



**EFEK SEDUHAN KOPI ROBUSTA TERHADAP EKSPRESI
C-REACTIVE PROTEIN PADA MODEL TIKUS
HIPERLIPIDEMIA**

SKRIPSI

Oleh

**Falah Yudana Fahmi
151610101096**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2019**



**EFEK SEDUHAN KOPI ROBUSTA TERHADAP EKSPRESI
C-REACTIVE PROTEIN PADA MODEL TIKUS
HIPERLIPIDEMIA**

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

**Falah Yudana Fahmi
NIM 151610101096**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2019**

PERSEMBAHAN

Dengan nama Allah Yang Maha Pengasih dan Penyayang, skripsi ini saya persembahkan untuk:

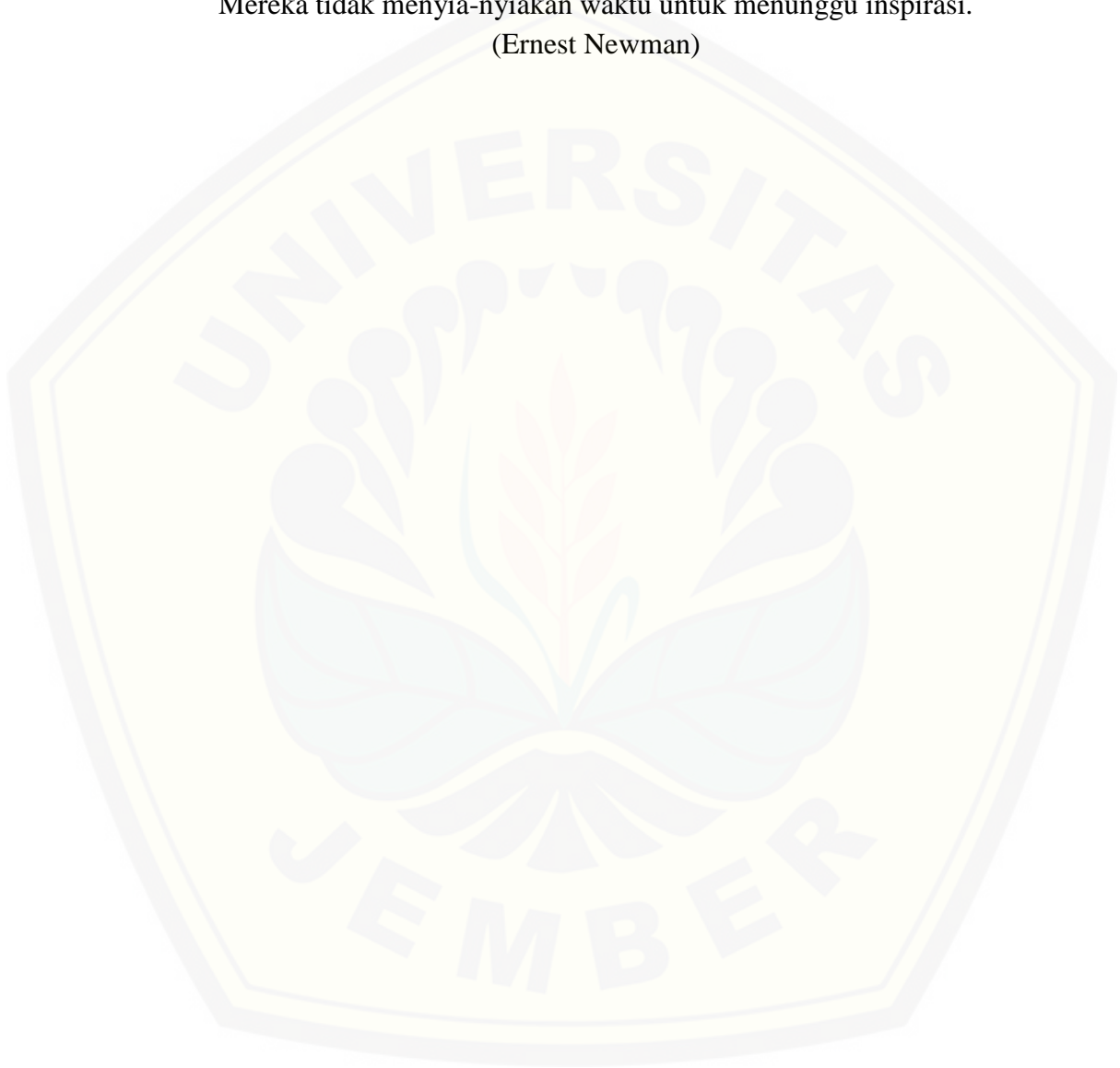
1. Ibundaku tercinta Mukti Lestari dan ayahanda tersayang Fatchul ilmi
2. Kakakku yang tersayang dr. Dyah Ayu Fahmi dan dr. Kristia Fahmi;
3. Dosen pembimbingku drg. Nadie Fatimatuzzahro.,M.D.Sc., drg. Rendra Chriestedy Prasetya.,M.D.Sc;
4. Dosen pembimbing akademik drg. Kiswaluyo M.Kes;
5. Pahlawan tanpa tanda jasa sejak taman kanak-kanak sampai dengan perguruan tinggi;
6. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

MOTO

Orang-orang hebat di bidang apapun bukan baru bekerja karena mereka terinspirasi, namun mereka menjadi terinspirasi karena mereka lebih suka bekerja.

Mereka tidak menyia-nyiakan waktu untuk menunggu inspirasi.

(Ernest Newman)



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Falah Yudana Fahmi

NIM : 151610101096

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Efek Seduhan Kopi Robusta terhadap Ekspresi *C-Reactive Protein* pada Model Tikus Hiperlipidemia” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 7 Mei 2019

Yang menyatakan

Falah Yudana Fahmi

NIM 151610101096

SKRIPSI

**EFEK SEDUHAN KOPI ROBUSTA TERHADAP EKSPRESI C-
REACTIVE PROTEIN PADA MODEL TIKUS
HIPERLIPIDEMIA**

Oleh

Falah Yudana Fahmi
NIM 151610101096

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : drg. Nadie Fatimatuzzahro., M.D.Sc.

Dosen Pembimbing Pendamping : drg. Rendra Chriestedy Prasetya., M.D.Sc.

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2019**

PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul “Efek Seduhan Kopi Robusta terhadap Ekspresi *C-Reactive Protein* pada Model Tikus Hiperlipidemia” karya Falah Yudana Fahmi telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal :

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Penguji Ketua

Penguji Anggota

drg. Dessy Rachmawati, M.Kes., Ph.D
NIP 197612232005012001

Prof. Dr. drg. I.D.A Ratna Dewanti., M.Si
NIP 196705021997022001

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping

drg. Nadie Fatimatuzzahro., M.D.Sc.
NIP 198204242008012022

drg. Rendra Chriestedy Prasetya., M.D.Sc.
NIP 198305312008011003

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Jember,

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

RINGKASAN

Efek Seduhan Kopi Robusta terhadap Ekspresi *C-Reactive Protein* pada Model Tikus Hiperlipidemia. Falah Yudana Fahmi, 151610101096; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Menurut data *World Health Organization* (WHO) tahun 2012, pasien yang meninggal akibat penyakit kardiovaskuler sebesar 17,5 juta orang atau 31% dari 56,5 juta kematian di seluruh dunia. Hiperlipidemia merupakan salah satu faktor resiko yang paling berbahaya untuk terjadinya Penyakit Jantung Koroner (PJK). Hiperlipidemia ditandai dengan peningkatan kadar *Low Density Lipoprotein* (LDL). Hiperlipidemia menyebabkan peningkatan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan penurunan kadar *Nitric Oxide* (NO) yang mengakibatkan peningkatan permeabilitas pembuluh darah sehingga LDL akan mudah masuk dan teroksidasi menjadi oxLDL yang akan dianggap sebagai antigen sehingga mengaktifkan makrofag untuk melakukan proses fagositik. Proses ini akan menyebabkan produksi berbagai macam sitokin proinflamasi seperti IL-1, IL-6, dan TNF α yang akan menstimulasi sel hepatosit membentuk protein fase akut seperti *C-Reactive Protein* (CRP).

Saat ini dibutuhkan bahan alami untuk mengatasi stress oksidatif dan inflamasi yang diharapkan dapat menurunkan ekspresi CRP. Salah satu bahan yang mempunyai potensi antioksidan dan antiinflamasi adalah kopi. Kafein memiliki peran sebagai antioksidan dengan cara menekan produksi radikal bebas dan memiliki efek anti inflamasi sebagai penghambat TNF α . Asam klorogenat dapat menghambat TNF α dan IL-6 sebagai antiinflamasi. Kandungan *ferulic acid* pada kopi juga memiliki potensi dalam menghambat peroksidasi lipid, sehingga dapat mencegah terjadinya aterosklerosis. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitas pemberian kopi robusta sebagai penghambat ekspresi CRP pada tikus hiperlipidemia.

