



**PENGARUH EKSTRAK BIJI KOPI ROBUSTA (*Coffea robusta*)  
TERHADAP AKTIVITAS FAGOSITOSIS SEL MONOSIT  
(Penelitian Eksperimental Laboratoris *In-vitro*)**

**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 :

**Sariwivit Intan Permata Asti  
NIM 111610101087**

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : drg. Tantin Ermawati, M.Kes

Dosen Pembimbing Pendamping : drg. Dyah Setyorini, M.Kes

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2015**

## **PERSEMBAHAN**

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Allah SWT, segala puji hanya pada-Mu, terimakasih atas segala rahmat dan anugerah-Mu;
2. Orang tuaku tercinta, Ibunda Siti Aminah dan Ayahanda Anang Supriyanto yang senantiasa memberikan doa dan kasih sayangnya tiada henti, serta yang telah mendidik dan menjadikanku manusia yang lebih baik. Senyum dan kebahagiaan mereka adalah harapan terbesarku;
3. Adikku, Liris Fitriani Rahayu yang senantiasa memberikan saran-saran terbaik dalam menentukan perjalanan hidupku selama ini. Terimakasih telah mencurahkan kasih sayang dan perhatian yang tiada henti kepadaku;
4. Guru-guruku tercinta yang telah mendidik dengan penuh kesabaran mulai dari taman kanak-kanak hingga perguruan tinggi;
5. Dosen-dosen FKG UNEJ yang membimbing dan mendidik saya selama menempuh pendidikan dokter gigi;
6. Agama, Bangsa dan Negara, serta almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

## **MOTTO**

Karena sebaik-baiknya ilmu adalah yang diamalkan,  
sebaik-baiknya harta adalah yang disedekahkan, dan sebaik-baiknya manusia  
adalah yang menebar manfaat bagi sesama  
(HR. Bukhori dan Muslim)

“..mintalah kepada-Ku, maka akan Ku perkenankan pintamu..”  
(Q.S. Al Mukminin; 60)\*

---

\*) Departemen Agama Republik Indonesia.2007. Al-Qur'an dan Terjemahannya.  
Bandung: Diponegoro

## **PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Sariwiwit Intan Permata Asti

Nim : 111610101087

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya tulis ilmiah yang berjudul “Pengaruh Ekstrak Biji Kopi Robusta (*Coffea robusta*) Terhadap Aktivitas Fagositosis Sel Monosit” 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 manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 5 Agustus 2015

Yang menyatakan,

Sariwiwit Intan Permata Asti

NIM. 111610101087

**SKRIPSI**

**PENGARUH EKSTRAK BIJI KOPI ROBUSTA (*Coffea robusta*) TERHADAP  
AKTIVITAS FAGOSITOSIS  
SEL MONOSIT**

Oleh

**SARIWIWIT INTAN PERMATA ASTI**

**NIM 111610101087**

Pembimbing

**Dosen Pembimbing Utama : drg. Tantin Ermawati, M.Kes**

**Dosen Pembimbing Pendamping : drg. Dyah Setyorini, M.Kes**

## PENGESAHAN

Skripsi ini berjudul “Pengaruh Ekstrak Biji Kopi Robusta (*Coffea robusta*) Terhadap Aktivitas Fagositosis Sel Monosit” telah diuji dan disahkan pada:

Hari, tanggal :

Tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Penguji Utama

Penguji Anggota

drg. Dwi Merry Christmarini R, M.Kes  
NIP. 197712232008122002

drg. Hj. Herniyati, M.Kes  
NIP. 195909061985032001

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping

drg. Tantin Ermawati, M.Kes  
NIP. 198003222008122003

drg. Dyah Setyorini, M.Kes  
NIP. 196604012000032001

Mengesahkan  
Dekan Fakultas Kedokteran Gigi  
Universitas Jember

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

## RINGKASAN

**Pengaruh Ekstrak Biji Kopi Robusta (*Coffea robusta*) terhadap Aktivitas Fagositosis Sel Monosit;** Sariwiwit Intan Permata Asti; 111610101087; 2015; 66 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Aktivitas fagositosis merupakan proses yang dilakukan oleh sel darah putih dengan cara membunuh mikroorganisme asing yang masuk ke dalam tubuh. Sel yang membunuh tersebut adalah sel fagosit yang terdiri dari sel neutrofil (60%), sel monosit (5%) dan sel eosinofil (65%). Sel monosit lebih efektif terhadap proses fagositosis, karena monosit memiliki umur yang lebih panjang dibandingkan dengan sel fagosit lainnya (Price, 2007).

Aktivitas fagositosis monosit dapat dipengaruhi oleh tanaman obat-obatan, salah satunya adalah kopi robusta (*Coffea robusta*) dengan kandungan senyawa antioksidan yang mampu meningkatkan sistem pertahanan tubuh terhadap agen infeksi yang masuk kedalam tubuh. Senyawa antioksidan dapat mempertahankan viabilitas sel monosit, sehingga sel monosit lebih efektif dalam memfagosit agen infeksi. Senyawa antioksidan tersebut antara lain adalah kafein, fenol dan asam klorogenat yang dapat meningkatkan aktivitas fagositosis, dan memiliki fungsi opsonin untuk membungkus permukaan agen infeksi dan membantu sel fagosit memakan agen infeksi. Agen infeksi terdiri atas virus, bakteri, parasit, antigen dan lain-lain. Antigen merupakan molekul asing yang dapat memicu respon imun, seperti antigen lateks. Aktivitas fagositosis dapat di uji menggunakan antigen lateks yang merupakan makromolekul yang terdiri atas protein atau polisakarida yang bertindak sebagai benda asing di dalam tubuh (Tjahajati, 2006).

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui pengaruh ekstrak biji kopi robusta (*Coffea robusta*) terhadap aktivitas fagositosis sel monosit dan mengetahui konsentrasi ekstrak biji kopi robusta yang paling efektif dalam meningkatkan aktivitas fagositosis sel monosit.

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris *in vitro* dengan rancangan penelitian *the post test only control group design*. Penelitian dilakukan pada bulan Agustus 2014-Januari 2015, bertempat di Laboratorium *bioscience*, Rumah Sakit Gigi dan Mulut Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Kriteria sampel yang digunakan berupa sel monosit dari darah vena perifer orang sehat. Jumlah sampel yaitu 16 sampel yang terbagi dalam 4 kelompok, yaitu kelompok I adalah sel monosit yang diberi suspensi antigen lateks, kelompok II adalah sel monosit yang dipapar ekstrak biji kopi robusta konsentrasi 25% ditambahkan antigen lateks, kelompok III adalah sel monosit yang dipapar ekstrak biji kopi robusta konsentrasi 50% ditambahkan antigen lateks, dan kelompok IV adalah sel monosit yang dipapar ekstrak biji kopi robusta konsentrasi 100% ditambahkan antigen lateks. Pembuatan ekstrak dari biji kopi robusta menggunakan metode maserasi, kemudian dilakukan pengenceran untuk memperoleh konsentrai 25%, 50%, 100%. Isolasi monosit dilakukan dengan menggunakan teknik *gradient density*. Uji aktivitas fagositosis dilakukan dengan pemaparan antigen lateks dengan pengamatan di bawah mikroskop *inverted* perbesaran 400x, selanjutnya menghitung jumlah monosit yang aktif (telah memfagosit antigen lateks) per100 sel monosit pada setiap *coverslip*.

Data dianalisis menggunakan uji normalitas *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas *Levene test*, kemudian dilanjutkan uji *One Way Anova* dan uji beda *LSD (Least Significance Difference)*. Berdasarkan analisis data yang dilakukan dapat diketahui bahwa antara kelompok kontrol dengan kelompok ekstrak biji kopi robusta konsentrasi 25% dan 50% terdapat perbedaan bermakna ( $\alpha < 0,05$ ), tetapi kelompok kontrol dengan ekstrak 100% tidak terdapat perbedaan bermakna ( $\alpha > 0,05$ ). Kesimpulan yang didapat dari hasil penelitian ini adalah ekstrak biji kopi robusta konsentrasi 25% dan 50% berpengaruh dalam meningkatkan aktivitas fagositosis sel monosit, sedangkan konsentrasi 100% menunjukkan penurunan aktivitas fagositosis sel monosit. Konsentrasi ekstrak biji kopi robusta yang paling efektif meningkatkan proses fagositosis sel monosit adalah 25%.

## PRAKATA

Segala puji dan syukur kehadirat Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Ekstrak Biji Kopi Robusta (*Coffea robusta*) Terhadap Aktivitas Fagositosis Sel Monosit”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat penyelesaian pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penulis menyadari bahwa dalam menyelesaikan karya tulis ini tidak lepas dari bimbingan dan bantuan dari berbagai pihak. Untuk itu dalam kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes, Sp.Pros, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember beserta jajarannya;
2. drg. Tantin Ermawati, M.Kes, selaku Dosen Pembimbing Utama dan drg. Dyah Setyorini, M.Kes, selaku Dosen Pembimbing Pendamping atas bimbingan, pengarahan, waktu serta perhatian dalam penyusunan skripsi ini;
3. drg. Dwi Merry Christmarini R, M.Kes, selaku Dosen Penguji Utama dan drg. Hj. Herniyati, M.Kes, selaku Dosen Penguji Anggota atas masukan pemikiran dan saran yang membangun demi kesempurnaan skripsi ini;
4. drg. Wulan Agustin Suci Dharmayanti, MD.Sc, selaku Dosen Pembimbing Akademik yang selalu memantau dan memberikan perhatian, masukan serta motivasi dari awal semester hingga terselesaikannya skripsi ini;
5. Kedua orang tua, Ir. Anang supriyanto dan Dra. Siti Aminah atas doa, rahmat, dan limpahan kasih sayang serta dukungan moril yang tiada batas;
6. Kakak sepupuku tercinta, Risti Valentina Huri yang selalu memberikan saran, pengarahan, dukungan serta menemani disaat suka dan duka;
7. Adik-adikku tersayang, Liris Fitriani Rahayu dan Ahmad Edra Pahlevi yang selalu membuatku tertawa;

8. Sahabatku, Deo Agusta Rachmana Putri dan Dwi Sri Lestari yang selalu setia menemani disaat suka dan duka, selalu memberi dukungan, semangat dan saran demi kesempurnaan skripsi ini;
9. Rekan penelitian skripsiku, Dinda Martinda atas bantuan dan kerjasamanya;
10. Teman-teman KKN Kelompok 4 Gelombang I 2014 Kel. Slawu, Ayu Dwi Cahyaningrum, Rakotoarisoa Mandaniaina, dan Andri Gutomo yang selalu membantu dan menemani dalam penelitian skripsi ini;
11. Staff taman baca Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember dan Perpustakaan Universitas Jember atas bantuannya dalam penyediaan literatur yang penulis butuhkan;
12. Teman-teman seperjuanganku angkatan 2011 Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember atas segala bantuan dan kerjasamanya dalam menuntut ilmu, semoga kita semua menjadi dokter gigi masa depan yang baik;
13. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
14. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah membantu serta memberikan dorongan pada penulis selama proses penyelesaian karya tulis ilmiah ini.

Penulis menyadari skripsi ini masih jauh dari sempurna, maka penulis menerima kritik dan saran yang membangun dari semua pihak untuk melengkapi dan menyempurnakan dengan harapan skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, Agustus 2015

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN .....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN MOTO .....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN .....</b>	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PEMBIMBINGAN .....</b>	<b>v</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN .....</b>	<b>vi</b>
<b>RINGKASAN .....</b>	<b>vii</b>
<b>PRAKATA .....</b>	<b>ix</b>
<b>DAFTAR ISI .....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR SINGKATAN .....</b>	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xv</b>
<b>DAFTAR GAMBAR .....</b>	<b>xvi</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xvii</b>
<b>1. BAB 1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
<b>2.1 Latar Belakang .....</b>	<b>1</b>
<b>2.2 Rumusan Masalah .....</b>	<b>3</b>
<b>2.3 Tujuan Penelitian .....</b>	<b>4</b>
<b>2.4 Manfaat Penelitian .....</b>	<b>4</b>
<b>2. BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>5</b>
<b>2.1 Monosit .....</b>	<b>5</b>
2.1.1. Deskripsi.....	5
2.1.2. Struktur sel.....	5
2.1.3. Diferensiasi.....	6
2.1.4. Fungsi.....	8
<b>2.2 Fagositosis .....</b>	<b>9</b>
2.2.1. Faktor Fagositosis.....	10
2.2.2. Proses Fagositosis Sel Monosit.....	10

2.2.3.	Pembunuhan Mikroba di dalam Proses Fagositosis .....	12
<b>2.3</b>	<b>Kopi .....</b>	<b>13</b>
2.3.1.	Taksonomi dan Deskripsi Kopi Robusta .....	14
2.3.2.	Biji Buah Kopi .....	14
2.3.3.	Komposisi Kimia Biji Kopi .....	16
2.3.4.	Manfaat Biji Kopi .....	17
2.3.4.1.	Senyawa Antioksidan Biji Kopi.....	19
<b>2.4</b>	<b>Antigen Lateks .....</b>	<b>20</b>
2.4.1.	Manifestasi Antigen Lateks .....	22
<b>2.5</b>	<b>Hipotesis .....</b>	<b>23</b>
<b>2.6</b>	<b>Kerangka Konsep .....</b>	<b>24</b>
<b>3.</b>	<b>BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN .....</b>	<b>25</b>
<b>3.1</b>	<b>Jenis Penelitian.....</b>	<b>25</b>
<b>3.2</b>	<b>Waktu dan Tempat Penelitian .....</b>	<b>25</b>
3.2.1.	Waktu Penelitian .....	25
3.2.2.	Tempat Penelitian .....	25
<b>3.3</b>	<b>Identifikasi Variabel .....</b>	<b>25</b>
3.3.1.	Variabel Bebas .....	25
3.3.2.	Variabel Terikat .....	25
3.3.3.	Variabel Terkendali .....	25
<b>3.4</b>	<b>Sampel Penelitian .....</b>	<b>26</b>
3.4.1.	Kriteria Sampel .....	26
3.4.2.	Kelompok Sampel .....	26
3.4.3.	Besar Sampel .....	26
<b>3.5</b>	<b>Definisi Operasional .....</b>	<b>27</b>
3.5.1.	Ekstrak Biji Kopi Robusta .....	27
3.5.2.	Monosit .....	27
3.5.3.	Aktivitas Fagositosis .....	27

3.5.4. Antigen Lateks .....	28
<b>3.6 Alat dan Bahan .....</b>	<b>28</b>
3.6.1. Alat .....	28
3.6.2. Bahan .....	28
<b>3.7 Prosedur Penelitian .....</b>	<b>29</b>
3.7.1. Sterilisasi Alat.....	29
3.7.2. Pembuatan Ekstrak Biji Kopi Robusta .....	29
3.7.3. Pengenceran Ekstrak Biji Kopi Robusta .....	30
3.7.4. Pengambilan Sampel Darah .....	30
3.7.5. Isolasi Sel Monosit .....	30
3.7.6. Fagositosis Monosit dengan Antigen Lateks .....	31
3.7.7. Pembuatan Preparat Monosit .....	32
3.7.8. Perhitungan Fagositosis Sel Monosit .....	32
<b>3.8 Analisis Data .....</b>	<b>33</b>
<b>3.9 Alur Penelitian.....</b>	<b>34</b>
<b>4. BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>35</b>
4.1. Hasil .....	35
4.2 Pembahasan .....	39
<b>5. BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>44</b>
5.1. Kesimpulan .....	44
5.2. Saran .....	44
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>45</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>48</b>

## DAFTAR SINGKATAN

C3	:	<i>Complemen 3</i>
Fc	:	<i>Fragment Crystallisable</i>
GSH	:	<i>Glutathione</i>
Ku/ha/th	:	<i>Kuintal/hektar/tahun</i>
NADPH	:	<i>Nikotinamida Adenin dinukleotida fosfat hidrogen</i>
PH	:	<i>Power of hydrogen</i>

## DAFTAR TABEL

2.1	Komposisi kimia dari biji dan bubuk kopi robusta .....	16
2.2	Protein alergen dalam lateks.....	22
4.1	Hasil prosentase fagositosis sel monosit pada setiap perlakuan .....	36
4.2	Hasil uji normalitas <i>Shapiro-Wilk</i> .....	38
4.3	Hasil uji homogenitas <i>Levene</i> .....	38
4.4	Hasil uji <i>One Way Anova</i> Monosit .....	38
4.5	Hasil uji LSD ( <i>Least Significance Difference</i> ).....	39

## DAFTAR GAMBAR

2.1 Monosit .....	5
2.2 Mikograf elektron sebuah monosit. Letak inti berbentuk kacang yang eksentrik, dan daerah Golginya .....	6
2.3 Diferensiasi monosit .....	7
2.4 Fagositosis sel fagosit (monosit) terhadap antigen lateks.....	9
2.5 Diagram fagositosis monosit memakan partikel-partikel dengan mengalirkan sitoplasma mereka mengelilingi agen asing dan memasukkannya ke dalam bungkus mebran sel (fagosom) .....	11
2.6 Buah kopi jenis robusta .....	15
2.7 Ilustrasi penampang melintang buah kopi.....	15
2.8 Biji kopi robusta.....	16
4.1 Sel monosit pasif tidak melakukan fagositosis terhadap lateks.....	35
4.2 Sel monosit yang aktif melakukan fagositosis terhadap lateks .....	35
4.3 Sel monosit yang mengalami lisis.....	36
4.4 Histogram prosentase sel monosit yang memfagosit lateks pada setiap perlakuan .....	37

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran A. Perhitungan Aktivitas Fagositosis Sel Monosit yang Dipapar Ekstrak Biji Kopi Robusta ( <i>Coffea robusta</i> ).....	48
Lampiran B. Analisis Data .....	49
Lampiran C. Foto Alat dan Bahan Penelitian .....	50
Lampiran D. Gambar Hasil Penelitian .....	55
Lampiran E. <i>Informed Consent</i> .....	63
Lampiran F. <i>Ethical Clearance</i> .....	64
Lampiran G. Identifikasi Tanaman .....	65
Lampiran H. Izin penelitian .....	66

## **BAB 1. PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Masalah kesehatan gigi dan mulut di Indonesia masih banyak dialami oleh sebagian masyarakat Indonesia. Riset Kesehatan Dasar 2007 dan 2013 menyatakan bahwa terjadi peningkatan masalah penyakit gigi dan mulut dari 23,2 % menjadi 25,9 %. Peningkatan prosentase ini menunjukkan bahwa penyakit gigi dan mulut di Indonesia masih belum dapat ditangani dengan tepat, sehingga membutuhkan perhatian lebih untuk menurunkan tingkat penyakit gigi dan mulut di Indonesia (Balitbangkes, Kemenkes, 2013).

Penyakit gigi dan mulut dapat terjadi karena adanya infeksi rongga mulut yang disebabkan serangan dari berbagai agen infeksi, seperti bakteri, virus, jamur, antigen dan lain-lain. Respon imun non spesifik merupakan pertahanan pertama terhadap antigen yang masuk ke dalam tubuh. Salah satu upaya yang dilakukan sistem imun non spesifik dalam mempertahankan diri terhadap masuknya antigen yaitu dengan cara menghancurkan antigen melalui proses fagositosis (Sloane, 2003).

Fagositosis adalah suatu proses yang dilakukan oleh sel darah putih dengan cara membunuh agen asing yang masuk ke dalam tubuh, sel yang mencerna tersebut disebut sel fagosit. Sel fagosit merupakan sel darah putih yang melindungi tubuh dengan memakan mikroorganisme patogen, sehingga berperan dalam pertahanan tubuh terhadap infeksi. Sel fagosit yang berperan dalam proses fagositosis adalah sel neutrofil, sel monosit dan sel eosinofil. Jumlah sel neutrofil dari semua sel darah putih (leukosit) berkisar 60% - 70%; monosit 5%; dan eosinofil 65% (Price, 2007).

Monosit memiliki jumlah yang lebih sedikit dibandingkan dengan neutrofil, tetapi monosit lebih efektif terhadap proses fagositosis. Monosit memberikan pertahanan fagositik yang lebih efektif karena memiliki umur yang lebih panjang

dibandingkan dengan sel fagosit lainnya (Price, 2007). Sel monosit merupakan leukosit (sel darah putih) terbesar yang memiliki banyak sitoplasma dan sedikit basofilik, bentuk intinya bulat atau lonjong sampai berlekuk atau berbentuk tapal kuda. Monosit yang beredar di pembuluh darah memiliki kemampuan memfagosit bakteri, virus, dan kompleks antigen-antibodi dari aliran darah. Serangan agen infeksius pada tubuh akan meningkatkan jumlah sel monosit dalam proses fagositosis. Bertambahnya sel monosit menunjukkan peningkatan aktivitas dari monosit sebagai sel fagosit (Brooks dkk, 2009).

