

UJI AKTIVITAS EFEK EKSTRAK KOPI ROBUSTA (*Coffea canephora*) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli* SECARA *IN VITRO*

SKRIPSI

STEPHANIE DATU RARA'
O111 13 305



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2018**



Optimization Software:
www.balesio.com

UJI AKTIVITAS EFEK EKSTRAK KOPI ROBUSTA (*Coffea canephora*) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli* SECARA *IN VITRO*

**STEPHANIE DATU RARA'
O11113305**

Skripsi
Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh
gelar sarjana Kedokteran Hewan pada
Program Studi Kedokteran Hewan
Fakultas Kedokteran

**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2018**



HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI

Judul Skripsi : Uji Aktivitas Efek Ekstrak Kopi Robusta (*Coffea canephora*)
Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*
Secara *In Vitro*

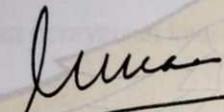
Nama : Stephanie Datu Rara'

NIM : 0111 13 305

Disetujui Oleh,

Pembimbing Utama

Pembimbing Anggota

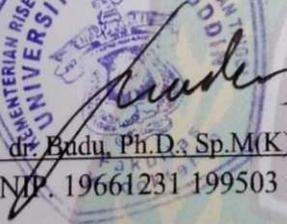

Prof. Dr. Drh. Lucia Muslimin M.Sc
NIP. 19480307 197411 2 001

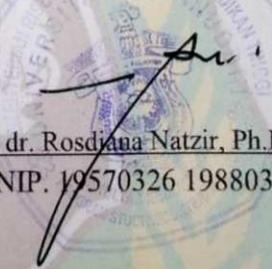

Abdul Wahid Jamaluddin S.Farm, M.Si, Apt
NIP. 19880828 201404 1 002

Diketahui Oleh,

Dekan
Fakultas Kedokteran

Plt. Ketua
Program Studi Kedokteran Hewan


Prof. dr. Badu, Ph.D., Sp.M(K), MMed.Ed.
NIP. 19661231 199503 1 009


Prof. dr. Rosdiana Natzir, Ph.D., Sp.Biok.
NIP. 19570326 198803 2 001

Tanggal Lulus : 15 Mei 2018



PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Stephanie Datu Rara

NIM : O111 13 305

Fakultas : Kedokteran

Program Studi : Kedokteran Hewan

Dengan ini menyatakan bahwa Skripsi yang saya susun dengan judul :

Uji Aktivitas Efek Ekstrak Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Secara *In Vitro*

adalah benar-benar hasil karya saya dan bukan merupakan plagiat dari skripsi orang lain. Apabila sebagian atau seluruhnya dari skripsi ini, terutama dalam bab hasil dan pembahasan, tidak asli atau plagiasi, maka saya bersedia dibatalkan dan dikenakan sanksi akademik yang berlaku.

Demikian pernyataan keaslian ini dibuat untuk dapat digunakan seperlunya.

Makassar, April 2018

Stephanie Datu Rara



ABSTRAK

Stephanie Datu Rara. O111 13 305. Uji Aktivitas Efek Ekstrak Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Secara *In Vitro*. Dibimbing oleh **Prof. Dr. Drh. Lucia Muslimin, M.Sc** dan **Abdul Wahid Jamaluddin, S.Farm, M.Si, Apt.**

Kopi Robusta (*Coffea canephora*) merupakan salah satu tanaman hasil perkebunan terbesar di Indonesia. Kopi Robusta memiliki senyawa-senyawa kimia yang bersifat zat anti bakteri sehingga mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui aktivitas efek dari ekstrak kopi robusta (*Coffea canephora*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* secara *in vitro*. Penelitian ini menggunakan 6 perlakuan dengan 3 pengulangan diantaranya menggunakan disk amoksisilin sebagai kontrol positif dan DMSO 10% sebagai kontrol negatif dan konsentrasi ekstrak kopi robusta 10%, 20%, 30% dan 40%. Hasil penelitian menunjukkan adanya aktivitas dari ekstrak kopi robusta dalam menghambat pertumbuhan bakteri yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Ekstrak kopi robusta dengan konsentrasi 10% menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus* dan *E.coli* dengan diameter rata-rata zona hambat 9,8 mm dan 10,1 mm. Pada konsentrasi 20% menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus* dan *E.coli* dengan diameter rata-rata zona hambat 13,3 mm dan 13,6 mm. Pada konsentrasi 30% menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus* dan *E.coli* dengan diameter rata-rata zona hambat 15,3 mm dan 17 mm. Pada konsentrasi 40% menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus* dengan diameter rata-rata zona hambat 20,3 mm dan bakteri *E.coli* dengan diameter rata-rata zona hambat 24,8 mm. Kesimpulan dari penelitian ini yaitu konsentrasi 40% memiliki aktivitas yang lebih tinggi pada bakteri *Escherichia coli* (24,8 mm) dibandingkan dengan bakteri *Staphylococcus aureus* (20,3 mm).

Kata kunci: Amoksisilin, *Escherichia coli*, kopi robusta, *Staphylococcus aureus*, zona hambat



Abstract

Stephanie Datu Rara. O111 13 305. Effect Activity Test of Robusta Coffee (*Coffea canephora*) Extract On *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* In Vitro. Under supervision of **Prof. Dr. Drh. Lucia Muslimin, M.Sc** and **Abdul Wahid Jamaluddin, S.Farm, M.Si, Apt.**

Robusta coffee is one of the largest plantation products in Indonesian. Robusta coffee have chemical compounds which anti-bacterial substance so as to inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. The purpose of this research to know the activity effect of Robusta coffee (*Coffea canephora*) extract of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in vitro. This research uses 6 treatment with 3 repetition among using disk amoksisilin as a positive control and 10% DMSO as a negative control and concentration of robusta coffee extract 10%, 20%, 30% and 40%. The results showed existence of activity from robusta coffee extract inhibiting growth of bacteria like *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Robusta coffee extract with 10% concentration inhibit on the growth of bacteria *S.aureus* and *E.coli* with average diameter drag zone 9,8 mm and 10,1 mm. At 20% concentration inhibit on the growth of bacteria *S.aureus* and *E.coli* with average diameter drag zone 13,3 mm and 13,6 mm. At 30% concentration inhibit on the growth of bacteria *S.aureus* and *E.coli* with average diameter drag zone 15,3 mm and 17 mm. At 40% concentration inhibit on the growth of bacteria *S.aureus* with average diameter drag zone 20,3 mm and *E.coli* with average diameter drag zone 24,8 mm. Conclusion of this research is concentration of 40% have activity is higher in *Escherichia coli* (24,8 mm) as compared with *Staphylococcus aureus* (20,3 mm).

Keyword : Amoxycillin, drag zone, *Escherichia coli*, robusta coffee, *Staphylococcus aureus*,



KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas segala berkat dan penyertaan-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Uji Aktivitas Efek Ekstrak Kopi Robusta Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Secara *In Vitro*” sebagai salah satu persyaratan guna memperoleh derajat Sarjana Kedokteran Hewan di Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin. Selama pelaksanaan penelitian hingga selesainya skripsi ini penulis telah mendapat bimbingan, pengarahan, dan bantuan dari berbagai pihak maka pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada :

