



**PENGARUH EKSTRAK BIJI KOPI ROBUSTA TERHADAP DAYA
FAGOSITOSIS SEL MONOSIT YANG DIPAPAR *Candida albicans***

SKRIPSI

Oleh

Arum Kartika Dewi

NIM 121610101043

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS JEMBER

2016



**PENGARUH EKSTRAK BIJI KOPI ROBUSTA TERHADAP DAYA
FAGOSITOSIS SEL MONOSIT YANG DIPAPAR *Candida albicans***

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Kedokteran Gigi (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran Gigi

Oleh

Arum Kartika Dewi
NIM 121610101043

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2016

PERSEMBAHAN

Dengan penuh rasa syukur, skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT dan Rasulullah Muhammad SAW, atas segala bimbingan dan pencerahan yang membawa saya sampai saat ini.
2. Yang tersayang kedua orang tua saya, Bapak Drs. Ismail dan Ibu Endah Murniningrum, S.Pd yang telah mendukung, memberikan kasih sayang dan yang tak pernah putus mendoakan saya.
3. Adik laki-laki saya Muhammad Muzaqi Abdillah yang terus memberi semangat dan mendoakan saya.
4. Yang terhormat drg. Roedy Budirahardjo, M.Kes., Sp.KGA dan drg. Amandia Dewi Permana Shita, M.Biomed selaku dosen pembimbing, semoga segala bimbingan dan kebaikan yang telah diberikan dapat menjadi amal dan barokah.
5. Almamater tercinta Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

MOTO

“Bacalah dengan (menyebut) nama Tuhanmu yang menciptakan. Dia telah menciptakan manusia dari segumpal darah. Bacalah, dan Tuhanmu-lah Yang Mahamulia. Yang mengajar (manusia) dengan pena. Dia mengajarkan manusia apa yang tidak diketahuinya.”

(terjemahan Surat *Al-Alaq* ayat 1-5)*

“Maka barang siapa mengerjakan kebaikan seberat *zarrah*, niscaya dia akan melihat (balasan) nya. Dan barang siapa mengerjakan kejahatan seberat *zarrah*, niscaya dia akan melihat (balasan) nya.”

(terjemahan Surat *Al-Zalzalah* ayat 7-8)*

“Katakanlah (Muhammad), “Dialah Allah, Yang Mahaesa. Allah tempat meminta segala sesuatu. (Allah) tidak beranak dan tidak pula diperanakkan. Dan tidak ada sesuatu yang setara dengan Dia.”

(terjemahan Surat *Al-Ikhlâs* ayat 1-4)*

*Departemen Agama Republik Indonesia. 2006. Qur'an Tajwid dan Terjemah. Jakarta: Maghfirah Pustaka.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

nama : Arum Kartika Dewi

NIM : 121610101043

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya tulis ilmiah yang berjudul “Pengaruh Ekstrak Biji Kopi Robusta Terhadap Daya Fagositosis Sel Monosit yang Dipapar *Candida albicans*” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 23 Mei 2016

Yang menyatakan,

Arum Kartika Dewi
NIM. 121610101043

SKRIPSI

**PENGARUH EKSTRAK BIJI KOPI ROBUSTA TERHADAP DAYA
FAGOSITOSIS SEL MONOSIT YANG DIPAPAR *Candida albicans***

Oleh

Arum Kartika Dewi
NIM 121610101043

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : drg. Roedy Budirahardjo, M.Kes., Sp.KGA.

Dosen Pembimbing Pendamping : drg. Amandia Dewi Permana Shita, M.Biomed.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Pengaruh Ekstrak Biji Kopi Robusta Terhadap Daya Fagositosis Sel Monosit yang Dipapar *Candida albicans*”, telah diuji dan disahkan pada :

hari, tanggal : 23 Mei 2016

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Penguji Ketua,

Dr. drg. Atik Kurniawati, M.Kes
NIP. 197102041998022002

Penguji Anggota,

Prof. Dr. drg. IDA Ratna Dewanti, M.Si
NIP. 196705021997022001

Pembimbing Utama,

drg. Roedy Budirahardjo, M.Kes., Sp.KGA
NIP. 196407132000121001

Pembimbing Pendamping,

drg. Amandia Dewi P.S., M.Biomed
NIP. 198006032006042002

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes., Sp.Prost
NIP. 196901121996011001

RINGKASAN

Pengaruh Ekstrak Biji Kopi Robusta Terhadap Daya Fagositosis Sel Monosit yang Dipapar *Candida albicans*; Arum Kartika Dewi, 121610101043; 2016: 63 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Candida albicans (*C. albicans*) merupakan fungi *opportunistic*, dimana dapat menjadi patogen ketika jumlahnya berlebih di dalam tubuh. *C. albicans* dapat menyebabkan kandidiasis, baik kandidiasis superfisial maupun *deep candidiasis*. Disaat tubuh menghadapi berbagai serangan mikroorganisme termasuk *C. albicans*, maka sistem imun non-spesifik yang merupakan pertahanan tubuh terdepan akan menghadapi serangan tersebut. Di dalam sistem imun non-spesifik selular terdapat sel monosit yang melakukan fagositosis. Aktivitas fagositosis monosit dapat dipengaruhi oleh tanaman obat-obatan yaitu kopi robusta dikarenakan kandungan-kandungan yang terdapat didalamnya. Kandungan tersebut seperti flavonoid yang dapat bersifat sebagai imunomodulator. Isoprinosin merupakan obat yang selama ini mampu meningkatkan fungsi monosit, tetapi dalam jangka waktu lama dapat menyebabkan peningkatan kadar asam urat plasma. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak biji kopi robusta (EBKR) terhadap daya fagositosis sel monosit yang dipapar *C. albicans*.

Penelitian dilakukan dengan pemberian isolat monosit pada masing-masing sampel (20 sampel yang terbagi dalam 5 kelompok). Kelompok P1 (diberi EBKR 12,5%), P2 (diberi EBKR 25%), P3 (diberi EBKR 50%), K- (tidak diberi perlakuan), dan K+ (diberi isoprinosin). Setelah itu, masing-masing sampel dipapar dengan *C. albicans* dan dilakukan penghitungan daya fagositosis sel monosit terhadap *C. albicans*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa EBKR dapat meningkatkan daya fagositosis sel monosit terhadap *C. albicans*. Peningkatan aktivitas fagositosis monosit pada kelompok perlakuan diduga disebabkan adanya kandungan kimia yang terdapat pada EBKR seperti flavonoid, asam klorogenat, alkaloid, tanin, dan saponin. Pada kelompok K⁺ terjadi peningkatan aktivitas fagositosis sel monosit tetapi tidak seefektif pada kelompok perlakuan yang diberi EBKR sebesar 25% dan 50%. Peningkatan aktivitas fagositosis kelompok K⁺ dimungkinkan karena isoprinosin merupakan obat imunomodulator yang meningkatkan fungsi sel monosit. Sedangkan EBKR sebagai imunomodulator yang berpengaruh terhadap sel monosit dan sebagai antifungi yang berpengaruh terhadap *C. albicans*. Pada kelompok perlakuan yang diberi EBKR 25% memiliki nilai persentase yang paling besar sedangkan pada kelompok perlakuan yang diberi EBKR 50% menunjukkan penurunan persentase fagositosis dibandingkan dengan 25%. Penurunan nilai persentase fagositosis ini dimungkinkan karena lebih banyaknya monosit yang lisis daripada kelompok perlakuan yang diberi EBKR 25% karena dosis yang terlalu besar. Kesimpulan yang didapat dari hasil penelitian ini adalah EBKR dapat meningkatkan daya fagositosis sel monosit terhadap *C. albicans*, dimana konsentrasi yang paling efektif adalah 25%.

PRAKATA

Puji Syukur kehadiran Allah SWT, atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Ekstrak Biji Kopi Robusta Terhadap Daya Fagositosis Sel Monosit yang Dipapar *Candida albicans*”. Skripsi disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. drg. Roedy Budirahardjo, M.Kes., Sp.KGA., selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah meluangkan waktu, pikiran dan perhatiannya dengan penuh kesabaran dalam penyusunan skripsi ini.
2. drg. Amandia Dewi Permana Shita, M.Biomed., selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah memberikan bimbingan, saran, motivasi serta meluangkan waktu sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
3. Dr. drg. Atik Kurniawati, M.Kes., selaku Dosen Penguji Ketua yang telah memberikan bimbingan, saran dan dukungan sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
4. Prof. Dr. drg. IDA Ratna Dewanti, M.Si., selaku Dosen Penguji Anggota yang telah memberikan bimbingan, saran dan dukungan sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
5. Yang tersayang kedua orang tua saya, Bapak Drs. Ismail dan ibu Endah Murniningrum, S.Pd serta adik laki-laki saya Muhammad Muzaqi Abdillah yang selalu memberi semangat, dukungan, nasehat untuk bisa menjadi seorang dokter gigi yang baik dan bermanfaat bagi orang lain, serta do'a yang tidak pernah putus untuk dipanatkan.

6. Sahabat saya, Mas Roro Dyah Ayu Erlindawarni dan Anggun Octaviearly Prayitno yang selalu memberikan dukungan serta inspirasi, terimakasih telah menjadi tempat suka dan duka, menjadi saudara yang teramat sangat dekat.
7. Teman saya, Isna Fauziah Yusuf, Fikhih Kartika Murti, Aliful Nisa Noviga, Weka Dayinta Bathari, Dyas Arintya, Galih Rinekso Yuwono dan Niko Oktarian yang telah meluangkan waktunya untuk membantu saya dalam menyelesaikan penelitian serta memberi semangat.
8. Almamater tercinta Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
9. Semua pihak yang terlibat baik secara langsung maupun tidak dalam proses pembuatan skripsi ini.

Penulis merasa penyusunan skripsi belum sempurna, sehingga kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan demi kesempurnaan skripsi. Semoga skripsi yang saya susun dapat memberikan manfaat bagi semua pihak yang membacanya.

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan Umum	4
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Kopi	5
2.1.1 Morfologi Kopi	5
2.1.2 Taksonomi Kopi	13
2.1.3 Jenis-jenis Kopi	14
2.1.4 Kandungan Kopi	17
2.2 Monosit	20
2.2.1 Pembentukan dan Kinetika Monosit	21

2.2.2	Fungsi Monosit	22
2.2.3	Fagositosis Monosit	22
2.3	<i>Candida albicans</i>	23
2.3.1	Morfologi dan Identifikasi	24
2.3.2	Taksonomi <i>Candida albicans</i>	25
2.3.3	Mekanisme Infeksi <i>Candida albicans</i>	25
2.3.4	Penghindaran <i>Candida albicans</i> dari sel-sel Pertahanan Tubuh	27
2.4	Respon Imun Seluler pada <i>Candida albicans</i>	29
2.5	Isoprinosin (Inosipleks)	30
2.5.1	Mekanisme Kerja Isoprinosin	31
2.5.2	Efek Samping Isoprinosin	31
2.6	Kerangka Konsep	32
2.6.1	Kerangka Konsep	32
2.6.2	Penjelasan Kerangka Konsep	33
2.7	Hipotesis	34
BAB 3.	METODE PENELITIAN	35
3.1	Jenis dan Rancangan Penelitian	35
3.1.1	Jenis Penelitian	35
3.1.2	Rancangan Penelitian	35
3.2	Waktu dan Tempat Penelitian	36
3.2.1	Waktu Penelitian	36
3.2.2	Tempat Penelitian	36
3.3	Identifikasi Variabel Penelitian	36
3.3.1	Variabel Bebas	36
3.3.2	Variabel Terikat	36
3.3.3	Variabel Terkendali	37
3.4	Definisi Operasional	37
3.4.1	Ekstrak Biji Kopi Robusta	37

3.4.2	Monosit	37
3.4.3	<i>Candida albicans</i>	37
3.4.4	Fagositosis Sel Monosit	38
3.5	Sampel Penelitian	38
3.5.1	Kriteria Sampel	38
3.5.2	Besar Sampel	40
3.6	Alat dan Bahan Penelitian	41
3.6.1	Alat Penelitian	41
3.6.2	Bahan Penelitian	41
3.7	Prosedur Penelitian	42
3.7.1	Tahap Persiapan	42
3.7.2	Tahap Perlakuan.....	46
3.8	Analisis Data	48
3.9	Alur Penelitian	49
BAB 4.	HASIL DAN PEMBAHASAN	50
4.1	Hasil dan Analisis Data Penelitian	50
4.1.1	Hasil Penelitian	50
4.1.2	Analisis Data Penelitian	52
4.2	Pembahasan	54
BAB 5.	KESIMPULAN DAN SARAN	58
5.1	Kesimpulan	58
5.2	Saran	58
DAFTAR PUSTAKA	59
LAMPIRAN	64

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Perbedaan jenis kopi berdasarkan daunnya	9
2.2 Perbandingan senyawa aktif yang ada pada biji kopi robusta dan arabika .	20
4.1 Persentase aktivitas fagositosis sel monosit terhadap <i>Candida albicans</i> pada setiap kelompok	51
4.2 Hasil uji <i>One-Way Anova</i> aktivitas fagositosis sel monosit terhadap <i>Candida albicans</i>	53
4.3 Hasil uji LSD (<i>Least Significance Difference</i>) aktivitas fagositosis sel monosit terhadap <i>Candida albicans</i>	53

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Batang utama kopi	8
2.2 Percabangan tanaman kopi	8
2.3 Daun kopi	9
2.4 Bakal bunga kopi	11
2.5 Gerombolan bunga kopi yang telah mekar	11
2.6 Perubahan pada warna kopi	12
2.7 Ilustrasi penampang buah kopi	13
2.8 Biji kopi arabika	15
2.9 Biji kopi robusta	16
2.10 Monosit	21
2.11 Pembentukan monosit	22
2.12 <i>Candida albicans</i>	25
3.1 Bagan rancangan penelitian	35
3.2 <i>Candida albicans</i> secara mikroskopis	39
3.3 <i>Candida albicans</i> dengan menggunakan pewarnaan Gram	39
4.1 Sel monosit yang melakukan fagositosis terhadap <i>Candida albicans</i>	50
4.2 Histogram persentase sel monosit yang memfagosit <i>Candida albicans</i> pada setiap kelompok	51

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran A. Perhitungan fagositosis sel monosit terhadap <i>Candida albicans</i> .	64
Lampiran B. Analisis data	65
Lampiran C. Foto hasil penelitian	67
Lampiran D. Alat dan bahan	70
Lampiran E. Informed consent	77
Lampiran F. Ethical clearance	78
Lampiran G. Ijin penelitian	79
Lampiran H. Identifikasi tanaman	81
Lampiran I. Identifikasi <i>Candida albicans</i>	82
Lampiran J. Hasil Uji Jenis <i>Candida albicans</i>	83

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Candida adalah jamur golongan khamir yang paling umum ditemukan di rongga mulut, saluran pencernaan, saluran reproduksi dan kulit khususnya spesies *Candida albicans* (*C. albicans*). Jamur *C. albicans* akan berubah patogen ketika jumlahnya berlebih di dalam tubuh atau pada saat sistem pertahanan tubuh tidak seimbang (Alfiah dkk., 2015). *C. albicans* merupakan fungi *opportunistic* penyebab sariawan (Kumamoto dan Vines, 2005), lesi pada kulit (Bae dkk., 2005), vulvovaginitis (Wilson, 2005), *Candida* pada urin (*candiduria*) (Kobayashi dkk., 2004), kandidiasis gastrointestinal yang dapat menyebabkan *gastric ulcer* (Brzozowski dkk., 2005). Infeksi yang disebabkan oleh *Candida sp* disebut dengan kandidiasis (Chung dalam Martyanti, 2012).

Kandidiasis dapat superfisial atau *deep* dan juga akut atau kronik. Kandidiasis superfisial adalah infeksi *Candida* pada kulit, rambut, kuku, dan membran mukosa. Contoh dari kandidiasis superfisial antara lain kandidiasis kutaneus, kandidiasis mukokutaneus kronik, *onychomycosis*, dan vulvovaginitis. Sedangkan *deep candidiasis* adalah infeksi *Candida* yang mengenai organ dalam dan aliran darah, contohnya antara lain kandidiasis gastrointestinal, kandidiasis saluran kemih, kandidiasis saluran pernapasan, meningitis, endokarditis, dan kandidemia (Chung dalam Martyanti, 2012). Disaat tubuh menghadapi berbagai serangan mikroorganisme (bakteri, riketsia, virus, jamur, protozoa) maka sistem imun non-spesifik merupakan pertahanan tubuh terdepan yang menghadapi berbagai serangan tersebut. Dimana dalam sistem imun non-spesifik selular terdapat sel yang melakukan fagositosis (Baratawidjaja dan Rengganis, 2014; Dorland, 1998).

Fagositosis adalah proses menelan mikroorganisme atau sel lain dan benda asing oleh sel fagosit (Dorland, 1998). Sel Fagosit merupakan sel darah putih yang melindungi tubuh dengan memakan mikroorganisme patogen, sehingga berperan dalam pertahanan tubuh terhadap infeksi (Price dalam Asti, 2015). Salah satu sel darah putih (leukosit) yang merupakan sel fagosit yaitu monosit (Hoffbrand dan Pettit, 1996).

Monosit merupakan sel darah yang paling besar. Intinya berbentuk lonjong atau mirip ginjal tetapi tanpa lobus. Sitoplasma yang cukup banyak terpulas biru pucat dan sering mengandung granula merah jambu (Underwood, 2000). Mereka normalnya 1-5% dari leukosit yang bersirkulasi. Monosit darah adalah komponen penting sistem fagosit dan berasal dari sel induk sumsum tulang. Monosit dewasa dilepaskan ke dalam aliran darah beberapa hari lebih awal daripada neutrofil sumsum tulang. Dalam aliran darah, monosit berfungsi sebagai sel fagosit serupa dengan neutrofil. Tidak seperti neutrofil, monosit pada tempat radang mengalami variasi fungsi fagosit yang luas (Behrman dkk., 1999). Aktivitas fagositosis monosit dapat dipengaruhi oleh tanaman obat-obatan, salah satunya adalah kopi (Asti, 2015).

Kopi dapat digolongkan sebagai minuman psikostimulant yang akan menyebabkan orang tetap terjaga, mengurangi kelelahan, dan membuat perasaan menjadi lebih bahagia. Kopi memiliki berbagai jenis yang salah satu jenisnya yaitu kopi robusta (Panggabean, 2011). Kopi robusta memiliki kandungan flavonoid yang lebih tinggi jika dibanding dengan kopi arabika (Yowanda, 2015). Dimana flavonoid berfungsi sebagai imunomodulator (Hollman dalam Nastiti, 2013). Selain itu, Kopi jenis robusta memiliki adaptasi yang lebih baik dibandingkan dengan kopi jenis arabika. Areal perkebunan kopi jenis robusta di Indonesia relatif luas. Kopi jenis robusta juga banyak dibudidayakan di Kabupaten Jember Jawa Timur (Panggabean, 2011).

Berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Asti (2015) yaitu pemberian ekstrak biji kopi robusta pada konsentrasi 25% dan 50% dapat

meningkatkan aktivitas fagositosis sel monosit terhadap antigen lateks. Sedangkan pada konsentrasi 100% menunjukkan terjadinya penurunan aktivitas fagositosis sel monosit dikarenakan terlalu tingginya konsentrasi yang menyebabkan rusaknya keutuhan membran sel atau viabilitas sel, sehingga sel monosit pecah dan tidak berfungsi (lisis). Senyawa fenolik yang terkandung dalam biji kopi robusta yaitu asam klorogenat sebesar 9,0gr/100gr memiliki efek antifungi, antivirus, antioksidan, antiinflamasi dan efek antibakteri (Amiliyah dkk., 2015). Polifenol juga ditemukan dalam kopi. Polifenol yang terkandung dalam kopi adalah flavonoid (6-12,76%) (Neormansyah, 2014).

Flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol terbesar yang ditemukan di alam. Flavonoid memiliki kemampuan memperbaiki respon *host* yang mengaktifasi neutrofil dan monosit/makrofag yang berfungsi untuk melakukan fagositosis terhadap benda asing. Flavonoid juga berpotensi bekerja terhadap limfokin yang dihasilkan oleh sel T sehingga akan merangsang sel-sel fagosit untuk melakukan respon fagositosis (Wardhani dan Sulistyani dalam Wahyukundari, 2013).

Selama ini telah beredar obat sintetis yang dapat digunakan sebagai imunomodulator yang dapat meningkatkan fungsi monosit (Karnen dalam Djajakusumah, 2010; Gunawan, 2011). Obat sintetis ini yaitu inosipleks atau yang biasa dikenal dengan isoprinosin (ISO). Obat ini dilaporkan dapat juga mengurangi risiko infeksi pada HIV tahap lanjut, dimana pada penderita HIV sering terjadi infeksi *Candida sp.* (Gunawan, 2011; Hasanah, 2012). Penggunaan ISO dalam jangka waktu yang panjang dapat menyebabkan peningkatan kadar asam urat plasma (Karnen dalam Djajakusumah, 2010). Peningkatan kadar asam urat dapat menimbulkan berbagai penyakit seperti artritis gout, hipertensi, miokard infark, gagal jantung kongestif, stroke, dan penyakit ginjal (Cipriani dalam Trisnadewi, 2014). Mengingat efek samping diatas, sehingga diperlukan suatu bahan herbal yang memiliki efek samping minimal yaitu kopi robusta. Sehingga peneliti ingin melakukan penelitian

tentang pengaruh ekstrak biji kopi robusta terhadap daya fagositosis sel monosit yang dipapar *C. albicans*.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimanakah pengaruh ekstrak biji kopi robusta terhadap daya fagositosis sel monosit yang telah dipapar *C. albicans*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh ekstrak biji kopi robusta terhadap daya fagositosis sel monosit yang dipapar *C. albicans*.

1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Menghitung dan membandingkan jumlah monosit yang memfagosit *C. albicans* pada sampel yang diberi ekstrak biji kopi robusta 12,5%, 25%, dan 50%.
- b. Menghitung dan membandingkan jumlah monosit yang memfagosit *C. albicans* yang diberi perlakuan ekstrak biji kopi robusta 12,5%, 25%, dan 50% dengan kelompok kontrol negatif dan positif.

1.4 Manfaat Penelitian

- a. Memberikan informasi tentang pengaruh biji kopi robusta terhadap daya fagositosis sel monosit yang dipapar *C. albicans*.
- b. Memberikan informasi mengenai konsentrasi ekstrak biji kopi robusta yang paling efektif dalam mempengaruhi daya fagositosis sel monosit terhadap *C. albicans*.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kopi

Kopi (*coffea spp*) adalah spesies tanaman berbentuk pohon yang termasuk dalam famili *Rubiaceae* dan genus *Coffea*. Tanaman ini tumbuhnya tegak, bercabang, dan bila dibiarkan tumbuh dapat mencapai tinggi 12 m. Di dunia perdagangan, dikenal beberapa golongan kopi, tetapi yang paling sering dibudidayakan hanya kopi arabika, robusta, dan liberika. Penggolongan kopi tersebut umumnya didasarkan pada spesiesnya, kecuali kopi robusta. Kopi robusta bukan merupakan nama spesies karena kopi ini merupakan keturunan dari beberapa spesies kopi, terutama *Coffea canephora* (Najiyati dan Danarti, 2001).

2.1.1 Morfologi Kopi

a. Akar.

Tanaman kopi merupakan jenis tanaman berkeping dua (dikotil) dan memiliki akar tunggang (Panggabean, 2011). Tanaman kopi berakar tunggang, lurus kebawah, pendek dan kuat. Panjang akar tunggang ini kurang lebih 45-50 cm, yang pada asnya terdapat 4-8 akar samping yang menurun ke bawah sepanjang 2-3 m. Selain itu banyak pula akar cabang samping yang panjang 1-2 m horisontal, sedalam ± 30 cm, dan bercabang merata, masuk ke dalam tanah lebih dalam lagi (AAK, 2002). Pada akar tunggang, ada beberapa akar kecil yang tumbuh ke samping (melebar) yang sering disebut akar lebar. Pada akar lebar ini tumbuh akar rambut, bulu-bulu akar, dan tudung akar. Tudung akar berfungsi untuk melindungi akar ketika mengisap unsur hara dari tanah (Panggabean, 2011).

b. Batang dan cabang.

Kopi mempunyai sistem percabangan yang agak berbeda dengan tanaman lain. Tanaman ini mempunyai beberapa jenis cabang yang sifat dan fungsinya agak berbeda, yaitu :

1) Cabang reproduksi (cabang *orthotrop*).

Cabang reproduksi adalah cabang yang tumbuhnya tegak dan lurus. Ketika masih muda cabang ini juga sering disebut wiwilan. Cabang ini berasal dari tunas reproduksi yang terdapat disetiap ketiak daun pada batang utama atau cabang primer. Setiap ketiak daun bisa mempunyai 4-5 tunas reproduksi, sehingga apabila cabang reproduksi mati bisa diperbaharui sebanyak 4-5 kali. Cabang ini memiliki sifat seperti batang utama, sehingga bila suatu ketika batang utama mati atau tidak tumbuh sempurna, maka fungsinya dapat digantikan oleh cabang ini.

2) Cabang primer (cabang *plagiotrop*).

Cabang primer adalah cabang yang tumbuh pada batang utama atau cabang reproduksi dan berasal dari tunas primer. Pada setiap ketiak daun hanya mempunyai satu tunas primer, sehingga apabila cabang ini mati, di tempat itu sudah tidak dapat tumbuh cabang primer lagi. Cabang primer mempunyai ciri-ciri, yaitu :

- a) Arah pertumbuhannya mendatar.
- b) Lemah.
- c) Berfungsi sebagai penghasil bunga karena di setiap ketiak daunnya terdapat mata atau tunas yang dapat tumbuh menjadi bunga.

Setiap ketiak daun pada cabang primer mempunyai tunas reproduksi dan tunas sekunder. Tunas reproduksi dapat tumbuh menjadi cabang reproduksi, demikian pula tunas sekunder bisa tumbuh menjadi cabang sekunder, tetapi biasanya tidak berkembang menjadi cabang, melainkan tumbuh dan berkembang menjadi bunga.

3) Cabang sekunder.

Cabang sekunder adalah cabang yang tumbuh pada cabang primer dan berasal dari tunas sekunder. Cabang ini mempunyai sifat seperti cabang primer sehingga dapat menghasilkan bunga.

4) Cabang kipas.

Cabang kipas adalah cabang-cabang reproduksi yang tumbuh kuat pada cabang primer karena pohon sudah tua. Pohon yang sudah tua biasanya hanya tinggal mempunyai sedikit cabang primer karena sebagian besar sudah mati dan luruh. Cabang yang tinggal sedikit ini biasanya terletak di ujung batang dan mempunyai pertumbuhan yang cepat sehingga mata reproduksinya tumbuh pesat menjadi cabang-cabang reproduksi. Cabang reproduksi ini sifatnya seperti batang utama dan sering disebut sebagai cabang kipas.

5) Cabang pecut.

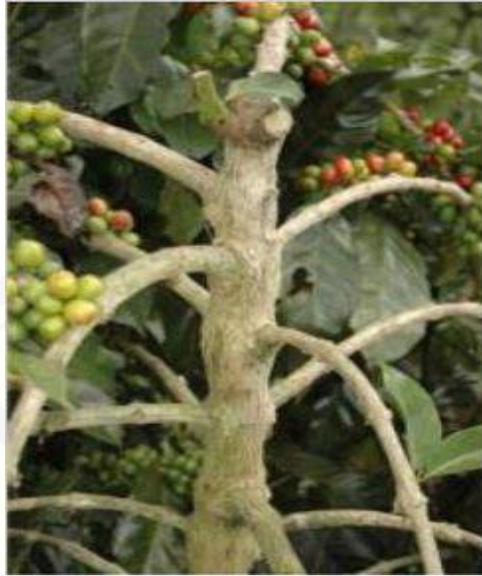
Cabang pecut adalah cabang kipas yang tidak mampu membentuk cabang primer meskipun tumbuhnya cukup kuat.

6) Cabang balik.

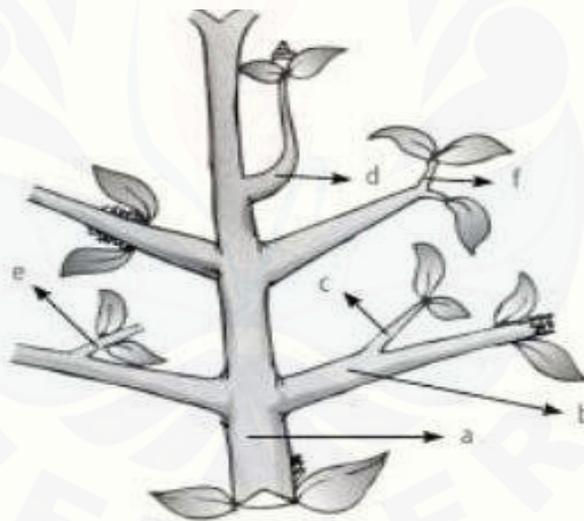
Cabang balik adalah cabang reproduksi yang tumbuh pada cabang primer, berkembang tidak normal, dan mempunyai arah pertumbuhan menuju ke dalam mahkota tajuk.

7) Cabang air.

Cabang air adalah cabang reproduksi yang tumbuhnya pesat, ruas-ruas daunnya relatif panjang dan lunak atau banyak mengandung air (Najiyati dan Danarti, 2001).



Gambar 2.1 Batang utama kopi. Merupakan titik pusat tumbuhnya berbagai jenis cabang (Panggabean, 2011).



Ilustrasi Percabangan Tanaman Kopi

Keterangan:

a = Batang utama

b = Cabang primer (plagiotrop)

c = Cabang sekunder

d = Cabang reproduksi (orthotrop)

e = Cabang balik

f = Cabang kipas

Gambar 2.2 Percabangan Tanaman Kopi (Panggabean, 2011).

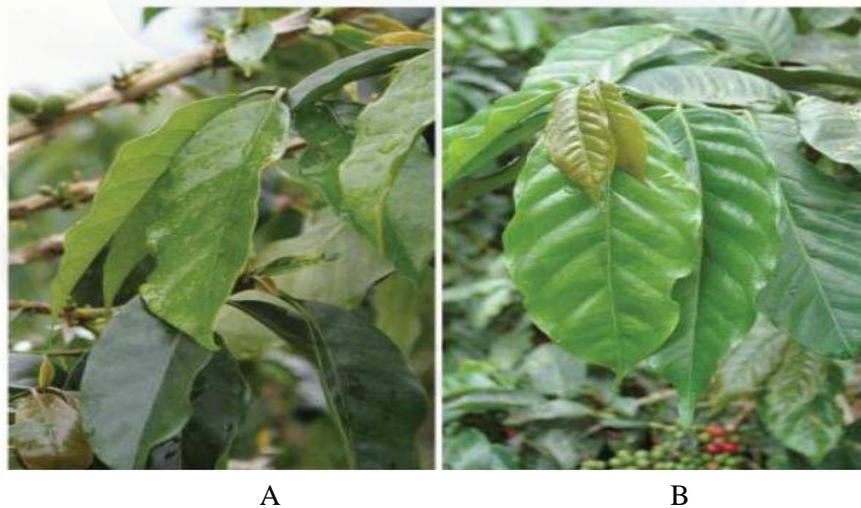
c. Daun.

Secara umum, daun kopi berbentuk seperti telur, bergaris ke samping, bergelombang (talang air), hijau pekat, kekar, dan meruncing, dibagian ujungnya. Daun tumbuh dan tersusun secara berdampingan di ketiak batang, cabang, dan ranting. Sepasang daun terletak di bidang yang sama pada cabang dan ranting yang tumbuh mendatar (Panggabean, 2011).

Tabel 2.1 Perbedaan jenis kopi berdasarkan daunnya.

Jenis Kopi	Tekstur dan Ketebalan Daun	Warna Daun
Arabika	Kurus, memanjang, dan tebal	Hijau kuat pekat dan bergaris gelombang seperti talang air
Robusta	Lebih gendut jika dibandingkan dengan kopi jenis arabika	Hijau agak terang

Sumber : Panggabean, 2011.



Gambar 2.3 Daun Kopi. A: daun kopi arabika. B: daun kopi robusta (Panggabean, 2011).

d. Bunga.

Tanaman kopi umumnya akan mulai berbunga setelah ± 2 tahun (Najiyati dan Danarti, 2001). Bunga kopi terbentuk pada akhir musim hujan dan akan menjadi buah hingga siap petik pada awal musim kemarau (Panggabean, 2011). Mula-mula bunga ini keluar dari ketiak daun yang terletak pada batang utama atau cabang reproduksi. Tetapi bunga yang keluar dari kedua tempat tersebut biasanya tidak berkembang menjadi buah, jumlahnya terbatas, dan hanya dihasilkan oleh tanaman-tanaman yang masih sangat muda (Najiyati dan Danarti, 2001).

Bunga yang jumlahnya banyak akan keluar dari ketiak daun yang terletak pada cabang primer. Bunga ini berasal dari kuncup-kuncup sekunder dan reproduktif yang berubah fungsinya menjadi kuncup bunga. Kuncup bunga kemudian berkembang menjadi bunga secara serempak dan bergerombol (Najiyati dan Danarti, 2001).

Setiap ketiak daun menghasilkan 2-4 kelompok bunga. Setiap kelompok bunga menghasilkan 4-6 kuntum bunga, sehingga di setiap ketiak daun menghasilkan 8-24 kuntum bunga. Kuntum bunga kopi berukuran kecil yang tersusun dari kelopak bunga, mahkota bunga, benang sari, tangkai putik, dan bakal buah. Kelopak bunga berwarna hijau. Mahkota bunga terdiri dari 3-8 helai daun. Sementara itu, benang sari terdiri dari 5-7 helai. Tangkai putik terdiri dari dua sirip berukuran kecil yang panjang (Panggabean, 2011). Bunga kopi berukuran kecil, mahkotanya berwarna putih dan berbau harum semerbak (Najiyati dan Danarti, 2001).



Gambar 2.4 Bakal bunga kopi. Tumbuh di ketiak daun yang biasanya terletak di cabang primer dan cabang sekunder (Panggabean, 2011).



Gambar 2.5 Gerombolan bunga kopi yang telah mekar.
(https://titisharyani.files.wordpress.com/2013/02/bunga_kopi_robusta.jpg).

e. Buah.

Buah kopi mentah berwarna hijau muda. Setelah itu, berubah menjadi hijau tua, lalu kuning. Buah kopi matang berwarna merah atau merah tua. Ukuran panjang buah kopi jenis arabika 12-18 mm. Sementara itu, kopi jenis robusta 8-16 mm. Berikut ini susunan buah kopi secara umum :

- 1) Lapisan paling luar disebut kulit luar buah (eksokarp).
- 2) Lapisan daging buah (mesokarp).
- 3) Lapisan kulit tanduk (endokarp).
- 4) Biji (biji masih dibungkus lagi dengan kulit ari).

Daging buah kopi yang sudah matang penuh mengandung lendir dan senyawa gula yang rasanya manis. Kulit tanduk buah kopi memiliki tekstur agak keras dan membungkus sepasang biji kopi. Sementara itu, kulit tanduk merupakan kulit halus yang menyelimuti masing-masing biji kopi. Bagian dalam yang terakhir dari buah kopi adalah biji kopi (*coffee bean*). Jika di dalam buah kopi hanya terdapat satu biji kopi dan bentuknya bulat memanjang biasanya disebut kopi jantan. Dalam bahasa daerah umumnya disebut biji lanang, kong, atau kung (Panggabean, 2011).

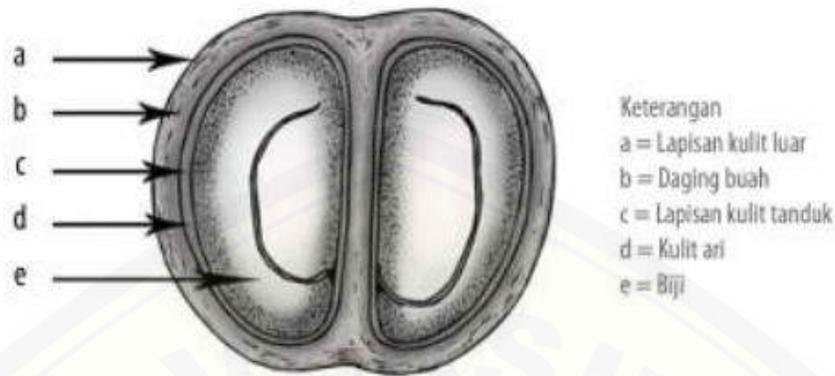


A



B

Gambar 2.6 Perubahan pada warna kopi. A: buah kopi muda yang warnanya hijau.
B: buah kopi tua yang warnanya merah (Panggabean, 2011).



Gambar 2.7 Ilustrasi penampang buah kopi (Panggabean, 2011).

2.1.2 Taksonomi Kopi.

Tanaman kopi termasuk dalam genus *Coffea* dengan famili *Rubiaceae*. Famili tersebut memiliki banyak genus, yaitu *Gardenia*, *Ixora*, *Cinchona*, dan *Rubia*. Genus *Coffea* mencakup hampir 70 spesies, tetapi hanya ada dua spesies yang ditanam dalam skala luas di seluruh dunia, yaitu kopi arabika (*Coffea arabica*) dan kopi robusta (*Coffea canephora var. robusta*). Berikut sistem taksonomi secara lengkap :

Kingdom	: <i>Plantae</i> (Tumbuhan).
Subkingdom	: <i>Tracheobionta</i> (Tumbuhan berpembuluh).
Super Divisi	: <i>Spermatophyta</i> (Tumbuhan penghasil biji).
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i> (Tumbuhan berbunga).
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i> (Tumbuhan berkeping dua/dikotil).
Sub Kelas	: <i>Asteridae</i> .
Ordo	: <i>Rubiales</i> .
Famili	: <i>Rubiaceae</i> (Suku kopi-kopian).
Genus	: <i>Coffea</i> .
Spesies	: <i>Coffea sp.</i> [<i>Coffea arabica</i> (kopi arabika), <i>Coffea canephora var. robusta</i> (kopi robusta), <i>Coffea liberica</i> (kopi liberika), <i>Coffea excelsa</i> (kopi excelsa)] (Rahardjo, 2012).

2.1.3 Jenis-jenis Kopi.

a. Kopi Arabika (*Coffea arabica*).

Kopi arabika sangat baik ditanam di daerah yang berketinggian 1.000-2.100 meter di atas permukaan laut (dpl). Semakin tinggi lokasi perkebunan kopi, cita rasa yang dihasilkan oleh biji kopi akan semakin baik. Karena itu, perkebunan kopi arabika hanya terdapat di beberapa daerah tertentu (di daerah yang memiliki ketinggian di atas 1000 meter) (Panggabean, 2011). Jenis kopi arabika memiliki nilai ekonomis dan diperdagangkan secara komersial. Selain itu, jenis kopi arabika juga memiliki kualitas cita rasa tinggi dan kadar kafein lebih rendah dibandingkan dengan robusta sehingga harganya lebih mahal (Rahardjo, 2012). Berikut ini beberapa daerah penanaman jenis kopi arabika yang terkenal di Indonesia :

- 1) Provinsi Sumatera Utara.
- 2) Provinsi Aceh.
- 3) Provinsi Lampung.
- 4) Beberapa Provinsi di pulau Sulawesi, Jawa, dan Bali.

