



Insisiva Dental Journal: Majalah Kedokteran Gigi Insisiva

Website: <http://journal.umy.ac.id/index.php/di/index>

Insisiva
Dental
Journal:

Majalah Kedokteran Gigi Insisiva

Research Article

Efek Gel Ekstrak Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) terhadap Jumlah Sel Makrofag dan Limfosit Jaringan Gingiva Tikus Periodontitis

The Effect of Robusta Coffe Bean Extract Gel (Coffea canephora) on the Number of Macrophages and Lymphocyte Gingival Tissue in Periodontitis Rat

Tantin Ermawati^{1,*}, Rendra Chriestedy P¹, Nadie Fatimatuzzahro¹, Astrid Ganadya N.I²

¹Departemen Biomedik, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember, Jalan Kalimantan 37, Jember, Indonesia

²Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember, Jalan Kalimantan 37, Jember, Indonesia

Received date: June 22nd, 2020; reviewed date: July 8th, 2020 revised date: August 8th, 2020; accepted date: September 1st, 2020

DOI : 10.18196/di.9217

Abstrak

Periodontitis adalah inflamasi kronis yang disebabkan infeksi bakteri salah satunya *P. gingivalis*. Produk bakteri berupa lipopolisakarida (LPS) mampu meningkatkan sekresi sitokin proinflamatori sehingga terjadi peningkatan jumlah sel makrofag dan limfosit. Hal ini menyebabkan kerusakan jaringan periodontal yang lebih lanjut. Biji kopi robusta memiliki kandungan polifenol, alkaloid dan saponin yang berfungsi sebagai antiinflamasi dan antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian gel ekstrak biji kopi robusta terhadap jumlah sel makrofag dan limfosit pada gingiva model tikus periodontitis. Jenis penelitian yang digunakan adalah *the posttest only control group design*. Dua puluh ekor tikus dibagi menjadi 5 kelompok yakni kelompok normal, periodontitis, periodontitis yang diterapi gel aloclair, kelompok periodontitis yang diterapi 0,025 g/mL gel ekstrak biji kopi robusta, dan kelompok periodontitis yang diterapi 0,05 g/mL gel ekstrak biji kopi robusta selama 7 hari perlakuan. Tikus didekapitasi dan dilakukan pengecatan HE untuk melihat jumlah sel makrofag dan limfosit. Hasil menunjukkan pemberian gel ekstrak kopi robusta dapat menurunkan jumlah sel makrofag dan limfosit sama dengan aloclair pada model tikus periodontitis yang diinduksi *P. gingivalis*. Gel ekstrak biji kopi 0,05 g/mL lebih efektif menurunkan limfosit dibandingkan 0,025 g/mL

Kata Kunci: Kopi Robusta; Limfosit; Makrofag; Periodontitis; *P. Gingivalis*

Abstract

Periodontitis is a chronic inflammation caused by a bacterial infection, one of which is *P. gingivalis*. Bacterial products in the form of lipopolysaccharide (LPS) can increase proinflammatory cytokine secretion, resulting in increased macrophages and lymphocyte cells. Increased number of macrophages and lymphocytes in inflammation cause further periodontal tissue damage. Meanwhile, robusta coffee beans contain polyphenols, alkaloids, and saponins, which function as anti-inflammatory and antioxidants. This research aimed to determine Robusta coffee bean extract gel's effect on the number of macrophage and lymphocyte cells in the rat periodontitis model's gingival tissue. This research type was the posttest only control group design. Twenty rats were divided into five groups: normal group, periodontitis group, periodontitis group treated with aloclair gel, periodontitis group treated with 0,025 g/mL extract gel of Robusta coffee bean, and periodontitis group treated with 0,05 g/mL Robusta coffee bean extract gel for seven days of treatment. The rats were decapitated. The specimens were then processed histologically and stained with HE to determine the number of macrophage and lymphocyte cells in the gingiva. The results showed that Robusta coffee bean extract gel could reduce the number of macrophages and lymphocyte cells in the rat periodontitis model induced by *P. gingivalis* as effective as aloclair. Coffee bean extract gel 0.05 g/mL was more effective at reducing lymphocytes than 0.025 g / mL.