1. **Prof. dr. Budu, Ph.D, Sp.M(K), M,Med.Ed** sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.
2. **Prof. dr. Rosdiana Natsir, Ph. D, Sp. Biok** sebagai Pelaksana TugasKetua Program Studi Kedokteran Hewan Universitas Hasanuddin.
3. **Prof. Dr. drh. Lucia Muslimin, M.Sc** selaku Pembimbing I yang telah memberikan bimbingan dan arahan selama penulis dalam pelaksanaan penelitian, dan penyusunan skripsi.
4. **Bapak Abdul Wahid Jamaluddin, S.Farm, M.Si, Apt** selaku pembimbing II yang telah meluangkan waktu, tenaga dan pikiran sangat berarti kepada penulis selama penyusunan skripsi.
5. **Bapak Sukamto S. Mamada S.Si, M.Sc. Apt dan Drh. Dini Marmansari** sebagai pembahas seminar proposal dan hasil yang telah memberikan banyak masukan-masukan pada skripsi ini.
6. Seluruh staf **Dosen dan Pegawai di PSKH FK UNHAS** yang telah membantu dalam melakukan penelitian dan penyusunan skripsi.
7. Staf **Laboratorium Biofarmaka Pusat Kajian Penelitian Universitas Hasanuddin** yang telah memberikan fasilitas dan bantuan selama penelitian.
8. Bapak Markus dan Kak Muhammad Iqbal Djamil S.KH yang senantiasa membantu penulis dalam penelitian.
9. Kedua orang tua penulis **Yan Sende B.Ac dan Yuliana Lolo Tasik** yang senantiasa mendukung, sabar, memberikan motivasi serta kasih sayang yang tak terhingga kepada penulis sehingga bisa menyelesaikan skripsi. Serta adik penulis yaitu Desna Datu Rara yang senantiasa mendukung penulis.
10. Kepada A.Ika.H.A.Imran Baraniah, Iin Mutmainnah Muhadjir S.KH, Jasti Rahayu, Wadi Opsima, Natalia Irene Rumpaisum dan Mutmainnah yang senantiasa memberikan motivasi, membantu penelitian dan penyusunan skripsi.
11. Kepada Nuhrah Singkeru yang menemani penulis dalam penelitian.
12. Teman-teman angkatan 2013 “OBREV” yang telah menjadi teman seperjuangan dari awal masuk menjadi mahasiswa kedokteran hewan dan membantu serta memberikan dukungan selama penelitian.

dan penghargaan setinggi-tingginya kepada semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu. Terima kasih atas bantuan dan dukungannya.



Penulis sadar tulisan ini masih jauh dari kesempurnaan, Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang dapat menjadi motivasi penulis untuk lebih baik kedepannya. semoga penulisan skripsi ini dapat berguna bagi ilmu pengetahuan khususnya ilmu kedokteran hewan sehingga dapat bermanfaat untuk masyarakat luas.

Makassar, 11Maret 2018

Stephanie Datu Rara



DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN	iii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR	vi
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
1.3.1 Tujuan umum	2
1.3.2 Tujuan khusus	2
1.4 Manfaat Penelitian	2
1.4.1 Manfaat Pengembangan Ilmu Teori	2
1.4.2 Manfaat Aplikasi	2
1.5 Hipotesis	2
1.6 Keaslian Penelitian	2
2. TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Kopi Robusta	3
2.1.1 Klasifikasi Kopi Robusta	4
2.1.2 Morfologi Kopi Robusta	4
2.1.3 Kandungan Kimia Kopi Robusta	5
2.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	5
2.2.1 Klasifikasi <i>Staphylococcus aureus</i>	6
2.2.2 Morfologi <i>Staphylococcus aureus</i>	6
2.2.3 Identifikasi <i>Staphylococcus aureus</i>	7
2.2.4 Pengobatan <i>Staphylococcus aureus</i>	8
2.3 <i>Escherichia coli</i>	8
2.3.1 Klasifikasi <i>Escherichia coli</i>	9
2.3.2 Morfologi <i>Escherichia coli</i>	9
2.3.3 Identifikasi <i>Escherichia coli</i>	10
2.3.4 Pengobatan <i>Escherichia coli</i>	13
2.4 Ekstraksi	14
2.5 Skrining Fitokimia	15
2.5.1 Alkaloid	15
2.5.2 Saponin	16
2.5.3 Flavonoid	16
2.5.4 Tanin	17
3. MATERI DAN METODE	18
3.1 Waktu dan Tempat	18
3.2 Jenis Penelitian	18
3.3 Materi Penelitian	18
3.3.1 Alat	18
3.3.2 Bahan	18
3.3.3 Metode Penelitian	18
4.1 Sterilisasi Alat dan Bahan	18
4.2 Pembuatan Ekstrak	18
4.3 Pembuatan Variasi Konsentrasi	19



3.4.4 Uji Fitokimia		20
3.4.5 Uji Identifikasi Bakteri		21
3.4.6 Pembuatan Media MHA		22
3.4.7 Uji Daya Hambat		22
3.4.8 Zona Hambat	23	3.5
Analisis Data	23	
4. HASIL DAN PEMBAHASAN		24
4.1 Ekstrak Kopi Robusta		24
4.2 Uji Fitokimia		25
4.3 Pengujian Sampel Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>		27
4.3.1 Uji Pada Media MSA		27
4.3.2 Uji Pewarnaan Gram		28
4.3.3 Uji Biokimia		28
4.4 Pengujian Sampel Bakteri <i>Escherichia coli</i>		30
4.4.1 Uji Pada Media EMBA		30
4.4.2 Uji Pewarnaan Gram		31
4.4.3 Uji Biokimia		32
4.5 Pengujian Aktivitas Efek Ekstrak Kopi Terhadap <i>S.aureus</i> & <i>E.coli</i>		34
5. PENUTUP		38
DAFTAR PUSTAKA		39
LAMPIRAN		45



DAFTAR GAMBAR

1. Kopi Robusta	3
2. Penampang melintang buah kopi	4
3. <i>Staphylococcus aureus</i> secara mikroskopis	6
4. <i>Staphylococcus aureus</i> dengan pembesaran 100x	6
5. <i>Escherichia coli</i> secara mikroskopis	9
6. <i>Escherichia coli</i> dengan pembesaran 100x	10
7. Sampel Ekstrak	24
8. Hasil kultur <i>S.aureus</i> Pada Media MSA	27
9. Pengamatan <i>S.aureus</i> Pada Mikroskop	28
10. Hasil uji katalase	29
11. Hasil uji koagulase	29
12. Hasil uji oksidase	30
13. Hasil uji <i>novobiocin</i>	30
14. Hasil Kultur <i>E.coli</i> Pada Media EMBA	31
15. Pengamatan <i>E.coli</i> Pada Mikroskop	32
16. Hasil uji Biokimia pada bakteri <i>E.coli</i>	33
17. Grafik Hasil Aktivitas Ekstrak Kopi Robusta (<i>Coffea canephora</i>) Terhadap <i>S.aureus</i>	35
18. Grafik Hasil Aktivitas Ekstrak Kopi Robusta (<i>Coffea canephora</i>) Terhadap <i>E.coli</i>	37
19. Hasil Replikasi 3 Uji Aktivitas Ekstrak Kopi Robusta (<i>Coffea canephora</i>) Terhadap <i>S.aureus</i>	38
20. Hasil Replikasi 2 Uji Aktivitas Ekstrak Kopi Robusta (<i>Coffea canephora</i>) Terhadap <i>E.coli</i>	39

DAFTAR TABEL

1. Diameter Zona Hambat Amoksisilin	23
2. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Kopi Robusta	25
3. Hasil Uji Aktivitas Efek Ekstrak Kopi Robusta Terhadap <i>S.aureus</i>	36
4. Hasil Uji Aktivitas Efek Ekstrak Kopi Robusta Terhadap <i>E.coli</i>	37





1. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Indonesia merupakan negara yang terletak di daerah khatulistiwa yang memiliki suhu kamar berkisar 25-30°C. Keadaan ini sangat berpotensi terhadap pertumbuhan bakteri khususnya yang bersifat patogen sehingga dapat menyebabkan infeksi secara sporadik maupun endemik. *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* adalah contoh bakteri yang bersifat patogen pada tubuh hewan (Djide *et al.*, 2008).

Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* umumnya terdapat pada tubuh sebagai flora normal. Bakteri *Staphylococcus aureus* secara normal terdapat pada kulit, saluran pernapasan dan saluran pencernaan, sedangkan *Escherichia coli* terdapat pada usus. Namun jika jumlahnya meningkat di dalam tubuh, bakteri *Staphylococcus* sp. dapat menimbulkan berbagai penyakit seperti *arthritis*, *tenosinovitis*, infeksi *yolk sac*, *bumble foot* (abses subdermal), *spondilitis*, dan *osteomielitis* (Tabbu, 2000). Sedangkan *Escherichia coli* dapat menyebabkan diare dan infeksi saluran kemih pada manusia, kolibasilosis pada unggas dan mastitis pada hewan besar (Herlina *et al.*, 2015).

