

Daya Hambat Ekstrak Air Kopi Robusta (*Coffea canephora*) terhadap Bakteri *Escherichia Coli*

Luthfiyah Salsabilla*, Hendro Sudjono Yuwono, Dhian Indriasari

Prodi Pendidikan Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Bandung, Indonesia.

*luthfiyahsalsabilla@gmail.com, hsyabc47@gmail.com, dhi_2178@yahoo.com

Abstract. *Escherichia coli* is a gram-negative rod that lives in the intestine. It is the causative agent of extraintestinal infections. *E. coli* bacteria are resistant to various antibiotics, notably beta-lactams (24.20%) and gentamicin (58.3-75.0%). Robusta coffee extract mixed in agar forms a hyperosmolar solution and produce hydrogen peroxide (H₂O₂) which can lyse and kill bacteria. The purpose of this study is to see whether an aqueous extract of Robusta coffee (*Coffea canephora*) can inhibit the growth of *E. coli* bacteria. An analysis using Kruskal-Wallis test in IBM SPSS 25. The method used was Kirby-Bauer disc diffusion on Mueller-Hinton Agar. Five samples were a positive control group (gentamicin), a negative control group (aqua des), and a coffee water extract with concentrations of 100%, 75%, and 50%. The agar was incubated in a CO₂ incubator at 37°C for 24 hours. The inhibition zone was then measured. The inhibition zone of 100% extract is 9.36 mm, 75% extract is 8.09 mm, 50% extract 7.42 mm. The positive control had a diameter of 16.47 mm, and the negative control had a diameter of 0 mm. These findings show a statistically significant difference (P<0.05). In conclusion, Robusta coffee water extract can inhibit *E. coli* bacterial growth, but its inhibitory power is lower than gentamicin.

Keywords: *Robusta Coffee Water Extract, Escherichia Coli, Antibacterial, Inhibitory Power, Gentamicin.*

Abstrak. *Escherichia coli* adalah bakteri usus, gram negatif batang, dan menyebabkan infeksi ekstraintestinal. Bakteri *E. coli* resisten terhadap beberapa antibiotik terutama beta-laktam (24,20%) dan gentamisin (58,3-75,0%). Ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*) ketika bercampur dengan media agar kultur sel dapat membentuk larutan hyperosmolar dan menghasilkan hidrogen peroksida (H₂O₂) yang dapat membunuh bakteri. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak air kopi robusta (*Coffea canephora*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*. Penelitian ini adalah studi analitik eksperimental in vitro dan menggunakan uji Kruskal-Wallis memakai IBM SPSS 25. Metode yang digunakan adalah difusi cakram Kirby-Bauer pada agar Mueller-Hinton dimana dipersiapkan lima kelompok sampel, yakni kelompok kontrol positif (gentamisin), kontrol negatif (akuades) dan kelompok perlakuan ekstrak air kopi konsentrasi 100%, 75%, dan 50%, selanjutnya sampel diinkubasi dalam inkubator CO₂ dalam suhu 37°C selama 24 jam. Selanjutnya dilakukan pengukuran zona inhibisi. Hasil penelitian didapatkan rata-rata diameter inhibisi ekstrak air kopi robusta 9,36 mm pada konsentrasi 100%, 8,09 mm pada konsentrasi 75%, dan 7,42 mm pada 50%. Diameter pada gentamisin sebesar 16,47 mm, dan 0 mm pada akuades. Hasil tersebut menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna (P<0,05). Kesimpulannya adalah ekstrak air kopi robusta dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*, namun daya hambatnya lebih rendah dibandingkan gentamisin.

