

Efek Seduhan Kopi Robusta terhadap Laju Endap Darah Pada Tikus yang Diinduksi Periodontitis

(The Effect of Coffee Brewing in Erythrocyte Sedimentation Rate in Rat Induced Periodontitis)

Natasha Destanti Hariadi¹, Nadie Fatimatu Zahro², I Dewa Ayu Susilawati²

¹Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

²Bagian Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Korespondensi: Natasha Destanti Hariadi. Email :destantidestanti@yahoo.com

ABSTRACT

Background: *Porphyromonas gingivalis* is the most etiology of Periodontitis. The bacteria harm the gingiva and lead systemic inflammation by the circulation in bloodstream. The systemic inflammation is frequently correlated with the increased levels of fibrinogen. Thus, erythrocytes lose their electron charge electron, subsequently this condition increases erythrocyte sedimentation rate (ESR). ESR is a one of the blood screening parameter to investigate inflammation. Inflammation may be inhibited by natural ingredients which exhibit antiinflammatory effect. One of the natural products predicted to possess antiinflammatory effect is robusta coffee. **Objective:** to investigate the effect of coffee brewing in the erythrocyte sedimentation rate of rat induced periodontitis. **Methods:** Rat models were divided into 3 groups: control group, Periodontitis group, and Periodontitis treated coffee brewing group with 28 days of treatment. Periodontitis models were injected by *Porphyromonas gingivalis*, wire ligature attachment on the left lower jaw. Coffee brewing treatments was given 0,6 ml/day for 28 days. The ESR was observed by westegren method. **Result:** The periodontitis group presented the highest ESR among the groups, while the lowest value was presented control group. Moreover, there were statistically significant difference ($p < 0,05$) between groups. **Conclusion:** It is concluded there was an effect of coffee brewing to erythrocyte sedimentation rate, which coffee brewing decreased ESR.

Keywords: erythrocyte sedimentation rate, periodontitis, robusta coffee brewing, systemic inflammation

Pendahuluan

Periodontitis adalah penyakit kronis yang melibatkan jaringan lunak dan tulang yang mengelilingi gigi di rahang atau dikenal sebagai periodonsium. Periodontitis disebabkan oleh bakteri plak Gram negatif. *Porphyromonas gingivalis* adalah bakteri Gram negatif yang paling sering ditemukan dan merupakan etiologi utama periodontitis.¹ Bakteri periodontal tersebut merusak gingiva kemudian bersirkulasi melalui pembuluh darah, menyebabkan bakterimia dan dapat mengakibatkan inflamasi sistemik.^{2,3,4}

Inflamasi sistemik sering dihubungkan dengan peningkatan kadar fibrinogen. Pada suatu inflamasi, interleukin yang berasal dari granulosit yang rusak merangsang sel-sel hati untuk meningkatkan produksi fibrinogen.⁵ Fibrinogen memiliki fungsi penting, yaitu membentuk bekuan darah pada proses koagulasi. Selain itu, fibrinogen juga berfungsi meningkatkan viskositas darah, agregasi trombosit, dan laju endap darah (LED).⁶

Laju endap darah merupakan salah satu parameter dalam pemeriksaan darah. Pemeriksaan laju endap darah ini

mempunyai peranan penting sebagai indikator inflamasi, infeksi, trauma, atau penyakit ganas. Selain itu, laju endap darah bisa menjadi faktor prognosis yang penting pada kondisi non inflamasi seperti CHD (*Coronary Heart Disease*), Stroke, dan gagal jantung.⁷

Laju endap darah adalah kecepatan pengendapan sel-sel eritrosit di dalam tabung berisi darah yang telah diberi antikoagulan dalam waktu satu jam.^{8,9} Peningkatan nilai LED menunjukkan proses inflamasi dalam tubuh seseorang, baik inflamasi akut maupun kronis atau adanya kerusakan jaringan.⁹ Berdasarkan penelitian, LED meningkat pada pasien yang sedang mengalami inflamasi.¹⁰ LED dipilih karena LED merupakan indikator nonspesifik yang peka dan sensitif terhadap inflamasi.

