

## Penelitian Asli

# AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI ETIL ASETAT KOPI ROBUSTA TERHADAP STAPHYLOCOCCUS AUREUS DAN SALMONELLA TYPHI

Dwi Puji Rahayu<sup>1</sup>, Retno Sintowati<sup>1</sup>, Dodik  
Nursanto<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Kedokteran, Universitas  
Muhammadiyah Surakarta

### ABSTRAK

**Pendahuluan:** Penyakit infeksi masih menjadi masalah utama di Dunia, terutama di negara berkembang seperti Indonesia. Bakteri Gram positif dan Gram negatif yang masih menjadi penyebab infeksi tersering adalah *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*. Antibiotik dapat mencegah aktivitas bakteri pada saat terjadi infeksi namun penggunaan yang tidak tepat dapat merusak flora normal dan menyebabkan resistensi terhadap antibiotik tersebut. Kopi merupakan tanaman yang mempunyai kandungan senyawa kimia dengan potensi antibakteri, yaitu flavonoid dan alkaloid. Kopi robusta mempunyai kandungan senyawa kimia lebih banyak daripada jenis kopi yang lain.

**Metode:** Penelitian ini termasuk dalam penelitian eksperimental laboratorium. Metode yang digunakan adalah *post-test only control group design*, yaitu dengan memberikan fraksi etil asetat ekstrak etanol biji kopi robusta dengan konsentrasi 2.5%, 5%, 10% dan 15% terhadap pertumbuhan koloni bakteri *S. aureus* dan *S. typhi*.

**Hasil:** Hasil penelitian ini adalah terbentuknya zona bening disekitar media agar. Zona bening yang terbentuk menunjukkan adanya efek dari fraksi etil asetat dalam menghambat aktivitas bakteri yang disebut sebagai zona hambat. Hasil zona hambat terbesar fraksi etil asetat dengan konsentrasi 15% untuk bakteri *S. typhi* adalah sebesar 8.13 mm dan bakteri *S. aureus* memiliki zona hambat terbesar 3.8 mm.

**Pembahasan:** Zona hambat yang terbentuk di sekitar media agar menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dari fraksi etil asetat ekstrak etanol biji kopi robusta.

**Simpulan:** Fraksi etil asetat ekstrak etanol biji kopi robusta mempunyai aktivitas antibakteri.

**Kata Kunci :** Antibakteri, Fraksi Etil Asetat, Kopi Robusta, Zona hambat

## ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF ETHYL ACETIC FRACTION OF ROBUSTA COFFEE ON STAPHYLOCOCCUS AUREUS AND SALMONELLA TYPHI

### ABSTRACT

**Introduction:** Infectious diseases are still a major problem in the world, especially in developing countries like Indonesia. Gram-positive and Gram-negative bacteria that are still the most common causes of infection are *Staphylococcus aureus* and *Salmonella typhi*.



Antibiotics can prevent bacterial activity during an infection, but improper use can damage normal flora and cause resistance to these antibiotics. Coffee is a plant that has a chemical compound sac with antibacterial potential, namely flavonoids and alkaloids. Robusta coffee contains more chemical compounds than other types of coffee.

**Methods:** This study was included in the experimental laboratory research. The method used is a post-test only control group design, by giving ethyl acetate fraction of Robusta coffee ethanol extract with concentrations of 2.5%, 5%, 10% and 15% on the growth of bacterial colonies of *S. aureus* and *S. typhi*.

**Results:** The results of this study were the formation of clear zones around agar media. Clear zone formed shows the effect of ethyl acetate fraction in inhibiting bacterial activity which is called as inhibitory zone. The highest inhibition zone yield of ethyl acetate fraction with a concentration of 15% for *S. typhi* bacteria was 8.13 mm and *S. aureus* bacteria had the largest inhibitory zone 3.8 mm.

**Discussion:** Inhibited zones formed around the media in order to show the antibacterial activity of the ethyl acetate fraction of Robusta coffee ethanol extract.

