

**EFEK PEMBERIAN EKSTRAK KOPI HIJAU LAMPUNG ROBUSTA
(*COFFEE CANEPHORA VAR ROBUSTA*)
SEBAGAI DAYA HAMBAT BAKTERI PATOGEN IKAN**

[Effect of Green Coffee Extract Lampung Robusta (*Robusta Coffee Canephora* Var) as
Inhibition Pathogenic Bacteria in Fish]

Dahliatul Qosimah^{1)✉}, Djalal Rosyidi²⁾, Lilik Eka Radiati²⁾, Indah Amalia Amri¹⁾, Dodik Prasetyo¹⁾, Maftuch³⁾, Moh. Awaludin Adam⁴⁾, Andi Jumria⁵⁾, Oktarina Surfianti⁵⁾, Indra Sukma Putra⁵⁾

¹⁾Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya, Malang, Indonesia

²⁾Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya, Malang, Indonesia

³⁾Fakultas Ilmu Perikanan dan Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang, Indonesia

⁴⁾Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Ibrahim Situbondo, Indonesia

⁵⁾ Balai Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Surabaya I, Indonesia
Alamat Instansi penulis korespondensi

✉: dahliatulqosimah@gmail.com/ dahlia_qosimah@ub.ac.id

Abstrak

Ikan merupakan sumber gizi kaya akan protein hewani dan mineral untuk memperbaiki kesehatan dan meningkatkan kecerdasan. Indonesia terkenal sebagai negara Maritim dengan produksi ikan berlebih. Budidaya ikan di Indonesia tidak lepas dengan banyaknya permasalahan terutama penyakit infeksi bakteri. Bakteri patogen yang menyerang ikan dapat menyebabkan terhambat pertumbuhan dan penurunan produksi hingga kematian. Pengobatan penyakit infeksi bakteri pada ikan dengan menggunakan antibiotika, akan tetapi dapat menyebabkan resisten pada bakteri. Kopi berfungsi sebagai antibakteri dengan kandungan bahan aktif asam chlorogenik, tannin, dan alkaloid yang dapat merusak membran sel bakteri sehingga bakteri lisis dan mati. Penelitian bersifat eksperimental menggunakan dua isolat bakteri *Aeromonas hydrophila* dan *Salmonella enterica* (Group 1). Ekstrak kopi menggunakan pelarut etanol 96%. Pengujian daya hambat bakteri menggunakan uji MIC (*Minimum Inhibition Concentration*) dengan konsentrasi ekstrak kopi adalah 10%, 20%, 30%, 40% dan 50% pada cakram kosong dan diukur diameter terbentuknya zona bening. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kopi tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella enterica* (Group 1) pada semua konsentrasi tetapi dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila* dengan diameter zona hambat berturut-turut pada konsentrasi (mg.ml^{-1}) 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 dan 0,5 yaitu 9 mm, 17 mm, 18 mm, 19 mm, dan 24 mm. Kesimpulan penelitian adalah ekstrak kopi berpotensi sebagai daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila*.

Kata kunci: bakteri, daya hambat, ikan, kopi hijau

Abstract

Fish is a nutritional source rich in animal protein and minerals to improve health and improve intelligence. Indonesia is known as a maritime country with excess fish production. Fish farming in Indonesia cannot be separated from the many problems, especially bacterial infections. Pathogenic bacteria that attack fish can cause stunted growth and decreased production to death. Treatment of bacterial infectious diseases in fish using antibiotics, but can cause resistance to bacteria. Coffee functions as an antibacterial with the active ingredient of chlorogenic acids, tannins, and alkaloids which can damage bacterial cell membranes so that lysis bacteria die. The study was experimental using two isolates of *Aeromonas hydrophila* and *Salmonella enterica* (Group 1) bacteria. Coffee extract uses 96% ethanol. Testing of bacterial inhibition using the MIC (*Minimum Inhibition Concentration*) test with the concentration of coffee extract was 10%, 20%, 30%, 40% and 50% on empty discs and measured the diameter of the clear zone formation. The results showed that coffee extract could not inhibit the growth of *Salmonella enterica* (Group 1) bacteria at all concentrations but could inhibit the growth of *Aeromonas hydrophila* bacteria with successive inhibition zone diameters at concentrations (mg.ml^{-1}) of 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 and 0,5, namely 9 mm, 17 mm, 18 mm, 19 mm, and

24 mm. The conclusion of the study is that coffee extract has the potential to inhibit the growth of *Aeromonas hydrophila* bacteria.