Seiring dengan meningkatnya infeksi bakteri, penggunaan antibiotik juga mengalami peningkatan. Selain untuk membunuh dan menghambat pertumbuhan pada bakteri, antibiotik biasanya digunakan sebagai bahan tambahan pakan. Senyawa dari antibiotik tersebut digunakan sebagai *growth* promotor dalam jumlah yang relatif kecil namun dapat meningkatkan efisiensi pakan (*feed efficiency*) dan reproduksi ternak sehingga dengan penggunaan bahan aditif dari antibiotik tersebut peternak dapat memperoleh keuntungan lebih banyak. Namun, dengan adanya residu antibiotik dan resistensi mikroorganisme akibat penggunaan antibiotik yang berlebihan menyebabkan antibiotik akhir-akhir ini mulai dikurangi penggunaannya bahkan sebagian besar negara melarang penggunaan antibiotik sebagai bahan tambahan pada pakan (Jamilah dan Purwanti, 2011).

Pemanfaatan tanaman tradisional dalam penyediaan senyawa antibakteri selain antibiotik dapat dijadikan sebagai pilihan alternatif mengingat tanaman tradisional tidak menimbulkan pencemaran lingkungan, baik tanah, air dan udara, tidak meninggalkan residu di alam serta biaya operasionalnya relatif murah (Ray, 2001; Jafari *et al.*, 2012). Salah satu jenis tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri adalah biji kopi robusta karena kopi robusta mengandung berbagai jenis senyawa volatil seperti aldehida, furfural, keton, alkohol, ester, asam format dan asam asetat. Selain senyawa volatil, kopi juga terdapat kafein, senyawa fenolik, trigoline dan asam klorogenik yang dilaporkan memiliki aktivitas antimikroba (Fardiaz, 1995). Hasil penelitian Yaqin dan Nurmilawati (2015) menyatakan bahwa kopi robusta (*Coffea canephora*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Berdasarkan hal di atas maka peneliti berniat untuk meneliti uji aktivitas ekstrak kopi robusta (*Coffea canephora*) terhadap bakteri *Staphylococcus* dan *Escherichia coli* yang dilakukan secara *in vitro*.



1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan maka dapat diambil rumusan masalah yaitu Apakah ekstrakKopi Robusta dapat memberikan efek terhadap pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* ?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui pengujian aktivitas dari ekstrak kopi robusta (*Coffea canephora*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

1.3.2 Tujuan Khusus

Untuk mengetahui konsentrasi yang efektif dari ekstrak kopi robusta (*Coffea canephora*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Pengembangan Ilmu Teori

Memberikan penjelasan ilmiah yang jelas tentang aktivitas efek dari ekstrak kopi robusta (*Coffea canephora*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

1.4.2 Manfaat untuk aplikasi

a. Untuk Peneliti

Melatih kemampuan meneliti dan menjadi acuan bagi penelitian-penelitian selanjutnya.

b. Untuk Masyarakat

Menambah pengetahuan bagi masyarakat mengenai pemanfaatan kopi robusta (*Coffea canephora*) sebagai antibiotik dan membantu dalam penanganan kasus yang disebabkan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

1.5. Hipotesis

Adapun hipotesis dari penelitian eksperimental yang peneliti lakukan yaitu ekstrak kopi robusta (*Coffea canephora*) dapat mempengaruhi aktivitas pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

1.6. Keaslian Penelitian

Penelitian mengenai uji aktivitas efek ekstrak kopi robusta (*Coffea canephora*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* belum pernah dilakukan. Adapun penelitian sebelumnya mengenai Aktivitas Antibakteri Ekstrak

Robusta (*Coffea canephora*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dengan pelarut etanol 96% oleh Hizkia Alesta Tanauma dkk., dan Ekstrak Biji Kopi Robusta (*Coffea robusta*) sebagai Penghambat tihan *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan pelarut etanol 96% ammad Ainul Yaqin dan Mumun Nurmilawati.



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Kopi Robusta

Kopi merupakan minuman bahan penyegar yang banyak dikonsumsi masyarakat, dari yang miskin sampai kaya. Kopi mengandung kafein yang dalam dosis rendah dapat mengurangi rasa lelah dan membuat pikiran jadi segar. Kopi memiliki istilah yang berbeda-beda. Pada masyarakat Indonesia lebih akrab dengan sebutan kopi, di Inggris dikenal *coffee*, Perancis menyebutnya *cafe*, Jerman menjulukinya *kaffe*, dalam bahasa Arab dinamakan *quahwa*. Kopi memiliki sejarah yang panjang dan memiliki peranan penting bagi pertumbuhan ekonomi di Indonesia. Indonesia diberkati dengan letak geografisnya yang sangatlah cocok bagi tanaman kopi. Letak Indonesia sangat ideal bagi iklim mikro untuk pertumbuhan dan produksi kopi (Karya Tani Mandiri, 2013).

Kopi adalah suatu jenis tanaman tropis, yang dapat tumbuh dimana saja, kecuali pada tempat-tempat yang terlalu tinggi dengan temperatur yang sangat dingin atau daerah-daerah tandus yang memang tidak cocok bagi kehidupan tanaman. Kopi yang tergolong dalam marga *coffea* memiliki lebih dari 70 spesies. Beberapa spesies yang dikembangkan di Indonesia antara lain kopi arabika, robusta, toraja, toraja kalosi, sumatera mandheling dan kopi luwak (AAK, 1998).

2.1.1 Klasifikasi Kopi Robusta

Taksonomi tanaman kopi jenis robusta yaitu (Chamidah, 2012):

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliophyta
Sub Kelas	: Asteridae
Ordo	: Rubiales
Famili	: Rubiaceae
Genus	: <i>Coffea</i>
Spesies	: <i>Coffea canephora</i> , <i>Coffea robusta</i>



Gambar 1. Tanaman Kopi Robusta
(Sumber : Hulupi dan Martini, 2013)



2.1.2 Morfologi Kopi Robusta

Kopi robusta tumbuh baik di dataran rendah hingga 1500 m dpl, tapi yang ekonomis adalah yang tumbuh pada batas ketinggian 800 m dpl. Tanaman ini tumbuhnya tegak, bercabang bila dibiarkan tumbuh dapat mencapai tinggi 12 m. Daunnya bulat telur dengan ujung agak meruncing. Daun tumbuh berhadapan pada batang, cabang, dan ranting-rantingnya. Kopi mempunyai sistem percabangan yang agak berbeda dengan tanaman lain. Tanaman kopi mempunyai beberapa jenis cabang yang sifat dan fungsinya agak berbeda. Tanaman kopi umumnya akan mulai berbunga setelah berumur ± 2 tahun (Karya Tani Mandiri, 2013).

Mula-mula bunga ini keluar dari ketiak daun yang terletak pada batang utama atau cabang reproduksi. Bunga tanaman kopi berukuran kecil, mahkotanya bewarna putih dan berbau harum semerbak. Kelopak bunga bewarna hijau, pangkalnya menutupi bakal buah yang mengandung dua bakal biji. Benang sarinya terdiri dari 5-7 tangkai yang berukuran pendek. Bila bunga sudah dewasa, kelopak dan mahkotanya akan membuka dan segera mengadakan penyerbukan. Buah tanaman kopi terdiri dari daging buah dan biji. Daging buah terdiri atas 3 bagian lapisan kulit luar (eksokarp), lapisan daging (mesokarp) dan lapisan kulit tanduk (endokarp) yang tipis tetapi keras. Biji ini terdiri atas kulit biji dan lembaga, lembaga atau sering disebut endosperm merupakan bagian yang bisa dimanfaatkan sebagai bahan untuk membuat minuman kopi (Karya Tani Mandiri, 2013).



