

**Bidang Unggulan: Ketahanan pangan secara luas
Kode>Nama Rumpun Ilmu: 304/Ilmu Biomedik**

EXECUTIVE SUMMARY
PENELITIAN UNGGULAN PERGURUAN TINGGI
(TAHUN PERTAMA)



KAJIAN EFEK KOPI DAN PERIODONTITIS PADA ATEROSKLEROSIS KORONER

SUB JUDUL:
**EFFECT OF COFFEE AND *Porphyromonas gingivalis* INFECTION ON
ATHEROSCLEROSIS MARKER IN VITRO: FOAM CELL FORMATION
AND SCAVENGER RECEPTOR EXPRESSION**

Tim Pengusul:
Dr. drg. I Dewa Ayu Susilawati, M. Kes. (0003096112)
dr. Suryono, Sp. JP, FIHA. (0011106913)
drg. Tantin Ermawati, M. Kes. (0022038007)

UNIVERSITAS JEMBER
DESEMBER 2013

EFFECT OF COFFEE AND *Porphyromonas gingivalis* INFECTION ON ATHEROSCLEROSIS MARKER IN VITRO: FOAM CELL FORMATION AND SCAVENGER RECEPTOR EXPRESSION

¹ I Dewa Ayu Susilawati; ²Suryono; ³Tantin Ermawati

^{1,3} Biomedic Department Dentistry Faculty University of Jember

² Department of Cardiology Faculty of Medicine Unersity of Jember

E-mail: dewayususilawati@yahoo.com

This study purposed to analyze *in vitro* the effect of coffee and infection of periodontitis bacterium *Porphyromonas gingivalis* on atherosclerotic marker, particularly, macrophaque foam cell formation and scavenger receptor (Sc-R) expression. Research objects are *P. gingivalis* ATCC 33277, ground coffee solution, and macrophage that were obtained from culture of human peripheral blood monocytes (PBM). Macrophaque were divided into three groups namely 1) macrophaque exposed to *P. gingivalis*, normolipid plasma and coffee, 2) macrophaque exposed to *P. gingivalis* and normolipid plasma (without coffee) and 3) macrophaque exposed to normolipid plasma (control). All of groups macrophaque were incubated for 2 days, 37°C, 5% CO₂. Foam cell were identified by means of Oil RedO staining, while Sc-R expression using Immunocytochemistry method. Results showed that coffee significantly (p<0,05) reduced foam cell formation and scavenger receptor expression. In Conclusion, coffee inhibited atherosclerotic marker *in vitro*, in particular foam cell and scavenger receptor expression. Further study were needed to elucidate the effect of coffee and periodontitis on atherosclerosis *in vivo*.

Key words: coffee; atherosclerosis; *Porphyromonas gingivalis*, *in vitro*

PENDAHULUAN

Aterosklerosis merupakan penyakit vaskuler yang ditandai dengan penimbunan lipid pada dinding pembuluh darah. Aterosklerosis adalah penyebab utama penyakit jantung koroner (PJK), yang sampai saat ini masih menjadi salah satu masalah kesehatan penting di Indonesia, karena menjadi penyebab kematian nomer satu pada individu di atas 40 tahun.

Konsumsi kopi dan kontrol periodontitis diduga dapat menghambat aterosklerosis. Paradigma baru menunjukkan bahwa aterosklerosis merupakan penyakit inflamatorik yang diduga terkait dengan infeksi bakteri. Patogenesis aterosklerosis melibatkan respons inflamasi terhadap infeksi bakterial, proses oksidasi dan penimbunan lipid pada dinding arteri (Kullo, 2000; Madamanchi, 2003). Kopi memiliki khasiat antibakteri, antiinflamasi, antioksidan (Hiroshi, 2006; Dupas dkk. 2006) sehingga diduga berpotensi menghambat aterosklerosis.

Sementara itu, periodontitis (penyakit infeksi bakterial pada jaringan pendukung gigi) akhir-akhir ini diketahui merupakan salah satu faktor resiko penting yang dapat memicu inflamasi vaskuler sehingga berperan pada inisiasi dan perkembangan aterosklerosis (Serrano, 2006; Renvert dkk., 2010). Oleh karena itu muncul dugaan bahwa kontrol periodontitis dapat menghambat aterosklerosis.

