

Antibacterial Activity of Coffee Arabica (*Coffea Arabica* L.) Pulp Methanol Extracts on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* Bacteria

Jannati Aulah¹; Rita Maliza¹, Oktira Roka Aji¹

¹Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Terapan, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta
Jl. Ringroad Selatan, Tamanan ; Yogyakarta 55191 ; Indonesia

Jannati Aulah; Email: Aulah77@gmail.com

Abstract. Coffee fruit skin is a waste from coffee bean processing. Coffee (*Coffea Arabica* L.) pulp extract contains anthocyanin compounds, polyphenols, beta-carotene, and vitamin C that have antimicrobial activity. The purpose of this study was to identify the optimal concentration of Arabica coffee fruit skin extract, which has antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria. This research was a type of experimental study. The variation concentration of the solution was 25%, 50%, and 75%. The diameter of the inhibition zone (mm) on the Mannitol Salt Agar (MSA) and Mac Conkey media was measured and analyzed. The 25% concentration of the extracts tested in both showed results of inhibition. The results showed that the optimum concentration of the extract against *Staphylococcus aureus* was 50% (11,44 mm) ($P < 0.05$), while the optimum concentration of *Escherichia coli* was 25% (11,66 mm) ($P < 0.05$). Moreover, Coffee (*Coffea Arabica* L.) pulp extract demonstrated antibacterial activity against both *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*.

Keywords: *Antibacterial; Arabica coffee pulp; Escherichia coli; Staphylococcus aureus.*



This is an open access article distributed under the Creative Commons 4.0 Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited. ©2020 by author.

PENDAHULUAN

Kopi merupakan komoditi besar dalam sub sektor perkebunan, karena berperan penting dalam perekonomian nasional sebagai sumber devisa negara. Kopi arabika salah satu dari jenis kopi utama yang paling banyak diperdagangkan (Kemenperin, 2012). Menurut Puslitkoka (2010), kopi termasuk tanaman yang menghasilkan limbah hasil sampingan pengolahan yang cukup besar yakni berkisar antara 50-60% dari hasil panen berupa kulit kopi. Limbah kulit kopi ini pada umumnya masih dibuang dan belum dioptimalkan oleh petani. Hasil pengolahan kopi, yaitu berupa kulit dengan komposisi

mencapai 48%, yang terdiri dari kulit buah 42% dan kulit biji 6% (Zainuddin dan Murtisari,1995). Kulit buah kopi termasuk limbah organik, sehingga tidak terlalu berbahaya bagi lingkungan, namun dampak sederhana yang ditimbulkan oleh limbah kulit buah kopi adalah bau busuk yang cepat muncul, karena kulit buah kopi masih memiliki kadar air yang tinggi, yaitu 75-80%, sehingga sangat mudah ditumbuhi oleh mikroba pembusuk (Simanihuruk dkk, 2010). Saat ini, limbah kopi baru dimanfaatkan dalam bidang pertanian, peternakan dan perikanan, baik sebagai kompos, nutrisi protein, dan serat tambahan pada pakan ternak. Kulit buah kopi dapat dimanfaatkan di bidang kesehatan karena diketahui mengandung senyawa dan aktivitas antioksidan, meliputi antosianin, polifenol, betakaroten, dan vitamin C. Senyawa tersebut merupakan senyawa-senyawa yang dapat menunda, memperlambat, dan mencegah proses oksidasi lipid.

Escherichia coli adalah bakteri gram negatif enterik (Enterobacteriaceae) atau biasa disebut bakteri flora normal yang umumnya ditemukan dalam usus besar manusia. Bakteri ini bersifat patogen pada manusia apabila berada di luar usus (Kusuma, 2010). *Escherichia coli* dapat menimbulkan infeksi pada saluran kemih, saluran empedu, pneumonia dan meningitis pada bayi yang baru lahir. *Escherichia coli* juga merupakan penyebab diare (Suryati, 2017). *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu bakteri gram positif penyebab infeksi (DeLeo *et al*, 2010). Pemberian antibakteri merupakan salah satu solusi pengobatan penyakit infeksi terhadap suatu penyakit, termasuk penyakit yang disebabkan oleh bakteri *E.coli* dan *Staphylococcus aureus*. Namun, penggunaan obat kimia yang tidak terkontrol akan menyebabkan terjadinya resistensi terhadap bakteri (Wardani, 2008). Oleh karena itu, perlu dicari kandidat tanaman yang memiliki potensi sebagai antibiotik alami. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan dan konsentrasi optimal sediaan ekstrak kulit buah kopi Arabika dalam menghambat bakteri *E. coli* dan *Staphylococcus aureus*.