Aktivitas fagositosis monosit dapat dipengaruhi oleh tanaman obat-obatan, salah satunya adalah kopi yang merupakan sumber antioksidan dengan cara membantu meningkatkan kekebalan tubuh terhadap penyakit dan meningkatkan kemampuan sel leukosit (sel darah putih). Winarsi (2007) menyatakan bahwa biji kopi robusta memiliki kandungan antioksidan paling banyak daripada jenis kopi arabika dan liberika. Senyawa antioksidan merupakan zat yang mampu mempertahankan viabilitas sel monosit, yaitu keutuhan bentuk membran sel dan fungsi sel, sehingga sel monosit dapat lebih efektif melakukan aktivitas fagositosis.

Beberapa jenis kopi yang paling banyak dibudidayakan di Indonesia adalah kopi arabika (*Coffea arabica*), kopi liberika (*Coffea liberica*) dan kopi robusta (*Coffea robusta*) (Najiyati dkk, 2009). Kopi robusta mengandung kadar kafein 2%; minyak atsiri 10% - 16%; asam klorogenat 6% - 10%; zat gula 4% - 12%; selulosa 22% - 27%; polifenol 0,2 %. Pada penelitian Kusuma (2011) dan Pangestika (2012) menyebutkan bahwa senyawa asam klorogenat dan fenol telah terbukti dapat meningkatkan aktivitas fagositosis sebagai sistem pertahanan tubuh. Kafein juga berperan dalam pengembangan sistem kekebalan tubuh dengan meningkatkan aktivitas sel fagosit monosit dan memperkuat aktivitas lisozim. Senyawa - senyawa tersebut juga dapat mempermudah aktivitas fagositosis sel monosit, dengan adanya fungsi opsonisasi. Opsonin merupakan zat kimia yang membungkus permukaan antigen dan membantu fagosit memakan antigen (Brooks dkk, 2009).

Uji aktivitas fagositosis dari ekstrak biji kopi robusta dapat dilakukan dengan menggunakan antigen. Antigen merupakan makromolekul atau partikel yang terdiri atas protein atau polisakarida yang bertindak sebagai benda asing dan merangsang respon imun, contoh antigen tersebut yaitu lateks. Lateks merupakan suatu antigen protein yang berasal dari getah karet, dengan total BM  $\pm$  500. Lateks yang masuk ke dalam tubuh akan dikenali sebagai benda asing, dan difagosit oleh monosit. Uji aktivitas fagositosis ini menggunakan bahan lateks, karena bentuknya homogen dan sangat terlihat jelas pada hasil pewarnaan menggunakan Giemsa, yaitu berbentuk bulat pekat dan mengkilap (Siswanto, 2012).

Berdasarkan penjelasan diatas penulis tertarik untuk meneliti aktivitas fagositosis dari sel monosit setelah dilakukan pemaparan ekstrak biji kopi robusta. Konsentrasi ekstrak biji kopi robusta yang digunakan pada penelitian ini didasarkan pada penelitian sebelumnya oleh Chamidah (2012) mengenai respon imun manusia terhadap daya antibakteri ekstrak biji kopi Robusta yaitu 25%, 50% dan 100%. Hasil trial yang telah dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak biji kopi robusta konsentrasi 25% dapat meningkatkan prosentase sel monosit yang memfagosit lateks, sehingga dapat dimungkinkan bahwa ekstrak biji kopi robusta dapat meningkatkan aktivitas fagositosis sel monosit.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang diatas dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

1. Bagaimana pengaruh ekstrak biji kopi robusta (*Coffea robusta*) terhadap aktivitas fagositosis sel monosit?
2. Berapa konsentrasi ekstrak biji kopi robusta (*Coffea robusta*) yang paling efektif untuk meningkatkan aktivitas fagositosis sel monosit dalam variasi konsentrasi 25%, 50% dan 100%?

### **1.3 Tujuan penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mengetahui pengaruh ekstrak biji kopi robusta (*Coffea robusta*) terhadap aktivitas fagositosis sel monosit
2. Mengetahui konsentrasi ekstrak biji kopi robusta (*Coffea robusta*) yang paling efektif dalam meningkatkan aktivitas fagositosis sel monosit.

### **1.4 Manfaat Penelitian**

Manfaat yang diperoleh dari penelitian ini adalah:

1. Memberikan informasi kepada masyarakat bahwa ekstrak biji kopi robusta (*Coffea robusta*) bermanfaat dalam proses pertahanan tubuh terhadap mikroorganisme asing yang menginfeksi rongga mulut.
2. Sebagai pertimbangan dalam bidang kedokteran gigi mengenai manfaat ekstrak biji kopi robusta (*Coffea robusta*) yang memiliki kemampuan fagositosis terhadap mikroorganisme asing yang masuk ke rongga mulut.
3. Penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai pertimbangan bagi penelitian selanjutnya yang berkaitan dengan sistem pertahanan tubuh manusia, khususnya proses fagositosis.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Monosit

#### 2.1.1. Deskripsi

Monosit merupakan sel darah terbesar dengan jumlah 2-8% dari leukosit (darah putih) normal. Jumlah absolutnya berkisar 200 sampai 600 monosit per milimeter. Monosit ini biasanya sangat mudah dikenali dalam darah, dikarenakan ukurannya yang sangat besar (Cormack, 2009).

Monosit berada dalam darah selama 10-20 jam sebelum mengembara melalui membran kapiler ke dalam jaringan. Ketika masuk ke dalam jaringan, sel-sel ini membengkak sampai ukurannya menjadi besar untuk menjadi makrofag jaringan (Guyton, 2010).



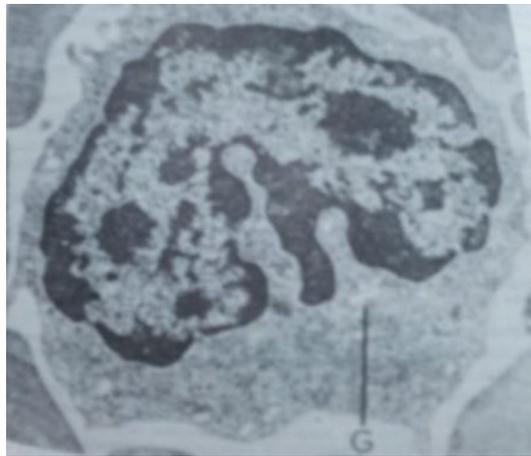
Gambar 2.1 Monosit  
Sumber: Cormack, 2009

#### 2.1.2. Struktur Sel

Memiliki diameter 9 sampai 10  $\mu\text{m}$  tetapi dalam perlakuan hapusan darah sel tersebut menjadi pipih dengan diameter  $\pm 20 \mu\text{m}$ . Inti terletak eksentris dalam sel, terlihat mempunyai lekukan yang dalam atau berbentuk tapal kuda. Bahan kromatin

dalam inti tersusun seperti jala-jala halus, sehingga inti terlihat gelap seperti pada sajian hapus pada limfosit. Sitoplasma relatif banyak dengan hapusan *Wright* berupa biru keabu-abuan pada sajian kering. Sitoplasma ini sering tampak seperti jala-jala atau bervakuola (Leeson dkk, 2008). Monosit mempunyai sitoplasma agranular dan inti bentuk bulat dengan posisi cenderung pada satu sisi dan mengandung banyak lisosom dan mempunyai aparatus Golgi (Johnson, 2007).

Inti sel monosit yang dilihat melalui mikrogaf elektron tampak berlekuk seperti pada gambar 2.1. Terdapat banyak kromatin padat perifer, dan lebih ke pusat, sedikit kromatin terurai dan dua atau lebih anak inti mungkin terlihat. Pada sitoplasma terdapat aparat Golgi yang cukup jelas. Ciri sitoplasma lainnya ialah cukup banyak ribosom dan polisom, sedikit rER, dan sejumlah mitokondria kecil. Granula padat kecil-kecil dengan garis tengah antara 0,3  $\mu\text{m}$  sampai 1,6  $\mu\text{m}$ , granula inti adalah lisosom dan dapat disamakan dengan granula azurofilik halus (Cormack, 2009).



Gambar 2.2 Mikograf elektron sebuah monosit. Letak inti berbentuk kacang yang eksentrik, dan daerah Golginya (G)

Sumber: Cormack, 2009

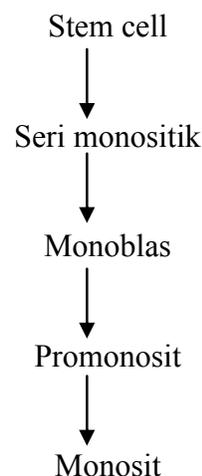
### 2.1.3. Diferensiasi

Monosit berasal dari diferensiasi sel-sel tulang belakang. Pada sumsum tulang belakang terdapat sel pangkal umum (*undifferentiated stem cell*) yang

berdiferensiasi menjadi seri mielositik, seri ribrisitik, seri trombositik, seri limfositik ke seri monositik. Seri monositik berdiferensiasi menjadi monoblas kemudian menjadi promonosit (Halim, 2010).

Monoblas berkembang menjadi promonosit yang diameternya sekitar 15  $\mu\text{m}$ . Memiliki inti yang lonjong atau berlekuk dengan pola kromatin halus serta dua atau lebih anak inti. Sel ini berkembang menjadi monosit, yang terdapat baik dalam sumsum tulang maupun dalam darah. Ukuran monosit agak lebih kecil dari promonosit yaitu berkisar 10 – 12  $\mu\text{m}$ , dengan anak inti yang tidak jelas. Sitoplasma mengandung banyak sekali granula azurofil yang halus, yang memberikan reaksi peroksida aktif. Monosit akan meninggalkan darah lalu masuk ke jaringan, dengan jangka hidup sebagai makrofag berkisar  $\pm 70$  hari (Leeson dkk, 2008).

Promonosit yang masak akan menjadi monosit yang bersirkulasi dalam darah. Monosit menghabiskan waktu 20 sampai 30 jam di dalam aliran darah. Transisi dari monosit menjadi makrofag diikuti dengan meningkatnya sejumlah besar fagosit, digestif dan sintetik dalam sel, terutama sitoplasmanya membesar, fagosomnya muncul membran yang menjadi lebih berliku-liku, lisosom menjadi lebih banyak, aparat Golgi membesar dan retikulum endoplasma kasar berkembang (Spector, 2008).



Gambar 2.3 Diferensiasi monosit  
Sumber: Halim, 2010

#### 2.1.4. Fungsi

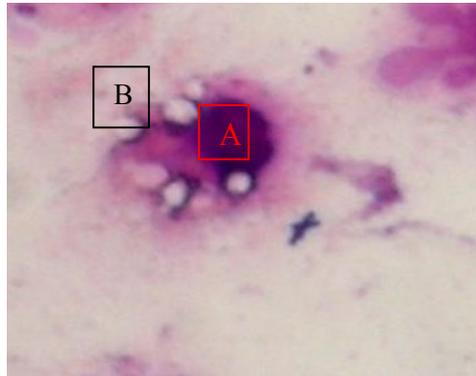
Monosit merupakan sel yang berdiferensiasi menjadi makrofag. Makrofag berperan dalam proses fagositosis, yang berperan untuk menyerang antigen yang masuk ke dalam tubuh. Oleh karena itu, sel ini mempunyai peranan penting dalam perlindungan tubuh terhadap mikroorganisme dengan kemampuannya sebagai fagosit. Monosit memfagosit bakteri hidup yang masuk ke sistem peredaran darah. Monosit yang memasuki jaringan ikat sebagai fagosit, kadang – kadang disebut histiosit (Johnson, 2007).

Monosit-makrofag bekerja dalam tiga cara yang berbeda yang saling berhubungan dengan fungsi pertahanan host. Kategori sistem fungsi pertahanan host oleh monosit-makrofag terdiri atas: (a) Fagositosis; (b) Presentasi antigen dan induksi respon imun; (c) Sekresi biologi molekul aktif (Turgeon, 2011). Menurut Cormack (2009), monosit yang beredar dalam aliran darah memiliki kemampuan memfagosit bakteri, virus, dan kompleks antigen-antibodi dari aliran darah, namun kemampuan fagositosis monosit tidak sebesar yang terdapat pada makrofag jaringan.

Proses fagositosis adalah sebagian dari respons imun non spesifik dan yang pertama kali mempertemukan host dengan benda asing. Istilah endositosis lebih umum dan mempunyai dua arti yaitu fagositosis (pencernaan partikel) dan pinositosis (pencernaan nonpartikel, misalnya cairan). Sel yang berfungsi menelan dan mencerna partikel atau substansi cairan disebut sel fagositik, terdiri dari sel fagosit mononuklear dan fagosit polimorfonuklear. Untuk menelan partikel atau patogen, fagosit memperluas bagian membran plasma kemudian membungkus membran di sekeliling partikel hingga terbungkus. Ketika berada di dalam sel, patogen yang menginvasi disimpan di dalam endosom kemudian bersatu dengan lisosom. Lisosom mengandung enzim dan asam yang membunuh dan mencerna partikel atau organisme (Guyton, 2010).

## 2.2 Fagositosis

Imunitas spesifik melibatkan sel-sel tubuh dan cairan tubuh. Elemen sel ini terdiri atas limfosit dan fagosit. Fagositosis adalah masuknya partikel asing, terutama bakteri ke dalam sitoplasma sel. Fagosit profesional yang sangat berperan ini adalah leukosit polimorfonuklear dan makrofag. Sel-sel ini akan mengingesti partikel asing dalam ketiadaan kontak sebelumnya dengan partikel-partikel tersebut, tetapi kemampuan dalam fagositosis dipengaruhi oleh adanya zat kimia (antibodi) yang telah diproduksi tubuh sebagai akibat adanya kontak tersebut (Spector, 2008).



Gambar 2.4 Fagositosis sel fagosit (monosit) terhadap antigen lateks, (A) sel monosit dan (B) lateks.

Sumber: Spector, 2008

Ketika terjadi kontak infeksi bakteri, jumlah sel fagosit yang beredar sering mengalami peningkatan. Fungsi utama sel-sel fagosit adalah migrasi, kemotaksis, memakan dan mematikan mikroorganisme. Mikroorganisme atau partikel asing yang memasuki saluran getah bening, paru-paru, sumsum tulang atau pembuluh darah akan ditelan oleh salah satu dari berbagai sel fagosit. Sel fagosit terdiri atas leukosit polimorfonuklear (polimorf), monosit fagosit (makrofag), dan makrofag tertentu pada sistem retikuloendotelial. Banyak mikroorganisme menghasilkan faktor kemotaksis yang menarik sel-sel fagosit (Brooks dkk, 2009).

Peningkatan pengambilan sel oleh antibodi khusus terhadap partikel tertentu menunjukkan proses fagositosis sebagai imunitas spesifik. Proses meningkatnya fagositosis oleh zat-zat tersebut disebut dengan *opsonisasi*. Prosesnya terdiri atas

molekul opsonin melekatkan diri ke permukaan fagosit dan permukaan bakteri, yang bertindak sebagai perekat. Perlekatan yang ketat antara bakteri dan permukaan sel harus mendahului ingesti, perlekatan tersebut merupakan stadium inisial fagositosis. Permukaan sel-sel fagosit mempunyai dua lokasi pengikatan atau reseptor khusus untuk opsonin. Salah satunya ialah reseptor Fc (*Fragment Crystalizable*) yang mengikat antibodi IgM dan IgG (Spector, 2008).

### 2.2.1 Faktor Fagositosis

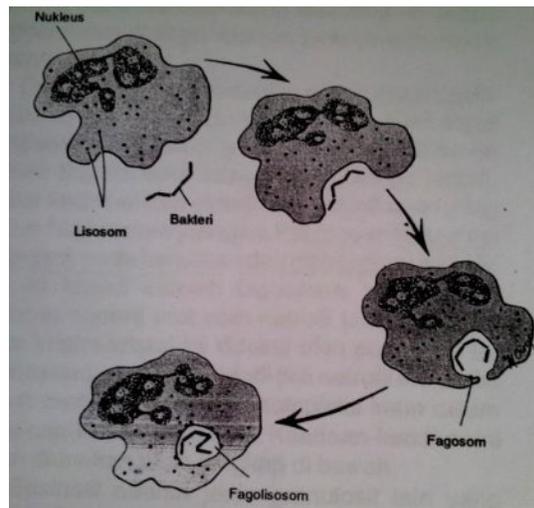
Proses fagositosis akan lebih efisien dengan adanya antibodi zat kimia (opsonin) yang membungkus permukaan bakteri dan membantu fagosit memakan bakteri. Opsonin dapat terjadi melalui tiga mekanisme: (1) antibodi zat kimia sendiri dapat berperan sebagai opsonin; (2) antibodi zat kimia ditambah dengan antigen dapat mengaktifkan komplemen melalui jalur klasik untuk menghasilkan opsonin; (3) opsonin dapat dihasilkan oleh suatu sistem yang tidak tahan panas dimana imunoglobulin atau faktor lain mengaktifkan C3 melalui jalur alternatif. Pada selaput makrofag terdapat reseptor untuk bagian Fc dari antibodi dan reseptor untuk komponen C3 dari komplemen. Hal ini membantu fagositosis terhadap partikel-partikel yang terbungkus antibodi zat kimia (Brooks dkk, 2009).

### 2.2.2 Proses Fagositosis Sel Monosit

Sel monosit dalam sirkulasi darah memiliki umur yang lebih panjang yaitu 3 sampai 4 kali daripada umur granulosit. Pada reaksi peradangan akut, monosit bersamaan dengan neutrofil mulai bermigrasi ke pusat peradangan dengan jumlah yang lebih sedikit dan dengan kecepatan yang lebih lambat. Jika peradangan terjadi lebih lama, maka presentase sel monosit akan bertambah (Guyton, 2010).

Sel fagosit yang berada dalam aliran darah disebut monosit, sedangkan yang terdapat dalam jaringan disebut makrofag. Sel-sel fagosit mencakup monosit darah dan makrofag yang saling bekerjasama melawan agen infeksius disebut dengan monosit-makrofag. Monosit-makrofag merupakan sel yang bergerak aktif memberi

respon terhadap rangsang kemotaksis, fagosit aktif, dan mampu mematikan serta mencerna berbagai infeksius. Monosit-makrofag dapat bertahan berminggu-minggu bahkan berbulan-bulan dalam jaringan. Monosit dapat dirangsang untuk membelah dalam jaringan dan dapat memberi respon terhadap keadaan lokal dengan mensintesis sejumlah enzim intraselular. Oleh karena itu monosit akan menjadi lebih efektif dan efisien dalam mematikan dan mencerna agen infeksius (Price, 2007).



Gambar 2.5 Diagram fagositosis monosit memakan partikel-partikel dengan mengalirkan sitoplasma mereka mengelilingi agen asing dan memasukkannya ke dalam bungkus membran sel (fagosom)

Sumber: Price, 2007

Proses fagositosis diawali dengan sel monosit yang mendekati agen asing yang akan difagositosis (Gambar 2.5). Kemudian sel monosit akan mengalirkan sitoplasma yang akan mengelilingi agen asing tersebut, dan akhirnya agen asing tersebut masuk ke dalam bungkus sitoplasma (Price, 2007).

Setelah mencerna agen asing dan memasukkannya ke dalam sitoplasma dalam *vakuola fagositosis* atau *fagosom* tugas berikutnya adalah mematikan agen asing tersebut. Untuk mematikan agen asing tersebut dapat dilakukan dalam 2 cara, yaitu perubahan PH dalam sel setelah fagositosis, melepaskan zat-zat antibakteri ke dalam vakuola fagositosis dan pembentukan zat antibakteri seperti hidrogen peroksida sebagai hasil metabolisme sel yang dimulai setelah proses fagositosis. Pencernaan

partikel yang terkena fagositosis itu umumnya diselesaikan di dalam vakuola dengan penyatuan lisosom dan fagosom. Agen infeksius yang sudah mati akibat peristiwa tersebut akan dikeluarkan dari sel monosit (Price, 2007).

Proses fagositosis yang dinyatakan oleh Price (2007) dapat dibantu oleh zat-zat tertentu yang melapisi obyek agen asing untuk dicernakan dan membuatnya lebih mudah dimasukkan ke dalam sel. Zat yang mempermudah aktivitas fagositosis ini, dinamakan opsonin. Opsonin mencakup imunoglobulin (antibodi) dan komponen-komponen sistem komplemen. Proses fagositik dapat dipermudah dengan adanya antibodi zat kimia. Karena partikel-partikel yang diselimuti antibodi zat kimia akan dapat ditelan secara efisien (Bellanti, 2008).