Potensi konsumsi kopi menghambat PJK masih menjadi perdebatan. Masyarakat pada umumnya beranggapan bahwa mengkonsumsi kopi dapat berakibat buruk bagi kesehatan jantung dan pembuluh darah. Hal ini terkait dengan kandungan kafein dalam kopi (Cornelis & El-Soehemy, 2007; Ricketts dkk. 2007; Rustan dkk. 1999). Selain itu, kopi juga mengandung senyawa cafestol yang dapat meningkatkan kadar kolesterol-LDL, namun lebih lanjut dinyatakan bahwa berbagai studi pada populasi tidak dapat menunjukkan adanya efek peningkatan resiko PJK (Richard, 2012). Berdasarkan studi epidemiologis longitudinal tahun 2010 oleh *National Heart, Lung and Blood Institute* di Amerika, yang melibatkan 5.115 orang dewasa menunjukkan bahwa mengkonsumsi kopi tidak berhubungan PJK (livesstrong. com). Studi lain melaporkan bahwa orang yang mengkonsumsi 2-3 cangkir kopi/hari, memiliki resiko terkena serangan jantung 19% lebih rendah (Alisha, 2011). Reis dkk. (2010) melaporkan bahwa tidak ada hubungan antara intake kopi atau kafein dengan aterosklerosis. Kimberly (2011) melaporkan, sebuah studi tahun 2011 yang dimuat pada *American Journal of Cardiology*, menunjukkan bahwa kafein dapat memproteksi pembuluh darah dengan cara memperbaiki fungsi endotel. Berdasarkan penelitian-penelitian tersebut dapat dikatakan bahwa efek konsumsi kopi pada PJK belum konklusif.

Sementara itu, peran periodontitis pada patogenesis PJK mendapatkan banyak perhatian sejak ditemukannya bakteri periodontitis *P. gingivalis* pada spesimen plak aterosklerotik koroner manusia yang meninggal karena serangan jantung (Harazthy, 2000; Stelzel, 2003; Kozarov, 2005) Berbagai studi epidemiologis, klinis, mikrobiologis menguatkan dugaan peran periodontitis pada PJK (Vojdani, 2000; Serrano, 2006; Renvert dkk., 2010). Beberapa penelitian yang kami lakukan mendapatkan bahwa infeksi bakteri periodontitis *P. gingivalis* menginduksi pembentukan foam cell yang merupakan tanda awal aterosklerosis, ini mendukung peran periodontitis pada PJK (Susilawati dkk, 2012).

Peran periodontitis pada PJK tidak banyak diketahui oleh masyarakat. Pada umumnya masyarakat mengabaikan atau kurang memberi perhatian terhadap adanya periodontitis, hal ini bisa difahami karena periodontitis sering kali bersifat kronis dan tidak menimbulkan gejala

klinis, dengan kata lain, banyak orang yang tidak tahu bahwa periodontitis dapat memicu PJK yang beresiko membahayakan kehidupannya.

Berdasarkan fenomena bahwa periodontitis dapat menginduksi aterosklerosis, di sisi lain, kopi diduga dapat menghambat aterosklerosis, maka penelitian ini bertujuan membuktikan efek kopi dan kontrol periodontitis menghambat aterosklerosis. Secara khusus, penelitian ini bertujuan melakukan kajian secara *in vitro* untuk mengkaji efek kopi dan bakteri periodontitis *P. gingivalis* terhadap marker aterosklerosis yakni pembentukan foam cell dan ekspresi reseptor scavenger.

BAHAN DAN METODE

Bahan penelitian. Reagen untuk isolasi dan kultur makrofag (monocyte-derived) meliputi *lymphocyte separating medium* (LSM) (MPBio), Heparin tube (BO), Hank's balance saline solution (HBSS) dari Sigma, Medium komplet M199 (Gibco), Medium RPMI 1640 (Sigma), Fungisone (Gibco), Penstrep (Sigma), Oil RedO (Sigma), antibodi *anti-CD163* (BIOSS), Imunostaning kit LSAB+System-HRP (Dako), Kopi bubuk murni Robusta Gunung Ijen (PTP XII Persero, Jawa Timur, Indonesia), *Porphyromonas. gingivalis* (ATCC 22733), hemin dan vitamin K (Sigma). *Coverslip for cell culture 90 ea* (Neuvitro), filter mikro 0,2 μm (Sartorius).

Secara ringkas, penelitian dilakukan terhadap sel makrofag yang dikultur dari monosit manusia (*peripheral blood monocyte*, PBM) yang dipapar dengan seduan kopi, plasma darah normolipid dan bakteri periodontitis *P. gingivalis*. Parameter penelitian adalah *foam cell* (tanda awal aterosklerosis) dianalisis secara histokimia menggunakan *Oil RedO staining*, dan ekspresi reseptor scavenger, Sc-R (CD163, reseptor lipid teroksidasi) dengan metode imunositokimia.

Preparasi plasma darah normolipid (mengandung kolesterol normal). Sebanyak 9 cc *Heparinized whole blood* disentrifuse 650 rpm, 10 menit, *room temperature* (RT). Supernatan dipisahkan, karena plasma darah ini masih mengandung platelet, maka perlu dilakukan pemisahan platelet dengan cara disentrifuse 1400 rpm, 10, RT. Supernatan adalah plasma (*platelet free*) dipisahkan dan disimpan pada 4°C sampai sebelum digunakan.

Isolasi dan kultur monosit. Monosit diisolasi dari 9 cc *heparinized whole blood*, dengan metode *Ficoll hypaque centrifugation*. Prosedur sebelumnya telah memisahkan plasma darah, sisa darah yang mengandung komponen selular kemudian dibagi menjadi 3 tabung (falcon 15 cc), dan masing-masing tabung diencerkan dengan HBSS sehingga volumenya menjadi 9 cc.