Proses inflamasi dalam tubuh dapat dihambat dengan bahan alami yang memiliki kandungan antiinflamasi dan antioksidan. Salah satu bahan alami yang dilaporkan memiliki aktivitas antiinflamasi adalah kopi robusta. Kopi robusta mengandung kadar kafein yang lebih banyak dibandingkan dengan kopi arabika.¹¹ Kopi robusta memiliki kandungan seperti, kafein, *chlorogenic acid*, *ferulic acid* dan asam kafeat yang terbukti berkhasiat sebagai anti-inflamasi dan antioksidan.¹² Dalam beberapa penelitian, kafein mengurangi sekresi sitokin proinflamasi TNF- α , IL-1 β , IL-6 sehingga proses inflamasi terhambat.^{13,14,15} Asam klorogenat atau *Chlorogenic Acid* (CGA) telah terbukti memiliki efek biologis seperti antimutagen, antivirus, anti kanker, anti-inflamasi, antioksidan, dan *neuroprotective*.¹⁶ Asam ferulik (*ferulic acid*) terbukti dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan Gram negatif.¹⁷ Dihambatnya proses inflamasi oleh senyawa yang ada dalam kopi

diharapkan dapat menurunkan kadar fibrinogen yang berpengaruh terhadap nilai laju endap darah.

Terdapat fenomena bahwa periodontitis dapat meningkatkan laju endap darah dan kopi memiliki aktivitas anti-inflamasi. Potensi kopi terhadap inflamasi sudah banyak diteliti secara observasional, namun penelitian eksperimental belum banyak meneliti kaitannya terhadap laju endap darah. Oleh karena itu peneliti ingin melihat pengaruh pemberian seduhan kopi terhadap laju endap darah pada tikus yang mengalami periodontitis.

Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan eksperimen laboratoris dengan rancangan *the post test only control group design*. Penelitian ini telah mendapat persetujuan dari Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Jember dengan Nomer Surat 1.100/H.25.1.11/KE/2016.

Penelitian menggunakan tikus wistar jantan yang telah diadaptasikan selama 1 minggu sebelum perlakuan dan dilakukan pengukuran berat badan. Hewan coba dibagi menjadi 3 kelompok secara acak dimana tiap kelompok terdiri dari 5 sampel, yaitu:

- 1) Kelompok Kontrol : hewan coba tidak diberi perlakuan.
- 2) Kelompok Periodontitis : hewan diinjeksi 0,05 ml 2×10^9 CFU/ml *Porphyromonas gingivalis* dan dipasang *wire ligature*.
- 3) Kelompok Periodontitis Kopi : hewan coba diinjeksi 0,05 ml 2×10^9 CFU/ml dipasang *wire ligature*, dan diberi seduhan kopi sebanyak 0,6 mL setiap hari selama 28 hari.

Model tikus periodontitis dilakukan dengan cara menginjeksikan 0,05 ml konsentrasi 2×10^9 CFU/ml *P. gingivalis* pada area sulkus gingiva distobukal gigi molar pertama rahang bawah kiri

diberikan setiap tiga kali/ minggu selama 28 hari. Selain itu dilakukan pemasangan *wire ligature* berdiameter 0,5 mm yang dibentuk menyerupai huruf U lalu dipasang pada sulkus molar pertama rahang bawah kiri. Periodontitis dikonfirmasi melalui gambaran klinis dan radiografi rahang hewan coba.

Pembuatan seduhan kopi didasarkan pada dosis yang biasa digunakan untuk membuat secangkir kopi. Sebanyak 13 gram bubuk kopi robusta PTPN XII dilarutkan dalam 200ml aquades. Mula-mula aquades dididihkan (suhu 100°C) kemudian bubuk kopi dimasukkan dan diaduk selama 2 menit.¹⁸ Seduhan kopi didinginkan dalam suhu ruangan sampai mencapai suhu tubuh, kemudian disondasekan ke tikus sebanyak 0,6 ml/hari. Penghitungan dosis konversi:

$$\begin{aligned} 70\text{kg manusia} : 200\text{ml} &= 200\text{gr BBtikus} : X \\ 70.000\text{ gram} : 200\text{ml} &= 200\text{ gram} : X \\ 70.000X &= 40.000 \\ X &= 4/7 \\ X &= 0,6\text{ ml} \end{aligned}$$

