

II. TINJAUAN PUSTAKA DAN HIPOTESIS

A. Kopi Robusta

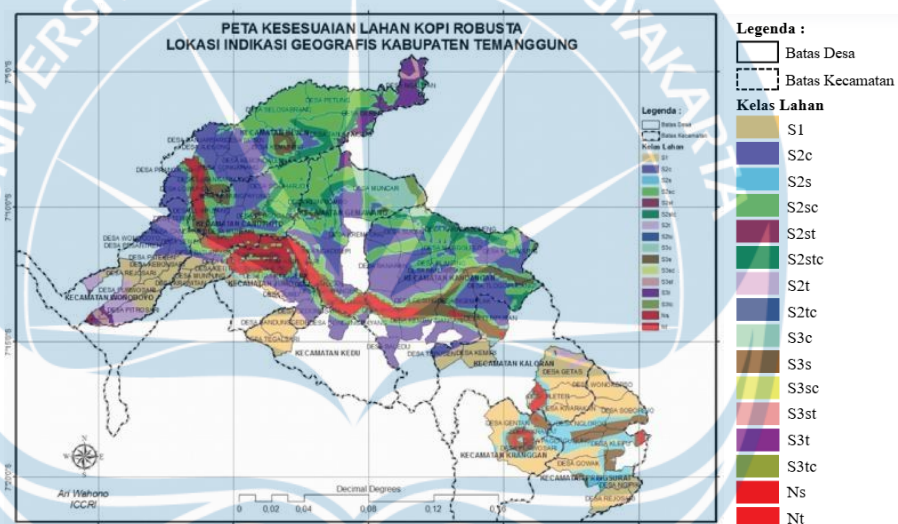
Kopi robusta atau *Coffea canephora*, merupakan tanaman kopi yang tumbuh optimal pada ketinggian sekitar 100-600 mdpl dengan suhu lingkungan 21-24°C. Karakteristik dari kopi robusta yaitu memiliki profil rasa yang lebih intens dibandingkan kopi arabika, dimana kopi robusta memiliki aroma kuat, tingkat keasaman lebih rendah, kadar kafein yang lebih tinggi, dan tekstur yang lebih padat. Bentuk biji robusta cenderung bulat dibandingkan kopi arabika, dengan garis tengah memanjang yang jelas (Priyanto dkk., 2022). Perbedaan bentuk antara biji kopi robusta dan arabika dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Biji kopi arabika (a), robusta (b) (Sumber: Murinto dkk., 2023)
Keterangan: Biji kopi arabika berbentuk oval, sedangkan biji kopi robusta berbentuk bulat dan lebih tebal (Harnelly dkk., 2024).

Kopi robusta merupakan salah satu jenis tanaman perkebunan yang paling banyak dibudidayakan di Indonesia dan memiliki peran yang sangat signifikan dalam perekonomian nasional (Budi dkk., 2020). Kabupaten Temanggung yang berada di Jawa Tengah merupakan salah satu wilayah dengan produksi kopi terbesar di Indonesia, sehingga menjadikannya pusat penghasil kopi di tingkat provinsi (Young dan Nuswantara, 2023). Kopi robusta merupakan komoditas unggulan Kabupaten Temanggung, dengan cita rasa unik membuatnya menjadi

salah satu komoditas kopi yang spesial, cita rasa khas kopi robusta yang berasal dari Kabupaten Temanggung tersebut diakibatkan oleh faktor geografis budidaya kopi tersebut (Pardono dkk., 2022). Kopi robusta Kabupaten Temanggung dibudidayakan pada ketinggian 200 hingga 999 mdpl, dengan sebaran curah hujan berkisar antara 2.500 hingga 4.000 mm per tahun (Erdiansyah dan Wahono, 2016). Berikut merupakan peta geografis Kabupaten Temanggung, yang dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Peta Geografis Kabupaten Temanggung (Sumber: (Erdiansyah dan Wahono, 2016))

Gambar 2., menunjukkan peta geografis kesesuaian lahan kopi robusta di Kabupaten Temanggung. Lahan berwarna merah pada peta menunjukkan kelas lahan yang tidak sesuai dengan faktor pembatas lereng dan elevasi. Lahan berwarna lain selain warna merah memiliki kelas lahan yang masuk dalam kategori agak sesuai, cukup sesuai dan sangat sesuai dengan faktor pembatas lereng, elevasi dan iklim. Lahan dengan kode S1 dan S2c pada peta merupakan kelas lahan yang sesuai untuk pengembangan kopi robusta (Erdiansyah dan Wahono, 2016).

