



**EKSTRAK LIMBAH KULIT KOPI ROBUSTA (*COFFEA CANEPHORA*)
KOMODITAS DAMPIT, KABUPATEN MALANG DALAM MENGHAMBAT
INFEKSI *MULTIDRUG-RESISTANT STAPHYLOCOCCUS AUREUS* (MDR-SA)**

**Anindita Cahyaning Rahayu, Rameyza Alya Chayara Kusuma
Sakinah Hilya Abida, S. Biotek, M.Sc, Wila Azaria, S. Si**

MAN 2 Kota Malang

Jl. Bandung No.7, Penanggungan, Kec. Klojen, Kota Malang, Jawa Timur

anindita35arsip@gmail.com

Abstrak - Dampit, Kabupaten Malang merupakan salah satu penghasil kopi terbesar di Indonesia. Bagian kulit yang diketahui memiliki sifat antibakteri belum dimanfaatkan secara optimal. *Staphylococcus aureus multidrug-resistance* merupakan kondisi di mana bakteri resistensi terhadap berbagai antibiotik. Kulit kopi robusta dapat menjadi alternatif dalam mengatasi resistensi yang disebabkan oleh tingginya penggunaan antibiotik. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis hasil persentase rendemen, karakteristik organoleptik ekstrak etanol kulit kopi robusta. Menganalisis pengujian senyawa limbah kulit kopi robusta khas Malang secara *in silico* dan *in vitro* berdasarkan uji aktivitas antibakteri serta antioksidan. Hasil rendemen sebesar 30,875% dengan karakteristik berwarna coklat pekat, beraroma asam dan konsistensi kental. Ekstrak etanol kulit kopi robusta mengandung senyawa metabolit sekunder flavonoid, tanin, alkaloid, saponin, triterpenoid serta fenol yang dapat membantu merusak dinding sel bakteri sehingga mengoptimalkan penyembuhan infeksi. Berdasarkan pengujian *in silico* dengan mereaksikan dua protein target visualisasi dari *Penicillin Binding Protein 2-alpha* (PBP2a) *Staphylococcus aureus multidrug-resistance* yaitu *methicillin* dan *cephalosporin* (1MWT dan 1VQQ) dengan enam senyawa hasil GC-MS. Didapat senyawa *trans-caryophyllene* dengan nilai *binding affinity* terbaik yakni -6.9 dan RMSD 0. Zona hambat terbesar ditemukan pada konsentrasi 30% dengan diameter zona bening sebesar 12,00 mm yang memiliki daya hambat antibakteri kategori kuat. Selain itu, ekstrak etanol kulit kopi robusta juga memiliki potensi aktivitas antioksidan yang kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 82,884 ppm.

Kata kunci : *robusta, staphylococcus aureus, senyawa, antibakteri*

A. Pendahuluan

1. Latar Belakang

Staphylococcus aureus merupakan bakteri patogen yang menginfeksi dan menyebabkan kerusakan pada kulit seperti luka ulkus diabetikum (Roddu & Rasyid, 2021). Namun dalam beberapa kasus, infeksi bakteri ini bahkan menimbulkan komplikasi (Hanina *et al.*, 2022). Upaya pengobatan yang dilakukan masyarakat dalam mengatasi infeksi *S. aureus* yakni dengan mengonsumsi antibiotik seperti *clindamycine* (Posner, 2021). Namun ketidakpatuhan dalam konsumsi obat, kesalahan pemberian resep dan

tertular oleh pasien terinfeksi justru berpotensi menimbulkan resistensi (Soleha, 2016).

Kondisi resistensi dapat disebabkan oleh kontak langsung dengan pasien seperti melalui *droplet* penderita (Hestika, 2024), maupun tidak langsung melalui penggunaan barang bersama seperti handuk dan lain sebagainya (Bustamam, 2024). Mekanisme resistensi *S. aureus* juga terjadi karena adanya produksi *reactive oxygen species* (ROS) sebagai sistem pertahanan bakteri (Safaatin, 2018). Tidak hanya itu, *S. aureus* dapat menghasilkan enzim beta laktamase, yang dapat mengakibatkan sebagian besar bakteri kebal antibiotik berbagai golongan, yang menimbulkan *multidrug resistant* (MDR) (Aulia, 2017). *Multidrug-resistant S. aureus* (MDR-SA) merupakan kondisi resisten terhadap satu atau lebih golongan antibiotik (Tjahjani, 2018). Saat ini, infeksi MDR-SA menjadi masalah yang serius karena meluasnya resistensi terhadap berbagai antibiotik (Widiastuti, 2018). Hal ini didukung oleh *World Health Organization* (WHO) dalam Estiningsih *et al.*, (2016) bahwa pada 2009, Indonesia menduduki peringkat ke 8 dari 27 negara dengan prevalensi *multidrug-resistant* tertinggi di dunia.

Beberapa alternatif telah diupayakan dalam mengobati infeksi MDR-SA, namun justru ditemukan efek samping yang cukup serius, contohnya pada penggunaan *vancomycin* yang memiliki kekurangan pada mekanisme penghantaran obat serta masih berpotensi resisten (Amelia *et al.*, 2024). Selain itu, penelitian mengenai penemuan antibiotik dari bahan alam untuk menangani kasus resistensi bakteri perlu dilakukan karena aspek bioavailabilitas dan biokompatibilitas yang lebih baik serta risiko toksisitas lebih rendah. Dalam hal ini, limbah kulit kopi berpotensi sebagai antibakteri pada infeksi MDR-SA yang eksplorasi lebih lanjutnya masih terbatas. Padahal, limbah kulit kopi robusta sebagai komoditas lokal Dampit, Kabupaten Malang dapat dijadikan sebagai kandidat, karena memiliki senyawa antibiotik sebagai penghambat serta pembunuh bakteri penginfeksi (Zahroh *et al.*, 2021).

Dampit, Kabupaten Malang terkenal akan tingginya komoditas kopi terutama jenis robusta (Khasna & Kusuma, 2023). Hal ini didukung oleh Dinas Tanaman Pangan, Hortikultura dan Perkebunan Kabupaten Malang, bahwa pada tahun 2023 kopi yang dihasilkan mencapai 800-1.200 kg/ha dengan luasan lahan 3.125 ha. Namun, belum keseluruhan bagian kopi dapat dimanfaatkan secara maksimal. Persentase jumlah kulit pada buah kopi diperkirakan mencapai 45% (Sitorus, 2021). Sehingga, jika dikalkulasikan jumlah limbah kulit kopi per tahun bisa mencapai 1.240 ton. Sementara, kulit kopi robusta masih memiliki kandungan yang tidak kalah penting dengan buah kopi, seperti antosianin, tanin serta antioksidan (Hapsari, 2021).

Berdasarkan urgensi permasalahan yang telah dipaparkan, peneliti melakukan penelitian dengan judul “**Ekstrak Limbah Kulit Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Komoditas Dampit, Kabupaten Malang dalam Menghambat Infeksi *Multidrug-Resistant Staphylococcus aureus* (MDR-SA)**”. Penelitian ini menganalisis potensi aktivitas antibakteri yang terkandung dalam kulit kopi robusta secara *in silico* dan *in vitro* sebagai solusi alternatif pengobatan infeksi *S.aureus* yang resisten terhadap antibiotik.

2. Rumusan Masalah

- a. Bagaimana hasil persentase rendemen ekstrak etanol dan karakteristik organoleptik kulit kopi robusta khas Malang?
- b. Bagaimana pengujian senyawa metabolit sekunder limbah kulit kopi robusta khas Malang secara *in silico* berdasarkan metode *molecular docking*?
- c. Bagaimana pengujian ekstrak kulit kopi robusta khas Malang secara *in vitro* bersarkan uji aktivitas antibakteri sebagai kandidat penanganan infeksi *Multidrug-Resistant Staphylococcus aureus* (MDR-SA)?

3. Tujuan Penelitian

- a. Untuk menganalisis hasil persentase rendemen dari ekstrak etanol kulit kopi robusta dan karakteristik uji organoleptik khas Malang.
- b. Untuk menganalisis pengujian senyawa aktif limbah kulit kopi robusta khas Malang secara *in-silico* berdasarkan metode *molecular docking*.
- c. Untuk menganalisis secara *in vitro* berdasarkan uji aktivitas antibakteri sebagai kandidat terhadap penanganan infeksi *Multidrug-Resistant Staphylococcus aureus* (MDR-SA).

4. Manfaat Penelitian

a. Bagi Pemerintah

Penelitian diharapkan dapat membantu pemerintah sebagai alternatif pengembangan antibiotik baru dan upaya pengolahan limbah kulit kopi robusta komoditas Dampit, Kabupaten Malang yang saat ini belum optimal.

b. Bagi Pelajar

Bahan referensi penelitian pengembangan efektivitas limbah kulit kopi robusta yang kurang optimal pemanfaatannya sebagai alternatif antibiotik penyembuhan MDR-SA serta sebagai bahan kajian dan wawasan baru bagi pelajar dalam lingkup kesehatan.

c. Bagi Masyarakat

Penelitian diharapkan dapat memberikan pengetahuan dan edukasi masyarakat dalam pengolahan limbah kulit kopi robusta sebagai alternatif penyembuhan MDR-

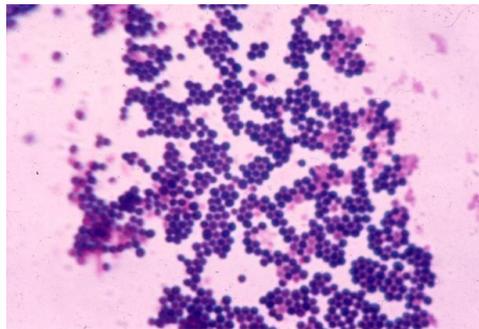
SA.

B. Kajian Teori dan Tinjauan Pustaka

1. Kajian Teori

a. *Staphylococcus aureus*

S. aureus merupakan salah satu jenis bakteri yang paling sering ditemukan karena kemampuan bertahan hidupnya (Rahman & Sumjian, 2021). *S. aureus* dapat hidup pada suhu optimum yakni 20-25°C (Khaerunnisa *et al.*, 2019). Bakteri ini merupakan jenis flora normal pada rongga pernapasan, saluran pencernaan hingga kulit manusia (Rahardjo *et al.*, 2017). Namun dapat menjadi patogen apabila kondisi imunitas sedang menurun hingga ketika jumlahnya sudah melebihi batas normal (Elisya, 2018). *S. aureus* dapat menginfeksi melalui kontak langsung, maupun tidak langsung dari benda terkontaminasi maupun *droplet* penderita (Bush *et al.*, 2023).



