman. Tanin mampu mengikat protein, sehingga protein pada tanaman dapat resisten terhadap degradasi oleh enzim protease di dalam silo ataupun rumen (Kondo *et al.*, 2004).

Tanin merupakan senyawa kimia yang tergolong dalam senyawa polifenol (Deaville *et al.*, 2010). Tanin merupakan senyawa fenolik utama pada buah kopi (dos Santos *et al.*, 2006). Tanin mempunyai kemampuan mengendapkan protein, karena tanin mengandung sejumlah kelompok ikatan fungsional yang kuat dengan molekul protein yang selanjutnya akan menghasilkan ikatan silang yang besar dan kompleks yaitu protein tanin. Tanin alami larut dalam air dan memberikan warna pada air, warna larutan tanin bervariasi dari warna terang sampai warna merah gelap atau coklat, karena setiap tanin memiliki warna yang khas tergantung sumbernya (Ahadi, 2003). Senyawa tanin mampu menghambat sintesis dinding sel bakteri dan sintesis protein sel bakteri (Manoi dan Balitro, 2009).

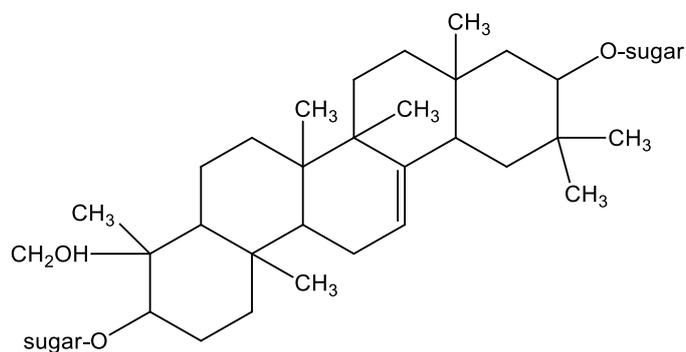


Gambar 2.3 Struktur Tanin(Chastelyna, 2016)

2.2.3.3 Saponin

Saponin adalah sebagian organ dalam tumbuhan yang mempunyai sifat kimia yang sama dengan glikosida triterpenoid dan sterol yang menghasilkan busa apabila dikocok dengan air. Saponin merupakan senyawa yang berasa pahit, berbusa dalam air dan larut dalam air dan alkohol dan tidak larut dalam eter. Saponin paling cocok di ekstraksi dengan menggunakan metanol dan etanol (Robinson, 1995).

Menurut Robinson (1991) mekanisme saponin dengan cara menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar.



Gambar 2.4 Struktur Saponin(Chastelyna, 2016)

2.2.4 Khasiat Kopi

Kopi (*Coffea arabica L.*) dengan tekstur yang kasar mengandung butiran *scrub* yang sangat baik untuk mengangkat sel-sel kulit mati dan melembabkan kulit. Kafein yang terkandung di dalam ampas kopi sejumlah 1 - 1,5% dapat bertindak selaku *vasorestrictor* yang berarti mengencangkan dan mengecilkan pembuluh darah (Desyntia, 2012). Penelitian lain yang dilakukan oleh Hudakova dkk. (2016) menunjukkan bahwa tanaman kopi arabika memiliki kandungan senyawa fenol dan senyawa flavonoid yang berperan sebagai antioksidan.

Hasil penelitian lain dari ilmuwan Inggris dan Perancis melaporkan bahwa teh dari daun kopi mengandung senyawa antijamur dan antioksidan tinggi antara lain alkaloid, flavonoid, saponin dan polifenol seperti asam klorogenat. Selain antioksidan, pada daun kopi terdapat bahan kimia alami yang disebut mangiferin yang berkhasiat untuk mengatasi peradangan (Rubiyo, 2013).

2.3 Simplisia

2.3.1 Definisi

Simplisia adalah bahan alam yang telah dikeringkan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan, kecuali dinyatakan lain suhu pengeringan tidak lebih dari 60°C (BPOM, 2014). Simplisia dibagi menjadi 3 golongan yaitu : simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelikan (mineral) (Depkes RI, 1995).

2.3.2 Syarat

Simplisia sebagai bahan kefarmasian seharusnya memenuhi 3 parameter mutu umum suatu bahan (material), yaitu : kebenaran jenis (identifikasi), kemurnian (bebas dari kontaminasi kimia dan biologis) serta aturan penstabilan (wadah, penyimpanan dan transportasi). Simplisia sebagai bahan dan produk konsumsi manusia sebagai obat tetap diupayakan memenuhi 3 paradigma seperti produk kefarmasian lainnya, yaitu *Quality-Safety-Efficacy* (Mutu-Aman-Manfaat). Simplisia sebagai bahan dengan kandungan kimia yang bertanggungjawab terhadap respon biologis harus mempunyai spesifikasi kimia, yaitu informasi komposisi (jenis dan kadar) senyawa kandungan (Depkes RI, 2000).

2.3.3 Penyiapan Simplisia

2.3.3.1 Sortasi Basah

Bahan baku simplisia harus benar dan murni, artinya berasal dari tanaman yang merupakan bahan baku simplisia yang dimaksud, bukan dari tanaman lain. Bahan baku simplisia juga harus bersih, artinya tidak boleh tercampur dengan tanah, kerikil, atau pengotor lainnya (misalnya serangga atau bagiannya) (Depkes RI, 1985).

2.3.3.2 Pencucian

Sebaiknya digunakan air dari mata air, sumur, atau air ledeng (PAM). Setelah dicuci ditiriskan agar kelebihan air cucian mengalir) (Depkes RI, 1985). Pencucian dilakukan sampai air bekas cucian jernih (Indartiyah, 2012). Menurut Frazier (dalam Depkes 1985) pencucian sebanyak satu kali dapat menghilangkan 25% dari jumlah mikroba awal, jika dilakukan pencucian sebanyak tiga kali, jumlah mikroba yang tertinggal hanya 42% dari jumlah mikroba awal.

2.3.3.3 Perajangan

Simplisia memerlukan perajangan agar proses pengeringan berlangsung lebih cepat. Apabila terlalu tebal maka proses pengeringan akan terlalu lama dan kemungkinan dapat membusuk atau berjamur. Perajangan yang terlalu tipis akan berakibat rusaknya kandungan kimia karena oksidasi atau reduksi. Alat perajang

atau pisau yang digunakan sebaiknya bukan dari besi (misalnya “*stainless steel*” atau baja nirkarat) (Depkes RI, 1985).

2.3.3.4 Pengeringan

Pengeringan merupakan proses pengawetan simplisia sehingga simplisia tahan lama dalam penyimpanan. Selain itu pengeringan akan menghindari teruainya kandungan kimia karena pengaruh enzim. Pengeringan yang cukup akan mencegah pertumbuhan mikroorganisme dan kapang (jamur). Tandanya simplisia sudah kering adalah mudah meremah bila diremas atau mudah patah (Depkes RI, 1985). Menurut Manoi (2006), pengeringan dapat dilakukan dengan tiga cara yaitu : dikering anginkan, terpapar cahaya matahari langsung, dan dengan menggunakan oven. Pengeringan tersebut berlangsung hingga memperoleh kadar air kurang dari 10%.

2.3.3.5 Sortasi Kering

Simplisia yang telah kering tersebut masih sekali lagi dilakukan sortasi untuk memisahkan kotoran, bahan organik asing, dan simplisia yang rusak karena sebagai akibat proses sebelumnya (Depkes RI, 1985).

2.3.3.6 Pengemasan dan Penyimpanan

Pengemas simplisia dilakukan menggunakan bahan pengemas yang sesuai dengan simplisia yang akan dikemas. Misalnya simplisia yang mengandung minyak atsiri sebaiknya tidak dikemas dalam wadah plastik, karena plastik akan menyerap bau bahan tersebut. Bahan pengepak yang baik adalah karung goni atau karung plastik. Simplisia yang ditempatkan dalam karung goni atau karung plastik praktis cara penyimpanannya, yaitu dengan ditumpuk. Pengemas yang terbuat dari aluminium atau kaleng dan seng mudah melapuk, sehingga perlu dilapisi dengan plastik atau malam atau yang sejenis dengan itu (Emilan *et al.*, 2011).

Penyimpanan harus teratur, rapi, untuk mencegah resiko tercemar atau saling mencemari satu sama lain, serta untuk memudahkan pengambilan, pemeriksaan, dan pemeliharaannya. Simplisia yang disimpan harus diberi label yang mencantumkan identitas, kondisi, jumlah, mutu, dan cara penyimpanannya. Pengeluaran simplisia yang disimpan harus dilaksanakan dengan cara mendahulukan bahan yang disimpan lebih awal (Depkes RI, 1985).

2.3.3.7 Serbuk dan Kadar Air Simplisia

Derajat kehalusan simplisia perlu diperhatikan dalam proses ekstraksi untuk menghasilkan ekstrak yang optimal. Derajat kehalusan simplisia penting untuk mengupayakan agar penarikan dapat berlangsung semaksimal mungkin, kehalusan menyangkut luas permukaan yang akan berkontak dengan pelarut untuk ekstraksi (Agoes, 2007). Umumnya ekstraksi akan bertambah baik bila permukaan serbuk simplisia yang bersentuhan dengan cairan penyari makin luas. Dengan demikian maka makin halus serbuk simplisia seharusnya makin baik ekstraksinya (Departemen Kesehatan RI, 1986).

Berdasarkan penelitian (Sapri dkk, 2014) rendemen ekstrak etanol daun sirsak yang dihasilkan pada ukuran serbuk 40 *mesh*, 60 *mesh*, dan 80 *mesh* yaitu semakin besar nomor *mesh* yang digunakan dalam pengayakan simplisia semakin besar pula rendemen yang dihasilkan. Jadi, ukuran serbuk simplisia berpengaruh terhadap rendemen ekstrak yang diperoleh, dimana semakin kecil ukuran serbuk simplisia, maka semakin besar rendemen ekstrak. Kadar air dari serbuk simplisia harus kurang dari 10%. Karena reaksi enzimatik tidak berlangsung bila kadar air dalam simplisia kurang dari 10%. Dengan demikian proses pengeringan sudah dapat menghentikan proses enzimatik dalam sel bila kadar airnya dapat mencapai kurang dari 10% (Prasetyo dan Entang, 2013).

2.4 Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan dari bahan padat maupun cair dengan bantuan pelarut. Pelarut yang digunakan harus dapat mengekstrak substansi yang diinginkan tanpa melarutkan material lainnya. Ekstraksi padat-cair atau *leaching* adalah transfer difusi komponen terlarut dari padatan inert kedalam pelarutnya. Proses ini bersifat fisik karena komponen terlarut kemudian dikembalikan lagi keadaan semula tanpa mengalami perubahan kimiawi. Ekstrak dari bahan padat dapat dilakukan jika bahan yang diinginkan dapat larut dalam pelarut pengestraksi (Panji, 2005).

2.4.1 Metode Ekstraksi

2.4.1.1 Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan(kamar). Maserasi bertujuan untuk menarik zat – zat berkhasiat yang tahan pemanasan maupun yang tidak tahan pemanasan. Secara teknologi maserasi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi dilakukan dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan atau kamar (Depkes RI, 2000).

Maserasi berasal dari bahasa latin *Macerace*berarti mengairi atau melunakkan. Maserasi merupakan cara ekstraksi yang paling sederhana. Dasar dari maserasi adalah melarutnya bahan kandungan simplisia dari sel yang rusak, yang terbentuk pada saat penghalusan, ekstraksi (difusi) bahan kandungan dari sel yang masih utuh. Setelah selesai waktu maserasi, artinya keseimbangan antara bahan yang diekstraksi pada bagian dalam sel dengan masuk kedalam cairan, telah tercapai maka proses difusi segera berakhir. Selama maserasi atau proses perendaman dilakukan pengocokan berulang – ulang. Upaya ini menjamin keseimbangan konsentrasi bahan ekstraksi yang lebih cepat didalam cairan. Sedangkan keadaan diam selama maserasi menyebabkan turunannya perpindahan bahan aktif. Secara teoritis pada suatu maserasi tidak memungkinkan terjadinya ekstraksi absolut. Semakin besar perbandingan simplisia terhadap cairan pengekstraksi akan semakin banyak hasil yang diperoleh (Voight, 1994).

Kerugiannya adalah pengerjaannya lama dan penyarian kurang sempurna. Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya (Depkes RI, 2000 ; Depkes RI, 1995).

2.4.1.2 Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (*exhaustive extraction*) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Prosesnya terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahapan maserasi

antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetasan/penempungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan (Depkes RI, 2000).

2.4.1.3 Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga proses ekstraksi sempurna (Depkes RI, 2000).

2.4.1.4 Soxhletasi

Soxhletasi adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstrak kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Depkes RI, 2000).

Soxhletasi merupakan penyarian bahan secara berkesinambungan. Pelarut penyari yang ditempatkan di dalam labu akan menguap ketika dipanaskan melewati pipa samping alat soxhlet dan mengalami pendinginan saat melewati kondensor. Pelarut yang telah berkondensasi tersebut akan jatuh pada bagian dalam alat soxhlet yang berisi sampel yang telah dibungkus dengan kertas saring dan merendamnya hingga mencapai bagian atas tabung sifon. Satu daur soxhletasi dapat dikatakan telah terlewati, apabila alat soxhlet berisi pelarut telah terendam pelarut sampai bagian atas tabung sifon, kemudian seluruh bagian pelarut tersebut akan tertarik dan ditampung pada labu tempat pelarut awal. Proses ini berlangsung terus-menerus sampai diperoleh hasil ekstraksi yang dikehendaki (Harbone, 1996).

Alat soxhlet terdiri dari labu destilasi sebagai tempat menampung pelarut dan ekstrak, tabung sifon sebagai tempat menampung sampel dan tempat terjadinya ekstraksi, pipa di samping tabung sifon sebagai jalur pelarut yang menguap kemudian didinginkan dan akan jatuh ke dalam tabung sifon (Harbone, 1996). Keuntungan metode ini yaitu, dapat digunakan untuk sampel dengan tekstur yang lunak dan tidak tahan terhadap pemanasan secara langsung, digunakan pelarut yang lebih sedikit dan pemanasannya dapat diatur (Guenther, 1987).

2.4.1.5 Digesti

Digesti adalah maserasi dengan pengadukan kontinyu pada temperatur lebih tinggi dari temperatur ruang (umumnya 25-30°C). Ini adalah jenis ekstraksi maserasi dimana suhu sedang digunakan selama proses ekstraksi (Tiwari *et al.*, 2011). Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinyu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur kamar, yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40 - 50°C (Depkes RI, 2000).

2.4.1.6 Infus

Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air 96 - 98°C (bejana infus tercelup dengan penangas air mendidih selama 15-20 menit) (Depkes RI, 2000). Cara ini menghasilkan larutan encer dari komponen yang mudah larut dari simplisia (Tiwari *et al.*, 2011).

2.4.1.7 Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama ($\geq 30^\circ\text{C}$) dan temperatur sampai titik didih air (Depkes RI, 2000). Dekok adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur 90°C selama 30 menit. Metode ini digunakan untuk ekstraksi konstituen yang larut dalam air

2.4.2 Pelarut

Pelarut adalah zat yang digunakan sebagai media untuk melarutkan zat lain. Kesuksesan penentuan senyawa biologis aktif dari bahan tumbuhan sangat tergantung pada jenis pelarut yang digunakan dalam prosedur ekstraksi (Ncube *et al.*, 2008). Sifat pelarut yang baik untuk ekstraksi yaitu toksisitas dari pelarut yang rendah, mudah menguap pada suhu yang rendah, dapat mengekstraksi komponen senyawa dengan cepat, dapat mengawetkan dan tidak menyebabkan ekstrak terdisosiasi (Tiwari *et al.*, 2011).

Pemilihan pelarut juga akan tergantung pada senyawa yang ditargetkan. Faktor-faktor yang mempengaruhi pemilihan pelarut adalah jumlah senyawa yang akan diekstraksi, laju ekstraksi, keragaman senyawa yang akan diekstraksi, kemudahan dalam penanganan ekstrak untuk perlakuan berikutnya, toksisitas pelarut dalam proses *bioassay*, potensial bahaya kesehatan dari pelarut (Tiwari *et al.*, 2011).

2.4.2.1 Air

Air termasuk pelarut yang murah dan mudah digunakan dengan pemakaian yang luas. Pada suhu kamar, air adalah pelarut yang baik untuk berbagai zat, misalnya garam alkaloid, glukosida, sakarida, asam tumbuh - tumbuhan, zat warna, dan garam - garam mineral (Syamsuni, 2007).

2.4.2.2 Etanol

Etanol merupakan pelarut golongan alkohol yang paling banyak digunakan dalam proses isolasi senyawa organik bahan alam karena dapat melarutkan seluruh senyawa metabolit sekunder karena mempunyai gugus hidroksil yang bersifat polar dan gugus alkil yang bersifat non polar. Selain itu etanol dipertimbangkan sebagai pelarut karena etanol lebih selektif, tidak mudah ditumbuhi kapang dan jamur tidak beracun, netral dan absorbansinya baik. Etanol dapat bercampur dengan segala perbandingan dan panas yang diperlukan untuk perekatan yang lebih sedikit (Hargono, 1986).

Etanol disebut juga etil alkohol yang lebih dikenal sebagai alkohol yang merupakan senyawa organik dengan rumus kimia C_2H_5OH . Dalam kondisi kamar, etanol berwujud cairan yang mudah menguap, mudah terbakar, tak berwarna (Munawaroh, 2010). Etanol adalah pelarut yang baik untuk alkaloid, glukosida, damar – damar, dan minyak atsiri, tetapi tidak untuk jenis gom, gula, dan albumin. Etanol juga menyebabkan enzim – enzim tidak bekerja, termasuk peragian, serta menghalangi pertumbuhan jamur dan sebagian besar bakteri sehingga di samping sebagai cairan penyari, juga berguna sebagai pengawet (Syamsuni, 2007). Sifat fisika dan kimia etanol (Munawaroh, 2010)

Rumus molekul	: C_2H_5OH
Massa molekul relatif	: 46,07 g/mol
Titik leleh	: $-114,3\text{ }^{\circ}C$
Titik didih	: $76,32\text{ }^{\circ}C$
Densitas pada $20^{\circ}C$: $0,7893\text{ g/cm}^3$
Kelarutan dalam air $20^{\circ}C$: Sangat larut
Viskositas pada $20^{\circ}C$: 1,17 cP

Kalor spesifik pada 20°C : 0,579 kal/g°C

2.4.2.3 N-heksana

N-heksana merupakan jenis pelarut nonpolar sehingga n-heksana dapat melarutkan senyawa - senyawa bersifat nonpolar (Maulida dan Zulkarnaen, 2010).

2.4.2.4 Etil Asetat

Etil asetat merupakan pelarut semi polar dan dapat melarutkan senyawa semi polar pada dinding sel (Harborne, 1987).

2.4.2.5 Metanol

Metanol merupakan pelarut polar yang dapat melarutkan senyawa - senyawa yang bersifat polar seperti golongan fenol (Kusumaningtyas *et al.*, 2008).

2.5 Krim

Krim adalah bentuk sediaan setengah padat mengandung satu atau lebih bahan obat terlarut atau terdispersi dalam bahan dasar yang sesuai. Istilah ini secara tradisional telah digunakan untuk sediaan setengah padat yang mempunyai konsistensi filtrat cair di formulasi sebagai emulsi air dalam minyak atau minyak dalam air. Sekarang ini batasan tersebut lebih di arahkan untuk produk yang terdiri dari emulsi minyak dalam air atau dispersi mikrokristal asam – asam lemak atau alkohol berantai panjang dalam air, yang dapat di cuci dengan air dan lebih di tujukan untuk penggunaan kosmetika dan estetika (Dirjen POM, 1995).

Krim adalah sediaan semipadat yang diaplikasikan di kulit dengan konsistensi lunak, lembut, dan banyak digunakan di dalam kosmetik (Faradiba, 2011). Krim terdiri dari dua tipe yakni krim tipe M/A dan tipe A/M. Adapun dasar pemilihan krim tipe (M/A) dikarenakan krim tersebut digunakan pada daerah kulit dan diharapkan dapat memberikan efek optimum karena dapat meningkatkan gradien konsentrasi zat aktif yang menembus kulit, sehingga turut meningkatkan absorpsi perkutan (Kuswahyuning dkk., 2008).

Krim berfungsi sebagai bahan pembawa substansi obat untuk pengobatan kulit, sebagai bahan pelumas untuk kulit, dan sebagai pelindung untuk kulit yaitu mencegah kontak permukaan kulit dengan larutan berair dan rangsangan kulit

(Anief, 2000). Kualitas dasar krim, yaitu harus stabil, bebas dari inkompatibilitas, stabil pada suhu kamar, dan kelembaban yang ada dalam kamar, lunak artinya semua zat dalam keadaan halus dan seluruh produk menjadi lunak dan homogen, mudah dipakai, umumnya krim tipe emulsi adalah yang paling mudah dipakai dan dihilangkan dari kulit dan terdistribusi merata artinya obat harus terdispersi merata melalui dasar krim padat atau cair pada penggunaan (Rowe *et al.*, 2009).

Krim dapat memberikan efek mengkilap, berminyak, melembabkan, dan mudah tersebar merata, mudah berpenetrasi pada kulit, mudah/sulit diusap, mudah/sulit dicuci air (Anwar, 2012). Keuntungan sediaan krim ialah kemampuan penyebarannya yang baik pada kulit, memberikan efek dingin karena lambatnya penguapan air pada kulit, memberikan efek dingin karena lambatnya penguapan air pada kulit, mudah dicuci dengan air, serta pelepasan obat yang baik. Selain itu tidak terjadi penyumbatan dikulit dan krimnya tampak putih dan bersifat lembut (Voight, 1994).

2.5.1 Uji Evaluasi Sediaan

2.5.1.1 Uji Organoleptis

Pengamatan dilakukan secara visual dengan melihat bentuk, warna dan bau. Pengamatan ini dilakukan untuk mengetahui krim yang dibuat sesuai dengan warna dan bau ekstrak yang digunakan (Arifin, 2010).

2.5.1.2 Uji pH

Uji pH merupakan salah satu bagian kriteria pemeriksaan sifat fisik dalam memprediksi kestabilan krim, dimana profil pH menentukan stabilitas bahan aktif dalam suasana asam atau basa. Nilai pH yang ideal bagi kulit adalah 4,5 – 6,5 (Budiman, 2008).

2.5.1.3 Uji Homogenitas

Uji homogenitas bertujuan untuk mengetahui kehomogenan sediaan krim. Sediaan krim yang ideal harus menunjukkan susunan yang homogen dan tidak terlihatnya butiran - butiran kasar (Lubis, 2012). Sediaan krim yang homogen mengindikasikan bahwa bahan - bahan yang digunakan dalam pembuatan krim tercampur sempurna. Suatu sediaan krim harus homogen dan terdistribusi merata agar tidak menyebabkan iritasi ketika dioleskan pada permukaan kulit.

2.5.1.4 Uji Daya Sebar

Uji daya sebar bertujuan untuk mengetahui kemampuan sediaan krim untuk menyebar pada kulit. Sediaan krim diharapkan memiliki kemampuan menyebar yang mudah saat diaplikasikan ke kulit, sehingga sediaan mudah untuk digunakan. sediaan krim yang dibuat telah memenuhi syarat daya sebar 5-7 cm dengan menunjukkan konsistensi semisolid yang sangat nyaman dalam penggunaan (Garg *et al.*, 2002)

2.5.1.5 Uji Daya Lekat

Tujuan dilakukannya uji daya lekat yaitu untuk mengetahui kemampuan krim melekat ketika dioleskan pada kulit. Semakin besar nilai daya lekat sediaan ketika diujikan maka, maka kemampuan melekat pada kulit semakin kuat dan absorpsi dikulit akan semakin lama (Voight, 1994).

2.5.1.6 Uji Daya Proteksi

Uji daya proteksi ditujukan untuk menilai apakah basis krim yang digunakan mampu melindungi krim dari pengaruh luar. Pada pengujian ini digunakan larutan indikator PP 1% dan KOH 1 N, di mana reaksi antara kedua senyawa tersebut akan terbentuk warna pink. Krim yang diletakkan diatas kertas saring yang sudah ditetesi indikator PP 1% kemudian ditutup dengan kertas saring yang ditetesi KOH 1 N dapat mencegah terbentuknya warna pink antara indikator PP 1% dan KOH 1 N(Garg *et al.*, 2002). Jika tidak ada noda merah berarti krim memberikan proteksi yang baik (Alfath, 2012).

2.5.1.7 Uji Stabilitas Fisik

Stabilitas obat adalah kemampuan suatu produk untuk mempertahankan sifat dan karakteristiknya agar sama dengan yang dimilikinya pada saat dibuat (identitas, kekuatan, kualitas, kemurnian) dalam batasan yang ditetapkan sepanjang periode penyimpanan dan penggunaan (*shelf-life*) (Joshita, 2008). Tujuan pemeriksaan kestabilan obat adalah untuk menjamin bahwa setiap bahan obat yang didistribusikan tetap memenuhi persyaratan yang ditetapkan meskipun sudah cukup lama dalam penyimpanan. Pemeriksaan kestabilan digunakan sebagai dasar penentuan batas kadaluarsa, cara-cara penyimpanan yang perlu dicantumkan dalam label (Lachman, 1994).

2.5.2 Monografi Bahan Sediaan Krim

2.5.2.1 Asam Stearat

Asam stearat adalah campuran asam organik padat yang diperoleh dari lemak sebagian besar terdiri dari asam oktadekanoat, $C_{18}H_{36}O_2$ dan asam heksadekanoat, $C_{16}H_{32}O_2$ (Ditjen POM, 1979). Asam stearat dalam *vanishing cream* berfungsi sebagai pengemulsi. Konsentrasi yang biasa digunakan dalam krim berkisar 1 - 20% (Rowe *et al.*, 2009).

Pemerian asam stearat berupa zat padat keras mengkilat menunjukkan susunan hablur, putih atau kuning pucat, mirip lemak lilin. Kelarutan: praktis tidak larut dalam air, larut dalam 20 bagian etanol (95%) P, dalam 2 bagian klorofom P, dan dalam 3 bagian eter. Suhu lebur $54^{\circ}C$. Titik didihnya $384^{\circ}C$ (Depkes RI, 1979).