BAHAN DAN METODE PENELITIAN

Rancangan Penelitian

Penelitian merupakan studi eksperimental yang menguji kemampuan ekstrak kulit buah kopi terhadap aktivitas antimikroba dengan mengukur diameter zona hambat. Analisis data dilakukan menggunakan perbandingan diameter zona hambat konsentrasi ekstrak 25%, 50%, 75%, kontrol positif dan kontrol negatif terhadap bakteri *E. coli* dan *Staphylococcus aureus*. Data yang diperoleh dianalisis dengan Analisis Varian (ANOVA) dengan hasil data yang signifikan dilanjutkan Uji Duncan.

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta, Laboratorium Farmasi Universitas Muhammadiyah Yogyakarta dan Laboratorium Mikrobiologi di Balai Besar Teknik Kesehatan Lingkungan dan Pengendalian Penyakit Yogyakarta, pada bulan Februari- Juli 2019.

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah *waterbath*, pipet ukur, propipet, mikropipet, *Laminar Air Flow* (LAF) (Daihan Labtech), *rotary evaporator* (IKA RV 10 *Basic*), *cork borer* 5 mm USBECK, vortex, nephelometer, autoklaf, spatel drigalski, botol flakon. Bahan-bahan yang digunakan adalah kulit buah kopi arabika (*Coffea arabica* L.), akuades, pipet tip, kertas saring, aluminium foil, tisu, koran, metanol 96%, alkohol 70%, air kaporit, *Nutrient Agar* (NA), *Mannitol Salt Agar* (MSA), *Brain Heart Infusion* (BHI), *Mac Conkey*, isolat bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*. Semua alat dan bahan disterilisasi terlebih dahulu.

Prosedur Kerja

Pembuatan Simplisia

Kulit buah kopi Arabika (*Coffea arabica* L.) yang digunakan adalah bagian luar (eksokarp) dan daging buah (mesokarp). Dilakukan pemilihan buah yang telah matang yang ditandai dengan kulit buah berwarna merah. Kulit buah kopi Arabika ditimbang sebanyak 5kg, dicuci bersih dan ditiriskan. Pembuatan simplisia kulit buah kopi menggunakan metode kering angin selama 5 hari. Simplisia kulit buah kopi Arabika tersebut dihaluskan, dan disimpan.

Ekstraksi Kulit Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.)

Simplisia kulit buah kopi Arabika (*Coffea arabica* L) dimaserasi dengan pelarut metanol 96% dalam botol gelap. Maserasi dilakukan selama 5 hari, kemudian hasil maserasi dipisahkan menggunakan kertas saring. Filtrat yang diperoleh diuapkan menggunakan alat *rotary evaporator* pada suhu 64,6°C sehingga diperoleh ekstrak kental dan perhitungan rendemen hasil akhir dari pasta simplisia yang didapatkan.

Uji Aktivitas Antibakteri Metode Sumuran

Pembuatan sub kultur murni bakteri *Staphylococcus aureus* dan *E. coli* dengan diambil sebanyak satu ose bulat dari biakan murni pada media BHI, diinokulasi pada masing-masing media MSA dan *Mac Conkey*, diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam.

Diambil satu ose biakan *Staphylococcus aureus* dari dan *E. Coli*, kemudian disuspensikan ke dalam 5 ml akuades steril. Kemudian sesuaikan densitas inokulum 0,5-0,6 ($1,5 \times 10^8$ Cfu/ml) Mc.Farland. Cawan petri steril disiapkan, kemudian media MSA dan *Mac Conkey* cair dituangkan ke masing-masing cawan petri secara aseptis sebanyak 25 ml atau hingga setinggi 0,5 cm, lalu media dibiarkan memadat (media lempeng). Tiap petri dish media dibagi menjadi lima bagian daerah uji yaitu untuk konsentrasi ekstrak 75%, 50%, 25%, K(-) (kontrol negatif), dan K(+) (kontrol positif). Diambil 0,3 ml suspensi masing-masing bakteri dari media akuades steril, dan disebar ke media agar MSA untuk bakteri *Staphylococcus aureus* dan media *Mac Conkey* untuk bakteri *E. coli*. Kemudian dibuat 5 lubang sumuran di daerah 75%, 50%, 25%, K (+) dan K (-) dengan diameter 5 mm dan kedalaman \pm 5 mm menggunakan *cork borer* 5 mm steril.