**Conclusion:** The ethyl acetate fraction of robusta coffee bean ethanol extract has antibacterial activity.

**Keywords:** Antibacterial, Ethyl Acetate Fraction, Robusta coffee, Obstacles zone

## 1. PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan salah satu masalah kesehatan yang masih menempati urutan teratas di masyarakat. Salah satu contoh penyakit infeksi yang sering terjadi dan dijumpai yaitu demam tifoid, yang disebabkan oleh *Salmonella typhi* bakteri Gram negatif. Penyakit ini ditularkan melalui perantara air (*water-borne*) dan makanan (*food borne*).<sup>[5,8,4]</sup>

Penyakit infeksi yang masih sering dijumpai selain disebabkan oleh *S.typhi*, juga sering disebabkan oleh *Staphylococcus aureus*. *S. aureus* termasuk bakteri Gram positif penyusun flora normal yang biasa terdapat pada kulit, saluran pernafasan, dan saluran pencernaan makanan. Bakteri tersebut dapat berubah menjadi patogen jika jumlahnya dalam tubuh berlebih.<sup>[10]</sup>

Infeksi yang disebabkan oleh bakteri dapat diterapi menggunakan antibiotik atau antibakteri yang berfungsi membunuh bakteri penyebab infeksi tersebut. Antibiotik atau antibakteri yang tersedia umumnya memiliki spektrum yang luas, sehingga efek sampingnya mampu merusak flora normal apabila digunakan dalam jangka waktu yang panjang, serta menyebabkan resistensi terhadap antibiotik tersebut. Oleh karena

itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mendapatkan antibakteri yang lebih baik dengan efek samping minimal.<sup>[2]</sup>

Kopi merupakan tanaman yang kandungan senyawa kimianya diduga mempunyai potensi sebagai antibakteri. Kopi merupakan salah satu tanaman dari keluarga *Rubiaceae* yang banyak diproduksi dan dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia dan dunia.<sup>[3]</sup>

Biji kopi mengandung senyawa kimia antioksidan yang berfungsi sebagai pengikat senyawa radikal bebas. Senyawa polifenol yang dihasilkan dari proses ekstraksi kopi mampu mengurangi kadar logam dan membunuh bakteri penyebab penyakit seperti *S. aureus* dan *Escherichia coli*. Aktivitas antibakteri kopi terhadap bakteri Gram positif dan Gran negatif juga disebabkan karena adanya kandungan senyawa selain trigonelline, kafein, dan  $\alpha$ -dicarbonyl.<sup>[7,1]</sup>

Dua jenis kopi yang sering dibudidayakan yaitu kopi arabika (*Coffea arabica*) dan kopi robusta (*C. canephora*). Kopi robusta memiliki kandungan senyawa kimia dua kali lebih banyak daripada kopi arabika.<sup>[3]</sup>

Penelitian Fraksi etil asetat biji kopi robusta yang dilakukan oleh Nugraha menunjukkan bahwa kopi robusta memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli* dengan zona hambat maksimum adalah 8.11 mm pada konsentrasi 10%.<sup>[6]</sup>

Penelitian yang dilakukan oleh Tanauma dengan memberikan ekstrak biji kopi robusta (*C. canephora*) dengan konsentrasi 10% terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* menghasilkan zona hambat sebesar 22,5 mm, dengan konsentrasi 50% sebesar 24 mm dan dengan konsentrasi 100% sebesar 27 mm.<sup>[9]</sup>

Berdasarkan penelitian sebelumnya maka dalam pengujian fraksi etil asetat ekstrak etanol biji kopi robusta ini menggunakan konsentrasi 2.5%, 5%, 10% dan 15%.

## 2. METODE

### 2.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi dan Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surakarta pada bulan Desember 2019 sampai Januari 2020.

### 2.2 Jenis Penelitian

Penelitian eksperimental laboratorium ini dilakukan dengan metode *post-test only control group design*. Fraksi etil asetat ekstrak etanol biji kopi robusta dengan konsentrasi 2.5%, 5%, 10% dan 15% diujikan pada koloni bakteri *S. aureus* dan *S. typhi* pada media agar dan selanjutnya diamati zona hambat pada pertumbuhan koloni bakteri tersebut.