Gambar 2. Penampang melintang buah kopi
(Sumber: web.ipb.ac.id)

2.1.3 Kandungan Kimia Kopi Robusta

Senyawa-senyawa kimia pada biji kopi dapat dibedakan atas senyawa volatil dan non volatil. Senyawa volatil adalah senyawa yang mudah menguap, terutama jika terjadi kenaikan suhu. Senyawa volatil yang berpengaruh terhadap aroma kopi antara lain golongan aldehid, keton dan alkohol. Senyawa non volatil yang berpengaruh terhadap mutu kopi antara lain kafein, asam klorogenat, hidrokarbonatifat, asam, alkohol, tiol, furan, piro, piridin, quinon, fenol (asam amino), dan vitamin aromatik (Ramanaviciene *et al.*, 2003).

Kafein merupakan senyawa alkaloid yang berwujud kristal berwarna putih. Kafein adalah satu kandungan dalam biji kopi yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri, dimana kopi robusta mempunyai kandungan sebanyak 1,2-1,5% (Widyotomo dan Mulato, 2007). Kemampuan senyawa alkaloid



sangat dipengaruhi oleh keaktifan biologis senyawa tersebut, yang disebabkan oleh adanya gugus basa yang mengandung nitrogen. Adanya gugus basa ini apabila mengalami kontak dengan bakteri akan bereaksi dengan senyawa asam amino yang menyusun dinding sel dan DNA bakteri yang merupakan penyusun utama inti sel, dimana merupakan pusat pengaturan segala kegiatan sel (Karya Tani Mandiri, 2013).

Fenol merupakan salah satu senyawa yang berfungsi sebagai antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang melindungi sel tubuh dari serangan radikal bebas. Senyawa fenol meliputi flavonoid (turunan inti flavan), cincin kroman (tokoferol) dan lignan. Fenol juga dapat diklasifikasikan ke dalam komponen yang tidak larut seperti lignin dan komponen yang larut seperti asam fenolik, phenylpropanoids, flavonoid dan kuinon. Asam fenolik terdiri dari asam klorogenat, asam kafeat, asam p-kumarat, dan asam vanilat (Silalahi, 2006).

Senyawa fenol merupakan flavonoid yang terdapat dalam biji kopi. Aktifitas biologis senyawa flavonoid dilakukan dengan merusak dinding sel bakteri, melalui perbedaan kepolaran antara lipid penyusun DNA dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid sehingga dinding sel akan rusak dan senyawa tersebut dapat masuk ke dalam inti sel bakteri. Mekanisme aktifitas biologis oleh senyawa flavonoid ini berbeda dengan yang dilakukan oleh senyawa alkaloid, dimana senyawa flavonoid dalam merusak sel bakteri memanfaatkan perbedaan kepolaran antara lipid penyusun sel bakteri dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid. Sedangkan pada senyawa alkaloid memanfaatkan sifat reaktif gugus basa pada senyawa alkaloid untuk bereaksi dengan gugus asam amino pada sel bakteri (Gunawan, 2009).

2.2 *Staphylococcus aureus*

Bakteri ini pertama kali diamati dan dibiakkan oleh Pasteur dan Koch, kemudian diteliti lebih lanjut oleh Ogston dan Rosebach pada tahun 1880. Nama genus *Staphylococcus* diberikan Ogston karena diamati dengan mikroskop bakteri ini terlihat seperti setangkai buah anggur. Nama spesies *aureus* diberikan oleh Rosenbach karena biakan murni, koloni bakteri ini terlihat berwarna kuning-keemasan (Yuwono, 2012).

2.2.1 Klasifikasi ilmiah *Staphylococcus aureus*

Berdasarkan taksonominya, *Staphylococcus aureus* dapat digolongkan sebagai berikut : (Cappucino and Sherman, 2005).

Kingdom : Bacteria

Filum : Firmicutes

Kelas : Cocci

Ordo : Bacillales

Family: Staphylococcaceae

Genus : *Staphylococcus*

Spesies : *Staphylococcus aureus*

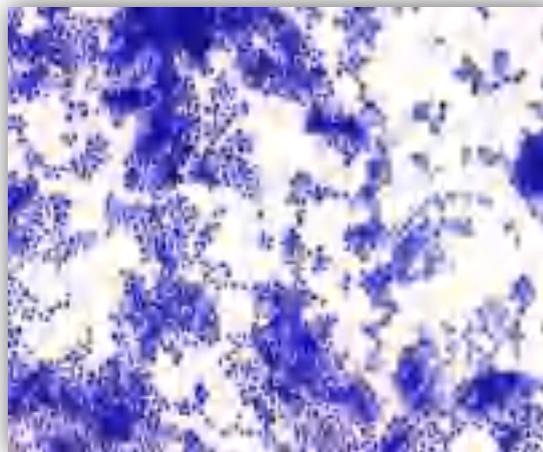




Gambar 3. *Staphylococcus aureus* secara mikroskopis
(Sumber: Brooks *et al.*, 2005)

2.2.2 Morfologi *Staphylococcus aureus*

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 30⁰C–37⁰C (Public Health England, 2014)



Gambar 4. *Staphylococcus aureus* dengan pembesaran 100 x
(Sumber: Warsa, 1994)

Staphylococcus aureus biasanya tumbuh dalam bentuk koloni warna abu-abu atau kuning hingga keemasan. Berbagai macam tingkat hemolisis dihasilkan oleh *Staphylococcus aureus* dan kadang oleh spesies lain. *Staphylococcus aureus* menghasilkan katalase positif sehingga membedakannya dengan *Streptococcus* yang menghasilkan katalase negatif. Selain itu, *Staphylococcus aureus* menghasilkan koagulase positif sehingga membedakannya dari spesies lain (Ayake, 2012).



Staphylococcus aureus merupakan bakteri dominan penyebab mastitis subklinis. Menurut Shearer dan Harris (2003), mastitis subklinis sangat penting untuk ditangani karena fakta menunjukkan bahwa prevalensi mastitis subklinis 15-40 kali lebih tinggi dibandingkan bentuk klinis. Mastitis subklinis biasanya terjadi lebih dahulu sebelum mastitis klinis dan berdurasi lebih lama, sulit untuk dideteksi dan menjadi reservoir mikroorganisme yang akan menginfeksi hewan lainnya yang berdekatan dengan sapi terinfeksi.

Bakteri *Staphylococcus aureus* sering juga ditemukan di ayam hidup dan kalkun. Bakteri ini masuk ke kulit atau lubang hidung berbagai burung dan sesudah itu dapat ditemukan pada seluruh bagian tubuh dengan jumlah yang sedikit. *Staphylococcus aureus* bersifat fakultatif aerob serta memiliki metabolisme melalui respirasi atau fermentasi. *Staphylococcus aureus* memiliki sifat katalase positif dan mampu memecah sebagian besar karbohidrat (Harvey dan Gilmour, 2000).

2.2.3. Identifikasi *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus dapat menyebabkan infeksi baik pada manusia maupun pada hewan. Bakteri ini tumbuh baik pada suhu tubuh manusia dan juga pada pangan yang disimpan pada suhu kamar serta menghasilkan toksin pada suhu tersebut. Toksin ini disebut enterotoksin karena dapat menyebabkan gastroenteritis atau radang lapisan saluran usus. (BSN, 2009).

Metode yang digunakan untuk mendeteksi *Staphylococcus aureus* tergantung dari tujuan pengujian. *Mannitol salt agar* (MSA) merupakan media selektif dan media diferensial (Sharp, 2006). Media *Mannitol Salt Agar* (MSA) adalah media yang mengandung manitol, yaitu suatu karbohidrat yang dapat dijadikan sebagai media pertumbuhan bakteri. Media MSA ini penting untuk melakukan identifikasi *Staphylococcus*. MSA mengandung 7,5% sodium klorida (garam) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif. Selain itu media ini juga memiliki indikator pH yang disebut sebagai *phenol red*. Media MSA merupakan media yang bekerja dengan prinsip bakteri yang dapat tumbuh, pada media ini adalah bakteri yang tahan pada keadaan garam yang tinggi dan selama pertumbuhan menghasilkan asam, sehingga mengubah indikator pH yang mengubah warna merah menjadi kuning (Mainous *et al.*, 2006). 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* (Lebofiec dan Pierce, 2011).