### 2.2.3 Pembunuhan Mikroba di dalam Proses Fagositosis

Pencegahan penyakit infeksi yang ditimbulkan oleh bakteri pada hakekatnya merupakan stabilisasi hubungan antara manusia dan mikroorganisme. Proses stabilisasi ini merupakan keseimbangan fagositosis dan pembunuhan intrasel terhadap organisme tersebut. Mikroorganisme yang difagosit oleh granulosit akan kurang efisien bila terdapat kurangnya oksigen ataupun adanya racun pernapasan seperti sianida. Jika tidak terjadi pemakaian ledakan oksigen pasca fagositosis maka juga tidak terjadi peningkatan aktivitas metabolik dan *hidrogen peroksida*. Sehingga pembunuhan bakteri terganggu dan jika tidak ada *mieloperoksidase*, pembunuhan bakteripun akan terhambat (Spector, 2008).

Ledakan respirasi pada fagositosis yang terpenting adalah pembentukan anion superoksida ( $O_2^-$ ). *Superoksida* terbentuk dari oksigen biasa yang merupakan langkah pertama dalam reduksi oksigen menjadi air. Transformasi oksigen menjadi *superoksida* tergantung pada NADPH oksidase dalam membran sel yang diaktifkan oleh fagositosis. *Superoksida* dengan mudah membentuk  $H_2O_2$  dan juga menyebabkan munculnya gugus halida bebas. *Superoksida* juga dapat menyebabkan pembentukan aldehida-bakterisid atau gugus hidroksil bebas, namun pengaruh utamanya terhadap bakteri dilakukan melalui pembentukan  $H_2O_2$  (Spector, 2008).

Granulosit memiliki mekanisme lain yang memiliki tingkat keasaman dalam fagolisosom tinggi, karena oleh akumulasi asam laktat sebagai akibat dipercepatnya glikolisis dan PH yang rendah 3,5-4. Sel monosit mengandung enzim *lisozim* yang mampu menyerang dinding sel bakteri hidup dan membunuhnya, terutama jika komplemen atau  $H_2O_2$  atau asam askorbat (vitamin C) juga ada. Lisosom mengandung *protein kation* seperti *laktoferin* yang letal untuk beberapa jenis bakteri. *Hidrogen peroksida* itu sendiri dapat membunuh bakteri dengan atau tanpa bantuan *katalase*. Makrofag juga menghasilkan anion superoksida bila dirangsang, meskipun kurang efisien daripada granulosit. Makrofag tidak mempunyai mieloperoksidase namun mengandung katalase dan GSH (glutathion tereduksi) peroksidase, keduanya dapat mengkatalisis pengaruh bakterisid  $H_2O_2$ . Peroksidase dan  $H_2O_2$  dapat membunuh bakteri secara langsung atau dengan pembentukan gugus halida bebas (Spector, 2008).

Fagositosis dan pembunuhan mikroorganisme oleh makrofag dalam menanggapi aktivitas oleh limfosit T yang dikebalkan secara khusus merupakan salah satu manifestasi paling penting imunitas diperantarai sel. Istilah ini berarti antibodi yang beredar tidak memegang peranan yang nyata dalam reaksi yang terlibat (Spector, 2008).

### 2.3 Kopi

Kopi merupakan spesies tanaman berbentuk pohon yang termasuk dalam famili *Rubiaceae* dan genus *Coffea*. Tanaman ini tumbuh dengan tegak, bercabang, dan bila dibiarkan tumbuh dapat mencapai tinggi 12 m. Daunnya bulat telur dengan ujung agak meruncing. Daun tumbuh berhadapan dengan batang, cabang dan ranting-rantingnya (Najiyati dkk, 2009)

Tanaman ini merupakan jenis tanaman tropis yang dapat tumbuh di mana-mana, kecuali tempat yang terlalu tinggi dengan temperatur sangat dingin atau daerah tandus yang tidak cocok bagi kehidupan tanaman. Indonesia memiliki 3 jenis kopi yang dikembangkan, yaitu kopi arabika (*Coffea arabica*), kopi robusta (*Coffea*

*robusta*), dan kopi liberika (*Coffea liberica*). Namun, pada umumnya penduduk Indonesia lebih banyak menanam kopi jenis robusta, sedangkan kopi arabika hanya ditanam berkisar 10 % (Herman, 2003).

### 2.3.1. Taksonomi dan Deskripsi Kopi Robusta (*Coffea robusta*)

Taksonomi tanaman kopi jenis robusta yaitu:

Kingdom	: <i>Phylum</i>
Divisio	: <i>Spermathophyta</i>
Sub Divisio	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Dicotyledoneae</i>
Ordo	: <i>Rubiales</i>
Genus	: <i>Coffea</i>
Species	: <i>Coffea canephora</i> (Darwish, 1991 dalam Chamidah, 2012)

Kopi robusta berasal dari Kongo dan masuk ke Indonesia pada tahun 1900. Kopi jenis ini memiliki sifat lebih unggul dan sangat cepat berkembang, oleh karena itu jenis ini lebih banyak dibudidayakan oleh petani kopi di Indonesia. Beberapa sifat penting kopi robusta yaitu: (1) Resisten terhadap penyakit (HIV); (2) Tumbuh sangat baik pada ketinggian 400-700 m dpl (diatas permukaan laut), tetapi masih toleran pada ketinggian kurang dari 400 m dpl, dengan temperatur 21-24°C; (3) Menghendaki daerah yang mempunyai bulan kering 3-4 bulan secara berturut-turut, dengan 3-4 kali hujan kiriman; (4) Produksi lebih tinggi daripada kopi arabika dan liberika dengan rata-rata  $\pm$  9-13 ku/ha/th). Dan bila dikelola secara intensif dapat berproduksi 20 ku/ha/th; (5) Kualitas buah lebih rendah daripada kopi arabika tetapi lebih tinggi daripada kopi liberika; (6) Rendemen  $\pm$  22% (perbandingan antara berat biji kopi dengan biji kopi yang telah menjadi bubuk) (Najiyati dkk, 2001).

### 2.3.2. Biji Buah Kopi

Tanaman kopi akan mulai berbunga setelah berumur  $\pm$  2 tahun. Bunga ini akan keluar dari sela-sela 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 dkk, 2001).

Buah terdiri dari daging buah dan biji. Daging buah terdiri atas 3 bagian lapisan kulit luar (eksokarp), lapisan daging (mesokarp) dan lapisan kulit tanduk (endokarp) yang tipis tetapi keras. Buah kopi memiliki dua biji, tetapi kadangkala hanya mengandung 1 butir atau bahkan tidak berbiji sama sekali. Biji ini terdiri atas kulit biji dan endosperm. Endosperm merupakan bagian yang bisa dimanfaatkan sebagai bahan untuk membuat minuman kopi (Najiyati dkk, 2001).



Gambar 2.6 Buah kopi jenis robusta  
Sumber: Panggabean, 2011

Daging buah kopi yang sudah matang mengandung lendir dan senyawa gula yang rasanya manis. Kulit tanduk buah kopi memiliki struktur agak keras dan membungkus sepasang biji kopi. Bagian dalam dari buah kopi adalah biji kopi. Susunan biji kopi yaitu: (1) Kulit ari; (2) Lembaga; (3) Celah atau *center cut* (Panggabean, 2011).



Gambar 2.7 Ilustrasi penampang melintang buah kopi  
Sumber: Panggabean, 2011



Gambar 2.8 Biji kopi robusta  
Sumber: Panggabean, 2011

### 2.3.3. Komposisi Kimia Biji Kopi

Komposisi kimia dari biji kopi bergantung pada spesies dan varietas dari kopi tersebut serta factor-faktor lain yang berpengaruh antara lain lingkungan tempat tumbuh, tingkat kematangan dan kondisi penyimpanan. Proses pengolahan juga akan mempengaruhi komposisi kimia dari kopi. Misalnya penyangraian akan mengubah komponen yang labil yang terdapat pada kopi sehingga membentuk komponen yang kompleks (Panggabean, 2011).

Adapun komposisi kimia dari biji dan bubuk kopi robusta dapat dilihat pada tabel berikut ini:

Tabel 2.1 Komposisi kimia dari biji dan bubuk kopi robusta

Komponen	Biji Kopi	Kopi Bubuk
Mineral	4.0-4.5	4.6-5.0
Kafein	1.6-2.4	~2.0
Trigonelline	0.6-0.75	0.3-0.6
Lipid	9.0-13.0	6.0-11.0
Total Asam Klorogenat	7.0-10.0	3.9-4.6
Asam Alifatik	1.5-2.0	1.0-1.5
Oligosakarida	5.0-7.0	0-3.5
Total Polisakarida	37.0-47.0	-
Asam Amino	2.0	0
Protein	11.0-13.0	13.0-15.0
Asam Humin	-	16.0-17.0

(Sumber: Yusianto, 1999 dalam Panggabean, 2011)

Senyawa-senyawa kimia pada biji kopi dapat dibedakan atas senyawa volatil dan non volatil. Senyawa volatil adalah senyawa yang mudah menguap, terutama jika terjadi kenaikan suhu. Senyawa volatil yang berpengaruh terhadap aroma kopi antara lain golongan aldehid, keton dan alkohol. Senyawa non volatil yang berpengaruh terhadap mutu kopi antara lain kafein, asam klorogenat, hidrokarbonalifatik, asam, alkohol, tiol, furan, piro, piridin, quinon, fenol (asam alifatik) dan amin aromatik (Ramanaviciene dkk, 2003).

Fenol merupakan salah satu senyawa yang berfungsi sebagai antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang melindungi sel tubuh dari serangan radikal bebas. Senyawa fenol meliputi flavonoid (turunan inti flavan), cincin kroman (tokoferol) dan lignan. Fenol juga dapat diklasifikasikan ke dalam komponen yang tidak larut seperti lignin dan komponen yang larut seperti asam fenolik, phenylpropanoids, flavonoid dan kuinon. Asam fenolik terdiri dari asam klorogenat, asam kafeat, asam p-kumarat, dan asam vanilat (Silalahi, 2006).

Menurut Simanjuntak dalam artikel “Ilmu Bahan Makanan: Bahan Penyegar Kopi” menyatakan bahwa biji kopi mengandung protein, minyak aromatis, dan asam-asam organik. Pada umumnya, biji kopi mengandung : (a) Air 48%; (b) Zat bahan kering 50 –52%; (c) Karbohidrat 60%; (d) Karbohidrat dalam kopi dengan jenis dan kadarnya; (e) Minyak 13% [(1) Ester fistosterin, hidrokarbon, dan lilin 2%; (2) Trigliserida 81.3%; (3) Ester asam lemak 15,9%; (4) Sterol bebas 0.39%] (f) Protein 13%; (g) Asam-asam non volatil 8%; (h) Abu 4%; (i) Trigonelin 1%; (j) Kafein robusta 2,0%.

#### 2.3.4. Manfaat Biji Kopi

Menurut Dr. J. Murdoch Ritchie dalam “*The Pharmacological Basis of Therapeutic*”, kafein yang terkandung dalam 1-2 cangkir kopi dapat meningkatkan detak jantung, menambah kecepatan berpikir dan inspirasi, menyembuhkan rasa kantuk dan kelelahan, peningkatan sensor stimulli dan reaksi motorik, melebarkan

pembuluh darah, mendorong aliran sekresi cairan maupun sekresi padat dari dalam tubuh, sehingga badan terasa lebih segar (Ramanaviciene dkk, 2003).

Dalam jumlah yang wajar kafein dapat membantu pikiran, pekerjaan dan pergaulan. Jumlah yang tepat berbeda untuk setiap orang dan efek kafein pada tiap orang berbeda. Secara umum mengkonsumsi 2 sampai 4 cangkir kopi setiap hari memiliki banyak manfaat bagi kesehatan. Kafein banyak memiliki manfaat dan telah banyak digunakan dalam bidang obat-obatan dalam dunia medis. Kafein adalah senyawa kimia hasil metilasi xanthin dengan bentuk dasar heterosiklis yang memiliki sifat farmakologi, sehingga kafein juga dikenal dengan nama 1, 3, 7 trimetil xanthin. Kafein berfungsi untuk merangsang aktivitas susunan saraf dan meningkatkan kerja jantung sehingga jika dikonsumsi dalam jumlah berlebihan akan bersifat racun dengan menghambat mekanisme susunan saraf manusia. Kafein didalam kopi Robusta komposisinya 1,6-2,4%, memiliki peran penting dalam pengembangan Pertahanan tubuh melawan bakteri dengan meningkatkan konsentrasi beberapa sel imunokompeten dan memperkuat aktivitas lisozim. Kandungan asam klorogenik dan asam kafein yang merupakan asam organik non-volatil mampu mencegah pertumbuhan bakteri Gram positif dan negatif, senyawa antibakteri tersebut bekerja dengan cara masuk ke dalam sel dan merusak struktur dinding sel bakteri (Ramanaviciene dkk, 2003).

Sistem kekebalan tubuh yang kuat merupakan suatu keharusan untuk menjaga kesehatan dan mencegah timbulnya penyakit. Fenol juga dapat meningkatkan sirkulasi darah dan meningkatkan kesehatan jantung sehingga menurunkan risiko penyakit jantung dan penyakit kardiovaskular (Prindle dkk, 2000).

Asam klorogenat sangat bagus untuk peningkatan energi karena membantu tubuh melepaskan glukosa. Kandungan asam klorogenat di dalam kopi dapat menghambat penyerapan gula di saluran pencernaan. Berbagai penelitian para ahli juga telah membuktikan bahwa mengkonsumsi atau meminum kopi mampu menurunkan hingga 50% dari resiko diabetes. Asam klorogenat merupakan zat yang berperan sangat penting dalam pembentukan insulin (Prindle dkk, 2000).

#### 2.3.4.1. Senyawa Antioksidan Biji Kopi

Antioksidan merupakan zat yang mampu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas yang mampu merusak struktur membran sel. Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron atau reduktan. Senyawa ini memiliki berat molekul kecil, tetapi mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi, dengan cara mencegah terbentuknya radikal. Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif, sehingga kerusakan sel akan terhambat (Winarsi, 2007)

Senyawa antioksidan akan menjaga integrasi dan berfungsinya membran lipid, protein sel dan asam nukleat. Komponen terbesar yang menyusun membran sel imun adalah senyawa asam lemak tak jenuh yang sensitif terhadap perubahan keseimbangan oksidan-antioksidan. Membran ini merupakan *barrier* (pertahanan) terhadap serangan berbagai benda asing (Winarsi, 2007).

Kopi mengandung senyawa antioksidan yang berperan terhadap manfaat kesehatan, termasuk perlindungan dari berbagai penyakit, seperti penyakit jaringan lunak yang terjadi karena adanya invasi bakteri, virus, antigen, dan lain-lain. Senyawa antioksidan tersebut antara lain adalah kafein, fenol dan asam klorogenat (Winarsi 2007).

Kafein merupakan senyawa alkaloid yang dapat berfungsi sebagai antioksidan. Menurut Handayani dkk (2014) kafein sebagai antioksidan dapat berperan sebagai peredam radikal bebas. Adanya antioksidan dapat membantu tubuh dalam menangkal efek pengrusakan oleh senyawa radikal bebas, seperti penurunan sistem imun. Senyawa kafein mampu melindungi sel imun dari kerusakan jangka panjang (Weinberg dkk, 2002). Menurut Ramanaviciene dkk (2003) kafein memiliki peran dalam pengembangan pertahanan tubuh melawan agen infeksi dengan meningkatkan aktivitas sel imun dan memperkuat aktivitas lisozim.

Fenol mampu menetralkan radikal bebas dengan efek merusak terhadap sel-sel dan jaringan tubuh. Radikal bebas sering dikaitkan sebagai penyebab kerusakan sel yang berhubungan dengan penuaan. Sebagai antioksidan kuat, fenol mampu

memperlambat proses penuaan. Fenol efektif memperkuat sistem kekebalan tubuh. Fenol memiliki mekanisme penghambatan dengan cara meracuni protoplasma agen infeksi dan merusak dinding agen infeksi serta mengendapkan protein agen infeksi (Prindle dkk, 2000).

Richelle dkk (2001) dalam menyatakan bahwa asam klorogenat, yaitu ester dari asam kafeat merupakan komponen terbanyak dalam kopi. Asam klorogenat mampu melawan radikal bebas yang masuk ke dalam tubuh dengan cara mempertahankan struktur normal sel dan fungsinya. Asam klorogenat bekerja dengan cara masuk ke dalam agen asing dan merusak struktur dinding agen asing tersebut (Winarsi 2007).

Mengonsumsi kopi sebagai antioksidan dalam jumlah memadai dilaporkan dapat menurunkan kejadian penyakit degeneratif, seperti kardiovaskuler, kanker, aterosklerosis, osteoporosis, dan lain-lain. Konsumsi makanan yang mengandung antioksidan juga dapat meningkatkan status imunologis dan menghambat timbulnya penyakit degeneratif (Winarsi, 2007).

#### **2.4 Antigen Lateks**

Antigen adalah setiap senyawa yang mampu merangsang sel imun bila diinjeksikan ke dalam pembuluh darah. Senyawa yang dapat merangsang terbentuknya antibodi biasanya merupakan benda asing yang secara genetik tidak dapat disandikan oleh tubuh. Antigen merupakan makromolekul atau partikel yang terdiri atas protein atau polisakarida (Brooks, 2009).

Getah karet alam (*natural rubber latex*) merupakan gabungan partikel yang mengandung 35% cis 1,4 polysoprene (karet), 55-60% air, 5-10% bahan lain (protein, karbohidrat, *resin*, dan lain-lain) berasal dari pohon *Hevea brasiliensis*. Protein yang terdapat dalam getah karet antara 1-1,8% tergantung dari tempat tumbuh, spesies, tempat penyemaian. Saat ini telah terdeteksi sebanyak  $\pm$  200 jenis; telah diketahui beberapa protein yang menyebabkan reaksi alergi. Selain protein, getah karet

mengandung lipid, karbohidrat, kalium, magnesium, seng, mangan, tembaga, besi (Andriyanti, 2010).

Protein alergen yang terdeteksi di dalam karet alam juga terdeteksi pada produk barang jadi lateks, kadang-kadang dalam keadaan terurai atau bergabung dengan protein lain sewaktu pengolahan. Protein mengandung asam amino, dimana asam amino dapat dihidrolisa dengan amonia sehingga protein yang terlarut dalam air jumlahnya meningkat. Selain menambah alergen, pemrosesan (klorinasi, enzim pencernaan, pemanasan) juga dapat mengurai protein alergen menjadi nonalergenik. Dalam sarung tangan *non-ammoniated* didapat  $\pm$  240 polipeptida, hanya 25% dari peptida tersebut yang bereaksi dengan IgE pasien yang alergi terhadap lateks (Andriyanti, 2010).

Antigen lateks pada sarung tangan dapat menyebabkan reaksi alergi sistemik melalui paparan langsung pada kulit maupun penyebaran melalui udara yang diperkirakan terbawa oleh bubuk yang ada pada sarung tangan, menyebabkan rinitis, asma bronkial, reaksi anafilaktik dll. Protein yang terdapat dalam getah karet antara 1–1,8% tergantung dari tempat tumbuh, spesies, dan tempat penyemaian. Saat ini telah terdeteksi sebanyak  $\pm$  200 jenis protein dan telah diketahui beberapa protein yang menyebabkan alergi (Andriyanti, 2010).

Tabel 2.2 Protein alergen dalam lateks

<b>Allergen Subcelluler</b>	<b>Localization</b>
Hev. b1	Large rubber particle
Hev. b2	Lutoids
Hev. b3	Small rubber particle
Hev. b4	Lutoids
Hev. b5	Cytoplasm
Hev. b01	Lutoids
Hev. b02	Lutoids
Hev. b03	Lutoids
Hev. b7	Cytoplasm
Hev. b8	Cytoplasm
Hev. b9	Cytoplasm
Hev. b10	Mitochondria

Sumber: Andriyanti, 2010

#### 2.4.1 Manifestasi Antigen Lateks

Pada tahun-tahun terakhir ini terdapat peningkatan terjadinya reaksi terhadap protein lateks yang dianggap sebagai antigen oleh tubuh. Protein lateks dapat menyebabkan terjadinya respon hipersensitivitas yang cepat, dan reaksi yang timbul bisa berupa urtikaria kontak, rinitis, asma, dan reaksi anafilaktik. Kontak dengan bahan lateks bisa melalui kulit, selaput lendir, inhalasi, jaringan internal, serta intravaskuler. Pada kontak melalui intravena, reaksi bisa timbul melalui pemakaian alat-alat intravena, obat intravena yang disimpan dalam tempat yang mengandung lateks (Natadisastra dkk, 2009).