Jenis penelitian ini adalah *true experimental* dengan rancangan penelitian *randomized post test only control group design*. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini dibagi menjadi tiga kelompok yaitu kelompok kontrol, kelompok

hiperlipidemia, dan kelompok kopi. Diet tinggi lemak dilakukan secara sondase pada pagi hari dengan campuran 3 gram lemak babi dan 2 gram kuning telur bebek. Seduhan kopi sebanyak 3,6 ml/ ekor/ hari diberikan secara sondase setiap sore hari. Pada hari ke-29 hewan coba dikorbankan untuk pengambilan organ jantung yang selanjutnya dilakukan pemrosesan jaringan secara histologi. Pengamatan ekspresi CRP yang dilakukan oleh tiga orang pengamat dan pengukuran ekspresi CRP menggunakan *histo score*.

Pemeriksaan kadar LDL dilakukan pada serum darah tikus dan didapatkan bahwa kelompok hiperlipidemia mengalami peningkatan kadar LDL yang signifikan. Gambaran immunohistokimia menunjukkan ekspresi CRP lebih kuat pada kelompok hiperlipidemia yang ditandai dengan intensitas warna coklat yang lebih kuat dibandingkan dengan kelompok kontrol dan perlakuan kopi. Selanjutnya, pada hasil uji *post hoc* LSD menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) pada semua kelompok.

Pemberian seduhan kopi robusta terbukti menurunkan ekspresi CRP pada sel endotel tunika intima arteri koroner tikus hiperlipidemia. Hal ini terjadi karena kandungan dari kopi robusta yang berfungsi sebagai antioksidan dan antiinflamasi. Kafein dan asam klorogenat sebagai antioksidan akan mencegah produksi radikal bebas dengan beberapa mekanisme reaksi yaitu pelepasan hidrogen dan antioksidan, pelepasan elektron dari antioksidan, addisi asam lemak ke cincin aromatik pada antioksidan, dan membentuk senyawa kompleks antara lemak dan cincin aromatik dari antioksidan. Penghambatan proses oksidasi LDL oleh kafein dan asam klorogenat akan menyebabkan mekanisme inflamasi menurun sehingga terjadi penurunan CRP pada sel endotel kelompok kopi. Berdasarkan uraian tersebut dapat disimpulkan pemberian seduhan kopi dapat menurunkan ekspresi CRP pada sel endotel tunika intima arteri koroner tikus yang diinduksi diet tinggi lemak.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT. atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Efek Seduhan Kopi Robusta terhadap Ekspresi *C-Reactive Protein* pada Model Tikus Hiperlipidemia”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Jurusan Pendidikan Dokter Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terimakasih kepada:

1. drg. Nadie Fatimatuzzahro., M.D.Sc., selaku Dosen Pembimbing Utama, drg. Rendra Chriestedy Prasetya., M.D.Sc., selaku Dosen Pembimbing Pendamping, yang telah membagikan ilmu, waktu dan pengalamannya dalam proses penyelesaian skripsi penulis;
2. drg. Dessy Rachmawati, M.Kes., Ph.D., selaku Penguji Ketua, Prof. Dr. drg. I Dewa Ayu Ratna Dewanti., M.Si., selaku Penguji Anggota, yang telah bersedia meluangkan waktu untuk membaca, memberikan kritik dan memberikan saran pada skripsi penulis;
3. drg. Kiswaluyo., M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama penulis menjadi mahasiswa;
4. Keluargaku yang telah memberikan doanya demi terselesaikannya skripsi ini;
5. Teman-teman penelitian Widy Jatmiko dan Moch Bahrul Ulum; dan
6. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, November 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL.....	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN.....	vi
HALAMAN PENGESAHAN.....	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB 1 . PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah.....	3
1.3. Tujuan.....	3
1.4. Manfaat.....	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1. Hiperlipidemia	4
2.2. Aterosklerosis.....	5
2.3. Arteri Koroner	7
2.4. C-Reactive Protein.....	9
2.5. Kopi Robusta.....	10
2.6. Kerangka Konsep.....	14
2.7. Hipotesis Penelitian.....	14

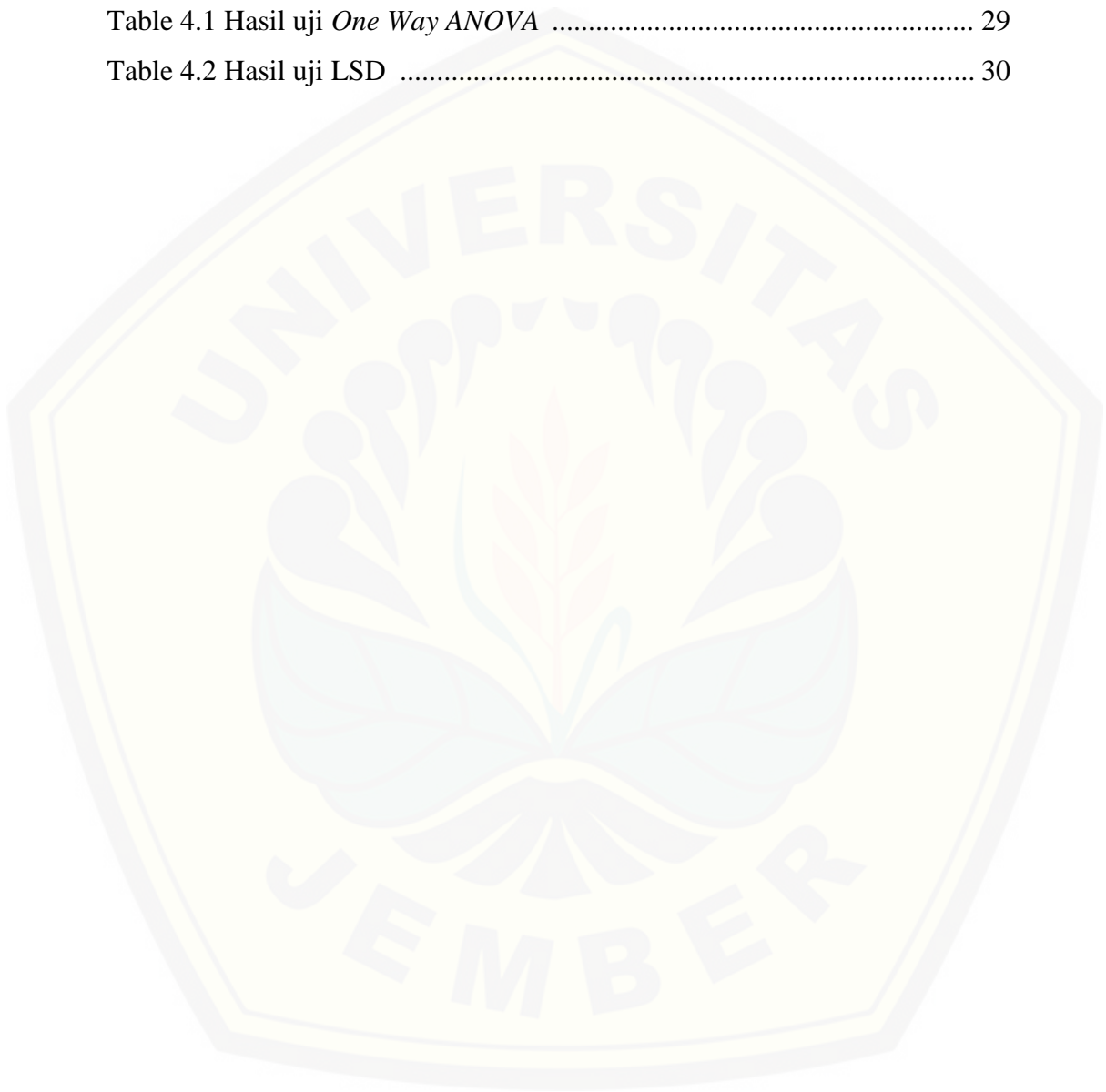
BAB 3. METODE PENELITIAN	15
3.1. Jenis dan Rancangan Penelitian	15
3.2. Waktu dan Tempat Penelitian	16
3.2.1. Waktu Penelitian	16
3.2.2. Tempat Penelitian.....	16
3.3. Populasi dan Sampel	16
3.4. Variabel Penelitian	17
3.4.1. Variabel Bebas	17
3.4.2. Variabel Terikat	17
3.4.3. Variabel Terkendali.....	17
3.5. Definisi Operasional	18
3.5.1. Diet Tinggi Lemak	18
3.5.2. Seduhan Kopi Robusta.....	18
3.5.3. <i>C-Reactive Protein</i>	18
3.6. Ala dan bahan penelitian	18
3.7. Prosedur Penelitian	19
3.7.1. Uji Kelayakan Etik (<i>Ethical Clearance</i>).....	19
3.7.2. Adaptasi dan Perawatan Hewan Coba	20
3.7.3. Pembuatan Larutan Perlakuan.....	20
3.7.4. Perlakuan pada Kelompok Hewan Coba.....	20
3.7.5. Pengambilan Arteri Koroner	21
3.7.6. Pemrosesan Jaringan (Arteri Koroner).....	21
3.8. Pengamatan	24
3.8. Analisis Data	24
3.9. Alur Penelitian	25
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	26
4.1. Hasil Penelitian	26
4.2. Pembahasan	30
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	33
5.1. Kesimpulan	33
5.2. Saran	33