2.5.2.2 Setil Alkohol

Setil alkohol mempunyai rumus molekul $C_{16}H_{34}O$ dengan berat molekul 242,44. Pemerian setil alkohol berupa serpihan putih atau granul seperti lilin, berminyak memiliki bau dan rasa yang khas. Kelarutan: mudah larut dalam etanol (95%) dan eter, kelarutannya meningkat dengan penigkatan temperatur, serta tidak larut dalam air. Dalam *cold cream*, penggunaan cera alba dan setil alkohol bisa meningkatkan konsistensi dari krim tipe air dalam minyak. Konsentrasi umum digunakan sebagai pengeras adalah 2 – 10% dan sebagai bahan pengemulsi maupun emolien adalah 2 – 5% (Rowe *et al.*, 2009).

2.5.2.3 Trietanolamin

Trietanolamin banyak digunakan dalam formulasi sediaan topikal, terutama dalam pembentukan emulsi. Trietanolamin terbentuk sebagai cairan kental yang jernih, tidak berwarna hingga kuning pucat, dan berbau sedikit amoniak. Trietanolamin merupakan emulgator yang berfungsi untuk menurunkan tegangan permukaan dua fase sehingga bersifat sebagai surfaktan, juga untuk menstabilkan tingkat pH. Larut dalam 95% etanol, metanol, dan air. Digunakan sebagai bahan pengemulsi dengan konsentrasi 0,5 – 3%, menambah kebiasaan, dan sebagai humektan (Rowe, *et al.*, 2009).

2.5.2.4 Gliserin

Gliserin merupakan trihidroksi alkohol yang terdiri atas tiga atom karbon. Gliserin yang diperoleh dari hasil penyabunan lemak atau minyak adalah suatu zat cair yang tidak berwarna dan mempunyai rasa yang agak manis, larut dalam air dan tidak larut dalam eter (Poedjiadi, 2006). Pemerian bahan berupa cairan seperti sirop, jernih, tidak berwarna, tidak berbau, manis diikuti rasa hangat. Bersifat higroskopik. Jika disimpan lama pada suhu rendah dapat memadat membentuk masa hablur yang tidak berwarna yang tidak melebur pada suhu mencapai kurang dari 20 °C (Depkes RI, 1979). Dalam sediaan topikal gliserin berfungsi sebagai humektan yang digunakan dalam rentang konsentrasi 5,0 – 15% (Rowe, *et al.*, 2009).

2.5.2.5 Metil Paraben

Metil paraben memiliki sinonim aseptoform, metil hidroksi benzoate, metil para hidroksi benzoat, nipagin, solbrol, metagin. Kegunaannya sebagai pengawet antimikroba untuk sediaan kosmetik, produk makanan dan sediaan farmasi. Konsentrasi yang digunakan untuk sediaan topikal adalah 0,02-0,3% (Rowe *et al.*, 2009). Pemerian bahan berupa hablur halus, putih, hampir tidak berbau, tidak mempunyai rasa, kemudian agak membakar diikuti rasa tebal. Kelarutan: larut dalam 500 bagian air, dalam 20 bagian air mendidih, dalam 3,5 bagian etanol (95%) P dan dalam 3 bagian aseton P; mudah larut dalam eter P dan dalam larutan alkali hidroksida; larut dalam 60 bagian gliserol P panas dan dalam 40 bagian minyak lemak nabati panas, jika didinginkan larutan tetap jernih (Depkes RI, 1979).

2.5.2.6 Akuades

akuades berasal dari air murni yang mengalami penyulingan dan bebas dari kotoran maupun mikroba. Kegunaannya sebagai pelarut dalam formulasi, bahan aktif, dan reagen analitikal dalam farmasi (Rowe, 2009). Akuades dibuat dengan cara menyuling air yang dapat diminum. Pemerian bahannya berupa cairan jernih, tidak berwarna, tidak berbau, tidak mempunyai rasa (Depkes RI, 1979).

2.6 Bakteri

2.6.1 Definisi

Bakteri adalah salah satu golongan organisme prokariotik (tidak memiliki selubung inti). Bakteri sebagai makhluk hidup tentu memiliki informasi genetik berupa DNA, tapi tidak terlokalisasi dalam tempat khusus (*nukleus*) dan tidak ada membran inti. Bentuk DNA bakteri adalah sirkuler, panjang dan biasa disebut nukleoi. Pada DNA bakteri tidak mempunyai intron dan hanya tersusun atas akson saja. Bakteri juga memiliki DNA ekstrakromosomal yang tergabung menjadi plasmid yang berbentuk kecil dan sirkuler (Jawetz, 2004)

2.6.2 Penggolongan Bakteri

Bakteri dibedakan atas dua kelompok berdasarkan komposisi dinding sel serta sifat pewarnaannya, yaitu bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif.

2.6.2.1 Bakteri Gram Positif

Bakteri Gram positif memiliki kandungan peptidoglikan yang tinggi dibandingkan Gram negatif. Pada bakteri Gram positif polimer dapat mencapai 50%. Pada beberapa genus bakteri Gram positif terdapat asam teikoat. Asam ini dapat mengikat ion magnesium, ion Mg berperan dalam membran sitoplasma sehingga memberikan ketahanan terhadap suhu yang tinggi. Pada umumnya kandungan lipid pada dinding sel bakteri Gram positif rendah (Waluyo, L 2007).

2.6.2.2 Bakteri Gram Negatif

Dinding sel bakteri Gram negatif lebih kompleks dibandingkan Gram positif. Perbedaan utama adalah adanya lapisan membran luar, yaitu meliputi peptidoglikan. Membran ini menyebabkan dinding sel bakteri Gram negatif kaya akan lipid (11- 22%). Lapisan ini tidak hanya terdiri dari fosfolipid saja seperti membran plasma, tetapi juga mengandung lipid lainnya, polisakarida, dan protein (Waluyo, L 2007). Bakteri Gram negatif lebih sensitif terhadap antibiotik lainnya seperti streptomisin dan bersifat lebih konstan terhadap reaksi pewarnaan (Tortora, 2001).

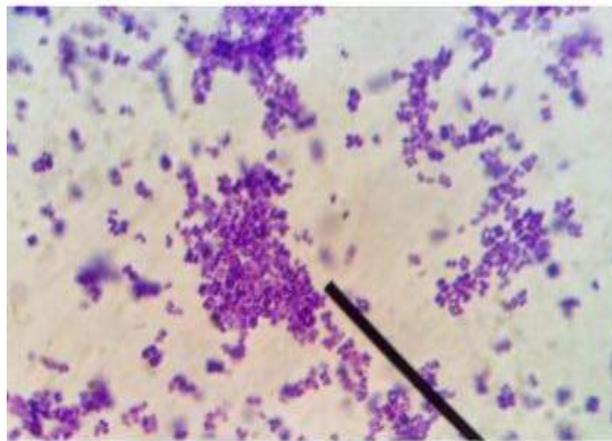
2.7 *Staphylococcus aureus*

2.7.1 Klasifikasi *Staphylococcus aureus*

Klasifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus* menurut Brooks *et al* (2008) :

Kingdom : Bacteria
Divisi : Firmicutes
Kelas : Cocci
Bangsa : Bacillales
Suku : Staphylococcaceae
Marga : Staphylococcus
Jenis : *Staphylococcus aureus*

2.7.2 Morfologi *Staphylococcus aureus*



Gambar 2.5 Pewarnaan Bakteri *Staphylococcus aureus* (Brooks *et al.*, 2008)

Staphylococcus aureus adalah bakteri Gram positif dengan diameter antara 0,8 – 1,0 mikron, non motil, dan tidak berspora. Koloni *Staphylococcus aureus* umumnya opak, berwarna putih atau krem dan kadang-kadang berwarna kuning atau oranye. Tumbuh optimum pada suhu 30°C - 37°C. Bersifat fakultatif anaerob, katalase positif dan oksidase negatif (Public Health England, 2014).

Koloni *Staphylococcus aureus* pada media *Baird Parker* mempunyai ciri khas bundar, licin, dan halus, cembung, diameter 2 mm sampai dengan 3 mm, berwarna abu-abu sampai hitam pekat, dikelilingi zona opak, dengan atau tanpa zona luar yang terang (*clear zone*). Konsistensi koloni seperti mentega atau lemak jika disentuh oleh ose (BSN, 2008). Bakteri ini dapat tumbuh dengan baik dan mampu memfermentasi mannitol pada media *mannitol salt agar*. Koloni berwarna kuning emas dan kemampuan memfermentasi mannitol terlihat dari perubahan

warna media menjadi kuning. Hal tersebut merupakan ciri khas yang membedakan *Staphylococcus aureus* dengan *Staphylococcus epidermidis* (Leboffe dan Pierce, 2011). Koloni *Staphylococcus aureus* pada media agar darah tampak berwarna kuning, putih sampai abu-abu dengan diameter 1-2 mm. Koloni *Staphylococcus aureus* juga menunjukkan kemampuan menghemolisis (β hemolisis) pada *blood agar*. Kadang-kadang zona β hemolisis tidak tampak setelah diinkubasi selama 24 jam dan membutuhkan waktu inkubasi yang lebih lama (Goldman dan Green, 2009).

2.7.3 Identifikasi *Staphylococcus aureus*

2.7.3.1 Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram bertujuan untuk mengamati morfologi sel *staphylococcus* dan mengetahui kemurnian sel bakteri. Pengecatan Gram merupakan salah satu pewarnaan yang paling sering digunakan, yang dikembangkan oleh Christian Gram (Ferdiaz, 1993). Bakteri dikelompokkan sebagai Gram positif apabila selnya terwarnai keunguan, dan Gram negatif apabila selnya terwarnai merah. *Staphylococcus aureus* pada medium MSA akan berwarna kuning karena memfermentasi manitol.

2.7.3.2 Mannitol salt agar

Mannitol salt agar (MSA) merupakan media selektif dan media diferensial (Sharp, 2006). Penanaman dilakukan dengan cara satu usa biakan diambil dari media pepton, dan diusapkan pada media MSA, kemudian diinkubasi pada 37°C selama 24 jam (Lay, 1994). Koloni bakteri *Staphylococcus aureus* pada medium MSA akan berwarna kuning karena memfermentasi manitol.

2.7.3.3 Uji Katalase

Katalase merupakan salah satu uji cepat yang dapat dilakukan untuk mengidentifikasi *Staphylococcus aureus* karena bakteri ini menghasilkan enzim katalase. Uji ini dapat membedakan koloni *Staphylococcus* yang berwarna putih sampai abu-abu dengan koloni *Streptococcus* (Goldman dan Lorrence, 2009). Uji ini dilakukan dengan mereaksikan hidrogen peroksida (H_2O_2) dengan suspensi bakteri, hasil positif ditandai oleh terbentuknya gelembung – gelembung udara (Hadioetomo, 1990).

2.7.3.4 Uji Koagulase

Uji koagulase dilakukan dengan 2 metode, yaitu uji slide dan uji tabung. Uji slide atau *clumping factor* digunakan untuk mengetahui adanya enzim koagulase yang terikat sel bakteri. Uji slide dikerjakan dengan cara setetes aquadest atau NaCl fisiologis steril diletakkan pada kaca benda, kemudian satu ose biakan bakteri yang diuji dan disuspensikan disuspensikan. Setetes plasma diletakkan di dekat suspensi biakan tersebut, keduanya dicampur dengan menggunakan usa dan kemudian digoyangkan. Reaksi positif terjadi apabila dalam waktu 2-3 menit terbentuk *presipitat granuler* (Bruckler *et al.*, 1994).

Uji tabung digunakan untuk mengetahui adanya koagulase bebas dengan cara 200 µl plasma dimasukkan secara aseptis ke dalam tabung reaksi steril. Sebanyak 3-4 koloni biakan *Staphylococcus sp.* yang diuji ditambahkan ke dalam tabung reaksi kemudian dicampur hati-hati. Selanjutnya, tabung dimasukkan ke dalam inkubator pada suhu 37°C. Pengamatan dilakukan pada 4 jam pertama, dan sesudah 18-24 jam. Reaksi positif akan terjadi apabila terbentuk clot atau *jelly* dan ketika tabung dimiringkan *jelly* tetap berada di dasar tabung (Lay, 1994).

2.8 Antibakteri

Antibakteri adalah golongan senyawa, baik alami maupun sintetik yang mempunyai efek menekan atau menghentikan suatu proses biokimia di dalam organisme, khususnya dalam proses infeksi oleh bakteri. Proses tersebut dilakukan melalui penghambatan sintesis dinding sel, sintesis protein, sintesis asam nukleat, serta menghambat jalur metabolisme sehingga menghancurkan struktur membran sel (Tenover, 2006).

Resistensi adalah ketidakmampuan antibiotik untuk membunuh bakteri dan menghambat pertumbuhan bakteri dengan pemberian pada kadar maksimum yang dapat ditolerir oleh inang. Resistensi mikroorganisme terhadap antibiotik dapat terjadi dengan beberapa cara, yaitu dengan merusak antibiotik dengan enzim yang diproduksi bakteri, mengubah reseptor titik tangkap antibiotik, mengubah fisiko kimiawi target sasaran antibiotik pada sel bakteri, antibiotik tidak dapat menembus dinding sel akibat perubahan sifat dinding sel bakteri dan antibiotik

masuk ke dalam sel bakteri, namun segera dikeluarkan dari dalam sel melalui mekanisme transpor aktif ke luar sel (Drlica dan Perlin, 2011). Beberapa strain bakteri mungkin saja resisten terhadap lebih dari satu antibiotik (Clark *et al.*, 2012).

2.8.1 Mekanisme Kerja Antibakteri

2.8.1.1 Antibakteri yang menghambat metabolisme sel bakteri

Dengan mekanisme kerja ini diperoleh efek bakteriostatik. Bakteri membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya. Berbeda dengan mamalia yang mendapatkan asam folat dari luar, bakteri harus mensintesis sendiri asam para amino benzoate (PABA) untuk kebutuhan hidupnya (Setiabudy, 2007).

2.8.1.2 Antibakteri yang menghambat sintesis dinding sel bakteri

Dinding sel bakteri secara kimia adalah polipeptidoglikan yaitu suatu kompleks polimer mukopeptida (Glikopeptida), antibakteri menghambat reaksi proses sintesa dinding sel, karena tekanan osmotik dalam sel bakteri lebih tinggi daripada diluar sel maka kerusakan dinding sel bakteri akan menyebabkan terjadinya lisis, yang merupakan dasar efek bakterisidal pada kuman yang peka (Ganiswarna, 1995). Contoh obat: penisilin, sefalosporin, carbapenem, basitrain, vankomisin (Ebrahim, 2010).

2.8.1.3 Antibakteri yang mengganggu keutuhan membran sel bakteri

Antibakteri yang dapat mengubah tegangan permukaan (*surface active agents*) dapat merusak permeabilitas atau keutuhan selektif dari membran sel bakteri. Kerusakan membran sel menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel mikroba yaitu protein, asam nukleat, dan nukleotida (Setiabudy, 2007). Contoh obat : polimiksin, kolistin, nistatin.

2.8.1.4 Antibakteri yang menghambat sintesis protein sel bakteri

Sel bakteri perlu mensintesis berbagai protein untuk hidup. Sintesis protein berlangsung di ribosom, dengan bantuan mRNA dan tRNA pada bakteri, ribosom terdiri atas dua sub unit, yang berdasarkan konstanta sedimentasi dinyatakan sebagai ribosom 30S dan 50S. Untuk berfungsi sebagai sintesis, kedua komponen ini akan bersatu pada pangkal rantai mRNA menjadi ribosom 70S (Setiabudy, 2007). Salah satu mekanisme penghambatan sintesis protein dilakukan adalah

dengan menghambat perlekatan tRNA dan mRNA ke ribosom (Jawetz *et al.*, 2005).

2.8.1.5 Antibakteri yang menghambat sintesis asam nukleat sel bakteri

Antibakteri yang memiliki mekanisme kerja ini pada umumnya kurang mempunyai sifat toksisitas selektif karena bersifat sitotoksik terhadap sel tubuh hospes. Karena itu hanya yang sifat sitotoksiknya masih dapat diterima yang bermanfaat sebagai antibakteri (Setiabudy, 2007). Bahan antibakteri dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan ikatan yang sangat kuat pada enzim DNA Dependent dan RNA Polymerase bakteri sehingga menghambat sintesis RNA bakteri (Jawetz *et al.*, 2005).

2.9 Uji Aktivitas Antibakteri

Uji antibakteri dilakukan untuk mengetahui aktivitas suatu bakteri terhadap antibakteri secara *in vitro*. Pengujian ini dapat dilakukan dengan dua metode yakni metode penyebaran (*Diffusion method*) dengan menggunakan cakram kertas dan metode pengenceran (*Dillution method*) (Kristanti, 2008).

Menurut Pelczar (1986), penghambatan bakteri ditunjukkan dengan adanya kejernihan media uji dan penurunan jumlah koloni bakteri setelah pemberian konsentrasi. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diberikan, maka akan berpengaruh signifikan dalam menurunkan jumlah koloni bakteri.

2.9.1 Metode Difusi

2.9.1.1 Metode *Disk Diffusion*

Prinsip metode *disk diffusion* (tes Kirby & Baur) adalah mengukur zona hambatan pertumbuhan bakteri yang terjadi akibat difusi zat yang bersifat antibakteri di dalam media padat melalui pencadangan. Daerah hambatan pertumbuhan bakteri adalah daerah jernih disekitar cakram. Luas daerah hambatan berbanding lurus dengan aktivitas antibakterinya maka semakin luas daerah hambatnya (Jawetz *et al.*, 2001). Metode *disk diffusion* (tes Kirby & Baur) menggunakan piringan yang berisi agen antibakteri, kemudian diletakkan pada media agar yang sebelumnya telah ditanami mikroorganisme dengan konsentrasi ($1,5 \times 10^8$ CFU/mL) sehingga agen antibakteri dapat berdifusi pada

media agar tersebut. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan media agar (Pratiwi, 2008).

2.9.1.2 Metode *E-test*

Metode *E-test* digunakan untuk mengestimasi Kadar Hambat Minimum (KHM), yaitu konsentrasi minimal suatu agen antibakteri untuk dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Pada metode ini digunakan strip plastik yang mengandung agen antibakteri dari kadar terendah sampai tertinggi dan diletakkan pada permukaan media agar yang telah ditanami mikroorganisme sebelumnya. Pengamatan dilakukan pada area jernih yang ditimbulkan yang menunjukkan kadar agen antibakteri yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme pada media agar (Pratiwi, 2008).

2.9.1.3 *Ditch-plate technique*

Pada metode ini sampel uji berupa agen antibakteri yang diletakkan pada parit yang dibuat dengan cara memotong media agar dalam cawan petri pada bagian tengah secara membujur dan bakteri uji (maksimum 6 macam) digoreskan ke arah parit yang berisi agen antibakteri tersebut (Pratiwi, 2008).

2.9.1.4 *Cup-plate technique*

Metode ini serupa dengan *disk diffusion*, dimana dibuat sumur pada media agar yang telah ditanami dengan mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi agen antibakteri yang akan diuji (Pratiwi, 2008).

Tabel II.1 Kategori respon hambatan pertumbuhan bakteri berdasarkan diameter zona hambat (Susanto *et al.*, 2012)

Diameter Zona Hambat	Respon Hambatan
≥ 21 mm	Sangat Kuat
11 – 20 mm	Kuat
6 – 10 mm	Sedang
< 5 mm	Lemah

2.9.2 Metode Dilusi

2.9.2.1 Metode dilusi cair / *broth dilution test*(*serial dilution*)

Metode ini digunakan untuk mengukur Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM). Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri pengenceran agen antibakteri pada medium cair yang ditambahkan dengan bakteri uji. Larutan uji agen antibakteri pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai KHM. Larutan yang ditetapkan sebagai KHM tersebut selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa penanaman mikroba uji ataupun agen antimikroba, dan diinkubasi umumnya selama 18-24 jam. Media cair yang tetap terlihat jernih setelah diinkubasi ditetapkan sebagai KBM (Pratiwi, 2008). Konsentrasi minimal yang diperlukan untuk membunuh 99,9 % pertumbuhan bakteri dikenal sebagai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) (Forbes *et al*, 2007).

2.9.2.2 Metode dilusi padat (*solid dilution test*)

Metode ini serupa dengan metode dilusi cair namun menggunakan media padat (solid). Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi agen antibakteri yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji (Pratiwi, 2008).

2.10 Kloramfenikol

Kloramfenikol merupakan antibiotika golongan *amphenicol* yang bersifat bakterisid dengan aktivitas spektrum luas aktif terhadap bakteri yang patogen dengan jalan menghambat sintesis protein dengan cara mengikat sub unit 50 S dari pada ribosom sel bakteri dan menghambat aktivitas enzim peptidil transferase (Martaleni, 2007). Karakteristik kloramfenikol yang digunakan sebagai antibakteri pembanding menurut FI IV adalah sebagai berikut :

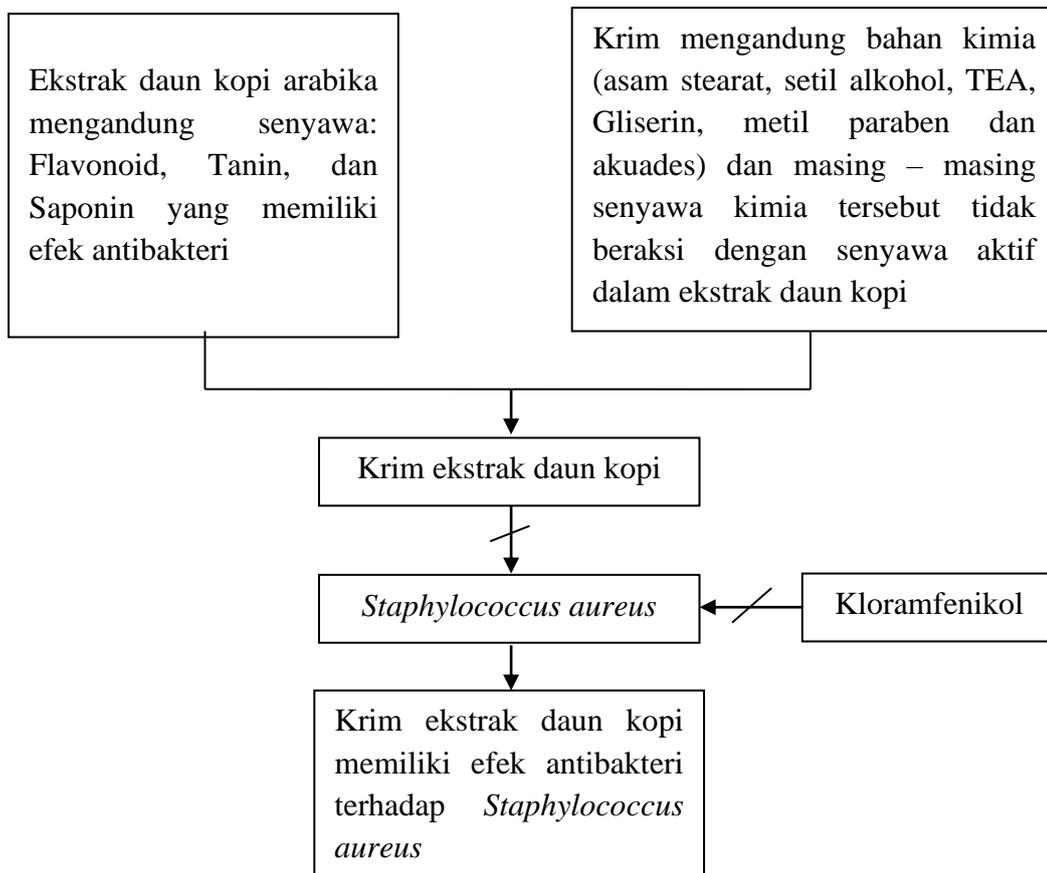
Nama Umum	: Kloramfenikol
Nama Lain	: Chloramphenicol
Nama Kimia	: <i>D(-) treo-2-diklorasetamido-1-p-nitrofenilpropana-1,3-diol</i>
BM / RM	: 323,13 / C ₁₁ H ₁₂ Cl ₂ N ₂ O ₅
Suhu Lebur	: 149°C – 153°C
Pemerian	: Hablur halus berbentuk jarum atau lempeng memanjang; putih hingga putih kelabu atau putih kekuningan; larutan praktis

netral terhadap lakmus P; stabil dalam larutan netral atau larutan agak asam.

- Kelarutan : Sukar larut dalam air, mudah larut dalam etanol, dalam propilen glikol, dalam aseton dan dalam etil asetat.
- Persyaratan : Pada sediaan kapsul kloramfenikol mengandung kloramfenikol, $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$, tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 120,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.
- Kegunaan : Antibakteri pembanding.

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Daun kopi arabika merupakan salah satu tanaman obat tradisional yang telah dipercaya dalam penyembuhan berbagai macam penyakit. Efek farmakologis yang terkandung dalam daun kopi memiliki aktivitas yaitu sebagai : agen antibakteri (Dogasaki *et al.*, 2002). Penelitian yang dilakukan oleh Retnaningtyas dkk (2016) menunjukkan bahwa daun kopi arabika mengandung senyawa fenol, flavonoid, alkaloid, dan tanin. Dari hasil uji aktivitas antibakteri oleh Anggraeni (2014) menunjukkan bahwa ekstrak daun kopi arabika mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Aktivitas antibakteri yang dimiliki daun kopi arabika, maka perlu dikembangkan menjadi suatu sediaan krim untuk meningkatkan kemudahan penggunaannya. Formulasi krim dalam penelitian ini

mengandung bahan tambahan dari bahan kimia meliputi asam stearat, setil alkohol, TEA, gliserin, metil paraben, dan akuades. Masing – masing senyawa kimia tersebut tidak bereaksi dengan senyawa aktif dalam ekstrak daun kopi arabika. Namun demikian, masih harus diteliti tentang kemampuan sebagai antibakteri dari ekstrak daun kopi arabika tersebut apabila dalam sediaan krim. Salah satu metode untuk membuktikan efek antibakteri secara *in vitro* adalah menggunakan prinsip difusi, sehingga dapat dilihat apakah senyawa aktif ekstrak daun kopi didalam krim mampu berdifusi kedalam medium dan menunjukkan zona hambatan. Hipotesis dari penelitian ini adalah krim ekstrak daun kopi arabika menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*, makin tinggi dosis makin luas zona hambat yang terbentuk, dan zona hambat krim ekstrak daun kopi arabika tidak berbeda dengan zona hambat krim kloramfenikol terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

3.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kopi arabika sebanyak 5 kg untuk pembuatan simplisia, serbuk daun kopi arabika 500 gram dan etanol 70% 5000 ml untuk pembuatan ekstrak. Ekstrak daun kopi arabika, asam asetat glasial dan asam sulfat pekat untuk uji kadar etanol ekstrak, ekstrak daun kopi arabika, asam sulfat pekat (H_2SO_4), asam asetat anhidrat, dan larutan ferri klorida ($FeCl_3$) 1% untuk skrining fitokimia. Ekstrak daun kopi arabika, setil alkohol, asam stearat, gliserin, metil paraben, trietanolamin, dan akuades untuk pembuatan krim. Kalium hidroksida, parafin cair, akuades, *fenolftalein* untuk uji evaluasi krim. *Nutrien agar*, akuades, *manitol salt agar* (MSA), *Staphylococcus aureus*, hidrogen peroksida, NaCl fisiologis, Mc Farland, krim ekstrak daun kopi arabika dan krim kloramfenikol untuk uji aktivitas antibakteri.