Kata Kunci: *Ekstrak Air Kopi Robusta, EscherichiaCcoli, Antibakteri, Daya hambat, Gentamisin.*

A. Pendahuluan

Kopi merupakan minuman populer yang banyak dikonsumsi di seluruh dunia.¹ Bubuk kopi dibuat dari biji yang dipanggang yang berasal dari semak genus *Coffea*. Di Indonesia terdapat dua jenis kopi utama, yaitu jenis Kopi Robusta (mayoritas 81,96%) dan Kopi Arabika.^{1,2} Mayoritas perkebunan kopi di Indonesia didominasi oleh Kopi Robusta, sebanyak 81,96%, karena sebagian besar perkebunan kopi yang ada di Indonesia berada pada ketinggian 700 hingga 900 mdpl yang baik untuk pertumbuhan Robusta, sedangkan Arabika tumbuh baik pada ketinggian lebih dari 1.000 mdpl, dan robusta juga cenderung mudah beradaptasi dan tidak mudah terkena hama.² Selain rasa dari kopi yang digemari, kopi juga dipercaya memiliki banyak manfaat dalam bidang kesehatan, kopi dalam bidang kesehatan memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Di Indonesia secara tradisional kopi buatan sendiri sebagai obat luka.³ Yuwono telah membuktikan bahwa terdapat keberhasilan terapi menggunakan bubuk kopi pada luka yang akut ataupun kronis.⁴

Kopi robusta diasumsikan dapat memiliki efek antibakteri yang lebih kuat.⁵ Ekstraksi kopi pada penelitian ini menggunakan pelarut air karena murah dan kopi yang mudah larut dalam air.⁶ Penelitian Yuwono menunjukkan bahwa ekstrak air kopi dengan konsentrasi 25% memiliki daya hambat yang kuat terhadap bakteri Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) pada biakan media agar kultur sel.⁷ Okabe dkk melaporkan bahwa kopi menunjukkan aksi antibakteri yang kuat pada *E. coli* dan *Helicobacter pylori*.⁸ Penelitian Marsya pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* menunjukkan adanya aktivitas antibakteri pada ekstrak air kopi robusta konsentrasi 50% dan 100%.⁹ Kemampuan antibakteri pada kopi diakibatkan karena kopi memiliki senyawa aktif kafein dan hidrogen peroksida yang dianggap sebagai antibakteri utama yang terkandung dalam kopi robusta maupun arabika, dengan konsentrasi kafein yang lebih tinggi dibandingkan arabika, yaitu 0,21% dan 0,18%.^{8,9} Selain pada bukti secara *in vitro*, Yuwono telah membuktikan bahwa terdapat keberhasilan terapi menggunakan bubuk kopi robusta dan arabika dalam penyembuhan berbagai luka dari 130 pasien dengan diabetes melitus tipe-2, autoimun, luka bakar, pasca amputasi luka pada Buerger diseases, selulitis, malformasi vena, dan luka jaringan lunak femoralis dalam.⁷ Ekstrak kopi robusta, yang dibuat dalam bentuk salep, juga telah diujikan secara *in vivo* dan menunjukkan hasil bahwa secara keseluruhan ekstrak biji kopi robusta salep 45% dapat memberikan pengaruh yang baik terhadap proses penyembuhan luka karena pada konsentrasi ini jumlah fibroblas meningkat secara signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol, sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak salep kopi Robusta dapat meningkatkan proses penyembuhan luka kulit marmut *Cavia cabaya*.⁷

E. coli adalah bakteri usus gram negatif batang dan dapat menjadi penyebab utama infeksi luka akut atau kronis jaringan lunak dan dapat menjadi penyebab utama kerusakan jaringan yang progresif.¹⁰⁻¹² Meskipun *E. coli* banyak ditemukan di usus besar, bakteri ini dapat tumbuh di luar situs normalnya sehingga dianggap sebagai agen penyebab utama infeksi ekstraintestinal, seperti infeksi saluran kemih, sepsis, meningitis, dan infeksi luka pada kulit dan jaringan lunak atau Skin and Soft Tissue Infection (SSTI) yang menyebabkan infeksi tersebut menjadi kronis, seperti pada Diabetic Foot Infection (DFI), dimana *E. coli* (4%) menjadi penyebab utama. Secara umum, infeksi ekstraintestinal yang disebabkan oleh *E. coli* rentan terhadap berbagai antibiotik.¹⁰ Sehingga, perlu dilakukan tes kerentanan dan resistensi pada bakteri agar dapat memilih antibiotik yang tepat. *E. coli* sangat terkenal menunjukkan resistensi multidrug yang disebabkan karena adanya paparan antibiotik yang berkepanjangan, tinggal lebih lama di rumah sakit, penyakit parah dan kronis, penggunaan sefalosporin generasi ketiga yang belum 5 pernah terjadi sebelumnya, dan peningkatan penggunaan perangkat intravena atau kateter merupakan faktor risiko penting untuk infeksi *E. coli* yang resisten terhadap beberapa obat.^{11,12} Ditemukan bahwa *E. coli* yang resistens sebanyak 24,20% terhadap beta-laktam dan 58,3-75,0% akan menyebabkan resisten terhadap gentamisin.^{13,14}

