

Isolasi Bakteri Endofit Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora* L.) dan Uji Aktivitas Antioksidan

Rahimah Sangadji¹, Rusman²

^{1,2}Fakultas MIPA Universitas Islam Makassar, Makassar, Indonesia

Corresponding Author
rahimasangadji@gmail.ac.id

ABSTRAK

Biji kopi robusta mengandung senyawa asam klorogenat yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri dan antioksidan disamping itu asam klorogenat juga dipercaya memiliki kemampuan dalam mengontrol kadar glukosa darah. Tujuan penelitian mengetahui aktivitas antibakteri dan antioksidan bakteri endofit biji kopi robusta. Metode penelitian analisis kuantitatif dengan mengisolasi bakteri biji kopi robusta menggunakan medium *Nutrient Agar*, isolat murni yang didapat kemudian difermentasi menggunakan medium *Nutrient Broth*, Uji aktivitas antioksidan dengan metode ABTS. Kekuatan antioksidan ditentukan berdasarkan perbandingan antara IC₅₀ dari sampel ekstrak bakteri endofit biji kopi robusta dengan asam askorbat. Hasil pengujian aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa isolate bakteri endofit memiliki nilai IC₅₀ sebesar 39, 451 µg/ml. sedangkan asam askorbat memiliki nilai IC₅₀ sebesar 2.022 µg/ml. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak bakteri endofit biji kopi robusta cukup baik tidak lemah dibandingkan dengan asam askorbat.

Keywords: Antibakteri, ABTS, Bakteri Endofit, Kopi Robusta

PENDAHULUAN

Bakteri endofit hidup berkolonisasi di dalam jaringan tanaman inangnya, tanpa menyebabkan gejala-gejala penyakit tertentu (Brooks et al., 2014; Rusman, Yasnidar, 2020)). Siklus hidup bakteri endofit masuk ke dalam jaringan tanaman yang umumnya melalui akar, namun bagian tanaman yang terpapar udara langsung seperti bunga, batang dan kotiledon menjadi jalur masuknya bakteri endofit. Sehingga mikroorganisme ini dapat hidup di dalam pembuluh vaskular atau di ruang intersel, akar, batang, daun dan buah. Menurut (Hasanuddin et al., 2021; Jawetz et al., 2008) menyatakan bahwa bakteri endofit memiliki manfaat sebagai agen pengendali hayati dengan cara meningkatkan pertumbuhan pada tanaman, menyediakan nutrisi, menghasilkan hormon pertumbuhan dan menginduksi ketahanan tanaman. Sehingga keberadaan bakteri endofit didalam jaringan tanaman untuk perbaikan pertumbuhan tanaman tersebut.

Kandungan senyawa kimia dari biji kopi robusta seperti asam klorogenat sebanyak 9,0 g/100 g dengan aktivitas antioksidan yang cukup kuat dan juga bersifat sebagai antifungi, antiinflamasi dan antibakteri (Rusman et al., 2022; Rusman, 2022). Asam klorogenat juga memiliki kemampuan dalam mengontrol kadar glukosa pada penderita diabetes melitus tipe 2 selain itu asam klorogenat juga memiliki kemampuan antioksidan yang kuat (Hasanuddin et al., 2021)

Banyak penelitian yang telah melaporkan bahwa tumbuhan kopi memiliki khasiat

sebagai antibakteri, diantaranya kopi robusta (*Coffea canephora* L.) yang masih muda atau berwarna hijau, sehingga perlu dilakukan suatu penelitian terkait aktivitas antioksidan senyawa metabolit sekunder yang ada pada bakteri endofit biji kopi robusta.

METODE PELAKSANAAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dilaksanakan di laboratorium Mikrobiologi Farnasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Makassar.

Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah autoklaf (Hiramaya), cawan petri (Normax), gelas Erlenmeyer (Iwaki asahi), gelas kimia (Iwaki asahi), inkubator (Memmert), jarum ose, jangka sorong (Digital caliper), kaca objek, lampu spiritus, *laminar air flow Cabinet* (LAFC), lemari pendingin, mikroskop (Olympus), neraca analitik (Henher), oven (Thermo), pipet tetes, pinset, *rotary shaker* (IKA), sentrifuge (Gemmy), dan spektrofotometer UV-Vis (SHIMADSU T80+). Bahan - bahan yang digunakan adalah 2 azino-bis (3-ethylbenthiazoline-6-sulfonic acid) ABTS, aluminium foil, asam askorbat ($C_6H_8O_6$), aquades (H_2O), biji kopi robusta (*Coffea canephora* L.), etanol (C_2H_6O) 70%, etil asetat ($C_4H_8O_2$), kertas cakram, kertas saring, kloramfenikol, metanol (CH_3OH) p.a, Natrium hipoklorit ($NaOCl$) 1%, NA (*Nutrient Agar*) dan NB (*Nutrient Borth*).

Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel

Sampel biji kopi robusta (*Coffea canefora* L.) diambil di kabupaten Tanah Toraja, Sulawesi Selatan. Sampel yang diambil adalah buah kopi yang telah merah dikupas secara aseptik untuk mengambil biji kopi.

Pengolahan sampel

Bagian tanaman kopi yang digunakan adalah biji, dalam kondisi segar. Biji kopi di bersihkan dengan air bersih, kemudian dilakuksan sterilisasi permukaan sampel secara bertahap dengan cara direndam dalam alkohol 70% selama 1 menit, kemudian di rendam dalam larutan natrium hipoklarit ($NaOCl$) 5,25% selama 1 menit dan dicuci dengan aquadest steril selama 1 menit sebanyak tiga kali. Kemudian biji kopi yang steril dibuka kulit luarnya dan di ambil bagian dalamnya kemudian diiris tipis.

Pembuatan Media

a. Media *Nurtient Agar* (NA)

Sebanyak 3,9 gram nutrient agar dilarutkan ke dalam 100 mL aquadest di atur pHnya hingga berkisar 6,8-7,2. selanjutnya disterilkan di dalam autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit, kemudian dituang kedalam cawan petri dan didiamkan sampai memadat.

b. Media *Nutrient broth* (NB)

Sebanyak 4,9 gram NB dilarutkan ke dalam 200 ml dalam erlenmeyer. aquadest di atur pHnya sekitar 6,8-7,0. Bahan yang telah homogen selanjutnya di sterilkan di dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit,

Isolasi Bakteri Endofit

Sampel yang telah steril diiris tipis dan ditanam dalam media Nutrient agar (NA) yang mengandung agen antijamur yaitu nistatin pada konsentrasi 30 ug/mL. Cawan petri yang berisi media dan sampel selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C (suhu optimum untuk pertumbuhan bakteri) selama 2-3 hari. Setelah inkubasi, koloni yang tumbuh pada masing-masing cawan diamati. Koloni-koloni dengan bentuk, warna, elevasi dan tepian koloni berbeda. Isolat yang diperoleh dimurnikan dan dilakukan pengamatan bentuk sel dan pewarnaan Gram. Pemurnian isolat bakteri dilakukan dengan metode goresan. Bakteri yang telah murni disimpan pada media agar miring. Koloni ini selanjutnya diinokulasikan pada medium NA yang baru dan diinkubasi selama 1x24 jam hingga diperoleh biakan murni yang hanya terdiri dari satu macam koloni.

Identifikasi makroskopik dan mikroskopik

Koloni, bentuk, tepi, warna dan bentuk permukaan dilakukan dengan metode makroskopik. Sedangkan permukaan mikroskopik dilakukan dengan metode mikroskopil langsung pada objek glass yang telah dibersihkan dan disterilkan dengan etanol 70% kemudian diambil sampel sebanyak 1 ose yang telah dimurnihkan kemudian ditetesi *methylan blue* 1-2 tetes kemudian dicuci menggunakan air mengalir selanjutnya ditetesi dengan *margenicy oil* lalu diamati menggunakan mikroskopik.