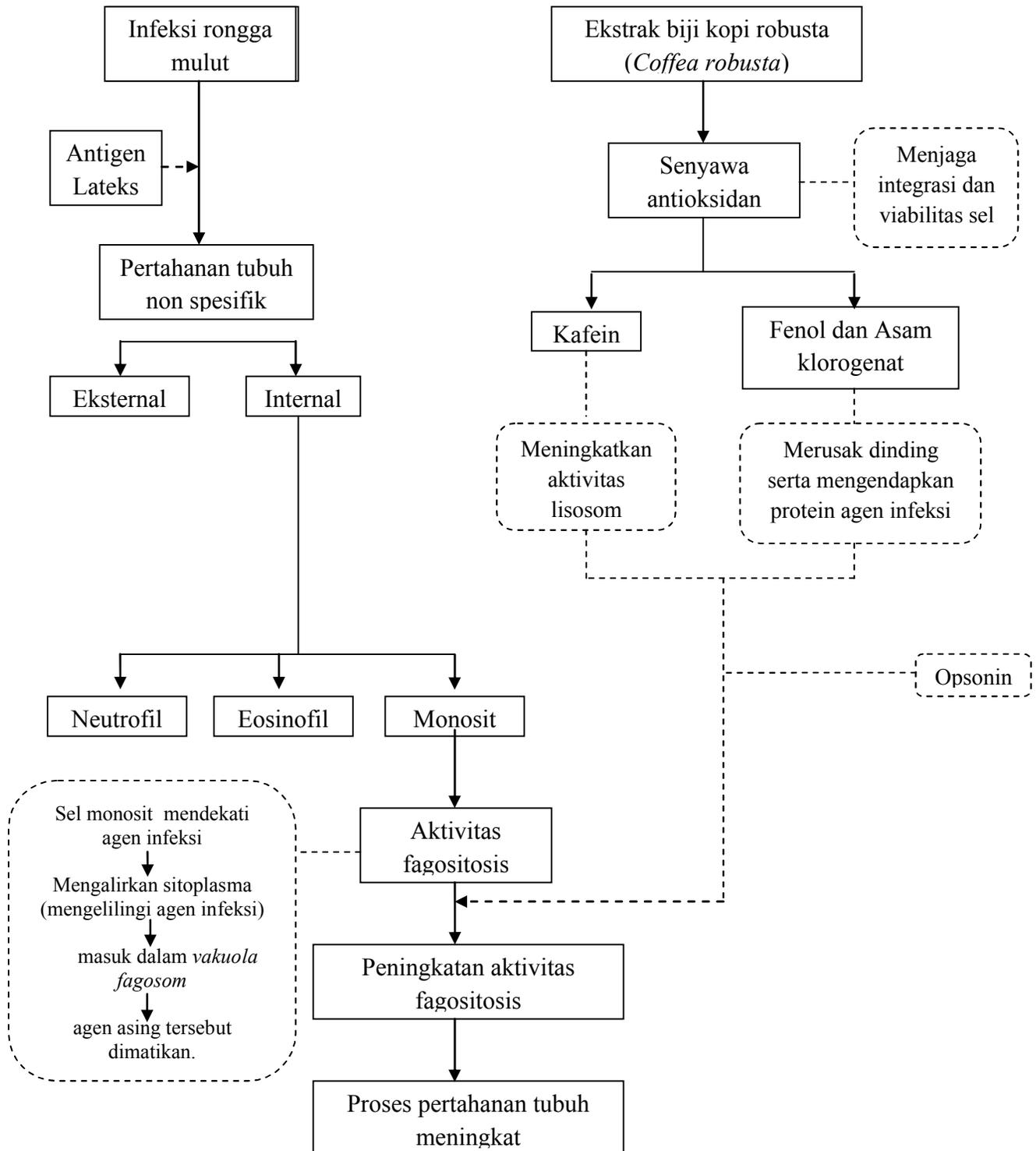
Adanya penolakan tubuh terhadap lateks, menjadikan bahan lateks sebagai antigen oleh para peneliti. Yaitu untuk menguji aktifitas pertahanan tubuh terhadap antigen yang menginfeksi. Uji aktifitas ini menggunakan bahan lateks, karena bentuknya homogen dan sangat terlihat jelas pada hasil pewarnaan menggunakan Giemsa. Lateks juga berfungsi untuk mendeteksi antigen bakteri dengan menggunakan tes aglutinasi lateks (Siswanto, 2012).

## 2.5 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah:

1. Terdapat peningkatan aktivitas fagositosis sel monosit terhadap antigen lateks yang dipapar oleh ekstrak biji kopi robusta (*Coffea robusta*).
2. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak biji kopi robusta, semakin tinggi aktivitas fagositosis sel monosit.

## 2.6 Kerangka konsep



## **BAB 3. METODE PENELITIAN**

### **3.1 Jenis Penelitian**

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris *in vitro*. Suatu proses yang berlangsung diluar tubuh, diterapkan pada prosedur laboratoris (Makfoeld dkk, 2002). Rancangan penelitian yang digunakan adalah *the post test only control group design*, yaitu dengan melakukan pengukuran atau observasi setelah perlakuan diberikan (Notoatmojo, 2005).

### **3.2 Waktu dan Tempat Penelitian**

#### **3.2.1 Waktu Penelitian**

Pelaksanaan penelitian dilakukan pada bulan Agustus 2014 - Januari 2015.

#### **3.2.2 Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium *Bioscience*, Rumah Sakit Gigi dan Mulut Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

### **3.3 Identifikasi Variabel**

#### **3.3.1 Variabel Bebas**

Variabel bebas dari penelitian ini adalah ekstrak biji kopi robusta (*Coffea robusta*).

#### **3.3.2 Variabel Terikat**

Variabel terikat dari penelitian ini adalah prosentase fagositosis sel monosit yang dipapar ekstrak biji kopi robusta (*Coffea robusta*).

#### **3.3.3 Variabel Terkendali**

- a. Konsentrasi ekstrak biji kopi robusta (*Coffea robusta*)
- b. Isolat sel monosit

### 3.4 Sampel Penelitian

#### 3.4.1 Kriteria Sampel

Penelitian ini menggunakan isolat sel monosit yang diperoleh dari darah vena perifer manusia. Sampel darah ini diperoleh dari orang sehat (tidak mempunyai penyakit sistemik) yang telah mengisi *inform consent* dan memenuhi syarat kelayakan etik pada penelitian ini.

#### 3.4.2 Kelompok Sampel

Sampel penelitian dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan, sebagai berikut:

- 1) Kelompok I :Sel monosit ditambahkan suspensi antigen lateks sebagai kelompok kontrol.
- 2) Kelompok II :Sel monosit yang dipapar ekstrak biji robusta konsentrasi 25% ditambahkan suspensi antigen lateks.
- 3) Kelompok III :Sel monosit yang dipapar ekstrak biji kopi robusta konsentrasi 50% ditambahkan suspensi antigen lateks.
- 4) Kelompok IV :Sel monosit yang dipapar ekstrak biji kopi robusta konsentrasi 100% ditambahkan suspensi antigen lateks.

#### 3.5.3 Besar Sampel

Besar sampel pada penelitian ini diambil menurut rumus:

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

Keterangan :

n = Besar sampel tiap kelompok

$\sigma$  = Standar deviasi sampel

d = Kesalahan yang masih dapat ditolerir

z = Nilai pada tingkat kesalahan tertentu, jika  $\alpha = 0,05$  maka  $z = 1,96$

(Daniel, 2005)

Pada penelitian ini nilai  $\sigma$  diasumsikan sama dengan nilai  $d$  ( $\sigma = d$ ) (Stell dan Torie, 1995). Perhitungannya yaitu:

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

$$n = \frac{(1,96)^2 \cancel{\sigma^2}}{\cancel{d^2}} = 3,84 \longrightarrow \text{dibulatkan menjadi 4}$$

Sehingga didapatkan hasil perhitungan 4 sampel untuk setiap kelompok perlakuan.

### 3.5 Definisi Operasional

#### 3.5.1 Ekstrak Biji Kopi Robusta (*Coffea robusta*)

Ekstrak biji dari buah kopi robusta (*Coffea robusta*) merupakan suspensi dari serbuk biji kopi robusta. Biji kopi robusta diperoleh dari perkebunan PTPN XII Durjo Kab. Jember. Pembuatan ekstrak biji kopi robusta menggunakan metode maserasi, yaitu sediaan cair yang dibuat dengan mengencerkan bubuk biji kopi robusta dengan etanol 96%. Kemudian dilakukan pengenceran, sehingga diperoleh konsentrasi 25%, 50%, 100%.

#### 3.5.2 Sel Monosit

Sel monosit diambil dari darah vena perifer orang normal yang tidak mempunyai penyakit sistemik. Isolasi monosit dilakukan dengan menggunakan teknik *gradient density* dengan *Ficoll-Hypaque Centrifuge*. Sel monosit yang diamati adalah sel monosit aktif (melakukan aktivitas fagositosis) terhadap antigen lateks, bentuknya berupa bertambah luas sitoplasma dan terbentuknya pseudopodi yang variatif (Tjahajati dkk, 2006).

#### 3.5.3 Aktivitas Fagositosis

Aktivitas fagositosis adalah sel monosit yang aktif melakukan fagositosis terhadap antigen lateks. Aktivitas fagositosis didasarkan pada prosentase sel monosit aktif dalam 100 sel monosit pada masing-masing kelompok. Menggunakan mikroskop *inverted* dan diamati perlapang-pandang sehingga dapat diketahui jumlah

sel monosit aktif dalam 100 sel monosit, kemudian menghitung prosentase menggunakan rumus:

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

(Pangestika, 2012)

#### 3.5.4 Antigen Lateks

Lateks merupakan suatu suspensi antigen buatan, yang berperan sebagai benda asing yang ditolak oleh tubuh manusia. Adanya penolakan tubuh terhadap lateks, menjadikan bahan lateks sebagai antigen oleh para peneliti. Yaitu untuk menguji aktivitas pertahanan tubuh terhadap antigen yang menginfeksi.

### 3.6 Alat dan Bahan

#### 3.6.1 Alat

- |  |                              |
|--|------------------------------|
| a. <i>Syringe</i> (One Med)              | l. <i>Microplate</i>         |
| b. <i>Coverslip</i>                      | m. <i>Torniquet</i>          |
| c. Inkubator (Lab Tech)                  | n. <i>Vortex</i> (Labinco)   |
| d. Mikroskop <i>inverted</i> (Olympus)   | o. <i>Humaroller</i> (Human) |
| e. Mikropipet (Human)                    | p. Timbangan                 |
| f. <i>Rotary evaporator</i> (Heildomh)   | q. <i>Laminar flow</i>       |
| g. Tabung <i>falcon</i> (Nunc)           | r. Tabung heparin            |
| h. <i>Blue tip</i> dan <i>yellow tip</i> | s. Filter (Corning)          |
| i. <i>Handscoon</i> dan masker           | t. Tabung endprof            |
| j. <i>Autoclave</i>                      | u. <i>Well</i> (Costar)      |
| k. <i>Sentrifugase 5810 R</i> (Hermile)  |                              |

#### 3.6.2 Bahan

- |                       |  |
|-----------------------|--|
| a. Darah vena perifer | e. <i>Aquadest Steril</i>                          |
| b. HBSS (Sigma)       | f. Etanol 96%                                      |
| c. Lateks (Sigma)     | g. <i>Ficol-Hypaque Centrifuge</i> (MP Biomedical) |
| d. Giemsa (Merck)     |  |

- |  |                                 |
|--|---------------------------------|
| h. RPMI ( <i>Roswell Park Memorial Institute Medium</i> )    | i. Media 199 (Gibro)            |
| j. <i>Penicilin-streptomycin solution stabilized</i> (Sigma) | k. <i>Fungizon Amphotericin</i> |
|  | l. Alkohol 70%                  |

### 3.7 Prosedur Penelitian

#### 3.7.1 Sterilisasi alat

Semua alat penelitian yang terbuat dari logam dicuci bersih kemudian disterilkan dalam *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121°C. Sedangkan alat yang terbuat dari plastik disterilkan dengan menggunakan alkohol 70%.

#### 3.7.2 Pembuatan Ekstrak Biji Kopi Robusta (*Coffea robusta*)

Pembuatan ekstrak biji kopi dilakukan menggunakan biji kopi robusta (*Coffea robusta*) yang telah ditumbuk menjadi serbuk. Kemudian dilakukan pengekstraksian di laboratorium Bioscience Rumah Sakit Gigi dan Mulut Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Pembuatan ekstrak biji kopi robusta (*Coffea robusta*) dilakukan dengan menggunakan teknik maserasi.

- Ekstrak biji kopi robusta (*Coffea robusta*) diperoleh dengan menghaluskan biji kopi robusta sehingga menjadi bubuk yang halus.
- Ditimbang sebanyak 250 gram menggunakan neraca timbang lalu dimaserasi dalam larutan etanol 96% sebanyak 1000 ml selama 48 jam.
- Biarkan selama 6 jam dengan sesekali diaduk agar homogen.
- Hasil maserasi disaring dengan menggunakan corong yang dilapisi kertas saring sehingga di dapatkan maserat yang jernih.
- Kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dengan temperatur 30-40°C.
- Sehingga didapatkan sediaan pekat (konsentrasi 100%).

### 3.7.3 Pengenceran Ekstrak Biji Kopi Robusta (*Coffea robusta*)

Perlakuan pengenceran ini dilakukan untuk mendapatkan ekstrak biji kopi robusta dengan konsentrasi yang berbeda, yaitu 25%, 50% dan 100%.

- a. Larutan 25% dibuat dengan cara mengambil larutan stok sebanyak 2,5 ml kemudian ditambah dengan aquades sampai mencapai volume 10 ml.
- b. Larutan 50% dibuat dengan cara mengambil larutan stok sebanyak 5 ml kemudian ditambah dengan aquades sampai mencapai volume 10 ml.
- c. Larutan 100% dibuat dengan cara mengambil larutan stok sebanyak 10 ml kemudian ditambah dengan aquades sampai mencapai volume 10 ml.

### 3.7.4 Pengambilan sampel darah

- a. Dilakukan pengambilan darah sebanyak 3 cc dari darah vena perifer orang sehat dengan menggunakan *syringe* 3 cc.
- b. Segera setelah diambil, dimasukkan dalam tabung heparin secara perlahan-lahan dengan melewati pada dinding tabung agar tidak berbuih kemudian tabung digoyangkan agar tidak menggumpal.

### 3.7.5 Isolasi Sel Monosit

Teknik isolasi sel monosit ini menggunakan teknik *gradient density* (Purwanto, 2009).

- a. 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*.
- b. Sentrifugasi dengan kecepatan 600 rpm selama 10 menit pada suhu 37°C.
- c. Kemudian akan terbentuk 2 lapisan, lapisan plasma dipisahkan dengan menggunakan mikropipet sehingga hanya tersisa lapisan darah.
- d. Darah diencerkan dengan menambahkan HBSS (*Hank's balanced salt solution*) dengan perbandingan 1 : 2 (3cc : 6 cc)
- e. Kemudian dilakukan *pipetting* dengan hati-hati hingga homogen.
- f. Isolasi monosit dilakukan menggunakan teknik *gradient density* dengan *Ficoll-Hypaque centrifuge*. Siapkan *ficoll hypaque* dalam tabung falcon sebanyak 3 cc.

- g. Menyiapkan 3 cc *ficoll* dalam tabung *falcon*.
- h. Melapiskan darah pada *ficoll* dengan ujung pipet mikro menempel pada dinding tabung dan dialirkan perlahan dengan sudut 45°, untuk mencegah pecahnya *ficoll*.
- i. Kemudian sentrifus dengan kecepatan 1400 rpm selama 30 menit pada suhu 37°C. sehingga terbentuk empat lapisan, yaitu : 1) sisa plasma, 2) sel-sel mononuklear (monosit dan limfosit). 3) *ficol hypaque*, 4) RBC (*Red Blood Cells*) dan sel-sel polinuklear.
- j. Lapisan sel-sel mononuclear diambil dengan mikropipet, kemudian diletakkan pada tabung *falcon*.
- k. Setelah itu dicuci lagi dengan HBSS 1-2 ml dan dilakukan *pipetting*, dan disentrifus dengan kecepatan 1400 rpm selama 10 menit pada suhu 26°C.
- l. Sehingga didapatkan 2 lapisan, yaitu lapisan supernatant (PBS dan sisa plasma) pada bagian atas dan monosit pada bagian bawah. Supernatan dibuang dan disisakan lapisan monosit.
- m. Lakukan resuspensi dengan 1500 µl HBSS dan *pipetting*.
- n. Siapkan *obyek glass* dan *coverslip* yang telah disterilkan. Kemudian letakkan 25 µl monosit pada permukaan *obyek glass*, untuk melihat sel monosit pada mikroskop *inverted* pembesaran 400x.

### 3.7.6 Fagositosis Monosit dengan Antigen Lateks

- a. Tabung *falcon* yang berisi sel monosit ditambahkan *fungizon* sebanyak 5 µl *penicillin streptomycin* 20 µl.
- b. Kemudian letakkan masing-masing 250 µl pada 4 tabung endprof (ependrof kelompok I, II, III, dan IV).
- c. Melakukan pemaparan suspensi lateks 25 µl pada masing-masing tabung endprof selama 1 jam.
- d. Pada tabung endprof I ditambahkan 27,5 µl M199 sebagai kelompok kontrol.
- e. Tabung endprof kelompok II tambahkan 27,5 µl ekstrak biji kopi robusta 25%.
- f. Tabung endprof kelompok III tambahkan 27,5 µl ekstrak biji kopi robusta 50%.
- g. Tabung endprof kelompok IV tambahkan 27,5 µl ekstrak biji kopi robusta 100%.

- h. Kemudian semua tabung endprof tersebut diroller (diputar dengan menggunakan alat *humaroller*) selama 1 jam. Sehingga tercampur dan terjadi proses fagositosis dalam tabung tersebut.
- i. Letakkan tabung endprof kelompok I, II, III, dan IV pada masing-masing *well* yang berisi *coverslip* kemudian tambahkan M199 sebagai medium inkubasi.
- j. Cek keberadaan monosit pada mikroskop *inverted*. Sehingga terlihat sel-sel monosit yang telah menempel pada *coverslip*.
- k. Diinkubasi selama 30-45 menit untuk penempelan sel monosit pada *coverslip* yang sempurna.

#### 3.7.7 Pembuatan Preparat Monosit

Melakukan pengamatan aktivitas fagositosis pada setiap kelompok sampel dan dilakukan pengambilan gambar menggunakan mikroskop *inverted*.

- a. Membuang medium inkubasi.
- b. *Coverslip* yang berisi sel monosit dicuci dengan RPMI kemudian difiksasi dengan metanol.
- c. Setelah itu dicuci dengan *aquadest* steril dan dikeringkan dengan diangin-anginkan.
- d. Dilakukan pengecatan dengan Giemsa 20 % selama 15 menit.
- e. Kemudian dicuci dengan *aquadest* steril dan dikeringkan dengan diangin-anginkan.

#### 3.7.8 Perhitungan Fagositosis Sel Monosit.

- a. Preparat yang telah dilakukan pengecatan Giemsa, dilakukan pengamatan dibawah mikroskop *inverted* pembesaran 400x.
- b. Kemudian dilakukan penghitungan jumlah monosit yang memfagosit antigen lateks.
- c. Menghitung jumlah monosit yang aktif (memfagosit antigen lateks) per100 sel monosit pada setiap *coverslip*.