Berikut karakteristik biji kopi arabika secara umum, yaitu :

- a) Rendemannya lebih kecil dari jenis kopi lainnya (18-20%).
- b) Bentuknya agak memanjang.
- c) Bidang cembungnya tidak terlalu tinggi.
- d) Lebih bercahaya dibandingkan jenis lainnya.
- e) Ujung biji lebih mengilap, tetapi jika dikeringkan berlebihan akan terlihat retak atau pecah.
- f) Celah tengah (*center cut*) di bagian datar (perut) tidak lurus memanjang ke bawah, tetapi berlekuk.
- g) Untuk biji yang sudah dipanggang (*roasting*), celah tengah terlihat putih.
- h) Untuk biji yang sudah diolah, kulit ari kadang masih menempel di celah atau parit biji kopi (Panggabean, 2011).



Gambar 2.8 Biji Kopi Arabika. Bentuknya agak memanjang dengan bidang cembung tidak terlalu tinggi (Panggabean, 2011).

b. Kopi Robusta.

Kopi robusta berasal dari Kongo dan masuk ke Indonesia pada tahun 1900. Karena mempunyai sifat lebih unggul, kopi ini sangat cepat berkembang. Bahkan kopi ini merupakan jenis yang mendominasi perkebunan kopi di Indonesia hingga saat ini (Najiyati dan Danarti, 2001). Selain itu, jenis kopi robusta ini memiliki nilai ekonomis dan diperdagangkan secara komersial. Kualitas cita rasa kopi robusta di bawah kopi arabika, tetapi kopi robusta tahan terhadap penyakit karat daun. Oleh karena itu, luas areal pertanaman kopi robusta di Indonesia lebih besar daripada luas areal pertanaman kopi arabika sehingga produksi kopi robusta lebih banyak. Dan saat ini sebagian besar tanaman kopi yang dibudidayakan di Indonesia adalah kopi robusta (90%) dan sisanya kopi arabika (Rahardjo, 2012). Kopi jenis ini juga dapat tumbuh di daerah ketinggian yang lebih rendah dibandingkan dengan lokasi perkebunan arabika. Berikut ini karakteristik fisik biji kopi robusta, yaitu :

- 1) Rendemen kopi robusta relatif lebih tinggi dibandingkan dengan rendemen kopi arabika (20-22%).

- 2) Biji kopi agak bulat.
- 3) Lengkungan biji lebih tebal dibandingkan dengan jenis arabika.
- 4) Garis tengah (parit) dari atas ke bawah hampir rata.
- 5) Untuk biji yang sudah diolah, tidak terdapat kulit ari di lekukan atau bagian parit (Panggabean, 2011).



Gambar 2.9 Biji Kopi Robusta. Bentuk fisiknya agak bulat dibandingkan dengan biji kopi arabika (Panggabean, 2011).

c. Kopi Liberika.

Dahulu kopi liberika dibudidayakan di Indonesia, tetapi sekarang sudah ditinggalkan oleh pekebun atau petani. Pasalnya, bobot biji keringnya hanya sekitar 10% dari bobot kopi basah. Selain perbandingan bobot basah dan bobot kering, rendemen biji kopi liberika yang rendah merupakan salah satu faktor tidak berkembangnya jenis kopi liberika di Indonesia. Rendeman kopi liberika hanya 10-12%. Karakteristik biji kopi liberika hampir sama dengan jenis arabika. Pasalnya, jenis liberika merupakan pengembangan dari jenis arabika. Kelebihannya, jenis liberika lebih tahan terhadap serangan hama *Hemelia vastatrix* dibandingkan kopi jenis arabika (Panggabean, 2011). Selain itu, kopi

liberika dapat tumbuh sangat subur di daerah kelembapan tinggi dan panas (Rahardjo, 2012).

d. Kopi Ekselsa.

Kopi golongan ekselsa mempunyai adaptasi iklim yang lebih luas seperti kopi liberika, dan tidak terlalu peka terhadap penyakit HV (Najiyati dan Danarti, 2001). Kopi ekselsa dapat tumbuh di daerah panas serta agak kering. Kopi ekselsa umumnya ditanam dengan tingkat perawatan yang sederhana dan tanpa dipangkas (Rahardjo, 2012).

2.1.4 Kandungan Kopi.

Kopi pada umumnya mengandung senyawa aktif berupa kafein, fenol, alkaloid, flavonoid, saponin, asam klorogenik, dan trigonelin. Selain senyawa aktif, kopi juga memiliki kandungan air, karbohidrat, protein, lipid, dan mineral. Kopi robusta mengandung senyawa aktif seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, kafein, dan fenol. Sedangkan pada kopi arabika mengandung senyawa seperti alkaloid, flavonoid, kumarin, kuinon, fenol, minyak atsiri, dan tanin. Dari beberapa senyawa aktif yang terkandung pada kopi seperti alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin telah diketahui memiliki efektifitas sebagai antifungi atau antijamur (Yowanda, 2015).

Senyawa antijamur mempunyai berbagai mekanisme penghambat terhadap sel jamur. Djunaedy (2008) menyatakan bahwa senyawa antijamur memiliki mekanisme kerja dengan cara menetralkan enzim yang terkait dalam invasi jamur, merusak membran sel jamur, menghambat sistem enzim jamur sehingga mengganggu terbentuknya ujung hifa dan mempengaruhi sintesis asam nukleat dan protein (Alfiah dkk., 2015). Senyawa alkaloid memiliki kemampuan dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel, sehingga menyebabkan lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan mengakibatkan kematian pada sel. Saponin memiliki kemampuan dalam membentuk kompleks dengan protein dan dinding sel yang mengakibatkan sel menjadi lisis, selain itu saponin dapat merusak sel membran sitoplasma *C. albicans* dengan cara meningkatkan permeabilitas membran sel jamur.

Flavonoid memiliki kemampuan dalam mendenaturasi protein sel jamur dan merusak membran jamur yaitu dengan merusak dinding sel *C. albicans* yang terdiri dari lipid dan asam amino akan bereaksi dengan gugus alkohol yang terdapat pada senyawa flavonoid sehingga terjadinya kerusakan dinding sel dan senyawa ini akan masuk ke dalam inti sel jamur (Yowanda, 2015).

Sejumlah besar polifenol ditemukan pada kopi. Polifenol (*polyphenol*) adalah kelompok bahan kimia dengan lebih dari satu unit fenol per molekul. Polifenol ditemukan secara alami pada tumbuhan. Jenis polifenol yang paling sering ditemukan pada tanaman adalah flavonoid, asam fenolat, katekin, antosianin, isoflavon, quercetin, dan resveratrol. Polifenol yang terkandung dalam kopi adalah flavonoid (6-12,76%), sedangkan yang terkandung dalam teh adalah katekin (16-30%) (Neormansyah, 2014). Flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol terbesar yang ditemukan di alam. Kandungan flavonoid, seperti halnya karotenoid, menurut penelitian yang telah ada berpotensi sebagai antioksidan pada pertumbuhan tumor serta terbukti meningkatkan respon imun walaupun masih banyak kontroversi yang dijumpai. Kontroversi ini terjadi karena mekanisme aktivasinya belum dapat dijelaskan (Nugroho, 2012). Flavonoid memiliki kemampuan memperbaiki respon *host* yang mengaktifasi neutrofil dan monosit/makrofag yang berfungsi untuk melakukan fagositosis terhadap benda asing. Flavonoid juga berpotensi bekerja terhadap limfokin yang dihasilkan oleh sel T sehingga akan merangsang sel-sel fagosit untuk melakukan respon fagositosis (Wardhani dan Sulistyani dalam Wahyukundari, 2013). Senyawa polifenol yang utama pada kopi adalah asam klorogenat dan asam kafeat. Jumlah asam klorogenat mencapai 90% dari total fenol yang terdapat pada kopi (Mursu dalam Yusmarini, 2011). Selain itu, senyawa fenolik menunjukkan aktivitas antimikroba dan antijamur (Ferrazzano dkk., 2011). Senyawa fenolik yang terkandung dalam biji kopi robusta seperti asam klorogenat sebesar 9,0 gr/100gr (Amiliah dkk., 2015).

Asam klorogenat memiliki efek antifungi, antivirus, antioksidan, antiinflamasi dan efek antibakteri (Amiliah dkk., 2015). Salah satu khasiat dari asam klorogenat

yaitu sebagai antioksidan eksogen yang berperan dalam mencegah kerusakan sel (Herawati dan Sukohar, 2013). Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi, dengan cara mencegah terbentuknya radikal bebas. Dimana radikal bebas merupakan oksigen reaktif yang akan menyerang membran sel monosit. Senyawa antioksidan akan menjaga integrasi dan berfungsinya membran lipid, protein sel, dan asam nukleat. Selain itu senyawa antioksidan mampu mempertahankan keutuhan bentuk membran sel dan fungsi sel terhadap serangan dari antigen (Winarsi dalam Asti, 2015).

Sel monosit yang dipapar dengan senyawa antioksidan kopi robusta dapat mempertahankan bentuk selnya atau viabilitas sel, sehingga sel monosit akan aktif dalam menjalankan fungsinya untuk memfagosit. Peningkatan aktivitas fagositosis sel monosit dipengaruhi oleh senyawa antioksidan yang ada dalam ekstra biji kopi robusta (Winarsi dalam Asti, 2015). Tetapi, pada sel monosit yang dipapar ekstrak biji kopi robusta dengan konsentrasi tinggi menyebabkan rusaknya keutuhan membran sel atau viabilitas sel, sehingga sel monosit pecah dan tidak berfungsi (Asti, 2015).

Menurut penelitian dari Azzahra dkk (2014) menyatakan bahwa sel leukosit yang lisis dapat disebabkan oleh stres oksidatif dari pengaruh radikal bebas. Keutuhan sel atau viabilitas sel dipengaruhi oleh adanya radikal bebas yang dapat menyebabkan kerusakan sel. Radikal bebas di dalam tubuh dapat merusak asam lemak tak jenuh pada membran sel, sehingga dapat merusak membran sel monosit. Peningkatan jumlah radikal bebas ini menyebabkan terjadinya suatu keadaan dimana tingkat oksigen reaktif atau radikal bebas yang toksik melebihi pertahanan antioksidan endogen yang disebut dengan stres oksidatif. Stres oksidatif dapat menyebabkan peroksidasi lipid yang merusak membran sel, lipoprotein, dan struktur sel lainnya yang mengandung lipid. Karena kerusakan yang terjadi pada membran sel maka aktivitas biokimia dalam sel akan terganggu, sehingga sel tidak mampu mempertahankan kehidupannya dan lisis (Winarsi dalam Asti, 2015).

Tabel 2.2 Perbandingan senyawa aktif yang ada pada biji kopi robusta dan arabika.

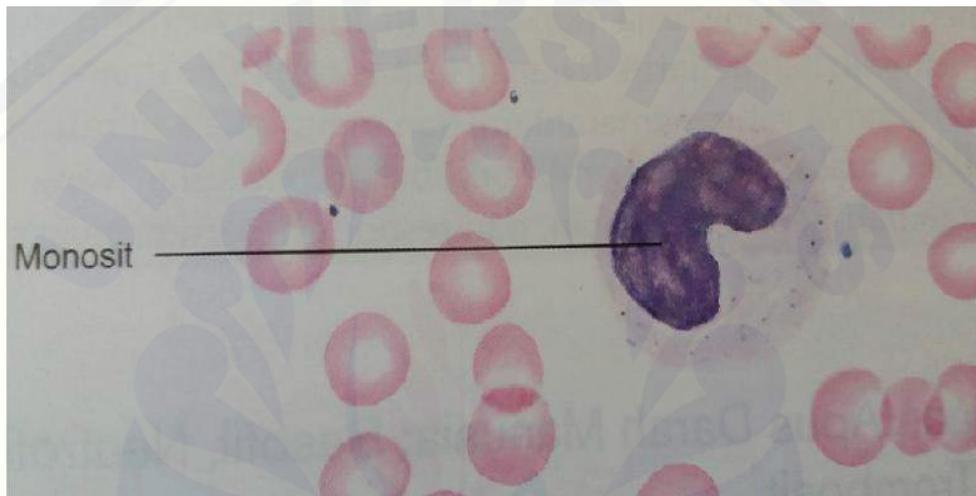
Kopi Robusta (Coffea canephora)	Kopi Arabika (Coffea arabica)
Flavonoid = 10,09 μ /g	Flavonoid = 8,08 μ /g
Asam klorogenik = 5,7%-8,6%	Asam klorogenik = 3,8%-7,0%
Kondensasi tanin = 3,1	Kondensasi tanin = 2,9
Kafein = 2,2 %	Kafein = 1,1 %
Fenol = 27,04 μ /g	Fenol = 21,80 μ /g
Tanin = 3,1%	Tanin = 2,9%
Alkaloid	Alkaloid
Saponin	Saponin

Sumber : Yowanda, 2015.

2.2 Monosit

Monosit merupakan sel darah putih yang paling besar. Intinya berbentuk lonjong atau mirip ginjal tetapi tanpa lobus. Sitoplasma yang cukup banyak terpulas biru pucat dan sering mengandung granula merah jambu (Underwood, 2000). Mereka normalnya 1-5% dari leukosit yang bersirkulasi (Behrman dkk., 1999). Diameternya 9 sampai 10 μ m tetapi pada hapus darah kering menjadi pipih, mencapai 20 μ m atau lebih. Inti biasanya terletak aksentris dalam sel, terlihat mempunyai lekukan yang dalam atau berbentuk tapal kuda. Bahan kromatin dalam inti tersusun sebagai jala-jala halus, sehingga inti dapat terpulas gelap seperti pada sajian hapus pada limfosit. Sitoplasma relatif banyak dengan pulasan Wright berupa biru abu-abu pada sajian kering. Ia sering tampak seperti jala-jala atau bervakuola dan mengandung sejumlah granula azurofil. Granula tersebut merupakan lisosom primer dan umumnya jumlahnya lebih banyak tetapi lebih kecil daripada yang ada dalam limfosit. Sitoplasma juga mengandung beberapa retikulum endoplasma granular tetapi lebih sedikit ribosom bebasnya daripada yang terdapat di dalam limfosit (Leeson dkk.,

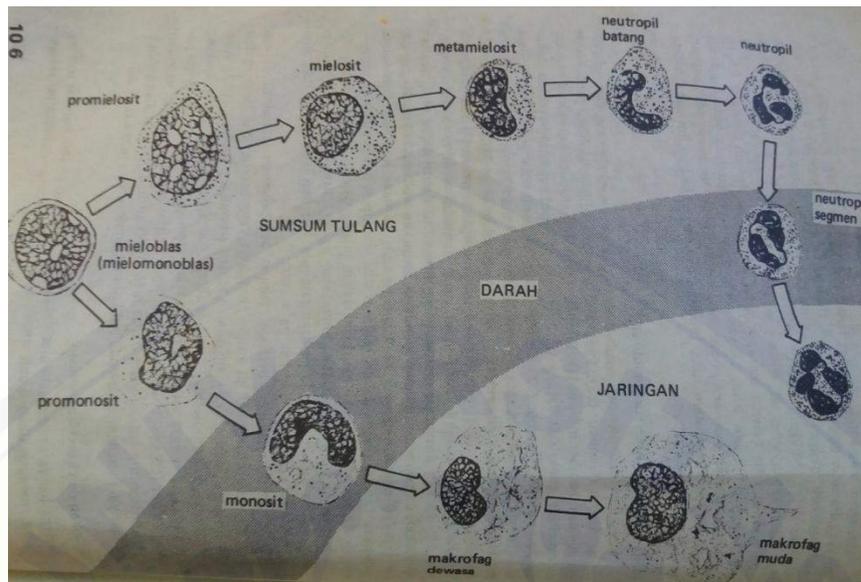
1989). Monosit darah adalah komponen penting sistem fagosit dan berasal dari sel induk sumsum tulang. Monosit dewasa dilepaskan ke dalam aliran darah beberapa hari lebih awal daripada neutrofil sumsum tulang. Dalam aliran darah monosit berfungsi sebagai sel fagosit serupa dengan neutrofil. Tidak seperti neutrofil, monosit pada tempat radang mengalami variasi fungsi fagosit yang luas (Behrman dkk., 1999).



Gambar 2.10 Monosit (Eroschenko, 2010)

2.2.1 Pembentukan dan Kinetika Monosit

Monosit hanya tinggal sebentar dalam sumsum dan setelah beredar selama 20-40 jam, meninggalkan darah untuk memasuki jaringan dimana ini menjadi matang dan melaksanakan fungsi utamanya. Umur ekstravaskular setelah transformasi menjadi makrofag dapat selama beberapa bulan bahkan tahun. Monosit dapat melaksanakan fungsi spesifik pada jaringan-jaringan berbeda, misalnya kulit, usus, hati, dan sebagainya (Hoffbrand dan Pettit, 1996).



Gambar 2.11 Pembentukan Monosit (Hoffbrand dan Pettit, 1996)

2.2.2 Fungsi Monosit

Fungsi normal monosit dapat dibagi dalam tiga fase, yaitu :

- Khemoaksis (mobilisasi dan migrasi sel) dimana sel fagosit ditarik ke tempat bakteri atau tempat peradangan mungkin oleh zat khemotaktik yang dibebaskan dari jaringan rusak atau oleh komponen komplemen.
- Fagositosis dimana zat asing (misalnya bakteri, jamur, dan seterusnya) atau sel tubuh hospes yang mati atau rusak di "makan" (fagositosis).
- Membunuh dan mencerna (Hoffbrand dan Pettit, 1996).

2.2.3 Fagositosis Monosit

Fagositosis adalah proses menelan mikroorganisme atau sel lain dan benda asing oleh fagosit (Dorland, 1998). Sel Fagosit merupakan sel darah putih yang melindungi tubuh dengan memakan mikroorganisme patogen, sehingga berperan dalam pertahanan tubuh terhadap infeksi (Price dalam Asti, 2015). Salah satu sel darah putih (leukosit) yang merupakan sel fagosit yaitu monosit (Hoffbrand dan Pettit, 1996). Proses fagositosis diawali dengan sel monosit yang mendekati agen

asing yang akan difagositosis. Kemudian, sel monosit akan mengalirkan sitoplasma yang akan mengelilingi agen asing tersebut dan agen asing tersebut masuk ke dalam bungkus sitoplasma. Setelah mencerna agen asing tersebut dan memasukkannya ke dalam sitoplasma dalam vakuola fagositosis atau fagosom tugas berikutnya adalah mematikan agen asing tersebut (Price dalam Asti, 2015).

2.3 *Candida albicans*

Candida adalah jamur golongan khamir yang paling umum ditemukan di rongga mulut, saluran pencernaan, saluran reproduksi dan kulit khususnya spesies *C. albicans* (Alfiah dkk., 2015). *C. albicans* adalah patogen *opportunistic* yang merupakan bagian dari *microflora* mulut dan pencernaan manusia (LaFleur, 2008). Pada rongga mulut jumlah *C. albicans* berkisar antara 100-500 koloni permilimeter saliva. Jamur *C. albicans* akan berubah patogen ketika jumlahnya berlebih di dalam tubuh (Alfiah dkk., 2015). *C. albicans* merupakan fungi *opportunistic* penyebab sariawan (Kumamoto dan Vines, 2005), lesi pada kulit (Bae dkk., 2005), vulvovaginitis (Wilson, 2005), *Candida* pada urin (*candiduria*) (Kobayashi dkk., 2004), kandidiasis gastrointestinal yang dapat menyebabkan *gastric ulcer* (Brzozowski dkk., 2005). Infeksi yang disebabkan oleh *Candida sp* disebut dengan kandidiasis. Dimana infeksi ini dapat superfisial atau *deep* dan juga akut atau kronik. Kandidiasis superfisial adalah infeksi *Candida* di kulit, rambut, kuku, dan membran mukosa. Contoh dari kandidiasis superfisial antara lain kandidiasis kutaneus, kandidiasis mukokutaneus kronik, *onychomycosis*, dan vulvovaginitis. Sedangkan *deep candidiasis* adalah infeksi *Candida* yang mengenai organ dalam dan aliran darah, contohnya antara lain kandidiasis gastrointestinal, kandidiasis saluran kemih, kandidiasis saluran pernapasan, meningitis, endokarditis, dan kandidemia (Chung dalam Martyanti, 2012).