Pada hari ke 28 tikus dipuaskan selama 10 jam sebelum dilakukan pengambilan darah. Tikus diambil dari kandang dan dianestesi dengan cara memasukkan tikus ke dalam tabung yang berisikan kasa yang telah dibasahi oleh *chloroform* hingga tikus hilang kesadaran, setelah itu hewan difiksasi sedemikian rupa dan dilakukan pembedahan torax sampai organ jantung terlihat kemudian darah diambil secara intrakardial menggunakan *disposable syringe* sebanyak ± 6 ml. Darah yang telah diambil dimasukkan dalam *vacuumtube* berisi antikoagulan EDTA.

Pengukuran laju endap darah menggunakan metode Westgren. Teknik pengukuran metode ini pertama-tama adalah

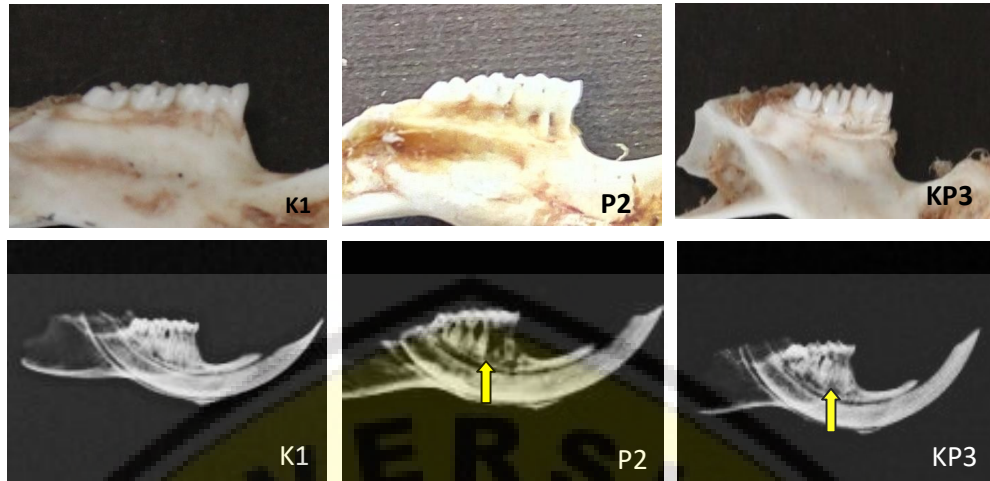
darah vena dengan EDTA dihisap kedalam tabung *westgren* sampai tanda 0 lalu, lubang atas tabung ditutup dengan jari, setelah itu dilakukan pengenceran dengan *sodium citrate* atau *sodium chloride* dengan perbandingan 4:1 (4 bagian darah dan 1 bagian larutan pengencer), jika sudah dilakukan pengenceran darah dihisap kembali ke dalam tabung *westgren* lalu ditempatkan di rak *westgren* dengan keadaan tepat vertikal, kemudian permukaan atas kolom eritrosit dibaca setelah satu jam.

Hasil penelitian dianalisis menggunakan *One Way Anova* dilanjutkan dengan uji *Least Significant Difference (LSD)* dengan nilai signifikansi $p < 0,05$

Hasil Penelitian

Periodontitis pada hewan coba ditandai dengan adanya resorpsi tulang alveolar. Pengamatan klinis menunjukkan bagian alveolar crest lebih apikal dari CEJ (*Cemento Enamel Junction*) pada rahang bawah kiri model tikus periodontitis. Pengamatan radiologis menunjukkan adanya gambaran radiolusen yang berupa penurunan 2 mm pada daerah tulang alveolar rahang bawah kiri model tikus periodontitis yang menunjukkan terjadinya resorpsi tulang alveolar (Gambar 1).