Perhitungan jumlah monosit dihitung dengan menggunakan rumus :

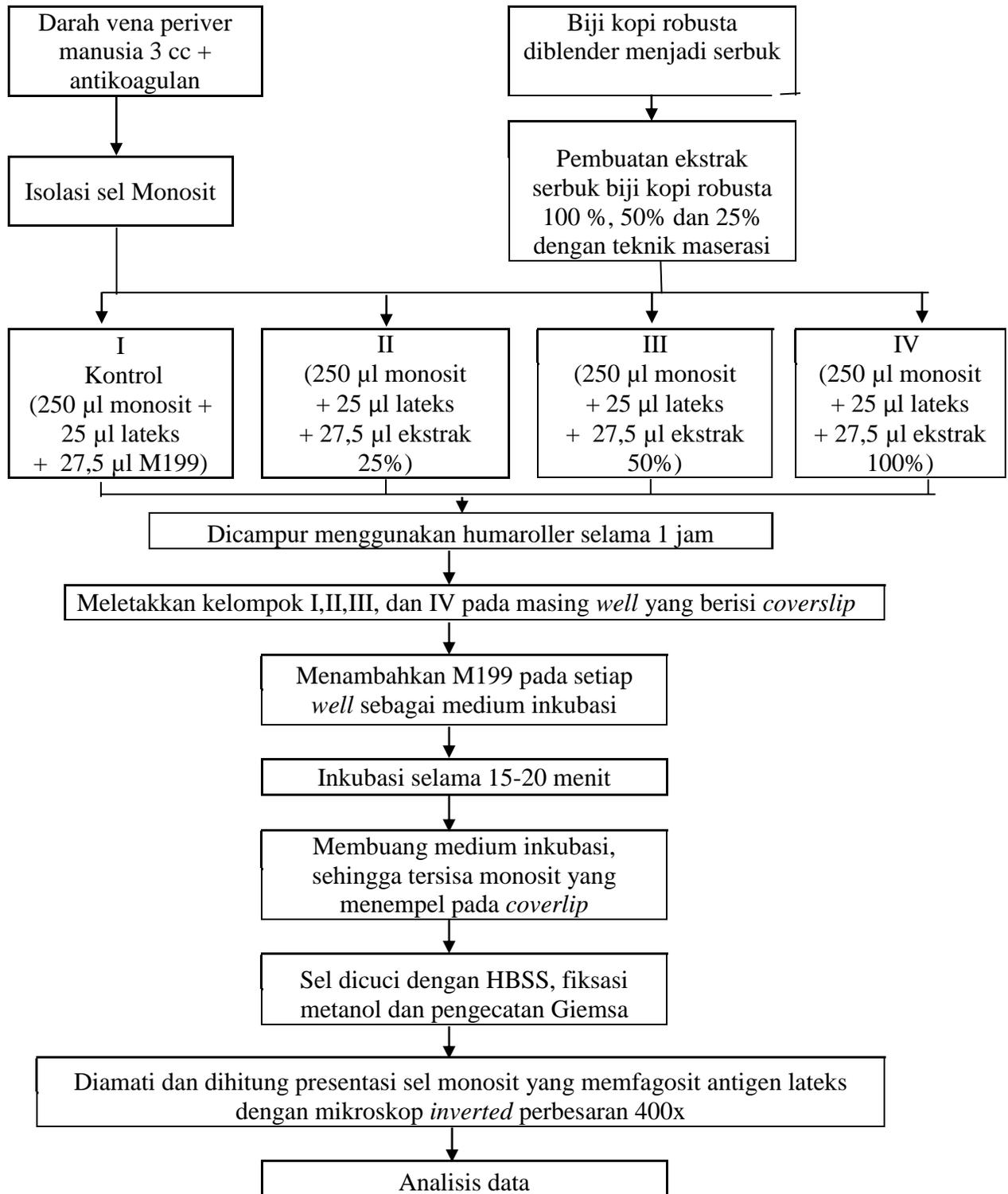
$$\text{Aktivitas fagositosis monosit (\%)} = \frac{\text{Jumlah sel monosit aktif} \times 100}{100 \text{ sel monosit}} \%$$

(Pangestika, 2012)

### **3.8 Analisis Data**

Data hasil penelitian dianalisis dengan uji normalitas *Saphiro-wilk* dan uji homogenitas *Levene test*. Data yang didapat merupakan data yang terdistribusi normal dan homogen, kemudian dianalisis dengan uji *One Way Anova* untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan bermakna, jika terdapat perbedaan bermakna dilanjutkan dengan uji LSD.

### 3.9 Alur Penelitian

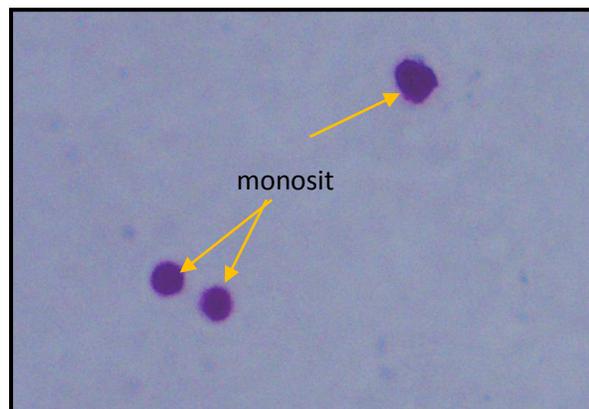




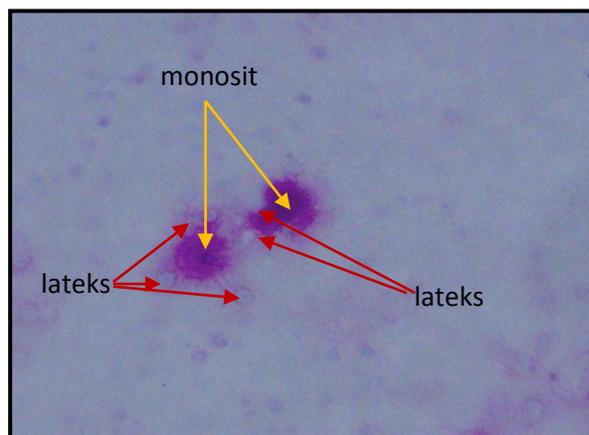
## BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Hasil

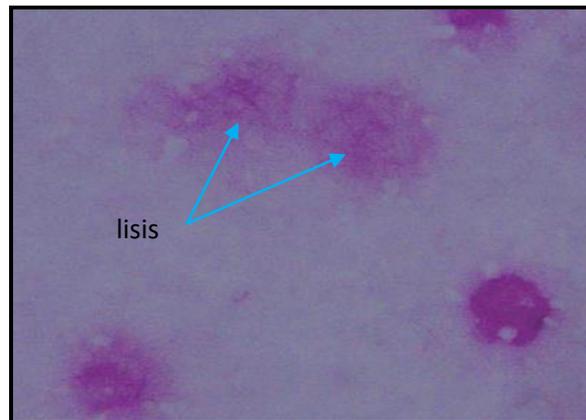
Berdasarkan pengamatan yang telah dilakukan pada penelitian ini, terlihat sel-sel monosit yang aktif melakukan fagositosis dengan cara memakan antigen lateks. Sel-sel monosit yang pasif juga terlihat, yaitu sel monosit yang tidak melakukan aktifitas fagositosis dan bahkan ada beberapa yang mengalami lisis. Sel-sel monosit tersebut dapat dilihat pada gambar berikut ini:



Gambar 4.1 Sel monosit pasif yang tidak melakukan fagositosis terhadap lateks.  
(Perbesaran 400x)



Gambar 4.2 Sel monosit yang aktif melakukan fagositosis terhadap lateks.  
(Perbesaran 400x)



Gambar 4.3 Sel monosit yang mengalami lisis. (Perbesaran 400x)

Berdasarkan pengamatan yang telah dilakukan pada setiap kelompok perlakuan, dapat diketahui hasil penelitian pengaruh ekstrak biji kopi robusta (*Coffea robusta*) berpengaruh terhadap aktivitas fagositosis sel monosit, yang dapat dilihat pada tabel 4.1 dan gambar 4.4 di bawah ini:

Tabel 4.1 Hasil prosentase aktivitas fagositosis sel monosit pada setiap perlakuan.

Perlakuan	N	Mean
Kelompok I	4	19 %
Kelompok II	4	69,5 %
Kelompok III	4	61,75 %
Kelompok IV	4	8,5 %
Total	16	-

Keterangan:

N : Jumlah sampel

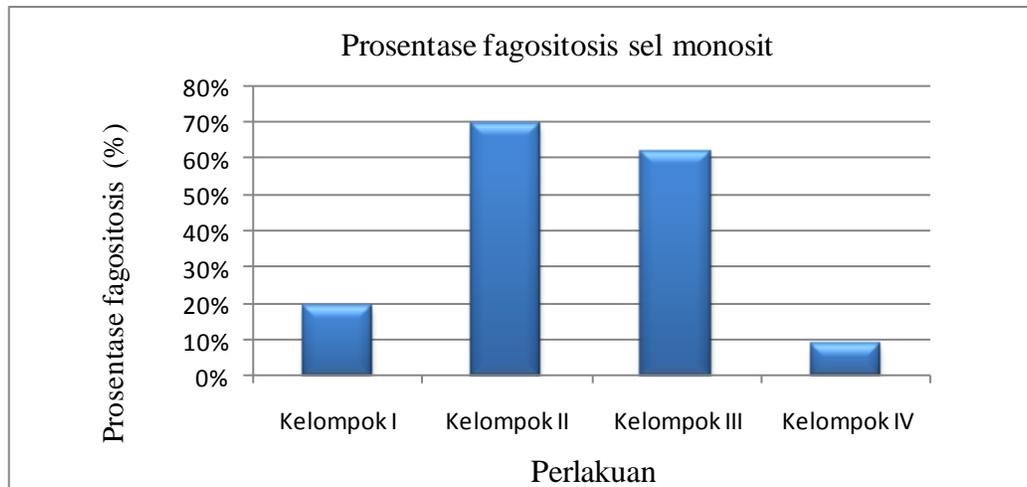
Kelompok I : Sel monosit + suspensi antigen lateks

Kelompok II : Sel monosit dipapar ekstrak biji kopi robusta konsentrasi 25% + antigen lateks.

Kelompok III : Sel monosit dipapar ekstrak biji kopi robusta konsentrasi 50% + antigen lateks.

Kelompok IV : Sel monosit dipapar ekstrak biji kopi robusta konsentrasi 100% + antigen lateks.

Gambar 4.4 Histogram prosentase sel monosit yang memfagosit lateks pada setiap perlakuan.



Keterangan:

Kelompok I : Sel monosit + suspensi antigen lateks

Kelompok II : Sel monosit dipapar ekstrak biji kopi robusta konsentrasi 25% + antigen lateks.

Kelompok III : Sel monosit dipapar ekstrak biji kopi robusta konsentrasi 50% + antigen lateks.

Kelompok IV : Sel monosit dipapar ekstrak biji kopi robusta konsentrasi 100% + antigen lateks.

Berdasarkan tabel 4.1 dan gambar 4.4 dapat diketahui bahwa nilai prosentase aktivitas fagositosis paling tinggi diperoleh dari perlakuan dengan ekstrak biji kopi robusta 25%, yaitu sebanyak 69,5 %. Sedangkan paling sedikit diperoleh dari perlakuan dengan ekstrak biji kopi robusta robusta 100%, yaitu sebanyak 8,5 %.

Hasil data yang diperoleh selanjutnya dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas. Uji normalitas data menggunakan *Shapiro-wilk* yang bertujuan untuk mengetahui apakah pada masing-masing kelompok terdistribusi normal.

Tabel 4.2 Hasil uji normalitas *Shapiro-wilk*

Perlakuan	N	Sig.
Kelompok I	4	0,913
Kelompok II	4	0,144
Kelompok III	4	0,074
Kelompok IV	4	0,230

Berdasarkan tabel 4.2 dapat dilihat bahwa nilai signifikansi yang diperoleh yaitu lebih besar dari 0,05 sehingga dapat disimpulkan bahwa data masing-masing kelompok sudah terdistribusi normal. Setelah data diketahui terdistribusi secara normal maka dilanjutkan uji homogenitas menggunakan uji *Levene* untuk mengetahui apakah setiap varian kelompok populasi penelitian ini sama atau homogen.

Tabel 4.3 Hasil uji homogenitas *Levene*

<i>Levene Statistic</i>	df1	df2	Sig
2,858	3	12	0,405

Hasil uji homogenitas pada tabel 4.3 dapat dilihat bahwa nilai signifikansi yang didapat menunjukkan nilai yang lebih besar dari 0,05 yaitu 0,405. Sehingga dapat disimpulkan bahwa hasil data tersebut adalah homogen dan telah memenuhi syarat untuk uji statistik parametrik. Selanjutnya untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan jumlah aktivitas fagositosis sel monosit setelah diberi perlakuan, maka dilakukan uji parametrik *One Way Anova*.

Tabel 4.4 Hasil uji *One Way Anova*

	Jumlah	df	Rata-rata	F	Sig.
Antara kelompok	11104,688	3	3701,563	56,031	,000
Dalam kelompok	792,750	12	66,063		
Total	11897,438	15			

Uji *One Way Anova* menunjukkan nilai signifikansi lebih kecil dari 0,05. Sehingga dapat diketahui masing-masing kelompok perlakuan memiliki perbedaan yang signifikan. Selanjutnya untuk mengetahui perbedaan kemaknaan pada masing-masing kelompok (kelompok kontrol dan kelompok perlakuan) maka dilakukan uji LSD (*Least Significance Difference*). Rangkuman hasil uji LSD pada penelitian ini dapat dilihat dalam tabel 4.5

Tabel 4.5 Hasil uji LSD (*Least Significance Difference*).

Kelompok	Kontrol	Ekstrak 25%	Ekstrak 50%	Ekstrak 100%
Kontrol	-	0,000*	0,000*	0,093
Ekstrak 25%	0,000*	-	0,202	0,000*
Ekstrak 50%	0,000*	0,202	-	0,000*
Ekstrak 100%	0,093*	0,000*	0,000	-

(\*)Menunjukkan terdapat perbedaan bermakna  $\alpha < 0,05$

Uji LSD di atas menunjukkan hasil bahwa antara kelompok kontrol dengan kelompok ekstrak biji kopi robusta konsentrasi 25% dan 50% terdapat perbedaan bermakna ( $\alpha < 0,05$ ). Akan tetapi uji LSD pada kelompok kontrol dengan kelompok ekstrak biji kopi robusta konsentrasi 100% tidak terdapat perbedaan bermakna ( $\alpha > 0,05$ ) yaitu dengan nilai 0,093.

## 4.2 Pembahasan

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak biji kopi robusta dapat meningkatkan aktivitas fagositosis sel monosit dengan bertambahnya prosentase sel monosit yang memfagosit antigen lateks. Aktivitas fagositosis sel monosit diketahui berdasarkan jumlah total dari sel fagosit yang aktif dalam 100 sel monosit. Hasil pengamatan yang dilakukan memperlihatkan adanya sel monosit yang aktif melakukan fagositosis, pasif (tidak melakukan fagositosis) dan sel monosit yang mengalami lisis.

Sel monosit pasif pada penelitian ini terlihat bulat tanpa adanya perluasan sitoplasma. Bentuk sel monosit yang tidak aktif ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Tjahajati dkk (2006), yang menyatakan bahwa gambaran monosit yang tidak aktif akan berbentuk bulat kompak. Sel monosit yang tidak melakukan aktivitas fagositosis dapat terjadi karena adanya pengaruh radikal bebas yang menyerang sel tersebut. Radikal bebas akan menyerang protein, asam lemak tak jenuh dan lipoprotein, serta unsur DNA termasuk karbohidrat dari sel monosit, sehingga menyebabkan gangguan fungsi sel dalam memfagosit lateks (Winarsi, 2007).

Proses fagositosis terjadi apabila terdapat kontak antara lateks dengan permukaan sel monosit. Membran sel kemudian mengalami invaginasi dengan membentuk dua lengan sitoplasma yang menelan lateks sehingga terkurung dalam sitoplasma sel, terletak dalam vakuola yang dilapisi membran fagosom (Ellis, 2007). Pada penelitian ini sel monosit yang aktif memfagosit lateks memiliki ukuran yang besar dengan sitoplasma yang lebih luas dan bentuk yang bervariasi. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya oleh Tjahajati dkk (2006) sel monosit yang aktif memfagosit akan berubah bentuk berupa bertambah luasnya sitoplasma dan terbentuknya pseudopodi yang variatif.

Peningkatan aktivitas fagositosis sel monosit dipengaruhi oleh senyawa antioksidan yang terdapat pada kandungan ekstrak biji kopi robusta. Senyawa antioksidan merupakan zat yang mampu mempertahankan keutuhan bentuk membran sel dan fungsi sel terhadap serangan dari antigen, sehingga sel monosit dapat lebih efektif melakukan aktivitas fagositosis (Winarsi, 2007).

Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi, dengan cara mencegah terbentuknya radikal bebas. 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. Sel monosit yang dipapar dengan senyawa antioksidan kopi robusta dapat mempertahankan bentuk selnya atau viabilitas sel, sehingga sel monosit aktif dalam menjalankan fungsinya untuk memfagosit antigen

lateks (Winarsi, 2007). Pada penelitian Azzahra dkk (2014) dengan adanya antioksidan eksogen dari ekstrak tumbuhan (memiliki senyawa antioksidan) dapat mempertahankan kehidupan sel leukosit, sehingga lebih banyak sel yang hidup akan menyebabkan meningkatnya proses fagositosis.

Ekstrak biji kopi robusta dengan kandungan senyawa antioksidan mampu meningkatkan aktivitas fagositosis sel monosit, yaitu asam klorogenat, kafein dan fenol. Pada penelitian Pangestika dkk (2012) menyatakan bahwa fenol merupakan salah satu senyawa yang dapat memberi pengaruh terhadap peningkatan aktivitas fagositosis, dengan cara meracuni protoplasma sel dan merusak dinding sel serta mengendapkan protein agen infeksi. Penelitian Kusuma (2013) menyatakan bahwa asam klorogenat mempunyai efek pada mekanisme pertahanan tubuh dalam meningkatkan aktivitas fagositosis. Asam klorogenat bekerja dengan cara masuk ke dalam agen infeksi dan merusak struktur dinding agen infeksi tersebut. Menurut Ramaniviciencia dkk (2003), kafein juga memiliki peran dalam pengembangan pertahanan tubuh dengan meningkatkan aktivitas beberapa sel fagosit monosit dan memperkuat aktivitas lisozim.

Senyawa antioksidan yang terdiri dari kafein, fenol dan asam klorogenat dapat mempermudah sel monosit untuk memfagosit antigen lateks karena memiliki fungsi opsonin. Opsonin adalah zat yang berfungsi sebagai perekat antara sel monosit dan obyek agen asing dengan cara melapisinya sehingga membuatnya lebih mudah dimasukkan ke dalam sel (Spector, 2008). Bellanti (2008) menyatakan bahwa fagositosis dapat dipermudah dengan adanya antibodi zat kimia dari senyawa asam klorogenat, fenol dan kafein, karena partikel-partikel yang diselimuti antibodi zat kimia akan dapat ditelan secara efisien.

Pada setiap perlakuan juga terdapat sel monosit yang mengalami lisis. Lisis merupakan proses pecahnya sel yang disebabkan karena paparan ekstrak yang berlebihan. Menurut penelitian Azzahra (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 dapat berasal dari dalam maupun dari luar tubuh. Radikal bebas menyerang molekul stabil yang terdekatnya dan akan mengambil elektron, sehingga zat yang terambil elektronnya akan menjadi tidak stabil dan menjadi radikal bebas. 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 stres oksidatif. Stres oksidatif menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid yang merusak membran sel, lipoprotein dan struktur sel lainnya yang mengandung lipid. Kerusakan membran sel mengakibatkan aktivitas biokimia dalam sel terganggu, sehingga sel tidak mampu mempertahankan kehidupannya dan lisis (Winarsi, 2007). Menurut penelitian Azzahra (2014) menyatakan bahwa sel leukosit yang lisis dapat disebabkan oleh stres oksidatif.

Sel monosit yang lisis ini lebih dominan pada kelompok sel monosit yang diberi ekstrak biji kopi robusta konsentrasi 100%. Sel monosit yang dipapar ekstrak biji kopi robusta konsentrasi tinggi menyebabkan rusaknya keutuhan membran sel atau viabilitas sel, sehingga sel monosit pecah dan tidak berfungsi. Rusaknya sel disebabkan karena stres oksidatif yang terjadi karena konsentrasi yang diberikan melebihi pertahanan antioksidan endogen sel. Penelitian yang dilakukan oleh Rehana (2011) juga menyatakan bahwa pemberian ekstrak dengan dosis tinggi dapat menurunkan aktivitas fagositosis karena banyaknya sel yang lisis.

Hasil penelitian ini menunjukkan adanya peningkatan aktivitas fagositosis yang signifikan terlihat pada perlakuan kelompok II (konsentrasi ekstrak 25%) dan kelompok III (konsentrasi ekstrak 50%) dengan nilai masing-masing 69,5% dan 61,75%. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak biji kopi robusta dengan konsentrasi 25% dan 50% mampu meningkatkan aktivitas fagositosis sel monosit. Konsentrasi tersebut dinyatakan memiliki efek pada peningkatan fagositosis monosit karena jumlah lateks yang terfagosit lebih banyak dan terdapat perbedaan bermakna dengan kelompok kontrol.

Ekstrak biji kopi robusta yang paling efektif melakukan aktivitas fagositosis adalah perlakuan kelompok II yaitu ekstrak biji kopi robusta konsentrasi 25%, karena mampu memfagosit antigen lateks dengan prosentase jumlah monosit tertinggi yaitu dengan nilai 69,5%. Pada kelompok ini terlihat lebih banyak sel aktif yang memfagosit lateks dibandingkan dengan sel pasif yang tidak melakukan aktivitas fagositosis. Penurunan aktivitas fagositosis terjadi pada kelompok IV yaitu dengan perlakuan ekstrak biji kopi robusta konsentrasi 100%, karena memiliki prosentase aktivitas fagositosis yang paling rendah yaitu 8,5%. Pada kelompok ini terlihat lebih banyak sel yang pasif dan mengalami lisis.

## **BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN**

### **5.1 Kesimpulan**

1. Pemberian ekstrak biji kopi robusta konsentrasi 25% dan 50% berpengaruh dalam meningkatkan aktivitas fagositosis sel monosit, sedangkan pada konsentrasi 100% menunjukkan terjadinya penurunan aktivitas fagositosis monosit.
2. Pemberian konsentrasi ekstrak biji kopi robusta yang paling efektif dalam proses fagositosis sel monosit adalah 25%.