Nutrien Agar adalah medium umum untuk uji air dan produk *dairy*. *Nutrien Agar* juga digunakan untuk pertumbuhan mayoritas dari mikroorganisme yang tidak selektif, dalam artian mikroorganisme heterotrof. Media ini merupakan media sederhana yang dibuat dari ekstrak *beef*, *pepton*, dan *agar*. *Nutrien Agar* merupakan salah satu media yang umum digunakan dalam prosedur bakteriologi seperti uji biasa dari air, *sewage*, produk pangan, untuk membawa sampel ke dalam kultur, untuk pertumbuhan sampel pada uji bakteri, dan untuk mengisolasi bakteri dalam kultur murni. Untuk komposisi *nutrien agar* adalah ekstrak *beef*, *pepton* 10 g, NaCl 5 g, air desitilat 1.000 ml dan 15 g agar/L. Agar ini dengan komposisi lain dan disterilisasi dengan autoklaf pada 121°C selama 15 menit. Kemudian siapkan wadah sesuai yang dibutuhkan



(Dwidjoseputro, 1994). Pada pembiakan bakteri pada media *nutrien agar* setelah diinkubasi selama 24 jam koloninya berpigmen kuning emas berukuran 20µm (sebesar kepala jarum), bulat, cembung, licin, berkilau, keruh, tepinya rata (Hapsari, 2010).

Media selektif yang berhasil dan biasa digunakan untuk menghitung *Staphylococcus aureus* dibuat oleh Baird Parker pada awal tahun 1960, yang mengombinasikan media selektif terbaik dengan karakteristik reaksi diagnostik dan kemampuan untuk memperbaiki sel yang stress, yang dikenal sebagai *Baird Parker Agar* (BPA). BPA mengandung *potassium tellurite* dan litium klorida yang berperan sebagai bahan selektif. Selain itu, BPA mengandung kuning telur yang membantu perbaikan sel bakteri yang rusak (*injured*). Reduksi *potassium tellurite* oleh *Staphylococcus aureus* memberikan karakteristik berkilau, koloni berwarna hitam, dan dikelilingi oleh zona berwarna terang (*clear*) yang dihasilkan oleh protein kuning telur *lipovitellenin*. Koloni tersebut sering juga memperlihatkan tepi bagian dalamnya berwarna putih yang disebabkan oleh presipitasi asam lemak (Adam dan Moss, 2008).

Katalase merupakan salah satu uji cepat yang dapat dilakukan untuk mengidentifikasi *Staphylococcus aureus*. Uji katalase digunakan untuk mengetahui aktivitas katalase pada bakteri yang diuji. Kebanyakan bakteri memproduksi enzim katalase yang dapat memecah H₂O₂ menjadi H₂O dan O₂. Dikatakan positif apabila adanya gelembung, sebaliknya dikatakan negatif bila tidak terbentuk gelembung. Selain di atas, uji yang penting dalam mengidentifikasi *Staphylococcus aureus* adalah melalui uji koagulase (Goldman dan Lorrence, 2009).

Uji Koagulase dilakukan untuk membedakan antara *Staphylococcus aureus* dengan *Staphylococcus epidermidis* dan *Staphylococcus saprophyticus*. Uji koagulase positif ditandai dengan adanya butiran pasir, terjadi koagulase plasma yang mengandung protein yang digumpalkan oleh enzim koagulase dalam bakteri (Hapsari, 2010).

Uji Oksidase merupakan uji untuk membedakan antara *Pseudomonadaceae* (bakteri gram positif) dan *Enterobacteriaceae* (bakteri gram negatif) dan penggunaan uji ini untuk spesifikasi dan identifikasi dari berbagai macam bakteri. Uji Oksidase berfungsi untuk menentukan adanya sitokrom oksidase yang dapat ditemukan pada mikroorganisme tertentu. Apabila terjadi perubahan warna menjadi biru violet maka uji oksidase dinyatakan positif dan menandakan bahwa bakteri non *enteric*. Sedangkan bila tidak terjadi perubahan warna maka uji oksidase dinyatakan negatif (Goldman dan Lorrence, 2009).

2.2.4 Pengobatan

Pengobatan terhadap infeksi *Staphylococcus aureus* dilakukan melalui pemberian antibiotik, yang disertai dengan tindakan bedah, baik berupa pengeringan abses maupun nekrotomi. Pemberian antiseptik lokal sangat dibutuhkan untuk menangani furunkulosis (bisul) yang berulang. Pada infeksi yang cukup berat, diperlukan pemberian antibiotik secara oral atau intravena, penisilin, metisillin, sefalosporin, eritromisin, linkomisin, vankomisin, dan lain-lain (Ryan *et al.*, 1994).

Pemberian antibiotika pada masa kering sangat diperlukan untuk mencegah terjadinya mastitis subklinis (Bergonier *et al.*, 2013). Penelitian yang



dilakukan oleh Dogruer *et al.*,(2010) kombinasi pemberian antibiotika Ampicilindan Dicloxacillin melalui intra *muscular* dan intra *mammae* akan memberikan hasil yang optimal. Sedangkan pemberian antibiotika pada masa kering akan memberikan perlindungan terhadap mastitis subklinis sebesar 20-60%, namun hal tersebut lebih efektif pada domba bila dibandingkan dengan kambing (Dogruer *et al.*, 2010)

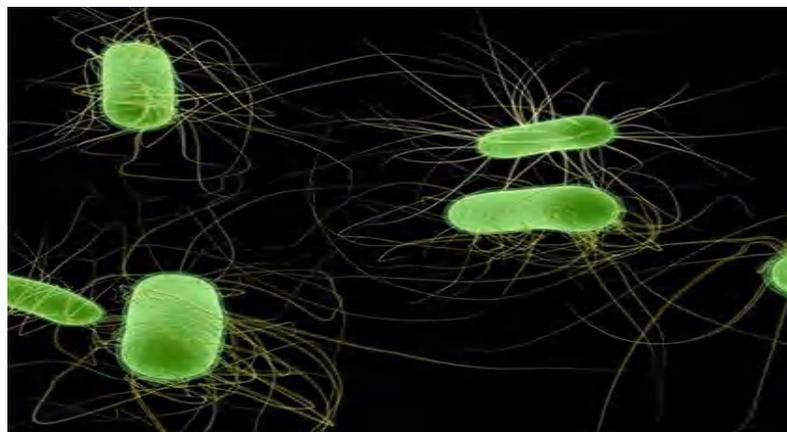
2.3 *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan bakteri yang selalu terdapat pada sistem pencernaan manusia dan hewan berdarah panas dan telah umum dianggap sebagai indikator pencemaran kotoran. Beberapa jenis *Escherichia coli* umum ditemukan pada penderita diare dan keracunan makanan. (Rohdiana *et al.*, 2013).

2.3.1 Klasifikasi *Escherichia coli*

Taksonomi *Escherichia coli* adalah sebagai berikut (Anglia, 2008) :

Kingdom: Bacteria
 Divisio : Protobacteria
 Classis:Gammaproteobacteria
 Ordo : Enterobacteriales
 Familia : Enterobacteriaceae
 Genus: *Escherichia*
 Spesies : *Escherichia coli*



Gambar 5. *Escherichia coli* secara mikroskopis
 Sumber : (Bioquell, 2017)

2.3.2 Morfologi *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan bakteri gram negatif yang bersifat fakultatif aerobik. *Escherichia coli* termasuk bakteri *enteric* yang secara normal berada di saluran pencernaan manusia. Sebagian galur *Escherichia coli* tidak berbahaya dan justru memiliki hubungan simbiosis mutualisme dengan manusia (Anglia, 2008). *Escherichia coli* termasuk dalam famili Enterobacteriaceae, genus *Escherichia*, berbentuk batang, mempunyai flagela untuk alat gerak, dan termasuk kelompok gram negatif.



negatif. *Escherichia coli* memiliki ukuran 2-3 μm , circular, konveks, dan koloni tidak berpigmen pada nutrient dan media darah. *Escherichia coli* dapat bertahan hingga suhu 600°C selama 15 menit atau pada 550°C selama 60 menit (Cowan, 1984).