Suspensi darah (masing-masing) kemudian secara berhati-hati dilapiskan pada 3 cc ficoll (*lymphocyte separating médium*, LSM) dan disentrifuse pada 1400 rpm, 30 menit, RT. Lapisan *buffy coat* yang mengandung sel-sel mononuklear dipisahkan, kemudian dilakukan pencucian 2x dengan médium RPMI 1640. Pelet sel kemudian diresuspensi dengan 1 cc médium komplit dan ditambahkan fungison 5 μ l serta penstrep 20 μ l. Sebanyak 50 μ l suspensi sel diambil dan diletakkan pada Hemositometer untuk dilakukan penghitungan jumlah sel di bawah mikroskop inverted (8×10^5 sel/well). Pada suspensi monosit kemudian ditambahkan médium komplit (M 199) sebanyak 1,5 cc, setelah pipeting, suspensi sel dibagi dengan cara melapiskannya pada *microplate* 24-well (yang di dasarnya telah diberi *coverslip*) masing-masing 100 μ l/well, kemudian diinkubasi selama 20 menit. Pada tiap-tiap well kemudian ditambahkan médium komplit sebanyak 1 cc dan diinkubasi kembali selama 2 jam, 5% CO₂, RT. Setelah itu dilakukan pencucian 2 kali menggunakan RPMI 1640 untuk membuang limfosit yang tidak melekat. Monosit kemudian diinkubasi selama 24 jam dengan 5% CO₂, RT dalam 1 cc médium komplit, 5 μ l fungison dan 10 μ l penstrep. Selanjutnya, monosit siap untuk uji lebih lanjut.

Preparasi *P. gingivalis* dikultur dalam medium *Brain Heart Infusion* (BHI) yang diperkaya dengan vitamin K₁ dan hemin pada atmosfir anaerobik selama 2 x 24 jam. Konsentrasi *P. gingivalis* disesuaikan menjadi 10⁸ sel per ml.

Pembuatan seduan kopi didasarkan pada dosis yang biasa digunakan untuk membuat secangkir minuman kopi. Sebanyak 3 gram bubuk kopi dilarutkan dalam 200 ml aquades. Mula-mula aquades dididihkan (100°C) kemudian bubuk kopi dimasukkan dan diaduk-aduk selama 2 menit., Seduan kopi didinginkan pada suhu ruang, kemudian disentrifus 3500 rpm, 10 menit. Supernatannya kemudian difilter menggunakan filter berpori 0,2 μ m (Sartorius). Jadi yang digunakan pada penelitian ini adalah filtrat supernatan seduan bubuk kopi.

Prosedur penelitian. Sebanyak 24 well kultur monosit dibagi menjadi 2 kelompok uji yakni 12 well untuk uji foam cell dan 12 well untuk uji receptor scavenger. Selanjutnya tiap kelompok uji dibagi lagi menjadi 3 kelompok untuk 3 perlakuan yang berbeda (masing-masing terdiri dari 4 well), sebagai berikut. 1) Kelompok perlakuan (P), monosit + seduan kopi + plasma darah + *P. gingivalis*, 2) Kelompok control positif (K+), monosit + *P. gingivalis* + plasma darah, 3) Kelompok control negatif (K-), monosit + plasma darah. Setiap well, monosit disuspensikan dalam 1 cc médium (terdiri dari 780 μ l médium komplit M 199 dan 175 μ l plasma darah). Hal ini merujuk pada perbandingan volume plasma:darah lengkap (*whole blood*) yang digunakan dalam

penelitian ini, sehingga diharapkan dapat mensimulasikan volumen plasma darah dan konsentrasi lipid plasma seperti pada darah manusia. Pada penelitian ini digunakan 9 cc darah lengkap, yang mengandung 2 cc plasma Sedangkan seduan kopi yang digunakan sebanyak 200 µl dan *P. gingivalis* 200 µl.