(Tamam, 2024)

Gambar 1. Morfologi Bakteri *Staphylococcus aureus* Perbesaran 1000x

S. aureus termasuk ke dalam bakteri Gram positif dengan bentuk bulat berdiameter 0,7-0,9 μm (Juariah *et al.*, 2020). Susunan bakteri ini cenderung tidak beraturan dan berbentuk seperti buah anggur (Wardani *et al.*, 2022). *S. aureus* dapat tumbuh dengan baik di lingkungan dengan oksigen maupun tanpa oksigen, sehingga termasuk fakultatif anaerob (Rokhim, 2023).

b. Multidrug-Resistant *Staphylococcus aureus* (MDR-SA)

Multidrug-Resistant Staphylococcus aureus (MDR-SA) termasuk resisten ganda merupakan kondisi bakteri *S. aureus* mengalami resisten terhadap satu atau lebih golongan antibiotik (Tjahjani, 2018). Hal ini terjadi karena bakteri bermutasi dalam menyesuaikan obat sehingga menyebabkan hilangnya efektivitas antibiotik tersebut (Kinasih, 2021).

Mutasi ini berupa pembentukan lapisan biofilm (Utami *et al.*, 2022), perubahan struktur *penicillin binding protein* (PBP) (Liazarti, 2022), adanya pigmen kuning *S.*

aureus (Khusnan, 2014), ataupun karena produksi toksin seperti hemolisin, leukosidin dan leutoksin (Berube, 2013) yang melindungi bakteri dari fagositosis inang. Mekanisme resistensi *S. aureus* juga terjadi karena adanya produksi ROS sebagai sistem pertahanan bakteri (Safaatin, 2018). Senyawa ROS merupakan salah satu klasifikasi radikal bebas yang memerlukan antioksidan sebagai agen perbaikan (Yuslianti, 2018). Namun, jika terjadi ketidakseimbangan antara produksi ROS dan antioksidan dapat memicu terjadinya stres oksidatif sehingga kembali meningkatkan resistensi (Sudjarwo, 2021).

Salah satu golongan antibiotik yang sering ditemukan pada kasus MDR-SA yakni resisten terhadap golongan β -laktam (*penicillin*) (Astrinawaty, 2022). Hal ini dibuktikan oleh adanya produksi enzim penisilinase pada *S. aureus* yang memecah cincin β -laktam (*penicillin*), sehingga antibiotik menjadi tidak bekerja (Ahmad, 2023). Tidak hanya itu, *cephalosporin* juga sangat umum digunakan sehingga berpotensi tinggi terjadi resistensi (Astuti & Arfania, 2018). Kedua antibiotik tersebut bekerja dengan menghambat sintesis dinding sel bakteri. Namun, pada kasus resisten, bakteri memiliki pertahanan yang lebih kuat sehingga antibiotik tidak mampu menghambat sintesis peptidoglikan dinding sel (Biutifasari, 2018). Gejala utama yang ditimbulkan yakni tidak ada tanda kesembuhan setelah penggunaan berbagai antibiotik (Erlin, 2020) hingga adanya kemerahan pada kulit sampai timbul nyeri (Wulandari, 2023).

c. Kulit Kopi Robusta

Kopi merupakan tanaman perkebunan dengan nilai ekonomis tinggi (Supeno *et al.*, 2018). Dampit, Kabupaten Malang merupakan salah satu penghasil kopi terutama jenis robusta terbesar di Indonesia dengan hampir 90% hasilnya diekspor ke luar negeri (Khasna & Kusuma, 2023). Ciri kopi robusta diantaranya rasa yang lebih pahit, aroma khas terkesan manis, serta teksturnya yang lebih kasar dibanding jenis arabika (Sulistyaningtyas, 2017).



(Dokumentasi Peneliti)

Gambar 2. Kulit kopi robusta

Umumnya, bagian kopi robusta yang dimanfaatkan hanya pada bagian biji, sementara bagian lain belum dioptimalkan. Padahal, kandungan kulit kopi robusta tidak kalah berkhasiat dengan bijinya. Selain itu, jika dibandingkan dengan jenis kopi populer lain seperti arabika, kulit kopi robusta juga memiliki beberapa keunggulan. Berikut rincian komparasi kandungan antara kulit kopi robusta dan arabika pada **Tabel 1.**

Tabel 1. Perbandingan kandungan kulit kopi robusta & arabika

Jenis	Kandungan Robusta	Kandungan Arabika
Antosianin	15,74 mg (Harri, 2016)	13,498 mg (Puspaningrum <i>et al.</i> , 2024)
Antioksidan	70,53% (Ariadi, 2020)	60,25% (Puspaningrum <i>et al.</i> , 2024)
Tanin	3,3% (Amalya, 2023)	2,9% (Amalya, 2023)

Tidak hanya itu, Dampit sebagai lokasi penanaman juga memengaruhi kualitas kandungan pada kulit kopi robusta, yakni karena ketinggiannya (575 mdpl) lebih tinggi dari daerah peghasil kopi lain.

2. Tinjauan Pustaka

Pada penelitian ini, diberikan pembahasan lebih lanjut mengenai *state of the art* penelitian terdahulu sejenis sebagai acuan dasar pengembangan pada penelitian ini sebagaimana dijelaskan pada **Tabel 2.**

Tabel 2. Tinjauan Penelitian Terdahulu

No.	Judul dan Sumber Penelitian	Proses	Analisis
1	<i>Indian Medicinal Plant Extracts to Control Multidrug-resistant S. aureus Including in Biofilms</i> (Panda <i>et al.</i> , 2020)	Ekstraksi sampel, pengujian antibakteri melalui dilusi agar, antibiofilm serta penentuan konsentrasi penghambatannya. Isolat yang digunakan resisten terhadap <i>methicillin</i> , <i>penicillin</i> , <i>aminoglycosides</i> ,	Kelebihan: Penggunaan aseton sebagai pelarut tanaman obat sehingga dapat melunakkan dinding sel untuk mempercepat pengeluaran senyawa Gap Research: Tidak dijelaskan mekanisme terjadinya resistensi dan senyawa yang menjadi antibakteri terutama pada <i>S. aureus</i> secara rinci.

	<i>macrolide- lincosamide- streptogramin, dan tetracycline</i>	
<p>2. <i>Cuminum cyminum</i> L. <i>Essential Oil: A Promising Antibacterial and Antivirulence Agent Against Multidrug-Resistant Staphylococcus aureus</i> (Sharifi <i>et al.</i>, 2021)</p>	<p>Ekstraksi sampel, pengujian antibakteri melalui dilusi agar dengan analisis penghambatan effluks (kemampuan untuk mengekstrusi antibakteri dari sel bakteri) serta analisis GC-MS. Isolat yang digunakan resisten terhadap <i>methicillin</i> dan <i>fluoroquinolone</i></p>	<p>Kelebihan: <i>Cuminum cyminum</i> L. <i>Essential Oil</i> memiliki kemampuan untuk merusak struktur dinding sel pada bakteri serta terdapat pengujian mengenai mekanisme resistensi</p> <p>Gap Research: Terdapat perbedaan senyawa aktif sampel uji dengan hasil penelitian lain yang disebabkan karena kondisi geografis, waktu panen dan faktor lain sehingga perlu adanya analisis lebih lanjut. Selain itu, tanaman yang digunakan sudah banyak dimanfaatkan pada keperluan lain. Sehingga menimbulkan kompetisi untuk penggunaannya.</p>
<p>3. Penelitian ini</p>	<p>Ekstraksi bahan, perhitungan rendemen ekstrak, pengamatan organoleptik, in silico pengujian skrining fitokimia, antibakteri serta antioksidan</p>	<p>Keunggulan penelitian ini:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Penggunaan kulit kopi robusta sebagai komoditas lokal Dampit, Kabupaten Malang - Penggunaan limbah kulit kopi robusta yang turut mengurangi limbah lingkungan - Limbah kulit buah kopi robusta memiliki kandungan metabolit sekunder lebih tinggi dari jenis kopi lain seperti arabika

C. Metode Penelitian

1. Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode in silico dan in vitro. Metode in silico dilakukan

dengan melihat interaksi bakteri MDR-SA dengan senyawa aktif kulit kopi robusta. Sementara, in vitro melalui pengujian persentase rendemen ekstrak, aktivitas antibakteri dan antioksidan.

2. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Olimpiade Sains Terpadu MAN 2 Kota Malang, serta Laboratorium Terpadu Universitas Negeri Malang. Pelaksanaan penelitian dimulai tanggal 10 Juni hingga 5 November 2024.

3. Variabel Penelitian

Variabel pada penelitian ini dijelaskan pada **Tabel 3**.

Tabel 3. Variabel Penelitian

No.	Jenis Variabel	Keterangan
1.	Variabel Bebas	Konsentrasi ekstrak kulit kopi robusta dengan perlakuan kontrol positif (<i>chloramphenicol</i>) dan negatif (<i>Amoxicillin</i>), <i>blank sample</i> serta konsentrasi ekstrak 10%, 20%, 30%.
2.	Variabel Terikat	Pengujian eksperimental dan komputasional melalui skrining fitokimia, uji in silico, uji aktivitas antibakteri dan antioksidan.
3.	Variabel Kontrol	Larutan ekstrak etanol kulit kopi robusta.

4. Sampel dan Populasi

Sampel dan populasi pada penelitian ini dideskripsikan pada **Tabel 4**.

Tabel 4. Sampel dan Populasi

No.	Populasi	Sampel
1.	Ekstrak Limbah Kulit kopi robusta.	Ekstrak limbah kulit kopi robusta 10%, 20%, 30%.
2.	Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .	Isolat <i>Multidrug-resistant Staphylococcus aureus</i> .