Prinsip pengukuran laju endap darah dengan metode *westgren* adalah semakin cepat terjadi pengendapan sel darah merah selama satu jam maka semakin tinggi nilai laju endap darah tersebut. Hasil pemeriksaan laju endap darah pada hewan coba menunjukkan nilai laju endap darah tertinggi pada kelompok periodontitis, diikuti kelompok periodontitis yang diberi seduhan kopi robusta dan yang paling rendah pada kelompok kontrol (table 1).



Gambar 1. Gambaran Klinis dan Radiografis Tulang Alveolar Mandibula Kiri Hewan Coba.

Pada kelompok kontrol (A, D) tulang alveolar dalam keadaan normal, tidak mengalami penurunan *alveolar crest*. Pada kelompok periodontitis (B, E) menunjukkan adanya periodontitis yang ditandai dengan posisi *alveolar crest* yang lebih ke apikal (tanda panah). Pada kelompok periodontitis kopi (C, F) juga menunjukkan adanya penurunan *alveolar crest*.

Tabel 1. Efek konsumsi seduhan kopi terhadap laju endap darah pada tikus yang diinduksi periodontitis

Kelompok	N	Laju Endap Darah
Kontrol	5	0,7 ± 0,2*
Periodontitis	5	2,5 ± 0,6*
Periodontitis + kopi robusta	5	1,5 ± 0,5*

Data yang tersaji merupakan rata-rata dan simpangan baku yang dianalisis dengan uji one way anova dan least significant difference; N, jumlah sampel; *, beda signifikan ($p < 0,05$)

Hasil uji *One Way Anova* laju endap darah $p=0,000$ ($p < 0,05$) menunjukkan hasil yang bermakna pada seluruh kelompok penelitian. Hasil ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna antar kelompok kontrol dengan kelompok periodontitis, kelompok kontrol dengan kelompok periodontitis+kopi dan kelompok periodontitis dengan kelompok periodontitis+kopi.

Pembahasan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek konsumsi seduhan kopi robusta terhadap nilai laju

endap darah tikus yang diinduksi periodontitis. Sampel darah yang digunakan pada penelitian ini berasal dari intrakardial. Laju endap darah diamati untuk melihat ada tidaknya perbedaan nilai laju endap darah pada model tikus periodontitis dengan tikus periodontitis yang diberi seduhan kopi. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember didapatkan hasil yang menunjukkan adanya perbedaan bermakna pada nilai laju endap darah antara kelompok kontrol, kelompok periodontitis, dan

kelompok periodontitis yang diberi seduhan kopi.

Pada kelompok tikus periodontitis didapatkan nilai laju endap darah yang paling tinggi karena pada kelompok ini dilakukan pemaparan bakteri *P. gingivalis* yang dapat menyebabkan inflamasi. Hal ini terjadi karena aktivitas LPS *P. gingivalis* merangsang makrofag mensekresi mediator inflamasi seperti TNF, IL-1, IL-6.¹⁸ Proses inflamasi merangsang sistem hematopoetik terutama sumsum tulang untuk melepaskan leukosit dan trombosit serta merangsang hepar untuk meningkatkan produksi fibrinogen.¹⁹ IL-6 merupakan sitokin yang terbanyak dalam merangsang sintesis hepatik beberapa protein plasma khususnya fibrinogen. Peningkatan kadar fibrinogen dapat menyebabkan eritrosit lebih mudah beraglutinasi dan menjadi berat sehingga terjadi peningkatan laju endap darah.^{20,21}

Mekanisme yang mendasari peningkatan laju endap darah pada kelompok periodontitis adalah infeksi dari bakteri *P. gingivalis*. Inflamasi pada sekitar jejas yang disebabkan bakteri tersebut dapat menyebar ke tempat lain dan menimbulkan efek sistemik. Penyebaran infeksi atau metastatis dapat melalui tiga mekanisme yaitu, metastasis infeksi yang dapat menyebar karena adanya mikroorganisme yang masuk lalu bersirkulasi dalam pembuluh darah dan menyebar ke seluruh tubuh, metastasis injuri yang merupakan kerusakan pada jaringan lain akibat sirkulasi toksin mikroorganisme, dan metastasis inflamasi yang dikarenakan terdapat interaksi imun yang distimulasi oleh bakteri.²² Ketiga mekanisme tersebut yang mendasari periodontitis berpotensi menyebabkan inflamasi sistemik, sehingga didapatkan nilai laju endap darah yang paling tinggi pada kelompok periodontitis.