Keywords: Robusta coffee; Lymphocytes; Macrophages; Periodontitis; *Porphyromonas gingivalis*

* Corresponding author, e-mail: tantin.ermawati@unej.ac.id

PENDAHULUAN

Periodontitis adalah inflamasi kronis yang disebabkan infeksi bakteri salah satunya bakteri *P. gingivalis*. Bakteri ini memiliki komponen endotoksin yaitu lipopolisakarida (LPS) yang dapat mengikat reseptor CD14/TLR-4, meningkatkan sekresi sitokin proinflamatori yaitu IL-1 α , IL-1 β , IL-6 dan IL-8 sehingga dapat memodulasi sistem imunitas melalui proses inflamasi. Sel radang yang berperan penting dalam respon inflamasi antara lain makrofag dan limfosit.¹

Makrofag merupakan sel mononuklear yang berperan dalam sistem pertahanan tubuh. Pada saat terjadi inflamasi, terjadi peningkatan dua setengah kali lebih banyak.² Makrofag berfungsi untuk menghancurkan mikroorganisme dan melepaskan *Reactive Oxygen Species* (ROS). Senyawa ROS bersifat toksik pada mikroorganisme dan mengaktifkan enzim *matrix metalloproteinase-8* (MMP-8) yang menyebabkan destruksi pada jaringan periodontal. Selain itu terdapat limfosit yang merupakan sel imunitas pada inflamasi kronis. Jumlah limfosit pada inflamasi mengalami peningkatan dan menyebabkan kerusakan pada kolagen, fibronektin, dan laminin yang berkontribusi pada destruksi lokal jaringan gingiva.^{3,4}

Gel berbahan dasar kopolimer, poloksamer dan monogliserida menyebabkan bahan obat mudah diaplikasikan dan diserap oleh jaringan. Selain itu, gel memiliki kemampuan biokompatibilitas dan bioavailabilitas yang tinggi sehingga akan memudahkan adhesi pada poket periodontal dan dapat dengan cepat dihilangkan melalui jalur katabolisme sehingga dapat mengurangi risiko reaksi alergi *host*.⁵ Saat ini telah dikembangkan gel yang berbahan dasar ekstrak biji kopi. Ekstrak biji kopi robusta dapat menurunkan jumlah sel makrofag dan limfosit secara *in vitro*.⁶

Kopi merupakan bahan alam yang telah terbukti sebagai antiinflamasi. Produksi kopi di Indonesia mencapai 637.539 kg terutama kopi robusta.⁷ Biji kopi robusta mengandung senyawa antioksidan antara lain flavonoid, polifenol, dan proantosianidin.⁸ Senyawa polifenol telah terbukti menunjukkan efek imunomodulator, antioksidan, dan menurunkan adhesi sel imunitas.⁹ Selain itu, terdapat asam klorogenat yang telah terbukti dapat menurunkan infiltrasi makrofag, metabolit asam arakanoid termasuk PGE2 dan TNF- α , sehingga berfungsi sebagai anti inflamasi.¹⁰ Gel ekstrak biji kopi robusta dengan konsentrasi 0,025 g/mL dan 0,05 g/mL dapat menurunkan sekresi *Tumor Necrosis Factor* (TNF)- α pada tikus yang diinduksi periodontitis.¹¹

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian gel ekstrak biji kopi robusta terhadap jumlah sel makrofag dan limfosit pada model tikus periodontitis.

MATERIAL DAN METODE

Jenis penelitian yang digunakan adalah *the posttest only control group design*. Ekstrak biji kopi robusta diperoleh menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol. Selanjutnya pembuatan gel dimulai dengan mengembangkan 2 gram CMC-Na 2% pada 98 ml air panas diaduk pada mortar hingga terbentuk massa gel. Setelah itu, ekstrak biji kopi robusta diambil 5 gr dan ditambahkan basis gel 15 gr, sehingga didapatkan 20 gr gel ekstrak biji kopi robusta 0,025 g/mL. Selanjutnya, ekstrak biji kopi robusta diambil 23 gr dan ditambahkan basis gel 23 gr, sehingga didapatkan 46 gr gel ekstrak biji kopi robusta 0,05 g/mL.