Adanya aktivitas antibakteri yang dihasilkan oleh ekstrak kopi dan terdapat bukti bahwa ekstrak kopi yang digunakan secara topikal memiliki kemampuan antibakteri dan penyembuhan luka, menarik perhatian peneliti untuk melakukan uji terhadap bakteri *E. coli* menggunakan ekstrak air kopi robusta. Penelitian ini bertujuan meneliti daya hambat ekstrak kopi robusta pada kultur bakteri *E. coli* dibandingkan dengan gentamisin.

B. Metodologi Penelitian

Penelitian ini bersifat analitik eksperimental *in vitro* untuk memeriksa daya hambat ekstrak air kopi robusta pada kultur bakteri *E. coli* ATCC 25922. Digunakan metode difusi cakram Kirby-Bauer dengan kelompok kontrol positif yakni gentamisin, dan air sebagai kontrol negatif. Bakteri *E. coli* sebelumnya diinkubasi hingga terbentuk suspensi standar 0,5 McFarland ($1,5 \times 10^8$ CFU/ml), lalu dibiakan pada agar Mueller-Hinton dan diinkubasi pada inkubator CO 37°C selama 24 jam. Diameter zona hambat yang dihasilkan disekitar cakram (mm) diukur dengan jangka sorong.

Data hasil penelitian ekstrak air kopi robusta terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* merupakan data numerik yang dianalisis dengan menggunakan program statistik komputer, untuk melihat aktivitas yang bermakna dari masing-masing cakram uji yaitu cakram gentamisin (kontrol positif), cakram aquades (kontrol negatif), dan cakram ekstrak air kopi robusta dengan konsentrasi 50%, 75% dan 100%. Data tersebut diuji distribusinya terlebih dahulu dengan uji normalitas Shapiro-Wilk (normal apabila nilai signifikansi $P > 0,05$). Karena didapatkan nilai signifikansi P

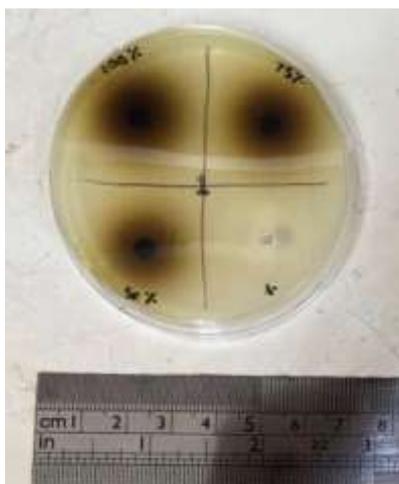
Kopi Robusta yang digunakan berasal dari Toko Kopi Aroma Jalan Banceuy Bandung. Biji Kopi Robusta tersebut telah di uji determinasi di Laboratorium Taksonomi FMIPA UNPAD. Uji determinasi bertujuan untuk menerangkan bahwa sampel yang digunakan sesuai dengan karakteristik Kopi Robusta (*Coffea canephora*). Ekstrak air kopi dibuat dengan cara merebus (decoction) bubuk kopi dalam air (pH 6.8) sebanyak 250ml (100 mg / ml) selama 15 menit dalam labu yang ditutup dengan aluminium foil. Lalu, ekstrak disaring ganda dengan kapas diikuti dengan kertas saring Whatman No. 1 dan selanjutnya dibekukan selama 48 jam dan liofilisasi (*freeze-drying*) sehingga sampel yang dihasilkan dalam bentuk bubuk yang padat (Solid-Liquid Extraction). Teknik tersebut diketahui dapat menghasilkan aktivitas antibakteri dari kopi, dan kopi mendidih terbukti dapat menambahkan bahan antibakteri ke dalam filtrat kopi dibandingkan dengan menggunakan air yang tidak direbus / air dingin. Sampel selanjutnya disimpan dalam lemari es sampai digunakan untuk pengujian. Teknik diatas diketahui dapat menghasilkan aktivitas antibakteri dari kopi, dan kopi mendidih terbukti dapat menambahkan bahan antibakteri ke dalam filtrat kopi dibandingkan dengan menggunakan air yang tidak direbus / air dingin.¹⁵