3.3 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah gunting, blender, ayakan mesh 80, neraca analitik dan wadah simplisia untuk pembuatan simplisia. Alat soxhletasi, kondensor, labu alas bulat 250 ml, selang penghubung, asbes, kaki tiga, spirtus, oven, statif dan klem, sendok tanduk, kertas saring, tali, batang pengaduk, beaker glass 250 ml, beaker glass 1000 ml, termometer, untuk pembuatan ekstrak. Kaca arloji, sendok tanduk, oven, botol timbang, dan neraca analitik untuk uji kadar air serta uji susut pengeringan. Tabung reaksi, pipet tetes, pipet ukur 1 ml, cawan porselen 60 ml dan kapas untuk uji kadar etanol ekstrak. Tabung reaksi, pipet ukur 5 ml, gelas beker 100 ml, pipet tetes, *stop watch* untuk skrining fitokimia. Neraca analitik, sendok tanduk, mortir stamper, sudip, pipet tetes untuk pembuatan krim. Gelas beker, pH universal, sudip, gelas objek, lempeng kaca, anak timbangan, neraca analitik, penggaris, stop watch, alat uji daya lekat, alat uji daya sebar, kertas saring dan pipet tetes untuk uji evaluasi krim. Autoklaf (GEA YX2808), cawan petri, kertas cakram, erlenmeyer, tabung reaksi, *aluminium foil*, mikropipet, rak tabung reaksi, spirtus, *Laminar Air Flow* (ESCO EMC 600), ose, bunsen, kapas, jangka sorong dan inkubator untuk uji aktivitas antibakteri.

3.4 Populasi penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah daun kopi arabika yang terdapat di Desa Sumberbendo, Kecamatan Pucanglaban, Kabupaten Tulungagung, Jawa Timur.

3.5 Sampel penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah krim ekstrak daun kopi arabika.

3.6 Definisi Operasional

- 3.6.1 Daun kopi arabika adalah daun dari tanaman kopi arabika (*Coffea arabica* L.) yang diambil dari Desa Sumberbendo, Kecamatan Pucanglaban, Kabupaten Tulungagung, Jawa Timur.
- 3.6.2 Bakteri *Staphylococcus aureus* adalah bakteri Gram positif yang diperoleh dari isolat klinis Laboratorium Mikrobiologi FKUB.

3.7 Variabel penelitian

Variabel penelitian adalah segala sesuatu dalam bentuk apapun yang ditetapkan oleh peneliti sebagai hal yang akan digunakan untuk dipelajari sehingga diperoleh informasi tentang hal tersebut untuk diambil kesimpulannya (Sugiyono, 2013). Variabel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu, variabel bebas, variabel kontrol, dan variabel terikat.

3.7.1 Variabel Bebas

Variabel bebas adalah variabel yang dapat menjadi penyebab atau yang mempengaruhi perubahannya atau munculnya variabel dependen (terikat) (Sugiyono, 2013). Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian ini adalah krim ekstrak daun kopi arabika dengan seri konsentrasi 10%, 20%, dan 30%.

3.7.2 Variabel Terikat

Variabel terikat adalah variabel yang menjadi akibat atau yang dipengaruhi oleh adanya variabel bebas (Sugiyono, 2013). Variabel terikat yang digunakan dalam penelitian ini adalah daya hambat krim daun kopi arabika terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1 Determinasi Tanaman

Sampel tanaman daun kopi arabika diidentifikasi di Materia Medika Batu Malang.

3.8.2 Pembuatan Simplisia

Pembuatan simplisia daun kopi arabika dilakukan dengan mengumpulkan daun kopi arabika usia tua campuran dari bagian atas dan tengah pohon kopi

arabika. Daun kopi arabika kemudian dilakukan sortasi basah yang bertujuan untuk membersihkan daun dari kotoran dan benda asing. Tahap selanjutnya dilakukan pencucian menggunakan air bersih secara mengalir yang bertujuan untuk menghilangkan tanah atau pengotor lain yang melekat dan ditiriskan. Tahap selanjutnya adalah proses perajangan, yang kemudian dilanjutkan dengan proses pengeringan dengan cara diangin – anginkan dan dilanjutkan dengan menggunakan oven sampai kering hingga diperoleh kadar air kurang dari 10% dan dilakukan sortasi kering (Manoi, 2006). Daun kopi arabika yang sudah kering dan disortasi selanjutnya akan dilakukan proses penghalusan dengan cara diblender sampai didapatkan serbuk halus kemudian diayak dengan ayakan 80 *mesh*, hal ini dikarenakan serbuk yang lebih halus akan lebih mudah diekstraksi karena permukaan serbuk simplisia yang bersentuhan dengan cairan penyari makin luas. Selanjutnya ditimbang dengan bobot tertentu untuk siap dilakukan proses ekstraksi secara soxhletasi.

3.8.3 Uji Kadar Air Serbuk Simplisia

Uji kadar air serbuk simplisia dilakukan dengan memasukkan lebih kurang 10 g simplisia dan ditimbang seksama dalam wadah yang telah ditara. Dikeringkan pada suhu 105°C selama 5 jam dan ditimbang (Depkes RI, 2000).

$$\text{Rumus \% Kadar Air} = \frac{\text{Bobot awal} - \text{Bobot akhir}}{\text{Bobot awal}} \times 100\% \text{ (depkes, 2000)}$$

Syarat % Kadar Air < 10%

3.8.4 Pembuatan Ekstrak

Simplisia serbuk daun kopi arabika ditimbang sebanyak 20 g dimasukkan dalam kertas saring, diletakkan pada timbel. Labu alas bulat diisi dengan pelarut etanol 70% sebanyak 200 ml. Dilakukan ekstraksi kontinyu hingga ekstraksi tercapai dengan ditandai dengan cairan pelarut yang menetes di atas timbel menjadi jernih (Handa *et al.*, 2008).

$$\text{Rumus \% Rendemen} : = \frac{\text{Bobot ekstrak}}{\text{Bobot simplisia}} \times 100\% \text{ (depkes, 2000)}$$

3.8.5 Uji Bebas Etanol Ekstrak

Uji bebas etanol ekstrak dilakukan dengan memasukkan 0,5 gram ekstrak kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 1 ml asam asetat glasial, dan 1 ml asam sulfat pekat. Campuran dihomogenkan dan dipanaskan, kemudian tabung ditutup dengan kapas, hasil positif bebas etanol jika tidak tercium bau ester (Depkes RI, 1995).

3.8.6 Skrining Fitokimia

3.8.6.1 Flavonoid

Sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi 3 – 7 tetes, kemudian ditambahkan beberapa tetes larutan asam sulfat pekat (H₂SO₄). Diamati perubahan warna yang terjadi, jika larutan berubah warna menjadi merah tua atau kuning menandakan adanya senyawa flavonoid (Harbone, 1987).

3.8.6.2 Tanin

Sampel sebanyak 2 g ditambah etanol sampai sampel terendam semuanya. Kemudian sebanyak 1 ml larutan sampel dipindahkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 2 – 3 tetes larutan FeCl₃ 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam kebiruan atau hijau (Harborne, 2006).

3.8.6.3 Saponin

Sampel diambil sebanyak kurang lebih 1 ml dididihkan dengan 10 ml akuades dalam penangas air. Filtrat dikocok dan didiamkan selama 15 menit. Terbentuknya busa yang stabil (bertahan lama) menunjukkan positif terdapat saponin (Harborne, 2006).

3.8.7 Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi adalah suatu proses menghilangkan semua jenis organisme hidup seperti *ptozoa*, *fungi*, bakteri, *mycoplasma* atau virus yang terdapat pada suatu benda. Sterilisasi alat dan bahan dilakukan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Sterilisasi larutan uji dan

media dilakukan dalam wadah yang sesuai seperti erlenmeyer dengan mulut ditutup kapas dan dibungkus *aluminium foil* (Pratiwi, 2008).

3.8.8 Pembuatan Media

3.8.8.1 Pembuatan Media Nutrient Broth (NB)

Serbuk NB sebanyak 0,08 g dilarutkan dalam 10 ml akuades, kemudian dipanaskan sampai mendidih sehingga semuanya larut. Media disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit tekanan 15 psi. Media dituangkan kedalam tabung reaksi (Atlas, 2010).

3.8.8.2 Pembuatan Media *Manitol Salt Agar* (MSA)

Serbuk MSA sebanyak 1,08 g dilarutkan dalam 10 ml akuades, kemudian dipanaskan sampai mendidih sehingga semuanya larut. Media disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit tekanan 15 psi. Media dituangkan kedalam cawan petri dan dibiarkan mengeras (Atlas, 2010).

3.8.8.3 Pembuatan Media Nutrient Agar (NA)

Serbuk NA sebanyak 4,2 g dilarutkan dalam 210 ml akuades, kemudian dipanaskan sampai mendidih sehingga semuanya larut. Media disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit tekanan 15 psi. Media dituangkan kedalam cawan petri dan dibiarkan mengeras (Atlas, 2010).

3.8.9 Identifikasi *Staphylococcus aureus* dengan Media Diferensial MSA

Suspensi *Staphylococcus aureus* diinokulasi pada permukaan media MSA (*Manitol Salt Agar*), kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Radji, 2013). Koloni *Staphylococcus aureus* memiliki ciri – ciri bundar, halus, menonjol dan berkilau serta berwarna abu – abu sampai kuning emas tua (Dewi, 2013).

3.8.10 Pembuatan Suspensi Bakteri

Satu ose biakan bakteri *Staphylococcus aureus* disuspensikan ke dalam tabung berisi 5 ml media NB dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Suspensi bakteri tersebut diencerkan menggunakan NaCl 0,9% steril sampai kekeruhannya setara dengan larutan standart 0,5 Mc. Farland (biakan cair yang kekeruhannya setara dengan 0,5 Mc. $1,5 \times 10^8$ CFU/ml (Forbes *et al.*, 2007).

3.8.11 Pembuatan Formulasi Krim

Tabel III.1 Formula Standart Krim (Dermawan *et al.*, 2015)

Bahan	FI (%b/v)	FII (%b/v)	FIII (%b/v)
Ekstrak daun pacar air	10	20	30
Asam stearat	12	12	12
Setil alkohol	2	2	2
TEA	3	3	3
Gliserin	8	8	8
Metil paraben	0,2	0,2	0,2
Akuades	ad 100	ad 100	ad 100

Tabel III.2 Formula krim ekstrak daun kopi arabika(modifikasi)

Bahan	FI (%b/v)	FII (%b/v)	FIII (%b/v)
Ekstrak daun kopi arabika	10	20	30
Asam stearat	12	12	12
Setil alkohol	2	2	2
TEA	3	3	3
Gliserin	8	8	8
Metil paraben	0,2	0,2	0,2
Akuades	ad 100	ad 100	ad 100

3.8.12 Pembuatan Krim

Pembuatan krim dilakukan dengan menimbang masing-masing bahan yang akan digunakan. Fase minyak dibuat dengan cara melelehkan asam stearat dan setil alkohol dalam cawan porselen sambil diaduk-aduk hingga homogen pada suhu 70°C diatas penangas air. Fase air dibuat dengan cara melarutkan trietanolamin, gliserin, metil paraben, dan ekstrak daun kopi arabika dalam cawan porselen sambil diaduk-aduk diatas penangas air pada suhu 70°C. Akuades dipanaskan diatas penangas air pada suhu 70°C. Fase air dan ekstrak etanol daun kopi arabika dipindahkan ke dalam mortir panas dan ditambahkan fase minyak, dilakukan pengadukan pelan-pelan dan ditambahkan akuades sedikit demi sedikit hingga 100 ml. Campuran fase minyak dan fase air diaduk-aduk hingga dingin dan terbentuk masa krim yang homogen (Agral dkk., 2013). Formula tiap krim ekstrak daun kopi arabika diujikan karakteristik sifat fisika kimianya dan aktivitas antibakteri.

3.8.13 Evaluasi Krim

3.8.13.1 Uji Organoleptis

Pengamatan dilakukan secara visual dengan melihat bentuk, warna dan bau. Pengamatan ini dilakukan untuk mengetahui krim yang dibuat sesuai dengan warna dan bau ekstrak yang digunakan (Arifin, 2010).

3.8.13.2 Uji pH

Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan alat Indikator pH Universal, dan masing – masing formula direplikasi 3 kali. Indikator pH Universal dicelupkan kedalam sediaan krim dan dibiarkan beberapa detik, lalu warna pada kertas dibandingkan dengan pembanding pada kemasan (Wibowo, *et al.*, 2017). Nilai pH yang ideal bagi kulit adalah 4,5 – 6,5 (Budiman, 2008).

3.8.13.3 Uji Homogenitas

Pemeriksaan homogenitas dilakukan dengan menggunakan gelas objek caranya sejumlah tertentu sediaan dioleskan pada sekeping kaca atau bahan transparan lain yang cocok menghasilkan sediaan yang homogen dan tidak terlihat butiran - butiran kasar (Lubis,2012).

3.8.13.4 Uji Daya Sebar

Ditimbang sebanyak 0,5 g krim ekstrak etanol daun kopi arabika, kemudian diletakkan ditengah kaca bulat dan kaca yang satunya diletakkan diatas masa krim dibiarkan selama 1 menit. Diukur diameter krim yang menyebar. Setelah itu diulang dengan penambahan beban 50 g setiap 1 menit. Diameter sebaran krim diamati dan dicatat (Murrukmihadi, 2012).

3.8.13.5 Uji Daya Lekat

Ditimbang sebanyak 1 g krim ekstrak etanol daun kopi arabika diletakkan diatas gelas objek, kemudian gelas objek lain diletakkan diatas krim tersebut. Ditekan dengan beban 1 kg selama 5 menit. Dipasang gelas objek lain pada alat tes. Dilepas beban seberat 80 g, dicatat waktunya hingga kedua gelas objek terlepas (Rahmawati dkk., 2010).

3.8.13.6 Uji Daya Proteksi

Uji kemampuan proteksi dilakukan dengan menggunakan kertas saring (10x10cm) dibasahi dengan fenolftalein dan dikeringkan. Ditimbang krim

sebanyak 1 gram, dioleskan di atas kertas tersebut. Pada kertas saring yang lain dibuat satu area (2,5x2,5cm) dibuat pematang pada pinggir area tersebut dengan parafin padat yang dilelehkan. Ditempelkan kertas saring ini di atas kertas saring sebelumnya. Ditetaskan KOH 0,1 N pada area tersebut. Diamati pada waktu 15, 30, 45, 60 detik, 3 dan 5 menit. Jika tidak ada noda merah berarti krim memberikan proteksi yang baik (Alfath, 2012).

3.8.13.7 Uji Stabilitas Fisik

Uji stabilitas fisik krim dilakukan selama 2 minggu pada minggu ke-0, ke-1, ke-2 dengan penyimpanan pada suhu kamar (Soemari, 2016).

3.8.14 Uji Aktivitas Antibakteri Krim Daun Kopi Arabika

Uji aktivitas antibakteri krim ekstrak daun kopi arabika menggunakan metode difusi cakram. Disiapkan media yang telah diinokulasi dengan bakteri. Disiapkan dan disterilkan kertas cakram diameter 6 mm. Biakan murni bakteri *Staphylococcus aureus* diinokulasikan secara merata dengan cara mencelupkan ujung *cotton bud* steril dalam medium nutrient cair, dan mengoleskannya pada permukaan medium lempeng NA sampai rata. Kemudian kertas cakram steril diresapi dengan krim ekstrak daun kopi dari berbagai seri konsentrasi (10%, 20%, dan 30%) dan dibiarkan selama 25 menit. Selanjutnya meletakkan kertas cakram yang mengandung krim ekstrak daun kopi tersebut pada permukaan medium yang telah diinokulasi dengan *Staphylococcus aureus* secara aseptik (dengan menggunakan pinset steril). Cawan petri diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Diukur diameter zona hambat (Jayaprakash & Nagarajan, 2016). Kontrol positif yang digunakan adalah krim kloramfenikol, sedangkan kontrol negatifnya krim tanpa ekstrak (basis).

3.9 Jalan Penelitian

- Kelompok I : kontrol negatif, yaitu krim tanpa ekstrak
- Kelompok II : kontrol positif, yaitu krim kloramfenikol
- Kelompok III : kelompok uji, yaitu krim ekstrak daun kopi arabika 10%
- Kelompok IV : kelompok uji, yaitu krim ekstrak daun kopi arabika 20%
- Kelompok V : kelompok uji, yaitu krim ekstrak daun kopi arabika 30%

Penelitian ini dimulai dari determinasi tanaman kopi arabika dan selanjutnya dilakukan pembuatan simplisia serbuk dari 5 kg daun kopi arabika segar. Simplisia tersebut dilakukan uji kadar air dan susut pengeringan. Tahap selanjutnya dilakukan ekstraksi, sebanyak 500 g simplisia serbuk diekstraksi menggunakan metode soxhlet dengan pelarut etanol 70% dan diperoleh ekstrak daun kopi arabika. Ekstrak daun kopi arabika kemudian dilakukan uji bebas etanol, skrining fitokimia (flavonoid, tanin, dan saponin). Ekstrak daun kopi arabika selanjutnya dibuat dalam formulasi krim dengan variasi konsentrasi, yaitu 10%, 20%, dan 30%. Krim tersebut kemudian dilakukan evaluasi sediaan meliputi uji organoleptik, pH, homogenitas, daya sebar, daya lekat, daya proteksi, dan stabilitas. Uji aktivitas antibakteri krim ekstrak daun kopi arabika terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan menggunakan metode difusi cakram dan diperoleh daya hambat.

3.10 Replikasi Kelompok Penelitian

Jumlah replikasi perlakuan untuk tiap kelompok pada penelitian ini dapat dihitung menggunakan rumus : $p(n - 1) \geq 15$ dengan deskripsi p adalah jumlah perlakuan dosis dan n adalah jumlah pengulangan (replikasi) tiap kelompok. Penelitian ini menggunakan 5 jumlah perlakuan dosis (p). Berikut adalah perhitungan replikasi yang diperlukan dalam penelitian (Zatalini, 2017) :

$$5(n - 1) \geq 15$$

$$5n - 5 \geq 15$$

$$n \geq 20/5$$

$$n \geq 4$$

Hasil dari perhitungan replikasi, didapat n sebesar 4, sehingga replikasi yang dilakukan adalah sebanyak 4 kali untuk tiap kelompok perlakuan dalam penelitian.

3.11 Analisis Statistika

Data hasil penelitian aktivitas antibakteri krim ekstrak daun kopi arabika pada *Staphylococcus aureus* dianalisis menggunakan program SPSS 16 untuk

melihat apakah krim ekstrak daun kopi arabika mampu menghambat *Staphylococcus aureus*. Pengolahan data dapat dilakukan dengan tahapan sebagai berikut.

3.11.1 Uji Normalitas Data

Uji normalitas adalah uji untuk mengukur apakah data mempunyai distribusi normal, sehingga dapat digunakan dalam statistik parametrik. Penelitian ini menggunakan uji *Kolmogorov-smirnov* sebagai uji normalitas data.

Perumusan hipotesis :

H_0 : data berdistribusi normal

H_1 : data berdistribusi tidak normal

Pengambilan keputusan :

1) Jika $p > 0,05$; maka H_0 diterima

2) Jika $p \leq 0,05$; maka H_1 diterima

3.11.2 Uji Homogenitas

Uji homogenitas bertujuan untuk menguji kesamaan (homogenitas) beberapa sampel, yakni seragam tidaknya variasi sampel – sampel yang diambil dari populasi yang sama (Ghazali, 2011). Pengujian homogenitas dilakukan dengan menggunakan *levene statistic*.

Perumusan hipotesis :

H_0 : data yang didapat memiliki variansi yang sama atau homogen

H_1 : data yang didapat memiliki variansi yang tidak sama atau tidak homogen

Pengambilan keputusan :

1) Jika $p > 0,05$; maka H_0 diterima

2) Jika $p \leq 0,05$; maka H_1 diterima

3.11.3 Uji One Way Anova

Uji *One Way Anova* bertujuan untuk membedakan rata – rata sampel – sampel uji. Dalam penelitian *One Way Anova* digunakan untuk membuktikan bahwa perlakuan krim dengan variasi konsentrasi ekstrak berbeda dengan kontrol (krim tanpa ekstrak) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Perumusan hipotesis :

H_0 : Tidak ada pengaruh variasi konsentrasi ekstrak daun kopi arabika dalam krim terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

H_1 : Ada pengaruh variasi konsentrasi ekstrak daun kopi arabika dalam krim terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

Pengambilan keputusan :

- 1) Jika $p > 0,05$; maka H_0 diterima
- 2) Jika $p \leq 0,05$; maka H_1 diterima

3.11.4 Uji Korelasi

Uji korelasi ini digunakan untuk membuktikan hubungan yang signifikan antara variasi konsentrasi ekstrak daun kopi arabika dalam sediaan krim terhadap efek antibakteri yang dihasilkan. Pengujian korelasi ini menggunakan metode statistik *Spearman*.

Perumusan hipotesis :

H_0 : Tidak terdapat korelasi (hubungan) yang signifikan antara dosis ekstrak daun kopi arabika dalam sediaan krim terhadap efek antibakteri yang dihasilkan

H_1 : Terdapat korelasi (hubungan) yang signifikan antara dosis ekstrak daun kopi arabika dalam sediaan krim terhadap efek antibakteri yang dihasilkan

Pengambilan keputusan :

- 1) Jika $p > 0,05$; maka H_0 diterima
- 2) Jika $p \leq 0,05$; maka H_1 diterima

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman kopi arabika dilakukan di Materia Medika, Batu Malang. Hasil determinasi menunjukkan bahwa sampel yang digunakan adalah tanaman kopi arabika (*Coffea arabica* L.) dengan kunci determinasi sebagai berikut 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14b-16a-239b-243b-244b-248b-249b-250a-251a-252b-1b-3b-4b-5b-6b-7a-1b.

4.2 Uji Kadar Air Serbuk Simplisia

Tabel IV.1 Hasil uji kadar air simplisia serbuk *Coffea arabica* L.

Sampel	Bobot Awal	Bobot Akhir	% Hasil
Daun kopi arabika (<i>Coffea arabica</i> L.)	10,006 g	9,6 g	4,057%

$$\text{Rumus \% Kadar Air} = \frac{\text{Bobot awal} - \text{Bobot akhir}}{\text{Bobot awal}} \times 100\% \text{ (Depkes RI, 2000)}$$

Keterangan : Bobot awal = bobot simplisia sebelum dioven

Bobot akhir = bobot simplisia sesudah dioven

Syarat % Kadar Air < 10%

Pengujian kadar air dalam serbuk simplisia bertujuan untuk memberi batasan minimal atau rentang besarnya kandungan air di dalam bahan, terkait dengan kemurnian dan kontaminasi yang mungkin terjadi (Depkes RI, 2000). Hasil penelitian menunjukkan persentase kadar air *Coffea arabica* L. sebesar 4,057 %. Berdasarkan hasil tersebut, dapat disimpulkan bahwa kadar air dalam simplisia *Coffea arabica* L. sudah sesuai dengan persyaratan kadar air yang telah ditetapkan. Winarno (2002), menyatakan bahwa kadar air simplisia yang baik adalah kurang dari 10%. Semakin kecil kandungan air pada simplisia maka akan terhindar dari serangan mikroba selama penyimpanan dan semakin mudah pelarut untuk

mengekstrak senyawa aktif yang terkandung dalam simplisia karena tidak terhalang oleh air, sehingga akan diperoleh hasil rendemen yang lebih tinggi.

4.3 Hasil Pembuatan Ekstrak Daun Kopi Arabika

Tabel IV.2 Hasil uji susut pengeringan daun *Coffea arabica* L.

Sampel	Bobot Basah	Bobot Kering	Hasil
Daun kopi arabika (<i>Coffea arabica</i> L.)	5 kg	1,00 kg	20%

Tabel IV.3 Hasil rendemen ekstrak

Sampel	Bobot Simplisia	Bobot Ekstrak	Hasil
Daun kopi arabika (<i>Coffea arabica</i> L.)	500 g	10,90 g	2,18%

$$\text{Rumus \% Rendemen} : = \frac{\text{Bobot ekstrak}}{\text{Bobot simplisia}} \times 100\% \text{ (Depkes RI, 2000)}$$

Penetapan susut pengeringan dilakukan untuk mengetahui senyawa yang hilang selama proses pemanasan (tidak hanya menggambarkan air yang hilang, tetapi juga senyawa menguap yang lain hilang) (Saifuddin, dkk. 2011 : 69). Hasil penelitian menunjukkan persentase susut pengeringan *Coffea arabica* L. sebesar 20%. Hal tersebut menunjukkan jumlah senyawa yang menguap pada saat pemanasan sebesar 20%.

Rendemen adalah perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal (Armando, 2009). Hasil penelitian menunjukkan bahwa persentase rendemen ekstrak *Coffea arabica* L. sebesar 2,18%. Artinya setelah melalui proses ekstraksi, serbuk simplisia daun kopi arabika kehilangan berat sebesar 97,82%. Menurut Handayani (2016) hasil rendemen dipengaruhi oleh rasio bahan : pelarut yaitu 1 : 20. Semakin banyak pelarut yang ditambahkan dalam proses ekstraksi, maka kontak antara pelarut dan simplisia juga akan semakin besar sehingga berpotensi memaksimalkan hasil rendemen ekstrak.

4.4 Uji Bebas Etanol

Tabel IV.3 Hasil uji bebas etanol daun *Coffea arabica* L.

Sampel	Perlakuan	Hasil	Keterangan
Daun kopi arabika (<i>Coffea arabica</i> L.)	Asam asetat, asam sulfat, dipanaskan	+	Bebas etanol

Keterangan: (+) Tidak tercium bau ester



Gambar 4.1 Hasil uji bebas etanol daun *Coffea arabica* L.