5. Sumber Data

a. Sumber Data Primer

Data primer didapat dari eksperimen, observasi serta perhitungan

b. Sumber Data Sekunder

Data sekunder yang didapat yakni buku, jurnal, atikel ilmiah dan *website*.

6. Tahapan Penelitian

a. Perancangan Desain Penelitian

Terdapat satu subjek pada penelitian ini, untuk mendapatkan kombinasi yang efektif maka diperlukan pengulangan variasi sebanyak tiga kali (*triplo*). Penjelasan

selengkapnya variasi sampel pada penelitian ini dapat dilihat pada **Tabel 5**.

Tabel 5. Variasi Konsentrasi Sampel Penelitian

Konsentrasi ekstrak kulit kopi robusta	Perulangan		
	1	2	3
K ₁ (10%)	10%	10%	10%
K ₂ (20%)	20%	20%	20%
K ₃ (30%)	30%	30%	30%
Kontrol Positif	<i>Chloramphenicol</i>	<i>Chloramphenicol</i>	<i>Chloramphenicol</i>
Kontrol Negatif	<i>Amoxicillin</i>	<i>Amoxicillin</i>	<i>Amoxicillin</i>
<i>Blank Sample</i>	Tanpa perlakuan antibiotik	Tanpa perlakuan antibiotik	Tanpa perlakuan antibiotik

b. Pemilihan alat dan bahan penelitian

Penggunaan alat pada penelitian ini yakni *blender*, saringan, Beaker glass, Cawan petri, Erlenmayer, Timbangan digital, Batang pengaduk, Kertas saring, Penggaris, Laptop, Software. Bahan pada penelitian ini yakni limbah kulit kopi robusta, etanol 96%, akuades, isolat MDR-SA, NaOH 10%, FeCl₃ 1%, H₂SO₄ 10%, CH₃COOH, Reagen wagner.

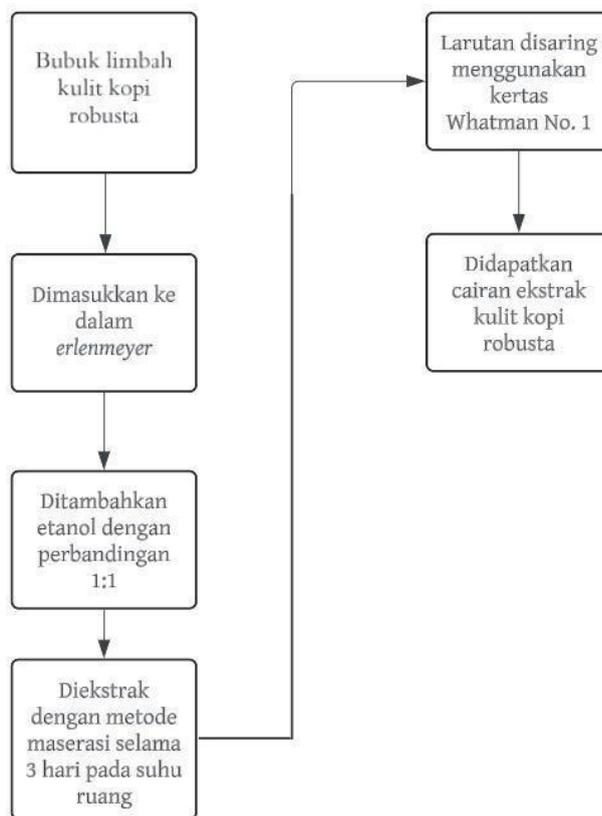
c. Prosedur Pembuatan Ekstrak Limbah Kulit Kopi Robutsa Diagram alir penjelasan pembuatan dijelaskan sebagai berikut.

1) Pembuatan bubuk ekstrak limbah kulit kopi robusta, Dampit (Prayogi, 2019).



Gambar 3. Diagram Pembuatan Bubuk Kulit Kopi Robusta

2) Pembuatan ekstrak limbah kulit kopi robusta (Prayogi, 2019)



Gambar 4. Diagram Pembuatan Ekstrak Kulit Kopi Robusta

d. Metode Pengujian Ekstrak Limbah Kulit kopi robusta

Pengujian ekstrak limbah kulit kopi robusta meliputi skrining fitokimia, *in silico*, pengujian aktivitas antibakteri serta antioksidan dilakukan untuk mendapatkan konsentrasi terbaik sampel uji. Analisis Data dan Penulisan Laporan

Rincian analisis data pada penelitian ini dipaparkan sebagai berikut.

1) Rendemen Ekstrak

Persentase rendemen ekstrak didapat dengan rumus (Ningsih *et al.*, 2022):

$$\% \text{ Rendemen ekstrak} = \frac{\text{Berat ekstrak kental}}{\text{Berat bubuk awal}} \times 100 \quad (1)$$

2) *In silico*

Mengeksplorasi interaksi antara senyawa pada sampel dan protein 3VSL berbasis *molecular docking* dengan melihat nilai *binding affinity*, dimana semakin kecil nilai *binding affinity* maka semakin stabil ikatannya (Gandu, 2021). Didukung dengan validasi *root mean square deviation* (RMSD), dimana semakin kecil nilainya maka semakin kecil kesalahan dalam prediksi interaksi (Pratama, 2021). Selanjutnya dilakukan uji toksisitas terhadap senyawa sesuai dengan aturan *Lipinski*.

3) Aktivitas Antibakteri

Menentukan konsentrasi hambat minimum dengan rumus (Surjowardojo, 2015):

$$\frac{\phi_{zona\ bening\ (mm)} - \phi_{blank\ disc\ (mm)}}{\phi_{blank\ disc\ (mm)}} \times 100\% \quad (2)$$

4) Uji Antioksidan

Pereaksian reagen dan sampel selama 30 menit dalam ruangan minim cahaya pada suhu ruang, kemudian hasil inkubasi diukur absorbansinya menggunakan ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) reader pada panjang gelombang 520 nm dengan rumus (Cahyaningsih *et al.*, 2019):

$$\frac{((\sum\ absorbansi\ kontrol\ negatif) - (\sum\ absorbansi\ sampel\ uji))}{(\sum\ absorbansi\ kontrol\ negatif)} \times 100\% \quad (3)$$

Selanjutnya, nilai IC₅₀ dianalisis menggunakan persamaan regresi linier $y = ax + b$. y adalah % hambat 50 dan X adalah nilai IC₅₀ (50).

D. Hasil dan Pembahasan

1. Hasil Persentase Rendemen dan Karakteristik Organoleptik

Pada penelitian ini, sampel didapatkan dengan menghaluskan dan mengekstraksi kulit kopi robusta melalui metode maserasi tunggal karena prosesnya yang tergolong sederhana serta tidak terdapat tahapan pemanasan yang membuat kandungan terurai (Sulistiani & Isworo, 2022). Dipilih pelarut berupa etanol karena dapat melarutkan senyawa baik polar maupun non polar. Ditambah lagi, etanol memiliki kemampuan untuk menjaga kestabilan senyawa pada bahan utama (Hasibuan *et al.*, 2020). Tahapan ekstraksi etanol kulit kopi robusta didokumentasikan pada **Gambar 5 dan 6**.



(Sumber: Dokumentasi Peneliti)



(Sumber: Dokumentasi Peneliti)

Gambar 5. Bubuk Kulit Kopi Robusta **Gambar 6.** Hasil Ekstrak Kental Kulit kopi Robusta

Ekstrak kental pada penelitian ini diperoleh dari bubuk kulit kopi robusta sebanyak 220 gram. Lama waktu maserasi perlu diperhatikan karena memengaruhi hasil senyawa.

Maserasi yang terlalu singkat mengakibatkan senyawa yang terlarut dalam pelarut menjadi rendah, sementara waktu maserasi yang terlalu lama justru mengakibatkan senyawa aktif jenuh (Asworo *et al.*, 2023). Maserasi selama tiga hari terbukti sebagai waktu perendaman paling optimal. Hal ini juga didukung pada penelitian Hendrianto *et al.*, (2019), bahwa perendaman tiga hari menghasilkan persentase flavonoid lebih tinggi, dibanding dua hari dan empat hari. Selanjutnya, hasil maserasi dievaporasi kemudian dihitung hasil rendemen ekstrak dengan membandingkan massa serbuk awal yang digunakan dengan hasil ekstrak kental. Diketahui bahwa rendemen berbanding lurus dengan kandungan, di mana semakin tinggi rendemen maka semakin tinggi pula kandungan senyawa yang terkandung pada suatu bahan baku (Senduk *et al.*, 2020). Hasil rendemen ekstrak dijelaskan pada **Tabel 6**.

Tabel 6. Hasil Rendemen Ekstrak Etanol Kulit Kopi Robusta

Proses	Berat Awal	Rendemen
Bubuk Kulit kopi robusta	80 gram	30,875%
Ekstrak Kental	24,7 gram	

Berdasarkan **Tabel 6**, didapat hasil rendemen sebesar 30,875%. Hasil ini diidentifikasi memenuhi standar dari Farmakope Herbal Indonesia (2017), yakni hasil rendemen tidak bernilai kurang dari 10%.

Pengamatan organoleptik dilaksanakan secara visual dengan mengamati warna, aroma, tekstur dari ekstrak yang dihasilkan. Hasil dari ekstrak ddipaparkan pada **Tabel 7**. sebagai berikut:

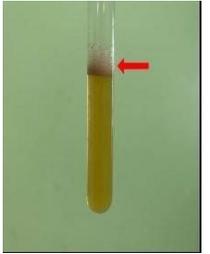
Tabel 7. Hasil Pengujian Organoleptik

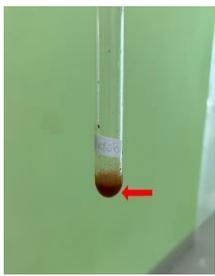
Warna	Aroma	Konsistensi
Coklat pekat	Asam	Kental

2. Hasil Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui keberadaan senyawa metabolit sekunder ekstrak etanol kulit kopi robusta, dengan enam identifikasi golongan. Hasil skrining pada **Tabel 8**.