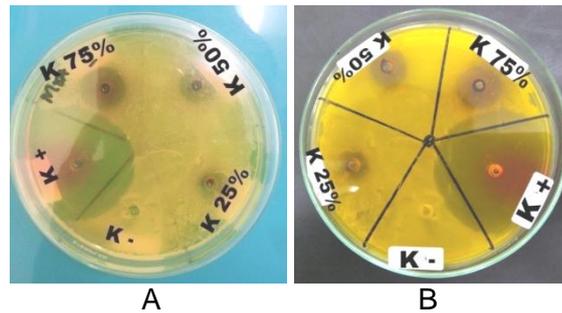
Masing-masing sumuran didistribusikan 50 μ L ekstrak, Kontrol positif dan kontrol negatif, di inkubasi dengan suhu 35°C selama 24 jam. Pengamatan zona hambat, yaitu daerah jernih di sekitar lubang sumuran. Selanjutnya diameter zona hambat diukur dengan jangka sorong. Pengukuran dilakukan oleh 3 pengamat dan diambil rata-rata dari ketiganya (Dwiyanti R. D., Nurlailah, Widianingsih I. K., 2015). Penggolongan kemampuan antibakteri dalam sebuah pengujian yaitu jika daerah hambatan 20 mm atau lebih berarti sangat kuat, daerah hambatan 10–20 mm berarti kuat, 5 – 10 mm berarti sedang, dan daerah hambatan 5 mm atau kurang berarti lemah (Davis dan Stout, 1971).

Analisis Data

Diperoleh data perbandingan diameter zona hambat dari konsentrasi ekstrak 25%, 50%, dan 75%, kontrol positif dan kontrol negatif terhadap bakteri *E. coli* dan *Staphylococcus aureus*. Kemudian data dianalisis menggunakan analisis dengan Analisis Varian (ANOVA) dan Uji Duncan dengan Software SPSS Statistik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi kulit buah kopi Arabika (*coffea arabika* L.) dilakukan dengan metode maserasi menggunakan metanol 96%. Rendemen yang di peroleh yaitu sebanyak 8,1%. Kandungan yang paling banyak dalam kulit buah kopi yaitu senyawa metabolit sekunder berupa polifenol dengan kadar 1217.58 ± 29.278 (Harri, 2015), dimana senyawa polifenol sendiri selain bersifat antioksidan dan antibakteri (Ferrazzano, 2009). Daya hambat antibakteria dari ekstrak kulit buah kopi arabika dapat dilihat dari terbentuknya zona bening disekitar sumuran ekstrak yang telah di buat. Metode sumuran dinilai lebih efektif daripada metode cakram, menurut penelitian Eko Payoga (2013), diameter zona hambat pada metode sumuran lebih besar dari pada metode difusi cakram.



Gambar 1. Hasil Uji Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Kopi Arabika terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*.
(A=tampak atas petridish; B=tampak belakang petridish)

Hasil uji antibakteri ekstrak kulit buah kopi arabika terhadap *S. aureus* menunjukkan ekstrak kulit buah kopi Arabika dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus* ditandai dengan terbentuknya zona bening pada konsentrasi 25%, 50%, dan 75% disekitar sumuran yang telah diberi ekstrak (Gambar 1). Menurut Mercy (2013), keberadaan metabolit sekunder dari ekstrak yang diuji dengan metode sumuran mampu memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan bakteri uji.

Aktivitas penghambatan ekstrak kulit buah kopi Arabika terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (Tabel. 1), menunjukkan bahwa diameter zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* untuk konsentrasi ekstrak 25% (4,56 mm), 50% (11,44 mm) dan 75% (11,56 mm). Diameter yang diperoleh dari konsentrasi 50% dan 75% adalah sama, hal ini berarti kemampuan konsentrasi ekstrak 50% dan 75% adalah sama dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus*.