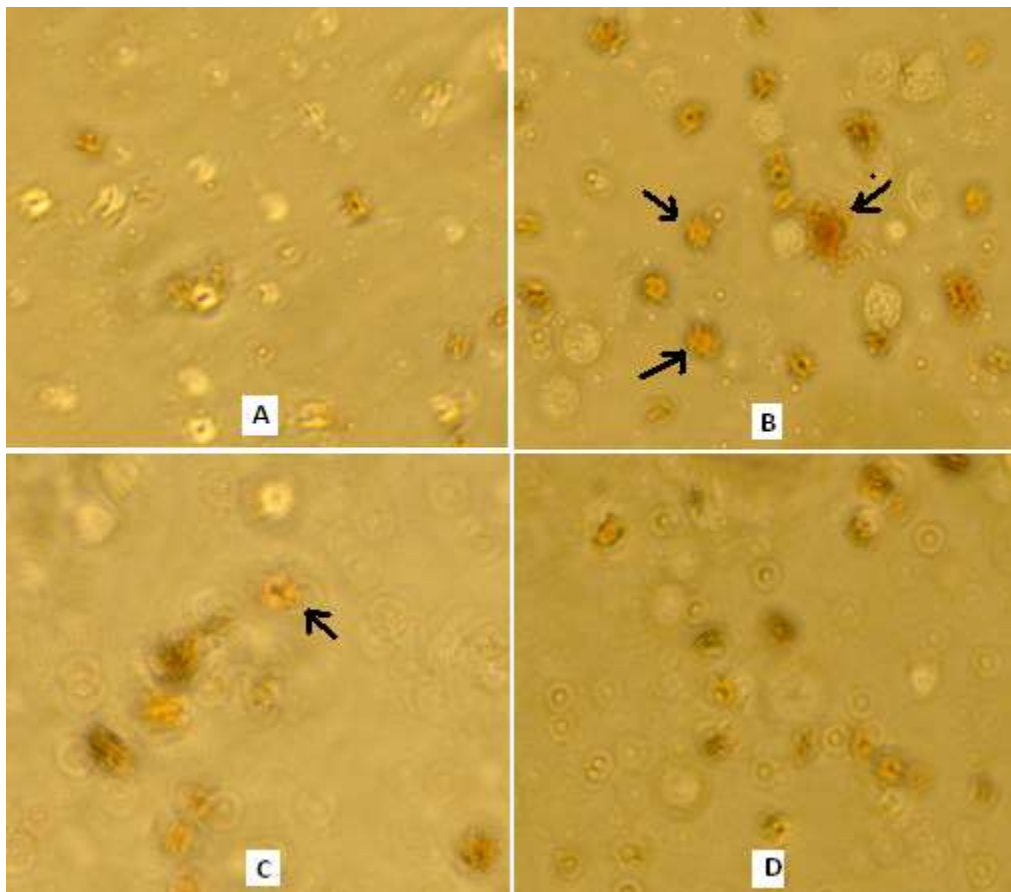
Identifikasi *Foam cell* (histokimia). Kultur monosit yang telah selesai diberi perlakuan dicuci 2x dengan HBSS, kemudian difiksasi dengan 2% paraformaldehid selama 15 menit dan kemudian dicat dengan 1% Oil RedO dalam 60% isopropanol selama 30 menit. Setelah pencucian, foam cell diamati di bawah mikroskop inverted dengan pembesaran 400x.

Identifikasi ekspresi Sc-R (imunositokimia). Kultur monosit yang telah selesai diberi perlakuan dicuci 2x dengan HBSS, dan kemudian dilakukan fiksasi dengan metanol absolut dan kemudian diletakkan pada keadaan lembab dalam suhu 4°C sampai sebelum analisa imunositokimia. Sebelum analisa imunositokimia, mula-mula isolat sel dicuci 3 kali dengan PBS, kemudian dilakukan imunostaning sebagai berikut. 1) *Peroxidase block*. Spesimen dikering anginkan dengan cara dikipas-kipaskan, kemudian ditambahkan 3% hydrogen peroxide menutupi specimen, kemudian diinkubasi 15 menit,. Selanjutnya, pencucian secara berhati-hati dengan aquades atau larutan pencuci (*wash solution*) dan ditempatkan pada *fresh buffer bath*. 2) Mereaksikan dengan antibodi primer. Mencuci kelebihan buffer dan dikering anginkan, selanjutnya ditambahkan antibodi primer (dalam PBS 1:100) menutupi specimen dan diinkubasi semalam. 3) LINK. setelah dicuci secara berhati-hati dalam buffer bath, kelebihan buffer dibuang, dikering anginkan, kemudian meneteskan *yellow drop of link* pada specimen dan diinkubasi 30 menit, kemudian slide dicuci 4) Streptavidin peroxidase. Spesimen dikering anginkan, ditambahkan Red drop streptavidin menutupi specimen, inkubasi 20 menit, dan dicuci seperti sebelumnya. 5) Pemberian substrat kromogen. Spesimen dikeringkan, larutan substrat-kromogen diaplikasikan menutupi specimen, inkubasi 25 menit, cuci secara berhati-hati dengan d H₂O. 6) *Counter stain*. Melapisi specimen dengan *hematoxylin Meyer* dan diinkubasi 10 menit. Mencuci secara berhati-hati dengan dH₂O. 7) Dehidrasi, mencuci dengan alcohol 96% 2x 3' selanjutnya dengan alcohol 100% 2x 3' dan xilol 3x 3'. 8) Mounting. Spesimen ditempel cover slip (pelekatan menggunakan entelan). 9) Aanalisa specimen, sel yang mengekspresikan CD163 dihitung jumlahnya di bawah mikroskop cahaya pembesaran 400 kali.