Tabel 8. Hasil Pengujian Fitokimia

No.	Nama Senyawa	Reagen	Hasil	Keterangan	Dokumentasi	Kontrol
1.	Flavonoid	5 tetes NaOH 10%	++	Perubahan warna menjadi jingga		
2.	Fenol	10 tetes FeCl ₃ 1%	+++	Perubahan warna menjadi hijau dan merah		
3.	Tanin	20 ml akuades dan 3 tetes FeCl ₃ 1%	+++	Perubahan warna menjadi biru kehitaman		
4.	Saponin	10 ml akuades	+++	Terbentuk busa yang stabil selama ± 30 detik		
5.	Triterpenoid	2-3 Tetes	+++	Terjadi perubahan warna menjadi merah keunguan		

6.	Alkaloid	1 tetes reagen <i>wagner</i>	++	Terbentuk endapan coklat		
----	----------	------------------------------	----	--------------------------	--	---

Keterangan hasil:

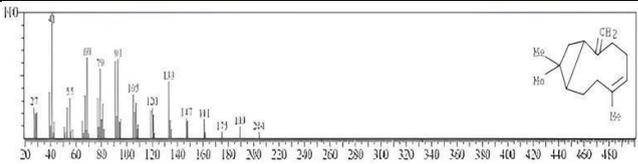
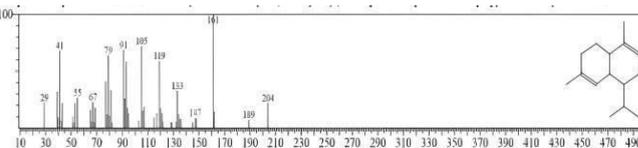
+ lemah, ++ kuat, +++ sangat kuat

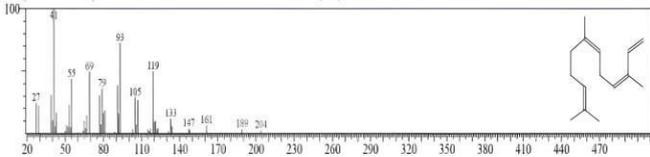
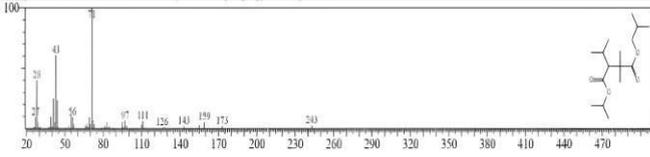
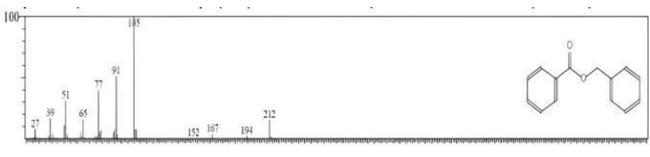
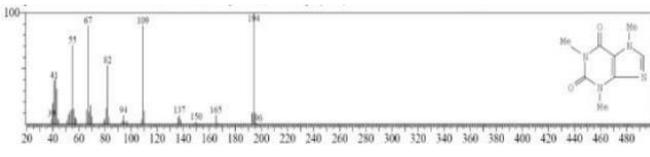
Berdasarkan hasil skrining fitokimia pada **Tabel 8**. Diketahui bahwa ekstrak limbah kulit kopi robusta positif mengandung flavonoid, fenol, tanin, saponin, triterpenoid, serta alkaloid. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Winahyu *et al* (2021) yang mengidentifikasi adanya senyawa tersebut pada kulit kopi robusta. Hasil ini menunjukkan bahwa proses ekstraksi yang dilakukan telah berhasil dan tidak merusak kandungan senyawa fitokimia dalam kulit kopi. Selain itu, menurut Mewengkang *et al.*, (2022), keenam metabolit sekunder yang diujikan diketahui sangat berpotensi sebagai antibakteri, karena seluruh senyawa tersebut memiliki mekanisme kerja merusak metabolisme sel bakteri. Senyawa antibakteri ekstrak kulit kopi robusta diketahui dapat dimanfaatkan untuk pengobatan berbagai bakteri Gram positif dan Gram negatif (Ishimora, *et al.*, 2023). Bahan alami ini terbukti dapat menjadi alternatif lain dalam mengatasi resistensi senyawa antibakteri (Rubinadzari *et al.*, 2022).

3. Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)

Berdasarkan hasil analisis Nugraha (2020), menunjukkan bahwa terdapat enam *peak*/titik puncak. Dengan rincian sebagai berikut:

Tabel 9. Senyawa Hasil Identifikasi *Mass Spectrometry*

Senyawa	RT	Area (%)	Spektrum
<i>Trans-Caryophyllene</i>	10.509	4.56	
<i>Germacrene D</i>	11.295	3.59	

<i>Alpha-Farnesene</i>	11.465	4.35	
<i>Pentan-1,3-dioldiisobutyrate</i>	12.498	10.22	
<i>Benzyl Benzoate</i>	14.674	8.99	
<i>Caffeine</i>	15.459	40.17	

4. In silico

a. Penambatan Protein dan Ligan

Penambatan protein dan ligan dilakukan menggunakan *Autodock Vina* yang terdapat pada *software PyRx*. Penambatan protein dan ligan dilakukan untuk mengetahui interaksi antara protein dengan senyawa ligan (Zubair *et al.*, 2020). Sebelum dilakukan tahapan *docking*, residu selain asam amino termasuk zat pengotor dan air pada protein dihapus agar tidak mengganggu interaksi protein dengan ligan (Hasan *et al.*, 2022). Adapun hasil dari penambatan protein dan ligan dijelaskan pada **Tabel 10**.

Tabel 10. Hasil *Molecular Docking* Kulit Kopi Robusta terhadap Protein IMWT dan 1VQQ

Protein	Senyawa Ligan	Binding Affinity (kkal/mol)	RMSD Lower Bound (Å)	Ikatan Hidrogen	Asam Amino yang Berikatan
<i>Staphylococcus aureus</i> Resisten Golongan β -laktam (methicillin) (1MWT)	<i>Trans-caryophyllene</i>	-6,9	0,0	0	PRO370, TYR373
	<i>Germacrene D</i>	-6,5	0,0	0	ARG B241
	<i>Alpha-farnesene</i>	-5,6	0,0	0	TYR373, MET372, ARG241, VAL256, PRO258, VAL277, ARG151, HIS293

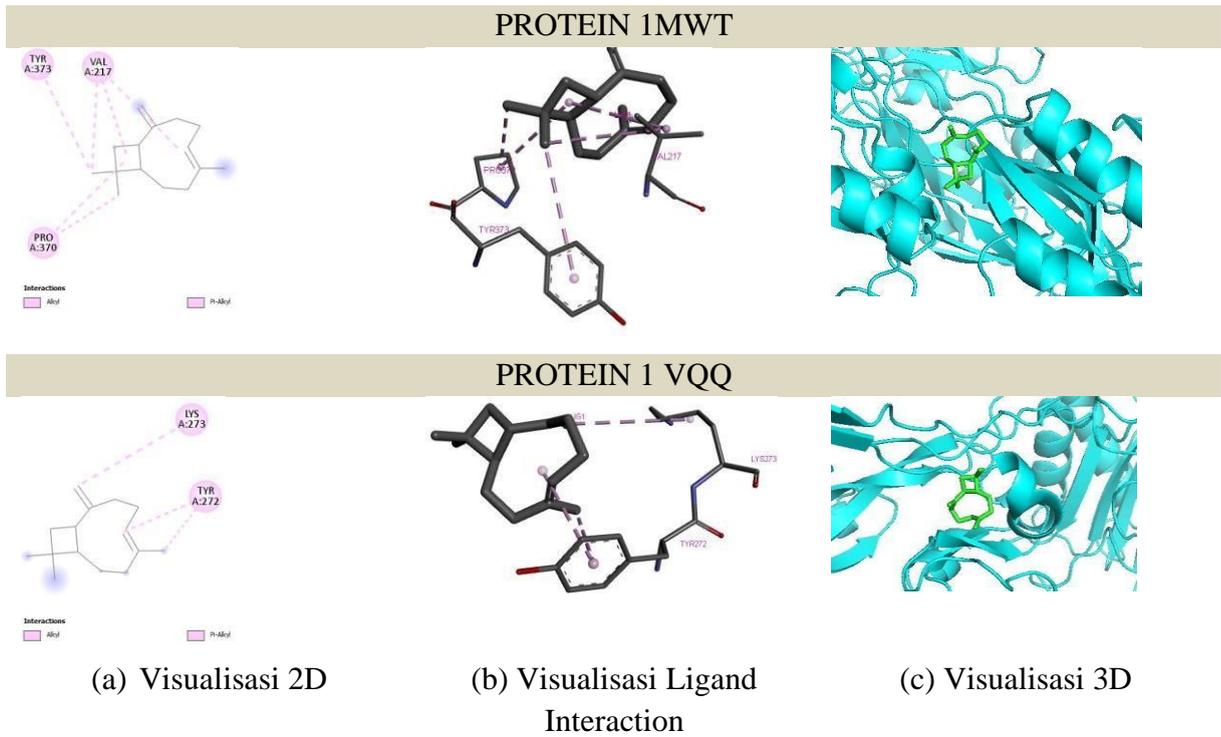
	<i>Pentan-1,3-dioldiisobutyrate</i>	-5,2	0,0	6	ASN464, ASN462, LYS406, SER403, THR600, TYR446, GLN521
	<i>Benzyl Benzoate</i>	-6,8	0,0	2	ASN464, SER462, MET641, ALA642, SER598, SER403
	<i>Caffeine</i>	-5,6	0,0	3	GLU239, ARG241, THR165, LYS148, ARG151, SER149
<i>Staphylococcus aureus</i> Resisten Golongan β -laktam (cephalosporin) (1VQQ)	<i>Trans-caryophyllene</i>	-6,9	0,0	0	LYS273, TYR272
	<i>Germacrene D</i>	-6,8	0,0	0	TYR272, LYS289
	<i>Alpha-farnesene</i>	-6,2	0,0	0	LYS219, LEU224, VAL217, PHE227, LEU190, ILE171, TYR373, PRO370
	<i>Pentan-1,3-dioldiisobutyrate</i>	-4,6	0,0	3	VAL256, VAL277, ARG164, ASN164, THR165, ARG151
	<i>Benzyl Benzoate</i>	-6,6	0,0	2	ALA601, ILE614, SER400, THR399, TYR344
	<i>Caffeine</i>	-5,4	0,0	3	SER149, THR165, ARG151, ARG241, LYS248