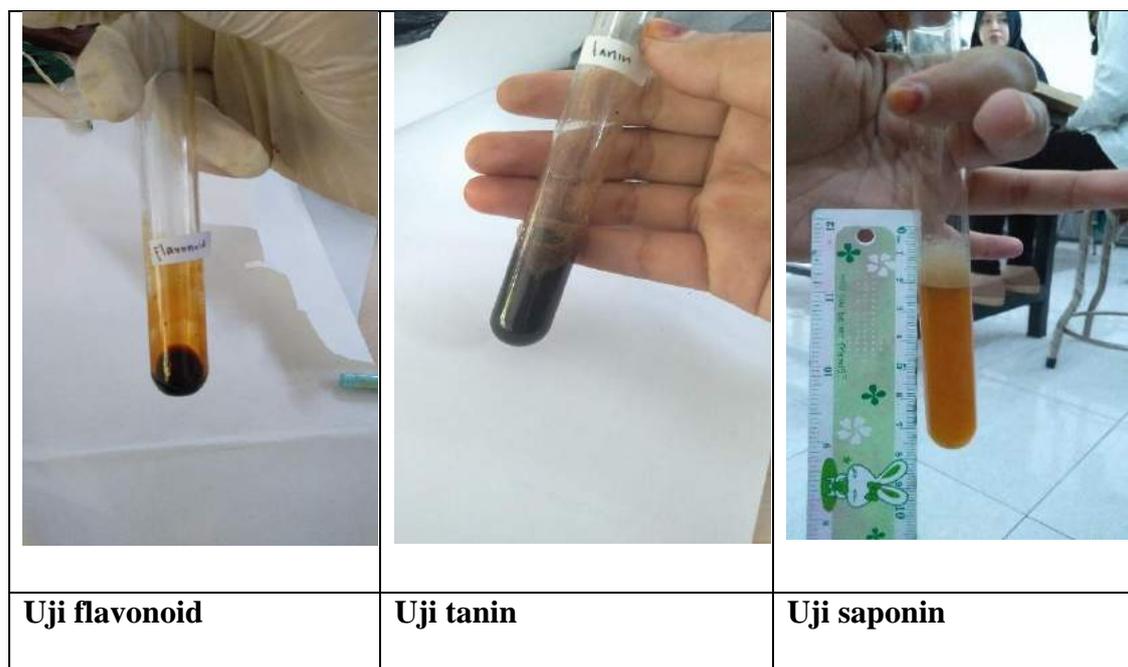
Uji bebas etanol dilakukan untuk membebaskan ekstrak dari etanol sehingga didapatkan ekstrak yang murni tanpa ada kontaminasi, selain itu etanol sendiri bersifat sebagai antibakteri dan antifungi sehingga tidak akan menimbulkan positif palsu pada perlakuan sampel (Kurniawati, 2015). Hasil uji bebas etanol ekstrak *Coffea arabica* L. menunjukkan bahwa ekstrak tersebut bebas etanol dengan ditandai tidak adanya bau ester (Depkes RI, 1995).

4.5 Skrining Fitokimia

Tabel IV.4 hasil skrining fitokimia daun *Coffea arabica* L.

Golongan Senyawa	Pereaksi	Perubahan Warna	Hasil
Flavonoid	Asam sulfat pekat	Jingga	+
Tanin	Etanol 70% + FeCl ₃ 1%	Hitam kehijauan	+
Saponin	Ekstrak + akuades	Terbentuk busa	+

Keterangan: (+) terdapat senyawa dan (-) tidak terdapat senyawa

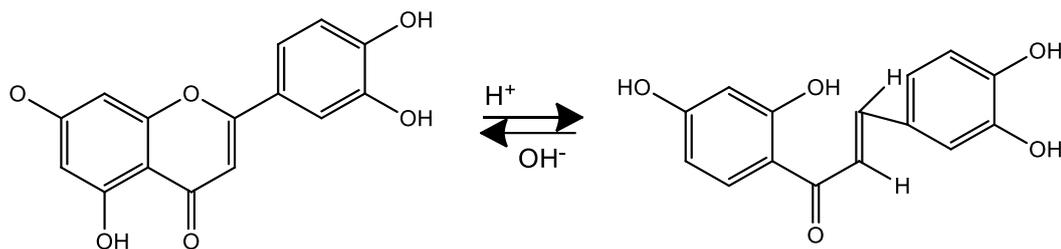


Gambar 4.2 Hasil uji skrining fitokimia daun *Coffea arabica* L.

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etanol 70% daun *Coffea arabica* L. sehingga dapat diketahui senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri. Pada skrining fitokimia ini, dilakukan uji golongan flavonoid, tanin dan saponin. Berdasarkan hasil uji fitokimia yang didapatkan, ekstrak terbukti positif mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid, tanin dan saponin. Hasil uji fitokimia yang didapatkan sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Retnaningtyas, dkk. (2016) yang menunjukkan bahwa daun kopi arabika mengandung senyawa flavonoid, tanin dan saponin (Wulandari, 2014).

4.5.1 Uji Flavonoid

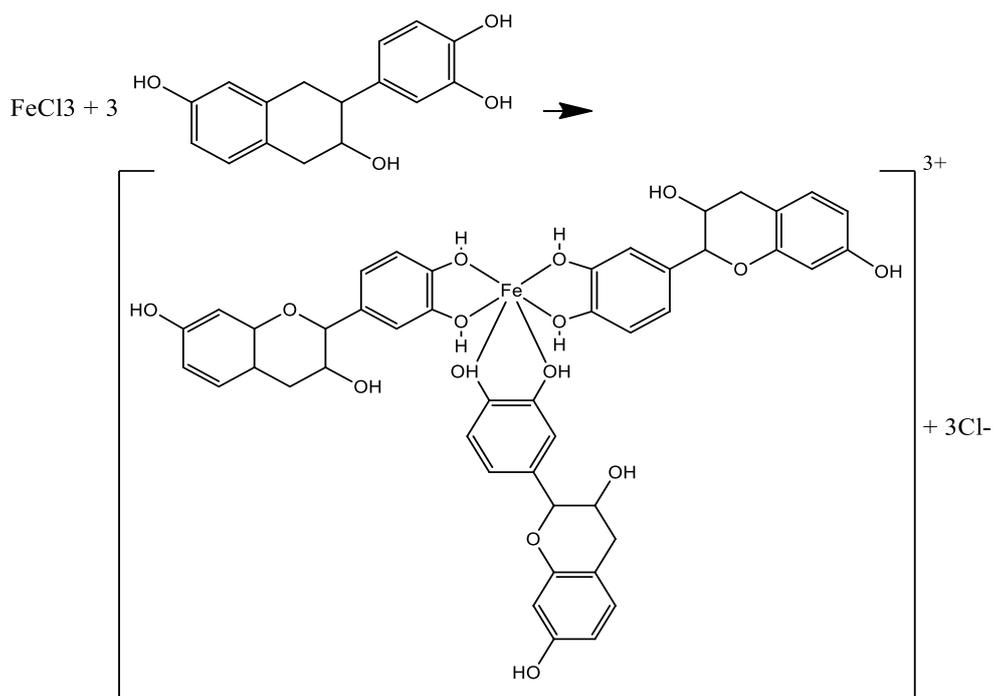
Ekstrak daun *Coffea arabica* L. positif mengandung flavonoid dibuktikan dengan terbentuknya warna jingga (Harbone, 1987). Penambahan asam sulfat pekat bertujuan untuk pembentukan senyawa flavonoid (pembentukan garam flavilium) dengan ditunjukkan nya perubahan warna jingga pada larutan.



Gambar 4.3 Reaksi Flavonoid dengan H₂SO₄(Kusnadi dan Devi, 2017)

4.5.2 Uji Tanin

Ekstrak daun *Coffea arabica* L. positif mengandung tanin dibuktikan dengan terbentuknya warna hitam kebiruan setelah ditambahkan dengan FeCl₃ (Harborne, 2006). Hal tersebut terjadi karena tanin mampu membentuk senyawa kompleks dengan ion Fe³⁺.

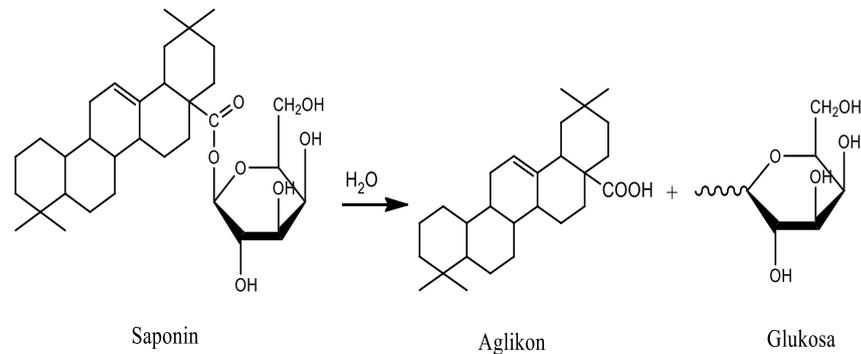


Gambar 4.4 Reaksi Tanin dengan FeCl₃(Ergina *et al.*, 2014)

4.5.3 Uji Saponin

Ekstrak daun *Coffea arabica* L. positif mengandung saponin dibuktikan dengan terbentuknya busa yang stabil (Harborne, 2006). Busa yang terbentuk

menunjukkan adanya glikosida yang mampu membentuk buih dalam air. Senyawa glikosida terhidrolisis menjadi glukosa dan aglikon (Samsumaharto, 2009).



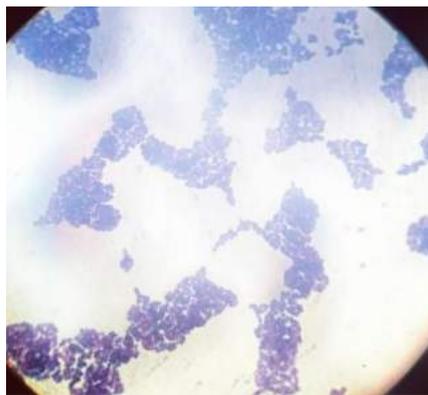
Gambar 4.5 Reaksi Saponin dengan air (Illing *et al.*, 2017)

4.6 Identifikasi *Staphylococcus aureus*

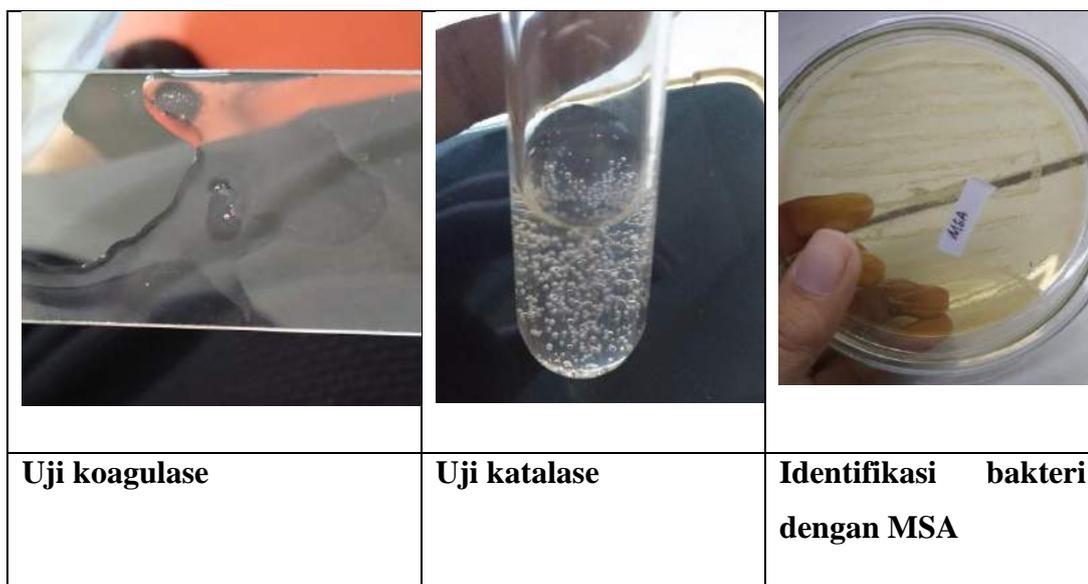
Tabel IV.5 Hasil uji identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus*

No.	Perlakuan	Hasil	Kesimpulan
1	Pewarnaan bakteri	Kokus ungu	+
2	Uji koagulase	Terbentuk koagulasi	+
3	Uji katalase	Warna putih	+
4	Identifikasi media MSA	Berwarna kuning keemasan	+

Keterangan: (+)= teridentifikasi sebagai *Staphylococcus aureus*



Gambar 4.6 Pewarnaan Bakteri



4.7 Gambar hasil uji identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus*

4.6.1 Uji Pewarnaan Gram

Identifikasi *Staphylococcus aureus* dilakukan dengan uji pewarnaan bakteri, uji koagulase, uji katalase dan identifikasi media MSA. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri yang diidentifikasi positif *Staphylococcus aureus* ditandai dengan terbentuk warna ungu dan bergerombol pada saat diidentifikasi dibawah mikroskop hal ini dikarenakan *Staphylococcus aureus* merupakan gram positif yang dapat mempertahankan warna ungu dari kristal violet sehingga sel bakteri *Staphylococcus aureus* akan terlihat berbentuk kokus berwarna ungu (gram positif), bergerombol seperti anggur atau terlihat hanya satu bakteri (Puspawati, dkk. 2017).

4.6.2 Uji Koagulase

Uji koagulase dikatakan positif *Staphylococcus aureus* ditandai dengan adanya *presipitat granuler* (terbentuk gumpalan) setelah ditetesi reagen NaCl fisiologis di atas kaca benda (Bruckler *et al.*, 1994). Uji koagulase bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri menghasilkan enzim koagulase. Koagulase merupakan protein ekstraseluler yang dihasilkan oleh *Staphylococcus aureus* yang dapat menggumpalkan plasma dengan bantuan faktor yang terdapat dalam serum.

Reaksi koagulase positif sangat penting untuk membedakan *Staphylococcus aureus* dengan spesies *staphylococcus* yang lain (Bruckler *et al.*, 1994).

4.6.3 Uji Katalase

Uji katalase pada bakteri berbentuk kokus bertujuan untuk membedakan antara *staphylococcus* dan *streptococcus*, dimana kelompok *staphylococcus* bersifat katalase positif. Katalase merupakan enzim yang mengkatalisa penguraian hidrogen peroksida menjadi H₂O dan O₂. Hidrogen peroksida bersifat toksik terhadap sel karena bahan ini menginaktifkan enzim dalam sel. Hidrogen peroksida terbentuk sewaktu metabolisme aerob, sehingga mikroorganisme yang tumbuh dalam lingkungan aerob pasti menguraikan bahan tersebut (Lay, 1994). Menurut Freney *et al.*, (1999) semua galur *staphylococcus* adalah katalase positif.

4.6.4 Identifikasi MSA

Identifikasi *Staphylococcus aureus* menggunakan *Manitol Salt Agar* (MSA) menunjukkan pertumbuhan koloni berwarna putih kekuningan dikelilingi zona kuning karena kemampuan memfermentasi mannitol. Menurut Austin (2006) Zona kuning menunjukkan adanya fermentasi mannitol, yaitu asam yang dihasilkan, menyebabkan perubahan phenol red pada agar yang berubah dari merah menjadi berwarna kuning.

4.7 Evaluasi Sediaan Krim

4.7.1 Uji Organoleptik

Tabel IV.6 Hasil uji organoleptik

Sampel	Hari ke-		
	0	7	14
Krim ekstrak 10%			
- Bentuk	Semisolid	Semisolid	Semisolid
- Warna	Coklat	Coklat	Coklat
- Bau	Khas	Khas	Khas
Krim ekstrak 20%			
- Bentuk	Semisolid	Semisolid	Semisolid
- Warna	Coklat	Coklat	Coklat
- Bau	Khas	Khas	Khas
Krim ekstrak 30%			
- Bentuk	Semisolid	Semisolid	Semisolid
- Warna	Coklat	Coklat	Coklat
- Bau	Khas	Khas	Khas
Krim tanpa ekstrak			
- Bentuk	Semisolid	Semisolid	Semisolid
- Warna	Putih	Putih	Putih
- Bau	Khas	Khas	Khas



Gambar 4.8 Uji Organoleptik

Uji organoleptis dimaksudkan untuk melihat tampilan fisik suatu sediaan yang meliputi bentuk, warna dan bau (Juwita, dkk. 2013). Berdasarkan hasil yang didapat bentuk sediaan berupa setengah padat, warna coklat sesuai dengan warna daun kopi dan bau yang dihasilkan adalah khas daun kopi. Hasil uji organoleptik

pada sediaan krim dengan konsentrasi ekstrak daun kopi 10% , 20% dan 30% menunjukkan bahwa selama waktu penyimpanan tidak mengalami perubahan dari bentuk, warna dan bau sediaan krim. Hal ini dikarenakan selama masa penyimpanan sediaan krim tersimpan dalam wadah yang tertutup rapat dan terlindung dari cahaya langsung.

4.7.2 Uji pH

Tabel IV.7 Hasil uji pH

Sampel	Hari ke-			Standart
	0	7	14	
Krim ekstrak 10%	5	5	5	4,5 – 6,5 (Budiman, 2008)
Krim ekstrak 20%	5	5	5	
Krim ekstrak 30%	5	5	5	
Krim tanpa ekstrak	5	5	5	



Gambar 4.9 Uji pH

Uji pH bertujuan untuk mengetahui keamanan sediaan krim saat digunakan sehingga tidak mengiritasi kulit. Hasil penelitian uji pH menunjukkan bahwa pH krim ekstrak daun kopi 10% , 20% dan 30% memenuhi kriteria yaitu 5. Nilai pH yang ideal bagi kulit adalah 4,5 – 6,5 (Budiman, 2008). Menurut Barel (2009) pH permukaan kulit merupakan faktor yang penting dalam pertumbuhan mikroba. Pada pH asam maka akan mengurangi pertumbuhan bakteri, sehingga dapat dinyatakan bahwa krim dengan konsentrasi ekstrak daun kopi 10% , 20% dan 30% memenuhi persyaratan yang sesuai dengan formula yang diinginkan.

4.7.3 Uji Homogenitas

Tabel IV.8 Hasil uji homogenitas

Sampel	Hari ke-			Standart
	0	7	14	
Krim ekstrak 10%	√	√	√	Homogen (Lubis, 2012)
Krim ekstrak 20%	√	√	√	
Krim ekstrak 30%	√	√	√	
Krim tanpa ekstrak	√	√	√	

Keterangan : √ = homogen



Gambar 4.10 Uji homogenitas

Uji homogenitas bertujuan untuk melihat dan mengetahui tercampurnya bahan-bahan sediaan krim. Hasil pemeriksaan homogenitas menunjukkan bahwa krim ekstrak daun kopi 10% , 20% dan 30% dan basis penyebaran warna dan pencampuran sediaan krim tetap merata, tidak memperlihatkan adanya butir - butir kasar pada saat sediaan dioleskan pada kaca transparan. Hal ini menunjukkan bahwa sediaan yang dibuat mempunyai susunan yang homogen (Depkes RI, 1985). Sediaan krim yang homogen mengindikasikan bahwa bahan - bahan yang digunakan dalam pembuatan krim tercampur sempurna. Suatu sediaan krim harus homogen dan terdistribusi merata agar tidak menyebabkan iritasi ketika dioleskan pada permukaan kulit.

4.7.4 Uji Daya Sebar

Tabel IV.9 Hasil uji daya sebar

Sampel	Hari ke-			Rata - rata	Standart
	0	7	14		
Krim ekstrak 10%	4,5 cm	4 cm	3,8 cm	4,1 cm	3-5 cm (Prastianto, 2016)
Krim ekstrak 20%	4,2 cm	3,7 cm	3,5 cm	3,8 cm	
Krim ekstrak 30%	3,8 cm	3,4 cm	3,2 cm	3,4 cm	
Krim tanpa ekstrak	4,9 cm	4,3 cm	4 cm	4,4 cm	



Gambar 4.11 Uji Daya Sebar

Uji daya sebar bertujuan untuk mengetahui luasnya penyebaran krim pada saat dioleskan di kulit, sehingga dapat dilihat kemudahan pengolesan sediaan ke kulit. Permukaan penyebaran yang dihasilkan dengan menaiknya pembebanan ditujukan untuk menggambarkan karakteristik daya sebar (Voight, 1994). Dimana luas permukaan yang dihasilkan berbanding lurus dengan kenaikan beban yang ditambahkan (Purwasari, 2013). Syarat uji daya sebar untuk sediaan topikal sekitar 3-5 cm (Prastianto, 2016).

4.7.5 Uji Daya Lekat

Tabel IV.10 Hasil uji daya lekat

Sampel	Hari ke-			Rata - rata	Standart
	0	7	14		
Krim ekstrak 10%	20,80 detik	27,15 detik	30,12 detik	26,02 detik	≥ 4 detik (Sugihartini, 2015)
Krim ekstrak 20%	51,12 detik	53,60 detik	58,00 detik	54,24 detik	
Krim ekstrak 30%	57,04 detik	62,00 detik	68,25 detik	62,43 detik	
Krim tanpa ekstrak	9,15 detik	10,00 detik	12,00 detik	10,38 detik	



Gambar 4.12 Uji Daya Lekat

Uji daya lekat bertujuan untuk mengetahui kemampuan krim melekat ketika dioleskan pada kulit. Semakin besar nilai daya lekat sediaan ketika diujikan maka, maka kemampuan melekat pada kulit semakin kuat dan absorpsi dikulit akan semakin lama. Daya lekat krim dipengaruhi oleh viskositas semakin tinggi viskositas maka semakin lama waktu melekat krim pada kulit. Syarat waktu daya lekat yang baik untuk sediaan topikal adalah tidak kurang dari 4 detik (Ulaen *et al.*, 2012).

4.7.6 Uji Daya Proteksi

Tabel IV.11 Hasil uji daya proteksi

Sampel	Hari ke-			Standart
	0	7	14	
Krim ekstrak 10%	√	√	√	Tidak
Krim ekstrak 20%	√	√	√	terbentuk noda
Krim ekstrak 30%	√	√	√	merah
Krim tanpa ekstrak	√	√	√	(Alfath, 2012)

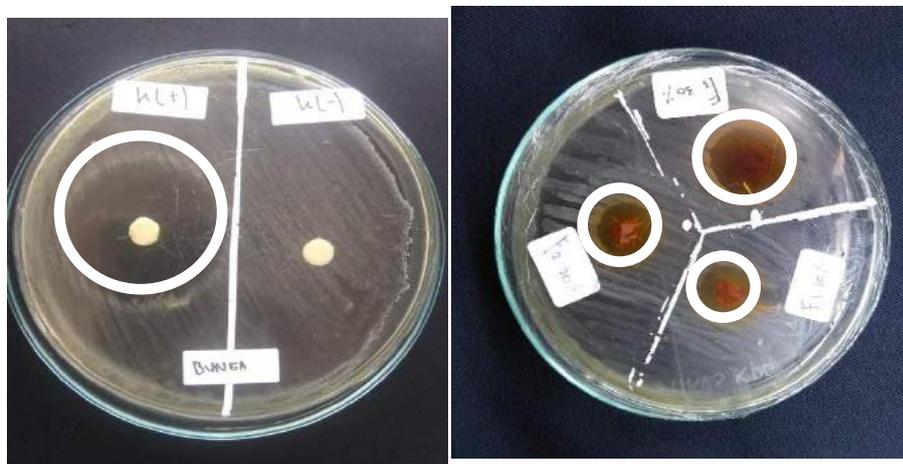
Keterangan : √ = tidak timbul noda merah



Gambar 4.13 Uji Daya Proteksi

Uji daya proteksi bertujuan untuk melihat kemampuan proteksi atau perlindungan dari lingkungan luar yang dapat mengurangi efektivitas sediaan krim. Hasil uji menunjukkan bahwa krim ekstrak daun kopi 10% , 20% dan 30% dan basis mampu memberikan proteksi terhadap lingkungan luar sehingga keefektifan dari krim tersebut lebih maksimal. Hal ini dibuktikan pada 5 menit uji, semua krim tidak menunjukkan adanya noda merah pada kertas saring (Erawati, dkk. 2015). Pada pengujian daya proteksi menggunakan KOH 0,1 N yang bersifat basa kuat dimana KOH 0,1 N mewakili zat yang dapat mempengaruhi efektivitas kerja krim terhadap kulit KOH 0,1 N akan bereaksi dengan phenoftalein yang akan membentuk warna merah muda, yang berarti krim tidak mampu memberikan proteksi terhadap pengaruh luar, sediaan krim yang baik mampu memberikan proteksi terhadap semua pengaruh luar yang ditandai dengan tidak munculnya noda merah pada kertas saring yang ditetesi dengan KOH 0,1 N dapat mempengaruhi efektivitas krim tersebut terhadap kulit.

4.8 Uji Aktivitas Antibakteri Krim Ekstrak Daun *Coffea arabica* L. terhadap *Staphylococcus aureus*



Gambar IV.14 Uji Aktivitas Antibakteri

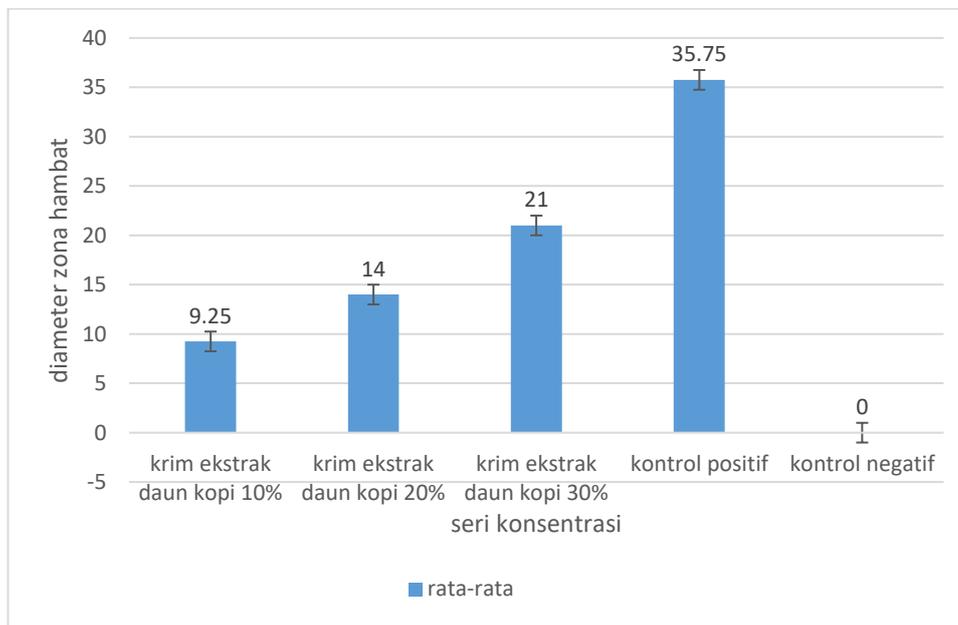
Pengujian aktivitas antibakteri secara *in vitro* dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung menggunakan metode difusi untuk mengetahui konsentrasi Hambatan Minimum (KHM) pertumbuhan dari biakan bakteri *Staphylococcus aureus*. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, krim ekstrak daun *Coffea arabica* L. dengan seri konsentrasi 10%, 20% dan 30% mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar kertas cakram yang artinya terdapat hambatan pertumbuhan mikroorganismenya oleh agen antibakteri pada permukaan media agar (Pratiwi, 2008). Pengukuran zona hambat dilakukan dengan mengukur area bening yang terbentuk di sekitar cakram kertas. Pengukuran zona hambat ini dilakukan menggunakan jangka sorong. Semakin besar atau luas zona hambat maka semakin besar aktivitas antibakterinya (Pratiwi, dkk. 2011). Aktivitas antibakteri yang ditunjukkan oleh krim ekstrak daun *Coffea arabica* L. ditimbulkan oleh kandungan metabolit sekunder yang bekerja secara sinergis, yaitu senyawa flavonoid, tanin dan saponin (Harborne, 2006). Hal tersebut sudah dibuktikan oleh penelitian Dogasaki *et al.*, (2002) bahwa daun kopi arabika memiliki aktivitas sebagai agen antibakteri.