Gambar 6. *Escherichia coli* dengan pembesaran 100x
(Sumber : Kunkel, 2009)

2.3.3 Identifikasi *Escherichia coli*

Berbagai cara pengujian *Escherichia coli* telah dikembangkan, tetapi analisis konvensional yang masih banyak dipraktikkan adalah dengan 4 tahap analisis yang memerlukan waktu 5-7 hari. Empat tahap analisis tersebut adalah uji pendugaan dengan metode MPN (*Most Probable Number*), uji penguat pada medium selektif, uji pelengkap dengan medium *Lactose Broth*, serta uji identifikasi dengan melakukan reaksi IMViC (*Indol, Methyl Red-Voges Proskauer, dan Citrate*). Apabila dikehendaki untuk mengetahui serotipe dari *Escherichia coli* yang diperoleh untuk memastikan apakah *Escherichia coli* tersebut patogen atau bukan maka dapat dilakukan uji serologi (Nopianti *et al.*, 2008).

Ada beberapa media yang dapat digunakan untuk isolat bakteri *Escherichia coli*, antara lain : (Afrianto, 2008).

a. Media *Eosin Methylene Blue* (EMBA)

Media ini mempunyai keistimewaan mengandung laktosa dan berfungsi untuk memilah mikroba yang memfermentasi laktosa seperti *Escherichia coli* dengan mikroba yang tidak memfermentasikan laktosa seperti *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Salmonella*. Mikroba yang memfermentasi laktosa menghasilkan koloni dengan inti berwarna hijau metalik dengan titik hitam, sedangkan mikroba lain yang dapat tumbuh koloninya tidak berwarna. Adanya *eosin* dan *methylene blue* membantu mempertajam perbedaan tersebut. Namun demikian jika media ini digunakan pada tahap awal, karena mikroba lain tumbuh terutama *Pseudomonas aeruginosa* dan *Salmonella* sp. dapat menimbulkan keraguan. Bagaimanapun media *Eosin Methylene Blue* sangat baik untuk konfirmasi bahwa kontaminan tersebut adalah *Escherichia coli*.



b. Media *Mac Conkey Agar*(MAC)

Media ini mempunyai keistimewaan memilah bakteri enterik gram negatif yang memfermentasi laktosa, karena media ini mengandung laktosa, *Crystal Violet* dan *Neutral Red Bile Salt*. Kemampuan *Escherichia coli* memfermentasi laktosa menyebabkan penurunan pH, sehingga mempermudah absorpsi *Neutral Red* untuk mengubah koloni menjadi merah bata dan mengendapkan bile empedu. Koloni lain (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonasaeruginosa* dan *Salmonella*), bila tumbuh tidak akan berwarna karena tidak mampu memfermentasi laktosa. Mikroba lain yang dapat tumbuh pada media ini antara lain *Enterobacter*, *Proteus*, *Salmonella*, *Shigella*, *Aerobacter*, *Enterococcus*.

c. Media *Mac Conkey Broth*(MCB)

Media ini bermanfaat sekali dalam memilah *Escherichia coli* dari mikroba lain terutama *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Salmonella*. Adanya *Oxgall* dalam media berperan dalam menghambat bakteri gram positif lain seperti *Staphylococcus aureus*. Kandungan laktosa sangat penting untuk memilah *Escherichia coli* dari mikroba lain yang tidak memfermentasi laktosa, terutama *Pseudomonas aeruginosa* dan *Salmonella*. Kondisi asam akan menyebabkan *bromo cresol purple* (berwarna ungu) berubah menjadi kuning dan adanya gas yang dapat diamati pada tabung Durham. Sedangkan *Salmonella* dan *Pseudomonas aeruginosa* tidak dapat mengubah warna media karena tidak memfermentasi laktosa. Mikroba lain yang mampu memfermentasi laktosa dan mempunyai ekspresi pada media seperti *Escherichia coli* adalah *Enterobacter aerogenes*. Adapun cara untuk memilah *Enterobacter aerogenes* antara lain dengan reaksi indol. *Escherichia coli* mempunyai reaksi positif, sedang *Enterobacter aerogenes* bereaksi negatif. Dengan sifat tersebut media ini sangat baik untuk memilah *Escherichia coli* dari mikroba lain pada tahap awal terutama *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella*.

Pengujian biokimia dilakukan bertujuan untuk melakukan identifikasi bakteri agar lebih meyakinkan bakteri tersebut. Adapun macam-macam pengujian biokimia yang dilakukan untuk mengidentifikasi bakteri *Escherichia coli* yaitu :

a. Uji Gula- gula

Uji fermentasi gula-gula bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menguraikan gula-gula spesifik yang mencerminkan sifat bakteri tersebut dan dapat digunakan sebagai salah satu cara identifikasi bakteri. Masing-masing mikroba mempunyai kemampuan yang berbeda-beda dalam memfermentasikan karbohidrat. Fermentasi merupakan proses oksidasi biologi dalam keadaan anaerob dimana bertindak sebagai substrat adalah karbohidrat. Bakteri *Escherichia coli* mampu memfermentasikan gula-gula spesifik (glukosa, laktosa, maltosa dan sukrosa) sehingga dapat digunakan sebagai dasar untuk uji identifikasi (Holt *et al.*, 2000).

b. Uji *Methyl Red*

Uji *Methyl Red* digunakan untuk menentukan adanya fermentasi asam. Beberapa jenis bakteri dapat memfermentasikan glukosa dan akan menghasilkan berbagai produk yang bersifat asam sehingga akan menurunkan pH pertumbuhannya menjadi 5,0 atau lebih rendah. Uji ini dilakukan untuk mendeteksi adanya asam melalui proses hidrolisis yang menghasilkan asam organik. *Methyl red* akan menjadi merah pada suasana asam (pada lingkungan



dengan pH 4,4) dan akan berwarna kuning pada suasana basa (pada suasana lebih dari atau sama dengan 6,2). Hasil positif ditunjukkan dengan adanya perubahan warna menjadi merah (Lay, 1994).

c. Uji *Vogus Proskauer*

Uji *Vogus Proskauer* digunakan untuk mengidentifikasi mikroba yang mampu memfermentasikan 2,3-butanadiol. Apabila mikroba mampu memfermentasikan karbohidrat menjadi 2,3-butanadiol sebagai produk utama maka akan terjadi penumpukan bahan tersebut dalam media pertumbuhan. Penambahan reagen kalium hidroksida dan alfanaftol dapat menentukan adanya asetoin yang merupakan suatu senyawa percursor dalam sintesis 2,3-butanadiol. Setelah penambahan reagen kalium hidroksida, adanya asetoin akan ditunjukkan oleh perubahan warna menjadi merah pada medium yang akan diperjelas dengan penambahan *alfanaphthol* (Lay, 1994).

d. Uji *Citrat*

Uji *citrat* bertujuan untuk mengetahui kemampuan suatu mikroorganisme dalam menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon dan energi. Warna media akan berubah dari hijau menjadi biru karena asam dihilangkan dan terjadi peningkatan pH, karena mikroorganisme menggunakan sitrat sebagai sumber karbon dan energi. Perubahan warna media dikarenakan adanya indikator pH *brom thymol blue* pada media (Lay, 1994).

e. Uji SIM (*Sulfur Indol Motility*)