### **5.2 Saran**

1. Perlu penelitian lebih lanjut mengenai kandungan zat aktif dari ekstrak biji kopi robusta yang dapat meningkatkan aktivitas fagositosis.
2. Penelitian ini dapat digunakan sebagai acuan untuk penelitian selanjutnya dengan menggunakan konsentrasi minimum dari ekstrak biji kopi robusta (*Coffea robusta*).

## DAFTAR PUSTAKA

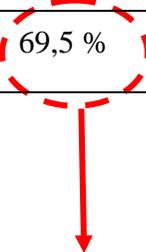
- Andriyanti, W., Darsono, dan Faisal, W. 2010. Study of Natural Rubber Latex Method Free Nitromines and Protein Allergens. *Journal*. ISSN 0216-3128: 161-169.
- Azzahra, H., Pujiastuti, P., Purwanto. 2014. Potensi Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana L.*) Buatan Pabrik Terhadap Peningkatan Aktivitas Mikrobisidal Sel Neutrofil yang Dipapar *Streptococcus mutans*. *Jurnal Pustaka Kesehatan*. 2 (1): 161-166
- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI. 2013. *Riset Kesehatan Dasar 2013*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI.
- Bellanti dan Joseph A., 2008. *Imunologi III*. Yogyakarta: Gajah Mada University press.
- Brooks, G. F., Butel, J. S., dan Morse, S. A. 2009. *Medical Microbiology*. Edisi 20. Alih bahasa oleh Edi Nugroho dan R.F. Maulany. Jakarta: EGC.
- Chamidah, S. 2012. “Daya Antibakteri Ekstrak Biji Kopi Robusta (*Coffea robusta*) Terhadap Aktivitas Pertumbuhan *Porphyromonas Gingivalis*”. Tidak Diterbitkan. Skripsi. Jember: Program Sarjana (S1) Universitas Jember.
- Cormack, H. D. 2009. *Ham Histologi Edisi Kesembilan*. Alih bahasa oleh Jan Tambajong. Jakarta: Binarupa Aksara.
- Ellis, R. 2007. *Pathology: Giemsa's Staining Protocol for Tissue Section*. EGC: Jakarta.
- Guyton. 2010. *Fisiologi Manusia dan Mekanisme Penyakit*. Alih Bahasa oleh Andrianto, P. Jakarta: EGC.
- Halim, J. 2010. *Atlas Praktikum Histologi*. Jakarta: EGC.
- Handayani, V., Ahmad, A.R., Sudir, M. 2014. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Bunga dan Daun Patikala (*Etlingera elatior*) Menggunakan Metode DPPH. *Journal*. ISSN 2407-2354: 86-93.

- Herman. 2003. *Membangkitkan Kembali Peran Komoditas Kopi Bagi Perekonomian Indonesia*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- James dan Spillane J. 2006. *Komoditi Kopi: Peranannya dalam Perekonomian Indonesia*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Johnson, K. E. 2007. *Histologi dan Biologi Sel*. Alih bahasa oleh Gunamijaya F.A. Jakarta: Binarupa Aksara. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Kusuma, D. S., Santoso, F., Prabawati, E., K. 2013. Characteristics of Soymilk Added with Dragon Fruit and Eggplant Peel Extracts. *Journal*. ISSN 1979-7788: 54-59.
- Leesons, C.R., Leeson, T.S., and Paparo, A. A., 2008. *Buku Ajar Histologi*. Jakarta: EGC.
- Makfoeld, D., Marseno, D. W., Hastuti, P., Anggrahini, S., Raharjo, S., Sastroswigno, S., Suhardi, Martoharsono, S., Hadiwiyoto. S., Tranggono. 2002. *Kamus Istilah Pangan dan Nutrisi*. Yogyakarta: Kanisius.
- Najiyati, S. dan Danarti. 2009. *Kopi: Budidaya dan Penanganan Lepas Panen*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Natadisastra, D. dan Agoes, R. 2009. *Patofisiologi Kedokteran; Ditinjau dari Organ Tubuh yang diserang*. Jakarta: EGC.
- Notoatmodjo, S. 2005. *Metodologi Penelitian Kesehatan. Cetakan III*. Jakarta: Rineka Cipta.
- Pangestika, D., Mirani, E., dan Mashoedi, I. D. 2012. Pengaruh Pemberian Kunyit (*Curcuma domestica Val.*) terhadap Aktivitas Fagositosis Makrofag pada Mencit BALB/C yang Diinokulasi Bakteri *Lysteria monocytogenes*. *Journal Sains Medika*. 4 (1): 63-70.
- Panggabean, E. 2011. *Buku Pintar Kopi*. Jakarta: AgroMedia Pustaka.
- Prindle, R. L., dan Wright, A.S. 2000. "Phenolic Compound". Dalam Lawrence, A. & Block, S. S. *Disinfection Sterilization and Preservation*. Philadelphia.
- Price dan Lorraine. 2007. *Pathophysiology Vol.3*. Jakarta: EGC.

- Purwanto. 2009. "Peran Streptococcus mutans dan Monosit Pada Degradasi Kolagen Tipe IV dan Agregasi Kolagen Platelet". Tidak Diterbitkan. Disertasi. Program Pascasarjana Universitas Brawijaya.
- Ramanaviciene, Almira, Mostovojus, Voktoras, Bachmatova, Iriana, dan Ramanavicius. 2003. Anti-bacterial Effect on Caffeine on *Escherichia coli* and *Pseudomonas fluorescens*. *Journal Acta Medica Lituania*. 10 (4): 185-188.
- Rehana, E. P. N., Rachmani, I., dan Sobri. 2011. Activation Macrophage Phagocytosis Using N-Heksan Extract Aloe Vera. *Journal Acta Pharmaciae Indonesia*. 1 (1): 32-35.
- Silalahi, J., 2006. *Makanan Fungsional*. Yogyakarta: Kanisius.
- Siswanto. 2012. Two-dimensional Gel Electrophoresis and Immunoblotting for Detection on Antigenic Proteins from Natural Rubber Latex. *Journal*. 80 (12): 57-67.
- Spector, W. G. 2008. *Pengantar Patologi Umum Edisi ketiga*. Alih bahasa oleh Sotjipto, Harsoyo, Amella dan Pudji. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Sloane, E. 2003. *Anatomi dan Fisiologi untuk pemula*. Alih bahasa oleh James Veldeon. Jakarta: EGC.
- Tjahajati, I., Prodjoharjono, S., Subono, H., Asmara, W., dan Harada, N. 2006. Peningkatan Aktivitas Fagositosis Makrofag Peritoneum Kucing yang Diinfeksi dengan *M. Tuberculosis*. *Journal Sain Vet*. 22 (2): 1-9.
- Turgeon, M. L. 2011. *Immunology and Serology in Laboratory Medicine Second Edition*. United State America: Mosby.
- Weinberg. A., dan Bealer. B. K. 2002. *The Miracle of Caffeine: Manfaat Tak Terduga Kafein Berdasarkan Penelitian Paling Mutakhir*. Alih bahasa oleh Warastuti. Bandung: Qanita.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius.

**Lampiran A. Perhitungan Aktivitas Fagositosis Sel monosit yang Dipapar Ekstrak Biji Kopi Robusta (*Coffea robusta*)**

<b>Preparat</b>	<b>Kontrol</b>	<b>Ekstrak biji kopi Robusta 25%</b>	<b>Ekstrak biji kopi Robusta 50%</b>	<b>Ekstrak biji kopi Robusta 100%</b>
<b>A</b>	29 %	78 %	57 %	12 %
<b>B</b>	10 %	72 %	58%	9 %
<b>C</b>	15 %	75 %	60%	2 %
<b>D</b>	22 %	53 %	72%	11 %
<b>Rata-rata</b>	19%	69,5 %	61,7 %	8,5 %



Konsentrasi yang paling efektif

## Lampiran B. Analisis Data

### B.1 Hasil uji normalitas menggunakan Uji Shapiro-Wilk

Descriptives				Statistic	Std. Error	
Sampel						
Fagositosis monosit	Kontrol	Mean		19,00	4,143	
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	5,81		
			Upper Bound	32,19		
		5% Trimmed Mean		18,94		
		Median		18,50		
		Variance		68,667		
		Std. Deviation		8,287		
		Minimum		10		
		Maximum		29		
		Range		19		
		Interquartile Range		16		
		Skewness		,274		1,014
		Kurtosis		-1,554		2,619
		Perlakuan ekstrask 25%	Perlakuan	Mean		
95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound			51,57		
	Upper Bound			87,43		
5% Trimmed Mean				69,94		
Median				73,50		
Variance				127,000		
Std. Deviation				11,269		
Minimum				53		
Maximum				78		
Range				25		
Interquartile Range				20		
Skewness				-1,722	1,014	
Kurtosis				3,094	2,619	
Perlakuan	Mean				61,75	3,473

ekstrak 50%	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	50,70		
		Upper Bound	72,80		
	5% Trimmed Mean		61,44		
	Median		59,00		
	Variance		48,250		
	Std. Deviation		6,946		
	Minimum		57		
	Maximum		72		
	Range		15		
	Interquartile Range		12		
	Skewness		1,813	1,014	
	Kurtosis		3,330	2,619	
	Perlakuan ekstrak 100%	Mean		8,50	2,255
	ekstrak 100%	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1,32	
		Upper Bound	15,68		
5% Trimmed Mean			8,67		
Median			10,00		
Variance			20,333		
Std. Deviation			4,509		
Minimum			2		
Maximum			12		
Range			10		
Interquartile Range			8		
Skewness			-1,571	1,014	
Kurtosis			2,417	2,619	

#### Tests of Normality

Sampel		Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
Fagositosis monosit	Kontrol	,982	4	,913
	Perlakuan ekstrak 25%	,820	4	,144
	Perlakuan ekstrak 50%	,782	4	,074
	Perlakuan ekstrak 100%	,851	4	,230

### Tests of Normality

Sampel		Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
Fagositosis monosit	Kontrol	,982	4	,913
	Perlakuan ekstrak 25%	,820	4	,144
	Perlakuan ekstrak 50%	,782	4	,074
	Perlakuan ekstrak 100%	,851	4	,230

a. Lilliefors Significance Correction

## B.2 Hasil uji homogenitas menggunakan uji Levene

### Test of Homogeneity of Variances

Fagositosis monosit

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,054	3	12	,405

## B.3 Hasil uji beda menggunakan One-way Anova

### ANOVA

Fagositosis monosit

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	11104,688	3	3701,563	56,031	,000
Within Groups	792,750	12	66,063		
Total	11897,438	15			

## B.4 Hasil uji perbedaan kemaknaan pada masing-masing kelompok menggunakan uji LSD

### Multiple Comparisons

Fagositosis monosit

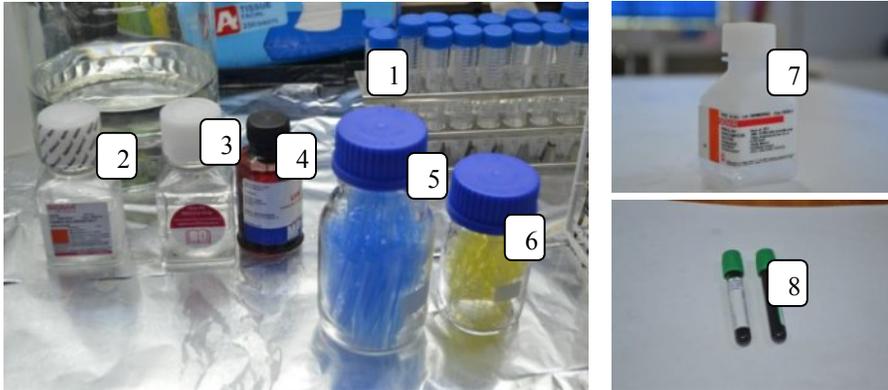
LSD

(I) Sampel (J) Sampel	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
Kontrol Perlakuan ekstrak 25%	-50,500 <sup>*</sup>	5,747	,000	-63,02	-37,98

	Perlakuan ekstrak 50%	-42,750*	5,747	,000	-55,27	-30,23
	Perlakuan ekstrak 100%	10,500	5,747	,093	-2,02	23,02
Perlakuan ekstrak 25%	Kontrol	50,500*	5,747	,000	37,98	63,02
	Perlakuan ekstrak 50%	7,750	5,747	,202	-4,77	20,27
	Perlakuan ekstrak 100%	61,000*	5,747	,000	48,48	73,52
Perlakuan ekstrak 50%	Kontrol	42,750*	5,747	,000	30,23	55,27
	Perlakuan ekstrak 25%	-7,750	5,747	,202	-20,27	4,77
	Perlakuan ekstrak 100%	53,250*	5,747	,000	40,73	65,77
Perlakuan ekstrak 100%	Kontrol	-10,500	5,747	,093	-23,02	2,02
	Perlakuan ekstrak 25%	-61,000*	5,747	,000	-73,52	-48,48
	Perlakuan ekstrak 50%	-53,250*	5,747	,000	-65,77	-40,73

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

### Lampiran C. Foto Alat dan Bahan Penelitian



Keterangan:

1. Tabung *falcon*
2. HBSS
3. *Fungizon*
4. *Ficoll-hypaque*
5. *Blue tip*
6. *Yellow tip*
7. *Penicilin streptomycin*
8. Tabung heparin



Tabung ependrof



*Well*



*Coverslip*



*Syringe*



*Inkubator*



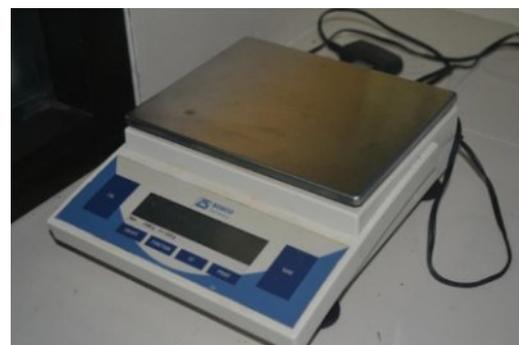
*Mikroskop Inverted*



*Humafoller*



*Autoclave*



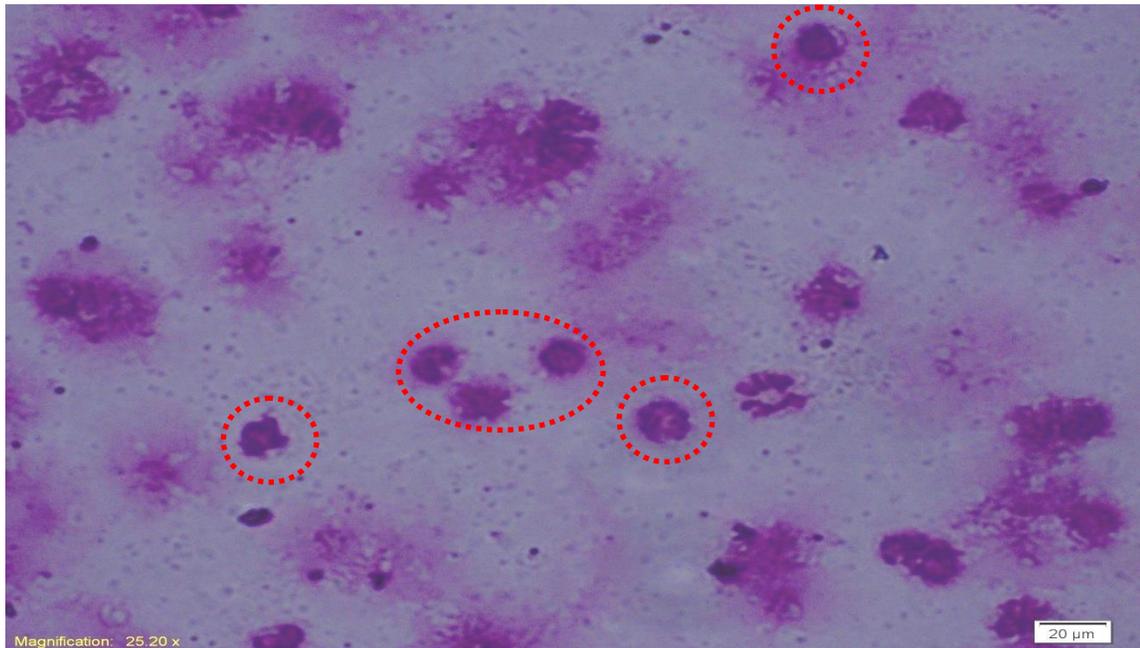
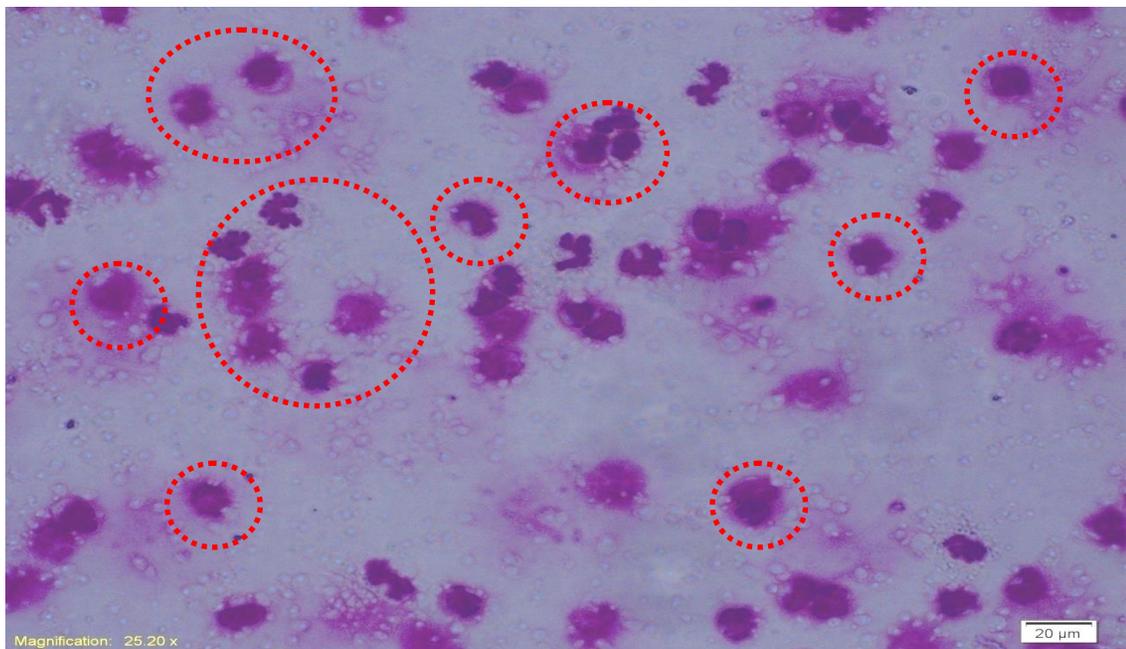
*Neraca timbangan*