### 2.3 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah pisau, masker, sarung tangan (*handscoon*), erlenmeyer, timbangan analitik, gelas ukur, gelas kimia, cawan petri, corong pisah, autoklaf, pinset, spatula, bunsen, pipet tetes, ose, batang pengaduk, rak tabung reaksi, tabung reaksi lemari pendingin, *incubator*, cakram (*paper disc*), mikropipet, pot, jangka sorong.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini ialah sampel biji kopi

robusta, etanol 70%, etil asetat, larutan NaCl 0,9%, aquades, koloni *S. typhi* dan *S. aureus*, Nutrien agar, kloramfenikol *paper disc*, tetrasiklin *paper disc*, alkohol, label, *tissue*, kertas saring.

## 2.4 Prosedur Penelitian

### 2.4.1 Ekstraksi

Sampel sebanyak 1.000 g diekstraksi secara maserasi menggunakan etanol 70% sampai terendam seluruhnya. Wadah maserasi ditutup dan disimpan selama 24 jam ditempat yang terlindung dari sinar matahari sambil sesekali diaduk. Maserasi dilakukan selama 4x24 jam. Sampel yang telah direndam disaring, terbentuk debris 1 dan filtrat 1. Proses remaserasi dilakukan selama 3 hari dengan merendam debris 1 dengan pelarut etanol 70%. Berselang 3 hari kemudian disaring menggunakan kertas saring menghasilkan filtrat 2 dan debris 2. Filtrat 1 dan 2 dicampurkan menjadi satu kemudian disaring, lalu hasil penyaringan kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* dan *waterbath* hingga diperoleh ekstrak kental sebanyak 166 g.<sup>[6]</sup>

### 2.4.2 Fraksinasi

Fraksinasi dilakukan dengan metode cair-cair menggunakan pelarut etil asetat. Ekstrak sebanyak 10 g dilarutkan dengan air sebanyak 100 ml diaduk hingga homogen dan ditambahkan pelarut etil-asetat sebanyak 300 ml selanjutnya dimasukkan ke dalam corong pisah dikocok hingga terpisah 2 lapisan, lapisan atas merupakan fase etil asetat kemudian ditampung pada wadah dan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dan *water bath*.<sup>[6]</sup>

### 2.4.3 Sterilisasi dan Pembuatan Media

#### 2.4.3.1 Sterilisasi Alat

Alat-alat kaca disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Pinset dan ose disterilkan dengan dipijarkan diatas api bunsen.<sup>[6]</sup>

#### 2.4.3.2 Pembuatan Media Nutrient Agar

Nutrien Agar (NA) sebanyak 10,08 g ditimbang dan ditambahkan dengan aquadest sampai 360 ml dan

dilarutkan hingga homogen, kemudian disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, dan dibiarkan sampai media cukup dingin. Media NA yang dingin kemudian dituang ke dalam 12 cawan petri masing-masing sebanyak 20 ml dan dibiarkan hingga memadat. [6]

#### 2.4.3.3 Pembuatan Media Agar Miring

Nutrien agar (NA) sebanyak 10 ml dituang pada tabung reaksi kemudian disumbat dengan kapas steril dan dimiringkan sekitar 45°. [6]

#### 2.4.4 Uji Aktivitas Antibakteri

##### 2.4.4.1 Pembuatan Larutan standar Mc Farland 0,5

Larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1% sebanyak 9,95 ml dicampurkan dengan larutan BaCl<sub>2</sub>. 2H<sub>2</sub>O 1,75% sebanyak 0,05% ml dalam erlenmeyer, dikocok sampai terbentuk larutan yang keruh sebagai standar kekeruhan suspensi bakteri. [6]

##### 2.4.4.2 Pembuatan Suspensi Bakteri

*S. aureus* dan *S. typhi* diambil kurang lebih 1 ose kemudian disuspensikan ke dalam tabung yang berisi 10 ml larutan NaCl 0,9%. Suspensi tersebut kemudian dibandingkan dengan standar kekeruhan larutan *Mc Farland* 0,5. [6]

##### 2.4.4.3 Kontrol Positif dan Kontrol Negatif

Kontrol positif menggunakan kloramfenikol dan tetrasiklin *paper disc* sedangkan kontrol negatif menggunakan *aquadest*. [6]