Fermentasi Bakteri Endofit

Koloni biakan murni diambil menggunakan ose secara aseptis, dimasukkan kedalam medium nutrient broth dalam Erlenmeyer 100 ml. lalu diinkubasi pada suhu 28°C selama 14 hari, kemudian dikocok menggunakan incubator shaker selama 1x24

jam pada kecepatan 200 rpm, setelah itu setiap bahan disentrifuge selama 15 menit dengan kecepatan 3800 rpm pada suhu 4°C sehingga menjadi dua fase filtrat dan biomasa.

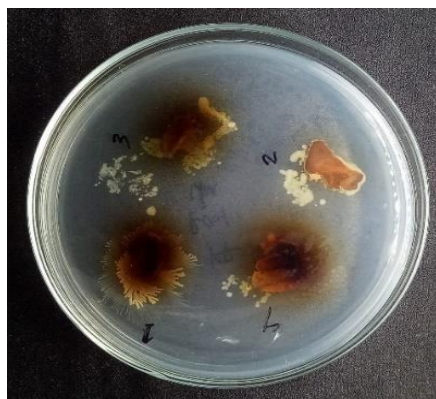
Ekstraksi Hasil Fermentasi Isolat Bakteri Endofit

Hasil Fermentasi dipisahkan menjadi filtrat dan biomasa, yang dipisahkan dengan menambahkan etil asetat kedalam cairan filtrat ditambahkan 100 ml (1:1 v/v) kemudian dikocok dalam corong pisah, diamkan hingga terbentuk dua fase, fase atas lapisan organik yang merupakan ekstrak etil asetat dan fase bawah merupakan fraksi air lalu fraksi ini dipisahkan. Pada fraksi air setelah menambahkan etil asetat menggunakan corong dan didiamkan selama tiga kali sebelum pengambilan dalam dua fase. Fraksi etil asetat yang diperoleh digabungkan dan di keringkan dengan rotary evaporator pada suhu 40°C hingga memperoleh ekstrak kering biomasa yang telah disaring dicampur dengan 100 ml (v/v) etanol kemudian di aduk hingga homogen, kemudian disaring hingga diperoleh filtratnya (dilakukan 3 kali). Hasil ekstraksi yang diperoleh kemudian dipekatkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40°C sehingga diperoleh ekstrak pekat untuk pengujian antioksidan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1. Data Karakteristik Makroskopik Isolasi Bakteri Endofit dari Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora* L.)

Kode Isolat	Karakteristik Morfologi Bakteri			
	Bentuk Koloni	Tepi Koloni	Bentuk Elevasi	Warna
KR01	Bulat	Bergerigi	Datar	Putih kekuningan
KR02	Bulat	Bergelombang	Datar	Putih kekuningan
KR03	Bulat	Bergelombang	Datar	Putih kekuningan
KR04	Bulat	Bergelombang	Datar	Putih kekuningan

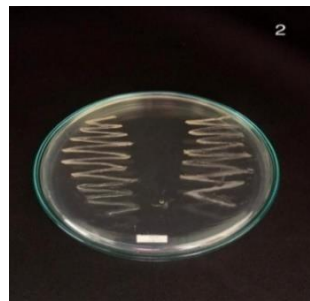
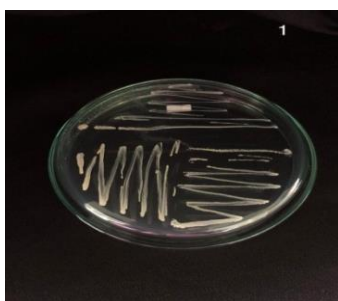


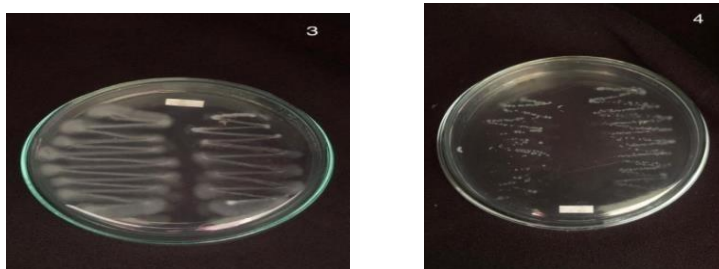
Gambar 3. Hasil Isolasi Bakteri Endofit dari Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora* L.)