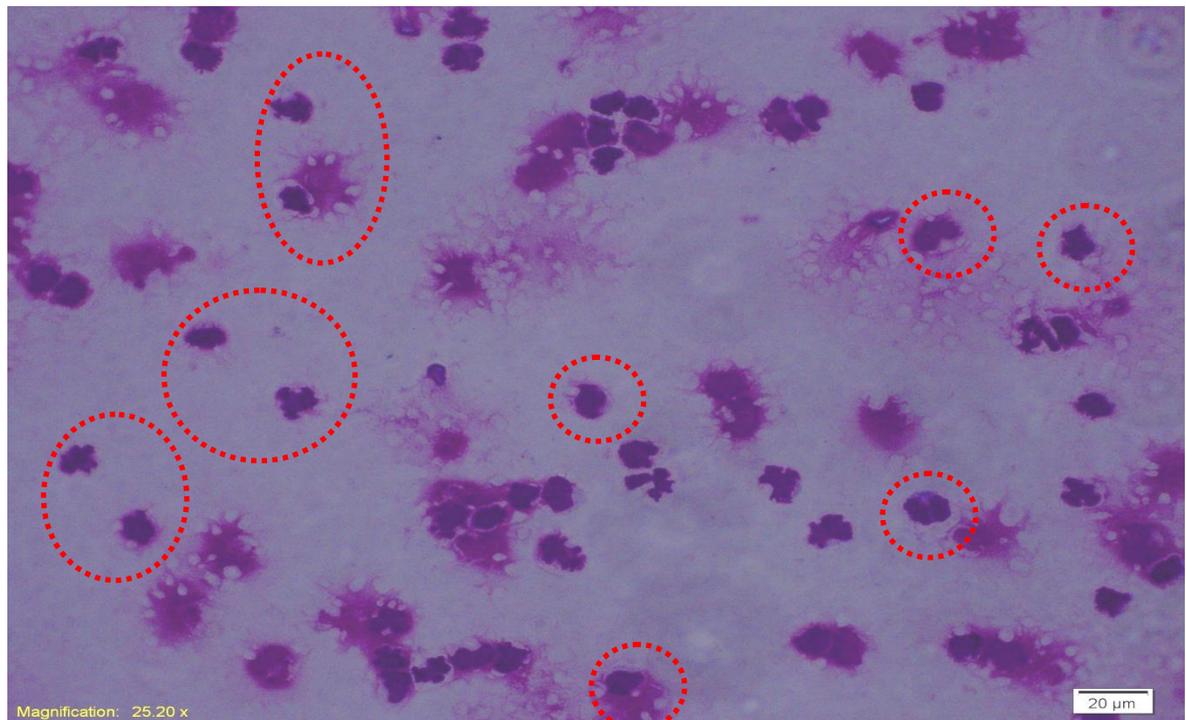


**Lampiran D. Gambar Hasil Penelitian**

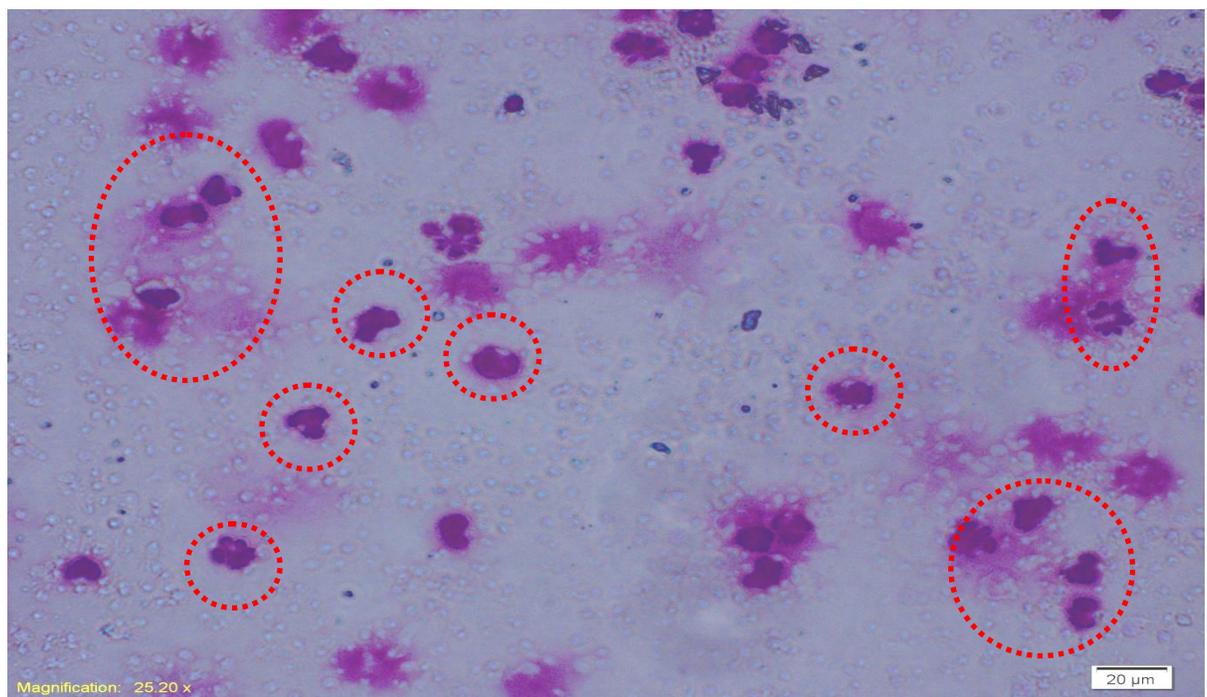
## 1) Kelompok I Kontrol

Dengan perlakuan : monosit + Lateks + M199

Gambar 1.1 Kelompok kontrol I A (mikroskop *inverted* perbesaran 400x).Gambar 1.2 Kelompok kontrol I B (mikroskop *inverted* perbesaran 400x).



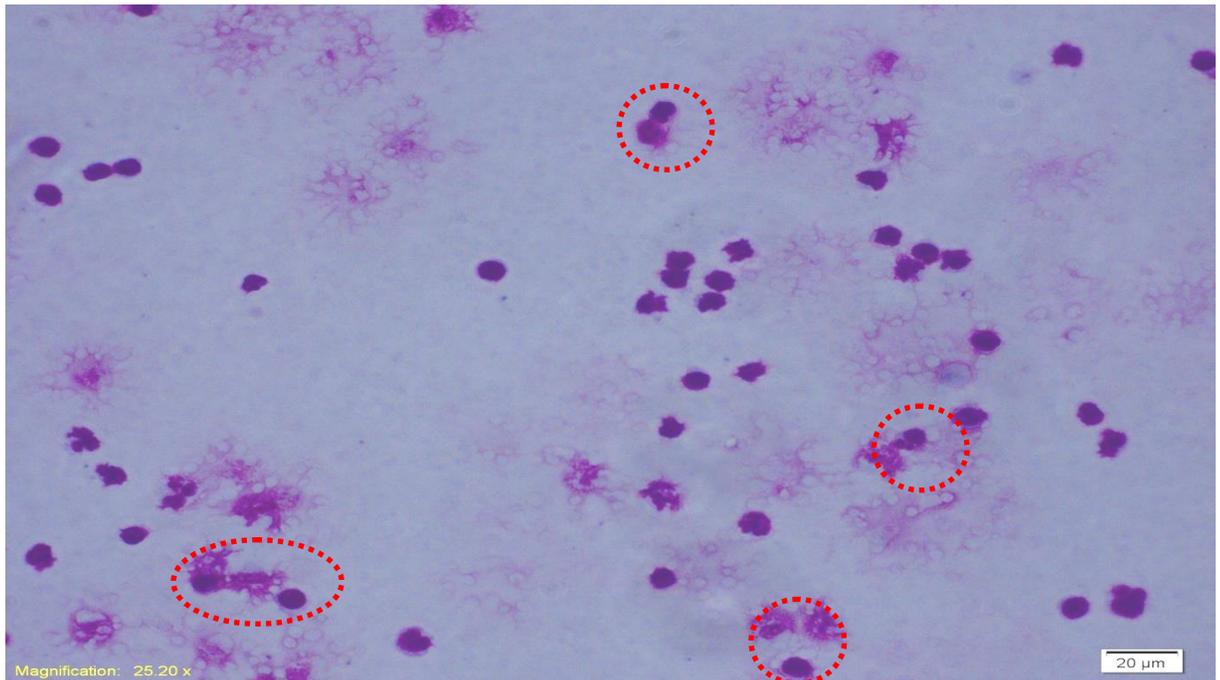
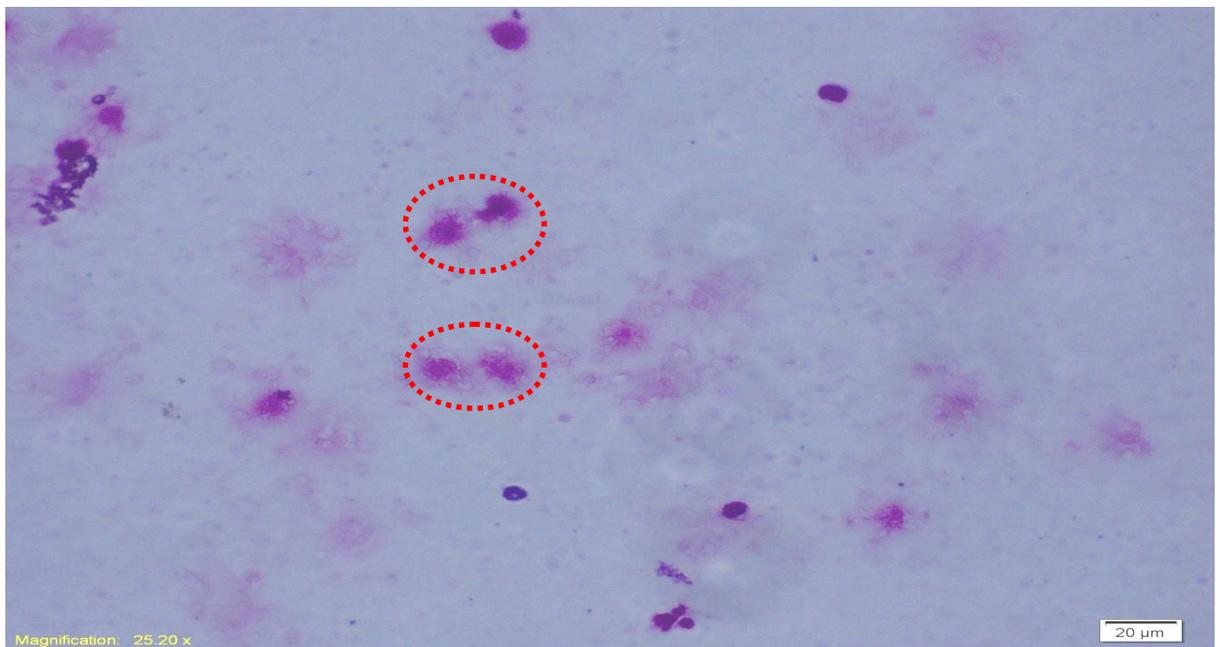
Gambar 1.3 Kelompok kontrol I C (mikroskop *inverted* perbesaran 400x).

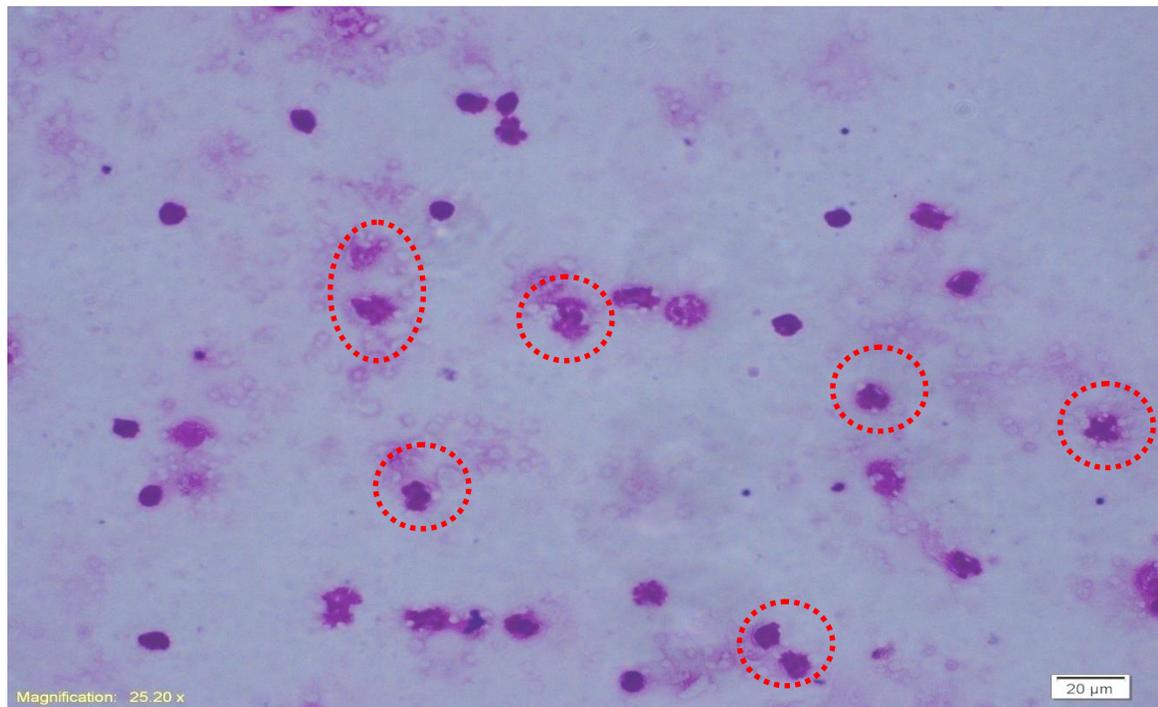


Gambar 1.4 Kelompok kontrol I D (mikroskop *inverted* perbesaran 400x).

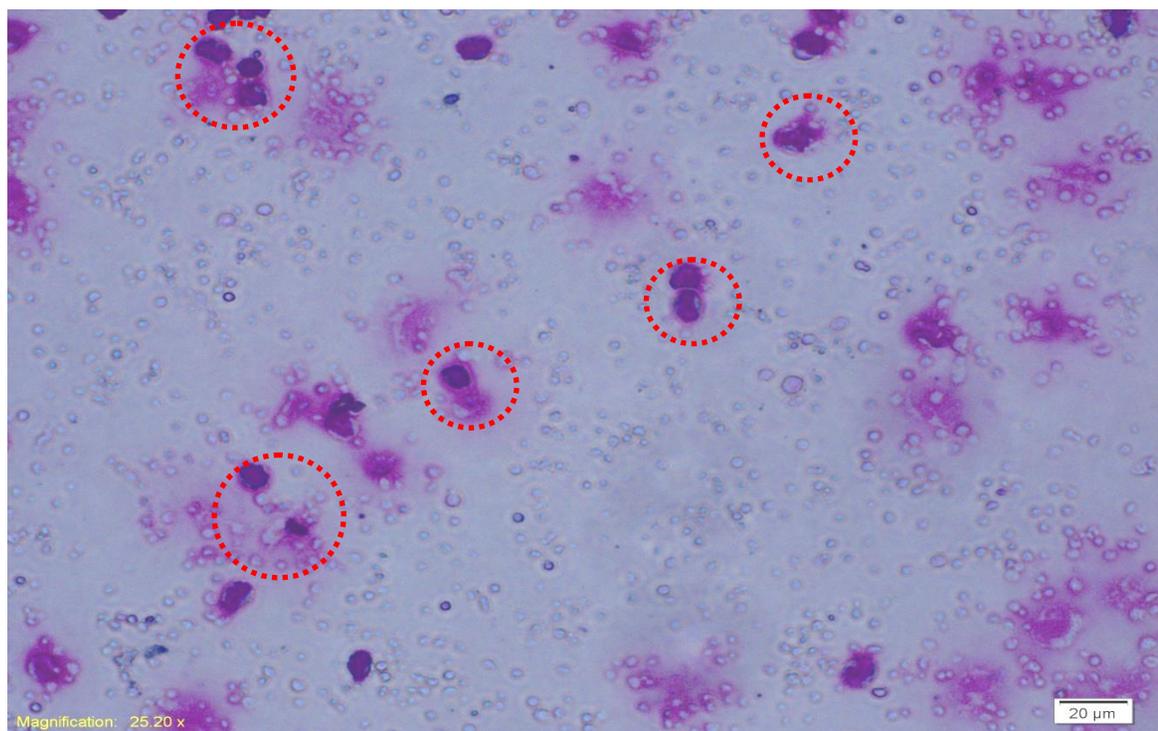
## 2) Kelompok Sampel II

Dengan perlakuan : monosit + ekstrak biji kopi robusta 25% + lateks

Gambar 2.1 Kelompok sampel II A (mikroskop *inverted* perbesaran 400x).Gambar 2.2 Kelompok sampel II B (mikroskop *inverted* perbesaran 400x).



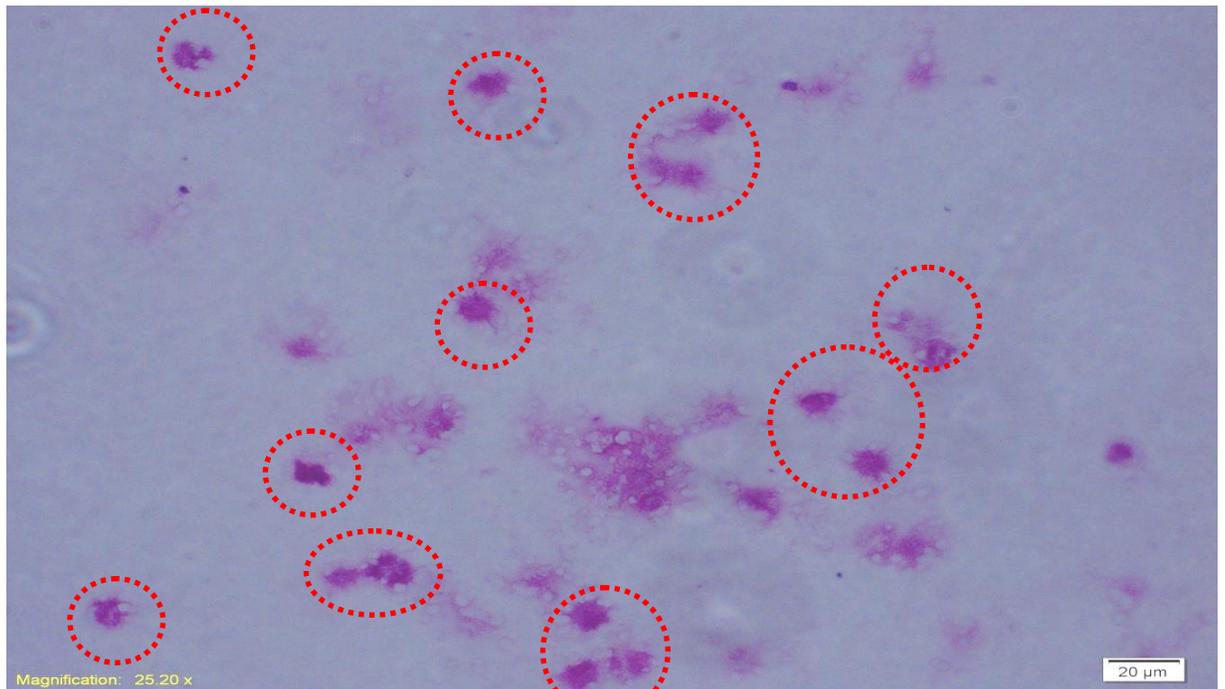
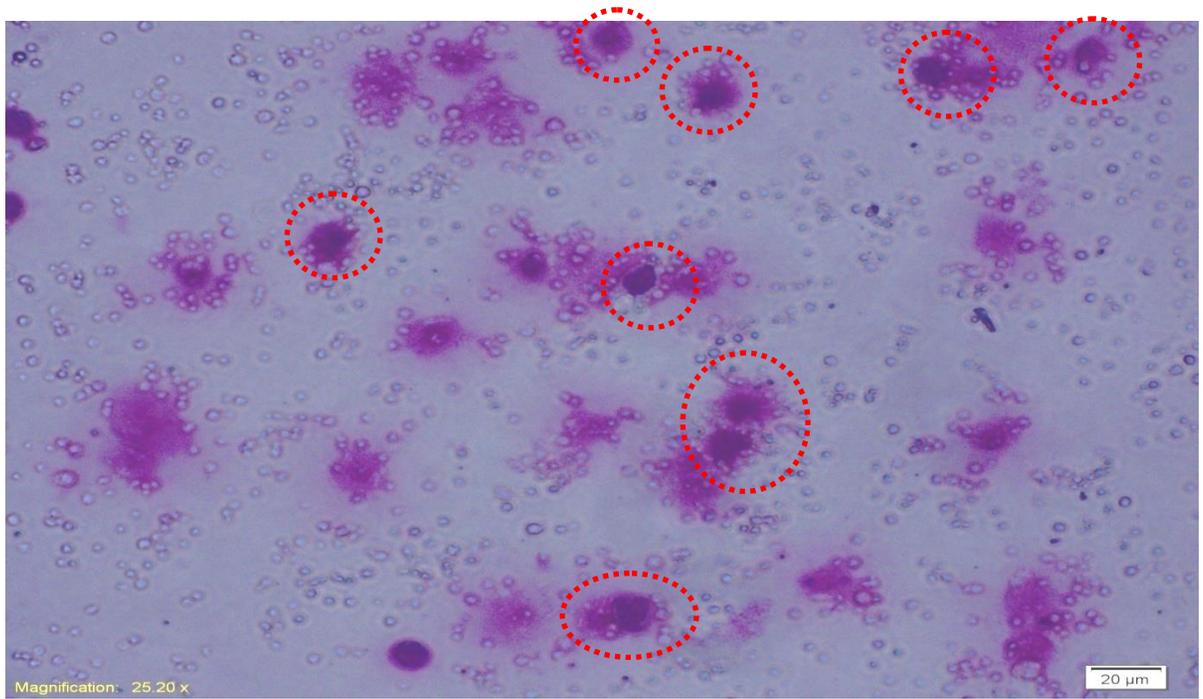
Gambar 2.3 Kelompok sampel II C (mikroskop *inverted* perbesaran 400x).