Sampel diencerkan dengan air agar mendapatkan ekstrak kopi konsentrasi 50%, 75%, dan 100%. Konsentrasi dihitung dengan menggunakan satuan konsentrasi persen berat (g) / volume (ml) (% w/v). Ekstrak air kopi robusta dengan konsentrasi 50%, dan 75%, pada 1 ml larutan, diambil masing-masing 0,5g dan 0,75g dari ekstrak air kopi robusta pekat 100%, lalu dimasukkan kedalam masing-masing gelas yang telah diberi label, setelah itu pada setiap gelas tersebut ditambahkan 1 ml aquadest.

Penelitian dilaksanakan dari 1 Januari—31 Desember 2021 di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Unpad, Jl. Eyckman No. 38, Bandung. Pembuatan ekstrak air kopi di Laboratorium Sentral Unpad, Jl. Raya Sumedang Km. 21. Segala bentuk kegiatan yang dilakukan di laboratorium dilakukan sesuai dengan protokol kesehatan dan mengikuti pertauran yang berlaku pada lab yang akan digunakan. Ijin Komisi Etik Penilaian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Bandung Nomor: 054/KEPK-Unisba/V/2021.

C. Hasil Penelitian dan Pembahasan

Pada penelitian ini didapatkan diameter zona inhibisi yang terbentuk di sekitar cakram terlihat pada Gambar 1 dan hasil uji aktivitas antibakteri tersaji pada Tabel 1 berikut



Gambar 1. Ekstra air Kopi Robusta konsentrasi 100%, 75%, dan 50%; dan kontrol positif (gentamisin)

Table 1. Diameter Zona Inhibisi yang Terbentuk pada bakteri uji *E. coli*

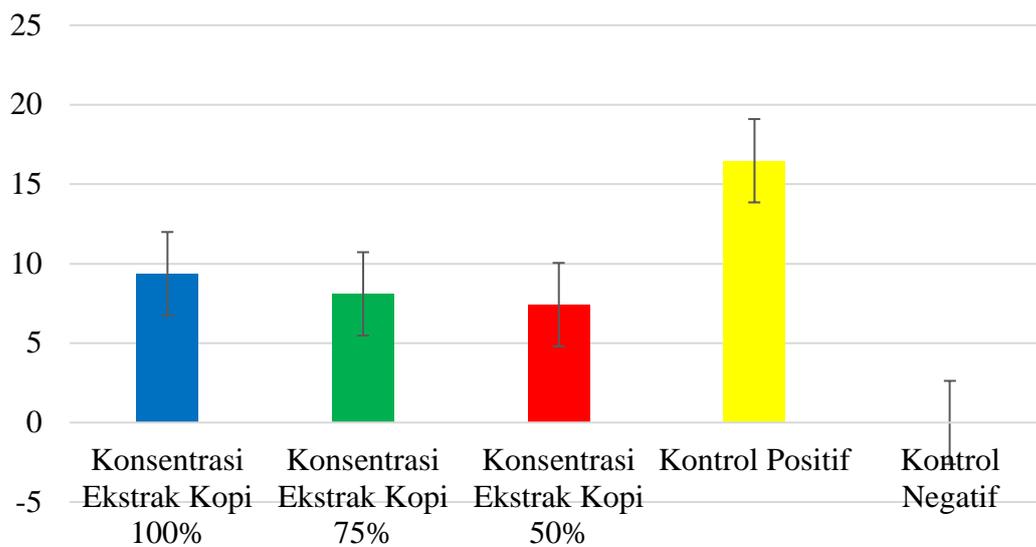
Diameter Zona Inhibisi (mm)					
	Konsentrasi Ekstrak Air Kopi Robusta			Kontrol +	Kontrol -
	100%	75%	50%		
Rata-rata ±SD	9,365 ± 0,539	8,095 ± 0,506	7,4225 ± 0,554	16,475 ± 0,829	0 ± 0