B. Ampas Kopi

Ampas kopi merupakan residu padat dari hasil proses pembuatan kopi. Ampas kopi berasal dari biji kopi yang telah dipanggang dan digiling, lalu kehilangan beberapa senyawa yang larut dalam air (Franca dan Oliveira, 2022). Proses pembuatan kopi hingga menghasilkan ampas kopi melibatkan pencampuran bubuk kopi dengan air panas atau uap untuk melarutkan senyawa-senyawa pada kopi, kemudian dilanjutkan dengan proses penyaringan yang akhirnya akan menyisakan ampas kopi (Colantoni dkk., 2021).

Ampas kopi yang dihasilkan dari proses pembuatan kopi memiliki kelembaban yang tinggi yaitu sekitar 80%, bersifat asam dan kaya akan zat organik. Tingginya produksi kopi di seluruh dunia, jumlah ampas kopi yang dihasilkan pun sangat besar, mencapai jutaan ton setiap tahunnya. Rata-rata satu ton kopi dapat menghasilkan ampas kopi sebanyak 650 kg dan sekitar 2 kg ampas kopi basah dihasilkan setiap kilogram kopi larut yang diproduksi, hampir setengah dari biji kopi yang diolah menjadi kopi instan akan berubah menjadi ampas kopi (Colantoni dkk., 2021).

Kandungan zat organik yang berlimpah pada ampas kopi membuatnya memiliki potensi yang sangat besar untuk dimanfaatkan. Para peneliti telah mempelajari pemanfaatan limbah kopi seperti ampas kopi sebagai sumber daya hayati yang berguna (Colantoni dkk., 2021). Ampas kopi mengandung beberapa senyawa bioaktif ketika diekstraksi, meliputi klorogenat, kafeat, kafeoilkuinat, elagik, trans-ferulik, *feruloylquinic*, galat, p-hidroksibenzoat, p-kumarat, flavonoid, katekin, epikatekin, kafein, kuersetin, dan lainnya (Andrade

dkk., 2022). Ampas kopi telah dimanfaatkan secara luas di berbagai bidang seperti sektor makanan, farmasi, kosmetik, energi, dan material (*biopolymeric films, composite fillers*, dll.) (Franca dan Oliveira, 2022).

C. Ekstraksi

Metode maserasi adalah metode ekstraksi sederhana yang pelarutnya disaring untuk dipisahkan dari sampel ketika kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman sudah tercapai. Hasil ekstraksi kemudian disaring untuk memisahkan pelarut dari sampel. Metode maserasi baik digunakan untuk mengekstraksi senyawa yang memiliki sifat termolabil (Mukhriani, 2014). Suhu pada metode maserasi berperan terhadap jumlah serta kandungan senyawa metabolit, warna, dan juga sifat sensorik yang dihasilkan (Şener, 2018).

Penelitian yang dilakukan oleh Juliantari dkk. (2018), memiliki sasaran berupa optimasi konsentrasi pelarut etanol dan suhu maserasi terhadap karakteristik rendemen ekstrak, kadar kafein, dan total fenol. Konsentrasi pelarut etanol yang digunakan yaitu 70%, 80% dan 90% dengan suhu maserasi 45°C, 60°C dan 75°C. Perlakuan terbaik didapatkan pada konsentrasi pelarut etanol 90% dan suhu maserasi 60°C menghasilkan rendemen, kadar kafein, dan total fenol terbesar. Suhu yang tepat digunakan pada proses ekstraksi dapat melarutkan zat aktif secara optimum sehingga ekstrak yang dihasilkan juga optimum. Senyawa-senyawa penting dapat menguap dan hilang jika suhu

maserasi tidak diperhatikan, seperti suhu yang terlalu tinggi atau melewati batas optimumnya (Juliantari dkk., 2018).

Pemilihan pelarut yang selektif merupakan suatu proses penting dalam melakukan ekstraksi untuk memperoleh suatu metabolit dalam tanaman. Proses ekstraksi diperlukan untuk mendapatkan suatu senyawa. Ekstraksi senyawa target dari suatu bahan tanaman perlu diperhatikan kompatibilitas polaritas antara pelarut dan target pada bahan tersebut. Etanol adalah pelarut bahan alami yang aman jika dikonsumsi oleh manusia. Ekstraksi senyawa antioksidan dari bahan alam dengan pelarut etanol absolut atau etanol cair menghasilkan hasil ekstraksi yang baik. Hasil ekstraksi yang baik ditandai dengan hasil rendemen ekstraksi yang meningkat, menandakan senyawa yang dituju telah larut selama proses ekstraksi (Hikmawanti dkk., 2021).