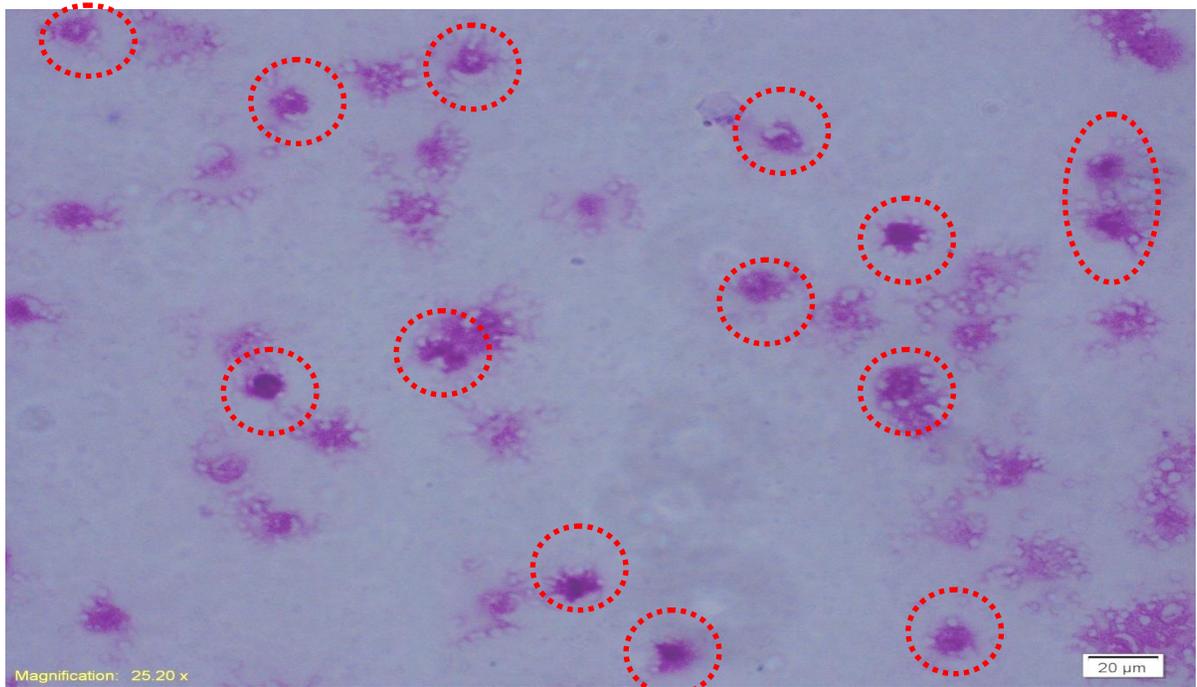


Gambar 2.4 Kelompok sampel II D (mikroskop *inverted* perbesaran 400x).

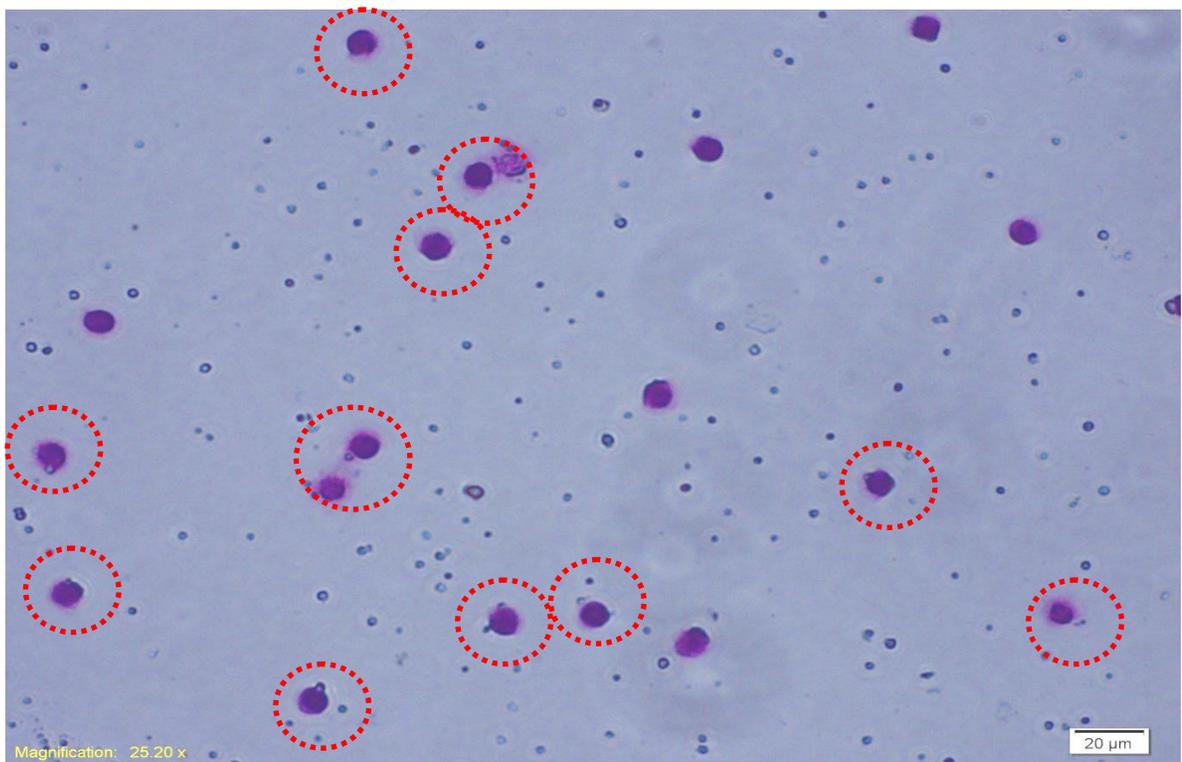
## 3) Kelompok sampel III

Dengan perlakuan : monosit + ekstrak biji kopi robusta 50% + lateks

Gambar 3.1 Kelompok sampel III A (mikroskop *inverted* perbesaran 400x).Gambar 3.2 Kelompok sampel III B (mikroskop *inverted* perbesaran 400x).

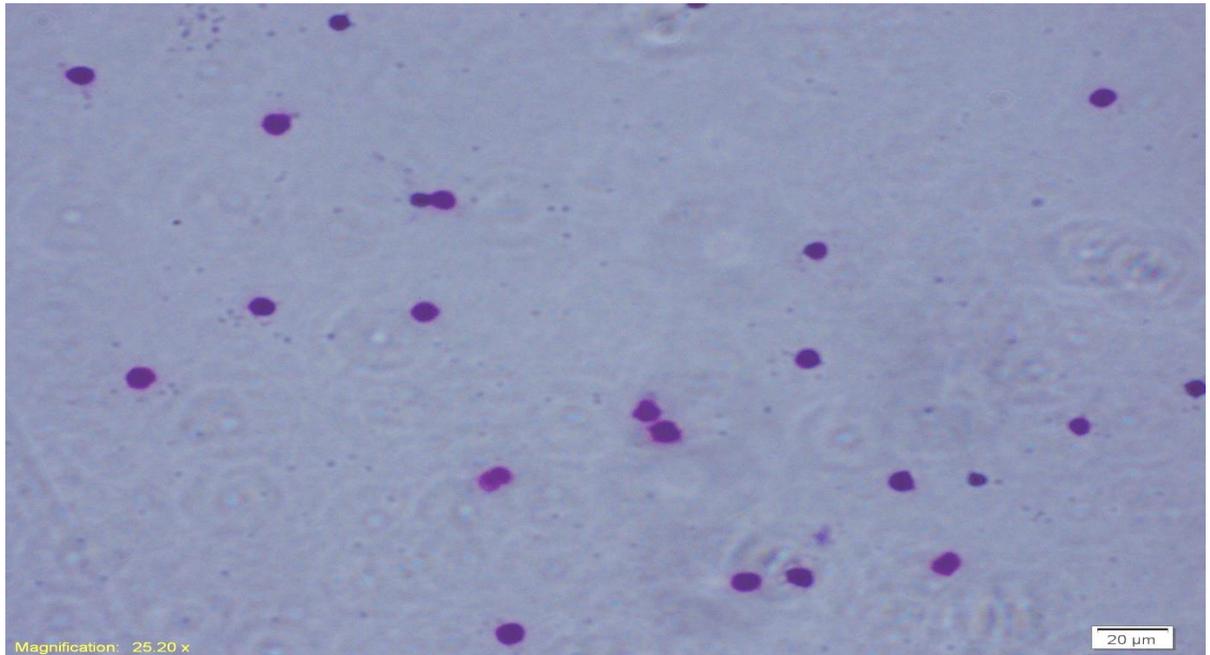


Gambar 3.3 Kelompok sampel III C, (mikroskop *inverted* perbesaran 400x).

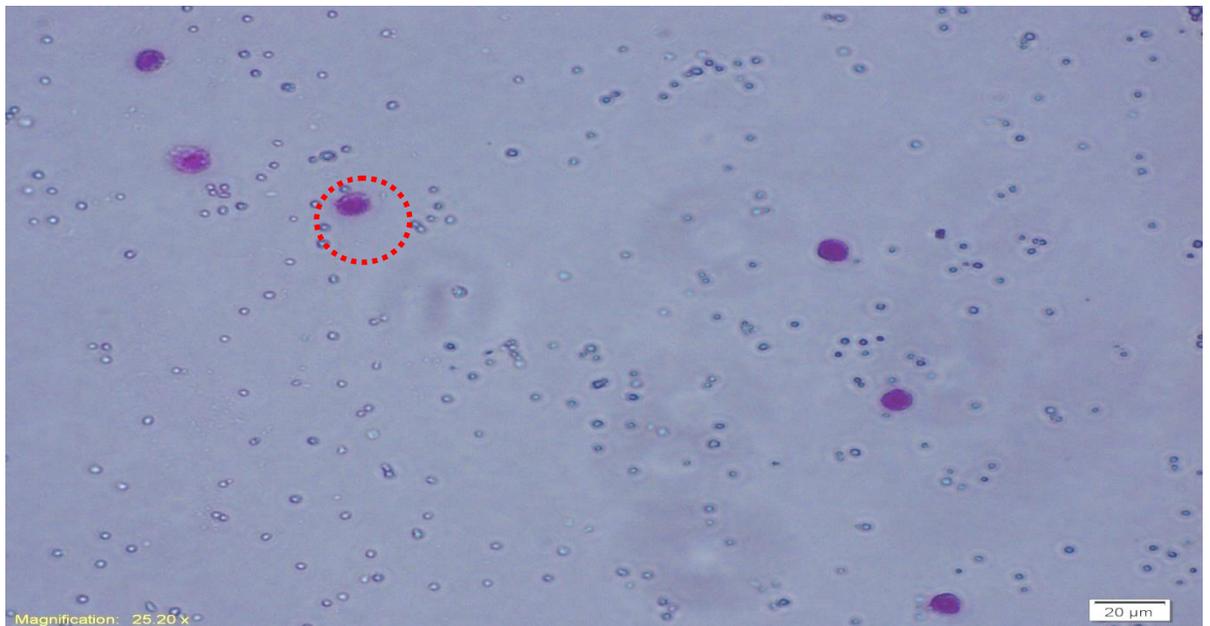


Gambar 3.4 Kelompok sampel III D, (mikroskop *inverted* perbesaran 400x).

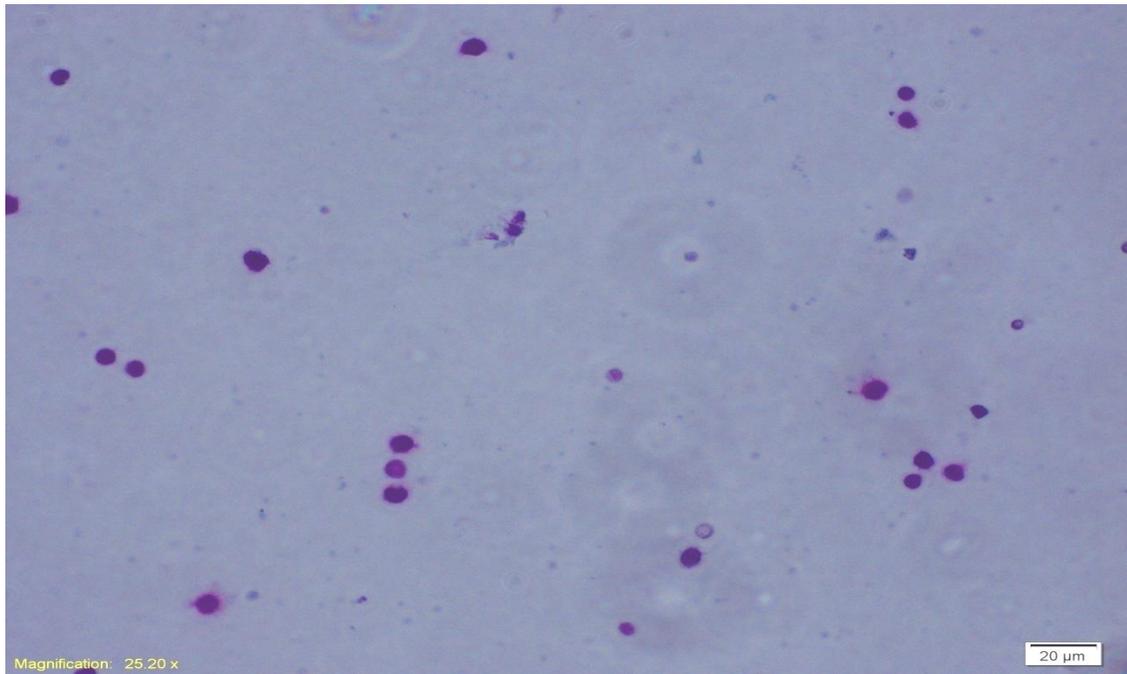
- 4) Kelompok sampel IV  
Dengan perlakuan : monosit + ekstrak biji kopi robusta 100% + lateks



Gambar 4.1 Kelompok sampel IV A, (mikroskop *inverted* perbesaran 400x).



Gambar 4.2 Kelompok sampel IV B, (mikroskop *inverted* perbesaran 400x).



Gambar 4.3 Kelompok sampel IV C, (mikroskop *inverted* perbesaran 400x).



Gambar 4.4 Kelompok sampel IV D, (mikroskop *inverted* perbesaran 400x).

Ket :

- - - - = Fagositosis monosit

**Lampiran E. *Informed Consent***

**SURAT PERSETUJUAN**  
**(INFORMED CONSENT)**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama :  
Umur : tahun  
Jenis Kelamin :  
Alamat :

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

Nama : Sariwiwit Intan Permata Asti  
NIM : 111610101087  
Fakultas : Kedokteran Gigi Universitas Jember  
Alamat : Jl. Danau Toba no.73 Jember

Dengan judul penelitian skripsi “Pengaruh Ekstrak Biji Kopi Robusta (*Coffea robusta*) terhadap Aktivitas Fagositosis Sel Monosit”.

Peneliti mengharapkan saya untuk mengambil sampel darah saya sebanyak 3 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,.....2014  
Yang menyatakan,

\_\_\_\_\_\*

\*Tulis nama terang

Lampiran F. *Ethical Clearance*



**KETERANGAN KELAIKAN ETIK PENELITIAN**  
**("ETHICAL CLEARANCE")**

No. 00112/KKEP/FGK-UGM/EC/2015

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

Judul : **PENGARUH EKSTRAK BIJI KOPI ROBUSTA (*Coffea robusta*)  
 TERHADAP AKTIVITAS FAGOSITOSIS SEL MONOSIT**

Peneliti Utama : Sariwivit Intan Permata Asti

Penanggung Jawab Medis : drg. Tantin Ermawati, M.Kes

Unit/Lembaga : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Lokasi Penelitian : Laboratorium Bioscience RSGM FKG Universitas Jember

Waktu Penelitian : Januari 2015- Selesai

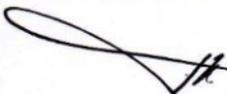
Maka dengan ini menyatakan bahwa penelitian tersebut telah memenuhi syarat atau laik etik.

Yogyakarta, 23 Januari 2015

Wakil Dekan Bidang Akademik dan Kemahasiswaan

  
 drg. Driati Nani Ratih, M.Kes., Sp. KG, Ph.D.

Ketua Komisi Etik Penelitian FKG UGM

  
 drg. Suryono, S.H, Ph.D.

## Lampiran G. Identifikasi Tanaman

 <b>DINAS KESEHATAN PROPINSI JAWA TIMUR</b> <b>UPT MATERIA MEDICA</b> Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396 Batu (65313) <b>KOTA BATU</b>	
Nomor	: 074/039/101.8/2015
Sifat	: Biasa
Perihal	: <b><u>Determinasi Tanaman Kopi Robusta</u></b>
Memenuhi permohonan saudara :	
Nama	: SARIWIWIT INTAN PERMATA ASTI
NIM	: 111610101087
Fakultas	: KEDOKTERAN GIGI, UNIVERSITAS JEMBER
1. Perihal determinasi tanaman kopi robusta	
Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: Dicotyledonae
Bangsa	: Rubiales
Suku	: Rubiaceae
Marga	: Coffea
Jenis	: <i>Coffea robusta</i> Link, ex De Willd.
Sinonim	: <i>Coffea canephora</i> var <i>robusta</i>
Kunci Determinasi	: 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14b-16a-239b-243b-244b-248b-249b-250a-251a-252b-1b-3b-4b-5b-6b-7a-1a
2. Morfologi : Habitus: Perdu, tahunan, tinggi ± 5 m. Batang: Berkayu, keras, tegak, putih keabu-abuan. Daun: Tunggal, bulat telur, mengkilat, ujung runcing, tepi rata, pangkal tumpul, panjang 5-15 cm, lebar 4-6.5 cm, pertulangan menyirip, tangkai panjang 0.5-1 cm, hijau, pangkal daun membulat. Bunga: Majemuk, bentuk payung, di ketiak daun, kelopak berbagi lima, hijau, mahkota bentuk bintang, putih, benang sari lima, tangkai sari putih, kepala sari hitam, panjang putik ± 3 cm, kepala putik coklat, putih. Buah: Bulat telur, diameter ± 5 mm, masih muda hijau setelah tua merah. Biji: Bulat telur, berbelah dua, keras, putih kotor. Akar: Tunggang, kuning muda.	
3. Nama Simplicia	: Coffeae Semen/ Biji Kopi.
4. Kandungan	: Daun kopi robusta mengandung alkaloid, saponin, flavonoida dan polifenol. Biji kopi robusta mengandung kafein dalam jumlah yang tinggi, ethyphenol, quinic acid, dicaffeoylquinic acid, dimethyl disulfide, putrescine, trigoneline, protein, dan asam amino.
5. Penggunaan	: Penelitian (Skripsi)
6. Daftar Pustaka	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Anonim. <a href="http://www.plantamor.com/kopi">http://www.plantamor.com/kopi</a>, diakses tanggal 17 Desember 2010.</li> <li>• Anonim. <a href="http://www.warintek.ristek.go.id/Kopi">http://www.warintek.ristek.go.id/Kopi</a>, diakses tanggal 21 Oktober 2010.</li> <li>• Syamsuhidayat, Sri Sugati dan Hutapea, Johny Ria. 1991. <i>Inventaris Tanaman Obat Indonesia I</i>. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Badan Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan.</li> <li>• Van Steenis, CGGJ. 2008. <i>FLORA</i>. Pradnya Paramita, Jakarta.</li> </ul>	
Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.	
Batu, 20 Januari 2015 Kepala UPT Materia Medica Batu   NIP. 19611102 199103 1 003	

## Lampiran H. Izin Penelitian



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

---

Nomor : ~~3359~~/UN25.1.8/TL/2014  
 Perihal : Ijin Trial

Kepada Yth.  
 Direktur RSGM Fakultas Kedokteran Gigi  
 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	: Sariwiyit Intan Permata Sari
2. NIM	: 111610101087
3. Tahun Akademik	: 2013/2014
4. Fakultas	: Kedokteran Gigi Universitas Jember
5. Alamat	: Jl. Danau Toba No. 73 A Jember
6. Judul Penelitian	: Aktifitas Fagositosis Sel Mo0nosit Yang Dipapar Ekstrak biji Kopi Robusta ( <u>Coffea Robusta</u> )
7. Lokasi Penelitian	: Lab. Bio Science RSGM Universitas Jember
8. Data/Alat yg dipinjam	: Alat pembuatan ekstrak dan penelitian
9. Waktu	: Juni 2014 s/d Selesai
10. Tujuan Penelitian	: Untuk Mengetahui : Aktifitas Fagositosis Sel Mo0nosit Yang Dipapar Ekstrak biji Kopi Robusta (Coffea Robusta)
11. Dosen Pembimbing	: 1. drg. Tantin Ermawati, M.Kes 2. drg. Dyah Setyorini, M.Kes

Demikian atas perkenan dan kerjasama yang baik disampaikan terima kasih.

Jember, 01 JUL 2014  
 an Dekan  
 Penjabat Dekan I



Hardyan Parnaadji, M.Kes, Sp.Prost  
 NIP. 19690112199601001