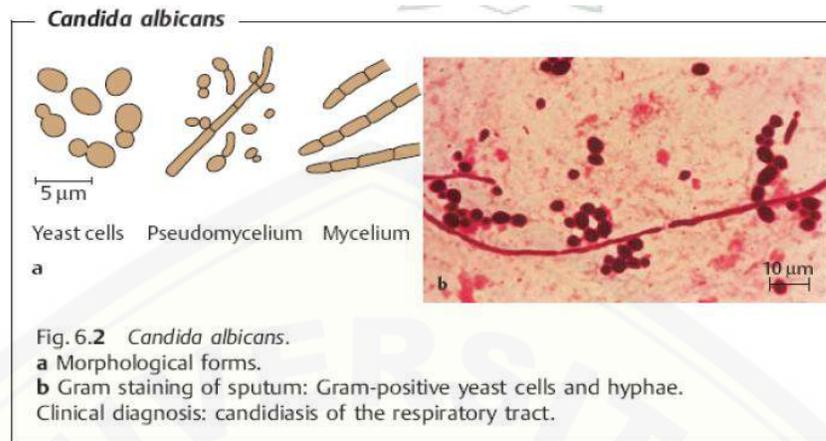
2.3.1 Morfologi dan Identifikasi

Candida tampak sebagai ragi lonjong, kecil, berdinding tipis, bertunas, gram positif, berukuran 2-3 x 4-6 μm , yang memanjang menyerupai hifa (pseudohifa). *Candida* membentuk pseudohifa ketika tunas-tunas terus tumbuh tetapi gagal melepaskan diri, menghasilkan rantai sel-sel yang memanjang yang terjepit atau tertarik pada septasi-septasi diantara sel. *C. albicans* bersifat dimorfik, selain ragi-ragi dan pseudohifa, ia juga bisa menghasilkan hifa sejati. *Candida* berkembang biak dengan *budding* (Simatupang, 2009).

Pada agar *sabouraud* yang dieramkan pada suhu kamar atau 37°C selama 24 jam, spesies *Candida* menghasilkan koloni-koloni halus berwarna krem yang mempunyai bau seperti ragi. Pertumbuhan permukaan terdiri atas sel-sel bertunas lonjong. Pertumbuhan di bawahnya terdiri atas pseudomiselium. Ini terdiri atas pseudohifa yang membentuk blastokonidia pada nodus-nodus dan kadang-kadang klamidokonidia pada ujung-ujungnya (Simatupang, 2009).

Dua tes morfologi sederhana membedakan *C. albicans* yang paling patogen dari spesies *Candida* lainnya yaitu setelah inkubasi dalam serum selama sekitar 90 menit pada suhu 37°C, sel-sel ragi *C. albicans* akan mulai membentuk hifa sejati atau tabung benih dan pada media yang kekurangan nutrisi *C. albicans* menghasilkan klamidospora bulat dan besar. *C. albicans* meragikan glukosa dan maltosa, menghasilkan asam dan gas, asam dari sukrosa, dan tidak bereaksi dengan laktosa. Peragian karbohidrat ini, bersama dengan sifat-sifat koloni dan morfologi, membedakan *C. albicans* dari spesies *Candida* lainnya (Simatupang, 2009).

Candida memiliki 3 bentuk morfologis utama. Sel ragi (blastospora) memiliki diameter 1,5-5 μm , tunas aseksual dapat tumbuh pada permukaan tubuh dan cairan, mengawali lesi invasif dan dapat menyebabkan toksik atau reaksi radang. Klamidospora berukuran lebih besar (7-17 μm) dan jarang menimbulkan penyakit sistemik. Bentuk hifa (pseudomiselia) adalah fase jaringan *Candida*, bukan kontaminasi dan merupakan sulur-sulur filamentosa yang memanjang dari sel ragi (Behrman dkk., 1999).



Gambar 2.12 *C. albicans* (Simatupang, 2009)

2.3.2 Taksonomi *C. albicans*

Berikut ini taksonomi dari *C. albicans*, yaitu :

Kingdom	: <i>Fungi</i>
Filum	: <i>Ascomycota</i>
Kelas	: <i>Saccharomycetes</i>
Ordo	: <i>Saccharomycetales</i>
Famili	: <i>Candidaceae</i>
Genus	: <i>Candida</i>
Spesies	: <i>Candida albicans</i>

(Byadrahally dalam Yowanda, 2015).

2.3.3 Mekanisme infeksi *C. albicans*

Tahap pertama dalam proses infeksi ke tubuh manusia adalah perlekatan (adhesi). Kemampuan melekat pada sel inang merupakan tahap penting dalam kolonisasi dan penyerangan (invasi) ke sel inang. Bagian pertama *C. albicans* yang berinteraksi dengan sel inang adalah dinding sel. Dinding sel *C. albicans* terdiri dari enam lapisan dari luar ke dalam adalah *fibrillar layer*, mannoprotein, β -glucan, β -glucan-chitin, mannoprotein dan membran plasma. Perlekatan lapisan dinding sel

dengan sel inang terjadi karena mekanisme kombinasi spesifik (interaksi antara ligand dan reseptor) dan non-spesifik (kutub elektrostatis dan ikatan *van der Waals*) yang kemudian menyebabkan serangan *C. albicans* ke berbagai jenis permukaan jaringan (Cotter dan Kavanagh dalam Kusumaningtyas, 2005). Interaksi sel *C. albicans* dengan sel inang (*cell-cell interaction*) juga melibatkan fisikomekanik, fisikokimia dan enzimatis materi mikroba serta interaksi mikro yang mengarah pada kolonisasi dan infeksi seperti perubahan medan magnet pada permukaan sel yang berinteraksi yang menyebabkan sel-sel saling melekat (Rajasingham dkk., 1989; Emerson dan Camesano dalam Kusumaningtyas, 2005).

Menurut Hostetter (1994) ada tiga macam interaksi yang mungkin terjadi antara sel *Candida* dan sel epitel inang yaitu interaksi protein-protein, interaksi *lectin-like*, dan interaksi yang belum diketahui. Interaksi protein-protein terjadi ketika pada permukaan *C. albicans* mengenali ligand protein atau peptida pada sel epitelium atau endotelium. Interaksi *lectin-like* adalah interaksi ketika protein pada permukaan *C. albicans* mengenali karbohidrat pada sel epitelium atau endotelium. Interaksi yang ketiga adalah ketika komponen *C. albicans* menyerang ligand permukaan epitelium atau endotelium tetapi komponen dan mekanismenya belum diketahui dengan pasti (Kennedy dalam Kusumaningtyas, 2005).

Mekanisme perlekatan sendiri sangat dipengaruhi oleh keadaan sel tempat dinding sel *C. albicans* melekat (misalnya sel epitelium), mekanisme invasi ke dalam mukosa dan sel epitelium serta reaksi adhesi tertentu yang mempengaruhi kolonisasi dan patogenitas *C. albicans* (Kennedy dalam Kusumaningtyas, 2005). Perlekatan dan kontak fisik antara *C. albicans* dan sel inang selanjutnya mengaktifasi *mitogen activated protein kinase* (Map-kinase). Protein kinase tersebut merupakan bagian dari jalur integritas yang diaktivasi oleh stress pada dinding sel (tempat *C. albicans* dan sel *host* melakukan kontak). Map-kinase juga diperlukan untuk pertumbuhan hifa *invasive* dan perkembangan biofilm (Kumamoto, 2005). Selain aktivasi Map-kinase pada *C. albicans*, dalam waktu yang hampir bersamaan terjadi pengaturan kembali aktin pada sel inang. Studi dengan menggunakan *human cell line* (HEp2) dilakukan

untuk mengetahui perubahan yang terjadi terutama pada aktin setelah terjadi kontak antara *C. albicans* dengan sel inang. Perubahan HEp2 dapat diperiksa dengan *confocal laser microscopy* (CLSM), *transmission* dan *scanning electron microscopy* (TEM dan SEM). Pemeriksaan dengan CLSM menunjukkan bahwa setelah *C. albicans* melekat pada sel HEp2 dan masuk, aktin dari HEp2 mengelilingi sel *C. albicans* yang dilanjutkan dengan pengaturan aktin kembali. Interaksi sel *C. albicans* dengan HEp2 juga terdeteksi dengan pemeriksaan menggunakan TEM dan SEM setelah 2-4 jam terjadinya kontak sel. Sel khamir dan hifa tampak menyerang permukaan dan masuk ke dalam sel. *C. albicans* yang kemudian mengeluarkan *actin-rearranging-Candida-secreted factor* (arcsf). Hasil pengamatan dengan CLSM menunjukkan bahwa sel HEp2 yang terekspose arcsf selain melakukan pengaturan aktin juga mengurangi kerusakan dan motilitas struktur membran sebagai akibat dari kontak sel (Safriati dalam Kusumaningtyas, 2005).

Tahap setelah perlekatan adalah invasi. Studi tentang tahapan invasi *C. albicans* dilakukan pada kultur jaringan epitel mulut manusia (*reconstituted human oral epithelium/rhoe*) untuk mengetahui penampakan *ultrastruktur oral candidiasis*. Adhesi, morfogenesis dan phospholipase ekstraselular juga diamati. Pemeriksaan dilakukan dengan menggunakan SEM dan TEM. Tempat aktivitas *C. albicans* selama invasi diperiksa dengan menggunakan metode sitokimia. Hasil menunjukkan bahwa selama 48 jam *C. albicans* menginvasi rhoe dan pemeriksaan histopatologi menunjukkan adanya ciri patologis akibat invasi hifa *C. albicans* melakukan penetrasi ke dalam permukaan epitelium terutama pada *cell junction* bersamaan dengan internalisasi sel khamir (Javatilake dalam Kusumaningtyas, 2005).

2.3.4 Penghindaran *C. albicans* dari sel-sel pertahanan tubuh.

Dinding sel merupakan bagian *C. albicans* yang terlibat interaksi paling awal dengan sel inang dan berpengaruh besar terhadap aktivasi sel-sel kekebalan inang. Aktivasi terjadi ketika terjadi kontak antara sel inang dengan dinding sel *C. albicans* sebagai akibat adanya antigen *C. albicans* pada dinding sel. Sel inang memberikan

respon selular dan antibiotik untuk mengurangi invasi dan mengeliminasi *C. albicans* dari jaringan yang terinfeksi. Sebaliknya *C. albicans* juga melakukan upaya penghindaran dari sistem kekebalan dengan menginduksi aktivitas sel T dan sel B supresif sehingga *C. albicans* lebih mudah menginvasi sel inang (Ponton dalam Kusumaningtyas, 2005).

Selain menginduksi sel T dan B supresif, *C. albicans* juga harus menghindari diri dari serangan makrofag. Penghindaran dari sel makrofag, berhubungan dengan fosforilasi MEK (*Methyl Ethyl Ketone*), ERK (*Extracellular Signal-Regulated Kinases*) $\frac{1}{2}$ dan P9ORSK selama fagositosis. Penurunan aktivasi pada jalur ini berhubungan dengan *over-ekspresi* jenis tertentu dari MEK fosfatase (MKP-1) sedangkan ketidakteraturan sinyal transduksi dari ERK $\frac{1}{2}$ atau P9ORSK oleh *C. albicans* berhubungan dengan pengurangan fosforilasi protein Bad terutama pada Ser-112 dan ketidaktersediaan Bcl-2 bebas, yang berakhir dengan apoptosis dari sel yang memakan *C. albicans* (Ibata-Ombeta dalam Kusumaningtyas, 2005).

Kemampuan menghindar *C. albicans* dari makrofag juga dapat dipengaruhi oleh keberadaan dari phospholipomannan (PLM), yaitu sebuah glikolipid unik dengan *phytoceramid moiety* yang diekspresikan pada permukaan dan dilepaskan oleh *C. albicans*. Penambahan PLM pada makrofag menyebabkan disregulasi dalam makrofag dan membuat *S. cerevisiae* dan *C. albicans* yang sensitif mampu bertahan hidup lebih lama dalam sel. Hasil tersebut membuktikan bahwa PLM pada *C. albicans* dapat mempertahankan diri dari makrofag (Ibata-Ombeta dalam Kusumaningtyas, 2005).

Selain itu, *C. albicans* untuk menghindari makrofag dapat dilakukan dengan melalui jalur *Nitric Oxide* (NO). Mekanisme ini berhubungan dengan interaksi CD40/CD40 ligand (L). Seperti diketahui interaksi CD40L dan CD40 diperlukan untuk respon imun selular yang normal seperti *T-cell mediated activation of monocytes/macrophage*, produksi sitokin proinflamasi dan ekstrasvasasi leukosit. Untuk mengetahui mekanisme *C. albicans* dalam menghindari makrofag melalui jalur

tersebut dilakukan penelitian oleh Netea dkk (2002) yang menggunakan mencit normal (CD40L+/+) sebagai kontrol dan mencit *knockout* (CD40L-/-). Pada awal infeksi, *C. albicans* dapat tumbuh dalam organ mencit CD40L+/+ maupun CD40L-/- namun pada infeksi lebih lanjut, *C. albicans* lebih banyak pada mencit CD40L-/- daripada mencit CD40L+/+. Puncak konsentrasi *TNF-alpha* plasma pada mencit CD40L-/- juga lebih rendah dibandingkan dengan mencit CD40L+/+. Pada mencit CD40L-/-, interaksi CD40L/CD40 yang diperlukan untuk menginduksi sintesa NO mengakibatkan terjadinya penurunan aktivitas *candidacidal* dari makrofag sehingga mencit menjadi rentan terhadap serangan *C. albicans* (Kusumaningtyas, 2005).

2.4 Respon Imun Seluler pada *C. albicans*

Tahap pertama dari respon imun terhadap spesies *Candida* adalah pengenalan dari serangan jamur melalui *pattern recognition receptors* (PRRs). Meskipun ada perbedaan cara pengenalan sistem imun terhadap *Candida species*, kerangka umumnya adalah sama dan melibatkan pengenalan dari *pathogen-associated molecular patterns* (PAMPs) oleh beberapa keluarga dari PRRs, termasuk *Toll-like reseptors* (TLRs), *C-type lectin reseptors* (CLRs), *NOD-like reseptors* (NLRs) dan *RIG-I-like reseptors* (RLRs). Pada dinding *C. albicans*, terdapat dua lapis yang dapat dibedakan: lapisan luar terutama terdiri dari *O- and N-linked glycoproteins* yang terdiri dari 80-90% *mannose*, sedangkan dinding sel bagian dalamnya berisi *skeletal polysacharides chitin β -1,3-glucan* dan *β -1,6-glucan*, yang memberi kekuatan serta bentuk pada sel. Disana terdapat struktur polisakarida, yang telah dilaporkan pada perbedaan antara sel ragi dan hifa, yang mewakili PAMPs utama yang dikenali oleh PRRs *host* saat bertemu dengan fungi (Netea dkk., 2015).

Pada sel monosit PRRs yang dimiliki merupakan TLR ([https://eprints.uns.ac.id/19293/2/BAB I.pdf](https://eprints.uns.ac.id/19293/2/BAB_I.pdf)). TLR merupakan kelas mayor PRRs yang berperan penting dalam respon imun terhadap jamur. Dua subtype TLR yang berperan penting dalam proses ini antara lain TLR2 dan TLR4. TLR2 berperan penting untuk mengenali struktur zimosan, fosfolipomanan serta

glukoronoksilomanan (GXM) pada dinding sel jamur. TLR4 berperan penting untuk mengenali struktur glukoronoksilomanan dan *O-linked mannan*. *Dectin-1* akan mengenali struktur β -glucans sedangkan ketiga bentuk PRRs yang tersekresi (SP-A, SP-D dan MBL) akan mengenali gugus karbohidrat pada permukaan jamur. Pengenalan antara PRRs dengan struktur PAMPs akan menginduksi berbagai proses imun dalam rangka mengeliminasi patogen. PAMPs melalui *Dectin-1*, TLR2, dan TLR4 akan meningkatkan pembentukan sitokin proinflamatori *tumor necrotic factor- α* (TNF- α). Pengenalan PAMPs melalui SP-A dan SP-D berperan penting untuk meningkatkan kemotaksis, fagositosis, *oxidative killing*, serta aglutinasi (Ahsani, 2014).

2.5 Isoprinosin (Inosipleks)

Inosipleks atau yang biasa dikenal dengan isoprinosin (ISO) merupakan bahan sintesis yang mempunyai efek antivirus dan imunomodulator (Karnen dalam Djajakusumah, 2010). ISO memiliki nama generik yaitu inosine pranobex-BAN dan inosiplex. ISO memiliki efek imunomodulator pada berbagai studi preklinik dan klinik (Gunawan, 2011). Selain itu ISO dapat meningkatkan fagositosis terhadap partikel ragi oleh monosit darah (Fudenberg dan Whitten, 1984).

Menurut Union of Arab Pharmacists, ISO dapat meningkatkan mekanisme pertahanan tubuh, sistem kekebalan tubuh, agen infeksi dan infeksi lainnya (www.mupeg.com/sites/default/files/inserts/ISOPRINOSINE.pdf). Dimana obat ini dapat meningkatkan fungsi sel NK (*Natural Killer*) dan fungsi sel T serta monosit. Obat ini disetujui penggunaannya untuk berbagai penyakit imunodefisiensi di beberapa negara Eropa. Berbagai derivat sintetiknya sedang dalam penyelidikan untuk AIDS dan berbagai neoplasma. Obat ini dilaporkan juga mengurangi resiko infeksi pada HIV tahap lanjut (Gunawan, 2011). ISO termasuk dalam obat golongan imunomodulator yang bekerja dengan cara imunostimulasi. Imunostimulasi yang

disebut juga imunopotensiasi adalah cara memperbaiki fungsi sistem imun dengan menggunakan bahan yang merangsang sistem tersebut (Handayani, 2010).