Uji *sulfur indol motility*(SIM) digunakan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menguraikan asam amino menjadi sulfur. Sulfur dihasilkan oleh beberapa jenis mikroba melalui pemecahan asam amino yang mengandung sulfur belerang (S) seperti lisin dan metionin. Hasil peruraian sulfur dapat diamati dengan penambahan garam-garam logam berat ke medium. Hasil positif apabila H₂S bereaksi dengan senyawa-senyawa ini yang ditandai dengan terbentuknya logam sulfid yang berwarna hitam. Uji *indol* merupakan uji untuk mendeteksi ada tidaknya *indol* dari peruraian triptofan oleh bakteri *Coliform Escherichia coli* merupakan jenis bakteri *Coliform*. Uji ini merupakan media *Sulfur Indol Motility*(SIM) dengan penambahan reagen *Kovacs*. Hasil positif ditandai dengan warna merah atau merah muda pada permukaan media. Uji ini dilakukan setelah pengamatan motilitas agar tidak mengganggu pengamatan motilitas pada media uji (Dwijoesepuro, 1990). Uji motilitas adalah metode yang digunakan untuk mengidentifikasi *Escherichia coli* terhadap bakteri lainnya berdasarkan penyebaran koloni karena *Escherichia coli* memiliki kemampuan bergerak (motil) dalam media SIM. Kandungan *Nutrien Agar* semisolid dalam media SIM memungkinkan bakteri yang memiliki flagel melakukan pergerakan dalam media tersebut *Escherichia coli* memiliki karakteristik mempunyai flagel diseluruh badan sebagai alat gerak di habitatnya. Apabila dalam media terdapat pertumbuhan bakteri yang menyebar, maka dinyatakan bakteri yang diidentifikasi tersebut golongan *Enterobacter*, termasuk *Escherichia coli* (Holt et al., 2000).

Uji TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*)

Triple Sugar Iron Agar(TSIA) adalah tes yang memiliki tiga gula (laktosa, dan glukosa) dan juga zat besi, serta mengandung agar sebagai zat



penguat (TSI adalah media semi solid yang memiliki *slant* dan *butt*). Penambahan sukrosa di TSI Agar memungkinkan deteksi bakteri koliform yang lebih awal yang menghasilkan sukrosa lebih cepat dari pada laktosa, Menambahkan sukrosa juga membantu identifikasi bakteri gram negatif tertentu yang bisa menghasilkan sukrosanamun tidak laktosa. Pemahaman dasar lainnya adalah TSI Tube berisi *butt*(daerah yang sedikit beroksigen pada bagian bawah) *slant*(area oksigen bereaksi dengan baik pada bagian atas) (Acharya, 2013).

2.3.4 Pengobatan

Bakteri *Escherichia coli* mungkin sensitif terhadap berbagai jenis antibiotik dan antibakteri. Beberapa serotipe *Escherichia coli* kerap kali resisten terhadap beberapa antibiotik sehingga perlu dilakukan uji sensitivitas antibiotik. Jika memungkinkan, uji ini perlu dilakukan pada setiap jenis *Escherichia coli* yang diisolasi pada suatu kasus tertentu agar pengobatan menjadi lebih efisien (Tabbu, 2008).

Infeksi oleh *Escherichia coli* dapat diobati menggunakan sulfonamida, ampisilin, sefalosporin, kloramfenikol, tetrasiklin dan aminoglikosida. Aminoglikosida kurang baik diserap oleh gastrointestinal, dan mempunyai efek beracun pada ginjal. Jenis antibiotik yang paling sering digunakan adalah ampisilin (Jawetz, 1995).

Pada kasus *Colibacillosis*, pemberian antibiotika khloramfenikol apabila diizinkan pemakaiannya secara intravena atau intramuskuler dengan dosis 10 mg/kg berat badan dapat pula dicoba, begitu pula pemberian obat-obat spasmotilitika dan protektiva, meskipun mungkin tidak banyak manfaatnya, dianjurkan pula untuk dicoba. Pemberian antibiotika secara oral mungkin menghasilkan akibat negatif, yaitu kemungkinan terbebaskannya endotoksin secara langsung sebagai akibat kematian dan terlarutnya sel-sel kuman *Escherichia coli*. Toksin tersebut dapat mengakibatkan kematian mendadak karena terjadinya *shock* endotoksin (Subronto, 2008).

2.4 Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses komponen aktif yang terkandung dalam tanaman menggunakan bahan pelarut yang sesuai dengan komponen aktifnya (Yuliani dan Satu, 2012). Ekstraksi adalah teknik penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari kandungan atau bahan yang tidak larut dalam pelarut cair. Hasil yang didapatkan dari proses ekstraksi dinamakan ekstrak atau sediaan kental yang diperoleh dari mengekstraksi zat aktif yang dimiliki, simplisia menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian dimaserasi dan diperlakukan sedemikian rupa sampai hasil yang diinginkan. Cairan penyaring yang biasa digunakan untuk ekstraksi adalah air, etanol, dan etanol air atau eter (Dirjen POM, 2000). Ekstraksi yang benar dan tepat tergantung dari jenis senyawa, tekstur, dan jenis bahan air bahan tumbuhan yang akan diekstraksi (Harbone, 1996).

terdapat metode-metode ekstraksi yaitu sebagai berikut (Handa *et al.*,



a. Maserasi

Maserasi merupakan suatu proses dimana seluruh simplisia ditempatkan dalam wadah tertutup dengan pelarut dan didiamkan pada suhu kamar untuk jangka waktu minimal 3 hari dengan sering diaduk sampai simplisia tersebut larut. Setelah itu, campuran tersebut kemudian disaring, proses ekstraksi dihentikan. Menurut Mukhriani (2014) ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Kerugian utama dari metode maserasi ini adalah memakan banyak waktu, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan besar kemungkinan beberapa senyawa hilang. Selain itu, beberapa senyawa mungkin saja sulit diekstraksi pada suhu kamar. Namun di sisi lain, metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil.

b. Perkolasi

Perkolasi adalah prosedur yang paling sering digunakan untuk mengekstrak bahan aktif dalam penyusunan tingtur dan ekstrak fluida. Bahan-bahan padat dibasahi dengan jumlah pelarut spesifik yang tepat dan didiamkan selama kurang lebih 4 jam dalam wadah perkolator, setelah itu massa dikemas dan bagian atas perkolator ditutup. Pelarut tambahan, ditambahkan untuk membentuk lapisan dangkal di atas massa, dan campuran dibiarkan basah dalam cerek penapis tertutup selama 24 jam. Outlet perkolator kemudian dibuka dan cairan yang terkandung di dalamnya diperbolehkan menetes perlahan. Pelarut tambahan ditambahkan sesuai yang diperlukan, sampai tindakan meresap sekitar tiga-perempat dari volume yang dibutuhkan dari produk jadi. Kelebihan dari metode ini adalah sampel senantiasa dialiri oleh pelarut baru. Sedangkan kerugiannya adalah jika sampel dalam perkolator tidak homogen maka pelarut akan sulit menjangkau seluruh area. Selain itu, metode ini juga membutuhkan banyak pelarut dan memakan banyak waktu (Mukhriani, 2014).

c. Infus

Metode infusi merupakan metode dengan maserasi simplisia pada waktu singkat dengan menggunakan air dingin atau mendidih. Ini adalah cara yang dapat digunakan pada simplisia yang mudah larut. Temperatur yang terukur menurut Erawati (2012) yaitu 96°C - 98°C selama 15 – 20 menit.

d. Digesti

Metode digesti adalah metode bentuk maserasi yang dengan suhu yang cukup tinggi, dengan efisiensi pelarut yang cukup meningkat. Temperatur menurut Erawati (2012) sekitar 40°C - 50°C.

e. Dekok / rebusan

Dalam proses ini, simplisia direbus dalam volume tertentu air untuk waktu yang ditentukan dan lebih lama dari infusa, kemudian didinginkan dan disaring atau disaring. Prosedur ini cocok untuk mengekstraksi, konstituen panas stabil larut dalam air. Rasio mulai dari simplisia ke air yang tetap, misalnya 1: 4 atau 1:16, Volume ini kemudian dibawa ke seperempat volume awalnya dengan selama prosedur ekstraksi. Kemudian, ekstrak terkonsentrasi disaring dan seperti atau diproses lebih lanjut (Mukhriani, 2014).

f. Dekokletasi

Dalam metode ini, dilakukan penggilingan pada simplisia dengan alat Proses ini terus menerus dan dilakukan sampai setetes pelarut dari tabung



siphon tidak meninggalkan residu saat menguap. Keuntungan dari metode ini adalah proses ekstraksi yang kontinyu, sampel terekstraksi oleh pelarut murni hasil kondensasi sehingga tidak membutuhkan banyak pelarut dan tidak memakan banyak waktu. Kerugiannya adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi karena ekstrak yang diperoleh terus-menerus berada pada titik didih (Mukhriani, 2014).

g. Reflux

Pada metode reflux, sampel dimasukkan bersama pelarut ke dalam labu yang dihubungkan dengan kondensor. Pelarut dipanaskan hingga mencapai titik didih. Uap terkondensasi dan kembali ke dalam labu (Mukhriani, 2014).

h. Sonikasi

Sonikasi merupakan salah satu teknik ekstraksi yang menggunakan energi tambahan berupa vibrasi ultrasonik untuk meningkatkan interaksi antara zat yang akan diambil dengan pelarutnya. Penggunaan gelombang ultrasonik dapat meningkatkan rendemen dan kualitas produk yang dihasilkan (Supardan *et al.*, 2011).