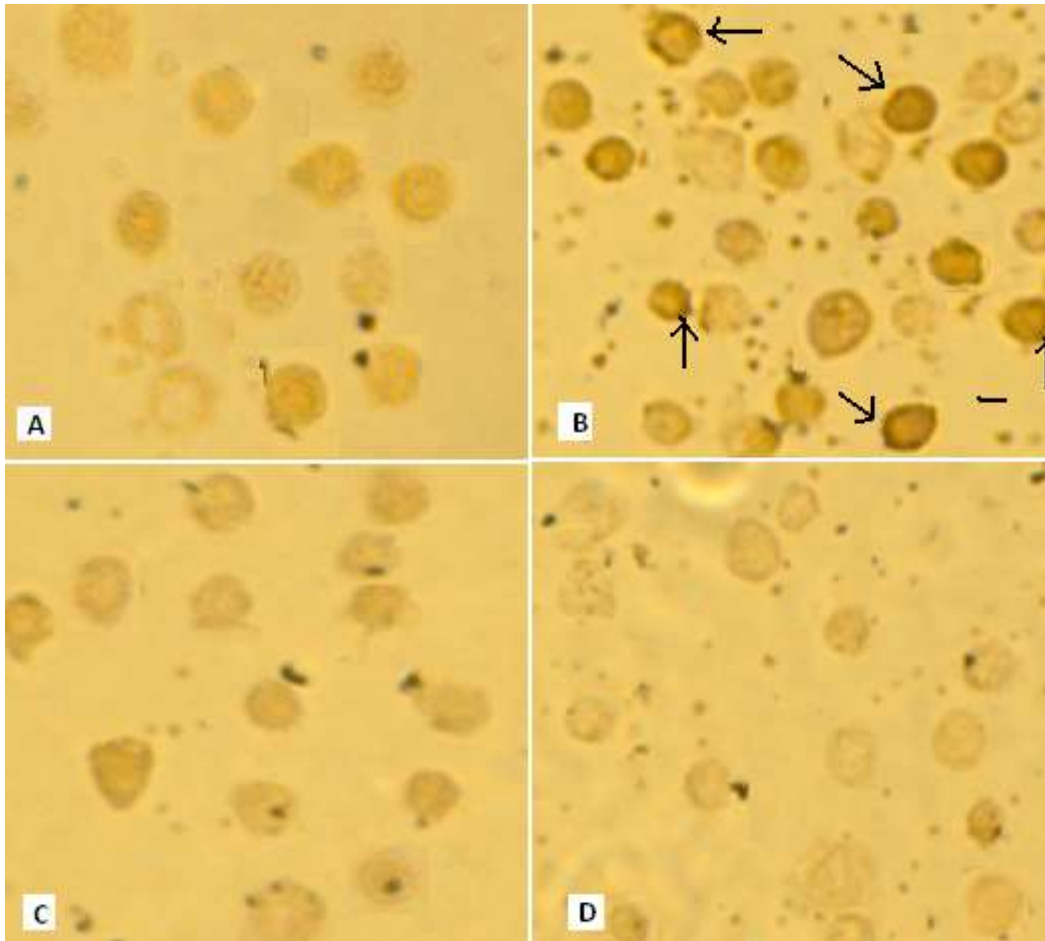
Data penelitan dianalisa secara statistik menggunakan Anova dan least significant different (LSD) dengan tingkat kepercayaan 95% (signifikansi < 0,05).

HASIL

Hasil pengamatan mikroskopis menunjukkan bahwa suspensi monosit yang diberi penambahan filtrate seduan kopi menunjukkan gambaran pembentukan foam cell dan ekspresi scavenger (Sc-R) yang lebih sedikit dibanding kontrol positif (monosit yang dipapar *P. gingivalis* dan plasma normolipid) tanpa diberi kopi. Gambar hasil uji foam cell disajikan pada Gambar 1, sedangkan untuk ekspresi Sc-R pada Gambar 2.



Gambar 1. Hasil uji foam cell yang diamati menggunakan mikroskop inverted dengan pembesaran 400 kali. Foam cell tampak sebagai sel berwarna merah kekuningan (tanda panah) A. Kontrol negatif, sangat jarang dijumpai foam cell. B. Monosit yang dipapar *P. gingivalis* dan plasma normolipid tanpa pemberian filtrate kopi (kontrol positif), menunjukkan pembentukan foam cell yang lebih banyak, C dan D. Pemaparan filtrate kopi menunjukkan foam cell berkurang.



Gambar 2. Ekspresi reseptor scavenger (Sc-R) yang diamati menggunakan mikroskop inverted dengan pembesaran 400 kali. Ekspresi Sc-R ditunjukkan oleh sel dengan membran coklat tua (tanda panah) A. Kontrol negatif, sangat jarang dijumpai ekspresi Sc-R. B. Monosit yang dipapar *P. gingivalis* dan plasma normolipid tanpa pemberian filtrate kopi (kontrol positif), menunjukkan banyak sel yang mengekspresikan Sc-R.. C dan D. Pemaparan filtrate kopi menunjukkan ekspresi Sc-R berkurang.