##### 2.4.4.4 Pembuatan Larutan

Larutan stok 100% dibuat dengan cara melarutkan 5 g fraksi etil asetat dengan *aquadest* hingga 5 ml. Larutan uji fraksi etil asetat 2,5%, 5%, 10% dan 15%, dibuat dengan cara mengambil masing-masing sebanyak 0,125 ml, 0,25 ml, 0,50 ml dan 0,75 ml untuk setiap konsentrasi dan dicukupkan dengan *aquadest* hingga 5 ml. [6]

##### 2.4.4.5 Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi agar disk. Kertas cakram yang digunakan berukuran 6 mm, digunakan

untuk tempat fraksi etil asetat yang akan diujikan. Media agar dituang masing-masing sebanyak 20 ml ke dalam 18 cawan petri hingga memadat kemudian suspensi bakteri dioleskan kedalam media agar tersebut. Kertas cakram diisi fraksi etil asetat dengan berbagai konsentrasi yang sudah ditentukan menggunakan mikropipet sebanyak 20 µL dan kemudian diteteskan ke dalam cawan petri dengan pinset lalu diinkubasi selama 24 jam. [6]

##### 2.4.4.6 Pengukuran Zona Bening

Diameter zona bening diukur dalam satuan milimeter (mm) menggunakan jangka sorong. Interpretasi hasil diperoleh dari diameter zona bening horizontal dijumlahkan dengan diameter zona bening vertikal dibagi dua kemudian dikurangi diameter disk 6 mm. [6]

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4. 3.1 *S. typhi*

Perlakuan	Nilai P	Hasil
Kontrol (+) dan Kontrol (-)	0.014	Bermakna
Kontrol (+) dan 15%	0.021	Bermakna
Kontrol (+) dan 10%	0.021	Bermakna
Kontrol (+) dan 5%	0.021	Bermakna
Kontrol (+) dan 2.5%	0.021	Bermakna
Kontrol (-) dan 15%	0.014	Bermakna
Kontrol (-) dan 10%	0.014	Bermakna
Kontrol (-) dan 5%	0.014	Bermakna
Kontrol (-) dan 2.5%	0.014	Bermakna
Konsentrasi 15% dan 10%	0.546	Tak Bermakna
Konsentrasi 15% dan 5%	0.885	Tak Bermakna
Konsentrasi 15% dan 2.5%	0.149	Tak Bermakna
Konsentrasi 10% dan 5%	0.773	Tak Bermakna
Konsentrasi 10% dan 2.5%	0.386	Tak Bermakna
Konsentrasi 5% dan 2.5%	0.309	Tak Bermakna

**Gambar 1.** Hasil uji Post Hoc Man Whitney pada *S. typhi*

Data hasil penelitian yang didapatkan setelah dilakukan uji *Post Hoc Man Whitney* menunjukkan hasil yang signifikan bermakna pada kelompok kontrol negatif dibandingkan dengan kelompok perlakuan. Nilai p (<0.014) yang diperoleh mengindikasikan bahwa terdapat aktivitas antibakteri pada konsentrasi 2.5%, 5%, 10% dan 15% (nilai p (<0.05)).

Data yang didapatkan dari kontrol positif yang dibandingkan dengan kontrol negatif menunjukkan nilai p (<0.014). Kontrol positif digunakan sebagai kontrol pembanding untuk menguji potensi fraksi

etil asetat ekstrak etanol biji kopi robusta (*C. canephora*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. typhi*. Data kontrol positif dengan perlakuan konsentrasi 2.5%, 5%, 10% dan 15% menunjukkan hasil yang signifikan bermakna dengan nilai p (<0.021). Berdasarkan hasil tersebut dapat dikatakan bahwa fraksi etil asetat ekstrak etanol biji kopi robusta pada semua konsentrasi perlakuan mempunyai aktivitas anti bakteri secara bermakna (p<0.05), akan tetapi untuk efek potensi yang dihasilkan belum dapat dikategorikan “menyamai” potensi antibakteri kloramfenikol pada kontrol positif.