Etanol 90% digunakan sebagai pelarut karena sifatnya yang universal sehingga dapat mengekstraksi metabolit dengan sifat polar, semi-polar ataupun non-polar. Sifat polar yang dimiliki etanol berasal dari gugus -OH yang dimiliki etanol, sedangkan sifat non-polar berasal dari gugus -CH₃CH₂, dan sifat non-polar berasal dari karbon pendek pada etanol (Arsa dan Achmad, 2020). Etanol baik digunakan sebagai pelarut ekstraksi, etanol sebagai pelarut akan bekerja dengan cara menembus dan berdifusi melalui dinding sel bahan dan menarik senyawa bioaktif dengan cepat (Yulianti dkk., 2020). Menurut studi yang dilakukan oleh Abriyani dkk., (2022), perbedaan penggunaan pelarut dapat menarik atau mengekstraksi kafein dalam jumlah yang berbeda (Abriyani dkk., 2022). Menurut studi yang dilakukan oleh Iswandi (2022), kafein yang

terekstraksi selama 7 hari oleh pelarut etanol pada biji kopi Robusta didapatkan sebesar 6,55%.

D. Aktivitas Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa dengan susunan komponen kimia berupa monohidroksil atau polihidroksil fenol, yang bekerja sebagai inhibitor pada proses oksidasi. Sel tubuh manusia dapat terlindungi dari kerusakan akibat radikal bebas, melalui pendonoran satu elektron bebas oleh antioksidan kepada radikal bebas. Radikal bebas yang meningkat dapat diatasi dengan menggunakan senyawa seperti antioksidan sebagai agen penetralisir (Andarina dan Djauhari, 2017).

Radiasi UVA dan UVB merupakan radiasi UV utama yang masuk sampai ke permukaan bumi yang berasal dari sinar matahari. Sinar UV berlebih dapat meningkatkan kadar radikal bebas dalam tubuh, yang kemudian dapat menyebabkan stres oksidatif, kerusakan sel, dan penuaan kulit dini (Lestari dan Hajar, 2023). Sinar UV tersebut dapat meningkatkan radikal bebas atau *reactive oxygen species* (ROS) pada kulit, tidak hanya faktor tersebut, tetapi radikal bebas dapat dibentuk secara alami oleh metabolisme sel (Andarina dan Djauhari, 2017).

Radikal bebas merupakan molekul yang terbentuk saat oksigen bereaksi dengan molekul lain, sehingga menghasilkan elektron yang tidak berpasangan. Oksigen yang memiliki elektron tunggal di luar orbitnya maka akan bersifat reaktif, mudah bereaksi dengan zat lain, dan mudah berubah. Elektron dari

komponen terdekat lain akan direbut oleh molekul oksigen yang memiliki elektron tunggal untuk menstabilkan kembali kondisi dirinya. Oleh karena itu kerusakan sel akan terus terjadi jika radikal bebas tidak berikatan dengan antioksidan. Radikal bebas yang berikatan dengan antioksidan dapat menghentikan terjadinya reaksi oksidasi dan mencegah kerusakan sel (Andarina dan Djauhari, 2017).

Radikal bebas sebenarnya dapat dinetralkan oleh tubuh karena tubuh sendiri memiliki antioksidan sebagai pertahanan. Tetapi kemampuan sistem tubuh dalam menetralkan radikal bebas akan semakin berkurang seiring bertambahnya usia dan akumulasi ROS yang bertambah banyak. Jumlah radikal bebas dan antioksidan yang tidak seimbang menyebabkan terjadinya stres oksidatif (Andarina dan Djauhari, 2017).

Stres oksidatif memiliki peran dalam patogenesis jerawat, di mana sebenarnya ROS yang terbentuk pada tingkat unit pilosebacea, spesifiknya dalam neutrofil dapat menyebabkan kerusakan dinding folikel dan berkontribusi dalam proses inflamasi. Bakteri anaerob tidak dapat tumbuh secara optimal dalam lingkungan fisiologis pada unit pilosebacea, tetapi lingkungan mikro tersebut diubah kondisinya oleh keberadaan stres oksidatif, sehingga menciptakan suatu lingkungan yang mendukung kolonisasi bakteri. Proses oksidasi sebum juga terjadi di dalam folikel sehingga kadar oksigen menjadi berubah. Sebum dan keratinosit yang menumpuk pada folikel rambut menyebabkan suatu penyumbatan, sehingga menciptakan suatu lingkungan yang ideal bagi pertumbuhan bakteri jerawat (Popa dkk., 2023).