Tabel.1 Rata-rata Diameter Zona Hambat Ekstrak Kulit Buah Kopi Arabika terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*

Konsentrasi	Diameter Zona Hambat (mm)			Rerata Diameter (mm)	Ket
	U1	U2	U3		
Kontrol (+)	39,67	38,33	39,33	39,11	Sangat Kuat
Kontrol (-)	-	-	-	-	-
25%	4,67	6	3	4,56	Lemah
50%	8,67	12,33	13,33	11,44	Kuat
75%	11,67	10	13	11,56	Kuat

Keterangan: Penggolongan daerah hambatan 20 mm atau lebih berarti sangat kuat, daerah hambatan 10–20 mm berarti kuat, 5 – 10 mm berarti sedang, dan daerah hambatan 5 mm atau kurang berarti lemah (Davis dan Stout,1971).

Kontrol positif yaitu ampisilin menghasilkan rata-rata zona hambat 39,11 mm. Menurut teori Murray (1995), ampisilin dikatakan sensitif apabila memiliki diameter zona hambat 17 mm. Kemampuan ampisilin dalam membunuh bakteri gram positif dengan

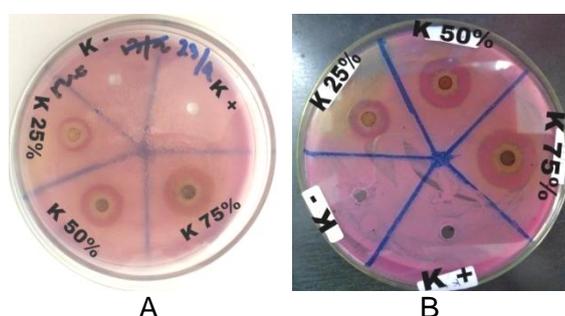
menghambat pembentukan dinding dan permeabilitas membran sel bakteri karena transpeptidasi antar rantai peptidoglikan terganggu. Kemudian terjadi aktivitas enzim proteolitik di dalam dinding sel yang menyebabkan kerusakan dan bakteri mati (Harniza, 2009).

Daya hambat ekstrak kulit buah kopi Arabika dari penelitian ini tergolong kuat jika dibandingkan dengan kontrol positif antibiotik ampicilin. Kemampuan ekstrak kulit buah kopi Arabika dalam menghambat bakteri *S.aureus* kemungkinan disebabkan oleh adanya kandungan metabolit sekundernya yang bersifat antibakteri seperti polifenol. Senyawa fenol mampu bertindak sebagai antibakteri dengan merusak dinding sel bakteri dengan memutuskan ikatan peptidoglikan pada bakteri tersebut (Pelczar dan Chan, 1988),

Tabel 2 Hasil Uji ANOVA Diameter Zona Hambat Ekstrak Kulit Buah Kopi Arabika terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*

Perlakuan	Jumlah ulangan	Subset			
		1	2	3	4
Kontrol (-)	3	,0000 ^a			
25%	3		4,5567 ^b		
50%	3			11,4433 ^c	
75%	3			11,5567 ^c	
Kontrol (+)	3				39,1100 ^d

Hasil uji ANOVA pada (Tabel 2). Pada penelitian ini, diperoleh konsentrasi 25% sebagai KHM atau *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC) karena merupakan konsentrasi terkecil yang dapat menghasilkan zona hambat, sedangkan efek antibakteri ekstrak optimum terhadap *S.aureus* terlihat pada konsentrasi 50%, hal ini sejalan dengan teori Davis and Stout (1971), yang menyatakan daerah hambatan 10-20 mm adalah kuat, dengan demikian pada penelitian ini konsentrasi 50% (11,44 mm) sudah optimum untuk membunuh bakteri *Saphylococcus aureus*.



Gambar 2. Hasil Uji Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Kopi Arabika terhadap Bakteri *Escherichia coli*.