Keterangan:

- a. KR-01 : bakteri endofit biji kopi robusta-01
- b. KR-02 : bakteri endofit biji kopi robusta-02
- c. KR-03 : bakteri endofit biji kopi robusta-03
- d. KR-04 : bakteri endofit biji kopi robusta-04

Pemurnian isolat bakteri endofit dilakukan dengan cara memindahkan koloni ke media agar yang baru berdasarkan perbedaan karakteristiknya. Hasil pemurnian yang diperoleh dapat dilihat pada Gambar 4.





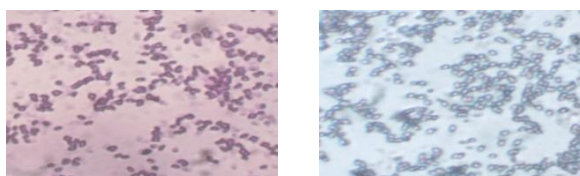
Gambar 4. Hasil Pemurnian Isolasi Bakteri Endofit Dari Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora* L.)

Keterangan:

- a. KR-01 : Isolat bakteri endofit biji kopi robusta-01
- b. KR-02 : isolat bakteri endofit biji kopi robusta-02
- c. KR-03 : isolat bakteri endofit biji kopi robusta-03
- d. KR-04 : isolat bakteri endofit biji kopi robusta-04

Selanjutnya isolat aktif bakteri endofit dilakukan pewarnaan Gram dengan tujuan untuk mengetahui apakah isolat bakteri endofit biji kopi robusta (*Coffea canephora* L.) termasuk dalam bakteri Gram positif atau bakteri Gram negative. Hasil yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 2. dan Gambar 5.

a. pewarnaan gram KR 03 b. pewarnaan gram KR 04



Gambar 5. Hasil Pewarnaan Gram Isolat Bakteri Endofit dari Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora* L.) dengan Perbesaran 1000x

Tabel 2. Karakteristik Mikroskopik Isolat Bakteri Endofit dari Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora* L.)

sampel/Kode Isolat	Warna	Pengamatan Mikroskopik	
		Bentuk	Jenis Bakteri
KR-03	Ungu	<i>Diplococcus</i>	Gram Positif
KR-04	Biru	<i>Streptococcus</i>	Gram Positif

Selanjutnya hasil pemurnian dilakukan fermentasi tujuan dilakukan fermentasi untuk menghasilkan senyawa metabolit sekunder. Hasil fermentasi isolat KR-03 dan KR- 04 dapat dilihat pada gambar 6.

gambar 6. Hasil fermentasi KR-03 dan KR-04



proses fermentasi dilakukan sampai hari ke 14 karena pada hari ke 14 bakteri endofit berada dalam fase diam. Fase diam adalah fase dimana jumlah sel yang tumbuh sama dengan jumlah sel yang mati. Karena mikroorganisme menghabiskan cadangan nutrisinya dalam perumbuhan, mereka menciptakan metabolit sekunder melalui pelepasan penginduksi enzim dan gen yang diperlukan untuk sintesis lebih lanjut. Tujuan pemilihan metode ekstraksi cair-cair karena media fermentasi yang digunakan senyawa kimia yang dipotong ada dalam larutan, menjadikan zat tersebut cair. Proses ekstraksi cair-cair menggunakan etil asetat, karena etil asetat memiliki sifat semi polar yang diharapkan mampu menarik senyawa metabolit sekunder polar dan non polar.

Tabel 6. Hasil Rata- Rata Nilai Ekstrak Isolat Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora* L.)