DAFTAR PUSTAKA	34
LAMPIRAN	40



DAFTAR TABEL

	Halaman
Table 2.1 Perbedaan kandungan kimia biji kopi Arabika dan Robusta.....	12
Table 4.1 Hasil uji <i>One Way ANOVA</i>	29
Table 4.2 Hasil uji LSD	30

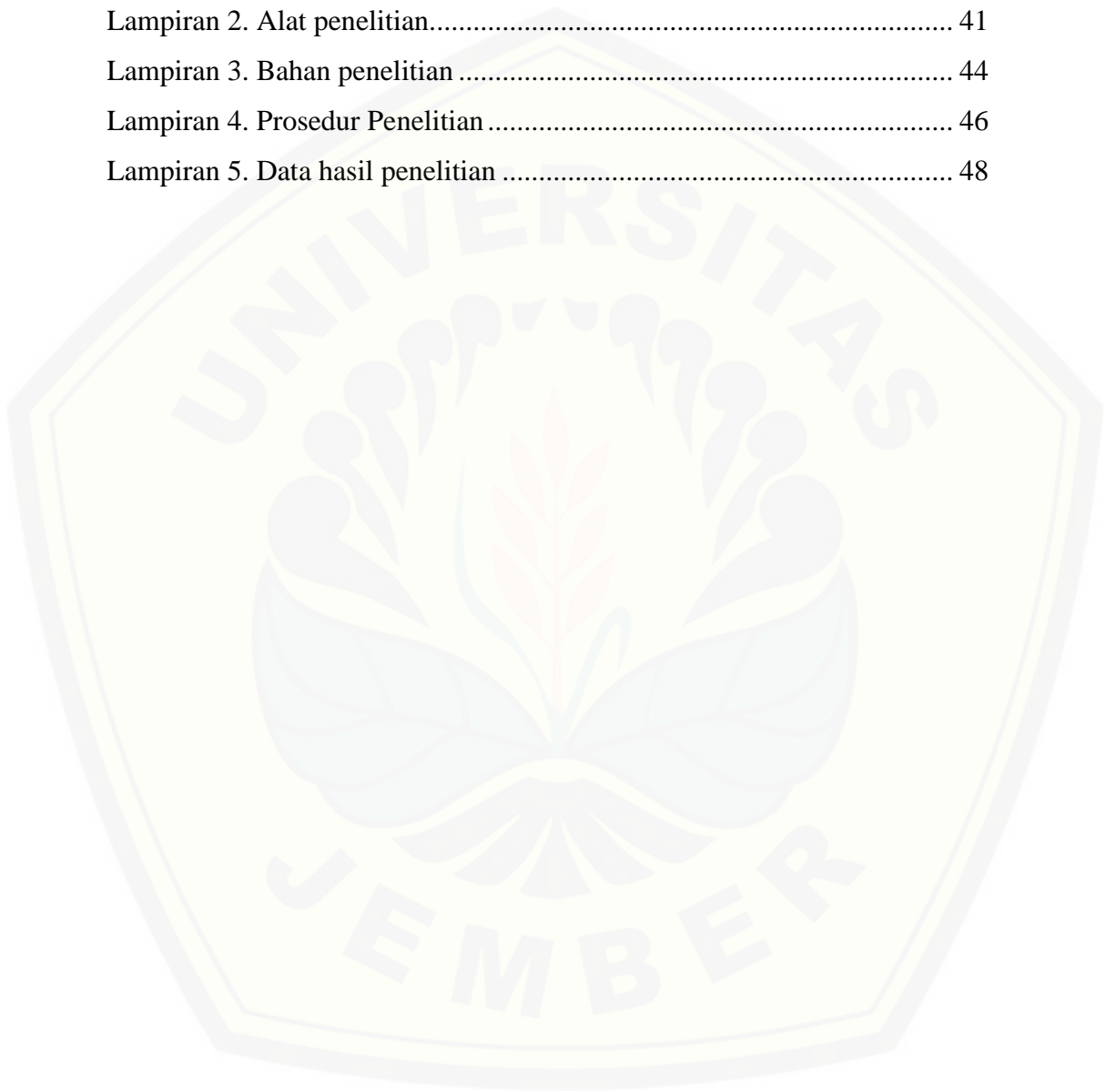


DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Mekanisme hiperlipidemia	4
Gambar 2.2 Tahapan perkembangan lesi aterosklerosis	6
Gambar 2.3 Struktur histologi arteri dan vena	8
Gambar 2.4 Mekanisme CRP dari dalam pembuluh darah.....	9
Gambar 3.1 Rancangan Penelitian	15
Gambar 3.2 Prosedur pengambilan bagian arteri koroner	21
Gambar 3.3 Alur Penelitian	25
Gambar 4.1 Kadar LDL tikus post perlakuan diet tinggi lemak	26
Gambar 4.2 Gambaran histologi arteri koroner tikus.....	27
Gambar 4.3 Gambaran histologi arteri koroner tikus perbesaran 1000x...	29
Gambar 4.4 Gambar diagram batang rata-rata ekspresi CRP	29

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. <i>Ethical clearance</i>	40
Lampiran 2. Alat penelitian.....	41
Lampiran 3. Bahan penelitian	44
Lampiran 4. Prosedur Penelitian	46
Lampiran 5. Data hasil penelitian	48



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Hiperlipidemia merupakan salah satu faktor resiko yang paling berbahaya untuk terjadinya Penyakit Jantung Koroner (PJK). Di Indonesia penyakit kardiovaskuler yang memiliki prevalensi paling tinggi adalah Penyakit Jantung Koroner (PJK) sebesar 1,5 % (Riskesdas, 2013). Data *World Health Organization* (WHO) menunjukkan pasien yang meninggal akibat penyakit kardiovaskuler sebesar 17,5 juta orang atau 31% dari 56,5 juta kematian di seluruh dunia (WHO, 2012).

Hiperlipidemia adalah kondisi patologis yang terjadi akibat kelainan metabolisme lipid dan ditandai dengan peningkatan kadar *Low Density Lipoprotein* (LDL) dalam darah (Amit *et al.*, 2011). Seiring bertambahnya usia, dengan pola makan yang tidak sehat dan tinggi kolesterol secara terus menerus seperti pada lemak hewani dan kuning telur, akan menyebabkan kadar LDL melebihi batas normal di dalam darah (Legein *et al.*, 2013).

Hiperlipidemia dapat mengganggu metabolisme oksigen yang ditandai dengan peningkatan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan penurunan kadar *Nitric Oxide* (NO) yang menyebabkan disfungsi endotel sehingga terjadi peningkatan permeabilitas pembuluh darah (Peter, 2012). Kondisi ini akan menyebabkan LDL dalam darah mudah masuk ke tunika intima. Selanjutnya LDL akan mengalami oksidasi menjadi LDL teroksidasi yang kemudian direspon oleh tubuh sebagai antigen sehingga mengaktifkan makrofag untuk melakukan proses fagositik. Proses ini akan menyebabkan terbentuknya *foam cell* yang akan berkembang menjadi plak aterosklerosis (Vogiatzi *et al.*, 2009).

Pembentukan aterosklerosis akibat proses inflamasi tidak terlepas dari produksi berbagai macam sitokin proinflamasi seperti *Interleukin-1* (IL-1), *Interleukin-6* (IL-6) dan *Tumor necrosis factor* (TNF α). Peningkatan sekresi IL-1, IL-6, dan TNF α akan menstimulasi sel hepatosit membentuk protein fase akut seperti *C-Reactive Protein* (CRP) (Chung *et al.*, 2014). CRP merupakan salah satu protein penanda yang muncul saat terjadinya inflamasi dan dihasilkan sel

hepatosit di hati (Tymchak, 2010). CRP secara independen dan sangat kuat dapat digunakan sebagai *biomarker* respon peradangan fase akut-kronis yang mudah dan murah bila dibandingkan dengan biomarker inflamasi lainnya (Chung *et al.*, 2014).

Ekspresi CRP dalam tubuh dapat mengalami peningkatan maupun penurunan. Saat terjadi inflamasi, CRP akan mengalami peningkatan ekspresi dalam darah. Individu yang sehat tanpa inflamasi memiliki jumlah CRP <1 mg/L dengan median 0.8 mg/L. Sementara itu, Pada keadaan inflamasi CRP dapat meningkat sampai 100 mg/L. Studi terbaru menunjukkan bahwa CRP memiliki efek proaterosklerotik langsung pada fungsi seluler yang terlibat dalam pembentukan lesi aterosklerotik. CRP menginduksi aktivasi sel endotel dan membantu penyerapan LDL oleh makrofag melalui aktifitas opsonisasi. Peningkatan produksi CRP oleh sel hepatosit dapat ditemukan pada kondisi inflamasi akibat hiperlipidemia. Pada kondisi tersebut CRP disekresikan ke peredaran darah menuju sel endotel arteri koroner yang mengalami aterosklerosis pada jaringan yang terinflamasi (Montero *et al.*, 2006).