Sumber: Data Penelitian yang Sudah Diolah, 2021.

Hasil pada Tabel 1 memperlihatkan semakin besar konsentrasi ekstrak air kopi, semakin besar diameter zona inhibisi terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* yang terbentuk juga semakin besar. Terbentuknya zona inhibisi di sekitar disk menandakan adanya aktivitas antibakteri terhadap *E. coli*. Zona inhibisi yang terbentuk pada kontrol negatif adalah 0 mm, yang menandakan bahwa air tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli*.

Pada Tabel 1 juga menunjukkan adanya variasi antar pengulangan pada tiap konsentrasi ekstrak air kopi robusta. Perbedaan diameter zona hambat pada masing-masing konsentrasi di setiap perlakuan bisa disebabkan oleh beberapa faktor yang terdiri dari media kultur, kepekaan bakteri, kondisi inkubasi yang dilihat dari suhu, pH dan waktu, komposisi media, konsentrasi bakteri, dan kecepatan zat berdifusi dalam agar.¹⁶ Menurut kriteria interpretatif uji kepekaan bakteri metode difusi cakram *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)*, kategori peka untuk diameter zona hambat sebesar ≥ 20 mm, kategori sedang untuk diameter zona hambat sebesar 25-19 mm, lemah atau resisten untuk diameter zona hambat sebesar ≤ 14 mm.¹⁷ Berdasarkan kriteria tersebut, diameter zona inhibisi ekstrak air kopi robusta pada pertumbuhan bakteri *E. coli* termasuk lemah. Rata-rata diameter zona inhibisi air, sebagai kontrol negatif, (0 mm) termasuk kategori lemah/resisten. Sedangkan rata-rata diameter zona inhibisi gentamisin sebagai kontrol positif (16,47 mm) termasuk kategori sedang.

Hasil uji Kruskal-Wallis diketahui nilai $P = 0,001$ ($P < 0,05$) yang artinya terdapat perbedaan yang signifikan antar lima kelompok uji. Hasil uji beda terlihat pada Gambar 2 berikut



Gambar 2. Diagram Batang Hasil Uji Beda Antar Lima Kelompok

Hasil diatas menunjukkan diameter inhibisi pada kelompok ekstrak air kopi robusta berbeda dengan gentamisin. Dari hasil penelitian ini bahwa ekstrak air kopi robusta mempunyai daya hambat terhadap kultur *E. coli*, tetapi lebih lemah terhadap Gentamisin.

Konsentrasi ekstrak kopi dipilih berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Amwalia dkk menunjukkan bahwa ekstrak air Kopi Robusta konsentrasi 50%, 75%, dan 100% efektif dalam menghambat dan membunuh bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) yang dibandingkan dengan Vankomisin.¹⁸ Hal tersebut karena ekstrak air kopi robusta tersebut memiliki kandungan senyawa aktif antibakteri seperti kafein, asam klorogenat, dan trigonelin.¹⁸

Pada penelitian ini, meskipun daya hambat relatif lemah, ekstrak air kopi robusta tetap memiliki efek antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli*. Peningkatan besar rata-rata diameter zona inhibisi yang terbentuk seiring dengan semakin besarnya konsentrasi ekstrak air kopi robusta, menunjukkan kekuatan antibakteri komponen zat aktif didalamnya.⁹