Flavonoid sebagai antibakteri dapat membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler dan dinding sel bakteri, selain itu flavonoid bersifat lipofilik yang dapat merusak membran mikroba (Romano, dkk. 2013) . Senyawa tanin memiliki mekanisme kerja sebagai antibakteri, tanin bersifat astrigen (zat yang dapat menciutkan). Tanin mampu merusak membran sel dengan mengikat ion - ion logam seperti Cu dan Fe. Saponin sebagai antibakteri mengandung zat yang mampu menghemolisis sel darah (Lorent, 2014). Saponin bekerja dengan menurunkan tegangan permukaan, akibatnya permeabilitas sel akan naik atau mengalami kebocoran dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar secara difusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan sehingga mengakibatkan kematian sel (Ngajow et al., 2013).

Tabel IV.12 Hasil zona hambat krim antibakteri ekstrak daun kopi arabika terhadap *Staphylococcus aureus*

No.	Sampel	Diameter zona hambat (mm)				Rata-rata (mm)	SD
		I	II	III	IV		
1	Krim ekstrak daun kopi 10%	9	9	9	10	9,25	0,50
2	Krim ekstrak daun kopi 20%	14	14	15	13	14,00	0,82
3	Krim ekstrak daun kopi 30%	21	21	22	20	21,00	0,82
4	Kontrol positif	35	35	35	38	35,75	1,50
5	Kontrol negatif	-	-	-	-	-	-

Keterangan : (-) = tidak ada zona hambat



Gambar 4.15 Diagram distribusi rata - rata dan standar deviasi zona hambat krim ekstrak daun kopi arabika terhadap *Staphylococcus aureus*

Berdasarkan tabel IV.12 zona hambat yang dihasilkan oleh sediaan krim ekstrak daun *Coffea arabica* L. dengan seri konsentrasi 10%, 20% dan 30% lebih kecil dibandingkan dengan antibiotik krim kloramfenikol sebagai kontrol positif. Diameter zona hambat kloramfenikol terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* sangat kuat yaitu sebesar 35,75 mm. Kloramfenikol dipilih karena bersifat bakteriostatik. Kloramfenikol bekerja pada spektrum luas, efektif baik terhadap bakteri Gram positif maupun Gram negatif. Mekanisme kerja kloramfenikol sebagai antibakteri yaitu melalui penghambatan terhadap pembentukan ikatan peptida dan biosintesis protein pada siklus pemanjangan rantai asam amino, dengan cara mengikat sub unit ribosom 50-S sel mikroba target (Ganiswara, 1995). Kontrol negatif yang digunakan dalam penelitian ini yaitu basis krim, hasil uji antibakteri menunjukkan bahwa tidak terdapat zona hambatan terhadap *Staphylococcus aureus*, sehingga dapat dipastikan aktivitas antibakteri murni dari krim ekstrak daun *Coffea arabica* L.

Menurut Susanto *et al.*, (2012) ketentuan kekuatan antibakteri adalah sebagai berikut : daerah hambatan 21 mm atau lebih berarti sangat kuat, daerah

hambatan 11 – 20 mm berarti kuat, 6 – 10 mm berarti sedang dan daerah hambatan 5 mm atau kurang berarti lemah. Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa, krim ekstrak daun *Coffea arabica* L. konsentrasi 10% menunjukkan diameter zona hambat sebesar 9,25 mm kategori sedang, konsentrasi 20% menunjukkan diameter zona hambat sebesar 14,00 mm kategori kuat, konsentrasi 30% menunjukkan diameter zona hambat sebesar 21,00 mm kategori sangat kuat. Berdasarkan tabel terlihat bahwa dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak yang berarti semakin besar kadar bahan aktif yang berfungsi sebagai antibakteri, sehingga kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* juga semakin besar. Semakin tinggi konsentrasi antibakteri yang digunakan maka akan semakin cepat bakteri yang terbunuh (Pelczar dan Chan, 1988).

Gambar IV.14 menunjukkan diameter zona hambat krim ekstrak daun *Coffea arabica* L. dengan seri konsentrasi 10%, 20% dan 30% lebih kecil dibandingkan dengan zona hambat kontrol positif (krim kloramfenikol) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Hal ini menunjukkan bahwa kekuatan antibakteri pada krim ekstrak daun *Coffea arabica* L. lebih lemah dibandingkan dengan kloramfenikol. Pelczar dan Chan (1998) juga menjelaskan bahwa antimikroba yang baik adalah dalam keadaan konsentrasi yang rendah sudah mampu menghambat mikroorganisme. Bahan antimikroba bersifat menghambat bila digunakan dalam konsentrasi kecil, namun bila digunakan dalam konsentrasi tinggi dapat mematikan mikroorganisme (Lay, 1992). Sehingga untuk dapat diaplikasikan, perlu ditingkatkan konsentrasi ekstrak daun *Coffea arabica* L. agar dapat menyamai kemampuan antibiotik kloramfenikol dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

4.9 Analisis Statistika

Data hasil uji aktivitas antibakteri dari beberapa konsentrasi krim ekstrak daun *Coffea arabica* L. selanjutnya dilakukan analisis data statistik menggunakan program SPSS 16 dengan metode *one way anova* dan *spearman*. Analisa data

menggunakan *one way anova* dapat dilakukan setelah data melalui uji normalitas dan homogenitas, analisa ini digunakan untuk mengetahui bahwa terdapat perbedaan efek antibakteri yang signifikan atau tidak antar kelompok perlakuan. Sedangkan Uji *Spearman* dilakukan untuk mengetahui kekuatan hubungan antar perlakuan terhadap daya antibakteri.

4.9.1 Uji Normalitas Data

Dari hasil pengujian normalitas data daya hambat antibakteri dengan menggunakan Uji *Kolmogorov-smirnov* didapatkan hasil nilai $p = 0,725$ ($p > 0,05$). Data berdistribusi normal bila nilai $p > 0,05$. Sehingga dapat dikatakan bahwa data tersebut berdistribusi normal

Tabel IV.13 Hasil uji normalitas data

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test			
		daya_hambat	seri_konsentrasi
N		20	20
Normal Parameters ^a	Mean	16.00	3.00
	Std. Deviation	12.342	1.451
Most Extreme Differences	Absolute	.138	.155
	Positive	.132	.155
	Negative	-.138	-.155
Kolmogorov-Smirnov Z		.618	.692
Asymp. Sig. (2-tailed)		.840	.725

4.9.2 Uji Homogenitas Data

Dari hasil pengujian homogenitas data daya hambat antibakteri dengan menggunakan Uji *Levene-statistic* didapatkan hasil nilai $p = 0,83$ ($p > 0,05$) yang berarti data memiliki varian yang homogen.

Tabel IV.14 Hasil uji homogenitas data

daya_hambat		
Levene Statistic	df1	df2
2.540	4	15

4.9.3 Uji *One Way Anova*

Dari penilaian distribusi data untuk daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* didapatkan hasil bahwa data bersifat normal dan homogen. Sehingga pengujian uji beda untuk data daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan dengan menggunakan uji *one way anova*. Hasil pengujian statistik dengan menggunakan *one way anova*, didapatkan nilai $p = 0,000$. Oleh karena nilai $p < 0,05$, maka dapat diartikan bahwa terdapat perbedaan efek antibakteri yang signifikan antar kelompok perlakuan.

Tabel IV.15 Hasil uji *one way anova*

ANOVA					
daya_hambat					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2882.500	4	720.625	939.946	.000
Within Groups	11.500	15	.767		
Total	2894.000	19			

Tabel IV.16 Hasil uji Homogeneous

daya_hambat						
Tukey HSD						
Subset for alpha = 0.05						
seri_konsentrasi	N	1	2	3	4	5
kontrol negatif	4	.00				
krim ekstrak 10%	4		9.25			
krim ekstrak 20%	4			14.00		
krim ekstrak 30%	4				21.00	
kontrol positif	4					35.75
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Tabel Homogeneous dalam penelitian ini digunakan untuk mengetahui zona hambat yang dihasilkan oleh krim ekstrak daun kopi arabika dari berbagai konsentrasi sudah setara (tidak berbeda) atau belum (berbeda) dengan krim antibiotik pembanding yaitu kloramfenikol. Dari Tabel IV.16 menunjukkan bahwa semua krim ekstrak daun kopi yang diujikan, sampai dengan dosis 30% belum setara dengan zona hambat krim kloramfenikol 2%, ditunjukkan dari tidak ada satupun perlakuan yang ada dalam satu kolom yang bersama kloramfenikol. Hal ini dapat terjadi karena, untuk menyetarakan zona hambat dengan krim kloramfenikol dibutuhkan konsentrasi ekstrak daun kopi arabika dalam krim yang lebih tinggi. Kloramfenikol merupakan senyawa sintesis yang dengan konsentrasi sedikit sudah dapat menghasilkan zona hambat yang besar dan krim ekstrak daun kopi arabika masih mengandung beberapa senyawa lain yang dapat mempengaruhi kemampuan agen antibakterinya.

Untuk mengetahui konsentrasi ekstrak daun kopi dalam sediaan krim yang memiliki zona hambat setara (tidak berbeda) dengan kontrol positif (Kloramfenikol), maka dapat dilakukan uji statistik regresi linier dengan rumus regresi sebagai berikut, $Y = a+bX$, dimana $Y =$ diameter zona hambat kloramfenikol dan $X =$ konsentrasi ekstrak daun kopi, sedangkan a dan b dapat diperoleh dari nilai hasil uji regresi linier (Sentana, 2010).

4.9.4 Uji Korelasi

Untuk kelompok data yang terdistribusi normal dilakukan analisis korelasi menggunakan *Spearman*. Hasil analisis uji *Spearman* yaitu nilai $p = 0,000$ ($p < 0,05$), hal ini menunjukkan terdapat korelasi (hubungan) yang signifikan antara dosis ekstrak daun *Coffea arabica* L. dalam sediaan krim terhadap efek antibakteri yang dihasilkan. Sedangkan nilai korelasi *Spearman* yang dihasilkan yaitu sebesar 0,963 yang berarti dosis ekstrak daun *Coffea arabica* L. dalam krim berhubungan secara positif dengan daya antibakteri yang dihasilkan, dapat dikatakan jika semakin besar dosis ekstrak daun *Coffea arabica* L. dalam krim maka semakin besar pula daya antibakteri yang dihasilkan.

Tabel IV.17 Hasil uji korelasi

Correlations

		seri_konsentrasi	daya_hambat
Spearman's rho	seri_konsentrasi	Correlation Coefficient	1.000
		Sig. (2-tailed)	.977**
		N	20
	daya_hambat	Correlation Coefficient	.977**
		Sig. (2-tailed)	1.000
		N	.000
		N	16

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa :

1. Krim ekstrak daun kopi arabika dengan konsentrasi 10%, 20%, 30% mampu menurunkan jumlah koloni *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*.
2. Krim ekstrak daun kopi arabika sampai dengan konsentrasi 30% belum setara dengan krim kloramfenikol 2% dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*.
3. Krim ekstrak daun kopi arabika dengan konsentrasi 10%, 20%, 30% stabil selama penyimpanan.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan pengujian aktivitas antibakteri krim ekstrak daun kopi sampai didapat konsentrasi krim ekstrak yang setara (tidak berbeda) dengan kloramfenikol.
2. Perlu dilakukan pengujian stabilitas krim ekstrak daun kopi arabika dalam penyimpanan yang lebih lama.
3. Perlu dilakukan pengujian aktivitas antibakteri krim ekstrak daun kopi arabika menggunakan metode pengujian antibakteri yang lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Agoes, G. 2007. *Teknologi Bahan Alam*. Bandung : ITB. Hal : 21, 26 – 27.
- Agral, O., Fatimawali., Yamlean, P., & Sri Supriati, H., 2013, Formulasi Uji Kelayakan Sediaan Krim Anti Inflamasi Getah Tanaman Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli* L), *Pharmacon*, Vol. 2 No. 03.
- Ahadi, M. R. 2003. Kandungan Tanin Terkondensasi dan Laju Dekomposisi pada Serasah Daun *Rhizospora mucronata lamk* pada Ekosistem Tambak Tumpangsari, Purwakarta, Jawa Barat. Skripsi. Institut Pertanian Bogor, Bogor .
- Alfath, A.R., Formulasi Krim Etanol Buah Mahkota Dewa (*Phaleria Macrocarpa* (Scheff) Boerl.) dengan Basis A/M dan M/A, Skripsi, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta Hal 7.
- Anggraeni, Mega Ayu. 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kopi Arabika (*Coffea Arabica* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. Akademi Analis Farmasi dan Makanan Putra donesia Malang. Dosen Pembimbing : Dra Wigang Solandjari.
- Anief, M. (2000). *Ilmu Meracik Obat Teori dan Praktek*. Cetakan ke 9. Yogyakarta: Penerbit Gajah Mada University-Press.
- Anwar. 2012. *Buku mikrobiologi kedokteran*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Arifin. 1994 dalam Yulian Primanita. 2010. *Proses Produksi Teh Hitam* (Laporan Magang). Surakarta : Fakultas Pertanian. Universitas Sebelas Maret.
- Armando, R. Memproduksi 15 Minyak Atsiri Berkualitas. Jakarta: Penerbit Penebar Swadaya. 2009. Hal:71.
- Atlas, R. M., 2010. *Handbook of Microbiological Media 4th Ed. Washington, D. C.:* CRC Press. Hal: 636, 1301, 1313.
- Austin, T.X. (2010) *Manitol salt agar. Austin Community College District*. http://www.austincc.edu/microbugz/html/mannitol_salt_agar.html. (13-07-2019).
- Badan Standardisasi Nasional. 2008. SNI 2897 : 2008 Metode Pengujian Cemaran Mikroba dalam Daging, Telur, dan Susu, serta Hasil Olahannya.
- Balouiri, M., Sadiki, M. & Ibnsouda, S.K., 2016. *Methods for In Vitro Evaluating Antimicrobial Activity: A review. Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6, pp. 71-79.
- Bappenas, 1993. *Biodiversity Action Plan for Indonesia*. Final Draft.
- Barel, A., Paye, M., Maibach, H. 2009. *Handbook of Cosmetic Science and Technology*, 3rd Edition. New York: *Informa Healthcare USA*, 323-358.

- BPOM, 2014. Peraturan Kepala Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 12 Tahun 2014 Tentang Persyaratan Mutu Obat Tradisional. BPOM RI: Jakarta
- Brooks, G. F., Butel, J.S., & Morse, S.A. 2008. Jawetz, Melnick, & Adelberg *Mikrobiologi Kedokteran Terjemahan Edisi Ke-23*. Jakarta : EGC.
- Bruckler, J., Schwarz, S. and F. Untermann, F. (1994) *Staphylokokken-infektionen und –enterotoxine, band. II/1, In: Blobel, H. und Schlie ? er (Eds.), Handbuch der bakteriellen Infektionen bei Tieren, 2. Auflage.* Gustav Fischer Verlag Jena, Stuttgart.
- Budiman, H. 2012. *Prospek Tinggi Bertanam Kopi Pedoman Meningkatkan Kualitas Perkebunan Kopi*. Pustaka Baru Press. Yogyakarta.
- Budiman, Muhammad Haqqi. 2008. Uji Stabilitas Fisik dan Aktivitas Antioksidan Sediaan Krim yang Mengandung Serbuk Ekstrak Tomat (*Solanum lycopersicum L.*). Skripsi FMIPA Universitas Indonesia.
- Cartensen, Jens T. dan Christopher Rhodes. 2000. *Drug Stability Principles and Practices* Third Edition. United State : CRC Press
- Chastelyna, A.J. 2016. Uji Aktivitas Sabun Cair Ekstrak Daun Jati (*Tectona grandis L.f*) sebagai Antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang.
- Clark MA, Finkel R, Rey JA, Whalen K. 2012. Lippincott’s Illustrated Reviews : Pharmacology. 5th Edition. Philadelphia(US): Lippincott Wililams and Wilkins
- Deaville, E. R., D. I. Givens, & I. Mueller-Harvey. 2010. *Chesnut and Mimosa tannin silages: Effect in sheep differ for apparent digestibility, nitrogen utilization and losses*. Anim. Feed Sci. Technol. 157: 129-138.
- Departemen Kesehatan RI, 1979. *Farmakope Indonesia* (Edisi IV). Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan.
- Departemen Kesehatan RI, 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI, 2000. *Parameter Standart Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Diktorat Jendral POM-Depkes RI.
- Departemen Kesehatan RI. 1986. *Sediaan Galenik, 2 & 10*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Departemen Kesehatan, RI. 1995. *Farmakope Indonesia*. Edisi IV. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta

- Dermawan, A.M., Pratiwi, L. dan Kusharyanti, I., 2015. *Anti Acne Cream Effectivity of Methanol Extract of Impatiens Balsamina Linn. Leaves. Traditional Medicine Journal*, 20 (3), Pp. 127 – 33.
- Desyntia, D. 2012. *Sehat Dengan Secangkir Kopi*. Surabaya: Stomata
- Dewi, K. D., 2013. Isolasi, Identifikasi dan Uji Sensitivitas *Staphylococcus aureus* terhadap Amoxicillin dari Sampel Susu Kambing Peranakan Ettawa (PE) Penderita Mastitis di Wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta. *Jurnal Sain Veteriner* ISSN: 0126 – 0421. Hal: 138-150.
- Ditjen POM, 1979. *Farmakope Indonesia*. Edisi III. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hal : 15, 746, 748.
- Ditjen POM, 1995. *Farmakope Indonesia*. Edisi IV. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Djajadisastra, J., A. Mun'im, dan Dessy. N.P. 2009. *Formulasi Gel Topikal dari Ekstrak Nerii Folium Dalam Sediaan Anti Jerawat. Jurnal Farmasi Indonesia*.4(4):210-216.
- Dogasaki, C., T. Sindo, K. Furuhashi, dan M. Fukuyama. 2002. *Identification of chemical structure of antibacterial components against legionella pneumophila in a coffee beverage*. *Yakugaku Zasshi*. 122(7) : 487 – 494.
- dos Santos MD, Almeida MC, Lopes NP, de Souza GE. 2006. *Evaluation of the antiinflammatory, analgesic and antipyretic activities of the natural polyphenol chlorogenic acid*. *Biological & pharmaceutical bulletin*. 29(11):2236–40
- Drlica K, Perlman DS. 2011. *Antibiotic Resistance Understanding and Responding to An Emerging Crisis*. New Jersey(USA): FT Press.
- Emilan, T., Kurnia, A., Utami, B., Liliek, ND., dan Maulana, A., 2011, *Konsep Herbal Indonesia : Pemastian Mutu Produk Herbal*, Universitas Indonesia, Depok.
- Ergina, Nuryanti, S. Dan Puspitasari, I.D., 2014. *Qualitative Test of Secondary Metabolites Compounds in Palado Leaves (Agave Angustifolia) Extracted with Water and Ethanol*. *Jurnal Akademika Kimia*, 3 (3), pp. 165-72.
- Ersam, T. 2004. *Keunggulan biodiversitas hutan tropika Indonesia dalam merencanakan model molekul alami*. Prosiding Seminar Nasional Kimia VI. ITS Surabaya.
- Ery Erawati, Dina Pratiwi, Mohammad Zaky. 2015. Pengembangan Formulasi dan Evaluasi Fisik Sediaan Krim Ekstrak Etanol 70% daun Labu Siam (*Sechium edule* (Jacq.)Swatz). *Farmagazine* Vol. 3 No. 1

- Faradiba. 2011. Formulasi salep ekstrak dietil eter daging buah pare (*Momordica charantia* L.) dengan berbagai variasi basis. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, 15(1):40-46.
- Fardiaz, S. (1993) . *Analisis Mikrobiologi Pangan*. PT Prasindo Persada. Jakarta.
- Farhaty, N. 2017. Tinjauan kimia dan aspek farmakologi senyawa asam klorogenat pada biji kopi : review. *Farmaka*. 14 (3) : 1 – 19.
- Foster, T.J., Geoghegan, J.A., Ganesh, V.K., Hook, M., 2014. *Adhesion, invasion and evasion: the many functions of the surface proteins of Staphylococcus aureus*. *Nature Reviews Microbiology*, 12 (1), 49-62.
- Frazier, W.C., 1978. *Food Microbiology*. Third Edition. Mc Graw Hill Book Company, New York.
- Freney, J., Kioos, W.E., Hajek., and Webster, J.A. (1999) *Recommended minimal standard for description of new Staphylococcal species*. *Int. J. Syst. Bacterio*. 49: 489-502.
- Ganiswara, S. G., 1995, *Farmakologi dan Terapi*, Edisi IV, Bagian Farmakologi, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.
- Garg. A., D. Aggarwal, S. Garg, andk A.K. Sigla 2002. *Spreading of Semisolid Formulation.An Update Pharmaceutical Technology*. September ; 84 – 102.
- Ghazali, I., 2011. Aplikasi Analisis Multivariate dengan Program SPSS19. Semarang; BP Universitas Diponegoro. Hal: 74.
- Goldman E and LH Green. 2009. *Practical Handbook of Microbiology Second Edition*. Amerika Serikat : Penerbit CRC
- Guenther, E, 1987. *Minyak Atsiri*. Diterjemahkan oleh R.S. Ketaren dan R. Mulyono. Jakarta, UI Press.
- Handa, S.S., Khanuja, S.P.S., Longo, G., Rakes, D.D., 2008. *Extractin Techonologies for Medicinal and Aromatic Plans*. Trieste: International Centre for Science and High Technology, p.21.
- Handayani, S. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Rambai Laut (*Sonneratia caseolaris* L. Engl) [KTI]. Samarinda: Akademi Farmasi Samarinda; 2016.
- Harbone, J.B. 1996. Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan (*Phytochemical Methods*). Penerjemah:. Padmawinata, K. dan I.Soedino. Edisi ke-2. Bandung: Penerbit ITB
- Harborne J.B. 1987. Metode Fitokimia. Edisi ke-2. Padmawinata K, Soediro I, penerjemah. Bandung: Institut Teknologi Bandung. Terjemahan dari: *Phytochemical Methods*.