Saat ini dibutuhkan bahan alami untuk mengatasi stress oksidatif dan inflamasi yang merupakan proses pembentukan aterosklerosis sehingga diharapkan dapat menurunkan ekspresi CRP. Salah satu bahan yang mempunyai potensi antioksidan dan antiinflamasi adalah kopi. Potensi ini dihubungkan dengan kandungan kafein dan asam klorogenat (Hall *et al.*, 2015; Buscemi *et al.*, 2014). Selain itu kopi banyak dimanfaatkan sebagai minuman dalam bentuk seduhan. Tingkat konsumsi kopi masyarakat Indonesia mengalami peningkatan dari 0,80 kg/kapita/tahun pada tahun 2010 menjadi 1,15 kg/kapita/tahun pada tahun 2016 (AEKI, 2017).

Secara umum di Indonesia dikenal 2 jenis kopi, yaitu kopi arabika (*coffea arabica*) dan kopi robusta (*coffea canephora*). Kopi mempunyai kandungan senyawa fitofarmaka seperti kafein, *chlorogenic acid* (CGAs), *dihydrocaffeic acid* (DHCA), dan *ferulic acid* (Huang *et al.*, 2004; Ong *et al.*, 2010; Farah, 2012). Kopi juga mengandung berbagai mineral seperti Ca, K, Fe, P, Ni, Mg, dan Cr (Oliveira *et al.*, 2012). Kopi robusta mempunyai kandungan kafein dan asam

klorogenat lebih tinggi dibandingkan kopi arabika (Farah, 2012). Kafein secara signifikan mengurangi lesi pembentukan aterosklerosis dengan bertindak sebagai antioksidan dengan cara menekan produksi radikal bebas (John *et al.*, 2012). Kandungan kafein dalam kopi juga terbukti memiliki efek antiinflamasi. Dari penelitian yang telah dilakukan, kafein dapat menghambat TNF α (Hall *et al.*, 2015). Berdasarkan penelitian Liang *et al.* (2015) asam klorogenat dapat menghambat TNF α dan IL-6 sebagai antiinflamasi sehingga diduga dapat menurunkan ekspresi CRP dalam darah. Pada kondisi aterosklerosis, asam klorogenat juga akan menghambat oksidasi LDL pada plasma dan tunika intima (Yukawa *et al.*, 2004). Kandungan *ferulic acid* pada kopi juga memiliki potensi dalam menghambat peroksidasi lipid, sehingga dapat mencegah terjadinya aterosklerosis (Hall *et al.*, 2015; Buscemi *et al.*, 2014). Penelitian sebelumnya membuktikan bahwa konsumsi seduhan kopi robusta dapat menurunkan kadar LDL darah (Fatimatuzzahro dan Chriestedy, 2018). Berdasarkan latar belakang tersebut, penulis tertarik melakukan penelitian ini untuk mengetahui efek seduhan kopi robusta terhadap ekspresi *C-Reactive Protein* pada tikus hiperlipidemia.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana efek seduhan kopi robusta terhadap ekspresi *c-reactive protein* pada tikus hiperlipidemia?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek seduhan kopi robusta terhadap ekspresi CRP pada tikus hiperlipidemia.

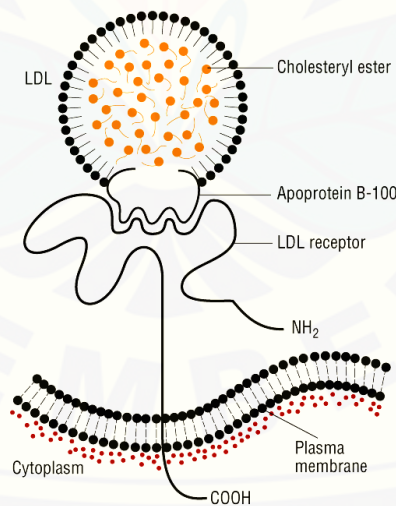
1.4 Manfaat Penelitian

1. Penelitian ini diharapkan bisa meningkatkan pengetahuan tentang manfaat dari kopi robusta sebagai antiinflamasi dalam menghambat CRP.
2. Hasil penelitian ini bisa bermanfaat untuk penelitian selanjutnya.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Hiperlipidemia

Lemak (disebut juga lipid) adalah zat yang kaya energi, yang berfungsi sebagai sumber energi utama untuk proses metabolisme tubuh. Lemak diperoleh dari makanan atau dibentuk di dalam tubuh, terutama di hati (LIPI, 2009). Agar dapat masuk ke aliran darah serta larut dalam plasma darah, lemak harus berikatan dengan protein tertentu. Gabungan antara lemak dan protein ini disebut lipoprotein yang bertugas mengangkut lipid yang berasal dari sumber endogen maupun eksogen menuju ke jaringan untuk dioksidasi dan disimpan. Partikel lipoprotein ini terdiri dari bagian inti yang mengandung trigliserida, ester kolesterol yang dikelilingi oleh fosfolipid, kolesterol bebas, dan apolipoprotein (Gambar 2.1). Terdapat dua jenis lemak utama di dalam darah, yaitu kolesterol dan trigliserida (Suyatna, 2007). Bila kadar lemak dalam darah tinggi maka akan terjadi hiperlipidemia. Keadaan ini disebabkan oleh kadar lemak yang abnormal dalam darah (LIPI, 2009).



Gambar 2.1 Mekanisme hiperlipidemia (DiPiro *et al.*, 2014).

Hiperlipidemia merupakan keadaan patologis yang terjadi akibat kelainan metabolisme lipid (Stone *et al.*, 2013). Hiperlipidemia dapat menyebabkan masalah jangka panjang, salah satunya adalah aterosklerosis (LIPI, 2009).

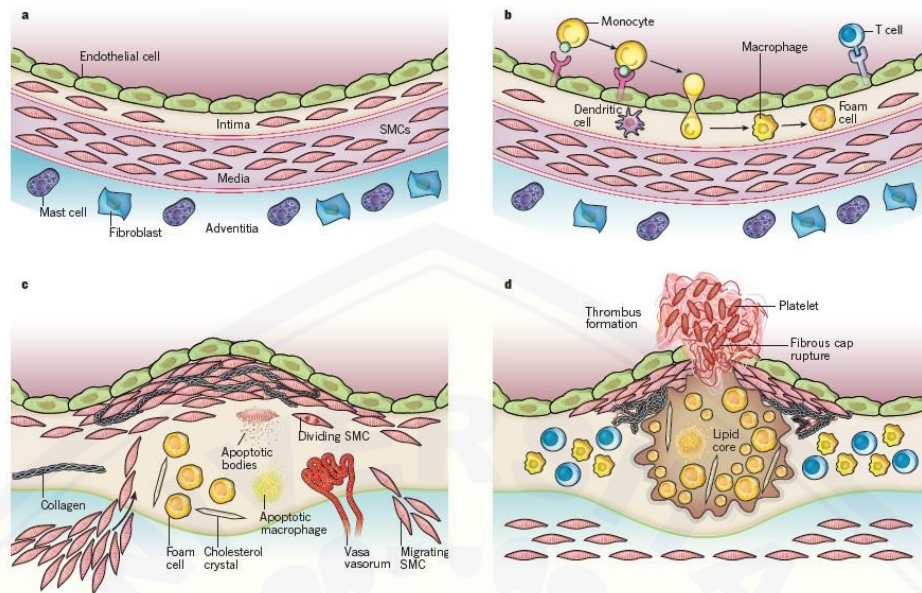
Hiperlipidemia ditandai dengan meningkatnya kadar *Low density lipoprotein* (LDL) dalam darah (Amit *et al.*, 2011). LDL merupakan lipoprotein yang mengangkut kolesterol dalam kadar paling tinggi diantara lipoprotein lainnya. *Hyper-LDL* dalam darah dapat dijadikan indikator faktor resiko terjadinya aterosklerosis (Legein *et al.*, 2013).

Kadar lipoprotein, terutama kolesterol LDL, akan meningkat sejalan dengan bertambahnya usia. Dalam keadaan normal, pria memiliki kadar yang lebih tinggi dibanding wanita, tetapi setelah menopause kadarnya pada wanita mulai meningkat. Faktor yang menyebabkan tingginya kadar lemak LDL adalah riwayat keluarga dengan hiperlipidemia, obesitas, diet tinggi lemak, kurang melakukan olah raga dan merokok (LIPI, 2009). Diet tinggi lemak seperti lemak hewani dan kuning telur merupakan salah satu faktor risiko utama yang menyebabkan aterosklerosis, yang kemudian menjadi dasar penyakit jantung koroner (Chun *et al.*, 2005).

2.2 Aterosklerosis

Aterosklerosis merupakan penebalan yang terjadi pada dinding pembuluh darah yang secara perlahan dapat menyebabkan penyumbatan pada pembuluh darah (Keche *et al.*, 2012). Aterosklerosis ditandai dengan hilangnya elastisitas pada dinding arteri yang disebabkan proses inflamasi. Akibatnya, terjadi pembentukan plak aterosklerosis. Plak aterosklerosis akan terus berkembang menjadi lesi yang progresif karena adanya proses inflamasi. Selain itu, aterosklerosis dapat menimbulkan berbagai macam komplikasi salah satunya penyakit jantung koroner (Legein *et al.*, 2013).

Tunika intima pada lapisan arteri terdapat sel endotel yang bisa memproduksi *Nitric oxide* (NO) sebagai faktor vasorelaksan yang paling signifikan (gambar 2.2 a). *Nitric oxide* dapat merangsang relaksasi sel otot polos pada pembuluh darah, menghambat proliferasi yang berlebih dari sel otot polos dan mencegah adhesi leukosit untuk migrasi ke dinding arteri (Fliser *et al.*, 2011).