Data yang diperoleh pada sesama kelompok perlakuan dengan konsentrasi yang berbeda menunjukkan nilai yang signifikan bermakna (p (<0.021)) pada semua perbandingan kelompok konsentrasi, kecuali pada perbandingan kelompok konsentrasi 10% dengan konsentrasi 5% dan konsentrasi 5% dengan konsentrasi 2.5% yang menunjukkan hasil tidak bermakna (nilai p >0.005). Hal ini menunjukkan adanya persamaan potensi aktivitas antibakteri pada konsentrasi 10% dengan konsentrasi 5%, dan konsentrasi 5% dengan konsentrasi 2.5%.

### 3.2 *S. aureus*

Perlakuan	Nilai P	Hasil
Kontrol (+) dan (-)	0.014	Bermakna
Kontrol (+) dan 15%	0.021	Bermakna
Kontrol (+) dan 10%	0.021	Bermakna
Kontrol (+) dan 5%	0.021	Bermakna
Kontrol (+) dan 2.5%	0.021	Bermakna
Kontrol (-) dan 15%	0.014	Bermakna
Kontrol (-) dan 10%	0.014	Bermakna
Kontrol (-) dan 5%	0.014	Bermakna
Kontrol (-) dan 2.5%	0.014	Bermakna
Konsentrasi 15% dan 10%	0.021	Bermakna
Konsentrasi 15% dan 5%	0.021	Bermakna
Konsentrasi 15% dan 2.5%	0.021	Bermakna
Konsentrasi 10% dan 5%	0.386	Tak Bermakna
Konsentrasi 10% dan 2.5%	0.021	Bermakna
Konsentrasi 5% dan 2.5%	0.083	Tak Bermakna

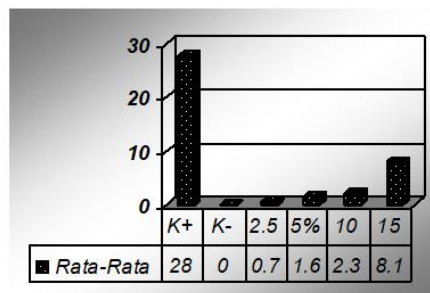
**Gambar 2.** Hasil uji Post Hoc Man Whitney pada *S. aureus*

Data yang diperoleh pada kelompok kontrol negatif dengan

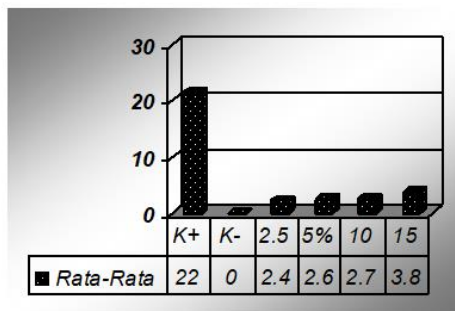
kelompok perlakuan. Menunjukkan nilai p (<0.021). Hal tersebut mengindikasikan adanya aktivitas antibakteri fraksi etil asetat ekstrak etanol biji kopi robusta (*C. canephora*) pada bakteri *S. aureus* dengan konsentrasi 2.5%, 5%, 10% dan 15% (p (<0.05)). Data pada kontrol positif dengan kelompok kontrol negatif menunjukkan bahwa nilai p (<0.014)., sedangkan data pada kontrol positif yang dibandingkan dengan kelompok perlakuan konsentrasi 2.5%, 5%, 10% dan 15% menunjukkan hasil yang signifikan bermakna (p (<0.021)). Hasil tersebut mengindikasikan bahwa secara statistik fraksi etil asetat ekstrak etanol biji kopi robusta mempunyai efek antibakteri pada semua konsentrasi perlakuan, namun efek potensi antibakteri yang dihasilkan belum dapat dikatakan “menyamai” antibakteri tetrasiklin pada kontrol positif. Data yang diperoleh pada sesama kelompok perlakuan dengan konsentrasi yang berbeda menunjukkan nilai yang signifikan tidak bermakna (p (>0.05)) pada semua perbandingan kelompok konsentrasi. Hal tersebut mengindikasikan adanya persamaan potensi aktivitas antibakteri pada semua konsentrasi.

### 3.3 Uji Aktivitas Antibakteri

Hasil rata-rata diameter zona hambat *S. typhi* dan *S. aureus* ditunjukkan pada Gambar 3 dan 4 berikut ini.