Keywords: bacteria, fish, green coffee, inhibitory test

Pendahuluan

Bakteri *Aeromonas hydrophila* adalah bakteri berbentuk batang dan gram negatif, dapat ditemukan di lingkungan perairan, air minum, air limbah, limbah, dan makanan. Bakteri ini dianggap sebagai *emerging pathogen* yang menyebabkan gastroenteritis dan infeksi kulit, serta kondisi sistemik seperti peritonitis, bakteremia, meningitis, penyakit seperti kolera, sindrom uremik hemolitik, dan necrotizing fasciitis. Bakteri ini merupakan penyebab food dan waterborne pathogens serta *traveler's diarrhea* pada manusia (Igbiosa *et al.* 2012). Bakteri *Aeromonas hydrophila* patogen pada ikan yang terlibat dalam berbagai penyakit, termasuk MAS (motile *Aeromonas septicemia*) pada ikan mas, nila, *perch*, lele, dan salmon; Penyakit radang merah di ikan *bass* dan ikan mas; dan infeksi ulseratif seperti sindrom ulseratif epizootik pada ikan lele, *cod*, ikan mas, dan *goby* (Citterio & Biavasco 2015). Epizootic dari infeksi MAS terjadi sejak 1980 di Indonesia, diikuti oleh Malaysia, Thailand (1981), Burma & Philippines (1985), Sri Lanka (1987), Bangladesh, India, dan Nepal (1988) (Nahar *et al.* 2016).

Salmonella telah ditemukan bertahan hidup di perairan segar tropis, seperti sungai, aliran dan sumur selama beberapa hari. *Salmonella* yang dibawa oleh ikan dan produk akuakultur lainnya serta produk segar yang terkontaminasi dengan air kotor telah diindikasikan sebagai sarana semakin banyaknya wabah penyakit enterik. Di Indonesia, sekitar 10% ikan segar dilaporkan terkontaminasi oleh *Salmonella* (Traore *et al.* 2015).

Prosedur sanitasi yang tepat sangat penting dalam pencegahan penyebaran infeksi *Aeromonas*. Substitusi cairan elektrolit oral digunakan dalam pencegahan dehidrasi, dan antibiotik spektrum luas digunakan dalam wabah *Aeromonas* yang parah (Igbiosa *et al.* 2012). Pencegahan infeksi bakteri menggunakan ekstrak tumbuhan lebih banyak dipilih karena biaya rendah, ramah lingkungan, dan efektivitas terhadap bakteri tertentu, dibandingkan dengan antibiotik yang mungkin berbahaya bagi lingkungan (Hardi *et al.* 2016). Senyawa alami ini lebih disukai untuk digunakan pada banyak industri di seluruh dunia. Senyawa ini dikenal sebagai metabolit sekunder tanaman yang memiliki sifat antioksidan, antimikroba dan anti-

inflamasi. Baru-baru ini, penggunaan antibiotik yang berlebihan telah menimbulkan kekhawatiran karena meningkatnya jenis bakteri yang resisten terhadap antibiotika. Masalah berkelanjutan pengembangan resistensi terhadap agen antibakteri yang ada akan terus memotivasi peneliti untuk studi skrining lebih lanjut (Köse *et al.* 2016). Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa asam klorogenik pada kopi bertindak sebagai antioksidan, antikanker dan agen antibakteri (Djalal *et al.* 2018). Sehingga penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efektifitas ekstrak kopi sebagai pencegahan terhadap bakteri patogen.