Gambar 2.2 Tahapan perkembangan lesi aterosklerosis (Libby *et al.*, 2011).

Kadar LDL yang tinggi adalah *injury* utama pada endotel. Kondisi ini akan meningkatkan produksi zat-zat oksigen reaktif (ROS/ *Reactive Oxygen Species*) pada endotel. ROS merupakan senyawa pengoksidasi turunan oksigen yang bersifat sangat reaktif. Pada manusia radikal bebas ini dapat dinetralisir, tetapi jika jumlahnya melebihi batas antioksidan seluler maka akan merusak sel itu sendiri. Kondisi ini yang disebut dengan stress oksidatif (Rani, 2015).

Stress oksidatif dan inflamasi yang secara terus menerus akan menyebabkan bioavailabilitas dari NO menurun. Hal ini menyebabkan disfungsi endotel yang menyebabkan permeabilitas pembuluh darah meningkat sehingga LDL akan mudah masuk ke dalam tunika intima (Fliser *et al.*, 2011; Hannson, 2005). Penurunan produksi NO juga menyebabkan ekspresi molekul adhesif meningkat pada sel endotel seperti *Vascular Cell Adhesion Molecule-1* (VCAM-1) yang membantu monosit berinfiltrasi ke dalam tunika intima (Spagnoli *et al.*, 2007).

Monosit pada tunika intima akan berdiferensiasi menjadi makrofag. LDL pada tunika intima akan termodifikasi akibat ROS menjadi LDL teroksidasi. Melalui reseptor *scavenger* LDL teroksidasi akan difagosit oleh makrofag sehingga menghasilkan *foam cell* (sel busa) (gambar 2.2 b). Setelah itu, sel busa,

sel T dan beberapa sel otot polos akan bersatu membentuk *fatty streak* sebagai prekursor aterosklerosis (gambar 2.2 c) (Maramis *et al.*, 2014). Pembentukan *fatty streak* yang progresif akan memperbesar perkembangannya dan dapat menyebabkan berbagai komplikasi seperti ruptur, ulser, erosi, dan pendarahan (gambar 2.2 d) (Libby *et al.*, 2011).

2.3 Arteri Koroner

Arteri koroner berada di bagian proksimal aorta dan terdiri atas *Right Coronary Artery* (RCA) dan *Left Coronary Artery* (LCA). RCA berasal dari sinus aorta kanan dan berjalan dari sulkus koroner ke tepi bawah. Cabang utama RCA yaitu arteri marginalis dan arteri *Right Posterior Descending* (RPD). LCA berasal dari sinus aorta kiri yang bercabang membentuk ramus interventrikular anterior atau arteri *Left Anterior Descending* (LAD) dan ramus sirkumfleksa. LAD berjalan dari LCA menuju apeks jantung. Sedangkan ramus sirkumfleksa atau *Left Circumflex Artery* (LCx) berjalan di dalam sulkus koroner mengelilingi tepi jantung sebelah kiri hingga mencapai bagian posterior jantung (Bastarrika *et al.*, 2008; Badshah *et al.*, 2015).

Fungsi arteri koroner adalah menyuplai darah ke miokardium dan epikardium, sedangkan endokardium akan menerima pasokan O₂ dan nutrisi yang berasal dari kontak langsung dengan darah di dalam ruang jantung. LCA berfungsi untuk menyuplai darah bagian anterior dan lateral dari ventrikel kiri. Sedangkan RCA menyuplai sebagian besar darah pada ventrikel kanan serta bagian posterior ventrikel kiri (Kini dan Leroy, 2017). Secara histologi arteri koroner terdiri dari beberapa lapisan, antara lain :

1. Tunika intima

Tunika intima mempunyai satu lapis sel endotel yang ditopang oleh selapis tipis subendotel jaringan ikat longgar yang mengandung sel otot polos. Tunika intima pada arteri dipisahkan dari tunika media oleh lamina elastika interna atau komponen terluar tunika intima. Lamina elastika interna terdiri atas elastin dan mempunyai celah (*fenestra*) sehingga memungkinkan terjadi difusi zat untuk

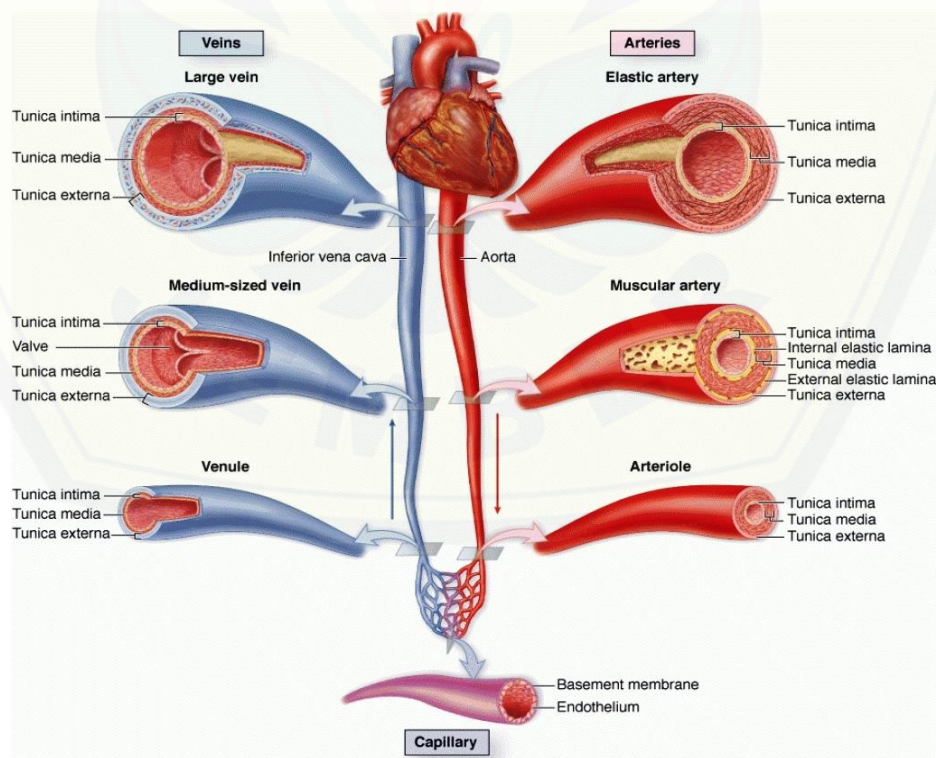
memberikan nutrisi pada sel di bagian dalam dinding pembuluh darah (Mescher, 2011).

2. Tunika media

Tunika media atau biasa disebut dengan lapisan tengah terdiri dari lapisan konsentris sel-sel otot polos yang tersusun secara berpilin dan mempunyai lamina elastika eksterna yang lebih tipis sebagai pemisah dengan tunika adventitia (Mescher, 2011).

3. Tunika adventitia

Tunika adventitia merupakan lapisan terluar yang terdiri dari jaringan ikat yang mengandung serat kolagen tipe 2 dan elastin (Saldarriaga *et al.*, 2008; Mescher, 2011). Tunika adventitia menyelubungi tunika media dari sebelah luar yang komposisinya terdiri atas jaringan ikat fibroelastik. Ketebalan jaringan ini lebih tipis bila dibandingkan ketebalan tunika media. Terdapat pula lamina elastika eksterna yang membatasi tunika media dan tunika adventitia, namun kondisinya tidak terlalu jelas dan ketebalannya lebih tipis dibanding tunika elastik interna (Eroschenko, 2008).

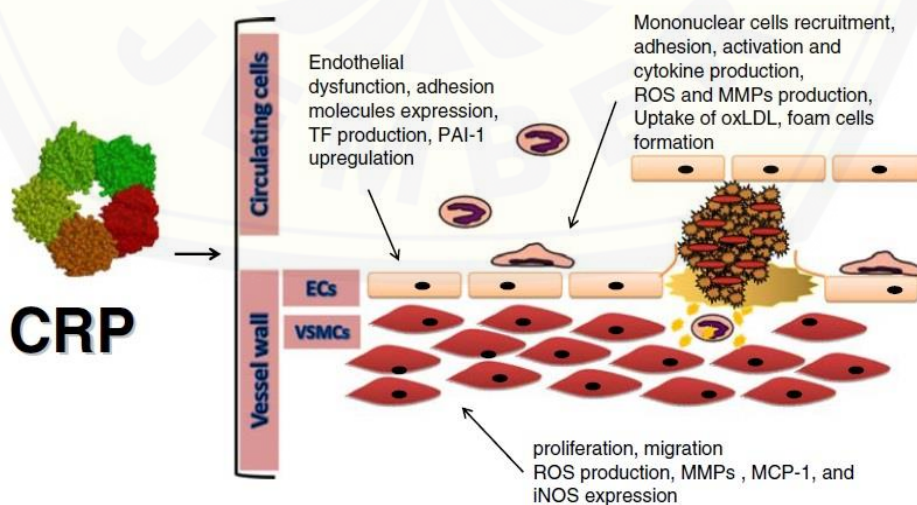


Gambar 2.3 Struktur histologi arteri dan vena (Mescher, 2011)

2.4 C-Reactive Protein (CRP)

CRP adalah protein fase akut yang diproduksi di hati dan disekresikan oleh sel hepatosit untuk menanggapi sitokin proinflamasi seperti *Interleukin-1* (IL-1), *Interleukin-6* (IL-6) dan *Tumor necrosis factor* (TNF- α). CRP dapat digunakan sebagai salah satu biomarker risiko penyakit jantung dan biomarker inflamasi melalui respon peradangan fase akut (Chung *et al.*, 2014). Pada saat inflamasi, peningkatan produksi CRP akibat hiperlipidemia pada aterosklerosis disekresikan oleh sel hepatosit ke peredaran darah menuju sel endotel arteri koroner yang mengalami aterosklerosis. Selain itu, CRP juga berkontribusi pada proses aterosklerosis terutama saat proses inflamasi dan respon imun pada tahap produksi ROS, disfungsi endotel, produksi sitokin dan opsonisasi LDL oleh makrofag (gambar 2.4) (Calabro *et al.*, 2009).