(A=tampak atas petridish; B=tampak belakang petridish)

Hasil uji antibakteri ekstrak kulit buah kopi Arabika terhadap bakteri *E. coli* (Gambar. 2), pada kontrol positif yaitu berupa ampisilin tidak terbentuk zona hambat, sehingga dapat diketahui bahwa bakteri *E. coli* yang digunakan pada penelitian resisten terhadap antibiotik ampisilin. Bakteri *E. coli* merupakan salah satu bakteri yang resisten terhadap ampisilin mencapai 73% (Permenkes, 2011). Tidak terhambatnya pertumbuhan bakteri *E.coli* oleh antibiotik ampisilin diduga akibat pengaruh antibiotik terhadap suatu penyakit dapat berubah dan terjadi penurunan aktivitas kerja antibiotik, penyebabnya seperti waktu terapi yang terlalu lama memungkinkan *E.coli* bermutasi dan beradaptasi terhadap perubahan yang terjadi. Sifat resistensi terhadap antibiotik melibatkan perubahan genetik yang bersifat stabil dan diturunkan dari satu generasi ke generasi lainnya, dan setiap proses yang menghasilkan komposisi genetik bakteri seperti mutasi, transduksi (transfer DNA melalui bakteriofag), transformasi (DNA berasal dari lingkungan) dan konjugasi (DNA berasal dari kontak langsung bakteri yang satu ke bakteri lain melalui pili) dapat menyebabkan timbulnya sifat resisten tersebut.

Tabel.3 Rata-Rata Diameter Zona Hambat Ekstrak Kulit Buah Kopi Arabika terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*

Konsentrasi	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata Diameter (mm)	Ket
	U1	U2	U3		
Kontrol (+)	-	-	-	-	-
Kontrol (-)	-	-	-	-	-
25%	13,33	12,33	9,33	11,66	Optimal
50%	19,67	17	13,33	16,67	Optimal
75%	21,33	21	21	21,33	Sangat Kuat

Keterangan: Penggolongan daerah hambatan 20 mm atau lebih berarti sangat kuat, daerah hambatan 10–20 mm berarti kuat, 5 – 10 mm berarti sedang, dan daerah hambatan 5 mm atau kurang berarti lemah (Davis dan Stout, 1971).

Ekstrak kulit buah kopi Arabika menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap bakteri *E. coli* (Tabel, 3). Diameter zona hambat terhadap *E.coli* untuk konsentrasi ekstrak 25% (11,66 mm), 50% (16,67 mm) dan 75% (21,33 mm). Ekstrak kulit buah kopi Arabika memiliki daya hambat antibakteri yang tinggi terhadap *E.coli*. Daya hambat kuat berada pada konsentrasi ekstrak 25% dan 50% dan konsentrasi 75% daya hambat ekstrak

berisifat sangat kuat terhadap *E. coli*. Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah kopi Arabika dapat menjadi antibakteri terhadap bakteri *E.coli*.

Tabel 4. Hasil Uji ANOVA Diameter Zona Hambat Ekstrak Kulit Buah Kopi Arabika terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*

Perlakuan	Jumlah ulangan	Subset			
		1	2	3	4
Kontrol (-)	3	,0000 ^a			
Kontrol (+)	3	,0000 ^a			
25%	3		11,6633 ^b		
50%	3			16,6667 ^c	
75%	3				21,1100 ^d

Hasil uji ANOVA pada (Tabel 4), menunjukkan bahwa ketiga konsentrasi yang digunakan terdapat beda nyata yang signifikan. Semakin tinggi konsentrasi yang diberikan semakin besar daya hambat yang diberikan. Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah kopi Arabika dapat menjadi antibakteri terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli*, namun lebih optimal dalam menghambat bakteri *E.coli*. Hal ini disebabkan oleh mekanisme penghambatan antibakteri oleh senyawa metabolit sekunder pada ekstrak kulit kopi dipengaruhi oleh struktur dinding sel bakteri gram negatif yang lebih tipis dari pada bakteri gram positif, sehingga mengakibatkan senyawa metabolit sekunder dapat memutus ikatan peptidoglikan dan merusak dinding sel lebih cepat dibandingkan bakteri gram positif yang memiliki dinding sel yang lebih tebal (Mita,2014).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, ekstrak kulit buah kopi Arabika berpotensi menjadi kandidat tanaman yang berpotensi sebagai antibakteri untuk bakteri *Staphylococcus aureus* dan *E. Coli*. Konsentrasi optimal ekstrak kulit buah kopi Arabika dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu pada konsentrasi 50% (11,44 mm) dan pada bakteri *E. coli* yaitu pada konsentrasi 25% (11,66 mm). Dibutuhkan pengujian lanjut dengan membandingkan aktifitas antibakteri menggunakan pelarut non polar dan semi polar ekstrak kulit kopi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