Menurut Uppu, adanya kemampuan daya hambat pada ekstrak kopi robusta, disebabkan oleh terbentuknya H_2O_2 yang bersifat sitotoksik pada bakteri, termasuk spesies *E. coli*, *Listeria innocua*, dan *Helicobacter pylori*.¹⁹ Hidrogen peroksida (H_2O_2) merupakan salah satu komponen utama dari *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang terdapat dalam kopi dan berkontribusi secara signifikan terhadap kerusakan seluler dan organisme, dan kematian pada sel bakteri.⁸ Selain itu, pada penelitian Yuwono, campuran ekstrak kopi dengan agar (in vitro) dan luka (in vivo) dapat menghasilkan larutan hiperosmolar yang dapat merusak sel bakteri.⁴ Terdapat kandungan senyawa kopi yang telah diketahui memiliki efek antibakteri, antara lain: kafein, asam klorogenat, fenol, trigonelin, dan *caffeic acid*.¹⁶ Almeida dkk. melakukan penelitian yang mengujikan antibakteri ekstrak kopi dan senyawa kimia kopi terpilih terhadap Enterobacteria dengan metode difusi. Ditemukan bahwa pada ekstrak yang diuji, meskipun pH, warna, dan kandungan trigonelin, kafein, dan asam klorogenat berbeda secara signifikan di antara ekstrak kopi, tidak menyebabkan perbedaan signifikan dalam aktivitas antimikrobanya.²⁰ Oleh karena itu, kemungkinan besar aktivitas antimikroba tidak disebabkan oleh satu jenis senyawa tertentu, melainkan beberapa target senyawa di dalam sel.²⁰

Kafein merupakan senyawa alkaloid bersifat termostabil dan polar yang paling banyak terkandung pada kopi robusta (0,21%).^{5,6,21} Kafein dapat menghambat kelangsungan hidup sel dan menyebabkan lisis pada bakteri dengan menghambat sintesis DNA dan dinding sel serta merusak sintesis RNA dan protein.^{6,16,22} Asam klorogenat kopi dapat masuk ke dalam inti sel dan bekerja dengan merusak struktur dinding sel bakteri.¹⁶ Selanjutnya adalah fenol (senyawa flavonoid) yang memiliki kemampuan untuk merusak dinding sel bakteri karena perbedaan kepolaran antara lipid penyusun bakteri dan gugus alkohol pada flavonoid, dapat masuk

merusak inti sel bakteri.²³ Terdapat pula senyawa trigonelin yang memiliki aksi bakteriostatik dengan kesamaan aktivitas antibakteri dengan kafein dan asam klorogenat.^{5,6} Mekanisme yang toksisitas fenolik terhadap mikroorganisme dapat mencakup penghambatan enzim oleh senyawa teroksidasi, melalui reaksi dengan gugus sulfidril atau melalui interaksi yang lebih nonspesifik dengan protein.²⁰

Pada penelitian ini antibiotik gentamisin membentuk diameter zona inhibisi yang lebih besar dibandingkan dengan ekstrak air kopi robusta. Hal tersebut terjadi karena terdapat perbedaan sifat antibakteri antara ekstrak kopi robusta dengan antibiotik gentamisin.^{6,24} Gentamisin bersifat bakteriosidal dengan berikatan pada *a-site* RNA lalu mengubah konformasinya sehingga menyebabkan kesalahan sintesis protein dan menyebabkan kerusakan membran sel yang membunuh bakteri.²⁴

Penelitian ini memiliki hasil yang berbeda dengan penelitian Tanauma dkk yang menggunakan pelarut etanol untuk ekstrak kopi robusta pada konsentrasi 100%, 50%, dan 25% masing-masing membentuk rata-rata diameter inhibisi sebesar 27 mm, 24 mm, dan 22,5 mm, terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli*. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etanol kopi robusta pada konsentrasi tersebut efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*.²³ Hal tersebut terjadi karena pelarut yang digunakan adalah etanol yang lebih unggul dalam selektifitas, dan kandungan alkaloid, minyak atsiri, glikosida, kurkumin, klorofil, steroid, dan flavonoid.²³