Peradangan akan terinisiasi akibat faktor kemotaktik untuk neutrofil yang dilepaskan oleh bakteri penyebab jerawat *Propionibacterium acnes*, yang kemudian dapat terjadi akumulasi dalam lesi jerawat. Neutrofil tersebut melepaskan ROS, menyebabkan jaringan rusak atau biasa disebut dengan kerusakan oksidatif otomatis (Popa dkk., 2023). Neutrofil pada pasien dengan lesi jerawat yang meradang memproduksi hidrogen peroksida yang lebih tinggi dibandingkan individu sehat. *Propionibacterium acnes* bekerja dalam mengganggu epitel folikel, menyebabkan bakteri dalam mikrokomedo dapat berinteraksi dengan berbagai sel kulit dan sel kekebalan tubuh, juga merangsang sel-sel imun untuk melepaskan sitokin proinflamasi ketika folikel berada dalam fase anaerobik dan kaya akan sebum (Popa dkk., 2023).

Antioksidan dapat ditemukan pada berbagai macam tanaman, oleh karena itu antioksidan pada tanaman banyak diformulasikan sebagai vitamin dan produk perawatan kulit yang mengandung antioksidan alami (Haerani dkk., 2018). Salah satu bahan alami yang mengandung antioksidan yaitu ampas kopi (Andrade dkk., 2022). Nilai aktivitas antioksidan berbanding lurus dengan kandungan kafein dalam kopi. Komposisi kimia kopi sangat dipengaruhi oleh berbagai macam faktor dan salah satunya adalah proses pengolahannya (Morais dkk., 2023).

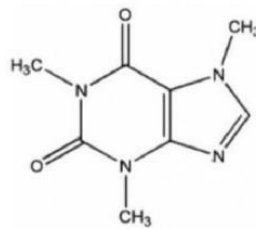
IC₅₀ merupakan nilai yang menyatakan aktivitas antioksidan yang diuji, aktivitas antioksidan semakin tinggi jika nilai IC₅₀ yang didapatkan semakin kecil, dengan satuan dari nilai IC₅₀ yaitu µg/mL (Putri, 2020). Aktivitas antioksidan berdasarkan nilai IC₅₀ digolongkan menjadi 5 kelompok. IC₅₀

dengan nilai di bawah 50 ppm digolongkan ke dalam kategori aktivitas antioksidan sangat kuat, IC_{50} dengan nilai 50-100 ppm digolongkan ke dalam kategori aktivitas antioksidan kuat. IC_{50} dengan nilai 100-150 ppm digolongkan ke dalam kategori aktivitas antioksidan sedang. IC_{50} dengan nilai 150-200 ppm digolongkan ke dalam kategori aktivitas antioksidan lemah, dan IC_{50} dengan nilai di atas 200 ppm digolongkan ke dalam kategori aktivitas antioksidan sangat lemah (Pangestu dkk., 2017).

Aktivitas antioksidan ekstrak etanol ampas kopi robusta menurut studi yang dilakukan oleh Ansori dkk. (2021), didapatkan persentase inhibisi sebesar 77,99% melalui uji DPPH. Nilai IC_{50} ampas kopi menurut studi yang dilakukan oleh Vu dkk. (2021), adalah sebesar 8,5-44,9 $\mu\text{g/mL}$ dengan rerata sebesar 17,5 $\mu\text{g/mL}$ melalui uji DPPH. Dapat disimpulkan bahwa aktivitas antioksidan ampas kopi termasuk ke dalam kategori sangat kuat.