2.5.1 Mekanisme Kerja Isoprinosin (ISO)

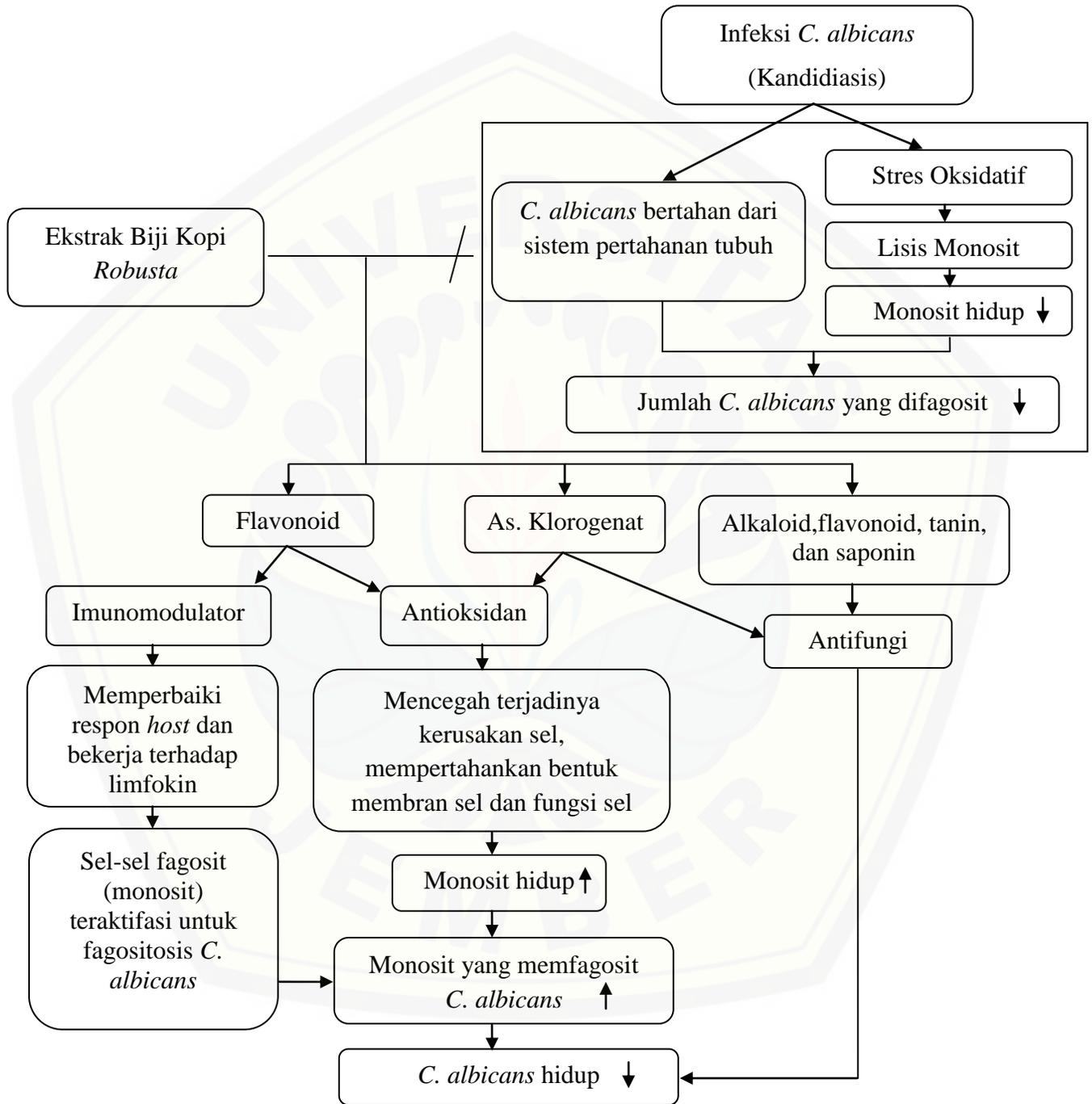
Isoprinosin berefek merestorasi *cell mediated immunity* yang terganggu serta meningkatkan respon sistem imun humoral. Selain itu, ISO diduga pula membantu produksi IL-2 yang berperan pada diferensiasi limfosit, makrofag, dan peningkatan fungsi sel NK. Sebagai imunostimulator, ISO dapat meningkatkan sitotoksitas sel NK serta aktivitas sel T dan monosit (Karnen dalam Djajakusumah, 2010).

2.5.2 Efek Samping Isoprinosin

Efek samping yang kadang-kadang timbul yaitu terjadi peningkatan asam urat plasma (Karnen dalam Djajakusumah, 2010). Sejumlah penyakit telah dikaitkan baik dengan kadar asam urat tinggi maupun rendah. Dimana peningkatan kadar asam urat berkontribusi terhadap terjadinya artritis gout (dimana kristal urat menumpuk dan menimbulkan peradangan pada sendi) dan batu ginjal. Selain itu, hipertensi, miokard infark, gagal jantung kongestif, stroke, dan penyakit ginjal semuanya berkorelasi dengan kadar asam urat serum yang tinggi (Cipriani dalam Trisnadewi, 2014).

2.6 Kerangka Konsep

2.6.1 Kerangka Konsep



Keterangan :

—/— = Menghambat

□ = Respon normal tubuh terhadap *C. albicans*

→ = Menyebabkan

2.6.2 Penjelasan Kerangka Konsep

Infeksi yang disebabkan oleh jamur *C. albicans* disebut dengan kandidiasis. Kandidiasis ini tidak hanya terjadi pada mukosa tetapi bisa juga terjadi pada aliran darah yang disebut dengan kandidemia. Disaat infeksi *C. albicans* terjadi, maka respon imun dalam tubuh yang pertama kali keluar merupakan sistem imun non spesifik. Sistem imun non spesifik yang berada di dalam aliran darah salah satunya adalah sel monosit yang memiliki kemampuan fagositosis. Ketika terjadi infeksi *C. albicans* (kandidiasis) maka monosit akan memfagosit *C. albicans*. Tetapi karena monosit yang memfagosit *C. albicans* akan mengalami lisis yang diakibatkan oleh adanya stres oksidatif maka jumlah monosit yang hidup akan menurun. Selain itu, *C. albicans* mampu bertahan terhadap sistem pertahanan tubuh (monosit). Sehingga jumlah *C. albicans* yang difagosit oleh monosit akan menurun.

Penurunan jumlah *C. albicans* yang difagosit oleh monosit tidak akan terjadi jika dilakukan pemberian ekstrak biji kopi robusta. Disaat pemberian ekstrak biji kopi robusta, yang didalamnya memiliki kandungan kimia yang mana dapat berpengaruh terhadap monosit maupun *C. albicans*. Kandungan kimia yang ada di dalam ekstrak biji kopi yaitu diantaranya flavonoid, asam klorogenat, alkaloid, tanin, dan saponin.

Asam klorogenat memiliki manfaat sebagai antioksidan dan antifungi. Alkaloid, tanin, dan saponin hanya memiliki manfaat sebagai antifungi saja. Sedangkan flavonoid memiliki manfaat sebagai imunomodulator, antifungi, dan antioksidan. Antioksidan akan berpengaruh terhadap kekuatan sel monosit untuk bertahan hidup, mencegah terjadinya kerusakan sel, mempertahankan bentuk membran sel dan fungsi sel sehingga jumlah monosit yang hidup tinggi. Disaat jumlah monosit yang hidup tinggi, maka monosit yang akan memfagosit *C. albicans* akan meningkat sehingga jumlah *C. albicans* yang hidup akan menurun. Asam klorogenat, alkaloid, tanin, saponin, dan flavonoid dapat sebagai antifungi yang berpengaruh langsung terhadap *C. albicans* sehingga jumlah *C. albicans* yang hidup akan menurun. Senyawa antifungi memiliki mekanisme kerja dengan cara

menetralisasi enzim yang terkait dalam invasi jamur, merusak membran sel jamur, menghambat sistem enzim jamur sehingga mengganggu terbentuknya ujung hifa dan mempengaruhi sintesis asam nukleat dan protein. Kandungan kimia lainnya yang berpengaruh terhadap *C. albicans* yaitu flavonoid sebagai imunomodulator bekerja dengan cara memperbaiki respon *host* yang kemudian mengaktifasi monosit yang berfungsi melakukan fagositosis terhadap *C. albicans*. Selain memperbaiki respon *host*, flavonoid juga mempengaruhi limfokin yang dihasilkan oleh sel T sehingga akan merangsang sel-sel fagosit untuk melakukan respon fagositosis. Sehingga monosit yang memfagosit *C. albicans* akan meningkat, maka jumlah *C. albicans* yang hidup akan menurun.

2.7 Hipotesis

Hipotesis penelitian ini adalah bahwa ekstrak biji kopi robusta dapat meningkatkan daya fagositosis monosit terhadap *C. albicans*.

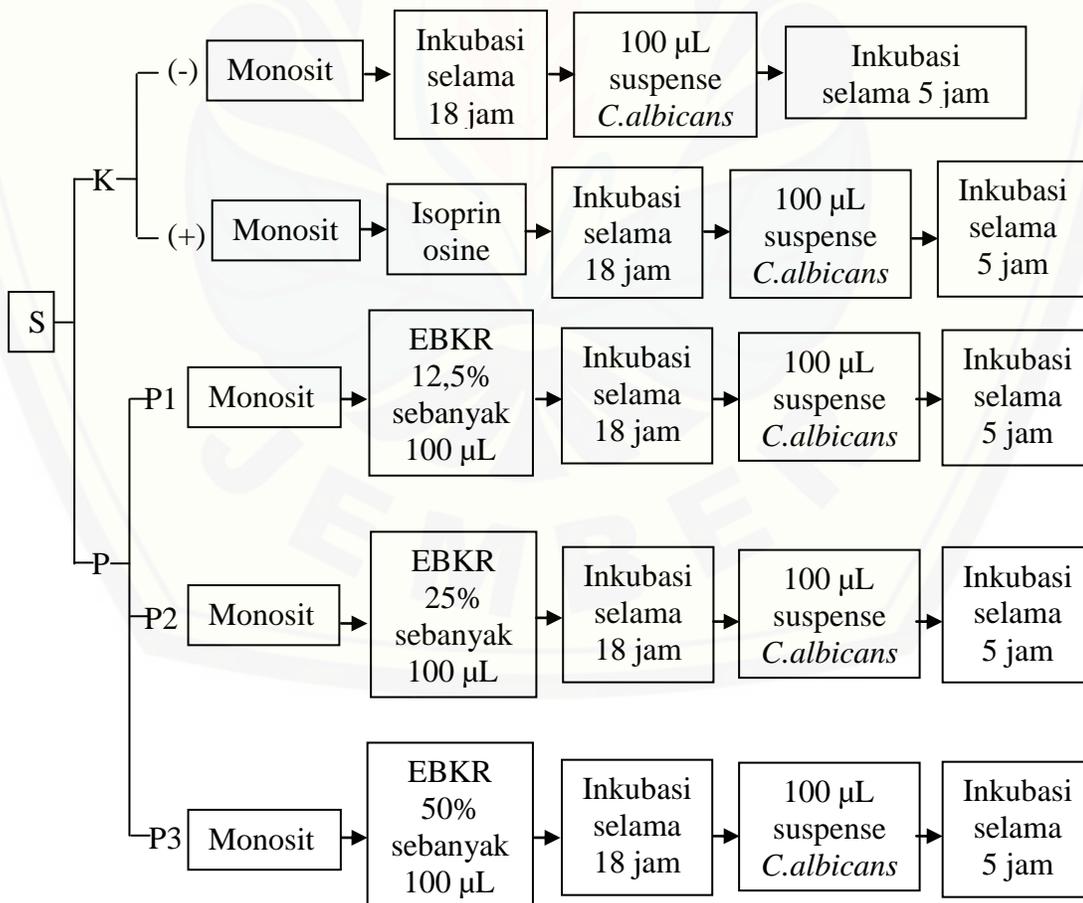
BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

3.1.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental laboratoris secara *in vitro*. Dengan *post-test only control group design* untuk mengetahui apakah ada perbedaan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan (Notoatmodjo, 2005).

3.1.2 Rancangan Penelitian



Gambar 3.1 Bagan Rancangan Penelitian.

Keterangan :

S	: Sampel
P	: Perlakuan
K	: Kontrol
(-)	: Kontrol Negatif
(+)	: Kontrol Positif
EBKR	: Ekstrak Biji Kopi Robusta

Masing-masing perlakuan dilakukan inkubasi di dalam *incubator shaker* selama 18 jam pada suhu 37°C dalam 5% CO₂ (*Gas Generating Kit*). Selanjutnya, ditambahkan 100 µL suspense *C. albicans* pada masing-masing well kemudian dilakukan inkubasi lagi di dalam *incubator shaker* selama 5 jam dalam suhu 37 °C dalam 5% CO₂ (*Gas Generating Kit*). Konsentrasi ekstrak biji kopi robusta yang digunakan sebesar 12,5%, 25%, dan 50%.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

3.2.1. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari 2016.

3.2.2. Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Farmasi dan Laboratorium *bioscience* Rumah Sakit Gigi dan Mulut Universitas Jember.

3.3 Identifikasi Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini yaitu ekstrak biji kopi robusta dengan konsentrasi 12,5%, 25%, dan 50%.

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini yaitu persentase sel monosit yang memfagosit *C. albicans*.

3.3.3 Variabel Terkendali

Variabel terkendali pada penelitian ini yaitu kriteria sampel penelitian, isolasi sel monosit, media pembiakan *C. albicans*, dan teknik penghitungan jumlah sel monosit yang memfagosit *C. albicans*.

3.4 Definisi Operasional

3.4.1 Ekstrak Biji Kopi Robusta

Ekstrak biji kopi robusta merupakan ekstrak dengan konsentrasi 12,5%, 25%, dan 50% yang dibuat dari biji kopi robusta segar yang telah dihilangkan kulit bijinya yang kemudian diambil zat-zat aktifnya lalu dipekatkan.

3.4.2 Monosit

Monosit merupakan sel darah putih yang paling besar. Intinya berbentuk lonjong atau mirip ginjal tetapi tanpa lobus. Sitoplasma yang cukup banyak terpulas biru pucat dan sering mengandung granula merah jambu (Underwood, 2000). Sel monosit diambil dari darah vena perifer orang dewasa sehat (tidak memiliki kelainan sistemik). Isolasi monosit dilakukan dengan menggunakan teknik *gradient density* dengan *single ficoll hypaque no.M9000* (Modifikasi oleh Asti, 2015).

3.4.3 *Candida albicans*

C. albicans merupakan organisme komensalisme yang sering ditemukan di rongga mulut (Salerno dkk., 2011). Jamur *C. albicans* akan berubah patogen ketika jumlahnya berlebih di dalam tubuh (Alfiah dkk., 2015). *Candida* memiliki 3 bentuk morfologis utama yaitu berupa sel ragi (blastospora) yang memiliki diameter 1,5-5 μm , klamidospora berukuran lebih besar (7-17 μm), dan bentuk hifa (pseudomiselia) (Behrman dkk., 1999). *C. albicans* dibiakkan dalam media SDB (*Sabouraud Dextrose Broth*).

3.4.4 Fagositosis sel monosit

Fagositosis adalah proses menelan mikroorganisme atau sel lain dan benda asing oleh sel fagosit (Dorland, 1998). Sel monosit melakukan proses fagositosis dengan cara mendekati agen asing yang akan difagosit (Price dalam Asti, 2015). Aktivitas fagositosis didasarkan pada persentase sel monosit aktif dalam 100 sel monosit pada masing-masing kelompok. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop *inverted* dan diamati per lapang pandang sehingga dapat diketahui jumlah sel monosit aktif dalam 100 sel monosit, kemudian menghitung persentase menggunakan rumus :

$$\text{Aktivitas fagositosis monosit (\%)} = \frac{\text{Jumlah sel monosit aktif}}{100 \text{ sel monosit}} \times 100\%$$

(Pangestika dalam Asti, 2015).

3.5 Sampel Penelitian

3.5.1 Kriteria Sampel

a. Kriteria sampel biji kopi robusta

Biji kopi robusta yang digunakan dalam penelitian ini merupakan biji kopi robusta yang didapatkan dari petani yang berada di daerah perkebunan Durjo Kabupaten Jember Jawa Timur.

b. Kriteria sampel monosit

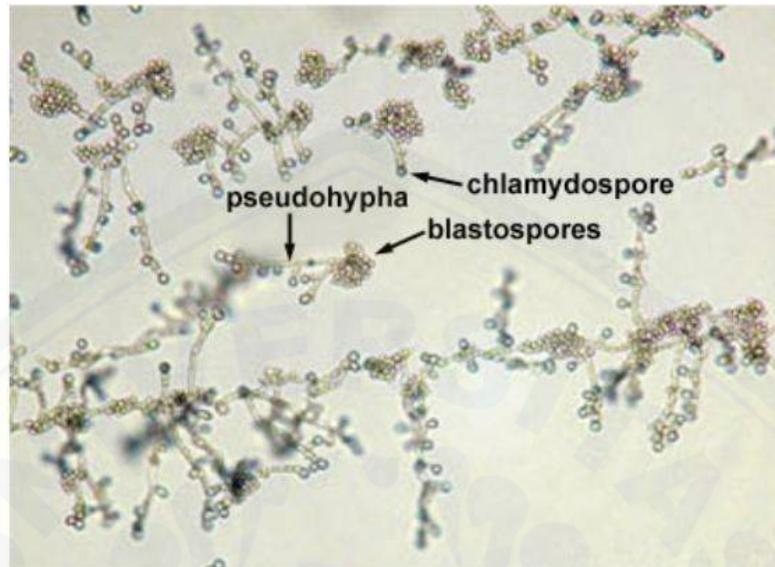
Monosit yang telah diisolasi dari darah manusia berdasarkan kriteria :

Inklusi : Dewasa sehat, laki-laki, dan tidak memiliki penyakit sistemik.

Eksklusi : Merokok dan mengonsumsi alkohol.

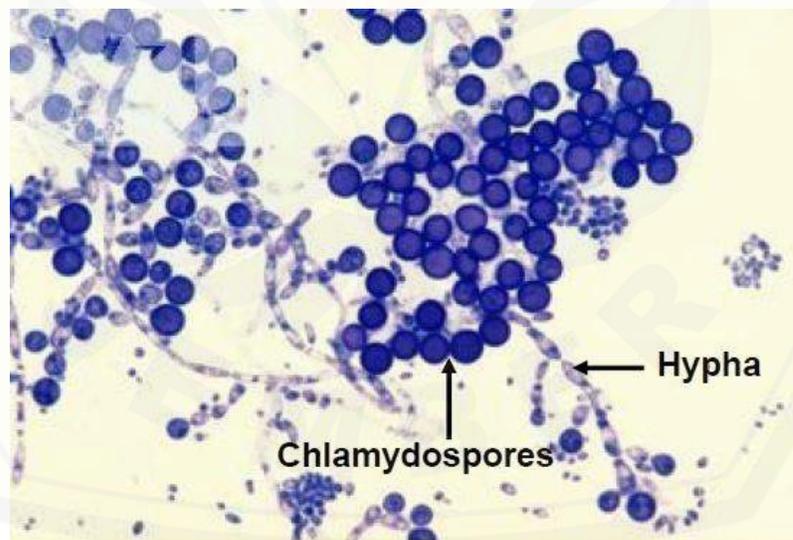
c. Kriteria sampel *Candida albicans*

C. albicans yang digunakan merupakan *C. albicans* ATCC 10231 yang didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah dan telah diidentifikasi di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.



Gambar 3.2 *C. albicans* secara mikroskopis

(https://www.tcd.ie/Biology_Teaching_Centre/assets/pdf/by2205/by2205-webgalleries2011/by2205-gallery1/candida.pdf).



Gambar 3.3 *C. albicans* dengan menggunakan pewarnaan Gram

(https://www.tcd.ie/Biology_Teaching_Centre/assets/pdf/by2205/by2205-webgalleries2011/by2205-gallery1/candida.pdf).

3.5.2 Besar Sampel

Besar sampel pada penelitian ini akan menggunakan rumus :

$$n = \frac{Z^2 \sigma^2}{d^2}$$

Keterangan :

- n = Besar sampel minimum.
- Z = Nilai Z pada tingkat kesalahan tertentu (α);
jika $\alpha = 0.05$, maka nilai $Z = 1.96$.
- σ = Standart deviasi penelitian sejenis.
- d = Kesalahan yang masih ditoleransi, diasumsikan $d = \sigma$

(Daniel, 2005).

Maka hasil perhitungan besar sampel adalah :

$$n = \frac{(1,96)^2 \sigma^2}{d^2}$$

$$n = (1,96)^2$$

$$n = 3,84 \approx 4$$

Pada penelitian ini besarnya sampel yang akan digunakan sebanyak 4 sampel pada masing-masing kelompok. Terdapat 1 kelompok kontrol negatif, 1 kelompok kontrol positif, dan 3 kelompok perlakuan yaitu :

- a. Kelompok Kontrol negatif (K-), menggunakan 4 sampel monosit tanpa perlakuan.
- b. Kelompok Kontrol positif (K+), menggunakan 4 sampel monosit yang diberi obat isoprinosine.
- c. Kelompok Perlakuan 1 (P1), menggunakan 4 sampel monosit yang diberikan ekstrak biji kopi robusta sebesar 12,5% sebanyak 100 μ L.
- d. Kelompok Perlakuan 2 (P2), menggunakan 4 sampel monosit yang diberikan ekstrak biji kopi robusta sebesar 25% sebanyak 100 μ L.
- e. Kelompok Perlakuan 3 (P3), menggunakan 4 sampel monosit yang diberikan ekstrak biji kopi robusta sebesar 50% sebanyak 100 μ L.