Pada penelitian yang dilakukan oleh Tasew terdapat perbedaan daya antibakteri kopi hijau dan kopi panggang yang signifikan berdasarkan daerah asal kopi dari beberapa daerah di Euthopia.¹⁵ Sehingga, rendahnya diameter yang terbentuk pada penelitian ini dapat dipengaruhi oleh varian tanaman kopi dan lokasi pertumbuhannya.¹⁵ Selain itu, perbedaan diameter zona hambat yang terbentuk juga dapat disebabkan oleh konstituen zat yang terkandung dalam tanaman kopi, yang saling melemahkan, memperkuat, meningkatkan atau sepenuhnya mengubah efek tanaman kopi satu sama lain.⁹ Lemahnya diameter zona hambat yang terbentuk pada penelitian ini juga dikarenakan terdapat perbedaan kondisi secara *in vitro*.⁴ Pada penelitian yang dilakukan Yuwono sejak tahun 2003, lebih dari 300 kasus luka akut dan kronis yang diobati dengan bubuk kopi menunjukkan hasil kesembuhan yang baik.⁴

Ekstrak kopi memiliki keuntungan sebagai minuman dengan efek antibakteri adalah dikonsumsi dalam bentuk pekat (6-10%) dibandingkan dengan berbagai infus obat yang telah menunjukkan efek secara *in vitro*.²⁵ Pada penelitian *in vivo* ekstrak kopi 45% dibuat menjadi bentuk salep dapat meningkatkan penyembuhan luka pada tikus *Cavia cabaya*.²⁶

D. Kesimpulan

Daya hambat ekstrak air kopi robusta konsentrasi 100%, 75% dan 50% memiliki perbedaan yang signifikan dengan gentamisin terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli*.

Acknowledge

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada pihak Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran, Laboratorium Sentral Universitas Padjajaran yang telah membantu dalam penelitian ini.

Daftar Pustaka

- [1] Jeszka-Skowron M, Zgoła-Grześkowiak A, Grześkowiak T. Analytical methods applied for the characterization and the determination of bioactive compounds in coffee. *European Food Research and Technology*. Springer Verlag; 2014. hlm. 19–31.
- [2] Marsilani ON, Wagiman, Sukartiko AC. Chemical profiling of western Indonesian single origin robusta coffee. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*; 2020 Jul 18-23; Digital meeting: Institute of Physics Publishing; 2020. hlm. 012041.
- [3] Yuwono HS. Coffee Powder for Wound Healing The New Paradigm of Wound Management. Bandung: Refika Aditama; 2013. hlm. 8, 14.
- [4] Yuwono HS. Why the Coffee Powder is the Best Topical Wound Dressing?. *EJMED*. 2021;3(6):4–7.