E. Kafein

Kafein adalah senyawa organik heterosiklik dengan basa purin yang disebut dengan xantin yang terdiri dari cincin pirimidin dengan cincin imidazol sebagai penghubungnya. Kafein merupakan metabolit sekunder dari tanaman yang dikenal sebagai alkaloid yang berasal dari nukleotida purin dengan atom nitrogen heterosiklik. Kafein merupakan metilxantin yang ditemukan dalam jumlah yang melimpah dalam makanan, terutama pada spesies *Coffea* (dePaula dan Farah, 2019). Struktur kimia senyawa kafein dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Struktur kimia senyawa kafein (Sumber: Abriyani dkk., 2022)
Gugus basa pada struktur kimia senyawa kafein memiliki peran sebagai

antibakteri. Sintesis enzim dan protein akan terganggu, menyebabkan aktivitas sel bakteri melemah dan berujung pada lisis atau matinya bakteri, melalui gugus basa senyawa kafein yang mengalami kontak dengan bakteri. Kontak yang terjadi antara gugus basa dengan senyawa asam amino penyusun dinding sel dan DNA bakteri menyebabkan suatu reaksi basa dan asam yang berujung pada kerusakan struktur dan susunan asam amino pada bakteri (Dianastri dkk., 2021).

Konsumsi kafein dalam beberapa studi epidemiologi dapat memberikan efek pada penurunan risiko perkembangan penyakit degeneratif kronis dan kematian. Kafein adalah salah satu senyawa yang bertanggung jawab atas manfaat itu, salah satu mekanismenya melibatkan aktivitas antioksidan. Kafein telah dilaporkan memiliki kemampuan sebagai *scavenger* radikal hidroksil melalui reaksi Fenton (dePaula dan Farah, 2019). Reaksi Fenton merupakan suatu reaksi yang menghasilkan radikal hidroksil ($\text{OH}\cdot$) dari proses reaksi redoks antara besi (II) dan hidrogen peroksida (Abe dkk., 2022).

Kafein sebagai senyawa bioaktif antioksidan memiliki suatu potensi esensial dalam mekanisme pertahanan kulit terhadap kerusakan oksidatif yang diinduksi oleh radiasi UV, sehingga dapat memperlambat proses *photoaging*. Formula topikal *sunscreen* yang ditambahkan dengan kafein dapat menghambat pembentukan radikal bebas pada sel kulit manusia dan mencegah kanker yang

diinduksi oleh sinar UV (Lestari dkk., 2022a). Relevansi kafein dengan jerawat yaitu memiliki efek anti-inflamasi dengan meningkatkan kadar cAMP (*cyclic Adenosine Monophosphate*) intraseluler dalam pelepasan sitokin anti-inflamasi dan mengurangi pelepasan sitokin pro-inflamasi, sehingga dapat mengurangi adanya kemerahan dan mempercepat proses penyembuhan jerawat (Alashqar dan Goldstein, 2018; Natasha dkk., 2024). Kafein juga dapat mencegah pertumbuhan *Propionibacterium acnes* yang merupakan salah satu penyebab terbentuknya jerawat (Sinaga dkk., 2023).

Kafein memiliki kelarutan yang baik jika dilarutkan dengan pelarut yang bersifat polar atau semi-polar. Hal tersebut disebabkan oleh karena kafein sendiri bersifat polar (Marthia, 2021). Ekstrak kulit buah kopi melalui proses ekstraksi menggunakan pelarut etanol digunakan dalam pembuatan produk kosmetik (Lestari dkk., 2023). Kadar kafein yang terkandung di dalam ekstrak ampas kopi yaitu sebesar $6,59 \pm 0,02$ mg/g (Nashiron dan Kasim, 2025).

F. *Propionibacterium acnes*

Propionibacterium acnes merupakan mikroorganisme flora kulit serta spesies paling umum dan paling banyak ditemukan di antara *Propionibacteria* kulit lainnya pada kulit manusia. Daerah kulit yang kaya akan kelenjar sebacea merupakan tempat yang ideal bagi *P. acnes* untuk bertumbuh, terutama pada kulit wajah dan kulit kepala. Nutrisi utama yang digunakan untuk pertumbuhan *P. acnes* berasal dari lipid dan asam lemak yang diproduksi oleh kelenjar sebacea, oleh karena itu *P. acnes* banyak ditemukan pada daerah dengan

kelenjar sebacea yang kaya akan keringat ekrin dan area mukosa (Shu dkk., 2013). Sifat-sifat dari *P. acnes* yaitu *aerotolerant*, anaerob fakultatif, patogen oportunistik, merupakan kelompok bakteri Gram positif, non-spora, dapat dibudidayakan pada berbagai macam media seperti media darah, *brucella*, cokelat, *brain heart infusion agar*, atau di bawah kondisi mikroaerofilik. Lingkungan kultur untuk pertumbuhan optimal *P. acnes* yaitu pada pH 6-7 dan pada suhu 30°C - 37°C (Achermand dkk., 2014).