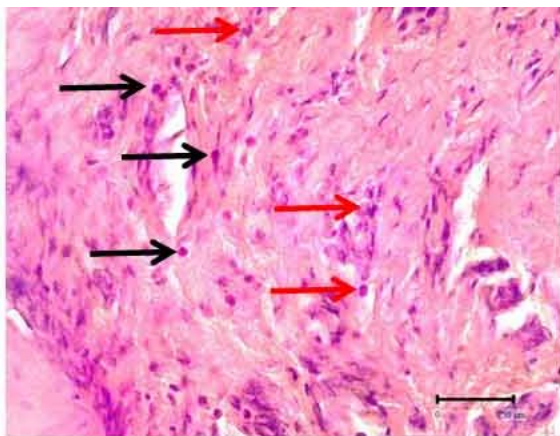
Penelitian ini menggunakan 20 ekor tikus wistar jantan dengan umur 2-3 bulan, berat badan 180-200 gram. Sampel dibagi menjadi 5 kelompok yaitu, kelompok normal (K1), kelompok periodontitis+gel plasebo (K2), kelompok

periodontitis+terapi gel Aloclair (K3), kelompok periodontitis+terapi gel ekstrak biji kopi robusta 0,025 g/mL (K4) dan kelompok periodontitis+terapi gel ekstrak biji kopi robusta 0,05 g/mL (K5). Induksi periodontitis melalui injeksi bakteri *P. gingivalis* pada sulkus gingiva bagian bukal gigi molar satu kanan bawah sebanyak 0,05 ml diberikan 3 kali dalam sehari selama 14 hari menggunakan *tuberculine syringe 30 gauge*.¹¹

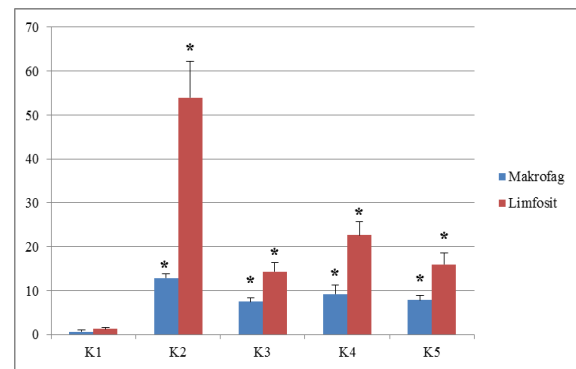
Hewan coba didekapitasi, rahang bawah diambil dan difiksasi dengan *buffer formalin 10%* selama 24 jam, kemudian didekalsifikasi dengan asam formiat 10% selama 14 hari. Selanjutnya dilakukan prosesing jaringan, pemotongan jaringan menggunakan mikrotom dengan ketebalan 6 μ m dan dilakukan pengecatan *Hematoxylin-Eosin*.

HASIL

Gambaran histologis jaringan gingiva tikus ditunjukkan pada Gambar 1. Hasil penelitian mengenai efek pemberian gel ekstrak biji kopi robusta terhadap jumlah sel makrofag dan limfosit pada gingiva tikus periodontitis, diperoleh adanya penurunan jumlah makrofag dan limfosit setelah diberi perlakuan gel ekstrak biji kopi robusta yang ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 1. Gambaran mikroskopis makrofag (panah merah) dan limfosit (panah hitam) dengan pengecatan HE pada gingiva tikus periodontitis dengan perbesaran 400x



Gambar 2. Grafik batang yang menunjukkan rerata jumlah makrofag dan limfosit pada tikus periodontitis yang diberi perlakuan. * $p < 0,05$ dibandingkan dengan kelompok kontrol

Data jumlah makrofag dan limfosit dilakukan uji *One-Way Anova* didapatkan perbedaan bermakna ($p < 0,05$). Selanjutnya hasil analisis LSD menunjukkan bahwa kelompok perlakuan gel ekstrak biji kopi robusta 0,025 g/mL (K4) dan 0,05 g/mL (K5) berbeda signifikan dengan kelompok K2 (plasebo), dan tidak berbeda signifikan dengan kelompok perlakuan gel Aloclair (K3). Jumlah limfosit berbeda bermakna antara kelompok perlakuan gel ekstrak biji kopi robusta 0,025 g/mL (K4) dengan kelompok kopi robusta 0,05 g/mL (K5), sedangkan jumlah makrofag tidak berbeda bermakna antara kedua kelompok tersebut

PEMBAHASAN

Pada penelitian tikus diinduksi *P. gingivalis* untuk membuat kondisi periodontitis. Tikus dinyatakan periodontitis apabila terdapat tanda-tanda klinis peradangan pada jaringan periodontal yang meliputi kemerahan pada gingiva, pembesaran pada margin gingiva, kegoyangan pada gigi dan resorpsi tulang alveolar.¹²

Hasil penelitian menunjukkan terdapat perbedaan rerata jumlah sel makrofag dan limfosit antara K1 (tikus normal tidak dilakukan induksi *P. gingivalis*) dengan K2, K3, K4 dan K5. Perbedaan ini disebabkan karena pada kelompok perlakuan (K2, K3, K4 dan K5), dilakukan induksi bakteri *P. gingivalis* yang menyebabkan kondisi inflamasi. Hal

ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang membuktikan bahwa terjadi peningkatan makrofag dan limfosit pada kondisi periodontitis.² Peningkatan jumlah makrofag dan limfosit disebabkan karena *P. gingivalis* mampu menstimulasi sitokin pro-inflamasi seperti IL-6, IL-17, IL-8 dan TNF- α yang dapat meningkatkan aktivasi dari sel makrofag dan limfosit.^{13,14}

Hasil penelitian menunjukkan bahwa rerata jumlah makrofag dan limfosit kelompok K4 dan K5 memiliki perbedaan yang signifikan terhadap K2 ($p < 0,05$). Hal ini membuktikan bahwa pemberian gel ekstrak biji kopi robusta mampu menurunkan jumlah sel makrofag dan limfosit dibanding dengan kelompok yang hanya diberi plasebo. Gel ekstrak biji kopi robusta diketahui memiliki sifat anti inflamasi dengan komponen zat aktif antara lain polifenol, kafein dan saponin. Hasil tersebut didukung oleh penelitian sebelumnya bahwa zat – zat yang terkandung dalam gel ekstrak biji kopi robusta berperan dalam menghambat produksi TNF- α , IL-6, dan COX-2 melalui inhibisi jalur NF- κ B.¹⁵ Polifenol secara spesifik bertindak sebagai inhibitor enzimatis *tirosin* dan *serin-threonine protein kinase* yang berperan penting dalam pembentukan dan aktivasi dari sel limfosit T dan B.^{16,17} Selain itu, kafein dan saponin dapat menghambat proliferasi dan aktivitas fagositik dari makrofag dan limfosit.^{18,19,20}

Pada penelitian ini, didapatkan data bahwa kelompok gel ekstrak biji kopi robusta (K4 dan K5) memiliki kemampuan yang sama dengan gel Aloclair (K3). Hal tersebut disebabkan gel Aloclair telah terbukti memiliki sifat anti inflamasi. Lidah buaya memiliki asam amino yang terdiri dari *phenylalanine* dan *tryptophane* yang bersifat sebagai anti inflamasi dan dapat memodulasi proliferasi sel makrofag dan limfosit.^{21,22}

Jumlah makrofag tidak berbeda bermakna ($p > 0,05$) antara kelompok yang diberi gel ekstrak biji kopi robusta 0,025 g/mL (K4) dan gel ekstrak biji kopi

robusta 0,05 g/mL (K5). Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian gel ekstrak biji kopi robusta konsentrasi 0,025 g/mL dan 0,05 g/mL mampu menurunkan jumlah sel makrofag. Jumlah limfosit berbeda signifikan antara K4 dan K5 ($p < 0,05$). Hal tersebut menunjukkan bahwa gel ekstrak biji kopi robusta dengan konsentrasi 0,05 g/mL lebih efektif dibandingkan 0,025 g/mL dalam menghambat peningkatan jumlah sel limfosit pada gingiva tikus periodontitis. Hal ini dimungkinkan karena ekstrak yang memiliki dosis rendah belum dapat memberikan efek yang signifikan sesuai dengan kemampuan senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak tersebut. Sehingga semakin rendah konsentrasi, semakin rendah pula senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak tersebut.²³

KESIMPULAN

Pemberian gel ekstrak biji kopi robusta mampu menurunkan jumlah sel makrofag dan limfosit pada tikus periodontitis.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada LP2M Universitas Jember yang telah mendukung kegiatan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Newman M, Takei H, Klokkevold P, Carranza F. Newman and Carranza's Clinical Periodontology. 13th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Ltd; 2018.
2. Golijanin R, Kujundžić B, Milosavljević Z. Morfometrijska analiza kolagena i inflamatornih ćelija u periodontalnoj bolesti. Vojn Pregl. 2015;72(3):219–224.
3. Talwar A, Amunulla A, Venkatesan R, Ramakrishnan H, Arun K, Sudarshan S. Lymphocyte subpopulation in healthy and diseased gingival tissue. J Indian Soc