Berdasarkan **Tabel 10**, diketahui bahwa hasil *scoring* senyawa ligan *trans-caryophyllene* pada kedua protein memiliki nilai *binding affinity* terendah yakni $-6,9$, sehingga diketahui bahwa ekstrak kulit kopi robusta memiliki potensi antibakteri yang baik dan stabil. Hal ini sesuai dengan Makatita (2020), bahwa semakin kecil nilai *binding affinity* atau *scoring* maka akan semakin tinggi interaksi antara senyawa ligan dengan protein, sehingga reaksi yang terjadi semakin stabil dan spontan. Selain itu, pada keseluruhan ligan dalam interaksi kedua protein target didapat nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) ≤ 2 , sehingga dapat dikatakan *receptor* bekerja dengan baik. Hasil RMSD ≤ 2 menunjukkan bahwa hasil *docking* akurat dan mendekati hasil eksperimental (Ma'arif *et al*, 2022). Selain itu, dilakukan identifikasi pada jumlah ikatan hidrogen. Berdasarkan penelitian Weni *et al* (2020), ikatan hidrogen berfungsi untuk memperkuat interaksi. Namun, pada tabel 20 didapatkan ligan *germacrene D*, *alpha-farnesene* serta ligan dengan hasil *binding affinity* terbaik *trans-caryophyllene* tidak memiliki ikatan hidrogen, baik dalam protein 1MWT maupun 1VQQ. Meskipun begitu, ketiga ligan tersebut memiliki ikatan *alkyl* dan *pi-alkyl* yang termasuk ikatan hidrofobik (Putri *et al.*, 2020). Ikatan hidrofobik berpotensi sebagai antibakteri karena memiliki kemampuan untuk meningkatkan potensi lisis pada bakteri (Priyadi & Wahyuni, 2021). Selain itu, jenis residu senyawa asam amino yang terbentuk pada interaksi protein dan ligan terkait dapat dilihat lebih lanjut pada **Tabel 20**.

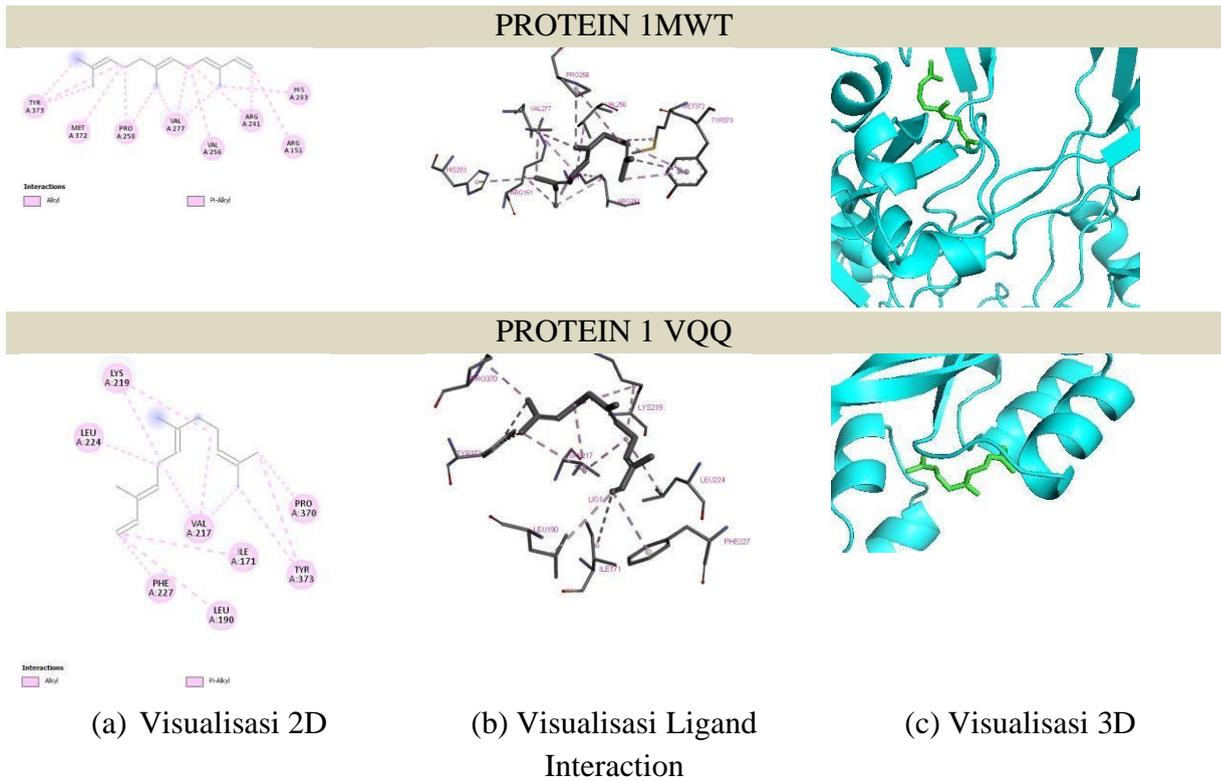
b. Hasil Visualisasi

Visualisasi kompleks antara protein dan senyawa ligan didapatkan dari hasil *docking* pada *PyRx* yang dibentuk dalam keadaan kompleks pada *PyMOL* dan divisualisasikan pada *software* BIOVIA *Discovery Studio* dengan mengamati interaksi antara protein dengan ligan. Visualisasi yang dilakukan disimpan dalam bentuk 2D dan 3D, sebagaimana pada uraian gambar berikut:

- 1) *Trans-Caryophyllene* dengan Protein *Staphylococcus aureus* Resisten Golongan β – *laktam methicillin* dan *cephalosporin* (1MWT dan 1VQQ)

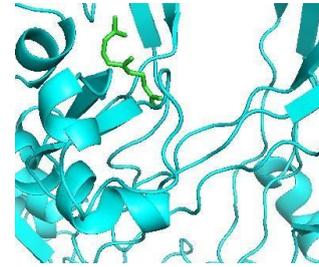
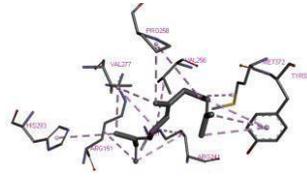
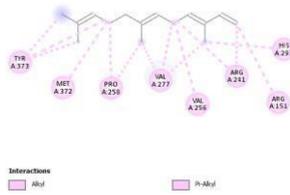


2) *Germacrene-D* dengan Protein *Staphylococcus aureus* Resisten Golongan β – laktam *methicillin* dan *cephalosporin* (1MWT dan 1VQQ)

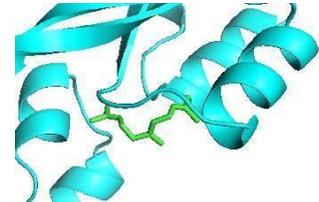
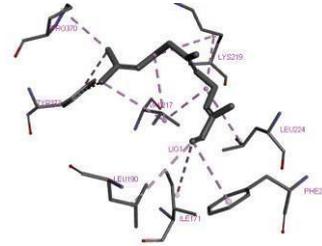
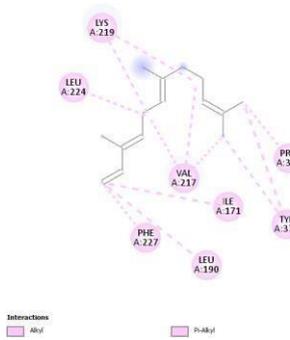


3) *Alpha-farnesene* dengan Protein *Staphylococcus aureus* Resisten Golongan β – laktam *methicillin* dan *cephalosporin* (1MWT dan 1VQQ)

PROTEIN 1MWT



PROTEIN 1VQQ



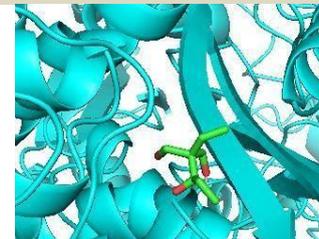
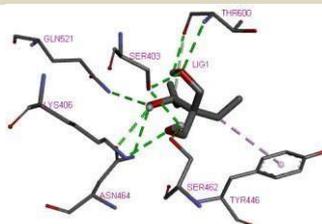
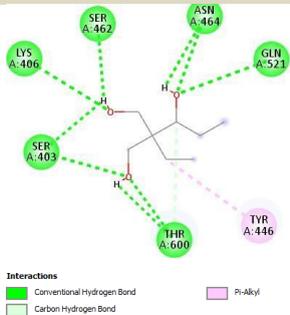
(a) Visualisasi 2D

(b) Visualisasi *Ligand Interaction*

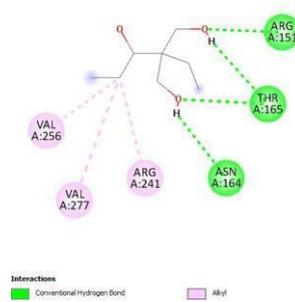
(c) Visualisasi 3D

4) *Pentan-1,3-dioldiisobutyrate* dengan Protein *Staphylococcus aureus* Resisten Golongan β – *laktam methicillin* dan *cephalosporin* (1MWT dan 1VQQ)