DAFTAR PUSTAKA

- Brooks, J.S. Jawetz, E., J.L. Melnick, E.A. Adelberg, G.F. Butel, L.N. Ornston. 1995. *Mikrobiologi Kedokteran, ed. 20*. San Francisco: University of California.
- Davis, W. W. Dan T. R. Stout. 1971. Disc Plate Methods Of Microbiological Antibiotic Assay. *Microbiology Journal*. 22(4):659-665.
- DeLeo, F.R., Otto, M., Kreiswirth, B.N., and Chambers, H.F. 2010. *Community-associated meticillin-resistant Staphylococcus aureus*. Laboratory of Human Bacterial Pathogenesis. Rocky Mountain Laboratories. National Institute of Allergy And Infectious Diseases. USA: National Institutes of Health. Hamilton, MT 59840.
- Dwiyanti R. D., Nurlailah, Widiningsih I. K. 2015. Efektivitas Air Rebusan Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) terhadap Pertumbuhan *Salmonella thypi*. *Medical Laboratory Journal*. 1(1): 1-6.
- Eko P. 2013. Perbandingan Efek Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) dengan Metode Difusi Disk dan Sumuran terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus*. [SKRIPSI]. Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Ferrazzano, GF, Amato, I, Ingenito, A, Natale, AD and Pollio. 2009. A. Anti-cariogenic effects of polyphenols from plant stimulant beverages (cocoa, coffe, tea). *Fitoterapia* . 80: 255-262.
- Harniza, Yulika. 2009. *Pola Resistensi Bakteri yang Diisolasi dari bangsal bedah Rumah Sakit Umum Pusat Nasional Cipto Mangunkusumo pada Tahun 2003 – 2006*. [Skripsi]. Jakarta : UI.
- Harri P. A. 2015. *Ekstrak Senyawa Antioksidan Kulit Buah Kopi: Kajian Jenis Kopi dan Lama Maserasi*. [Skripsi]. Jawa timur: Universitas Jember.
- Kementrian Kesehatan RI, 2011b , Pedoman Umum Penggunaan Antibiotika, http://www.binfar.depkes.go.id/dat/Permenkes_Antibiotik.pdf Diakses tanggal 8 mei 2019
- Kemenperin. 2012. Produksi Kopi Nusantara Ketiga Terbesar di Dunia. <http://www.kemenperin.go.id/artikel/6611/Produksi-Kopi-> diakses 14 Oktober 2018.
- Kusuma, S.A.F. 2010. *Escherichia coli*. [Makalah]. Fakultas Farmasi. Jatinangor: Universitas Padjadjaran. diakses 14 Oktober 2018.
- Mercy, Ngajow, Jemmy Abidjulu, Vanda S,K. 2013. Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Jurnal FMIPA Unsrat Manado*. 2(2) :128-132.
- Mita Kusuma D, Evi R, Guntur T. 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Majapahit (*Crescentia cujete*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Ralstonia solanacearum* Penyebab Penyakit Layu. *Lentera bio*. 3(1):5-7.

- Murray, P.R., Baron, E.J., Pfaller, M.A., Tenover, F.C. And Tenover, R.H. 1995. *Manual Clinical Microbiology*. Washington. D. C: ASM Press.
- Pelczar M., 1988. *Dasar – dasar Mikrobiologi 2*. Jakarta: UI Press.
- Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia. 2010. *Buku Pintar Budidaya Kakao*. Jakarta: Agromedia.
- Simanihuruk, K., dan J., Sirait. 2010. Silase Kulit Buah Kopi sebagai Pakan Dasar pada Kambing Boerka Sedang Tumbuh. 1(3):557-566.
- Suryati, N., Elizabeth, B., Ilmiawat. 2017. Uji Efektivitas Antibakteri Ekstra *Aloe Vera* terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* secara in vitro. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 6(3): 518-522.
- Wardani, A.K. 2008. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Residu Ekstrak Etanolik Daun Arbenan (*Duchesnea indica* (Andr. Facke.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* Multiresisten Antibiotik Beserta Profil Kromatografi Lapis Tipis. [Skripsi] Surakarta : Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah.
- Zainuddin, D. dan T. Murtisari. 1995. *Penggunaan limbah agro-industri buah kopi (kulit buah kopi) dalam ransum ayam pedaging (Broiler)*. Pros. Pertemuan Ilmiah Komunikasi dan Penyaluran Hasil Penelitian. Bogor: Sub Balai Penelitian Klepu, Puslitbang Peternakan.