2.5 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan uji kualitatif kandungan senyawa kimia dalam bagian tumbuhan, terutama kandungan metabolit sekunder yang di antaranya adalah flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, terpenoid dan sebagainya. Skrining fitokimia harus memenuhi beberapa persyaratan antara lain sederhana, cepat, dapat dilakukan dengan peralatan minimal, bersifat semikuantitatif yaitu memiliki batas kepekaan untuk senyawa yang bersangkutan, selektif terhadap golongan senyawa yang dipelajari (Septyaningsih, 2010).

Hasil yang didapat dari skrining fitokimia dapat ditegaskan dengan uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Karena berfungsi sebagai penegasan, maka uji KLT hanya dilakukan untuk golongan-golongan senyawa yang menunjukkan hasil positif pada skrining fitokimia seperti flavonoid. Uji KLT pada tanin dan polifenol tidak dilakukan karena tidak ditemukan prosedur yang tepat (Harborne, 1996 dalam Marliana *et al.*, 2005).

2.5.1 Alkaloid

Alkaloid merupakan metabolit sekunder terbesar pada tumbuhan. Alkaloid merupakan senyawa yang bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen, biasanya dalam gabungan, sebagian bagian dari sistem siklik. Alkaloid sering beracun bagi manusia dan banyak yang mempunyai kegiatan fisiologi yang menonjol, jadi digunakan secara luas dalam bidang pengobatan. Alkaloid biasanya tak berwarna, sering kali bersifat optis aktif, kebanyakan berbentuk kristal tetapi hanya sedikit yang berupa cairan (misalnya nikotin) pada suhu kamar. Uji sederhana, tetapi sama sekali tidak sempurna, untuk alkaloid dalam daun atau buah segar adalah rasa pahitnya di lidah. Senyawa penyusun alkaloid yang umum adalah asam amino. Meskipun sebenarnya biosintesis alkaloid lebih rumit (Harborne, 1987).

Senyawa alkaloid memiliki penghambatan dengan cara mengganggu penyusunan peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel



tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Juliantina *et al.*, 2008). Selain itu, menurut Gunawan (2009), mengatakan bahwa di dalam senyawa alkaloid terdapat gugus basa yang mengandung nitrogen akan bereaksi dengan senyawa asam amino yang mengandung dinding sel bakteri dan DNA bakteri. Reaksi ini mengakibatkan terjadinya perubahan struktur dan susunan asam amino, sehingga akan menimbulkan perubahan keseimbangan genetik pada rantai DNA sehingga akan mengalami kerusakan akan mendorong terjadinya lisis sel bakteri yang mengakibatkan kematian sel bakteri.

2.5.2 Saponin

Saponin merupakan senyawa aktif permukaan dan bersifat seperti sabun, serta dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya membentuk busa dan menghemolisis sel darah. Pencarian saponin dalam tumbuh-tumbuhan telah dirangsang oleh kebutuhan akan sumber sapogenin yang mudah diperoleh dan dapat diubah di laboratorium menjadi sterol hewan yang berkhasiat penting, misalnya kortison, estrogen kontraseptif, dll. Senyawa yang telah digunakan hekogenin dari *Agave*, diosgenin, serta yamogenin dari jenis *Dioscorea*. Dari segi ekonomi saponin penting juga karena kadang-kadang menimbulkan keracunan pada ternak, misalnya saponin alfalfa, *Medicago sativa*, atau karena rasanya manis, misalnya glizirizin dari akar manis, *Glycyrrhiza glabra*. Pola glikosida saponin kadang-kadang rumit, banyak saponin yang mempunyai satuan gula sampai lima dan komponen yang umum ialah asam glukuronat (Harborne, 1996).

2.5.3 Flavonoid

Flavonoid merupakan metabolit sekunder yang ditandai dengan inti flavan dan kerangka karbon C6-C3-C6. Ciri dan struktur dasar dari flavonoid adalah inti *2-fenil-benzo- γ -pyrane* yang terdiri dari dua cincin benzena yang dihubungkan melalui cincin pyran heterosiklik (Kumar *et al.*, 2011).

Flavonoid terutama berupa senyawa yang larut dalam air. Mereka dapat diekstraksi dengan etanol 70 % dan tetap ada dalam lapisan air setelah ekstrak dikocok dengan eter dan minyak bumi. Flavonoid berupa senyawa fenol, karena itu warnanya berubah bila ditambah basa atau amonia. Flavonoid mengandung sistem aromatik yang terkonyugasi. Pada umumnya terikat pada gula sebagai glikosida dan aglikon. Flavonoid terdapat dalam semua tumbuhan berpembuluh tetapi beberapa kelas lebih tersebar dari pada yang lainnya; flavon dan flavonol tersebar merata, sedangkan isoflavon dan biflavonol hanya terdapat pada beberapa suku tumbuhan (Harborne, 1987).

Flavonoid telah dilaporkan memiliki berbagai aktifitas biologis, yaitu antiinflamasi, antibakteri, antivirus, anti alergi, antitumor sitotoksik, pengobatan penyakit neurodegeneratif dan vasodilator. Flavonoid mempunyai aktivitas antioksidan yang kuat yang merupakan pendonor hidrogen yang sangat baik. Flavonoid mempunyai aktivitas antioksidan lebih baik daripada vitamin C (asam askorbat) vitamin E (tokoferol) yang merupakan antioksidan mayor dalam tubuh (Gupta, 2009).

Mekanisme kerja flavonoid berfungsi sebagai antibakteri dengan cara mengikat senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu membran sel bakteri. Mekanisme kerjanya dengan cara mendenaturasi



protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi (Juliantina, 2008).

2.5.4 Tanin

Tanin adalah senyawa fenolik kompleks yang memiliki berat molekul 500-3000. Tanin dibagi menjadi dua kelompok atas dasar tipe struktur dan aktivitasnya terhadap senyawa hidrolitik terutama asam, yaitu tanin terkondensasi (*condensed tannin*) dan tanin yang dapat dihidrolisis (*hydrolyzable tannin*) (Hagerman, 2002). Pada umumnya tanin terdistribusi dalam kingdom tumbuhan Gymnospermae dan Angiospermae yang terdapat khusus dalam jaringan kayu. Tanin lebih banyak terdapat dalam tumbuhan dikotil daripada tumbuhan monokotil. Tanin dalam jaringan tumbuhan terletak pada bagian tunas, daun (diatas epidermis yang dapat digunakan sebagai pelindung dari serangan predator), akar (dalam hipodermis), batang (pada floem sekunder dan xilem) serta lapisan antara epidermis dan korteks (Harborne, 1987).

Tanin memiliki aktivitas antibakteri, secara garis besar mekanisme yang diperkirakan adalah toksisitas tanin dapat merusak membran sel bakteri, senyawa astringent tanin dapat menginduksi pembentukan kompleks ikatan tanin terhadap ion logam yang dapat menambah daya toksisitas tanin. Mekanisme kerja tanin diguga dapat mengekrutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri. Akibat terganggunya permeabilitas, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat dan mati (Ajizah, 2004).