Jenis Sampel	IC50(µg/ml)			Rata Rata
	Simplo	Duplo	Triplo	
Ekstrak	39,427	39,453	39,474	39,451

Tabel 10. Hasil Rata-Rata Nilai Asam Askorbat

Jenis Sampel	IC50(µg/ml)			Rata Rata
	Simplo	Duplo	Triplo	
Baku Standar	2,028	2,021	2,018	2,022

PEMBAHASAN

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah biji kopi robusta (*Coffea canephora* L.). Biji kopi robusta diambil dari perkebunan kopi di daerah Kabupaten Tanah Toraja, Sulawesi Selatan. Tujuan dilakukan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri dan antioksidan dengan metode ABTS dari bakteri endofit biji kopi robusta (*Coffea canephora* L.)

Bakteri endofit yang telah dikarakterisasi kemudian dilakukan pemurnian

untuk memperoleh isolat tunggal dengan cara memindahkan masing-masing koloni yang berbeda ke media NA dengan metode streak plate (Jawezt *et al.*, 2013). Hasil pemurnian dapat dilihat pada Gambar 5.

Fermentasi bertujuan untuk menghasilkan senyawa metabolit sekunder. Fermentasi dengan cara di gojok adalah metode pemanfaatan dari media oleh mikroorganisme yang hasilnya akan menjadi lebih efisien mempercepat pertumbuhan isolat bakteri dan pertumbuhan yang dihasilkan lebih homogen. Senyawa metabolit sekunder dihasilkan mikroorganisme pada akhir fase stasioner pertumbuhan. Fase stasioner adalah fase dimana sel yang tumbuh jumlahnya sama dengan sel yang mati. Sintesis metabolit sekunder akan dihasilkan saat nutrisi pada media pertumbuhan mikroorganisme telah habis, keterbatasan jumlah nutrisi media pertumbuhan menyebabkan terakumulasinya inducer enzim metabolit sekunder dan terlepasnya gen-gen untuk sintesis metabolit sekunder (Purwaningsih dan Wulandari, 2021). Perubahan warna pada media NB menunjukkan bahwa terdapat aktivitas sel bakteri endofit yang memanfaatkan nutrisi pada medium untuk proses metabolisme bakteri dan disekresikan kedalam media cair yang menyebabkan perubahan substansi dalam media (Putri, Rizka Dwi Widya., 2021).

Kultur yang sudah di fermentasi selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 20 menit untuk memisahkan supernatan dan biomassa. Biomassa diekstraksi menggunakan etanol dan supernatan diekstraksi menggunakan etil asetat sebagai pelarut kemudian diuapkan hingga diperoleh ekstrak etil asetat dari supernatan.

Pemilihan pelarut etil asetat untuk melarutkan adalah karena etil asetat bersifat semi polar sehingga dapat menarik senyawa yang bersifat polar dan non polar ((Alim *et al.*, 2022; Rusman, yasnidar, 2020)S. Putri W. dkk., 2013).

Hasil pengujian aktivitas antioksidan isolat ekstrak biji kopi robusta dilakukan dengan metode ABTS menggunakan spektrofotometri visible pada Panjang gelombang 740 nm. Metode ABTS adalah metode pengujian jumlah radikal yang dapat ditangkal oleh antioksidan. Prinsip uji ABTS adalah menghilangkan warna kation ABTS untuk mengukur kapasitas antioksidan yang langsung bereaksi dengan kation radikal bebas dengan penambahan kalium persulfat. ABTS mempunyai karakteristik warna biru hijau, yang bila tereduksi oleh antioksidan akan berubah menjadi bentuk non radikal, dari berwarna menjadi tidak berwarna. Kelebihan metode ABTS yaitu memiliki fleksibilitas ekstrak karena dapat digunakan pada tingkat pH yang berbeda, tidak seperti DPPH yang

senditif terhadap pH asam. ABTS larut dalam air dan pelarut organik (Hasanuddin et al., 2021; Ola, 2018; Widowati, 2011).

Hasil pengujian aktivitas antioksidan pada isolat biji kopi robusta dengan vitamin c sebagai standar memiliki antioksidan terbaik. Aktivitas antioksidannya yang sangat kuat ditunjukkan dengan nilai IC₅₀ dibawah 50 ppm. Sampel ekstrak isolat biji kopi robusta dengan nilai IC₅₀ sebesar 39, 451 µg/mL, sedangkan untuk asam askorbat memiliki nilai sebesar 2.022 µg/mL. hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak endofit bakteri endofit biji kopi robusta cukup baik tidak lemah dibandingkan asam askorbat.