3.6 Alat dan Bahan Penelitian

3.6.1 Alat Penelitian

- a. *Autoclave* (ALP).
- b. *Incubator* (Lab Tech).
- c. Oven (Binder).
- d. *Rotary evaporator* (Heildomh).
- e. *Centrifuge 5810R* (Eppendorf).
- f. *Laminar flow* (Dwyer).
- g. Timbangan (Boeco Germany).
- h. *Vortex* (Labinco).
- i. Mikroskop *inverted* (Olympus).
- j. Mikroskop cahaya (Human).
- k. Corong Gelas.
- l. Toples Kaca.
- m. Sendok.
- n. Mikropipet (Human).
- o. *Tourniquet* (One med).
- p. *Densichek*.

3.6.2 Bahan Penelitian

- a. *Blue tip* dan *Yellow tip*.
- b. Tabung *falcon* (Corning).
- c. *Coverslip* (Menzer Glaser).
- d. *Object glass* (Citoplus).
- e. *Microplate/Well* (Costar).
- f. Tabung heparin (BD Vacutainert).
- g. *Syringe* (Terumo syringe).
- h. *Syringe filter* (Sartorius Stedim).
- i. Aluminium foil (Klin Pak).

- j. Kertas saring (Whatman).
- k. *Handscoon* dan Masker (Everglove).
- l. Darah Vena Perifer.
- m. EBKR/Ekstrak Biji Kopi Robusta.
- n. *Candida albicans*.
- o. *Aquadest Steril* (Otsuka).
- p. Alkohol 70% (OneMed).
- q. Etanol 96% (Makmur Sejati).
- r. RPMI/*Roswell Park Memorial Institute* (Gibco).
- s. Media Complete M199 (Gibco).
- t. *Fungizone* (Gibco) dan Penstrep (Sigma).
- u. HBSS/*Hank's Balanced Salt Solution* (Gibco).
- v. *Ficoll-Hypaque* no.M9000 dan SDB/*Sabouraud Dextrose Broth*.
- w. NaCl 0,9% (Otsuka).
- x. Isoprinosin.
- y. *Methanol Absolute* dan Larutan Entellan (KGaA).
- z. Giemsa dan Minyak Emersi.

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Tahap Persiapan

- a. Mengurus surat ijin kelayakan etik (*ethical clearance*).

Mengirim permohonan *ethical clearance* ke komisi etik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada. Setelah *Ethical clearance* selesai, kemudian dilakukan penelitian.

- b. Mempersiapkan alat yang akan digunakan untuk penelitian.

Alat-alat yang terbuat dari kaca disterilkan selama 15 menit dalam oven dengan suhu 121°C. Sedangkan alat yang berbahan plastik dicuci dan dikeringkan, yang kemudian diulas dengan alkohol 70% (Asti, 2015).

c. Membuat ekstrak biji kopi robusta.

Pembuatan ekstrak biji kopi robusta dilakukan dengan menggunakan teknik maserasi. Biji kopi robusta digiling dengan alat penggilingan kopi sampai menjadi bubuk halus yang besarnya 40 mesh. Kemudian bubuk kopi robusta ditimbang dengan menggunakan neraca timbangan sampai sebanyak 250 gram. Setelah itu bubuk kopi sebesar 250 gram tersebut dimasukkan ke dalam toples kaca, kemudian ditambahkan dengan pelarut etanol 96 % sebanyak 1000 ml agar zat aktif yang berada di dalam biji kopi robusta dapat tertarik oleh pelarut karena sama-sama bersifat polar. Bubuk kopi dan etanol yang ada di dalam toples kaca diaduk dengan menggunakan sendok sampai homogen. Kemudian toples kaca ditutup dengan menggunakan aluminium foil dan tutup toples kaca tersebut. Kemudian didiamkan sampai 2x24 jam. Pengadukan dilakukan sebanyak 2 kali dalam 24 jam. Setelah itu, dilakukan penyaringan dengan menggunakan kertas saring *whatman*. Setelah selesai disaring, kemudian dilakukan pemekatan dengan menggunakan *rotary evaporator* dengan temperatur 30-40°C dan putaran 90rpm. Sehingga diperoleh sediaan pekat ekstrak biji kopi robusta 100% sebesar 8,3 ml (Modifikasi oleh Asti, 2015; Dewi, 2013).

Untuk membuat sediaan ekstrak 50% dilakukan dengan mengambil 1 ml sediaan 100% yang kemudian dicampur dengan 1 ml *aquades steril*. Sediaan ekstrak konsentrasi 25% dibuat dengan cara mengambil 1 ml sediaan 50% yang kemudian dicampur dengan 1 ml *aquades steril*. Sediaan ekstrak 12,5% dibuat dengan cara mengambil 1 ml sediaan 25% yang kemudian dicampur dengan 1 ml *aquades steril* (Murtafiah, 2012).

d. Persiapan pembiakan *Candida albicans*.

C. albicans dibiakkan dalam media SDB (*Sabouraud Dextrose Broth*) dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C.

e. Pembuatan suspensi *Candida albicans*.

Koloni *C. albicans* dari hasil kultur diambil lalu dimasukkan ke dalam tabung berisi NaCl 0,9% dan disesuaikan kekeruhannya dengan standart Mc Farland 0,7 (Modifikasi oleh Maharani, 2012).

f. Pengambilan darah pada subjek penelitian (manusia).

Subjek penelitian mengisi surat persetujuan (*informed consent*) terlebih dahulu, kemudian dilakukan pengambilan darah. Pengambilan darah sebanyak 12 cc dari darah vena perifer orang sehat (tidak mempunyai penyakit sistemik) dengan menggunakan *syringe*. Setelah pengambilan, darah segera dimasukkan dalam tabung heparin secara perlahan-lahan dengan melewati pada dinding tabung agar tidak berbuih kemudian tabung digoyangkan agar tidak menggumpal. Pengambilan darah ini tepatnya di vena cubiti dengan cara :

1. *Tourniquet* dipasang pada lengan atas.
2. Desinfeksi kulit dengan alkohol 70%.
3. Dikeringkan dengan kapas atau kasa steril.
4. Vena difiksasi dengan menegangkan kulit pada bagian distal dari vena tersebut dengan pertolongan ibu jari.
5. Dengan jarum menghadap keatas jarum ditusukkan pelan-pelan. Sampai ujung jarum masuk ke dalam vena.
6. Saat darah mulai memasuki jarum kemudian *tourniquet* dilepaskan sebelum menarik jarum.
7. Setelah darah diambil, sepotong kapas steril ditempatkan pada tempat penusukan lalu jarumnya dikeluarkan pelan-pelan.
8. Subjek diminta untuk meneruskan menekan potongan kapas tadi selama 1-2 menit sambil mengangkat lengannya ke atas.

(Sulistiyani dkk., 2012).

g. Preparasi isolat sel monosit.

Teknik isolasi sel monosit ini menggunakan teknik *gradient density* (Purwanto, 2009) yaitu dengan cara :

1. Sampel darah dari tabung heparin dimasukkan ke dalam tabung *falcon* secara perlahan-lahan dengan melewati pada dinding tabung agar tidak berbuih menggunakan mikropipet dan *blue tip*.
2. Sentrifugasi dengan kecepatan 600 rpm selama 10 menit pada suhu 37°C.
3. Kemudian akan terbentuk 2 lapisan, lapisan plasma dipisahkan dengan menggunakan mikropipet sehingga hanya tersisa lapisan darah.
4. Darah diencerkan dengan menambahkan HBSS (*Hank's Balanced Salt Solution*) dengan perbandingan 1 : 2.
5. Kemudian dilakukan *pipetting* dengan hati-hati hingga homogen.
6. Isolasi monosit dilakukan menggunakan teknik *gradient density* dengan *single ficoll hypaque no.M9000*. Siapkan *ficoll hypaque* dalam tabung *falcon* sebanyak 3 cc.
7. Menyiapkan 3 cc *ficoll* dalam tabung *falcon*.
8. Melapiskan darah pada *ficoll* dengan ujung pipet mikro menempel pada dinding tabung dan dialirkan perlahan dengan sudut 45°, untuk mencegah pecahnya *ficoll*.
9. Kemudian sentrifus dengan kecepatan 1400 rpm selama 30 menit pada suhu 37°C, sehingga terbentuk empat lapisan yaitu : a) sisa plasma, b) sel-sel mononuklear (monosit dan limfosit), c) *ficoll hypaque*, d) RBC (*Red Blood Cell*) dan sel-sel polinuklear.
10. Lapisan sel-sel mononuklear diambil dengan mikropipet, kemudian diletakkan pada tabung *falcon*.
11. Setelah itu dicuci lagi dengan HBSS 1-2 ml dan dilakukan *pipetting* dan disentrifus dengan kecepatan 600 rpm selama 10 menit pada suhu 37°C.

12. Sehingga didapatkan dua lapisan, yaitu lapisan supernatant (PBS dan sisa plasma) pada bagian atas dan monosit pada bagian bawah. Supernatant dibuang dan disisakan lapisan monosit.
 13. Melakukan resuspensi dengan 1500 μL HBSS dan *pipetting*.
 14. Menyiapkan *microplate* 20 well yang dasarnya telah diberi *coverslip*.
 15. Dilakukan pemberian sebanyak 100 μL monosit pada setiap well, kemudian diinkubasi selama 20 menit dengan suhu 37°C agar monosit mengendap pada *coverslip*.
 16. Tambahkan 1 ml medium RPMI (*Roswell Park Memorial Institute*), inkubasi selama 40 menit dengan suhu 37°C (untuk melekat sempurna).
 17. Dilakukan pengamatan di mikroskop *inverted* untuk melihat perlekatan monosit dan ada tidaknya kontaminasi.
 18. Medium inkubasi yang mengandung monosit dibuang dan monosit dibilas 3x dengan medium RPMI untuk menghilangkan kontaminasi.
 19. Diresuspensi dengan medium M199 1 ml/well.
 20. Pada setiap well kemudian ditambahkan penstrep 5 μL dan *fungizone* 20 μL , lalu melakukan *pipetting* secara hati-hati.
- (Modifikasi oleh Asti, 2015 dan Wahyukundari, 2013).

3.7.2 Tahap Perlakuan

a. Inkubasi EBKR (Ekstrak Biji Kopi Robusta)

Suspensi isolat monosit, masing-masing dibagi menjadi 5 kelompok uji (masing-masing terdiri dari 4 well) yaitu :

- 1) K- = Tidak diinkubasi dengan EBKR.
- 2) K+ = Diinkubasi dengan isoprinosine sebanyak 100 μL .
- 3) P1 = Diinkubasi EBKR 12,5% sebanyak 100 μL .
- 4) P2 = Diinkubasi EBKR 25% sebanyak 100 μL .
- 5) P3 = Diinkubasi EBKR 50% sebanyak 100 μL .

Inkubasi dilakukan dalam *incubator shaker* dengan 5% CO₂ pada suhu 37°C selama 18 jam.

b. Pemaparan *Candida albicans*.

Isolat monosit kemudian dipapar dengan suspensi *C. albicans* sebanyak 100 µL/well, kemudian diinkubasi dalam *incubator shaker* dengan 5% CO₂ pada suhu 37°C selama 5 jam.

c. Pengamatan daya sel monosit memfagosit *Candida albicans*.

Pengamatan ini dilakukan pada setiap kelompok sampel dengan menggunakan mikroskop *inverted*.

d. Pembuatan preparat monosit.

Isolat monosit yang telah dipapar *C. albicans* dicuci 2x dengan menggunakan HBSS. Kemudian difiksasi dengan *methanol absolute* selama 1 menit, setelah itu dikeringkan. Setelah kering, dilakukan pengecatan dengan Giemsa 20% selama 4 menit. Lalu dilakukan pencucian di bawah air mengalir secara perlahan sampai bersih. Kemudian buang air sisa pencucian tersebut. Setelah itu *coverslip* diambil dari dalam well, lalu ditiriskan dan diangin-anginkan. Kemudian *dimounting* dengan menggunakan larutan entellan pada *object glass* dan diberi tanda sesuai kelompoknya. Setelah itu dilakukan pengamatan aktivitas fagositosis di bawah mikroskop cahaya pembesaran 1000x (sebelum pengamatan sampel diberi minyak emersi dahulu).

e. Persentase sel monosit yang memfagosit *Candida albicans*.

Dilakukan pengamatan preparat di bawah mikroskop *inverted* dengan perbesaran 400x. Kemudian dilakukan penghitungan jumlah sel monosit yang memfagosit *Candida albicans*. Penghitungan ini dilakukan dengan cara memakai rumus :

$$\text{Aktivitas fagositosis monosit (\%)} = \frac{\text{Jumlah sel monosit aktif}}{100 \text{ sel monosit}} \times 100\%$$

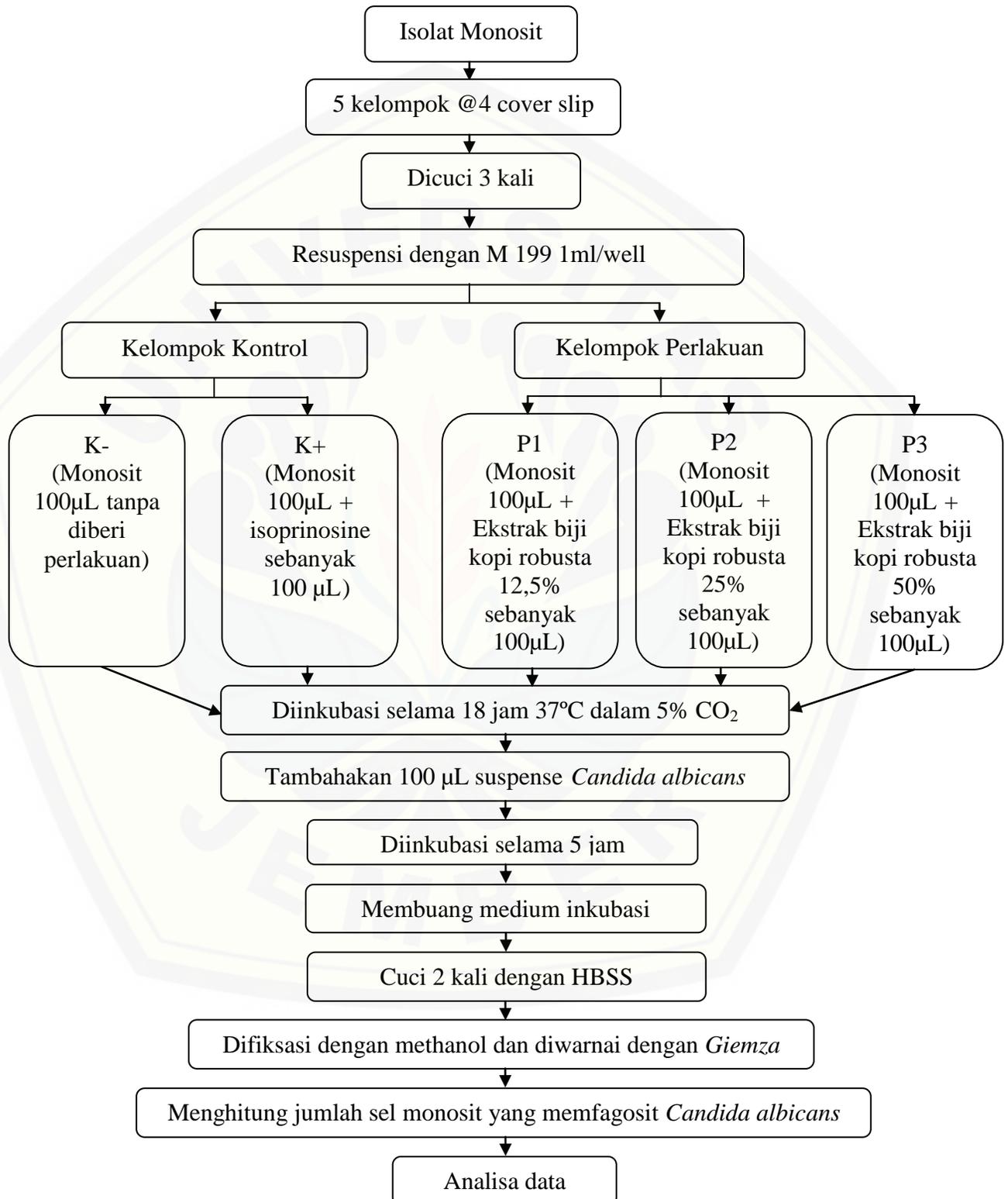
(Pangestika dalam Asti, 2015).

3.8 Analisis Data

Data hasil penelitian dianalisis dengan uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* dan uji homogenitas dengan *Levene Test*. Data berdistribusi normal dan homogen, kemudian dilanjutkan dengan uji *One Way Anova* untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan bermakna. Hasilnya terdapat perbedaan bermakna sehingga dilanjutkan dengan uji LSD (*Least Significance Difference*).



3.9 Alur Penelitian



BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak biji kopi robusta dapat meningkatkan daya fagositosis sel monosit terhadap *C. albicans*, dimana konsentrasi yang paling efektif adalah 25%.

5.2 Saran

- a. Perlu dilakukan pengujian lebih lanjut mengenai aplikasi ekstrak biji kopi robusta sebagai obat alternatif pada kandidiasis.
- b. Perlu dilakukan penelitian tentang pengaruh ekstrak biji kopi robusta terhadap daya fagositosis sel monosit/makrofag terhadap *C. albicans* secara *in vivo*.
- c. Perlu dilakukan penelitian tentang pengaruh ekstrak biji kopi robusta terhadap sel-sel imun yang lain.
- d. Dalam terapi kandidiasis, selain menggunakan obat antijamur sebaiknya ditambahkan obat imunomodulator.
- e. Bagi penikmat kopi, sebaiknya minum kopi robusta tidak boleh berlebihan.

DAFTAR PUSTAKA

- AAK. 2002. *Budidaya Tanaman Kopi*. Yogyakarta: Kanisius.
- Ahsani, D. N. 2014. Respon Imun Pada Infeksi Jamur. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*. Vol. 6 (2): 55-66.
- Alfiah, R. R., Khotimah, S., dan Turnip, M. 2015. Efektivitas Ekstrak Metanol Daun Sembung Rambat (*Mikania micrantha Kunth*) Terhadap Pertumbuhan Jamur *Candida albicans*. *Jurnal Protobiont*. Vol. 4 (1): 52-57.
- Amiliyah, R., Sumono, A., dan Hidayati, L. 2015. Deformasi Plastik Nilon Termoplastik Setelah Direndam Dalam Ekstrak Biji Kopi Robusta. *Jurnal Pustaka Kesehatan*. Vol. 3 (1): 117-121.
- Asti, S. I. P. 2015. "Pengaruh Ekstrak Biji Kopi Robusta (*Coffea robusta*) Terhadap Aktivitas Fagositosis Sel Monosit". Skripsi. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Azzahra, H., Pujiastuti, P., dan Purwanto. 2014. Potensi Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana L.*) Buatan Pabrik Terhadap Peningkatan Aktivitas Mikrobisidal Sel Neutrofil yang Dipapar *Streptococcus mutans*. *Jurnal Pustaka Kesehatan*. Vol. 2 (1): 161-166.
- Bae, G. Y., Lee, H. W., Chang, S. E., Moon, K. C., Lee, M. W., Choi, J. H., dan Koh, J. K. 2005. Clinicopathologic Review of 19 Patients with Systemic *Candidiasis* with Skin Lesions. *International Journal of Dermatology*. Vol. 44 (7): 550-555.
- Baratawidjaja, K. G. dan Rengganis, I. 2014. *Imunologi Dasar*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Behrman, Kliegman, dan Arvin. 1999. *Ilmu Kesehatan Anak*. Ed.15. Jakarta: EGC.
- Brzozowski, Zwolinska, Konturek P. C., Kwiecien, Drozdowicz, Konturek S. J., Stachura, Budak, Bogdal, Pawlik, dan Hahn. 2005. Influence of Gastric Colonization with *Candida albicans* on Ulcer Healing in Rats: Effect of Ranitidine, Aspirin and Probiotic Therapy. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*. Vol. 40 (3): 286-296.
- Daniel, W. W. 2005. *Biostatistics: A Foundation for Analysis in the Health Sciences*. Eighth Edition. Georgia Wiley.