G. Aktivitas Antibakteri

Senyawa antibakteri merupakan bahan yang dapat melawan bakteri patogen dengan cara membunuh, melisis sel atau menghambat aktivitas metabolisme bakteri. Bakteri Gram negatif memiliki resistensi yang lebih tinggi terhadap antibiotik dibandingkan bakteri Gram positif karena bakteri Gram negatif memiliki membran luar yang diselimuti oleh lapisan fosfolipid dan lipopolisakarida (Breijyeh dkk., 2020). Penelitian terkini telah banyak berfokus pada pengembangan senyawa antibakteri dari bahan alami karena biaya pembuatan senyawa kimia antibakteri baru lebih mahal dibandingkan produksi agen antibakteri yang berasal dari bahan alam, antibiotik sintetik belum efektif dalam menghentikan penyebaran bakteri patogen yang telah menjadi sangat resisten, kelimpahan molekul fitokimia yang berhasil diisolasi dari tanaman obat menunjukkan potensi besar melawan infeksi bakteri dan sudah terverifikasi secara ilmiah, serta kemajuan baru dalam bioteknologi memungkinkan untuk memproduksi obat antibakteri yang bersumber dari tanaman dengan tingkat

efisiensi yang tinggi (Abdallah dkk., 2023). Senyawa-senyawa ini tidak hanya efektif melawan bakteri, tetapi juga ramah terhadap tubuh manusia, menjadikannya alternatif yang menjanjikan dalam pengobatan infeksi (Breijyeh dkk., 2020).

Kopi memiliki aktivitas antimikroba terhadap beberapa bakteri seperti *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella choleraesuis*, dan *Candida albicans*, oleh karena itu ekstrak ampas kopi pun dapat mengandung senyawa bioaktif yang sama. Ekstrak ampas kopi berpotensi besar sebagai antimikroba, salah satunya yaitu dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme *S. aureus*, *L. monocytogenes* dan *C. albicans* (Monente dkk., 2015). Menurut penelitian Ulate dkk. (2023), senyawa fenolik yang berasal dari kopi dapat bekerja dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan spektrum luas. Ekstrak ampas kopi memiliki kemampuan membunuh bakteri karena mengandung senyawa fenolik, senyawa ini bekerja dengan cara merusak integritas membran sel bakteri, mengganggu metabolisme seluler, dan menghambat sintesis makromolekul penting (Ashour dkk., 2020).

Zona hambat bakteri dikategorikan menjadi 4. Zona hambat dengan diameter kurang dari 5 mm dikategorikan memiliki zona hambat lemah. Diameter 5-10 mm dikategorikan sebagai zona hambat sedang. Diameter 10-20 mm dikategorikan sebagai zona hambat kuat dan diameter lebih dari 20 mm dikategorikan sebagai zona hambat sangat kuat (Kaban dkk., 2023). Menurut penelitian Sinaga dkk. (2023), aktivitas antibakteri ekstrak etanol biji kopi

robusta terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* memiliki diameter zona hambat sebesar 26,22 mm pada konsentrasi ekstrak 50%, semakin besar konsentrasi ekstrak didapatkan diameter zona hambat yang semakin besar.

Konsentrasi hambat minimum ekstrak etanol biji kopi robusta sebesar 6% dapat membunuh dan menghentikan pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes*, berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Sinaga dkk. (2023). Menurut penelitian Ikhsan dkk. (2023), serum muka dengan penambahan ekstrak etanol ampas kopi memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri penyebab jerawat *P. acnes* dengan diameter zona hambat sebesar 15,3 mm.

H. Hipotesis

1. Ekstrak etanol ampas kopi robusta dari Temanggung (Jambetoro), Jawa Tengah memiliki aktivitas antioksidan terhadap radikal bebas DPPH dengan nilai $IC_{50} < 50$ ppm yang termasuk ke dalam kategori aktivitas antioksidan sangat kuat.
2. Ekstrak etanol ampas kopi robusta dari Temanggung (Jambetoro), Jawa Tengah memiliki kandungan kafein sebesar 1-2%.
3. Ekstrak etanol ampas kopi robusta dari Temanggung (Jambetoro), Jawa Tengah memiliki zona hambat terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dengan kategori sedang hingga kuat dan konsentrasi hambat minimum sebesar 6-6,25%.