- Periodontol. 2008;12(2):45–50.
4. Figueredo CM, Lira-Junior R, Love RM. T and B cells in periodontal disease: New functions in a complex scenario. *Int J Mol Sci*. 2019;20(16):1–13.
 5. Garg S. Local Drug Delivery Systems as an Adjunct to Cure Periodontitis-The Novel Dental Applicant. *Pharm Methods*. 2015;6(1):01–08.
 6. Xue N, Zhou Q, Ji M. Chlorogenic acid inhibits glioblastoma growth through repolarizing macrophage from M2 to M1 phenotype. *Sci Rep*. 2017;7(August 2016):1–11.
 7. Bakhtiar F. Produksi Kopi Turun dalam 5 Tahun Terakhir, Apa yang Harus Dilakukan? [Internet]. 17 Mei. 2017. Available from: <https://paktanidigital.com/artikel/produksi-kopi-indonesia-turun/#.YBCZTegzbiU>
 8. Artho LN, Wuisan J, Najooan J. Penyembuhan Luka Insisi Pada Kelinci. *J e-Biomedik*. 2015;3(3):743–748.
 9. Tangney CC, Rasmussen HE. Polyphenols, inflammation, and cardiovascular disease. *Curr Atheroscler Rep*. 2013;15(5):324.
 10. Hwang SJ, Kim YW, Park Y, Lee HJ, Kim KW. Anti-inflammatory effects of chlorogenic acid in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 cells. *Inflamm Res*. 2014;63(1):81–90.
 11. Ermawati T, Meilawaty Z, Harmono H. Inhibition activity of Robusta coffee beans polyphenol extract on the production of TNF- α neutrophil cells. *Maj Kedokt Gigi Indones*. 2018;4(2):114–9.
 12. Xu X, Chen H, Zang X, Zhai Z, Liu X, Qin A, et al. Simvastatin prevents alveolar bone loss in an experimental rat model of periodontitis after ovariectomy. *J Transl Med*. 2014;12(1):1–9.
 13. Ermawati T, Gandini Abdi Nagari DFI, Praharani D, Sari DS. Effect of lipopolysaccharide induction of *Porphyromonas gingivalis* on osteoclast and osteoblast cell number of wistar rats' (*Rattus norvegicus*) alveolar bone. *Int J Appl Pharm*. 2019;11(Special Issue 4):64–67.
 14. Glowczyk I, Wong A, Potempa B, et al. Inactive Gingipains from *P. Gingivalis* Selectively Skews T Cells toward a Th17 Phenotype in an IL-6 Dependent Manner. *Front Cell Infect Microbiol*. 2017;7(APR):1–16.
 15. Tajik N, Tajik M, Mack I, Enck P. The potential effects of chlorogenic acid, the main phenolic components in coffee, on health: a comprehensive review of the literature. *European Journal of Nutrition*. 2017;56(7):2215–2244.
 16. Rius C, Abu-Taha M, Hermenegildo C, et al. Trans-but not Cis-resveratrol impairs angiotensin-II-mediated vascular inflammation through inhibition of NF- κ B activation and peroxisome proliferator-activated receptor- γ upregulation. *J Immunol*. 2010;185(6):3718–3727.
 17. Kang CH, Jayasooriya RGPT, Dilshara MG, et al. Caffeine suppresses lipopolysaccharide-stimulated BV2 microglial cells by suppressing Akt-mediated NF- κ B activation and ERK phosphorylation. *Food Chem Toxicol*. 2012;50(12):4270–4276.
 18. Hwang JH, Kim KJ, Ryu SJ, Lee BY. Caffeine prevents LPS-induced inflammatory responses in RAW264.7 cells and zebrafish. *Chem Biol Interact*. 2016;248(March):1–7.
 19. Al Reef T, & Ghanem, E. Caffeine: Well-known as psychotropic substance, but little as

- immunomodulator. *Immunobiology*. 2018;223(12):818-825.
20. Hassan HS, Sule IM, Musa MA, Musa YK, Abubakar SM, Hassan SA. Anti-inflammatory activity of crude saponin extracts from five Nigerian medicinal plants. *African J Tradit Complement Altern Med*. 2012;9(2):250-255.
21. Egesie UG, Chima KE, Galam NZ. Anti-inflammatory and analgesic effects of aqueous extract of aloe vera (*Aloe barbadensis*) in rats. *African J Biomed Res*. 2011;14(3):209-212.
22. Chindo NA. Benefits of Aloe Vera Substances Anti-Inflammatory of Stomatitis. *Indian J Dermatol*. 2015;4(3):84.
23. Lingga AR, Pato U, Rossi E. Uji antibakteri ekstrak batang kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *JOM Faperta*. 2016;3(1).