Hasil analisa dengan anova baik pada parameter foam cell maupun ekspresi Sc-R menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$). Hasil ini kemudian dilanjutkan dengan analisa LSD yang menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) antara kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan (yang dipapar dengan kopi). Hasil analisa data foam cell disajikan pada table 1, sedangkan analisa data ekspresi Sc-R pada table 2.

Tabel 1. Efek kopi dan *P. gingivalis* pada pembentukan foam cell

Kelompok	Jumlah Foam cell ($\bar{X} \pm SD$)			
	Kontrol negatif (K+)	37,75	±	5,19
Kontrol positif (K-)	00,25	±	0,50	a, b
Perlakuan 1 (P1)	10,00	±	8,45	a, c
Perlakuan 2 (P2)	05,75	±	2,62	a

Keterangan:

K+: suspensi monosit + plasma normolipid + *P. gingivalis*

K-: suspensi monosit + plasma normolipid

P1: suspensi monosit + plasma normolipid + *P. gingivalis* + kopi 1

P2: suspensi monosit + plasma normolipid + *P. gingivalis* + kopi 2

^a: menunjukkan terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$) dengan K+

^b: menunjukkan terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$) dengan P1

^c: menunjukkan terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$) dengan K-

Tabel 2. Efek kopi dan *P. gingivalis* pada ekspresi Scavenger reseptor

Kelompok	Ekspresi reseptor scavenger ($\bar{X} \pm SD$)			
	Kontrol negative (K+)	15,89	±	03,79
Kontrol positif (K-)	08,44	±	04,90	a
Perlakuan 1 (P1)	05,56	±	03,05	a
Perlakuan 2 (P2)	04,44	±	01,67	a, b

Keterangan:

K+: suspensi monosit + plasma normolipid + *P. gingivalis*

K-: suspensi monosit + plasma normolipid

P1: suspensi monosit + plasma normolipid + *P. gingivalis* + kopi 1

P2: suspensi monosit + plasma normolipid + *P. gingivalis* + kopi 2

^a: menunjukkan terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$) dengan K+

^b: menunjukkan terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$) dengan K-

DISKUSI

Secara *in vitro*, hasil penelitian menunjukkan bahwa filtrat seduan kopi dapat menghambat pembentukan foam cell dan ekspresi Sc-R. Pada uji *in vitro* ini, konsentrasi seduan kopi yang digunakan merujuk pada konsentrasi seduan secangkir kopi (3 gr bubuk kopi dalam 200 ml aquades) yang biasa dikonsumsi. Hasil ini perlu penelitian lebih lanjut yakni melalui uji *in vivo*, hal ini mengingat bahwa pada uji *in vitro* ini obyek penelitian direduksi yakni menggunakan isolat sel monosit, sedangkan target lebih lanjut penelitian ini nantinya untuk diaplikasikan pada organisme yakni untuk menghambat pathogenesis aterosklerosis koroner.

Patogenesis aterosklerosis diawali dengan pembentukan *foam cell*. Aterosklerosis merupakan penyakit vaskuler yang ditandai dengan timbulnya plak ateroma, yaitu suatu tungkulan pada dinding arteri (Suryohudoyo, 2000; Shah, 2003). Aterosklerosis tidak terjadi secara mendadak, melainkan melalui sejumlah tahapan. Tahap awal, di daerah subintima ditemukan sekelompok sel yang dalam sitoplasmanya terlihat gelembung-gelembung mirip busa sabun yang disebut *foam cell*. *Foam cell* ini berasal dari makrofag dan gelembung mirip busa sabun tersebut berisi ester kolesterol. Lama kelamaan *foam cell* dapat menumpuk sehingga mendesak endothelium. Secara makroskopik terlihat dinding arteri yang sedikit menonjol ke arah lumen. Selanjutnya, di samping *foam cell* terlihat pula tumpukan lemak ekstrasel yang terjadi karena *foam cell* yang nekrosis. Di dalam intima juga dijumpai limfosit, sel-sel otot polos dan serabut-serabut kolagen. Secara makroskopis terlihat sebagai tungkulan (ateroma) yang menonjol ke arah lumen (Suryohudoyo, 2000).

Foam cell adalah makrofag yang berasal dari monosit yang menguptake banyak lipid sehingga berubah menjadi sel lemak (sel busa, foam cell). Menurut teori konvensional, *foam cell* terbentuk setelah makrofag mengendositososis lipid teroksidasi (terutama low density lipoprotein, oxLDL) melalui reseptor scavenger (Kalayoglu, 1998; Kuramitsu dkk. 2001; Giacona dkk. 2003). Tidak seperti reseptor untuk *native* LDL yang dapat mengalami *down regulation*, reseptor scavenger tidak dapat mengalami *down regulation*, sehingga apabila terdapat stimulasi yang menyebabkan ekspresinya, maka secara terus menerus reseptor ini akan diekspresi. Sebagai akibatnya, ekspresi Sc-R menyebabkan ambilan oxlipid secara terus menerus yang menyebabkan penimbunan lipid dalam sel, mengakibatkan sel berubah menjadi *foam cell*.