CRP merupakan anggota dari protein golongan *pentraxins*. Protein ini terdiri dari lima subunit yang identik (homopentamer) dengan berat subunit kurang lebih 23 kDa yang berikatan secara non-kovalen dan tersusun secara simetris. CRP memiliki 206 residu asam amino. Dengan menggunakan mikroskop elektron, terlihat gambaran cincin (anular) molekul berbentuk donat. Struktur pentamer CRP memiliki sifat stabilitas molekul yang tinggi dan ketahanan terhadap serangan enzimatik (Terry, 2013).



Gambar 2.4 Mekanisme CRP dari dalam pembuluh darah (Calabro *et al.*, 2009).

Kadar CRP dalam tubuh dapat mengalami peningkatan maupun penurunan. Saat terjadi inflamasi, kadar CRP akan mengalami peningkatan dalam darah. Kategori kadar CRP normal adalah <1 mg/L dengan median 0.8 mg/L (Purba, 2012).

2.5 Kopi Robusta

Kopi robusta adalah tanaman berbentuk pohon dan termasuk dalam famili *Rubiaceae* dan genus *Coffea*. Bentuk daun seperti bulat telur dengan ujung sedikit meruncing. Bagian atas permukaan daun terlihat mengkilat, tepi rata, pangkal tumpul, panjang 5-15 cm, lebar 4,0-6,5 cm, pertulangan menyirip, tangkai panjang 0,5-1,0 cm, dan berwarna hijau (Najiyati dan Danarti, 2012).

Sistematika tanaman kopi robusta menurut Rahardjo (2012) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Sub kingdom	: <i>Tracheobionita</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Sub Kelas	: <i>Astridae</i>
Ordo	: <i>Rubiaceace</i>
Genus	: <i>Coffea</i>
Spesies	: <i>Coffea canephora</i>

Kopi robusta memiliki kandungan kimia pada bijinya seperti karbohidrat, senyawa nitrogen (protein, asam amino bebas, kafein, trigonelline), lemak (minyak kopi, diterpen), mineral, asam dan ester (asam klorogenat, asam kuinat) seperti pada Tabel 2.1 (Farah, 2012). Tanaman kopi memiliki banyak manfaat seperti senyawa antioksidan dan antiinflamasi yang berperan dalam kesehatan, termasuk perlindungan dari berbagai penyakit. Senyawa tersebut antara lain adalah kafein dan asam klorogenat (Ding *et al.*, 2014). Di Indonesia kopi robusta

(*coffea canephora*) dikenal memiliki kandungan kafein dan asam klorogenat lebih tinggi dari kopi arabika (Farah, 2012).

Tabel 2.1 Kandungan kimia yang terdapat pada biji kopi Arabika dan Robusta

Komponen	Konsentrasi (g/100g)		Konsentrasi (g/100g)	
	Green		Green	Roasted
	Coffea arabica	Roasted Coffea Arabica	Coffea canephora	Coffea canephora
Sukrosa	6.0-9.0	4.2	0.9-4.0	1.6
Gula Pereduksi	0.1	0.3	0.4	0.3
Polisakarida	34-44	31-33	48-55	37
Lignin	3.0	3.0	3.0	3.0
Pectin	2.0	2.0	2.0	2.0
Protein	10.0-11.0	7.5-10	10.0-11.0	7.5
Asam Amino Bebas	0.5	Tidak terdeteksi	0.8-1.0	Tidak terdeteksi
Kafein	0.9-1.3	1.1-1.3	1.5-2.5	2.4-2.5
Trigonellin	0.6-2.0	0.2-1.2	0.6-0.7	0.3-0.7
Asam Nikotinik	-	0.016-0.026	-	0.014-0.025
Minyak Kopi (Trigliserida, sterol/tocopherol)	15.0-17.0	17.0	7.0-10.0	11.0
Diterpen	0.5-1.2	0.9	0.2-0.8	0.2
Mineral	3.0-4.2	4.5	4.4-4.5	47
Asam Klorogenat	4.1-7.9	1.9-2.5	6.1-11.3	3.3-3.8
Asam Alifatik	1.0	1.6	1.0	1.6
Asam Quinic	0.4	0.8	0.4	1.0
Melanoidins	-	25	-	25

(Farah, 2012).

Kopi mengandung banyak senyawa aktif dari bahan alami termasuk polifenol dan alkaloid. Alkaloid dalam kopi meliputi kafein yang merupakan senyawa paling banyak yang ditemukan dalam kopi (Daly, 2007). Senyawa

lainnya merupakan senyawa golongan polifenol yang terdiri dari *Chlorogenic acid*, *Ferulic acid* dan *Caffeic acid* (Pathak *et al.*, 2013).

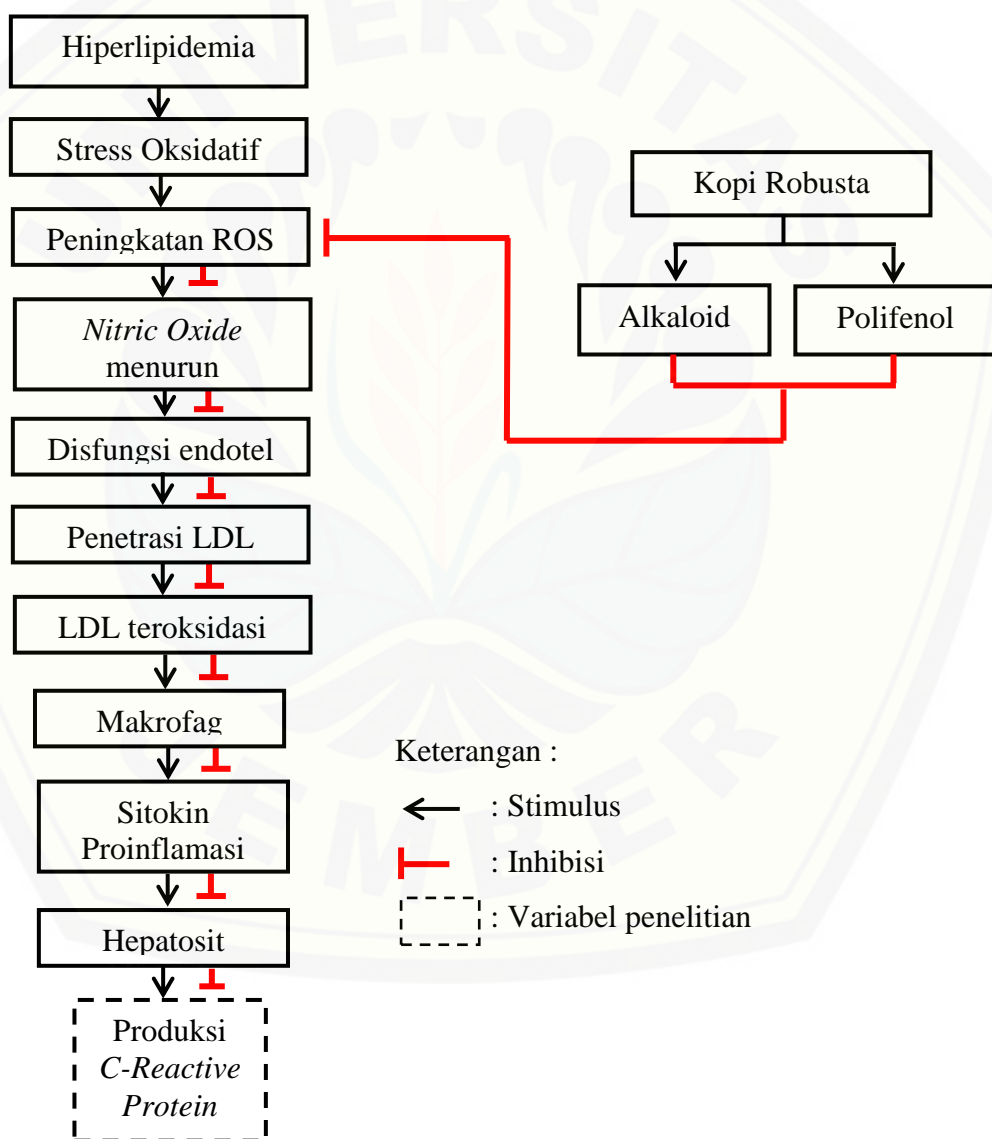
Kafein termasuk senyawa alkaloid yang bisa bertindak sebagai antioksidan dan antiinflamasi (John *et al.*, 2012). Kafein sebagai antioksidan kuat akan mencegah kerusakan sel yang disebabkan oleh radikal bebas. Penelitian telah menunjukkan bahwa kafein mencegah produksi radikal bebas, seperti radikal hidroksil (OH) dan peroksil radikal (ROO) (Hall *et al.*, 2015). Berdasarkan penelitian Hwang *et al.* (2016), kafein pada kopi dapat menghambat ekspresi IL-6. Kafein dan salah satu metabolit utama, *paraxanthine*, telah ditunjukkan untuk menghambat produksi TNF α (Hall *et al.*, 2015). Bioaktivitas kafein sebagai antiinflamasi terlihat pada mekanisme perbaikan sel endotel sehingga sel endotel tidak mensekresikan sitokin pro-inflmasi. Selain itu, kafein juga dapat menghambat enzim cyclooxygenase-2 (COX-2) secara lebih baik dari pada aspirin (Chen *et al.*, 2012).