- Harborne, J.B., 2006, *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Edisi ke-2, ITB, Bandung.
- Hargono, D., 1986. *Sediaan Galenik*. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan (BPOM), Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Hariana, A. 2005. *Tumbuhan obat dan khasiatnya*. Seri I. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Higdon, J. V dan B. Frei. 2006. *Coffee and health : a review of recent human research. Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 46 (2) : 101 – 123.
- Hiwot, H. 2011. *Growth and Physiological Response of Two Coffea Arabica L. Population under High and Low Irradiance*. Thesis. Addis Ababa University
- Hudakova, J., Marcincakova, D., and Legath, J., 2016, *Study of Antioxidant Effect Types of Coffe*, Journal Vol.60, Department of Pharmacology and Toxicology, University of Veterinary Medicine and Pharmacy.
- Illing, I., Safitri, W., Erfiana. 2017. Uji Fitokimia Ekstrak Buah Dengan. *Jurnal Dinamika* hal 66-84. P-ISSN : 2087-889. E-ISSN: 2503-4863.
- Indartiyah, N. 2012. Direktorat Budidaya dan Pasca Panen Sayuran dan tanaman Obat. Direktorat Jenderal Holtikultural. Kementerian Pertanian RI. Jakarta.
- Istiqomah. 2013. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi Terhadap Kadar Piperin Buah Cabe Jawa. Skripsi. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Jawetz, E., Melnick, J. L., dan Adelberg, E. A., 2005, *Mikrobiologi Kedokteran*, 315-326, 352-360, Penerbit Salemba Medika, Jakarta
- Jayaprakash, S.B & Nagarajan, N., 2016. *Studies on the Bioactivate Compounds abd Antimicrobial Activities of Medicinal Plant Centella asiatica (Linn.)Journal of Medicinical Plants Studies*, 4 (5), pp. 181 – 85.
- Joshita, 2008, *Obat-obat Untuk Paramedis*, UI Press, Jakarta.
- Juwita, A. P., Yamlean P., Edy H. J. (2013) Formulasi Krim Ekstrak Etanol Daun Lamun (*Syngodium isoetifolium*). Skripsi, Universitas Sam Ratulangi
- Kondo, M., K. Kita, & H. Yokota. 2004. *Feeding value to goats of whole crop oat ensiled with green tea waste*. Anim. Feed. Sci. Technol. 113: 71-81.
- Kristanti, A.N., Aminah, N. S., Tanjung, M. & Kurniadi, B., 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Airlangga University Press. Hal: 10, 19, 48, 54

- Kurniawati, Evi. 2015. Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Tunas Bambu Apus terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* secara *In Vitro*. *Jurnal Wiyata*, Vol. 2 No. 2. Hal. 193-199.
- Kushalappa, A.C. (1989). Introduction. In A.C. Kushalappa & A.B. Eskes (eds). *Coffee rust: epidemiology, resistance and management*. Boca Raton, CRC .p. 13-80.
- Kusnadi, K., Devi, E.T., 2017. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid pada Ekstrak Daun Seledri (*Apium graveolens L.*) dengan Metode Refluks. *Pancasila Science Education Journal* 2 (1) 56-67.
- Kusumaningtyas E., Widiati R. dan Gholib D. 2008. Uji daya hambat ekstrak dan krim ekstrak daun sirih (*Piper betle*) terhadap *C. albicans* dan *Trichophyton mentagrophytes*. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Yogyakarta 11-10 Maret 2008.
- Lachman, L., Lieberman H. A., Kanig, J. L., 1994, *Teori dan Praktek Farmasi Industri*, diterjemahkan oleh Siti Suyatmi, edisi III, 1091-1096, Universitas Indonesia, Jakarta.
- Lay, B. W. (1994) *Analisis Mikroba di Laboratorium*. PT Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Leboffe MJ dan BE Pierce. 2011. *A Photographic Atlas for the Microbiology Laboratory 4th Edition*. Amerika Serikat : Morton Publishing Company.
- Lorent, J. H., Quetin-Leclercq, J., & Mingeot-Leclercq, M. 2014. *The Amphiphilic Nature of Saponins and Their Effects on Artificial and Biological Membranes and Potential Consequences for Red Blood and Cancer Cells*. *Org. Biomol. Chem.* 12(44)
- Lubis, E.S& Reveny, J., 2012. *Pelembab Kulit Alami Dari Sari Buah Jeruk Bali [Citrus maxima (Burm.) Osbeck] Natural Skin Moisturizer From Pomelo Juice [Citrus maxima (Burm.) Osbeck]*. *Journal of Pharmaceutics and Pharmacology*, 1(2), pp.104–111.
- Manoi F dan Balitro. 2009. Binahong (*Anredera cordifolia*) Sebagai Obat. Bogor: Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan.
- Manoi, Feri. 2006. *Pengaruh Cara Pengeringan Terhadap Mutu Simplisia Sambiloto*. Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik. *Bul. Littro*. Vol. XVII No. 1, 2006, 1 – 5.
- Marcelinda, A., Ridhay, A., & Prismawirayanti, (2016). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Limbah Kulit Ari Biji Kopi Berdasarkan Tingkat Kepolaran Pelarut. *Online Jurnal of Natural Science*, Vol. 5, 21 – 23.
- Markham, K.R. 1998. *Cara mengidentifikasi flavonoid*. Bandung : Penerbit ITB

- Martaleni, 2007. Deteksi Residu Antibiotik pada Karkas, Organ dan Kaki Ayam Pedaging yang di Peroleh dari Pasar Tradisional Kapupaten Tangerang. Tesis. Institut Pertanian Bogor.
- Maulida D. dan Naufal Z. 2010. Ekstraksi Antioksidan (Likopen) Dari Buah Tomat Dengan Menggunakan Solvent Campuran, N-heksana, Aseton dan Etanol. Skripsi S1 (Tidak dipublikasikan). Universitas Diponegoro.
- Melnick J, Adelberg's. *Medical microbiology*. 26th ed. New York: Mc Graw Hill education 2013: 199-201.
- Miller, L.G., Eells, S.J., Taylor, A.R., David, M.Z., Ortiz, N., Zychowski, D., Kumar, N., Cruz, D., Boyle-Vavra, S., dan Daum, R.S., 2012. *Staphylococcus aureus* colonization among household contacts of patients with skin infections: risk factors, strain discordance, and complex ecology. *Clinical Infectious Diseases*, 54 (11), 1523-1558.
- Morton, C., A. L. Klatsky, dan N. Udaltsova. 2004. *Smoking, coffee, and pancreatitis. American Journal of Gastroenterology*. 99 (4) : 731 – 738.
- Munawaroh, Safaatul dan Prima Astuti handayani. 2010. Ekstraksi Minyak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix D.C.*) Dengan Pelarut Etanol dan N-Heksana. Semarang: Program Studi Teknik Kimia, Universitas Negeri Semarang. *Jurnal Kompetensi Teknik* Vol. 2, No.1
- Murukmihadi Mimik, Rizki Ananda, Tri Utami Handayani. 2012. Pengaruh Penambahan Carbomer 934 dan Setil Alkohol sebagai Emulgator dalam Sediaan Krim Ekstrak Etanolik Bunga Kembang Sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis L.*) terhadap Sifat Fisik dan Aktivitas Antibakteri pada *Stapylococcus aureus*. Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.
- Ncube NS, Afolayan AJ, Okoh AI. *Assessment techniques of antimicrobial properties of natural compounds of plant origin: current methods and future trends.African Journal of Biotechnology* 2008; 7 (12).
- Ngajow, Mercy, Jemmy Abidjulu, Vanda S. Kamu. 2013. Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara *In Vitro*. *Jurnal MIPA UNSRAT* 128-132
- Olthof, M. R., P. C. H. Hollman, dan M. B. Katan. 2001. *Human nutrition and metabolism chlorogenic acid and caffeic acid are absorbed in humans 1. J. Nutr.* 131 (September 2000) : 66 – 71.
- Panggabean, E. 2011. *Buku Pintar Kopi*. Jakarta : PT. AgroMedia Pustaka.
- Panji L, Yuliani S, 2005. *Teknologi Ekstraksi Minyak Nilam* . BB Pasca panen

- Pelczar, M. J. Jr, and Chan, E. C. S. (1998) *Dasar-Dasar Mikrobiologi 2*. Cetakan 1. Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta.
- Pelczar, M.J. dan E.C.S. Chan, 1986, Penerjemah, Ratna Siri Hadioetomo. *Dasar-Dasar Mikrobiologi 1*. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Poedjiadi, Anna dan Titin Supriyanti. 2006. *Dasar-dasar biokimia*. Jakarta: UI press.
- Prasetyo dan Entang, 2013. *Pengelolaan Budidaya Tanaman Obat – Obatan (Bahan Simplisia)*, Badan Penerbitan Fakultas Pertanian UNIB, Bengkulu.
- Prastowo, B., E. Karmawati, Rubijo, Siswanto, C. Indrawanto, dan S.J. Munarso. 2010. *Budidaya dan Pasca Panen Kopi*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan. Bogor. 70 hlm.
- Pratiwi, R.S., Tjiptasurasa, Retno Wahyuningrum. 2011. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kayu Nangka (*Artocarpus heterophylla* Lmk.) terhadap *Bacillus subtilis* dan *Echerichia coli*. PHARMACY, Vol.08 No. 03
- Pratiwi, S. T., 2008, *Mikrobiologi Farmasi*, Yogyakarta, Erlangga.
- Public Health England. 2014. *UK Standards for Microbiology Investigations Identification of Staphylococcus species, Micrococcus species and Rothia species*.
- Purwasari, C. (2013). Perbandingan Konsentrasi Lemak Kakao Dan Minyak Kelapa Murni Sebagai Basis Sediaan *Hand And Body Lotion* Ekstrak Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl). Surakarta. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret.
- Puspawati, R., Adirestuti, P., & Abdulbasith, A. (2017). Deteksi *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella* pada Jajanan Sirup. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 3 (1), 26-33, 2017, 3 (1), 26-33.
- Rabima dan Marshall, 2017. Uji Stabilitas Formulasi Sediaan Krim Antioksidan Ekstrak Etanol 70% dari Biji Melinjo (*Gnetum gnemon* L.). Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta. *Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal*. Vol.2, No.1, ISSN Online: 2502-8421.
- Radji, M., 2013. *Buku Ajar Mikrobiologi* Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran. Jakarta : EGC.
- Radydjencole, 2011. Indonesia Penghasil Kopi Terbesar ke-3 Dunia. Diakses pada tanggal 30 September 2018 dari <http://forum.detik.com/indonesia-penghasil-kopi-terbesar-ke-3-dunia-t292411.html> dalam Jurnal Analisis Kadar Kafein Kopi Luwak dengan Variasi Jenis Kopi, Spesies Luwak dan Cara Pengolahan dengan Metoda TLC Scanner.

- Rahmawati, D., Sukmawati, A. & Indrayudha, P., 2010. Formulasi Krim Minyak Atsiri Rimpang Temu Giring (*Curcuma heyneana Val & Zijp*) : Uji Sifat Fisik dan Daya Antijamur terhadap *Candida albicans* secara *In Vitro*, *Majalah Obat Tradisional*, 15 (2), 56 – 63.
- Retnaningtyas, Y., and Setiadi, Y., 2016. *Study of Antioxidant Activity Combination of Arabica Coffe Leaf Ethanol Extract and Roselle Flower Petal Water Extract*, Department of Chemistry Faculty of Pharmacy Jember, hal 62 – 65
- Retnaningtyas, Y., N. Kristiningrum, H.D Renggani, N.P. Narindra. 2015. Karakterisasi Simplisia dan Teh Herbal Daun Kopi Arabika (*Coffea arabica*). Fakultas Farmasi Universitas Jember.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Senyawa Organik Tumbuhan Tinggi*. Terjemahan oleh Kosasih Padmawinata. Bandung: Penerbit ITB
- Robinson, T., 1991. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Edisi keenam, diterjemahkan oleh Kosasih, Padmawinata, ITB, Bandung.
- Romano, B., Pagano, E., Montanaro, V., Fortunato, A. L., Milic, N., & Borrelli, F. 2013. *Novel Insights into the Pharmacology of Flavonoids*. *Phytother. Res. Phytotherapy Research* 27(11)
- Rowe, R.C., Sheskey, P.J & Quinn, M.E., 2009. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. 6th ed. UK: *Pharmaceutical Press*. Hal: 110, 441, 592, 596
- Rubiyo. 2013. *Majalah Semi Populer Tanaman Industri dan Penyegar*. Sukabumi : Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan.
- Saifudin A, Rahayu V, Teruna HY. 2011. *Standardisasi bahan obat bahan alam*. Yogyakarta. Graha Ilmu.
- Salgado, P. R., Favarin, J. L., Leandro, R. A., & Filho, O. F, L. 2008. *Total Phenol Concentrations in Coffee Tree Leaves during Fruit Development*. *Scientia and Agricola*, 65 (4) : 354-359.
- Samsumaharto, R.A., dan Yustina, E.N.I.S., 2009, Uji aktivitas antibakteri Ekstrak n-Heksan , Etil asetat, dan Etanol 70% Daun Rosella (*Hibiscus sabdariffa L.*) Terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Jurnal Penelitian*, Fakultas Ilmu Kesehatan dan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.
- Sapri, Fitriani, A., Narulita, R., 2014. Pengaruh Ukuran Serbuk Simplisia terhadap Rendemen Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata L.*) dengan Metode Maserasi. *Akademi Farmasi Samarinda. Prosiding Seminar Nasional Kimia 2014 HKI-Kaltim ISBN: 978-602-19421-0-9*
- Schwartz, J. Dan S. T. Weiss. 1992. *Caffeine intake and asthma symphoms*.

- Setiabudi, R., 2007, *Pengantar Antimikroba*., dalam Gunawan, S.G., Setiabudy, R.,
- Sentana, O.M, Haryati, S., Mariyah, Y. 2011. Efek Anthelmintik Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocinum americanum*) terhadap Kematian *Ascaris suum* secara *in vitro*. *Biofarmasi*. Vol. 9, No 1, Hal. 1 – 6. ISSN : 1693-2242.
- Sharp, S. E. and Cidy, S. (2006) *Comparison of mannitol salt Agar and blood agar plates for identification and susceptibility testing of Staphylococcus aureus in specimens from cystic fibrosis patients*. *J. Clin. Microbiol.* 44(12):4545-4546
- Soemari, Y.B., Astuti, Tri, Rochman N., 2016. Formulasi Sediaan Salep Ekstrak Etanol Daun Alpukat (*Persea americana mill.*) sebagai Antiacne. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 2(2), 224-232. ISSN cetakk. 2443-115x ISSN elektronik. 2477-1821.
- Sugiyati, R., Iskandarsyah & Djajadisastra, I., 2015. Formulasi dan Uji Penetrasi *In Vitro* Sediaan Gel Transfersom Mengandung Kafein sebagai Antiselulit. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 13(2), pp.131-36.
- Sugiyono, 2013. *Metode Penelitian Kuantitatif Kualitatif dan R&D*. Bandung: Alfabeta. Hal: 60-64.
- Sujarweni, V. W., 2012. *SPSS untuk Paramedis*. Yogyakarta: Gava Medika. Hal: 16 – 17, 31 – 35, 141 – 146.
- Sulaiman, T. N. S., dan Kuswahyuning, R., 2008, *Teknologi dan Formulasi Sediaan Semipadat*, 33, 54-57, 81, 97-101, 110-112, 137-143, *Pustaka Laboratorium Teknologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta*..
- Susanto, Sudrajat, & R. Ruga. (2012). Studi Kandungan Bahan Aktif Tumbuhan Meranti Merah (*Shorea leprosula Miq*) sebagai sumber senyawa antibakteri. *Mulawarman Scientifie*, 11(12), 181–190.
- Syahrurachman, A., Chatim, A. Dan Kurniawati, A., 1994. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi Revisi, Binarupa Aksara, Jakarta.
- Syamsuni, H.A., 2007. *Ilmu Resep*. Jakarta : EGC. Hal 243-249
- Tenover, 2006, *Mechanisms of Antimicrobial Resistance in Bacteria*, *The American Journal of Medicine*, 119 (6), 3-10.
- The Departement of Health British, 2009. *British Pharmacopoeia* 15th edition. London : British Pharmacopoeia Commission.
- Tim Karya Tani Mandiri. 2010. *Pedomana Budidaya Tanaman Kopi*. CV. Nuansa Aulia. Bandung.

- Tiwari, P. Kumar, B. Kaur, M. Kaur, G. Kaur, H. 2011. *Phytochemical screening and Extraction: A Review Internationale Pharmaceutica Scientia*. Vol. 1 Issue 1.
- Tjay, T.H dan Rahardja, K. 2015, *Obat-Obat Penting*. Edisi Ketujuh. Jakarta : Penerbit Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Tortora, G.J., Funke B.R., Case C.L. 2001. *Microbiology, an Introduction*. 7th edition. USA : Addison Wesley Longman Inc. P. 20, 311-313, 440-445, 562, 692-775.
- Ulaen, Selfie P.J., Banne, Yos Suatan & Ririn A. (2012). Pembuatan Salep Anti Jerawat dari Ekstrak Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza Roxb.*), *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 3(20, 45 -49.
- Vadas, E.B. 2010. *Stability of Pharmaceutical Products. The Science and Practice of Pharmacy* Vol.1 : 988-989
- Voight Rudolf, 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Gadjah Mada University Press : Yogyakarta.
- Wachjar, A. 1984. *Pengantar Budidaya Kopi*. Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor. 76 hal.
- Waluyo, L., 2007. *Mikrobiologi Umum*. UPT Penerbita UMM. Malang.
- Winarno, FG. 2002. *Kimia Pangan dan Gizi*. Gramedia. Jakarta.
- Wulandari, A., 2014. *Aktivitas Antioksidan Kombucha Daun Kopi (Coffea arabica) Dengan Variasi Lama Waktu Fermentasi Dan Konsentrasi Ekstrak*, Skripsi, Fakultas Keguruan Dan Ilmu Pendidikan Universitas Muhammadiyah Surakarta
- Yamin, S. & Kurniawan, H., 2014. *SPSS Complete Teknik Analisis Terlengkap dengan Software SPSS*. Jakarta: Salemba Infotek.
- Yudani, Tri. 2012. Uji Efek Antimikroba Ekstrak Etanol Biji Pare (*Momordica charantia*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Shigella dysenteriae* secara *In Vitro*. Malang : Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya
- Yukawa, G. S., M. Mune, H. Otani, Y. Tone, X. M. Liang, H. Iwahashi, dan W. Sakamoto. 2004. *Effects of coffe consumption on oxidative susceptibility of low density lipoproteins and serum lipid levels in humans*. 69(1) : 70 – 74.
- Zatalini, D.F. 2017. *Formulasi dan Aktivitas Gel HPMC-Kitosan terhadap Proses Penyembuhan Luka Bakar Derajat IIA pada Tikus Putih (Rottus norvegicus) Galur Wistar*. Skripsi. FKIK UIN Malang.
- Zhang, L.J., Guerrero-Juarez, C.F., Hata, T., Bapat, S.P., Ramos, R., Plikus, M.V., Gallo, R.L., 2015. *Dermal adipocytes protect against invasive Staphylococcus aureus skin infection*. *Science*, 347 (6217), 67-71.

Lampiran 1 Hasil Determinasi Tanaman Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.)



PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT MATERIA MEDICA BATU
Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396
KOTA BATU 65313

Nomor : 074/387A/102.7/2018
Sifat : Biasa
Perihal : Determinasi Tanaman Kopi Arabika

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : BUNGA NANDA RAHMANTIKA
NIM : 1513206001
Fakultas : S-1 FARMASI, STIKES KARYA PUTRA BANGSA TULUNGAGUNG

1. Perihal determinasi tanaman kopi arabika

Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas : Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
Sub Kelas : Asteridae
Ordo : Rubiales
Famili : Rubiaceae (suku kopi-kopian)
Genus : Coffea
Spesies : *Coffea arabica* L.
Nama umum : Kopi arabika.
Kunci Determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14b-16a-239b-243b-244b-248b-249b-250a-251a-252b-1b-3b-4b-5b-6b-7a-1b

2. Morfologi : Habitus: Perdu, tinggi 2-3 m. Batang: Tegak, bulat, percabangan monopodial, permukaan kasar, kuning kotor. Daun: Tunggal, berhadapan, lonjong, tepi rata, ujung meruncing, pangkat tumpul, panjang 8-15 cm, lebar 4-7 cm, bertangkai pendek, hijau, pertulangan menyirip, permukaan daun berlekuk-lekuk jelas, hijau, pangkal daun bentuk taji. Bunga: Majemuk, bentuk payung, di ketiak daun, kelopak lonjong, lima helai, panjang ± 3 mm, hijau, tangkai benang sari berlekatan membentuk tabung, panjang ± 8 mm, putih, tangkai putik menjulang keluar tabung, putih, mahkota bentuk bintang, lima helai, panjang 7-9 mm, putih. Buah: Batu, bulat telur, diameter 0.5-1 cm, masih muda hijau setelah tua merah. Biji: Bentuk ½ bola, salah satu permukaan beralur, panjang 0.5-1 cm, putih kehijauan. Akar: Tunggang, kuning muda.

3. Nama Simplisia : Coffeae Folium / Daun Kopi Arabika.

4. Kandungan Kimia : Daun, buah dan akar mengandung saponin, flavonoida dan polifenol.

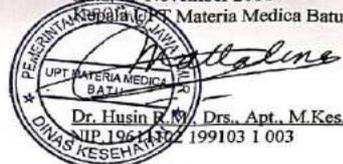
5. Penggunaan : Penelitian.

6. Daftar Pustaka

- Syamsuhidayat, Sri Sugati dan Hutapea, Johny Ria. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia 1*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Badan Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan.
- Van Steenis, CGGJ. 2008. *FLORA: untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.

Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 29 November 2018



Lampiran 2 Dokumentasi Penelitian

1. *Coffea arabica* L.



Daun *Coffea arabica* L.



Tumbuhan *Coffea arabica* L.

2. Pembuatan Simplisia *Coffea arabica* L.

	
<p>Pengambilan <i>Coffea arabica</i> L.folium</p>	<p>Pencucian <i>Coffea arabica</i> L.folium dengan air mengalir</p>
	
<p>Pengeringan</p>	<p>Sortasi Kering</p>
	
<p>Pengecilan ukuran partikel</p>	<p>Simplisia <i>Coffea arabica</i> L.folium</p>



Pengayakan serbuk simplisia

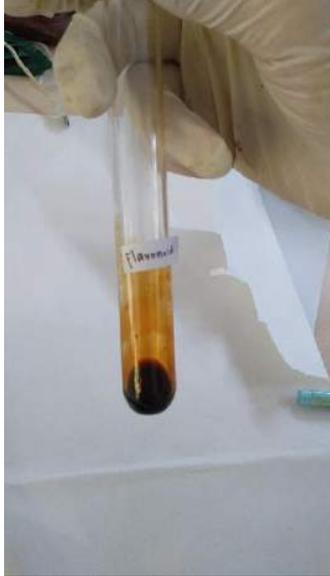


**Soxhletasi *Coffea arabica* L.
*Folium***



**Ekstrak kering *Coffea arabica* L.
*folium***

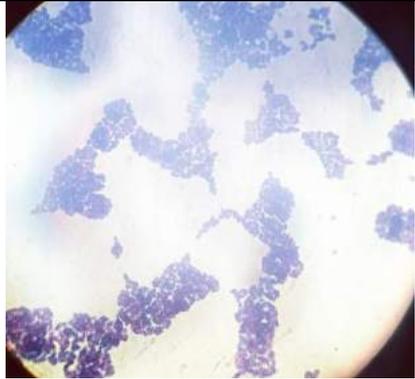
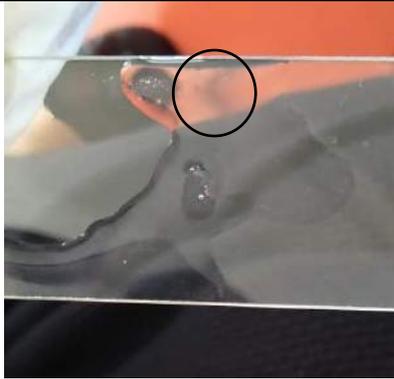
3. Skrining Fitokimia *Coffea arabica* L.

	
<p>Uji Bebas Etanol</p>	<p>Uji Flavonoid</p>
	
<p>Uji Tanin</p>	<p>Uji Saponin</p>

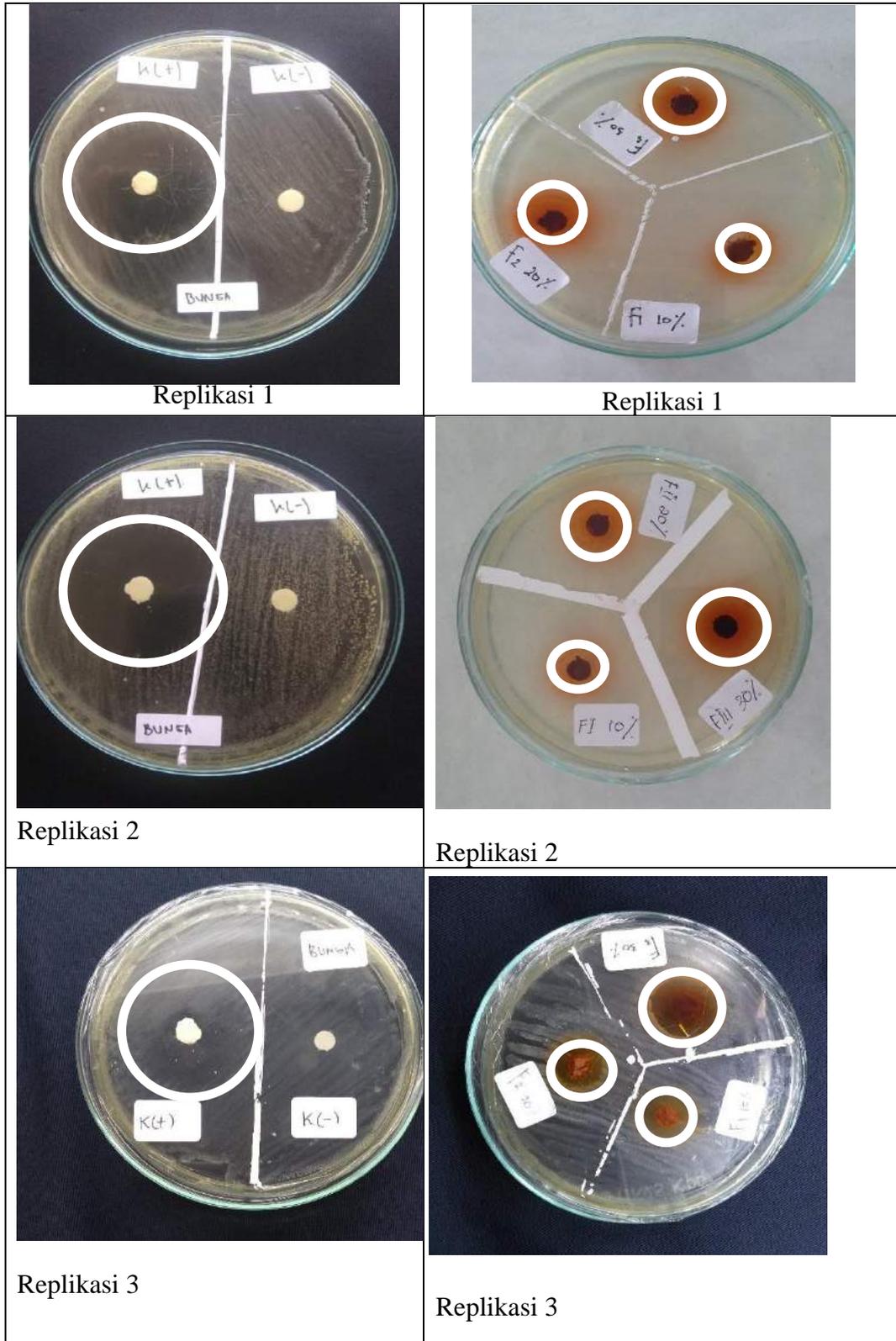
4. Pembuatan Suspensi Bakteri

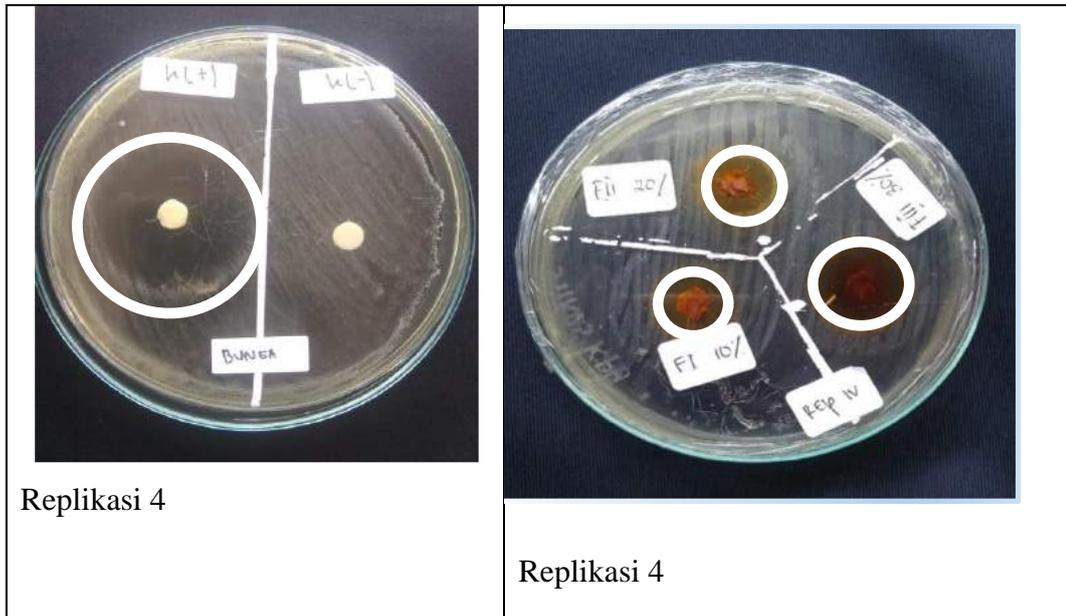
	
<p>0,5 Mc Farland</p>	<p>Spektrofotometri suspensi <i>Staphylococcus aureus</i></p>

5. Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus*

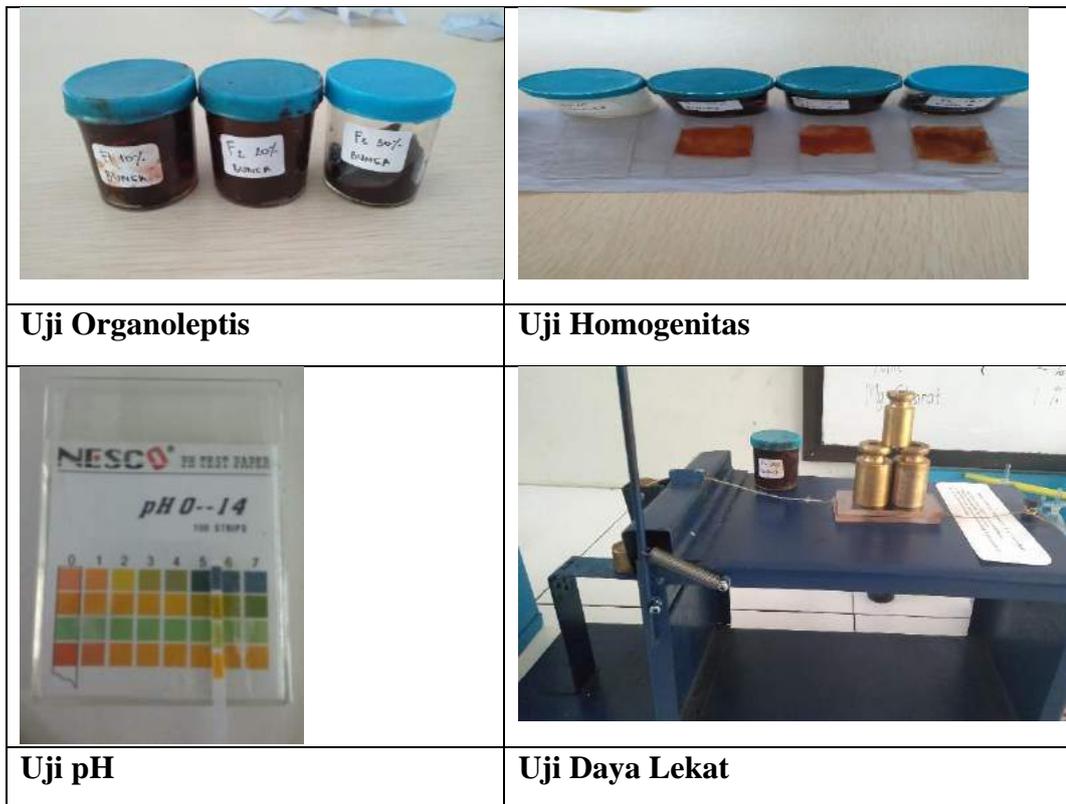
	
<p>Pewarnaan Bakteri</p>	<p>Uji Koagulase</p>
	
<p>Uji Katalase</p>	<p>Media MSA</p>

6. Uji Aktivitas Antibakteri Krim Ekstrak Daun Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.) terhadap *Staphylococcus aureus*





7. Evaluasi Krim Ekstrak Daun Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.)



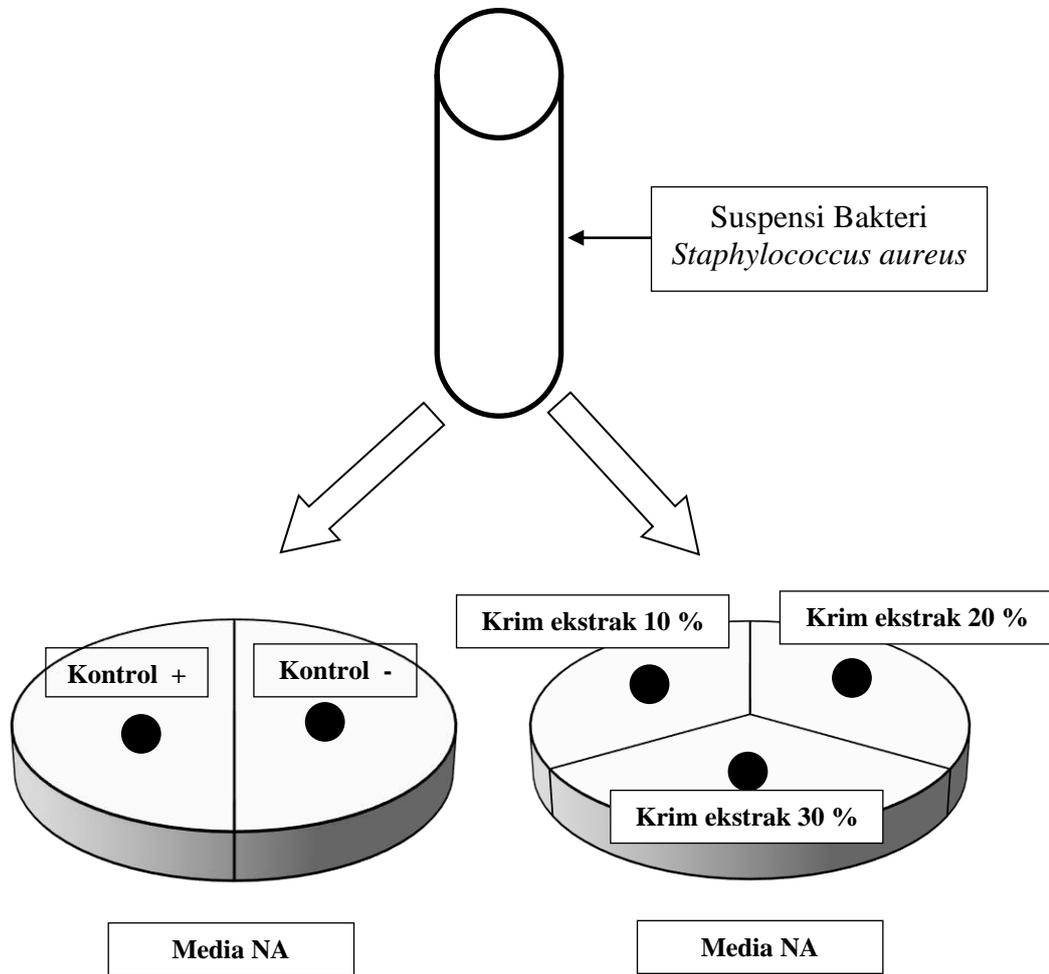


Uji Daya Sebar



Uji Daya Proteksi

Lampiran 3. Kerangka Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Difusi Cakram



Lampiran 4. Perhitungan Pembuatan Media Pertumbuhan Bakteri

1. Pembuatan Media *Nutrient Broth* (NB)

$$\begin{aligned}\text{Gram} &= \frac{Mr}{1000} \times \text{Volume} \\ &= \frac{8}{1000} \times 10 \text{ ml} \\ &= 0,08 \text{ g}\end{aligned}$$

2. Pembuatan Media *Manitol Salt Agar* (MSA)

$$\begin{aligned}\text{Gram} &= \frac{Mr}{1000} \times \text{Volume} \\ &= \frac{108}{1000} \times 10 \text{ ml} \\ &= 1,08 \text{ g}\end{aligned}$$

3. Pembuatan Media *Nutrient Agar* (NA)

$$\begin{aligned}\text{Gram} &= \frac{Mr}{1000} \times \text{Volume} \\ &= \frac{20}{1000} \times 10 \text{ ml} \\ &= 0,2 \text{ g}\end{aligned}$$

Lampiran 5. Perhitungan Hasil

1. Penetapan Kadar Air Simplisia Daun *Coffea arabica* L.

Sampel	Bobot Awal	Bobot Akhir
Daun kopi arabika (<i>Coffea arabica</i> L.)	10,006 g	9,6 g

$$\text{Rumus \% Kadar Air} = \frac{\text{Bobot awal} - \text{Bobot akhir}}{\text{Bobot awal}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar air (\%)} &= \frac{10,006 \text{ g} - 9,6 \text{ g}}{10,006 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 4,057 \% \end{aligned}$$

2. Susut Pengeringan Daun *Coffea arabica* L.

Sampel	Bobot Basah	Bobot Kering
Daun kopi arabika (<i>Coffea arabica</i> L.)	5kg	1kg

$$\text{Rumus \% Susut pengeringan} = \frac{\text{Bobot daun kering}}{\text{Bobot daun basah}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \text{Susut pengeringan (\%)} &= \frac{1 \text{ kg}}{5 \text{ kg}} \times 100\% \\ &= 20\% \end{aligned}$$

3. Rendemen Daun *Coffea arabica* L.

Sampel	Bobot Simplisia	Bobot Ekstrak
Daun kopi arabika (<i>Coffea arabica</i> L.)	500 g	10,90 g

$$\text{Rumus \% Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak}}{\text{Bobot simplisia}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \text{Rendemen (\%)} &= \frac{10,90 \text{ g}}{500 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 2,18 \% \end{aligned}$$

Lampiran 6. Formulasi dan Perhitungan Bahan Sediaan Krim

1. Krim Ekstrak Daun Kopi 10%

$$\begin{aligned}\text{Ekstrak 10\%} &= \frac{10}{100} \times 25 \text{ g} \\ &= 2,5 \text{ g}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Asam stearat} &= \frac{12}{100} \times 25 \text{ g} \\ &= 3 \text{ g}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Setil alkohol} &= \frac{2}{100} \times 25 \text{ g} \\ &= 0,5 \text{ g}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{TEA} &= \frac{3}{100} \times 25 \text{ g} \\ &= 0,75 \text{ g}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Gliserin} &= \frac{8}{100} \times 25 \text{ g} \\ &= 2 \text{ g}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Metil paraben} &= \frac{0,2}{100} \times 25 \text{ g} \\ &= 0,05 \text{ g}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Aquadestilata} &= 25 - (2,5 + 3 + 0,5 + 0,75 + 2 + 0,05) \\ &= 16,2 \text{ ml}\end{aligned}$$

2. Krim Ekstrak Daun Kopi 20%

$$\begin{aligned}\text{Ekstrak 10\%} &= \frac{20}{100} \times 25 \text{ g} \\ &= 5 \text{ g}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Asam stearat} &= \frac{12}{100} \times 25 \text{ g} \\ &= 3 \text{ g}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Setil alkohol} &= \frac{2}{100} \times 25 \text{ g} \\ &= 0,5 \text{ g}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{TEA} &= \frac{3}{100} \times 25 \text{ g} \\ &= 0,75 \text{ g}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Gliserin} &= \frac{8}{100} \times 25 \text{ g} \\ &= 2 \text{ g}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Metil paraben} &= \frac{0,2}{100} \times 25 \text{ g} \\ &= 0,05 \text{ g}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Aquadestilata} &= 25 - (5 + 3 + 0,5 + 0,75 + 2 + 0,05) \\ &= 13,7 \text{ ml}\end{aligned}$$

3. Krim Ekstrak Daun Kopi 30%

$$\begin{aligned}\text{Ekstrak 30\%} &= \frac{30}{100} \times 25 \text{ g} \\ &= 7,5 \text{ g}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Asam stearat} &= \frac{12}{100} \times 25 \text{ g} \\ &= 3 \text{ g}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Setil alkohol} &= \frac{2}{100} \times 25 \text{ g} \\ &= 0,5 \text{ g}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{TEA} &= \frac{3}{100} \times 25 \text{ g} \\ &= 0,75 \text{ g}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Gliserin} &= \frac{8}{100} \times 25 \text{ g} \\ &= 2 \text{ g}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Metil paraben} &= \frac{0,2}{100} \times 25 \text{ g} \\ &= 0,05 \text{ g}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Aquadestilata} &= 25 - (7,5 + 3 + 0,5 + 0,75 + 2 + 0,05) \\ &= 11,2 \text{ ml}\end{aligned}$$

Lampiran 7. Data Hasil Penelitian

1. Uji Aktivitas Antibakteri Krim Ekstrak Daun *Coffea arabica* L. terhadap *Staphylococcus aureus*

No	Sampel	Diameter zona hambat (mm)				Rata-rata
		I	II	III	IV	
1	Krim ekstrak daun kopi 10%	9	9	9	10	9,25
2	Krim ekstrak daun kopi 20%	14	14	15	13	14
3	Krim ekstrak daun kopi 30%	21	21	22	20	21
4	Kontrol positif	35	35	35	38	35,75
5	Kontrol negative	-	-	-	-	-

Keterangan : (-) = tidak ada zona hambat

1. Ekstrak 10%

Parameter	Hari ke-			Standart
	0	7	14	
Organoleptik				
Bau	Khas	Khas	Khas	Khas (Stiani <i>et al</i> , 2016)
Bentuk	Semi solid	Semi solid	Semi solid	Semi solid (Astuti, 2015)
Warna	Coklat	Coklat	Coklat	-
Homogenitas	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen (Lubis, 2012)
Ph	5	5	5	4,5 – 6,5 (Budiman, 2008)
Daya sebar	4,5 cm	4 cm	3,8cm	3-5 cm (Prastianto, 2016)
Daya lekat	20,80 detik	27,15 detik	30,12 detik	≥ 4 detik (Sugihartini, 2015)
Daya proteksi	Tidak noda merah	Tidak noda merah	Tidak noda merah	Tidak terbentuk noda merah (Alfath, 2012)

2. Ekstrak 20%

Parameter	Hari ke-			Standart
	0	7	14	
Organoleptik				
Bau	Khas	Khas	Khas	Khas (Stiani <i>et al</i> , 2016)
Bentuk	Semi solid	Semi solid	Semi solid	Semi solid (Astuti, 2015)
Warna	Coklat	Coklat	Coklat	-
Homogenitas	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen (Lubis, 2012)
pH	5	5	5	4,5 – 6,5 (Budiman, 2008)
Daya sebar	4,02 cm	3,72 cm	3,5 cm	3-5 cm (Prastianto, 2016)
Daya lekat	51,12 detik	53,60 detik	58,00detik	≥ 4 detik (Sugihartini, 2015)
Daya proteksi	Tidak noda merah	Tidak noda merah	Tidak noda merah	Tidak terbentuk noda merah (Alfath, 2012)

3. Ekstrak 30%

Parameter	Hari ke-			Standart
	0	7	14	
Organoleptik				
Bau	Khas	Khas	Khas	Khas (Stiani <i>et al</i> , 2016)
Bentuk	Semi solid	Semi solid	Semi solid	Semi solid (Astuti, 2015)
Warna	Coklat	Coklat	Coklat	-
Homogenitas	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen (Lubis, 2012)
pH	5	5	5	4,5 – 6,5 (Budiman, 2008)

Daya sebar	3,80 cm	3,42 cm	3,18 cm	3-5 cm (Prastianto, 2016)
Daya lekat	57,04 detik	62,00 detik	68,24 detik	≥ 4 detik (Sugihartini, 2015)
Daya proteksi	Tidak noda merah	Tidak noda merah	Tidak noda merah	Tidak terbentuk noda merah (Alfath, 2012)

4. Krim tanpa ekstrak

Parameter	Hari ke-			Standart
	0	7	14	
Organoleptik				
Bau	Khas	Khas	Khas	Khas (Stiani <i>et al</i> , 2016)
Bentuk	Semi solid	Semi solid	Semi solid	Semi solid (Astuti, 2015)
Warna	Putih	Putih	Putih	-
Homogenitas	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen (Lubis, 2012)
pH	6	6	6	4,5 – 6,5 (Budiman, 2008)
Daya sebar	4,94 cm	4,3 cm	4,00 cm	3-5 cm (Prastianto, 2016)
Daya lekat	9,15 detik	10 detik	12 detik	≥ 4 detik (Sugihartini, 2015)
Daya proteksi	Tidak noda merah	Tidak noda merah	Tidak noda merah	Tidak terbentuk noda merah (Alfath, 2012)

Lampiran 8. Hasil Analisis Data

1. Tabel Input Data Uji Aktivitas Antibakteri

*SPSS SKRIPSI.sav [DataSet1] - SPSS Data Editor

File Edit View Data Transform Analyze Graphs Utilities Add-ons Window Help

6:

	seri_konsentrasi	daya_hambat	var										
1	krim ekstrak 10%	9											
2	krim ekstrak 10%	9											
3	krim ekstrak 10%	9											
4	krim ekstrak 10%	10											
5	krim ekstrak 20%	14											
6	krim ekstrak 20%	14											
7	krim ekstrak 20%	15											
8	krim ekstrak 20%	13											
9	krim ekstrak 30%	21											
10	krim ekstrak 30%	21											
11	krim ekstrak 30%	22											
12	krim ekstrak 30%	20											
13	kontrol positif	35											
14	kontrol positif	35											
15	kontrol positif	35											
16	kontrol positif	38											
17	kontrol negatif	0											
18	kontrol negatif	0											
19	kontrol negatif	0											
20	kontrol negatif	0											
21													
22													
23													
24													

2. Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		daya_hambat	seri_konsentrasi
N		20	20
Normal Parameters ^a	Mean	16.00	3.00
	Std. Deviation	12.342	1.451
Most Extreme Differences	Absolute	.138	.155
	Positive	.132	.155
	Negative	-.138	-.155
Kolmogorov-Smirnov Z		.618	.692
Asymp. Sig. (2-tailed)		.840	.725

a. Test distribution is Normal.

3. Uji Homogenitas

daya_hambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.540	4	15	.083

4. One Way Anova

daya_hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2882.500	4	720.625	939.946	.000
Within Groups	11.500	15	.767		
Total	2894.000	19			

Multiple Comparisons

daya_hamb
at

Tukey
HSD

(I) seri_kon ntrasi	(J) seri_konsent asi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
krim ekstrak 10%	krim ekstrak 20%	-4.750*	.619	.000	-6.66	-2.84
	krim ekstrak 30%	-11.750*	.619	.000	-13.66	-9.84

	kontrol positif	-26.500*	.619	.000	-28.41	-24.59
	kontrol negatif	9.250*	.619	.000	7.34	11.16
krim ekstrak 20%	krim ekstrak 10%	4.750*	.619	.000	2.84	6.66
	krim ekstrak 30%	-7.000*	.619	.000	-8.91	-5.09
	kontrol positif	-21.750*	.619	.000	-23.66	-19.84
	kontrol negatif	14.000*	.619	.000	12.09	15.91
krim ekstrak 30%	krim ekstrak 10%	11.750*	.619	.000	9.84	13.66
	krim ekstrak 20%	7.000*	.619	.000	5.09	8.91
	kontrol positif	-14.750*	.619	.000	-16.66	-12.84
	kontrol negatif	21.000*	.619	.000	19.09	22.91
kontrol positif	krim ekstrak 10%	26.500*	.619	.000	24.59	28.41
	krim ekstrak 20%	21.750*	.619	.000	19.84	23.66
	krim ekstrak 30%	14.750*	.619	.000	12.84	16.66
	kontrol negatif	35.750*	.619	.000	33.84	37.66
kontrol negatif	krim ekstrak 10%	-9.250*	.619	.000	-11.16	-7.34

krim ekstrak 20%	-14.000*	.619	.000	-15.91	-12.09
krim ekstrak 30%	-21.000*	.619	.000	-22.91	-19.09
kontrol positif	-35.750*	.619	.000	-37.66	-33.84

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

UJI HOMOGENEOUS

daya_hambat

Tukey HSD

seri_konsentrasi	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
kontrol negatif	4	.00				
krim ekstrak 10%	4		9.25			
krim ekstrak 20%	4			14.00		
krim ekstrak 30%	4				21.00	
kontrol positif	4					35.75
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

5. Uji Korelasi

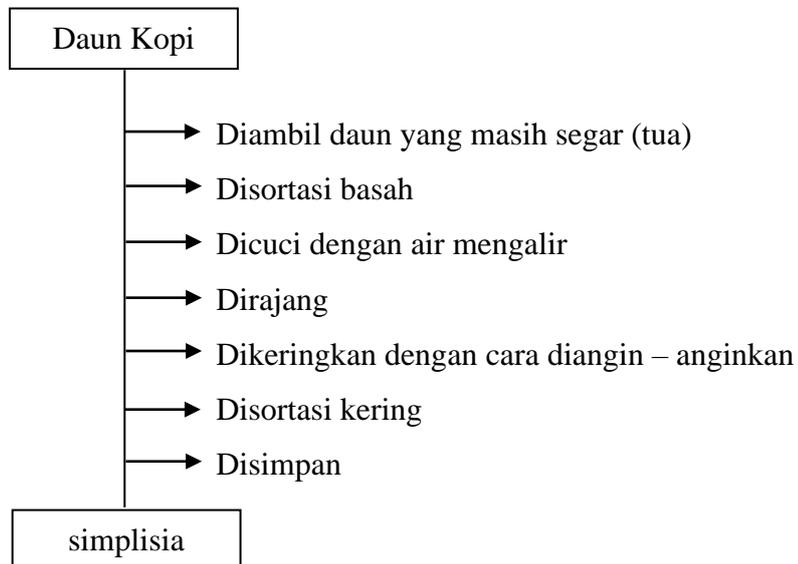
Correlations

		seri_konsentrasi	daya_hambat
Spearman's rho	seri_konsentrasi	1.000	.977**
	Correlation Coefficient		
	Sig. (2-tailed)	.	.000
	N	20	16
	daya_hambat	.977**	1.000
	Correlation Coefficient		
	Sig. (2-tailed)	.000	.
	N	16	16

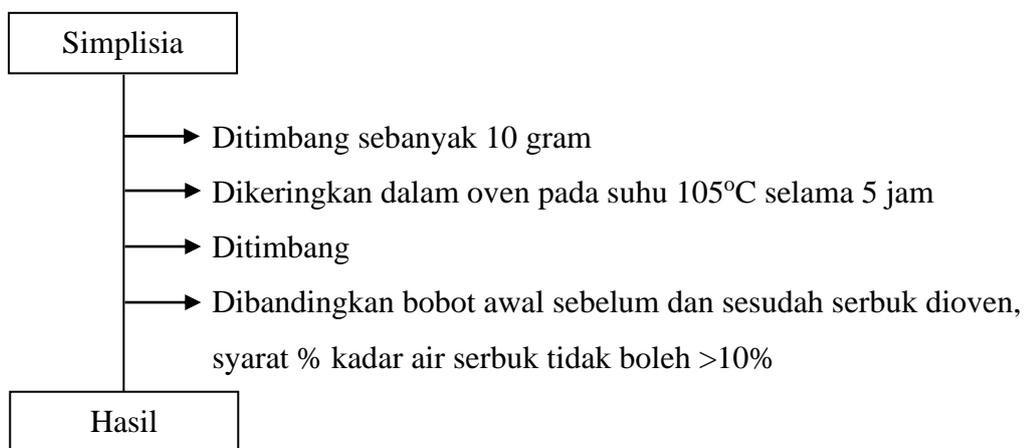
** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Lampiran 9. Alur Prosedur Kerja