Bahan dan metode

Bahan yang digunakan adalah bakteri *Aeromonas hydrophila* diperoleh dari Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Brawijaya dan bakteri *Salmonella enterica* (Group 1) diperoleh dari BBalivet, Bogor. Ekstrak kopi lampung robusta dilakukan di Laboratorium Farmakologi, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

Koleksi kopi hijau dan ekstraksi

Ekstraksi dilakukan di UPT Materia Medika, Batu, Indonesia, dengan tahapan: kopi hijau Robusta Lampung diekstraksi menggunakan pelarut 90% etanol, sejumlah 414 gram direndam dengan 1500 ml larutan etanol 90% sebanyak tiga kali dan dihomogenkan menggunakan shaker lalu diambil filtratnya. Filtrat diuapkan menggunakan rotatory evaporator. Kandungan aktif kopi diuji menggunakan LCMS (*Liquid chromatography–mass spectrometry*) dan fitokimia. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak kopi mengandung alkaloid, dan tannin; sedangkan uji LCMS menunjukkan *chlorogenic acid* (CGA) atau asam kloregenik. Konsentrasi perlakuan (mg.ml^{-1}) menggunakan pelarut akuades steril (Djalal *et al.* 2018).

Uji daya hambat bakteri

Bakteri *Aeromonas hydrophila* ditanam pada media TSA dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Nahar *et al.* 2016); sedangkan *Salmonella enterica* (Group 1) ditanam pada media BSA (*Bismuth Sulfit Agar*). Koloni bakteri *Aeromonas hydrophila* ditanam pada media TSB (*Tryptic Soy Broth*); sedangkan *Salmonella enterica* (Group 1) ditanam pada media Nutrient broth dengan kepadatan bakteri $1.5 \times 10^8 \text{ cfu.ml}^{-1}$ (0.5 McFarland) (Daood 2011). Suspensi bakteri ditanam

pada media agar menggunakan *swab* kapas steril selanjutnya dibiarkan sampai kering. Masing-masing konsentrasi ekstrak kopi diambil sebanyak 20 μ L, kemudian diteteskan di atas kertas cakram hingga jenuh selanjutnya diletakkan di atas permukaan media bakteri dan diinkubasi selama 37°C selama 24 jam (Djalal *et al*, 2018). Kontrol negatif menggunakan akuades steril.

Analisa data

Data berupa diameter zona hambat dianalisa secara deskriptif untuk menunjukkan kepekaan bakteri terhadap ekstrak kopi sebagai antibakteri.

Hasil

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kopi dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila* pada semua konsentrasi perlakuan (0,1-0,5 mg.ml⁻¹) dengan diameter zona hambat berturut-turut yaitu 9 mm, 17 mm, 18 mm, 19 mm dan 24 mm. Sedangkan pada bakteri *Salmonella enterica* (Group 1) masih menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri disekitar kertas cakram yang ditetesi ekstrak kopi, yang menunjukkan bahwa ekstrak kopi belum mampu menghambat pertumbuhan bakteri pada konsentrasi tersebut. Dibandingkan kontrol negatif yang masih ditemukan pertumbuhan bakteri (Tabel 1).

Tabel 1. Perbandingan zona hambat ekstrak kopi Robusta Lampung pada bakteri *Aeromonas hydrophila* dan *Salmonella enterica* (Group 1)

Bakteri	Diameter zona hambat (mm)				
	Konsentrasi (mg.ml ⁻¹)				
	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5
<i>Aeromonas hydrophila</i>	9	17	18	19	24
<i>Salmonella enterica</i> (Group 1)	0	0	0	0	0

Pembahasan

Masuknya antibiotik serta molekul kompleks lainnya ke dalam bakteri gram negatif seperti *Salmonella* dan *Aeromonas* membutuhkan jalur melalui membran luar lipopolisakarida. Jalur ini disediakan oleh saluran protein yang disebut porin. Kemampuan molekul untuk melewati saluran-saluran ini dipengaruhi oleh ukuran, bentuk, dan muatan listriknya. Telah dibuktikan bahwa porin berfungsi sebagai gerbang masuk utama untuk senyawa antibakteri dalam organisme ini. Protein membran ini pada awalnya dianggap secara khusus bertanggung jawab atas resistensi bakteri gram negatif yang lebih tinggi terhadap agen antibakteri. Penurunan masuknya antibiotik ke dalam sel bakteri tidak signifikan dalam bakteri gram positif karena mereka tidak memiliki membran luar lipopolisakarida (Köse *et al.* 2016).