Pada penelitian ini, stimulasi menggunakan bakteri periodontitis *P. gingivalis* dapat menginduksi ekspresi Sc-R pada monosit, dan dengan adanya penambahan lipid dalam mediumnya, menyebabkan peningkatan ambilan oxlipid oleh monosit, sehingga monosit berubah menjadi foam cell makrofag. Terdapat dugaan bahwa stimulasi *P. gingivalis* menyebabkan lingkungan yang bersifat prooksidatif sehingga mengakibatkan oksidasi lipid. Selain itu, stimulasi *P. gingivalis* dapat menginduksi produksi sitokin proinflamatori TNF- α dan IL-1 β , sitokin ini selanjutnya dapat mengaktifkan faktor transkripsi NF κ b yang menginduksi ekspresi reseptor scavenger (Kalayoglu, 1998). Jadi stimulasi *P. gingivalis* menghasilkan milieu yang bersifat prooksidatif dan proinflamatorik yang memudahkan pembentukan foam cell.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kopi dapat menghambat ekspresi Sc-R dan pembentukan foam cell. Penjelasan yang dapat dikemukakan antara lain sebagai berikut. Kopi

mengandung bahan-bahan aktif antioksidan seperti flavonoid, xanthine, alkaloid yang dapat berfungsi sebagai antiinflamasi, antibakteri (Hiroshi, 2006 ; Dupas dkk. 2006). Sehingga kemungkinan, adanya kopi akan mengurangi oksidasi lipid sehingga stimulasi terhadap ekspresi Sc-R berkurang dan dengan demikian pembentukan foam cell dihambat. Antioksidan diduga juga mempengaruhi viabilitas monosit, diduga antioksidan mengurangi peroksidasi lipid membran sel, sehingga integritas membran monosit dapat dipertahankan, dengan demikian juga berarti mengurangi efek merusak toksin *P. gingivalis* pada membran monosit. Kemungkinan lain, kopi juga bersifat antibakteri yang dapat berpengaruh terhadap kelangsungan dan aktivitas bakteri, sehingga efek patogeniknya berkurang. Jadi kemungkinan mekanisme kopi menurunkan ekspresi Sc-R dan foam cell adalah melalui mekanisme mengurangi sifat prooksidatif dan proinflamatorik. Akan tetapi, mengingat bahwa kopi mengandung bermacam-macam senyawa kompleks yang belum banyak diketahui interaksinya, maka dibutuhkan penelitian-penelitian lebih lanjut untuk mengkonfirmasi hal ini.

Kopi mengandung bahan kimia yang amat kompleks. Terdapat banyak sekali jenis senyawa kimia pada kopi yang berdampak pada rasa, bau ataupun efeknya pada kesehatan. Seperti pada makanan kompleks yang lain, tidak semua senyawa yang ada pada kopi telah diidentifikasi dan diteliti. Diperlukan banyak penelitian untuk mempelajari efek senyawa-senyawa dalam kopi terhadap kesehatan. Terkait dengan kesehatan kardiovaskuler, senyawa dalam kopi yang banyak diteliti adalah kandungan kafein dan cafestol. Sedangkan efek senyawa antioksidan dan antiinflamatori pada kopi, serta pengaruhnya terhadap kesehatan kardiovaskuler belum banyak diteliti

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa, secara *in vitro* kopi dapat menghambat ekspresi Sc-R dan pembentukan foam cell makrofag, dengan kata lain dapat dinyatakan bahwa kopi dapat menghambat tanda-tanda aterosklerosis *in vitro*. Perlu penelitian lebih lanjut, yakni melalui penelitian *in vivo* untuk membuktikan efek konsumsi kopi menghambat aterosklerosis.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan pada proyek penelitian BOPTN Universitas Jember yang telah membiayai penelitian ini. Juga kepada Mas Erfan, Mbak Azizah dan Mbak Wahyu yang telah membantu penelitian di laboratorium.

DAFTAR PUSTAKA

Anonim. What is Cafestol. <http://www.wisegeek.com/what-is-cafestol.htm>. (8 Maret 2013)

Anonim. Caffeine. <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/caffeine.html>. (8 Maret 2013)

Anonim. Caffeine. <http://www.webmd.com>. (8 Maret 2013)

Cornelis MC, El-Sohehy A Coffee, caffeine, and coronary heart disease. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2007 Nov;10(6):745-51.

Dupas CJ, Marsset-Baglieri AC, Ordonaud CS, Ducept FMG, Maillard MN. Coffee Antioxidant Properties: Effects of Milk Addition and Processing Conditions, *Issue Journal of Food Science*, Volume 71, Issue 3, pages S253–S258, April 2006

Fong IW. 2002. Infections and Their Role in Atherosclerotic Vascular Disease. *JADA*, Vol. 133.

Giacona MB., Papapanou PN., Lamster LB., Schmidt AM., Lalla E. 2003. Determinants of Foam Cell Formation by Human Monocyte-derived Macrophages Infected with *Porphyromonas gingivalis*. *Periodontal Infection and Systemic Health*. Columbia University, New York, USA

Hamer M, Williams ED, Vuononvirta R, Gibson EL, Steptoe A. Association between coffee consumption and markers of inflammation and cardiovascular function during mental stress. *J Hypertens*. 2006 Nov;24(11):2191-7.