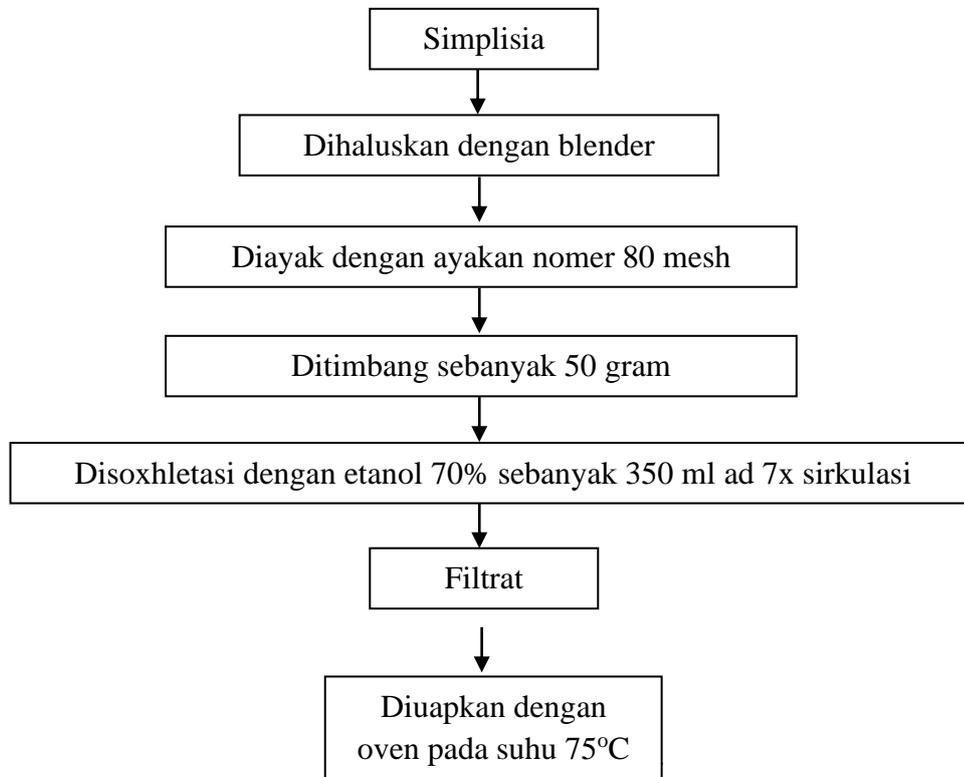
1. Pembuatan Simplisia



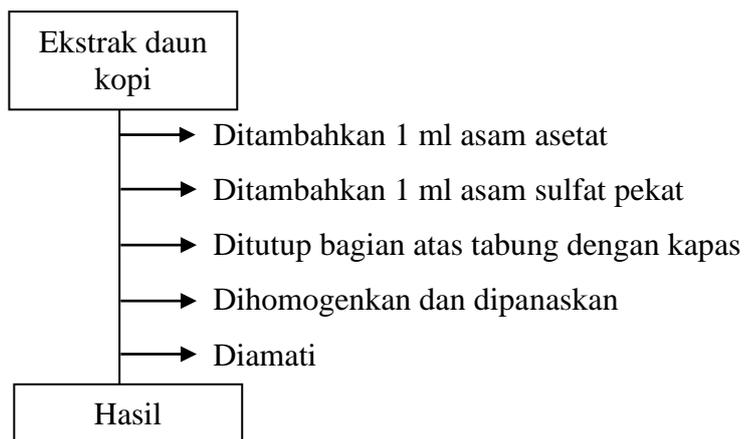
2. Uji Kadar Air Serbuk Simplisia



3. Pembuatan Ekstrak



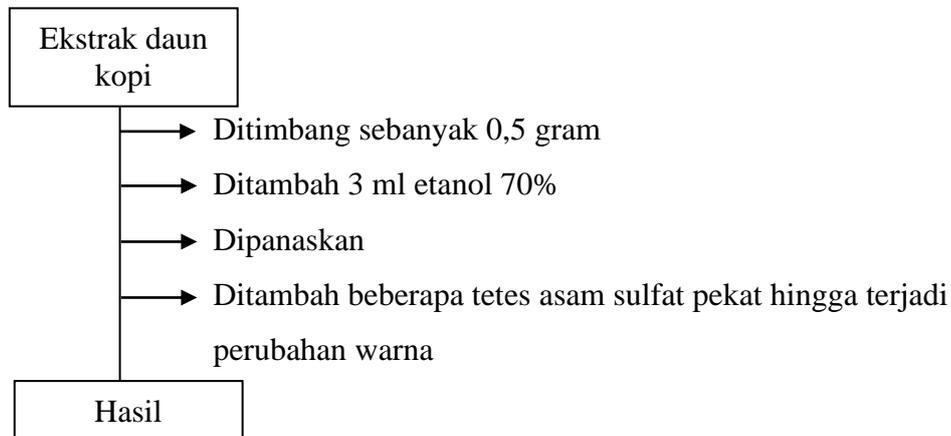
4. Uji Kadar Etanol Ekstrak



Keterangan: jika tidak tercium bau ester maka positif bebas etanol

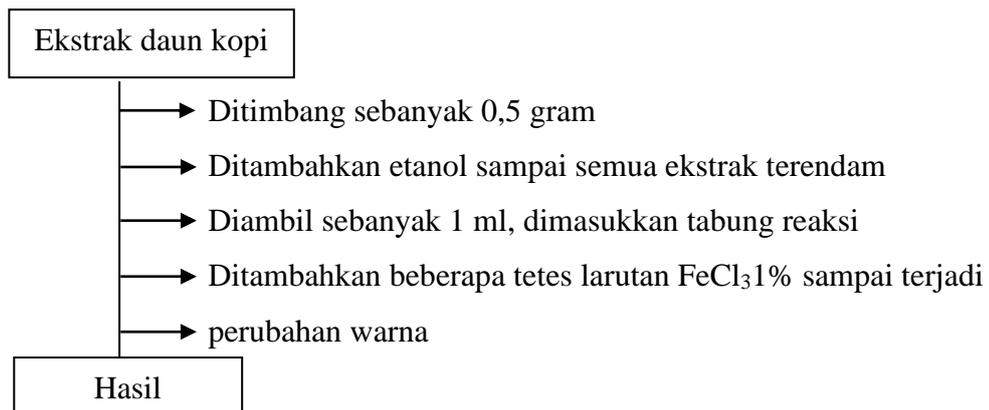
5. Skrining Fitokimia

a. Flavonoid



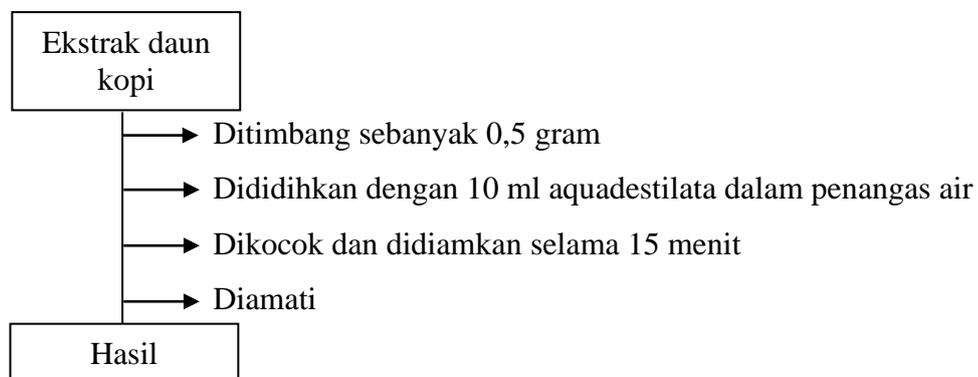
Ket: adanya flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna jingga.

b. Tanin



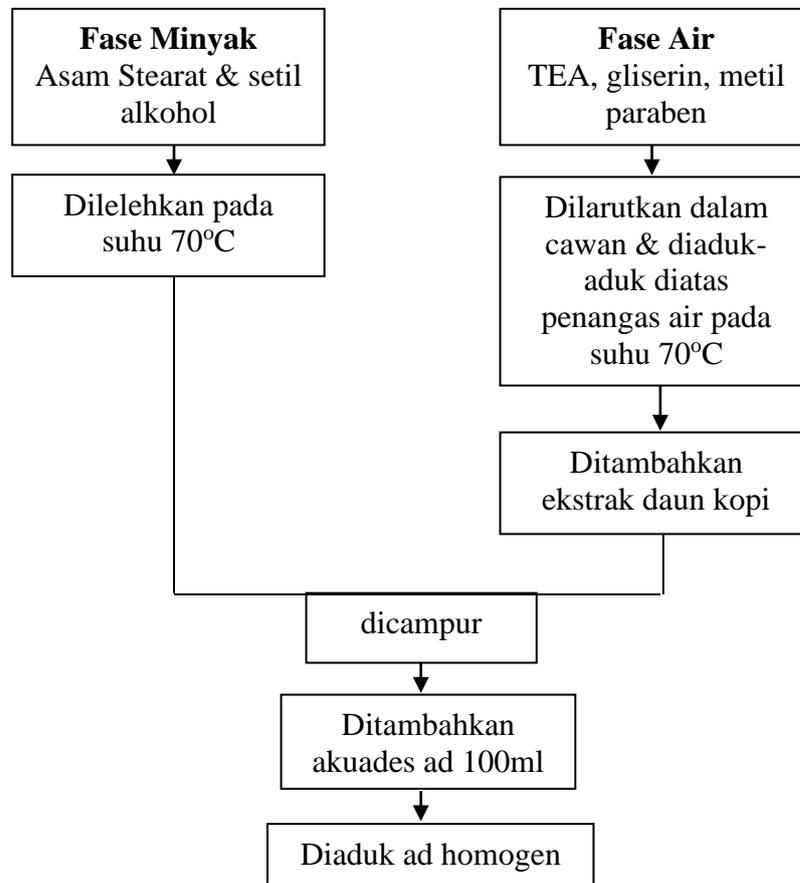
Ket: adanya tanin ditunjukkan terbentuknya warna hitam kebiruan / hijau.

c. Saponin

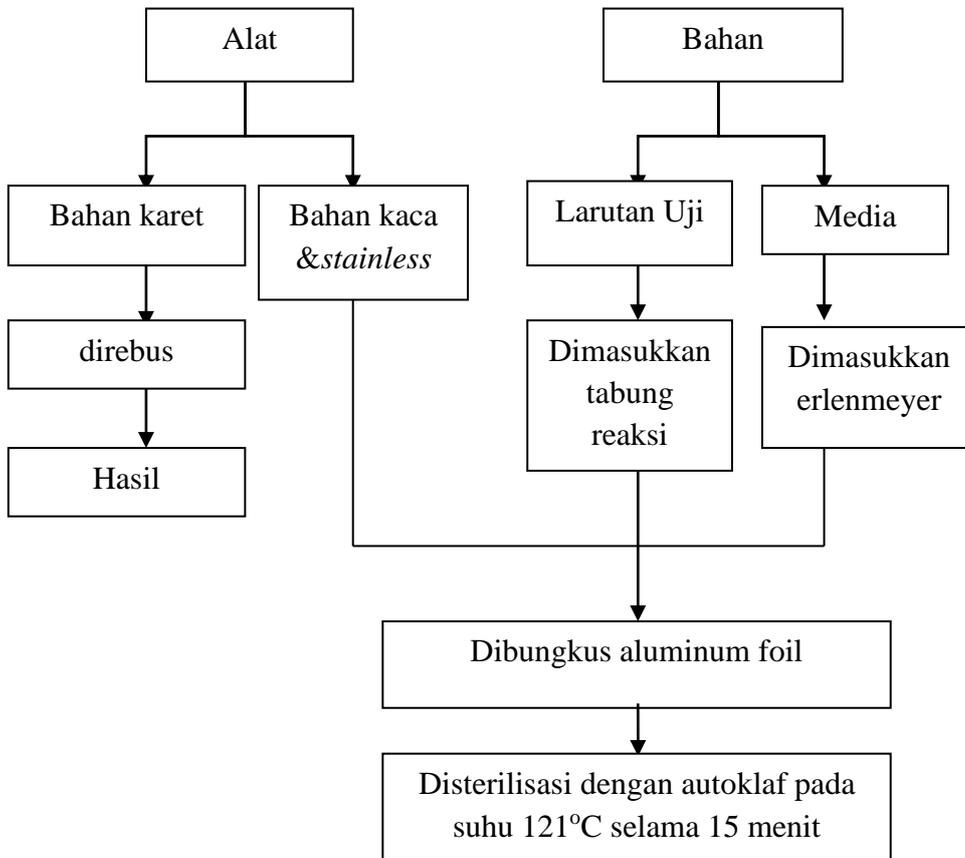


Ket: adanya saponin ditunjukkan dengan terbentuknya busa yang stabil

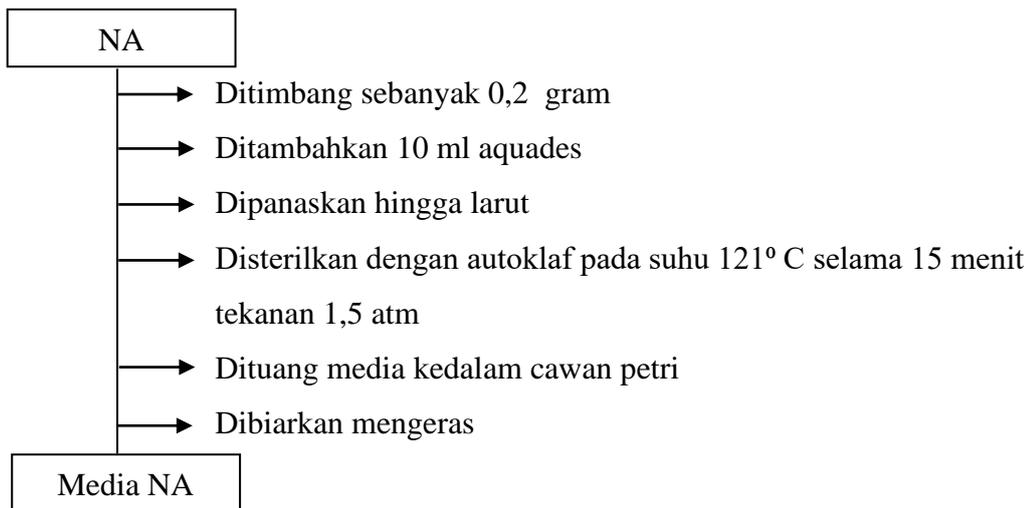
6. Pembuatan Krim



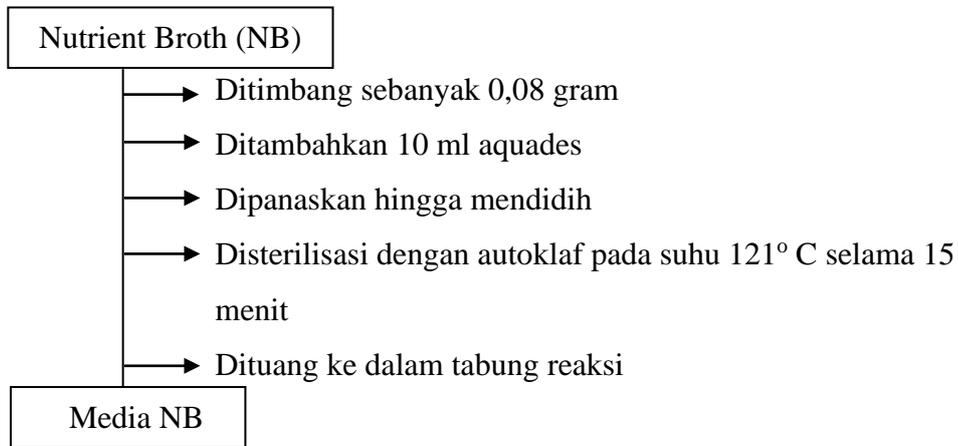
7. Sterilisasi Alat dan Bahan (Maradona, 2013)



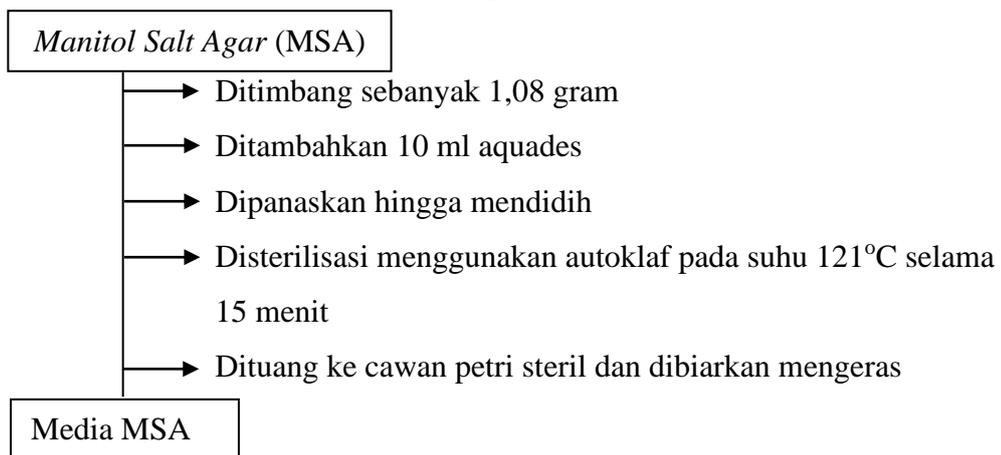
8. Pembuatan Media Pertumbuhan Bakteri (Maradona, 2013)



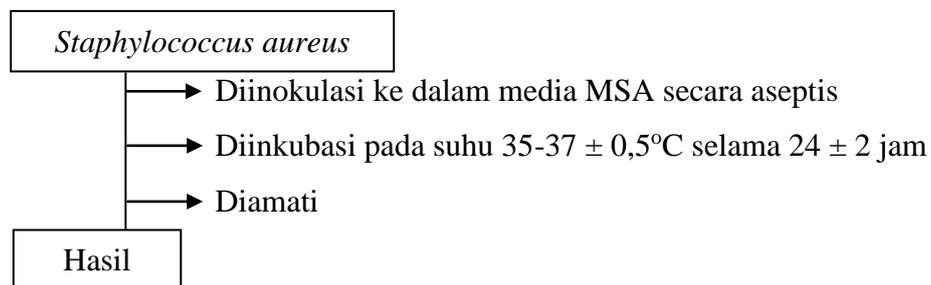
9. Pembuatan Media NB



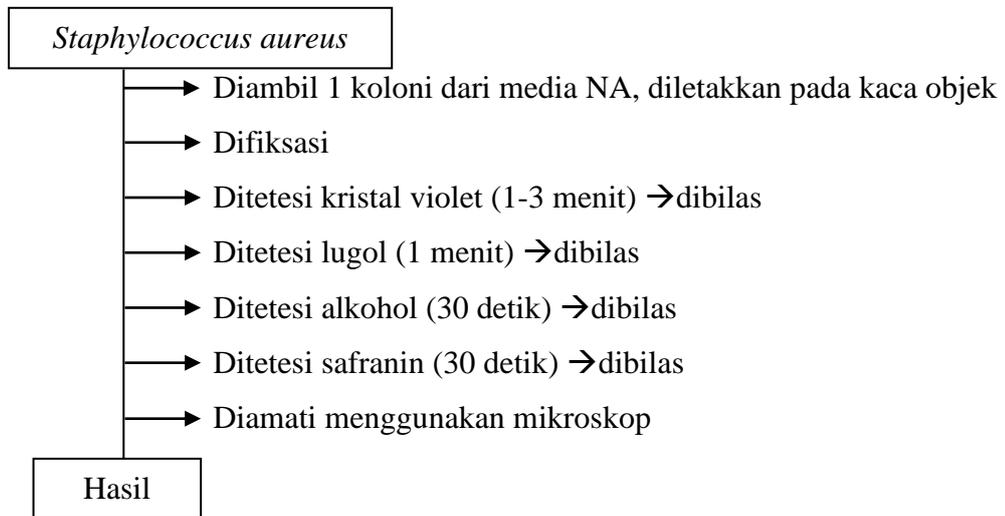
10. Pembuatan Media Identifikasi *Staphylococcus aureus*



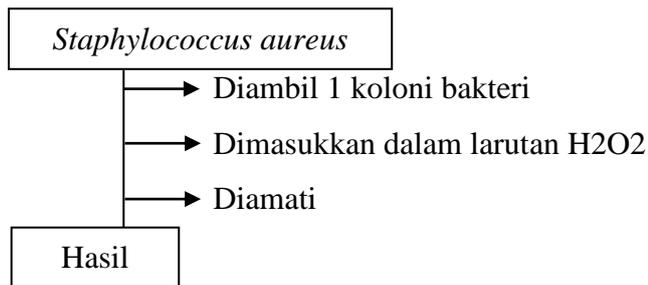
11. Uji Identitas Bakteri *Staphylococcus aureus*(Media MSA)



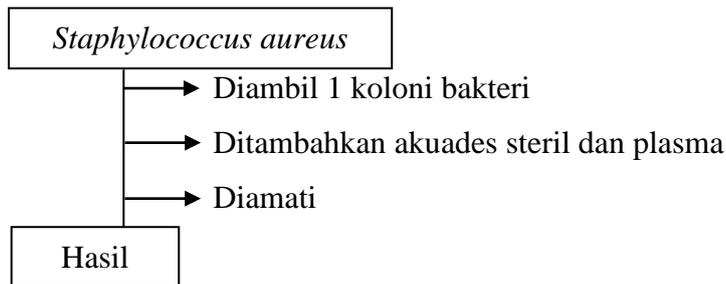
12. Uji Identitas Bakteri *Staphylococcus aureus*(Pewarnaan Bakteri)



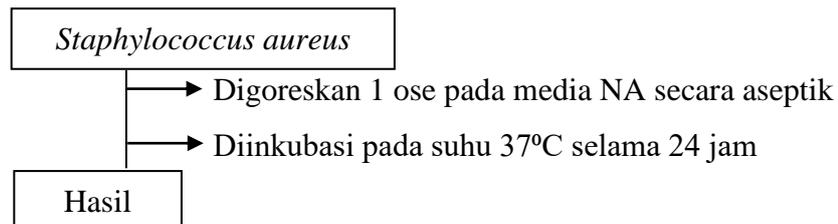
13. Uji Identitas Bakteri *Staphylococcus aureus*(Uji Koagulase)



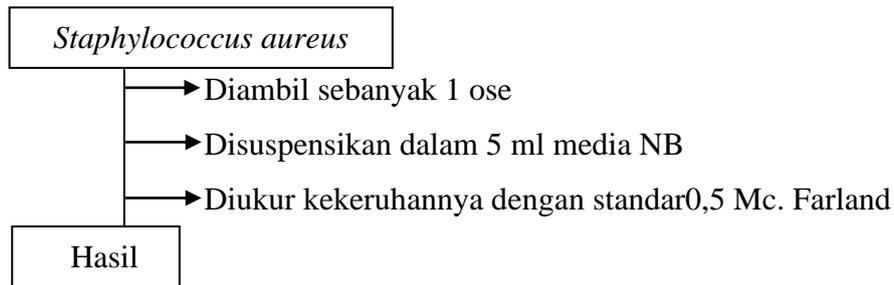
14. Uji Identitas Bakteri *Staphylococcus aureus*(Uji Katalase)



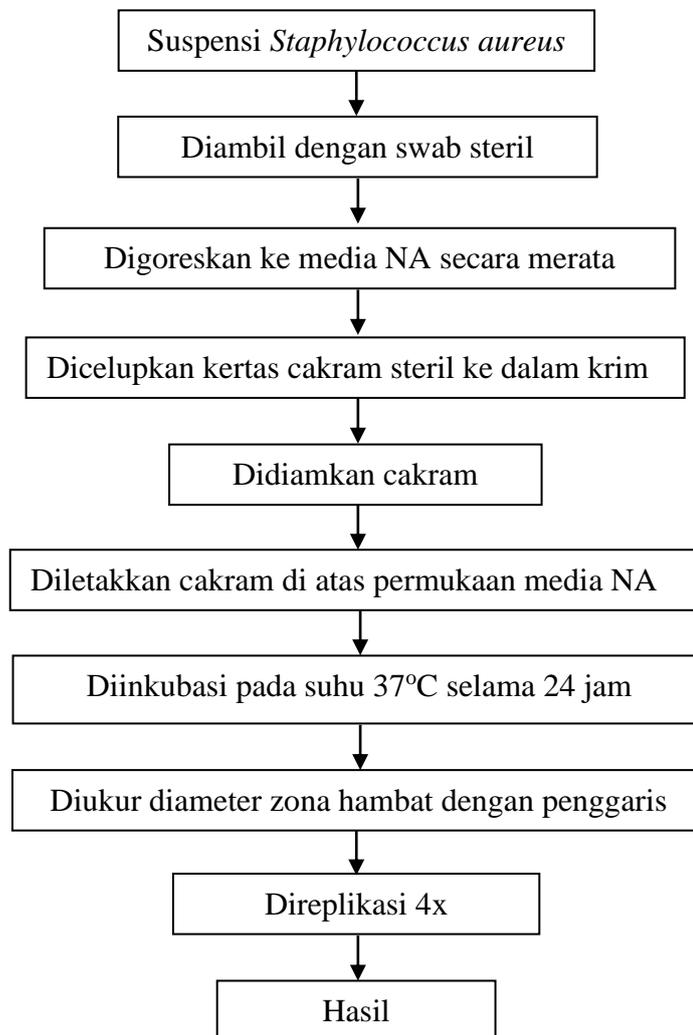
15. Peremajaan Bakteri Uji



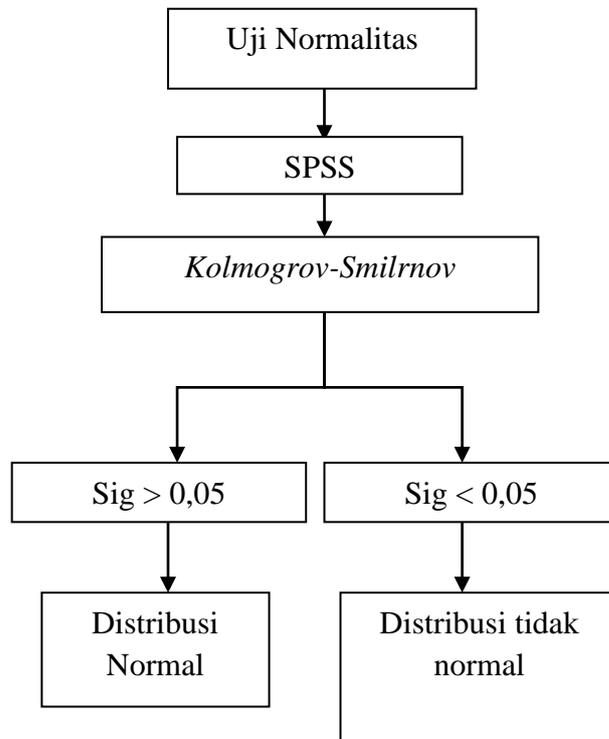
16. Pembuatan Suspensi Bakteri



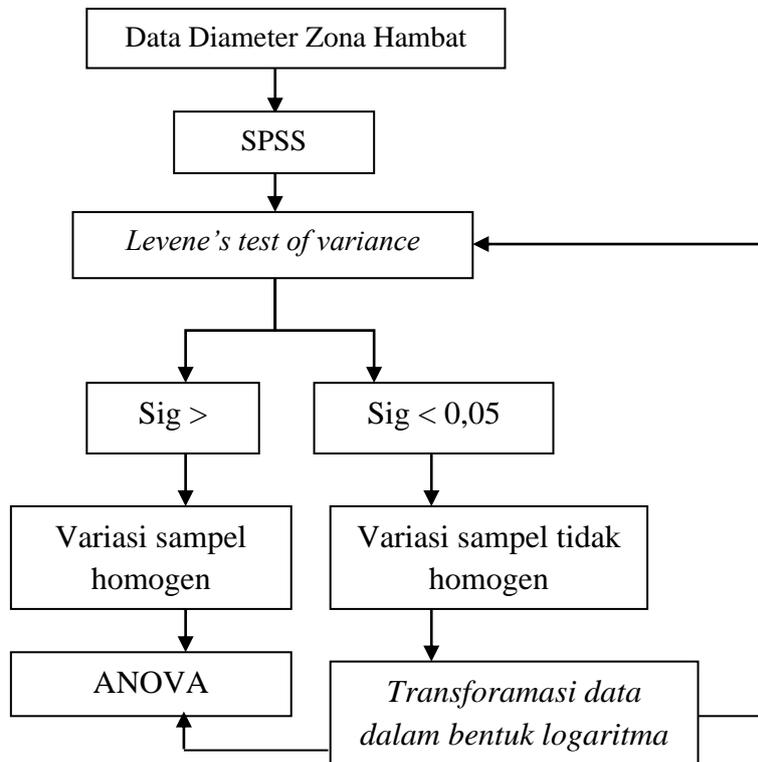
17. Uji Aktivitas Antibakteri Krim



18. Uji Normalitas



19. Uji Homogenitas



2	Persiapan Penelitian								
	a. Determinasi tanaman		■						
	b. Pembuatan simplisia		■						
	c. Pembuatan krim						■		
3	Penelitian Laboratorium								
	a. Evaluasi simplisia					■			
	b. Pembuatan ekstrak						■		
	c. Evaluasi ekstrak						■		
	d. Skrining fitokimia							■	
	e. Uji aktivitas antibakteri krim ekstrak daun kopi arabika								■
4	Pengumpulan dan Analisis Data					■	■	■	■
5	Penyusunan Laporan							■	■