- [5] Wijaya W, Ridwan RD, Budi HS. Antibacterial ability of arabica (*Coffea arabica*) and robusta (*Coffea canephora*) coffee extract on *Lactobacillus acidophilus*. *Dent J*. 2017;49(2):99.
- [6] Nuhu AA. Bioactive Micronutrients in Coffee: Recent Analytical Approaches for Characterization and Quantification. *ISRN Ntr*. 2014;(2014):1–13.
- [7] Yuwono HS. The New Paradigm of Wound Management Using Coffee Powder. *Glob j Surg*. 2014;2(2):25–9.
- [8] Okabe Y, Yamamoto Y, Yasuda K, Hochito K, Kawano K, Ishii N. The antibacterial effects of coffee on *Escherichia coli* and *Helicobacter pylori*. *J Clin Biochem Nutr*. 2004;34(3):85–7.
- [9] Marsya NM, Haribudiman O, Yuwono HS. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Air Kopi Robusta (*Coffea canephora*) terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. *JIKS*. 2021;3(1):38–47.
- [10] Carrol K, Hobden J, Miller S, Morse S, Mietzner T, Detrick B, dkk. Enteric Gram-Negative Rods (Enterobacteriaceae). *Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology*. Edisi ke-27. London: McGraw-Hill Education; 2016. hlm. 231.
- [11] Shahunja KM, Ahmed T, Hossain MI, Islam MM, Monjory MB, Sayeem Bin Shahid ASM, dkk. Clinical and laboratory characteristics of children under five hospitalized with diarrhea and bacteremia. *PLoS One*. 2020;15(12):e0243128.
- [12] Cardona AF, Wilson SE. Skin and Soft-Tissue Infections: A Critical Review and the Role of Telavancin in Their Treatment. *Clin Infect Dis*. 2015;61(2):S69–78.
- [13] Shahi SK, Singh VK, Kumar A. Detection of *Escherichia coli* and Associated β -Lactamases Genes from Diabetic Foot Ulcers by Multiplex PCR and Molecular Modeling and Docking of SHV-1, TEM-1, and OXA-1 β -Lactamases with Clindamycin and Piperacillin-Tazobactam. *PLoS One*. 2013 Jul 4;8(7):e68234.
- [14] Ogba OM, Nsan E, Eyam ES. Aerobic bacteria associated with diabetic foot ulcers and their susceptibility pattern. *Biomed Derm*. 2019 :3(1):1.
- [15] Tasew T, Mekonnen Y, Gelana T, Redi-Abshiro M, Chandravanshi BS, Ele E, dkk. In vitro antibacterial and antioxidant activities of roasted and green coffee beans originating from different regions of Ethiopia. *Int J Food Sci*. 2020;(2020):1–8.
- [16] Ayu P, Widayarsi M, Aman I, Mahendra AN. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Kopi Robusta (*Coffea Canephora*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Epidermidis* ATCC 12228 Penyebab Infeksi Nosokomial. *J Med Udayana*. 2020;9(12):103–107.
- [17] Hudzicki J. Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol. America: American Society for Microbiology; 2009. hlm 1–23.
- [18] Amwalia AD, Harun YZ, Yuwono HS. Uji Daya Hambat dan Daya Bunuh Ekstrak Air Kopi Robusta (*Coffea Cenaphora*) terhadap Pertumbuhan Bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus Aureus* (In Vitro). *Pros Pendidik Dr*. 2021;7(1):663–7.
- [19] Uppu SN, London BK. Hydrogen Peroxide Levels in Freshly Brewed Coffee and the Effects of Storage. *bioRxiv*. 2020;8(8): 242552.
- [20] Almeida AAP, Farah A, Silva DAM, Nunan EA, Glória MBA. Antibacterial activity of coffee extracts and selected coffee chemical compounds against enterobacteria. *J Agric Food Chem*. 2006;54(23):8738–43.
- [21] Mehaya FM, Mohammad AA. Thermostability of bioactive compounds during roasting process of coffee beans. *Heliyon*. 2020;6(11):e05508.
- [22] Dash SS, N. Gummadi S. Inhibitory Effect of Caffeine on Growth of Various Bacterial Strains. *Res J Microbiol*. 2008;3(6):457–65.
- [23] Alesta Tanauma H, Citraningtyas G, Lolo WA. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Kopi Robusta (*Coffea Canephora*) Terhadap Bakteri *Escherichia Coli*. *Pharmacon*. 2016;5(4):244–251.
- [24] Krause KM, Serio AW, Kane TR, Connolly LE. Aminoglycosides: An overview. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2016;6(6):a027029.

- [25] Antonio AG, Moraes RS, Perrone D, Maia LC, Santos KRN, Iório NLP, dkk. Species, roasting degree and decaffeination influence the antibacterial activity of coffee against *Streptococcus mutans*. *Food Chem.* 2010;118(3):782–8.
- [26] Kenisa YP, Istiati I, J WS. Effect of Robusta coffee beans ointment on full thickness wound healing. *Dent J.* 2012;45(1):52.