Salah satu polifenol yang paling banyak terkandung dalam kopi adalah asam klorogenat yang merupakan keluarga ester dari asam kafeat. Pada penelitian *in vitro* asam klorogenat menunjukkan sifat antioksidan (Buscemi *et al.*, 2014). Penelitian eksperimental membuktikan asam klorogenat berperan sebagai antioksidan dengan memproteksi berbagai makromolekul seperti DNA, lipid, dan protein (Hoelz *et al.*, 2016). Sifat antioksidan dan antiinflamasi yang dimiliki asam klorogenat melindungi kerusakan sel yang terbukti dengan menurunnya produksi sejumlah mediator inflamasi seperti IL-1, TNF- α , dan IL-6 (Shi *et al.*, 2013). Pada kondisi hiperlipidemia, asam klorogenat juga akan menghambat oksidasi LDL pada plasma dan tunika intima (Yukawa *et al.*, 2004). Selain itu *ferulic acid* juga dapat menurunkan produksi IL-6 dan berpotensi mencegah peroksidasi lipid pada saat terjadi hiperlipidemia sehingga tidak terjadi aterosklerosis (Lampiasi dan Montana, 2015).

Penelitian efek konsumsi kopi pada kadar CRP sebagian besar diteliti dan dipelajari secara *in vitro* dan beberapa eksperimen manusia yang relevan. Pada penelitian sebelumnya pria dengan konsumsi kopi 400 ml atau lebih per hari secara signifikan memiliki konsentrasi CRP 30% lebih rendah dibandingkan

dengan bukan peminum kopi, sedangkan untuk wanita memiliki konsentrasi 28% (Zampelas *et al.*, 2004). Kafein dan asam klorogenat menurunkan produksi CRP dengan cara menekan produksi sitokin proinflamasi. Kafein juga akan menurunkan jumlah adiposit untuk mengurangi sekresi CRP (Jiang *et al.*, 2012; Horrigan *et al.*, 2004).

2.6 Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 2.5. Kerangka konseptual penelitian

2.7 Hipotesis Penelitian

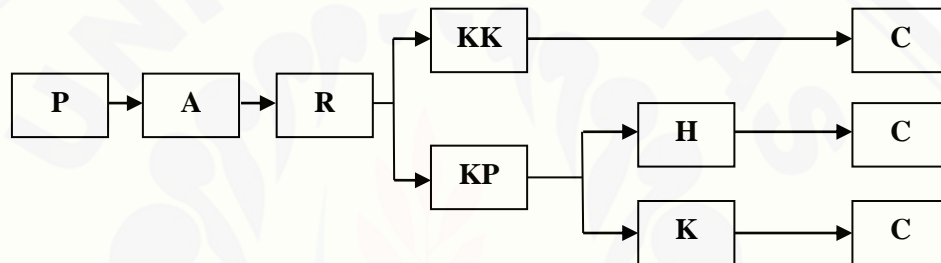
Pemberian seduhan kopi robusta dapat menurunkan ekspresi CRP pada tikus hiperlipidemia.



BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini adalah *true experimental*. Rancangan penelitian yang digunakan adalah *randomized post test only control group design* yaitu dengan pemilihan kelompok dilakukan secara acak dan terdapat 3 kelompok. Setiap kelompok dilakukan pengamatan dan pengukuran setelah perlakuan. Hasil penelitian dibandingkan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan (Nasir *et al.*, 2011). Secara sistematis rancangan penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Rancangan penelitian

Keterangan :

- P : Populasi
- A : Adaptasi hewan coba
- R : Randomisasi
- KK : Kelompok kontrol
- KP : Kelompok perlakuan
- H : Kelompok perlakuan hiperlipidemia
- K : Kelompok perlakuan kopi
- C : Ekspresi *C-Reactive Protein* pada sel endotel

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

3.2.1 Waktu penelitian

Penelitian ini dilaksanakan bulan Agustus – Oktober 2018

3.2.2 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di laboratorium yaitu:

1. Laboratorium Fisiologi Bagian Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember untuk perlakuan terhadap hewan coba,
2. Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember untuk *processing* jaringan dan pembuatan preparat histologi,
3. Laboratorium Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya untuk pengecatan (*immunostaining*) dan pengamatan.

3.2 Populasi dan Sampel

Populasi pada penelitian ini adalah tikus (*Rattus norvegicus*) strain Wistar. Terdapat kriteria inklusi yang bertujuan untuk menentukan dapat tidaknya sampel tersebut digunakan. Kriteria inklusi sampel penelitian meliputi:

1. tikus wistar jantan,
2. tikus dalam keadaan sehat (gerak aktif),
3. usia 2 – 3 bulan dengan berat 180 – 200 gram.

Sampel yang digunakan pada penelitian ini diambil dengan teknik random sederhana (*simple random sampling*) dari populasi tikus yang kemudian akan dibagi menjadi 3 kelompok. Besar sampel yang digunakan dalam penelitian ini ditentukan berdasarkan rumus sebagai berikut (Daniel, 2005).

$$\frac{n \geq Z^2}{d^2} \times \sigma^2$$

Keterangan :

- n : besar sampel tiap kelompok
 Z : nilai Z pada tingkat kesalahan tertentu, jika $\alpha = 0,05$, maka $Z = 1,96$
 σ : standar deviasi sampel
 d : kesalahan yang masih dapat di toleransi

Dengan asumsi bahwa kesalahan yang masih dapat di toleransi (d) sama besar dengan σ maka:

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

$$n \geq 3,84$$

$$n \geq 4$$

Berdasarkan perhitungan di atas, besar sampel untuk masing-masing kelompok pada penelitian ini minimal 4 ekor. Jadi sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah 12 ekor tikus yang terbagi menjadi 3 kelompok dengan jumlah sama besar.

3.3 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

1. Diet tinggi lemak yaitu campuran lemak babi dan kuning telur bebek
2. Seduhan kopi robusta

3.4.2 Variabel Terikat

Ekspresi *C-Reactive Protein* (CRP) pada sel endotel arteri koroner.

3.4.3 Variabel Terkendali

1. Kriteria Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus *Rattus norvegicus strain* Wistar dengan berat badan 180 – 200 gram, berumur 2 – 3 bulan, dan kondisi umum baik.

2. Pakan dan Minum Tikus

Semua kelompok diberikan pakan standar dan minum secara *ad libitum*. Kemudian ditambah dengan pemberian pakan tinggi lemak pada kelompok perlakuan secara sondase.

3. Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian terdiri dari dua tahap yaitu adaptasi selama 1 minggu dan tahap perlakuan selama 4 minggu.

4. Dosis Diet Tinggi Lemak

Dosis diet tinggi lemak yang diberikan adalah 5 gram/hari diberikan satu kali perhari pada pagi hari secara sondase.

5. Dosis Seduhan Kopi Robusta

Dosis seduhan kopi robusta diberikan sebanyak 3,6 ml/hari diberikan satu kali perhari pada sore hari secara sondase.

3.4 Definisi Operasional

3.5.1 Diet Tinggi Lemak

Diet tinggi lemak merupakan pakan yang diberikan pada sampel penelitian untuk mendapatkan kondisi hiperlipidemia. Pada penelitian ini digunakan campuran lemak babi dan kuning telur dengan perbandingan 3 : 2.

3.5.2 Seduhan Kopi Robusta

Merupakan hasil pelarutan bubuk kopi robusta (*C. canephora*) merek Gunung Ijen produksi PTPN XII Jember dengan air mendidih. Konsumsi seduhan kopi robusta diberikan sebanyak 3,6 ml/hari satu kali sehari pada sore hari secara sondase.

3.5.3 C-Reactive Protein

Pengamatan CRP dilakukan menggunakan mikroskop perbesaran 400x dengan melihat ekspresi CRP yang berwarna coklat pada sitoplasma sel endotel tunika intima preparat arteri koroner yang dilakukan *immunostaining*.