Bakteri *Aeromonas hydrophila* resisten terhadap berbagai macam antibiotika yaitu cefixime, amoxicillin/clavulanic acid, ceftazidime, nalidixic acid, tetracycline, ceftriaxone, tobramycin, trimethoprim/sulphamethoxazole, enrofloxacin, amikacin, tobramycin, dan cephalosporin (Al Laham & Al Fadel 2014). Bakteri masih sensitif terhadap antibiotika ciprofloxacin, chloramphenicol, streptomycin, norfloxacin, (Ahmed *et al.* 2018).

Kopi adalah sumber kafein yang paling penting. Kafein membunuh mikroorganisme karena dapat dengan mudah melewati dinding sel bakteri. Kemudian, kafein dapat mulai menghambat sintesis DNA. DNA yang lebih rendah menyebabkan aktivitas yang lebih rendah di semua sel bakteri. Oleh karena itu, sintesis enzim dan sintesis protein tidak terjadi (Nonthakaew *et al.* 2015). Mekanisme alkaloid untuk menghambat pertumbuhan bakteri belum jelas, kemungkinan dapat menginduksi spesies oksigen reaktif yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Hardi *et al.* 2016). Efek mekanisme penghambatan terhadap bakteri karena kandungan tanin melalui ikatan hidrogen dengan protein, yang mengubah struktur dan menyebabkan penghambatan sintesis protein, dan tanin dianggap sebagai senyawa fenolik tanaman yang memiliki efek antioksidatif (Al Laham & Al Fadel 2014).

Simpulan

Simpulan dari penelitian adalah ekstrak kopi hijau Lampung berpotensi sebagai antibakteri terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila*.

Persantunan

Ucapan terima kasih disampaikan kepada fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya dan BBALIVET Bogor atas penyediaan bakteri.

Daftar pustaka

- Ahmed HA, Mohamed MEM, Rezk MM, Gharieb RMA, Abdel-Maksoud SA. 2018. *Aeromonas hydrophila* in fish and humans; prevalence, virulotyping and antimicrobial resistance. *Slov Vet Res*, 55 (Suppl 20): 113–24.
- Al Lahem SA & Al Fadel FM. 2014. Antibacterial activity of various plants extracts against antibiotic-resistant *Aeromonas hydrophila*. *Jundishapur J Microbiol*, 7(7): e11370.
- Citterio B, Biavasco F. 2015. *Aeromonas hydrophila* virulence. *Virulence*, 6(5): 417–418.
- Daood N. 2011. Antibacterial activity of some medicinal plants against fish pathogenic *Aeromonas* spp. isolated from farmed Common Carp (*Cyprinus carpio*). *Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences*, 33 (3).
- Djalal R, Lilik ER, Indah AA, Dodik P, Dahliatul Q, Sri M. 2018. Antibacterial activity of green coffee bean extract against *Staphylococcus aureus* and *Salmonella enteritidis*. *Biotika*, 1(20).
- Hardi EH, Irawan WK, Wiwin S, Agustina, Ibnu A, Rudy AN. 2016. Antibacterial activities of some Borneo plant extracts against pathogenic bacteria of *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas* sp. *AAFL Bioflux*, 9 (3).
- Igbinosa IH, Igumbor EU, Aghdasi F, Tom M, Okoh AI. 2012. Emerging *Aeromonas* species infections and their significance in public health. *Scientific World Journal*, 2012: 625023.
- Köse MD, Oguz B, Ali BB. 2016. Antioxidant and antimicrobial activities of extracts from some selected Mediterranean plant species. *International Journal of New Technology and Research (IJNTR)*, 2 (5) :113-118.
- Nahar S, Mohammad MR, Gias UA, Md ARF. 2016. Isolation, identification, and characterization of *Aeromonas hydrophila* from juvenile farmed pangasius

(*Pangasianodon hypophthalmus*). *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 4(4): 52-60

Nonthakaew A., Matan N. Aewsiri T, Matan, N. 2015. Caffeine in foods and its antimicrobial activity. *International Food Research Journal*, 22(1): 9-14

Traoré O, Outi N, Anja S, Isidore JOB, Alfred ST, Nicolas B, Kaisa H. Prevalence and diversity of *Salmonella enterica* in water, fish and lettuce in Ouagadougou, Burkina Faso. *BMC Microbiology*, 15:151