Pengambilan sampel dan juga waktu panen dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan biji kopi robusta. Dalam penelitian ini biji kopi dipanen pada siang hari. Seharusnya, pemanenan dilakukan pada pagi hari untuk memperoleh kandungan metabolit sekunder yang maksimal. Sebab, jika dilakukan pada siang hari metabolit sekunder yang berperan sebagai antioksidan akan berkurang Ketika sudah terpapar sina UV dari matahari (Nganggu, 2016). Waktu panen sangat erat hubungannya dengan pembentukan senyawa aktif didalam bagian tanaman yang akan di panen. Waktu panen panen yang tepat pada saat bagian tanaman tersebut mengandung senyawa aktif dalam jumlah yang terbesar (Afandi dan Hertiani, 2015). Asam klorogenat yang terkandung dalam biji kopi robusta dalam biji kopi robusta juga rentan terhadap panas, oksigen, cahaya, dan kelembapan. Karena adanya ikatan tak jenuh dalam molekulnya yang kemungkinan menjadi penyebab dari rendahnya aktivitas antioksidan (Grace P Benua, 2019; Shofi & Suwitasari, 2020).

Pemilihan pelarut etil asetat untuk melarutkan adalah karena etil asetat bersifat semi polar sehingga dapat menarik senyawa yang bersifat polar dan non polar ((Alim et al., 2022; Rusman, yasnidar, 2020)S. Putri W. dkk., 2013).

Hasil pengujian aktivitas antioksidan isolat ekstrak biji kopi robusta dilakukan dengan metode ABTS menggunakan spektrofotometri visible pada Panjang gelombang 740 nm. Metode ABTS adalah metode pengujian jumlah radikal yang dapat ditangkal oleh antioksidan. Prinsip uji ABTS adalah menghilangkan warna kation ABTS untuk mengukur kapasitas antioksidan yang langsung bereaksi dengan kation radikal bebas dengan penambahan kalium persulfat. ABTS mempunyai karakteristik warna biru hijau, yang bila tereduksi oleh antioksidan akan berubah menjadi bentuk non radikal, dari berwarna menjadi tidak berwarna. Kelebihan metode ABTS yaitu memiliki fleksibilitas ekstrak karena dapat digunakan pada tingkat pH yang berbeda, tidak seperti DPPH yang senditif terhadap pH asam. ABTS larut dalam air dan pelarut organik (Hasanuddin et

al., 2021; Ola, 2018; Widowati, 2011).

Hasil pengujian aktivitas antioksidan pada isolat biji kopi robusta dengan vitamin c sebagai standar memiliki antioksidan terbaik. Aktivitas antioksidannya yang sangat kuat ditunjukkan dengan nilai IC₅₀ dibawah 50 ppm. Sampel ekstrak isolat biji kopi robusta dengan nilai IC₅₀ sebesar 39, 451 µg/mL, sedangkan untuk asam askorbat memiliki nilai sebesar 2.022 µg/mL. hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak endofit bakteri endofit biji kopi robusta cukup baik tidak lemah dibandingkan asam askorbat.

Pengambilan sampel dan juga waktu panen dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan biji kopi robusta. Dalam penelitian ini biji kopi dipanen pada siang hari. Seharusnya, pemanenan dilakukan pada pagi hari untuk memperoleh kandungan metabolit sekunder yang maksimal. Sebab, jika dilakukan pada siang hari metabolit sekunder yang berperan sebagai antioksidan akan berkurang Ketika sudah terpapar sinar UV dari matahari (Nganggu, 2016). Waktu panen sangat erat hubungannya dengan pembentukan senyawa aktif didalam bagian tanaman yang akan di panen. Waktu panen panen yang tepat pada saat bagian tanaman tersebut mengandung senyawa aktif dalam jumlah yang terbesar (Afandi dan Hertiani, 2015). Asam klorogenat yang terkandung dalam biji kopi robusta dalam biji kopi robusta juga rentan terhadap panas, oksigen, cahaya, dan kelembapan. Karena adanya ikatan tak jenuh dalam molekulnya yang kemungkinan menjadi penyebab dari rendahnya aktivitas antioksidan (Grace P Benua, 2019; Shofi & Suwitasari, 2020).