Pada kelompok tikus periodontitis yang diberi seduhan kopi didapatkan nilai laju endap darah yang lebih rendah dibanding kelompok periodontitis. Hal ini disebabkan karena adanya senyawa bioaktif kopi antara lain polifenol dan alkaloid. Polifenol dan alkaloid berperan dalam menghambat Lipopolisakarida (LPS) untuk menginduksi sekresi mediator inflamasi seperti TNF, IL-8, MMPs, IL-1, dan IL-6 oleh makrofag.²³ Dengan dihambatnya mediator inflamasi khususnya IL-1 dan IL-6, sintesis fibrinogen di hepar menurun. Penurunan kadar fibrinogen menyebabkan penurunan nilai laju endap darah.¹⁹ Masih terdapatnya perbedaan bermakna pada kelompok periodontitis yang diberi seduhan kopi dengan kelompok kontrol dikarenakan induksi periodontitis terus diberikan sampai tikus dikorbankan, maka dari itu masih terdapat proses inflamasi yang terjadi.

Pada kelompok kontrol didapatkan nilai laju endap darah terendah karena tidak diberi perlakuan apapun. Nilai laju endap darah pada kelompok kontrol merupakan proses fisiologis dari tubuh. Nilai LED ditentukan oleh keseimbangan faktor prosedimentasi, terutama fibrinogen dan beberapa faktor penghambat sedimentasi yang disebut eritrosit bermuatan negatif (zeta potensial).⁶ Dari hasil pengukuran didapatkan rata-rata nilai LED pada kelompok kontrol sebesar $0,7 \pm 0,2$. Nilai tersebut sesuai dengan teori yang menyatakan bahwa nilai normal LED pada tikus Wistar jantan adalah $\leq 0,7$ mm/jam.

Berdasarkan penelitian, kandungan senyawa dalam kopi dapat menghambat inflamasi jaringan periodontal sehingga nilai laju endap darah pada kelompok tikus periodontitis yang diberi

seduhan kopi dapat lebih rendah. Hal tersebut sesuai dengan hipotesis penelitian ini, yaitu nilai laju endap darah pada tikus Wistar jantan yang diinduksi periodontitis dan diberi kopi lebih rendah dibanding nilai laju endap darah tikus Wistar jantan yang diinduksi periodontitis tanpa diberi seduhan kopi.

Kesimpulan

Kopi terbukti menurunkan nilai laju endap darah pada keadaan inflamasi. Hal tersebut dikarenakan kandungan senyawa pada kopi seperti polifenol dan alkaloid memiliki aktivitas antiinflamasi yang dapat menghambat proses inflamasi dalam tubuh sehingga nilai laju endap darah pada kelompok periodontitis kopi dapat diturunkan.

Saran yang dapat diberikan penulis yaitu pada penelitian selanjutnya diharapkan dapat dilengkapi dengan mengukur tingkat keparahan periodontitis, kadar fibrinogen, viskositas dalam darah model tikus periodontitis, dengan menggunakan dosis kopi yang bervariasi, durasi pemberian kopi, serta jenis kopi yang digunakan. Perlu juga dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai manfaat kopi terhadap kesehatan sistemik.