**Gambar 3.** Rerata Diameter Zona Hambat pertumbuhan koloni bakteri *S. typhi*

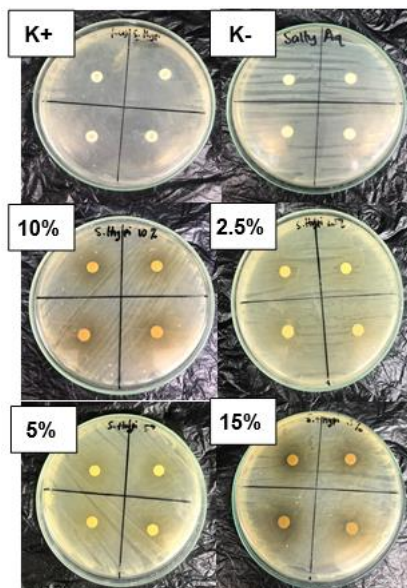


**Gambar 4.** Rerata Diameter Zona Hambat pertumbuhan koloni bakteri *S. aureus*

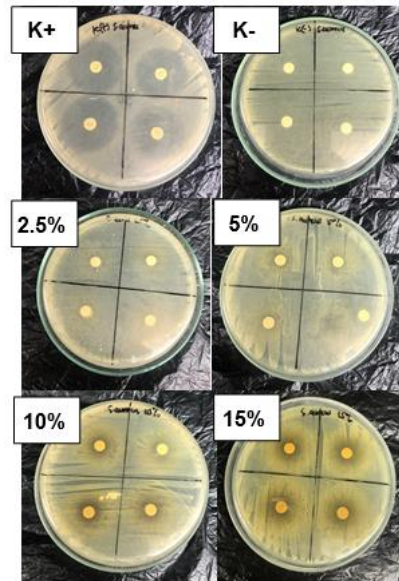
Zona hambat pertumbuhan bakteri *S. typhi* dan *S. aureus* seperti yang disajikan pada Gambar 5 dan 6 menunjukkan adanya zona bening disekitar pertumbuhan koloni bakteri.

Gambar 3 dan 4 menunjukkan rerata diameter zona hambat. Pada *S. typhi*, fraksi etil asetat ekstrak etanol biji kopi robusta (*C. canephora*) pada konsentrasi 15% menghasilkan rata-rata diameter zona hambat sebesar (8.13 mm), konsentrasi 10% (2.33 mm), konsentrasi 5% (1.60 mm) dan konsentrasi 2.5% adalah (0.71 mm).

Pada *S. aureus*, fraksi etil asetat dengan konsentrasi 15% menghasilkan rata-rata diameter zona hambat sebesar (3.8 mm), konsentrasi 10% (2.70 mm), konsentrasi 5% (2.61 mm) dan konsentrasi 2.5% adalah (2.39 mm). Hal



**Gambar 5.** Zona hambat pertumbuhan koloni bakteri *S. typhi*



**Gambar 6.** Zona hambat pertumbuhan koloni bakteri *S. aureus*

ini membuktikan bahwa semakin tinggi konsentrasi fraksi etil asetat, maka semakin besar diameter zona hambat yang terbentuk.

Kontrol positif menunjukkan perbedaan yang nyata, karena menghasilkan aktivitas antibakteri yang paling besar terhadap bakteri dibandingkan dengan kontrol negatif, maupun fraksi etil asetat. Diameter zona hambat kloramfenikol dan tetrasiklin yang terbentuk, lebih besar pada bakteri gram negatif *S. typhi* dibandingkan gram positif *S. aureus*.

Senyawa alkaloid dan flavonoid yang terkandung dalam fraksi etil asetat ekstrak etanol biji kopi robusta diketahui mempunyai potensi sebagai antibakteri. Mekanisme aktivitas biologis senyawa flavonoid dilakukan dengan cara mengganggu metabolisme bakteri yaitu dengan mengikat protein dan merusak dinding sel.<sup>[2]</sup>

Alkaloid merupakan gugus basa yang mengandung nitrogen, Senyawa ini apabila mengalami kontak dengan bakteri akan bereaksi dengan senyawa asam amino penyusun dinding sel dan DNA bakteri penyusun utama sel inti. Perubahan urutan asam amino akan merubah susunan rantai DNA pada inti sel yang semula memiliki susunan asam dan basa yang saling berpasangan.<sup>[5]</sup>