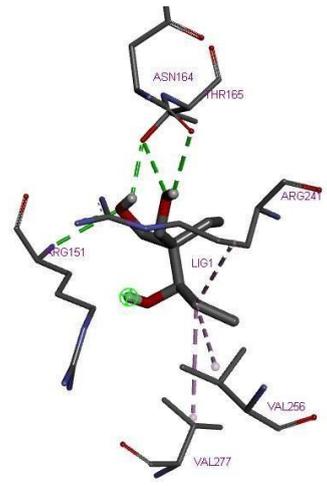
PROTEIN 1MWT



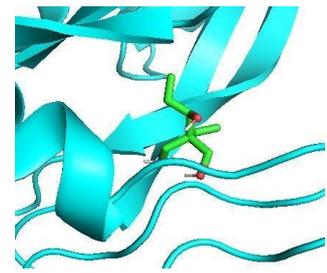
PROTEIN 1VQQ



(a) Visualisasi 2D



(b) Visualisasi *Ligand Interaction*

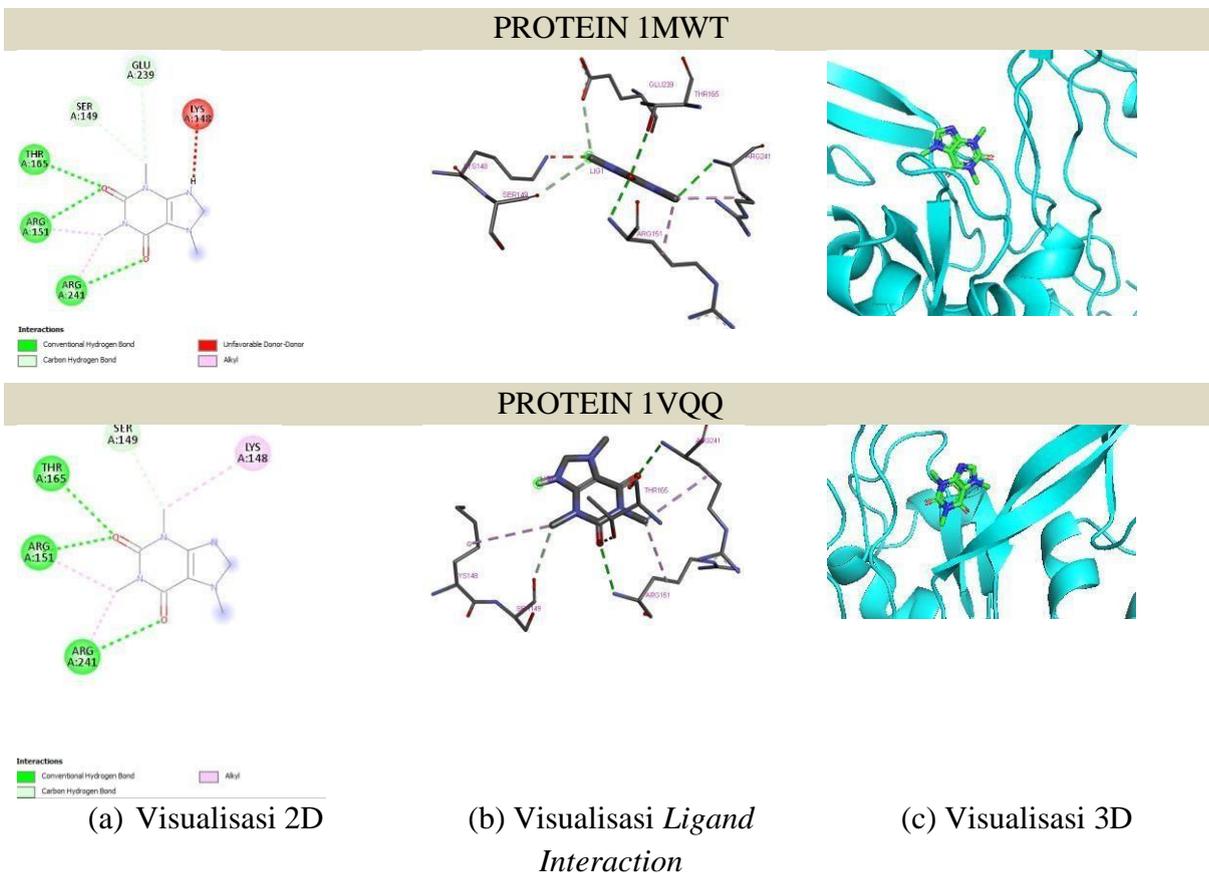


(c) Visualisasi 3D

5) *Benzyl benzoate* dengan Protein *Staphylococcus aureus* Resisten Golongan β -laktam *methicillin* dan *cephalosporin* (1MWT dan 1VQQ)

PROTEIN 1MWT		
PROTEIN 1VQQ		
<p>(a) Visualisasi 2D</p>	<p>(b) Visualisasi <i>Ligand Interaction</i></p>	<p>(c) Visualisasi 3D</p>

6) *Caffeine* dengan Protein *Staphylococcus aureus* Resisten Golongan β – laktam *methicillin* dan *cephalosporin*



c. Prediksi Toksisitas

Prediksi dilakukan pada *website* “Protox II” (<https://tox.charite.de/protox3/>) untuk mengetahui nilai LD₅₀ dan kelas toksisitas. LD₅₀ atau *lethal dose* 50 berfungsi untuk menentukan jumlah dosis yang mampu membunuh 50% dari hewan uji (Sulastra *et al.*, 2020). Semakin kecil nilai dosis yang dibutuhkan atau semakin rendah nilai LD₅₀ maka akan semakin toksik senyawa, sedangkan semakin tinggi nilai dosis yang dibutuhkan atau semakin tinggi nilai LD₅₀ akan semakin netral (Jumain *et al.*, 2018). Tentunya, LD₅₀ berhubungan dengan kelas toksisitas. Kelas toksisitas dibagi menjadi I-VI, di mana semakin rendah kelasnya, maka semakin toksik senyawa tersebut (Prasmewari, 2019).

Prediksi lebih lanjut dilakukan pada *website* “ADMETsar” (<https://lmmd.ecust.edu.cn/admetsar2/>) untuk mengetahui nilai *acute oral toxicity*, *biodegradation*, dan *Aqueous Solubility*. *Acute oral toxicity* merupakan parameter yang digunakan untuk menentukan nilai LD₅₀. Sementara itu, parameter *biodegradation* digunakan untuk mengetahui seberapa cepat senyawa terdegradasi dalam kurun waktu tertentu (Khambri *et al.*, 2020). Terdapat parameter *aqueous*

solubility untuk menunjukkan bioavailabilitas suatu senyawa. Rentang *aqueous solubility* paling baik terdapat pada -1 hingga -5 (Priani, 2021).

Tabel 11. Hasil Prediksi Toksisitas

Senyawa Ligan	LD ₅₀ (mg/kg)*	Acute Oral Toxicity**	Biodegradation* *	Aqueous Solubility**	Class*
<i>Trans-Caryophyllene</i> 3	5.300	III	Ready Biodegradable	-4,6868	5
<i>Gremacrene D</i>	4.400	III	Not Ready Biodegradable	-5.0233	5
<i>Alpha-Farnesene</i>	3.650	III	Ready Biodegradable	-5.2549	5
<i>Pentan-1,3-dioldiisobutyrate</i>	6.300	III	Not Ready Biodegradable	-0.2683	6
<i>Benzyl Benzoate</i>	1.000	III	Ready Biodegradable	-3.2513	4
<i>Caffeine</i>	127	II	Ready Biodegradable	-1.0324	3

Keterangan

* Menggunakan *website* “Protox II Online Tools”,

** Menggunakan *website* “ADMETsar”

Berdasarkan rincian data pada **Tabel 11**, didapat *Pentan-1,3-dioldiisobutyrate* dengan kelas toksisitas paling aman yakni 6 dengan nilai LD₅₀ 6300 mg/kg. Selanjutnya diikuti dengan *Trans-caryophyllene*, *Gremacrene D* dan *Alpha-Farnesene* dengan kelas toksisitas 5 dan nilai LD₅₀ berturut-turut 5.400 mg/kg, 4.400 mg/kg, dan 3.650 mg/kg. Kemudian, *benzyl benzoate* dan *caffeine* dengan kelas toksisitas yang cukup tinggi yakni 4 dan 3 dengan nilai LD₅₀ berturut-turut 1.000 mg/kg dan 127 mg/kg. Namun, tingkat kelas toksisitas 3 dan 4 tetap aman digunakan, karena tidak menyebabkan iritasi dan korosif (Sasmito *et al.*, 2015). Lebih lanjut, seluruh senyawa memiliki sifat *biodegradable* kecuali senyawa *Gremacrene D* dan *Pentan-1,3-dioldiisobutyrate*. Selain itu, keseluruhan senyawa tergolong sebagai senyawa yang memenuhi rentang parameter *aqueous solubility* kecuali senyawa *Pentan-1,3-dioldiisobutyrate*. Sehingga, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol kulit kopi robusta aman digunakan sebagai alternatif antibiotik karena tingkat toksisitas yang rendah. Ditambah lagi, memiliki kemampuan *biodegradation* dan *aqueous solubility* yang cenderung baik.

d. Prediksi Lipinski's Rules of Five

Lipinski's *rule of five* digunakan untuk memperkirakan kemampuan absorpsi dan permeasi suatu senyawa (Fakih *et al.*, 2022). Aturan pertama yakni berat molekul harus < 500 dalton, sehingga senyawa dapat dengan mudah menembus sedalam menghantarkan obat (Sukmawaty *et al.*, 2021). Dalam hal ini 1 g/mol setara dengan 1 dalton. Selanjutnya nilai *hydrogen bond donor* dan *hydrogen bond acceptor* berturut turut harus < 5 dan < 10 (Nuraini, 2021). Selanjutnya, nilai lipofilisitas harus < 5 dan nilai *molar refractivity* berada diantara 40-130. Pengujian Lipinski's *Rules of Five* dilakukan di *website* (<http://www.scfbio-iitd.res.in/software/drugdesign/lipinski.jsp>).

Tabel 12. Hasil Lipinski's *Rules of Five*

Senyawa Ligan	Mass (g/mol)	Hydrogen Bond Donor	Hydrogen Bond Acceptor	lipofilisitas (LOGP)	Molar Refractivity
<i>Trans-Caryophyllene 3</i>	204	0	0	4.725199	66.742981
<i>Germacrene D</i>	204	0	0	4.891299	68.832985
<i>Alpha-Farnesene</i>	204	0	0	5.201500	70.992981
<i>Pentan-1,3-dioldiisobutyrate</i>	162	3	3	0.138300	43.193390
<i>Benzyl Benzoate</i>	212	0	2	3.043599	62.003487
<i>Caffeine</i>	194	0	5	0.061900	49.100494

Berdasarkan data pada **Tabel 12**, didapat bahwa hampir semua hasil memenuhi Lipinski's *rule of five* sebagaimana parameteranya, namun ditemukan satu indikator yang belum memenuhi yakni nilai lipofilisitas senyawa *alpha-farnesene* yang bernilai 5.2. Meskipun begitu, secara keseluruhan dapat disimpulkan bahwa ekstrak kulit kopi robusta memenuhi Lipinski's *rule of five* dan memiliki sifat farmakologis.