KESIMPULAN

Penelitian menunjukkan bahwa aktiviatas antioksidan isolat bakteri endofit biji kopi robusta memperoleh nilai IC₅₀ rata-rata sebesar 39.451 µg/ML dan pada uji asam askorbat nilai rata-rata sebesar 2.022 µg/ML. dapat disimpulkan bahwa biji kopi robusta memiliki aktivitas antioksidan yang cukup baik tidak lemah dibandingkan dengan asam askorbat.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kepada Laboratorium Fakultas MIPA universitas Islam Makassar, Laboratorium Mikrobiologi Fakultas MIPA universitas Islam Makassar

DAFTAR PUSTAKA

Alim, N., Hasan, T., Rusman, R., Jasmiadi, J., & Zulfitri, Z. (2022). Phytochemical

- Screening, Relationship of Total Phenolic with Antioxidant Activity Of Ethanol and Methanol Extracts of Kesambi (*Schleichera oleosa* (Lour.) Oken) Bark. *Jurnal Ilmiah Sains*, 22(2), 118. <https://doi.org/10.35799/jis.v22i2.40091>
- Brooks, G., Carrol, K., Butel, J., Morse, S., & Timothy, M. (2014). *Jawetz, Melnick e Adelberg MICROBIOLOGIA MÉDICA*.
- Grace P Benua. (2019). Biofarmasetikal Tropis Biofarmasetikal Tropis. *The Tropical Journal of Biopharmaceutical*, 2(2), 158–169.
- Hasanuddin, R., Jasmiadi, J., & Abdillah, N. (2021). The Analysis of the Chlorogenic Acid in the Ethanol Fraction of Robusta Coffee Beans and Its Effect on Glucose Levels in Wistar Rats. *Disease Prevention and Public Health Journal*, 15(2), 118. <https://doi.org/10.12928/dpphj.v15i2.4705>
- Jawetz, Melinick, & Aldeberg. (2008). Mikrobiologi Iftdokteran. *Mikrobiologi Kedokteran*, 23(1), 251–257.
- Ola, A. O. (2018). Evaluation of Antioxidant Activity of Stem And Flower Extracts of *Ageratum conyzoides*. *International Journal of Advance Research, Ideas and Innovations in TechnoloGY*, 4(3), 891–897.
- Rusman, yasnidar, R. (2020). *Isolasi Bakteri Rhizosfer Penghasil Antimikroba Tanah Disekitaran Akar*. 1(2), 0–4.
- Rusman, A. I. (2022). Volume 4 Nomor 2 Pengaruh Pemberian Hard Candy dari Infusa Kopi Hijau Robusta (*Coffea canefora* L.) Pada Pasien Diabetes Mellitus. *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*, 4(October 2020). <http://ejurnal.ung.ac.id/index.php/jsscr>, E-DOI:<https://doi.org/10.37311/jsscr.v4i2.14183>
- Rusman, Rasyid, H., Bukhari, A., Alim, N. U. R., & Syamsu, S. I. (2022). *Effects of High Fat Diet Feeding and Coffee Bean Extract on Hba1C and Blood Glucose of Wistar Strain Rats*. 06, 27–40. <https://doi.org/10.17605/OSF.IO/73X2A>
- Shofi, M., & Suwitasari, F. (2020). Antioxidant activity of ethanolic extract Japanese frangipani (*Adenium obesum*) and white frangipani (*Plumeria acuminata*). *Al-Kaunyah: Jurnal Biologi*, 13(2), 167–178.
- Widowati, W. P. I. K. (2011). Uji Fitokimia dan Potensi Antioksidan Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.). *Jurnal Kedokteran Maranatha*, 11(65), 23–31.