Berdasarkan teori tersebut dan dikaitkan dengan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa pemberian fraksi etil asetat ekstrak etanol biji kopi robusta dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Zona hambat yang tidak terbentuk pada beberapa kelompok konsentrasi fraksi etil asetat kemungkinan dapat disebabkan oleh beberapa faktor. Salah satunya yaitu senyawa aktif tidak dapat terlarut sempurna pada proses ekstraksi dan fraksinasi sehingga aktivitas antibakteri tidak maksimal. Faktor lain yang dapat mempengaruhi proses ekstraksi diantaranya adalah pemilihan pelarut, ukuran dan bentuk partikel, lamanya ekstraksi, dan temperatur ekstraksi.

## 5. SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa fraksi etil asetat biji kopi robusta memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dan *S. typhi*. Semakin tinggi konsentrasi fraksi etil asetat semakin tinggi zona hambat yang terbentuk.

## 6. SARAN

Penelitian ini perlu disempurnakan lagi dengan melakukan uji fitokimia secara kuantitatif untuk mengetahui senyawa kimia yang mempunyai peran utama sebagai antibakteri pada hasil fraksinasi biji kopi robusta. Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai bahan acuan, rujukan dan informasi bagi pengembangan penelitian selanjutnya.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Akhlaghi, N. *The antibacterial effects of coffee extract, chlorhexidine, and fluoride against Streptococcus mutans and Lactobacillus plantarum: An in vitro study*. Dent Res J (Isfahan), 2019;16(5):346–353.
2. Choerina, R., Suwendar, Mulqi, L., & Dieni, M. *Potensi Aktivitas Antibakteri dari Fraksi Etil Asetat Daun Jambu Air [Eugenia Aqueum (Burn F.) Alston] terhadap Staphylococcus Aureus dan Escherichia Coli*. Jurnal Ilmiah Farmasi Farmasyifa. 2019;2(1):33-39.
3. Farhaty, N., & Muchtaridi. *Tinjauan Kimia dan Aspek Farmakologi Senyawa Asam Klorogenat pada Biji Kopi : Review*. Farmaka. 2016;14(1):214-216.
4. Jayanti, D. T., Ariyanti, & Masruriati, E. *Uji Aktivitas Antibakteri Infusa dan Sirup Daun Rambutan (Nepheliumlappaceumlinn) Terhadap Bakteri Salmonella typhi Secara In Vitro*. Jurnal Farmasetis. 2017;6(2):71-76.
5. Nugraha, A., & Suwendar, H. S. *Potensi Anti Mikroba dari Rebusan Biji Kopi Robusta (Coffea canephora L) terhadap Bakteri Staphylococcus aureus, Escherichia coli, dan Jamur Candida albicans*. Prosiding Farmasi. 2016;2(2):407-412.
6. Papatungann, W. A., Lolo, W. A., Siampa, J. *PAktivitas Antibakteri dan Analiis KLT-BIOAUTOGRAFI dari fraksi biji kopi robusta (Coffea canephora)*. Pharmacon. 2019;8(3):100-108.
7. Patay. *Antioxidant potential, tannin and polyphenol contents of seed and pericarp of three Coffea species*. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine. 2016;9(4):366–371.
8. Simanjuntak, R. J., & Kurniawaty, E. *Efek Antibakteri Kopi Robusta yang Difermentasi dengan Kombucha Terhadap Salmonella typhi*. J Agromedicine. 2019;6(1).
9. Tanauma, H. A., Citraningtyas, G. & Lolo, W. A. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Kopi Robusta (Coffea Canephora) Terhadap Bakteri Escherichia Coli*. Jurnal Ilmiah Farmasi – UNSRAT. . 2016; 5(4).
10. Yaqin, M. A., & Nurmilawati, M. *Pengaruh Ekstrak Kopi Robusta (Coffea robusta) sebagai Penghambat Pertumbuhan Staphylococcus aureus*. Seminar Nasional XII Pendidikan Biologi FKIP UNS(SP-018-6).2015;867-872.