5. Potensi Ekstrak Kulit Kopi Robusta sebagai Antibakteri

Aktivitas antibakteri ekstrak etanol kulit kopi robusta terhadap *S.aureus* MDR diuji menggunakan difusi cakram *Kirby-Bauer Method*. Aktivitas antibakteri dianalisis dengan mengamati zona bening yang terbentuk di sekitar cakram. Hasil penelitian potensi ekstrak etanol kulit kopi robusta dalam menghambat MDR-SA pada **Tabel 13**.

Tabel 13. Hasil perhitungan Rata-Rata Diameter Zona Hambat *Kirby-Bauer Method*

No.	Nama Sampel	Diameter Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri (mm)	Dokumentasi	Keterangan
-----	-------------	---	-------------	------------

1.	Kontrol (-) Amoxicillin	0,0 mm		Lemah
2.	Kontrol (+) <i>Chloramphenicol</i>	28 mm		Sangat Kuat
3.	Konsentrasi Ekstrak Etanol Kulit Kopi Robusta 10%	8,1 mm		Sedang
4.	Konsentrasi Ekstrak Etanol Kulit Kopi Robusta 20%	10,7 mm		Kuat
5.	Konsentrasi Ekstrak Etanol Kulit Kopi Robusta 30%	12,0 mm		Kuat

Pada tabel di atas kontrol negatif yang berupa *Amoxicillin* digunakan karena merupakan turunan dari golongan β -laktam (*Penicilin*) sehingga tidak dapat membentuk zona hambat pada medium agar yang ditumbuhi MDR-SA sedangkan kontrol positif yang berupa *Cloramphenicol* didapatkan zona hambat sebesar 28 mm. Konsentrasi 10% dapat membentuk zona hambat dengan rata-rata ukuran zona hambat yang terbentuk yakni 8,1 mm. Konsentrasi 20% dapat membentuk zona hambat dengan rata-rata sebesar 10,7 mm. Konsentrasi 30% dapat membentuk zona hambat dengan rata-rata sebesar 12,0 mm.

Semakin luas zona bening maka semakin kuat senyawa bioaktif dalam penghambatan bakteri. Suatu zat dinyatakan sebagai senyawa bioaktif karena adanya potensi sebagai antibakteri (Toy *et al.*, 2015). Menurut Rahayuningsih tahun 2023 kriteria kekuatan antibakteri dibedakan menjadi 4 kategori. Zona hambat ≤ 5 mm dikategorikan lemah. Zona hambat 5-10 mm tergolong sedang, zona hambat 10-20 mm tergolong kuat dan zona hambat ≥ 20 mm tergolong sangat kuat. Dengan demikian, diketahui bahwa konsentrasi ekstrak 10% (8,1 mm) tergolong sedang, 20% (10,7 mm) dan 30% (12,0 mm) tergolong kuat. Berdasarkan kriteria tersebut, maka konsentrasi ekstrak 20% dan 30% merupakan konsentrasi efektif untuk menghambat bakteri MDR-SA. Hal ini dikarenakan konsentrasi ekstrak tersebut daya antibakterinya termasuk kategori kuat untuk menimbulkan zona hambatan bakteri yang besar.

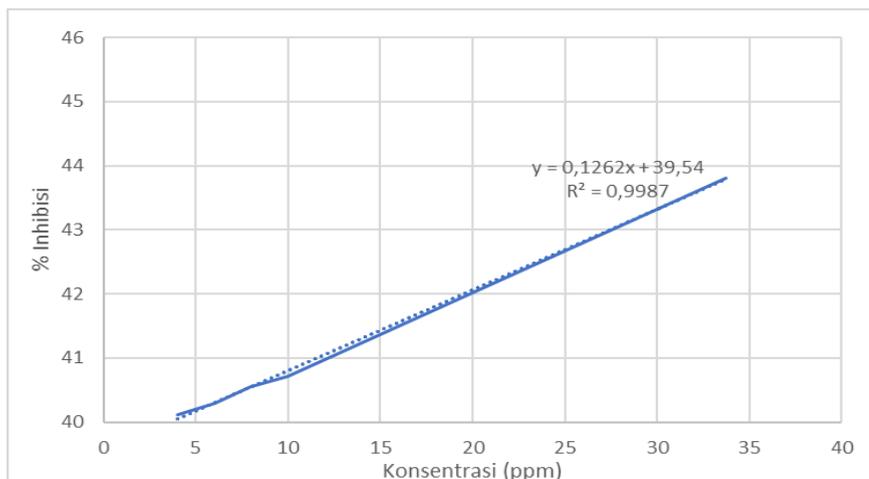
6. Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan pada kulit kopi robusta dilakukan dengan metode *2,2-difenil-1-pikrilhidrazil* (DPPH) menggunakan ELISA reader pada panjang gelombang 520 nm. Berdasarkan optimisasi DPPH pada rentang yang telah ditentukan bahwa panjang gelombang 520 nm dengan nilai absorbansi 0,163. Setelah diperoleh nilai absorbansi selanjutnya dilakukan perhitungan untuk mencari % inhibisi.

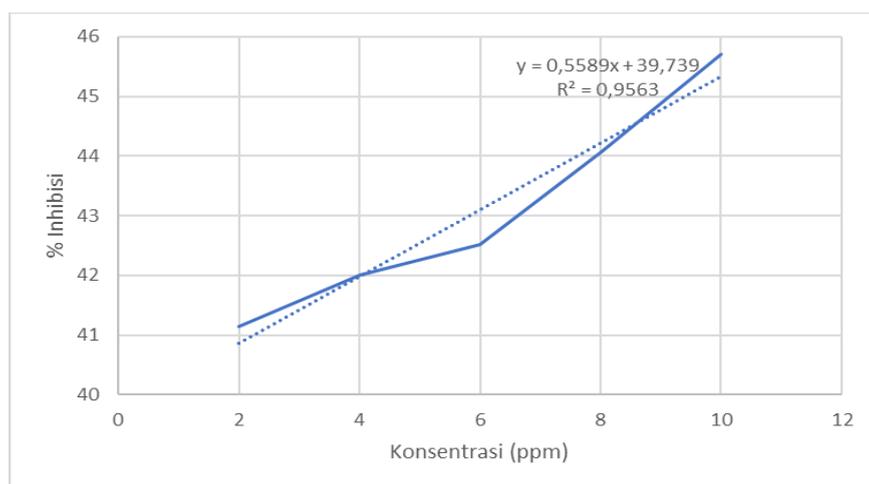
Tabel 14. Hasil Pengukuran Absorbansi

Sampel Uji	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	%Inhibisi
Ekstrak Etanol Kulit Kopi Robusta	4	0,897	40,118
	6	0,886	40,290
	8	0,884	40,547
	10	0,881	40,719
	33,75	0,879	43,815
Asam Askorbat (Kontrol)	2	0,874	41,149
	4	0,861	42,009
	6	0,858	42,525
	8	0,833	44,073
	10	0,821	45,706

Kekuatan antioksidan ditentukan berdasarkan perbandingan antara nilai IC_{50} sampel ekstrak dengan nilai IC_{50} asam askorbat yang diperoleh dari grafik hubungan konsentrasi dengan % inhibisi untuk mendapatkan persamaan regresi linear (**Gambar 7 dan Gambar 8**).



Gambar 7. Hubungan Konsentrasi dengan % Inhibisi pada Sampel Ekstrak Etanol Kulit kopi robusta



Gambar 8. Hubungan Konsentrasi dengan % Inhibisi pada Asam Askorbat

Gambar di atas menunjukkan adanya kenaikan % inhibisi pada setiap kenaikan konsentrasi. Nilai regresi (R^2) pada grafik menunjukkan bahwa kurva tersebut linear. Regresi linear pada kedua grafik dikatakan sangat baik dan memenuhi kriteria linieritas (layak) karena nilai mendekati 1. Semakin besar nilai regresi, maka semakin baik kecocokan model prediksi dengan data (Fariha, 2018). Semakin tinggi konsentrasi sampel dan semakin rendah nilai absorbansi maka semakin besar % nilai inhibisi antioksidan (Gusungi, 2022).

Hasil persamaan regresi linear ekstrak etanol kulit kopi robusta adalah $y = 0,1262x + 39,54$. Sedangkan hasil persamaan linear asam askorbat adalah $y = 0,5589x + 39,739$. Berdasarkan kedua persamaan yang telah diperoleh, maka dihitung nilai IC_{50} menggunakan persamaan $y = ax + b$. Adapun nilai IC_{50} terdapat pada **Tabel 15**.

Tabel 15. Nilai IC_{50}

Sampel	IC ₅₀	Kategori
Ekstrak Etanol Kulit Kopi Robusta	82,884	Kuat
Asam Askorbat	18,359	Sangat kuat

Keterangan:

<50 ppm: sangat kuat, 50-100: ppm kuat, 101-150: sedang, 151-200: lemah

Berdasarkan **Tabel 25**, diketahui bahwa ekstrak etanol kulit kopi robusta memiliki antioksidan tinggi yang berpengaruh dengan aktivitas antibakteri sebagai penghambat metabolisme energi bakteri (Maulina, 2024).