Daftar Pustaka

1. Mysak J, Podzimek S, Sommerova P, Lyuya-Mi Y, Bartova J, Janatova T, Prochazkova J, Duskova J. *Porphyromonas gingivalis*: major periodontopathic pathogen overview. *Journal of Immunology Research*. 2014; 14.
2. Panagakos F, Scannapieco. *Periodontal inflammation: from gingivitis to systemic disease in gingival disease: their aetiology, prevention & treatment*. 2011; 155-168.
3. Deshpande RG, Khan MB, Genco CA. Invasion of aortic and heart endothelial cell by *Porphyromonas gingivalis* infection and immunity. *JADA*. 2004; 66: 533-537.
4. Bobetsis YA, Barros SP, Offenbacher S. Exploring the relationship between periodontal disease and pregnancy complication. *JADA*. 2006; 137 (Suppl): 7S-13S
5. Sibuea HW, Panggabean MM, Guitom. *Ilmu penyakit dalam*. Jakarta: Rinneka Cipta;1992.
6. Handayani, TW. *Penilaian kadar fibrinogen pada subjek sindroma metabolik dan obesitas*. (Tesis). Medan. Universitas Sumatra Utara; 2013.
7. Bochen K, Krasowska A, Milaniuk S, Kulczyńska M, Prystupa, Dzida G. Erythrocyte sedimentation rate – an old marker with new applications. *Journal of Pre-Clinical and Clinical Research*. 2011; 5(2): 50-55.
8. Bridgen M. *Pathology and disease*. New York: Publisher; 2005. p.113-115.
9. Norderson NJ. *Health A to Z: erythrocyte sedimentation rate (ESR)*. Ontario: Ontario Association of Medical Disease; 2002.
10. Shashikanth H, Riyas, Kashyap R, Kumar A. Comparative evaluation of blood parameters in chronic periodontitis patients and healthy patients for sign of anemia. *Journal of Dental and Medical Sciences*. 2014; 13(12): 30-36.
11. Farah A. *Coffee constituent: emerging health effects and disease prevention*. Edisi I. Blackwell Publishing, Ltd; 2011.
12. Yashin YI, Cheurnousova NI, Fedina PA, Levin DA, Mironov SA. Determination of antioxidants in coffee by an

- amperometric method. *Beer Beverages*. 2013; 2: 45-47.
13. Lou Z, Wang H, Zhu S, Ma C, Wang Z. Antibacterial activity and mechanism of action of chlorogenic acid. *Journal of Food science*. 2011; 76(6): 398-403.
 14. Liang N dan David DK. Role of chlorogenic acids in controlling oxidative and inflammatory stress conditions. *Nutrients journal*. 2015.
 15. Hall S, Desbrow B, Anoopkumar-Dukie S. A review of the bioactivity of coffee, caffeine and key coffee constituents on inflammatory responses linked to depression. *Food Research International*. 2015; 76: 626-636.
 16. Xu JG, Hu QP, Liu Y. Antioxidant and DNA-protective activities of chlorogenic acid isomers. *J. Agric. Food Chem*. 2012; 60(46): 11625-11630.
 17. Jeong YC, Jae HM, Keun HP. Isolation and identification of 3-methoxy-4 hydroxybenzoic acid extract of *Hovenia dulcis* and confirmation of their antioxidative and antimicrobial activity. *Korean J. Food Sci. Technol*. 2000; 32(6): 1403-1408.
 18. Yamazaki K, Honda T, Domon H, Okui T, Kajita K, Amanuma R. Relationship of periodontal infection to serum antibody levels of periodontopathic bacteria and inflammatory markers in periodontitis patient with coronary heart disease. *Clinical and Experimental Immunology*. 2007;149: 445-52.
 19. Yunita A. Pengukuran kadar fibrinogen sebagai petanda inflamasi sistemik pada pasien penyakit paru obstruktif kronik. Aceh. Universitas Syiah Kuala; 2012.
 20. Kumar V, Cotran, Ramzi S, Robbins, Stanley L. Buku ajar patologi. Edisi VII. Jakarta: EGC; 2012.
 21. Utama IH. Diagnostik laboratorium klinik. Penerbit Universitas Udayana; 2002.
 22. Li X, Kolltveit KM, Tronstad L, Olsen I. Systemic diseases caused by oral infection. *Clinical Microbiology Reviews*. 2000;13(4): 547-558.
 23. Palaska I, Papathanasion E, Theoharides TC. Use of polyphenols in periodontal inflammation. *European Journal of Pharmacology*. Elsevier; 2013.
 24. Kee JL. Laboratory and diagnostic test with nursing implication. Edisi VI. Pearson Education, Inc; 2007