- Dewi, I. L. 2013. "Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol Daun Salam (*Eugenia Polyantha*) Terhadap Tikus Galur Wistar yang Diinduksi Alostara". Makalah. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Djajakusumah, T. S. 2010. "The Role of Immunomodulator in the Treatment of Sexually Transmitted Infections". Makalah. Bandung: Fakultas Kedokteran Universitas Padjajaran.
- Djunaedy, A. 2008. Aplikasi Fungisida Sistemik dan Pemanfaatan Mikoriza dalam Rangka Pengendalian Patogen Tular Tanah pada Tanaman Kedelai (*Glycine max L.*). *Jurnal Embryo*. ISSN 0216-0188. Vol. 5 (2): 149-157.
- Dorland. 1998. *Kamus Saku Kedokteran Dorland*. Jakarta: EGC.
- Ermawati, Tantin. 2013. "Efek Ekstrak Biji Kopi Robusta (*Coffea robusta*) Terhadap Kemampuan Adhesi dan Viabilitas Neutrofil". Penelitian Dosen Pemula. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Eroschenko, V. P. 2010. *Atlas Histologi diFiore: dengan Korelasi Fungsional*. Jakarta: EGC.
- Ferrazzano, Amato, Ingenito, Zarelli, Pinto dan Pollio. 2011. Plant Polyphenol and Their Anti-Cariogenic Properties: A Review. *Journal Molecules*. ISSN 1420-3049. Vol. 16. 1486-1507.
- Fudenberg, H. H. dan Whitten, H. D. 1984. *Immunomodulation: New Frontiers and Advances*. New York: Plenum Press.
- Gunawan, S. G. 2011. *Farmakologi dan Terapi*. Ed.5. Jakarta: Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Handayani, G. N. 2010. Imunomodulator. *Jurnal AL-FIKR*. Vol. 14 (1): 150-166.
- Hasanah, K. U. 2012. "Uji Daya Antifungi Propolis Terhadap *Candida albicans* dan *Pityrosporum ovale*". Skripsi. Surakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Herawati, H. dan Sukohar, A. 2013. "Pengaruh Asam Klorogenat Kopi Robusta Lampung Terhadap Ekspresi *Cyclin D1* dan *Caspase 3* pada *Cell Lines HEP-G2*". Seminar Nasional Sains dan Teknologi V. Lampung: Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
- Hoffbrand, A. V. dan Pettit, J. E. 1996. *Kapita Selekta Haematologi*. Jakarta: EGC.

- Hostetter, M. K. 1994. "Adhesins and Ligands Involved in the Interaction of *Candida* spp. with Epithelial and Endothelial Surfaces". *Clinical Microbiology Reviews*. Vol. 7 (1): 29-42.
- https://eprints.uns.ac.id/19293/2/BAB_I.pdf. Diakses pada tanggal 13 April 2016.
- https://titisharyani.files.wordpress.com/2013/02/bunga_kopi_robusta.jpg. Diakses pada tanggal 20 Agustus 2015.
- https://www.tcd.ie/Biology_Teaching_Centre/assets/pdf/by2205/by2205-webgalleries2011/by2205-gallery1/candida.pdf. Diakses pada tanggal 27 Januari 2016.
- Jafari, M. dan Azra, R. 2005. Study of The Effect of Caffeine on Induction of Apoptosis in Blood Monocyte Cells. *Journal Daneshvar Medicine*. Vol. 12 (56): 13-18.
- Kobayashi, Fernandes, Miranda, De Sousa, dan Silva. 2004. *Candiduria* in Hospital Patients: A Study Prospective. *Journal Mycopathologia*. Vol. 158 (1): 49-52.
- Kumamoto, C. A. 2005. A Contact-activated Kinase Signals *Candida albicans* Invasive Growth and Biofilm Development. *PNAS*. Vol. 102 (15): 5576-5581.
- Kumamoto, C. A. dan Vines, M. D. 2005. Alternative *Candida albicans* Lifestyles: Growth on Surfaces. *Annual Review of Microbiology*. (59): 113-133.
- Kusumaningtyas, E. 2005. "Mekanisme Infeksi *Candida albicans* pada Permukaan Sel". *Loka Karya Nasional*. Balai Penelitian Veteriner, Jl RE. Martadinata No. 30, P.O. Box 151, Bogor 16114.
- LaFleur, M. D. 2008. "Characterization and Eradication of persisters in *Candida albicans* Biofilms". Dissertation. Boston: Northeastern University.
- Leeson, C. R., Leeson, T. S., dan Paparo, A. A. 1989. *Buku Ajar Histologi (Textbook of Histology)*. Jakarta: EGC.
- Maharani, Setiawati. 2012. "Pengaruh Pemberian Larutan Ekstrak Siwak (*Salvadora persica*) Pada Berbagai Konsentrasi Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*". Skripsi. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Martyanti, R. N. 2012. "Faktor Resiko Kandidemia di RSUP Dr Kariadi Semarang". Skripsi. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Murtafiah, A. 2012. "Daya Hambat Ekstrak Biji Kopi Robusta (*Coffea Robusta*) Terhadap *Streptococcus mutans*". Skripsi. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

- Najiyati, S. dan Danarti. 2001. *Kopi: Budidaya dan Penanganan Lepas Panen*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Nastiti, Kunti. 2013. "Pengaruh Beberapa Fraksi Ekstrak Daun Awar-awar (*Ficus septica* Burm., f.) Terhadap Aktivitas Fagositosis Makrofag dan Proliferasi Limfosit Secara *In Vitro* dan Uji Kandungan Flavonoid dan Fenolik Total". Tesis. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.
- Neormansyah, W. 2014. "Pengaruh Perendaman Basis Gigi Tiruan Resin Akrilik Polimerisasi Panas dalam Larutan Kopi dan Teh Terhadap Kekuatan Impak dan Transversal". Skripsi. Sumatra Utara: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Sumatra Utara.
- Netea, Joosten, Meer, Kullberg, dan Veerdonk. 2015. "Immune Defence Against *Candida* fungal Infections". *Nature Reviews Immunology*. Macmillan Published Limited. Published Online 21 September 2015.
- Netea, Graaf, Vonk, Verschuere, Meer, dan Kullberg. 2002. The Role of Toll-like Reseptor (TLR) 2 and TLR4 in the Host Defense Against Disseminated *Candidiasis*. *The Journal of Infectious Diseases*. 185: 1483-1489.
- Notoatmodjo, S. 2005. *Metodelogi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: PT. Rineka Cipta.
- Nugroho, Y. A. 2012. "Efek Pemberian Kombinasi Buah Sirih (*Piper betle* L) Fruit, Daun Miyana (*Plectranthus scutellarioides* (L.) R. BR.) Leaf, Madu dan Kuning Telur Terhadap Peningkatan Aktivitas dan Kapasitas Fagositosis Sel Makrofag". *Artikel*. Media Litbang Kesehatan. Vol. 22 (1): 1-5.
- Panggabean, Edy. 2011. *Buku Pintar Kopi*. Jakarta: PT. AgroMedia Pustaka.
- Purwanto. 2009. "Peran *Streptococcus mutans* dan Monosit pada Degradasi Kolagen Tipe IV dan Agregasi Kolagen Platelet". Tidak Diterbitkan. Disertasi. Malang: Program Pascasarjana Universitas Brawijaya.
- Rahardjo, Pudji. 2012. *Kopi: Panduan Budi Daya dan Pengolahan Kopi Arabika dan Robusta*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Rajasingham, K. C., Challacombe, S. J., dan Tovey, S. 1989. Ultrastructure and Possible Processes Involved in the Invasion of Host Epithelial Cells by *Candida albicans* in Vaginal *Candidosis*. *Journal Cytobios*. Vol. 60 (240): 11-20.
- Salerno, Pascale, Contaldo, Esposito, Busciolano, Milillo, Guida, Petruzzi, dan Serpico. 2011. *Candida* Associated Denture Stomatitis. *Journal section: Oral Medicine and Pathology*. Vol. 16 (2): 139-143.

- Simatupang, M. M. 2009. *Candida albicans*. Departemen Mikrobiologi. Sumatra Utara: Fakultas Kedokteran Universitas Sumatra Utara.
- Sulistiyani, Yuwono, Budirahardjo, dan Dharmayanti. 2012. *Petunjuk Praktikum Patologi Klinik Hematologi Blok Sistem Tubuh 1*. Ed.2. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Trisnadewi, Kadek. 2014. “Kadar Asam Urat Serum Rendah Meningkatkan Risiko Penyakit Parkinson”. Tesis. Denpasar: Program Pascasarjana Universitas Udayana.
- Underwood, J. C. E. *Patologi Umum dan Sistemik*. Edisi 2. Terjemahan oleh Sarjadi. 2000. Jakarta: EGC.
- Union of Arab Pharmacists. Council of Arab Health Ministers.
www.mupeg.com/sites/default/files/inserts/ISOPRINOSINE.pdf. Diakses pada tanggal 13 Desember 2015.
- Wahyukundari, M. A. 2013. “Aktivitas Fagositosis Neutrofil dan Monosit yang Dipapar Ekstrak Daun Binahong”. Laporan Hasil Penelitian Dosen Pemula. Jember : Fakultas Kedokteran Gigi Universtas Jember.
- Wilson, C. 2005. Recurrent Vulvovaginitis *Candidiasis*: An Overview of Traditional and Alternative Therapies. *Advance for Nurse Practitioners*. Vol. 13 (5): 24-29.
- Yowanda, I. 2015. “Perbandingan Daya Hambat Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) dan Arabika (*Coffea arabica*) Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*”. Skripsi. Aceh: Program Sarjana Universitas Syiah Kuala.
- Yusmarini. 2011. Minireview Senyawa Polifenol Pada Kopi: Pengaruh Pengolahan, Metabolisme dan Hubungannya Dengan Kesehatan. *Jurnal SAGU*. ISSN 1412-4424. Vol. 10 (2): 22-30.

LAMPIRAN**Lampiran A. Perhitungan Fagositosis Sel Monosit Terhadap *Candida albicans***

Preparat	Ekstrak Biji Kopi Robusta 12,5 %	Ekstrak Biji Kopi Robusta 25 %	Ekstrak Biji Kopi Robusta 50 %	Kontrol Positif (K+)	Kontrol Negatif (K-)
A	64 %	62 %	57 %	68 %	47 %
B	70 %	68 %	73 %	33 %	27 %
C	64 %	73 %	61 %	35 %	21 %
D	41 %	69 %	68 %	48 %	19 %
Rata-rata	59,75 %	68 %	64,75 %	46 %	28,5 %

Lampiran B. Analisis Data

B.1 Hasil Nilai Rata-rata dan Standart Deviasi dengan SPSS 13.

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
12,5%	4	41	70	59,75	12,816
25%	4	62	73	68,00	4,546
50%	4	57	73	64,75	7,136
K(+)	4	33	68	46,00	16,104
K(-)	4	19	47	28,50	12,793
Valid N (listwise)	4				

B.2 Hasil Uji Normalitas dengan Menggunakan Uji Kolmogorov Smirnov.

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		12,5%	25%	50%	K(+)	K(-)
N		4	4	4	4	4
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	59,75	68,00	64,75	46,00	28,50
	Std. Deviation	12,816	4,546	7,136	16,104	12,793
Most Extreme Differences	Absolute	,380	,250	,200	,253	,297
	Positive	,212	,163	,200	,253	,297
	Negative	-,380	-,250	-,176	-,210	-,229
Kolmogorov-Smirnov Z		,760	,500	,401	,505	,593
Asymp. Sig. (2-tailed)		,611	,964	,997	,960	,873

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

B.3 Hasil Uji Homogenitas dengan Menggunakan Uji Levene Test

Test of Homogeneity of Variances

Hasil

Levene Statistic	df 1	df 2	Sig.
1,377	4	15	,289

B.4 Hasil Uji Beda dengan Menggunakan Uji One-way Annona.

ANOVA

Hasil

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4228,300	4	1057,075	8,022	,001
Within Groups	1976,500	15	131,767		
Total	6204,800	19			

B.5 Hasil Uji Perbedaan Kemaknaan pada Masing-masing Kelompok Menggunakan Uji LSD (*Least Significance Difference*).

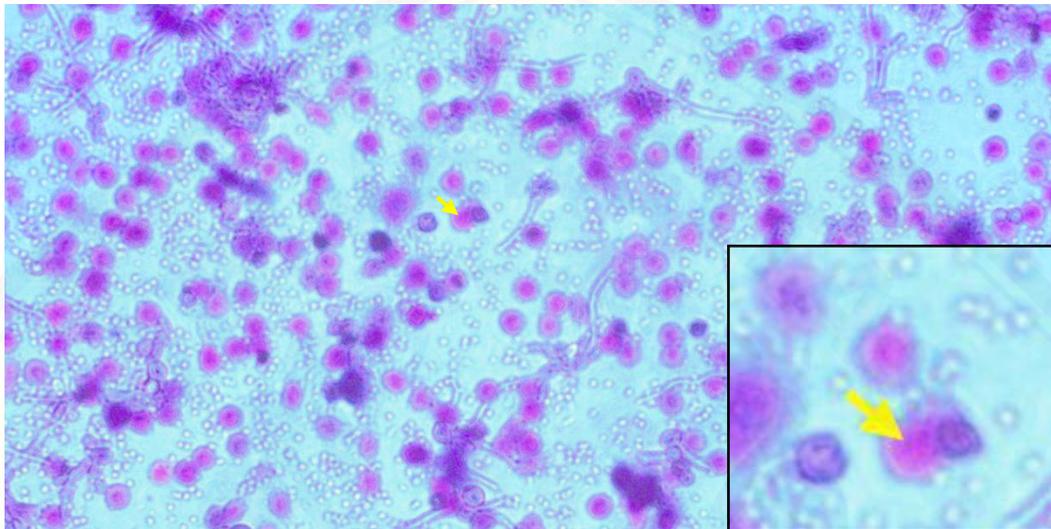
Multiple Comparisons

Dependent Variable: Hasil

LSD

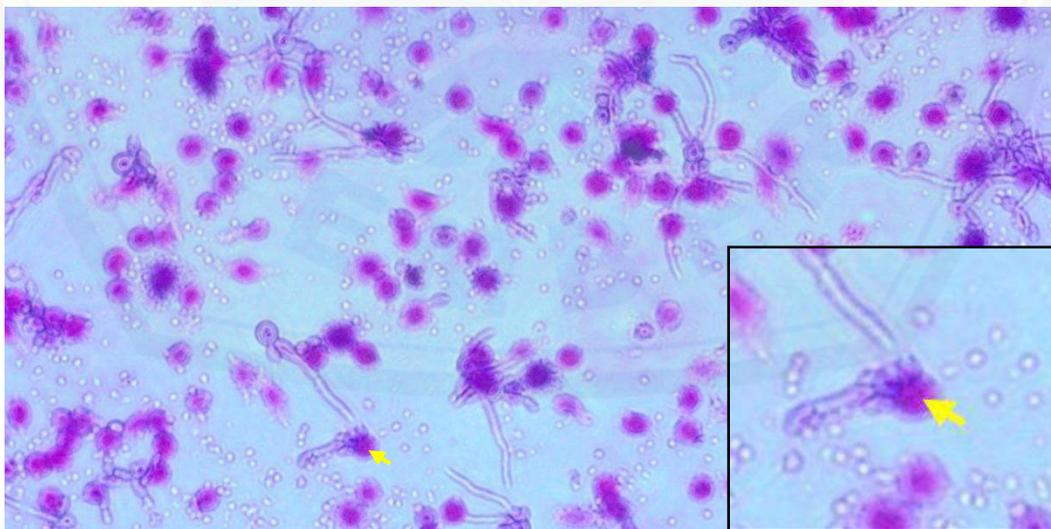
(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
12,5%	25%	-8,250	8,117	,326	-25,55	9,05
	50%	-5,000	8,117	,547	-22,30	12,30
	K(+)	13,750	8,117	,111	-3,55	31,05
	K(-)	31,250*	8,117	,002	13,95	48,55
25%	12,5%	8,250	8,117	,326	-9,05	25,55
	50%	3,250	8,117	,695	-14,05	20,55
	K(+)	22,000*	8,117	,016	4,70	39,30
	K(-)	39,500*	8,117	,000	22,20	56,80
50%	12,5%	5,000	8,117	,547	-12,30	22,30
	25%	-3,250	8,117	,695	-20,55	14,05
	K(+)	18,750*	8,117	,036	1,45	36,05
	K(-)	36,250*	8,117	,000	18,95	53,55
K(+)	12,5%	-13,750	8,117	,111	-31,05	3,55
	25%	-22,000*	8,117	,016	-39,30	-4,70
	50%	-18,750*	8,117	,036	-36,05	-1,45
	K(-)	17,500*	8,117	,048	,20	34,80
K(-)	12,5%	-31,250*	8,117	,002	-48,55	-13,95
	25%	-39,500*	8,117	,000	-56,80	-22,20
	50%	-36,250*	8,117	,000	-53,55	-18,95
	K(+)	-17,500*	8,117	,048	-34,80	-,20

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran C. Foto Hasil Penelitian**1) Kelompok Perlakuan****a. Kelompok P1****Dengan Perlakuan : Monosit + EBKR 12,5 % + *Candida albicans***

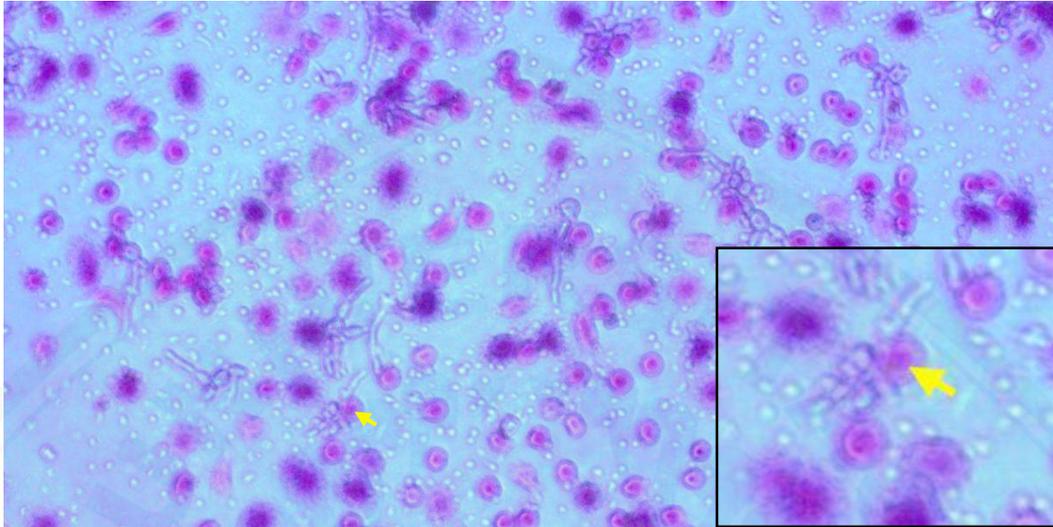
Gambar 1.1 Kelompok P1 (mikroskop *inverted* perbesaran 400x).