Haraszthy VI., Zambon JJ., Trevisan M., Zeid M., Genco RJ. 2000. Identification of Periodontal Pathogens in Atheromatous Plaques. *J. Periodontol*. 71:1554-60.

Hiroshi A. Metabolism of alkaloids in coffee plants. *Braz. J. Plant Physiol*. vol.18 no.1 Londrina Jan./Mar. 2006

Jain A., Batista EL., Serhan C., Stahl GL., Van Dyke TE (2003) The role for periodontitis in the progression of lipid deposition in animal model. *Infection and Immunity*. Okt 2003, p. 6012-6018

Kozarov EV., Dorn BR., Shelburne CE., Dunn WA., Progulsk-Fox A. 2005. Human Atherosclerotic Plaque Contains Viable Invasive *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis*. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 25:e17

Kullo IJ, Gau GT., Tajik J. 2000. Novel Risk Factor for Atherosclerosis (review). *Mayo Clin. Proc*. 75:369-380 [Livestrong.com](http://www.livestrong.com). Caffeine & Coronary Artery Disease. Akses 10 Maret 2012.

- Li L., Messas E., Batista EL., Levine RA., Amar S. 2002. *Porphyromonas gingivalis* Infection Accelerates the Progression of Atherosclerosis in a Heterozygous Apolipoprotein E-Deficient Murine Model. *Circulation*. 105(7):861.
- Livestrong.com. Can Coffee Create Hardening of the Artery?. Akses 10 Maret 2012
- Lopez-Garcia E, van Dam RM, Qi L, Hu FB. Coffee consumption and markers of inflammation and endothelial dysfunction in healthy and diabetic women. *Am J Clin Nutr*. 2006 Oct;84(4):888-93
- Loos BG., Craandijk J., Hoek FJ., Wertheim-van Dillen. 2000. Elevation of Systemic Markers Related to Cardiovascular Diseases in the Peripheral Blood of Periodontitis Patients. *J Periodontol*. 71:1528-1534
- Madamanchi NR., Vendrov A., Runge MS. 2005. Oxidative Stress and Vascular Disease. . *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 25(1):29-38
- Masten S., Tice R. Cafestol and Kahweol. 1999. http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/chem_background/exsumpdf/cafestol.pdf
- Reis JP, Loria CM, Steffen LM, Zhou X, van Horn L, Siscovick DS, Jacobs DR Jr, Carr JJ coffee, decaffeinated coffee, caffeine, and tea consumption in young adulthood and atherosclerosis later in life: the CARDIA study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2010 Oct;30(10):2059-66
- Renvert S, Ohlsson O, Pettersson T, Persson GR. Periodontitis: a future risk of acute coronary syndrome? A follow-up study over 3 years. *J Periodontol*. 2010 Jul;81(7):992-1000.
- Richard M; Fogoros MD. 2012. Coffee and Heart Disease. <http://heart.disease.about.com>
- Ricketts ML, Boekschoten MV, Kreeft AJ, Hooiveld GJ, Moen CJ, Müller M, Frants RR, Kananmouentalib S, Post SM, Princen HM, Porter JG, Katan MB, Hofker MH, Moore DD. The cholesterol-raising factor from coffee beans, cafestol, as an agonist ligand for the farnesoid and pregnane X receptors. *Mol Endocrinol*. 2007 Jul;21(7):1603-16. Epub 2007 Apr 24.
- Rustan AC, Halvorsen B., Huggett AC., Ranheim T., Drevon CA. Effect of Coffee Lipids (Cafestol and Kahweol) on Regulation of Cholesterol Metabolism in HepG2 Cells *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 1997; 17: 2140-2149
- Serrano CV & de Souza JA. Periodontal Disease as a Potential Risk Factor for Acute Coronary Syndromes. *Arq Bras Cardiol* 2006; 87 : 511-512
- Suryohudoyo P. (2000) Dasar Molekuler Penyakit Aterosklerosis. *Kapita Selekta Ilmu Kedokteran Molekuler*. CV Sagung Seto Jakarta. Pp. 58-65.

- Susilawati IDA., Purwanto. 2012. Patomekanisme induksi *Porphyromonas gingivalis* pada pembentukan foam cell makrofag. Penelitian Fundamental, DP2M Dikti.
- Stelzel M., Conrads G., Pankuweit S., Maisch B., Vogt S., Moosdorf R., Flores-de-Jacoby L. 2002. Detection of *Porphyromonas gingivalis* DNA in aortic tissue by PCR. J. Periodontol. Aug;73(8):868-70.
- Vojdani A. 2000. The Role of Periodontal Disease and other Infections in the Pathogenesis of Atherosclerosis and Systemic Diseases. Immuno-sciences Lab, Inc. Beverly Hills, Ca 90211.