E. Kesimpulan dan Saran**1. Kesimpulan**

Berdasarkan keseluruhan tahapan penelitian, hasil dapat disimpulkan sebagai berikut:

- Ekstrak etanol kulit kopi robusta yang dihasilkan memiliki nilai rendemen ekstrak sebesar 30,875% dan telah memenuhi syarat presentase rendemen ekstrak. Melalui pengujian organoleptik didapat bahwa sampel berwarna coklat pekat, beraroma asam serta konsistensi kental.
- Ekstrak etanol kulit kopi robusta berpotensi dijadikan sebagai antibakteri alternatif berdasarkan interaksi yang terjadi antara senyawa ligan dengan protein *Staphylococcus aureus multidrug resistance* yakni *methicillin* dan *cephalosporin* (1MWT) dan (1VQQ) pada pengujian *molecular docking*. Senyawa *Trans-Caryophyllene* merupakan senyawa yang memiliki interaksi terbaik dengan nilai binding affinity -9,2; RMSD 0, dan tanpa ikatan hidrogen. Semua senyawa pada ekstrak terbukti aman dan tidak toksik berdasarkan prediksi Lipinski's *rule of five* dan ADMETSar.
- Ekstrak yang dihasilkan terbukti mengandung enam senyawa metabolit sekunder berdasarkan hasil pengujian fitokimia. Berdasarkan kajian pustaka terdahulu mengenai pengujian GC-MS terdapat enam senyawa yang berhasil teridentifikasi, dimana enam senyawa tersebut berpotensi kuat sebagai antibakteri dan antioksidan. Selain itu, pengujian aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit kopi robusta memiliki nilai IC₅₀ sebesar 82, 884%. Hasil nilai tersebut tergolong kuat sebagai aktivitas antioksidan dalam menghambat metabolisme bakteri. Lebih lanjut, sampel dengan konsentrasi 30% tergolong sebagai sampel dengan diameter zona hambat terbaik yakni ukuran zona bening sejumlah 12.00 mm.

2. Saran

Sebagai evaluasi untuk penelitian selanjutnya, dapat dilakukan pengujian sebagai berikut:

- a. Dilakukan variasi penggunaan jenis pelarut dan waktu maserasi dalam prosedur pembuatan ekstrak guna menghasilkan kualitas dan karakteristik yang lebih baik.
- b. Digunakan protein target *Staphylococcus aureus* resisten jenis antibiotik lain untuk memvariasi data pengujian.
- c. Diujikan efektivitas ekstrak kulit kopi robusta secara langsung pada hewan coba (in vivo) untuk mengetahui tingkat efektivitas ekstrak dalam menghambat MDR-SA

Daftar Pustaka

- AHMAD AL JABAR, K. H. A. D. A. F. I. (2023). UJI AKTIVITAS EKSTRAK METANOL KITOLOD (*Hippobroma longiflora* (L.) G. Don) SEBAGAI PESTISIDA NABATI PENGENDALI MIKROBA PATOGEN TANAMAN.
- Alouw, G. E., & Lebang, J. S. (2022). *Antibacterial Activity Test of Ethanol Extraction from Jamaican Cherry Leaves (Muntingia Calabura L.) On Staphylococcus Aureus and Pseudomonas Aeruginosa Bacteria using Well Diffusion Method. Pharmacy Medical Journal*, 5(1), 36-44.
- Al-Rubaye, A. F., I. H. Hameed, dan Moh. J. Kadhim. 2017. *A Review: Uses of Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GCMS) Technique for Analysis of Bioactive Natural Compounds of Some Plants. International Journal of Toxicological and Pharmacological Research*. 9(1): 81-85.
- Amalya, A. P., Legowo, A. M., & Rahmani, A. (2023). Pengaruh Jenis Pengental terhadap Sifat Fisikokimia dan Hedonik Sirup Kulit Buah Kopi Arabika. *Jurnal Pangan dan Gizi*, 13(1), 8-24.
- Amelia, R., Harun., Pratama, Suryanis. 2024. *Antibiotic resistance of Lactobacillus fermentum isolates of dadiah lintau. Environmental Science*. 1341(1).
- Anisa, I. (2023). *SKRIPSI: STUDI EKSPLORASI KLON LOKAL UNGGUL TANAMAN KOPI ROBUSTA (Coffea canephora) DI KECAMATAN PULAU PANGGUNG KABUPATEN TANGGAMUS* (Doctoral dissertation, Politeknik Negeri Lampung).
- Ariadi, H. P., & Windrati, W. S. EKSTRAKSI SENYAWA ANTIOKSIDAN KULIT BUAH KOPI: KAJIAN JENIS KOPI DAN.
- Arifin, M. Z., & Widiaputri, S. I. (2020). Uji sifat fisiko kimia dan organoleptik minuman yoghurt negeboon panorama Indonesia. *Edufortech*, 5(1), 69-78.

- Asrinawaty, A. N., & Sabir, M. (2022). PROFIL BAKTERI DARI SPESIMEN PUS DAN RESISTENSINYA TERHADAP ANTIBIOTIK. *Medika Tadulako: Jurnal Ilmiah Kedokteran Fakultas Kedokteran*, 7(2), 51-58.
- Astuti, D., & Arfania, M. (2018). Analisis Penggunaan Antibiotika Dengan Metoda ATC/DDD Di Rumah Sakit Swasta Kab Karawang. *Pharma Xplore: Jurnal Sains Dan Ilmu Farmasi*, 3(2).
- Asworo, R. Y., & Widwastuti, H. (2023). Pengaruh Ukuran Serbuk Simplisia dan Waktu Maserasi terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Sirsak. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education*, 3(2).
- Aulia, N. R. (2017). *Analisa kuantitatif dengan metode atc/ddd dan penilaian drug related problem's penggunaan antibiotik di ruang isolasi rumah sakit umum daerah Cengkareng periode Januari-Desember 2016* (Bachelor's thesis, UIN Syarif Hidayatullah Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, 2017).
- Berube, B. J., & Bubeck Wardenburg, J. (2013). Staphylococcus aureus α -toxin: nearly a century of intrigue. *Toxins*, 5(6), 1140-1166.
- Biutifasari, V. (2018). Extended spectrum beta-lactamase (ESBL). *Oceana Biomedicina Journal*, 1(1), 3-3.
- Bush L. 2023. Infeksi *Staphylococcus aureus*. [Staphylococcus aureus Infections - Infections - MSD Manual Consumer Version \(www-msdmanuals-com.translate.goog\)](http://www-msdmanuals-com.translate.goog). Diakses 11 Mei 2024, 12.34 WIB.
- Bustamam, D. S., Nurdin, A., & Asrifa, K. (2024). Basmi Scabies Dan Faktor Yang Menyebabkan Tertularnya Scabies Pada Santri. *Public Health Journal*, 1(2).
- Cahyaningsih, E., Yuda, P. E. S. K., & Santoso, P. (2019). Skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) dengan metode spektrofotometri uv-Vis. *Jurnal Ilmiah Medicamento*, 5(1).
- Dinas Tanaman Pangan Hortikultura. 2023. Luas dan Produksi Kopi robusta Rakyat. Diakses 3 Mei 2024 pukul 14.44 WIB.
- Dos Santos Barbosa, C. R., Scherf, J. R., de Freitas, T. S., de Menezes, I. R. A., Pereira, R. L. S., Dos Santos, J. F. S., ... & da Cunha, F. A. B. (2021). Effect of carvacrol and thymol on NorA efflux pump inhibition in multidrug-resistant (MDR) *Staphylococcus aureus* strains. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, 53(4), 489-498.
- Effendi, H. 2022. Profil Multidrug Resistance dan Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* pada Sapi Perah dan Faktor Risiko dari Peternak. (Doctoral dissertation, Universitas Airlangga).

- Elisya, Y. (2018). *UJI AKTIVITAS MADU POHON DURIAN DAN POHON DAMAR TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA)* (Doctoral dissertation, Universitas Muhammadiyah Semarang).
- Erlin E, Rahmat A, Redjeki S, Purwianingsih W. 2020. Deteksi Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) sebagai Penyebab Infeksi Nosokomial Pada Alat-alat di Ruang Perawatan Bedah. 12(2):137-144.
- Estiningsih, D., Puspitasari, I., & Nuryastuti, T. (2016). Identifikasi infeksi multidrug-resistant organisms (MDRO) pada pasien yang dirawat di bangsal neonatal intensive care unit (NICU) rumah sakit. *Jurnal Manajemen dan Pelayanan Farmasi (Journal of Management and Pharmacy Practice)*, 6(3), 243-248.
- Fakih, T. M., Putri, N. W. R. P., Marillia, V., Ramadhan, D. S. F., & Darusman, F. (2022). Identifikasi Aktivitas Biologis, Prediksi Toksisitas, dan Molecular Docking Senyawa Jubanine dari Tanaman Bidara Arab sebagai Kandidat Antivirus SARS-CoV-2. *Jurnal Riset Kimia*, 13(1), 111-121.
- Fariha, N. F., & Subekti, R. (2018). Pemilihan Model Regresi Terbaik Dalam Kasus Pengaruh Premi, Klaim, Hasil Investasi Dan Hasil Underwriting Terhadap Laba Asuransi Jiwa (Studi Kasus Pt. Asuransi Jiwasraya (Persero)).
- Farmakope Herbal Indonesia. 2017. Edisi II. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia
- Febriana, Kurnia (2019) Perbedaan Zona Inhibisi Uji Kepekaan Antibiotik Golongan Aminoglikosida (Gentamisin Dan Amikasin) Terhadap Bakteri Staphylococcus Aureus Pada Suhu Inkubasi 37°C. Undergraduate thesis, Universitas Katolik Musi Charitas.
- Ferdian, P. R., Elfirta, R. R., Ikhwan, A. Z. N., Kasirah, K., Haerul, H., Sutardi, D., & Ruhiat, G. (2021). Studi in silico senyawa fenolik madu sebagai kandidat inhibitor Mpro SARS-CoV-2. *Media Penelitian dan Pengembangan Kesehatan*, 31(3), 213-232.
- Fitriana, E. (2023). *HUBUNGAN RIWAYAT PEMBERIAN SEFALOSPORIN GENERASI KETIGA DENGAN EXTENDED SPECTRUM BETA LACTAMASE (ESBL) DI RSUD KOTA YOGYAKARTA TAHUN 2022* (Doctoral dissertation, Poltekkes Kemenkes Yogyakarta).
- Gandu, I. V., Budiarmo, F. D., Kepel, B. J., Manampiring, A., & Bodhi, W. (2021). Molecular Docking Senyawa Asam Askorbat dan Kuersetin pada Tumbuhan Jambu Biji Merah (*Psidium guajava* L.) Sebagai Pencegah COVID-19. *eBiomedik*, 9(2).
- Gultom, E. S. (2020). uji aktivitas antibakteri ekstrak metanol daun kirinyuh (*Chromolaena odorata*) terhadap bakteri mdr (multi drug resistant) dengan metode klt bioautografi. *jurnal biosains*, 6(2), 45-52.