→ : Sel monosit yang memfagosit *C. albicans*.

b. Kelompok P2**Dengan Perlakuan : Monosit + EBKR 25 % + *Candida albicans***

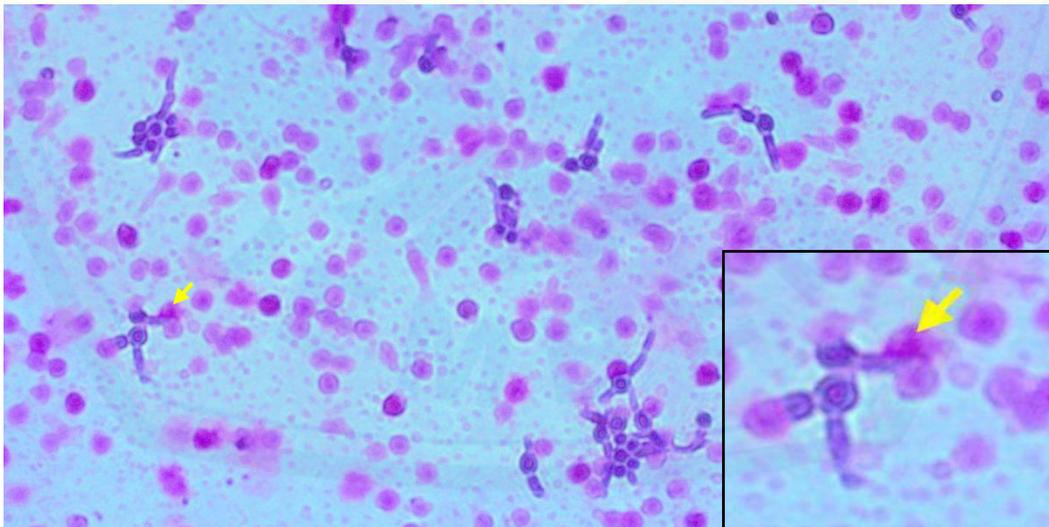
Gambar 2.1 Kelompok P2 (mikroskop *inverted* perbesaran 400x).

→ : Sel monosit yang memfagosit *C. albicans*.

c. Kelompok P3**Dengan Perlakuan : Monosit + EBKR 50 % + *Candida albicans***

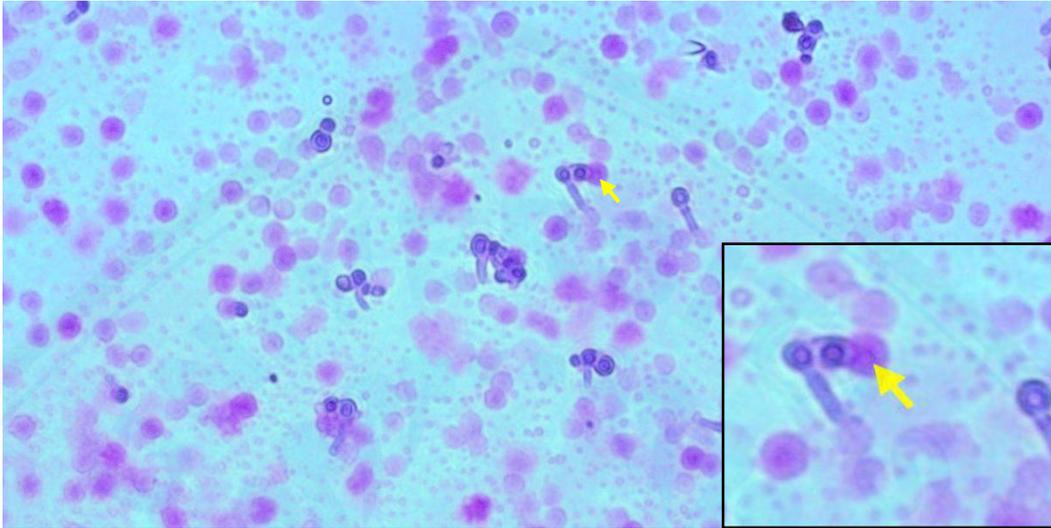
Gambar 3.1 Kelompok P3 (mikroskop *inverted* perbesaran 400x).

→ : Sel monosit yang memfagosit *C. albicans*.

2) Kelompok Kontrol**a. Kontrol +****Dengan Perlakuan : Monosit + Isoprinosin + *Candida albicans***

Gambar 4.1 Kelompok K+ (mikroskop *inverted* perbesaran 400x).

→ : Sel monosit yang memfagosit *C. albicans*.

b. Kontrol -**Dengan Perlakuan : Monosit + *Candida albicans***

Gambar 5.1 Kelompok K- (mikroskop *inverted* perbesaran 400x)

→ : Sel monosit yang memfagosit *C. albicans*.

Lampiran D. Foto Alat dan Bahan Penelitian

D.1 Foto Alat Penelitian



Autoclave



Incubator



Oven



Rotary Evaporator



Centrifuge 5810 R



Laminar Flow



Timbangan



Vortex



Mikroskop *Inverted*



Mikroskop Cahaya



Corong Gelas



Toples Kaca



Sendok



Mikropipet



Tourniquet



Densichek

D.2 Foto Bahan Penelitian



Blue Tip



Yellow Tip



Tabung Falcon



Coverslip



Object Glass



Microplate/Well



Tabung Heparin



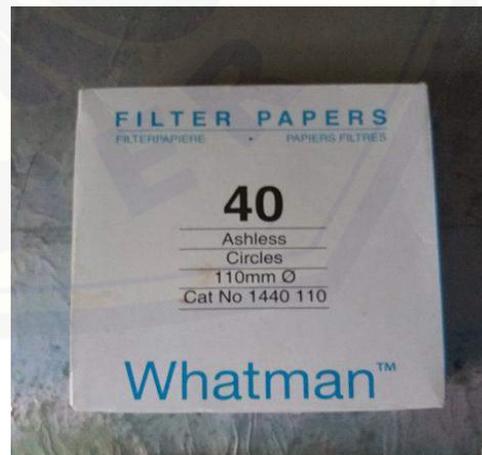
Syringe



Syringe filter



Aluminium Foil



Kertas Saring



Handscoon



Masker



Darah Vena Perifer



EBKR



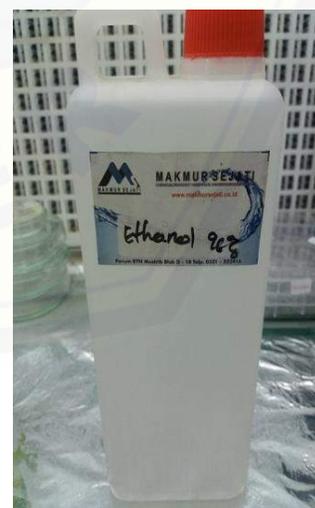
C. albicans



Aquadest Steril



Alkohol 70%



Etanol 76%



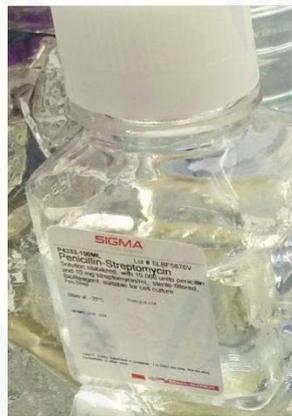
RPMI



M199



Fungizone



Penstrep



HBSS



Ficoll-Hypaque



SDB



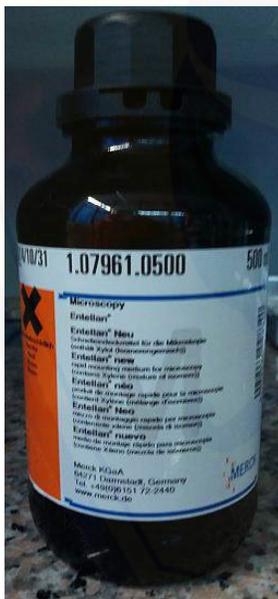
NACL 0,9%



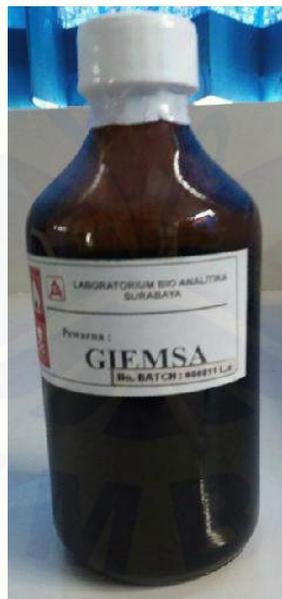
Isoprinosin



Methanol Absolute



Larutan Entellan



Giemsa



Minyak Emersi

Lampiran E. Informed Consent**SURAT PERSETUJUAN**
(INFORMED CONSENT)

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama :
Umur :
Jenis Kelamin :
Alamat :

Setelah mendapatkan penjelasan dari peneliti menyatakan bersedia untuk menjadi subyek penelitian dari:

Nama : Arum Kartika Dewi
NIM : 121610101043
Fakultas : Kedokteran Gigi Universitas Jember
Alamat : Jl. Mastrip 2 No.20 Jember

Dengan judul penelitian skripsi “Pengaruh Ekstrak Biji Kopi Robusta Terhadap Daya Fagositosis Sel Monosit yang Dipapar *Candida albicans*”.

Peneliti mengharapakan saya untuk mengambil sampel darah saya sebanyak 12 cc sebagai bahan penelitian. Saya bersedia memberikan sampel darah saya dan bersedia mengikuti semua prosedur pada penelitian ini.

Saya telah membaca dan dibacakan prosedur penelitian yang terlampir dan telah diberi kesempatan untuk menanyakan hal-hal yang belum jelas dan diberi jawaban dengan jelas. Saya mengetahui bahwa catatan data mengenai penelitian ini akan dirahasiakan, semua berkas yang mencantumkan identitas saya akan dijaga kerahasiaannya. Surat persetujuan ini saya tulis dengan sebenar-benarnya tanpa suatu paksaan dari pihak manapun. Dengan ini saya menyatakan sukarela sanggup menjadi subyek dalam penelitian ini.

Jember,.....2016

Yang menyatakan,

(.....)

Lampiran F. Ethical Clearance**KETERANGAN KELAIKAN ETIK PENELITIAN**
("ETHICAL CLEARANCE")

No. 00511/KKEP/FGK-UGM/EC/2016

Setelah Tim Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada mempelajari dengan seksama rancangan penelitian yang diusulkan:

Judul : **PENGARUH EKSTRAK BIJI KOPI ROBUSTA TERHADAP
DAYA FAGOSITOSIS SEL MONOSIT YANG DIPAPAR
*Candida albicans***

Peneliti Utama : Arum Kartika Dewi

Penanggung Jawab Medis : drg. Roedy Budirahardjo, M.Kes., Sp.KGA

Unit/Lembaga : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Lokasi Penelitian : Laboratorium Bioscience RSGM Universitas Jember

Waktu Penelitian : Februari 2016

Maka dengan ini menyatakan bahwa penelitian tersebut telah memenuhi syarat atau laik etik.

Yogyakarta, 25 Januari 2016

Wakil Dekan Bidang Akademik dan Kemahasiswaan



drg. Distanti Nur Ratih, M.Kes., Sp. KG, Ph.D.

Ketua Komisi Etik Penelitian FKG UGM

drg. Suryono, S.H, Ph.D

Lampiran G. Ijin Penelitian



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
Jl. Kalimantan No. 37 Jember ☎(0331) 333536, Fak. 331991

Nomor : 185 /UN25.8.TL/2016
Perihal : Ijin Pembuatan Ekstrak

Kepada Yth.
Kepala Laboratorium Biologi Farmasi
Fakultas Farmasi Universitas Jember
di
Jember

Dalam rangka pengumpulan data penelitian guna penyusunan skripsi maka, dengan hormat kami mohon bantuan dan kesediaannya untuk memberikan ijin pembuatan ekstrak bagi mahasiswa di bawah ini :

1. Nama	: Arum Kartika Dewi
2. NIM	: 121610101043
3. Tahun Akademik	: 2015/2016
4. Fakultas	: Kedokteran Gigi Universitas Jember
5. Alamat	: Jl. Mastrip II No. 20 Jember
6. Judul Penelitian	: Pengaruh Ekstrak Biji Kopi Robusta (Coffea Rabusta) Terhadap Daya Fagositosis Sel Monosit Yang Dipapar Candida Albicans
7. Lokasi Penelitian	: Lab. Bioscience RSGM Universitas Jember
8. Waktu	: Pebruari 2016 s/d Selesai
9. Tujuan Penelitian	: Untuk Mengetahui Pengaruh Ekstrak Biji Kopi Robusta (Coffea Rabusta) Terhadap Daya Fagositosis Sel Monosit Yang Dipapar Candida Albicans
10. Dosen Pembimbing	: 1. drg. Roedy Budirahardjo, M.Kes, Sp.KGA 2. drg. Amandia Dewi P S, M.Biomed

Demikian atas perkenan dan kerjasama yang baik disampaikan terima kasih.

Jember, 14 JAN 2016
an. Dekan
Pembantu Dekan I



Dr. drg. IDA Susilawati, M.Kes
NIP. 196109031986022001



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
Jl. Kalimantan No. 37 Jember ☎(0331) 333536, Fak. 331991

Nomor : 187/UN25.8.TL/2016
Perihal : Ijin Penelitian

Kepada Yth.
Direktur RSGM Universitas Jember
di
Jember

Dalam rangka pengumpulan data penelitian guna penyusunan skripsi maka, dengan hormat kami mohon bantuan dan kesediaannya untuk memberikan ijin penelitian bagi mahasiswa di bawah ini :

1. Nama : Arum Kartika Dewi
2. NIM : 121610101043
3. Tahun Akademik : 2015/2016
4. Fakultas : Kedokteran Gigi Universitas Jember
5. Alamat : Jl. Mastrip II No. 20 Jember
6. Judul Penelitian : Pengaruh Ekstrak Biji Kopi Robusta (Coffea Rabusta) Terhadap Daya Fagositosis Sel Monosit Yang Dipapar Candida Albicans
7. Lokasi Penelitian : Lab. Bioscience RSGM Universitas Jember
8. Waktu : Pebruari 2016 s/d Selesai
9. Tujuan Penelitian : Untuk Mengetahui Pengaruh Ekstrak Biji Kopi Robusta (Coffea Rabusta) Terhadap Daya Fagositosis Sel Monosit Yang Dipapar Candida Albicans
10. Dosen Pembimbing : 1. drg. Roedy Budirahardjo, M.Kes, Sp.KGA
2. drg. Amandia Dewi P S, M.Biomed

Demikian atas perkenan dan kerjasama yang baik disampaikan terima kasih.

Jember, 14 JAN 2016
an. Dekan
Pembantu Dekan I



Dr. drg. IDA Susilawati, M.Kes
NIP. 196109031986022001

Lampiran H. Identifikasi Tanaman

	<p>LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA (INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES) UPT BALAI KONSERVASI TUMBUHAN KEBUN RAYA PURWODADI JL. Raya Surabaya - Malang Km. 65 Purwodadi - Pasuruan 67163 Telp. (+62 343) 615033, (+62 341) 426046, Faks. (+62 343) 615033, (+62 341) 426046 website: http://www.krpurwodadi.lipi.go.id</p>	 <small>CERT NO. : 135-007-9-14 150/001 - 2009</small>	 <small>Lembaga Sertifikasi Sistem Mutu 150145-010</small>
---	--	--	--

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI
 No. 4⁰³ /IPH.6/HM/IX/2015

Kepala UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi dengan ini menerangkan bahwa material tanaman yang dibawa oleh :

Arum Kartika Dewi, NIM : 121610101043

Mahasiswa Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, datang di UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi pada tanggal 28 September 2015, buku buku Flora of Java, karangan C.A. Backer dan R.C. Bakhuizen van den Brink jr., volume II, tahun 1965, halaman 322 nama ilmiahnya adalah :

Genus : *Coffea*
 Species : *Coffea robusta* Linden ex De Wildem

Adapun menurut buku An Integrated System of Classification of Flowering plants, karangan Arthur Cronquist tahun 1981, halaman XVII, klasifikasinya adalah sebagai berikut :

Divisio : *Magnoliophyta*
 Class : *Magnoliopsida*
 Subclass : *Asteridae*
 Ordo : *Rubiales*
 Family : *Rubiaceae*

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Purwodadi, 07 Oktober 2015
 An.Kepala
 Kepala Seksi Konservasi Ex-situ,


Deden Mudiana, S.Hut, M.Si

Lampiran I. Identifikasi *Candida albicans*

LABORATORIUM MIKROBIOLOGI
BAGIAN BIOMEDIK KEDOKTERAN GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER

SURAT KETERANGAN
No. 071 / MIKRO / S.KET / 2015

Sehubungan dengan keperluan identifikasi mikroorganismenya, maka kami menerangkan bahwa mahasiswa berikut :

Nama : Arum Kartika Dewi
Nim : 121610101043
Fakultas : Kedokteran Gigi
Keperluan : Skripsi

Telah melakukan uji identifikasi terhadap isolat *Candida albicans*, dengan menggunakan uji Germ Tube dan diamati secara mikroskopis, hasil menunjukkan presuntif *Candida albicans*.

Jember, 16 Desember 2015

Mengetahui,
Kepala Bagian Biomedik Kedokteran Gigi Penanggung Jawab Lab. Mikrobiologi



(Prof. Dr. drg. I Dewa Ayu Ratna D., M.S.) (drg. Pujiana Endah Lestari, M.Kes.)
NIP. 96705021997022001 NIP. 197608092005012002

Lampiran J. Hasil Uji Jenis *Candida albicans*

LABORATORIUM BIOMEDIK DAN BIOLOGI MULUT
UNIVERSITAS HANG TUAH SURABAYA
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
 Jalan Arif Rahman Hakim 150 Surabaya-Jawa Timur-60111
 Tlp. (031) 5912191, 5945864 Ext (219/220) – Fax. (031) 5912191
 Email : biomedbiomulkguht@gmail.com

SERTIFIKAT HASIL UJI**Pengujian Mikrobiologi**

1. Contoh Uji : Stok Strain Universitas Hang Tuah Surabaya
2. Asal Contoh Uji : Stok Strain Dari Balai Laboratorium Kesehatan Daerah Istimewa Yogyakarta
3. Penguji : Carissa Endianasari, S.SI
4. Tanggal Pengujian : 4 s/d 8 Mei 2015
5. Permintaan : drg. Erna Sulistyani, M.Kes (Fak. Kedokteran Gigi Universitas Jember)

Uraian

No	Parameter	Sarana	Hasil Uji	Metode Uji
1	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	Tabung	Koloni Berwarna Hijau Pada Inokulasi Chrom Agar	Uji Isolasi dan Identifikasi Pada Media Chrom Agar

Catatan :

1. Hasil uji ini hanya berlaku untuk contoh yang diuji

Surabaya, 12 Mei 2015

Mengetahui,
 Kepala Laboratorium Biologi Mulut
 Fakultas Kedokteran Gigi



LABORATORIUM BIOMEDIK DAN BIOLOGI MULUT
 UNIVERSITAS HANG TUAH SURABAYA
 FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
 Jalan Arif Rahman Hakim 150 Surabaya-Jawa Timur-60111
 Tlp. (031) 5912191, 5945864 Ext (219/220) – Fax. (031) 5912191

Syamsulina Revianti, drg., M.Kes t
 NIP. 19760416 200501 2001



Excellent Quality for Best Overall Customer
 Satisfaction (2013-2014) 2015
 Satisfaction (2013-2014) 2015