3.5 Alat dan Bahan Penelitian

3.6.1 Alat Penelitian

1. Kandang tikus
2. Tempat makan dan minum
3. Sonde lambung
4. Timbangan digital
5. *Scalpel*
6. Label identitas
7. Pisau mikrotom
8. Pinset
9. Deck glass/ kaca penutup
10. *Object glass/* kaca object
11. Rak Pengecatan
12. Disposable syringe
13. Mikroskop cahaya

3.6.2 Bahan Penelitian

1. Pakan standart hewan coba dan air minum
2. Kuning telur
3. Minyak babi
4. Kopi robusta
5. Irisan arteri koroner tikus
6. Akuades steril
7. 3% H₂O₂ atau Methanol
8. Antibodi primer anti *C-Reactive Protein* (Santa Cruz)
9. Antibodi sekunder Biotinilated (Santa Cruz)
10. *Immunohistochemistry* (IHC) Kit (Santa Cruz)
11. Diamono Benzidin (DAB) kromogen (Santa Cruz)
12. Xylene
13. Mayer's hematoksilin
14. Bahan sterilisasi yaitu, kapas, cotton roll.
15. *Phospat Buffered Saline* (PBS) Formalin

3.6 Prosedur Penelitian

3.7.1 Uji Kelayakan Etik (*Ethical Clearance*)

Sebelum dilakukan penelitian, hewan coba dan prosedur penelitian akan dilakukan pengurusan *ethical clearance* di Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

3.7.2 Adaptasi dan Perawatan Hewan Coba

Hewan coba diadaptasikan dalam kandang selama 1 minggu. Alas kandang, tempat pakan, tempat minum, sisa pakan, dan kotoran tikus dibersihkan setiap 3 hari sekali untuk menghindari timbulnya penyakit.

3.7.3 Pembuatan Larutan Perlakuan

1. Diet Tinggi Lemak

Dosis lemak babi dan kuning telur bebek pada manusia masing-masing sebesar 150 gram/hari dan 100 gram/hari. Setelah dilakukan konversi ke tikus menjadi ($150 \times 0,018 = 2,7 \text{ gram} = 3 \text{ gram/ekor/hari}$) untuk lemak babi dan ($100 \times 0,018 = 1,8 \text{ gram} = 2 \text{ gram/ekor/hari}$) untuk kuning telur bebek. Jadi pembuatan diet tinggi lemak dilakukan dengan cara mencampurkan 3 gram lemak babi dan 2 gram kuning telur bebek atau dengan perbandingan 3 : 2 (Harsa, 2014).

2. Seduhan Kopi Robusta

Dosis kopi pada manusia yang digunakan dalam penelitian ini adalah 10 gram (Asiah *et al.*, 2017). Setelah dilakukan konversi ke tikus dosis kopi menjadi ($10 \text{ gram} \times 0,018 = 0,18 \text{ gram/ekor/hari}$). Bubuk kopi dilarutkan dalam 3,6 ml air mendidih (100°C) dengan rumus pelarutan sebagai berikut:

$$\frac{10 \text{ gram}}{200 \text{ ml}} = \frac{0,18 \text{ gram}}{x}$$
$$x = 3,6 \text{ ml}$$

Seduhan kopi ditunggu hingga suhunya turun menjadi 37°C untuk dilakukan sondase sebanyak 3,6 ml.

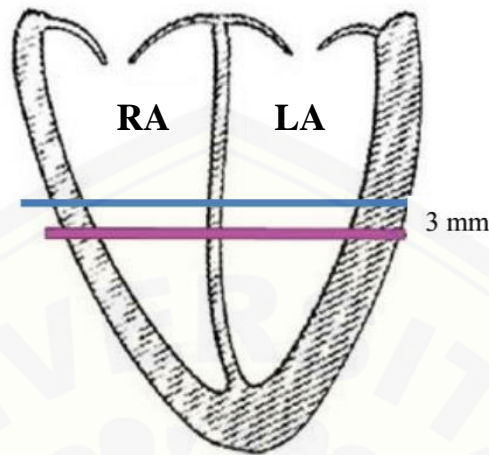
3.7.4 Perlakuan pada Kelompok Hewan Coba

Hewan coba dikelompokkan menjadi 3 kelompok yaitu kelompok kontrol, kelompok perlakuan hiperlipidemia, dan kelompok perlakuan kopi. Kelompok perlakuan hiperlipidemia dan kelompok perlakuan kopi diberikan diet tinggi lemak sebanyak 5 gram/hari setiap pagi hari secara sondase. Selanjutnya, kelompok perlakuan kopi diberikan seduhan kopi sebanyak 3,6 ml/hari setiap sore secara sondase.

3.7.5 Pengambilan Arteri Koroner

Setelah perlakuan selama 28 hari, pada hari ke-29 hewan coba dikorbankan dengan cara melakukan anestesi dengan eter dosis letal. Selanjutnya, dilakukan pengambilan arteri koroner dengan cara pembedahan organ jantung. Proses pengambilan bagian arteri koroner dilakukan dengan mengambil potongan

longitudinal dibawah 3 mm dari perbatasan atrium dan ventrikel Gambar 3.2 (Eckman *et al.*, 2013; Ekawati *et al.*, 2013).



Gambar 3.2 Prosedur Pengambilan Bagian Arteri Koroner (Eckman *et al.*, 2013).

Keterangan :

— : Batas atrium dan ventrikel

— : Pemotongan untuk pengamatan arteri koroner

RA : *Right Atrium*

LA : *Left Atrium*

3.7.6 Pemrosesan Jaringan (Arteri Koroner)

1. Pembuatan Sediaan Histologi

Tahapan pembuatan sediaan histologi arteri koroner dilakukan sesuai protokol penggunaan Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember yaitu:

a. Fiksasi

Proses fiksasi dilakukan dengan cara sampel dimasukkan ke dalam larutan *Phospat Buffered Saline* (PBS) selama 24 jam

b. Dehidrasi

Dehidrasi adalah proses penarikan air dari potongan organ dengan cara direndam pada larutan alkohol. Proses perendaman dimulai dari konsentrasi rendah ke konsentrasi tinggi (Mescher, 2011). Berikut tahapan dehidrasi:

- 1) Alkohol 70% selama 15 menit
- 2) Alkohol 80% selama 1 jam
- 3) Alkohol 95% selama 2 jam
- 4) Alkohol 95% selama 1 jam
- 5) Alkohol *absolute* I (100%) selama 1 jam
- 6) Alkohol *absolute* II (100%) selama 1 jam
- 7) Alkohol *absolute* III (100%) selama 1 jam

c. *Clearing*

Clearing adalah proses penjernihan potongan organ dengan menggunakan bahan penjernih. Jaringan direndam dalam larutan *xylol* sebanyak tiga kali, masing-masing 1 jam.

d. Infiltrasi (Impregnasi)

Impregnasi merupakan proses infiltrasi bahan parafin dalam jaringan pada suhu 50° C – 60° C. Jaringan diletakkan pada *cassette tissue* yang sudah diberi label sebagai identitas sampel, kemudian dimasukkan ke dalam parafin cair selama 2 jam dan diulang sebanyak tiga kali.

e. *Embedding*

Proses *embedding* merupakan penanaman jaringan ke dalam parafin cair pada alat cetak blok parafin. Tahap pertama adalah alat cetak dipersiapkan dan diletakkan pada permukaan yang rata, parafin cair dituangkan ke dalam alat cetak blok, kemudian masukkan jaringan yang telah diimpregnasi ke dalamnya. Selanjutnya, sampel diberi identitas dan ditunggu beberapa menit sampai parafin membeku.

f. *Sectioning*

Pemotongan jaringan dilakukan dengan menggunakan mikrotom dengan ketebalan 4 – 6 mikron. Berikut tahapan *sectioning* jaringan :

- 1) Blok parafin diletakkan pada mikrotom.
- 2) Pisau mikrotom harus dalam keadaan bersih, kemudian memasang pisau mikrotom pada posisinya.
- 3) Mengatur ketebalan sayatan 4 – 6 mikron.

- 4) Memindahkan hasil potongan berupa pita tipis menggunakan kuas ke atas permukaan air dalam *waterbath* dengan temperatur tetap 56°C – 58°C agar sayatan jaringan dapat mengembang dengan baik.
- 5) Hasil sayatan diseleksi dan dipindahkan di atas *object glass* yang telah diolesi *poly l-lysin* serta diberi label sesuai dengan label jaringan yang dipotong.
- 6) Sediaan jaringan dibiarkan kering selama minimal 12 jam dan selanjutnya dilakukan tahap pengecatan.

g. Pengecatan (*Immunostaining*)

Teknik pengecatan Immunohistokimia yang dilakukan adalah sesuai dengan protokol standar, yaitu:

- 1) Preparat direndam dalam aquades selama 10 menit
- 2) Preparat dibilas dalam larutan PBS selama 5 menit
- 3) Preparat diberi H₂O₂ selama 10 menit
- 4) Bilas dengan larutan PBS 3 x 5 menit
- 5) Preparat diberi antibody primer *anti mouse C-Reactive Protein* 1 : 200 ©Santa Cruz dan didiamkan selama satu malam dalam suhu 4°C
- 6) Setelah satu malam dikeluarkan dari suhu 4°C dan ditunggu sampai mencapai suhu kamar
- 7) Bilas dengan larutan PBS 3 x 5 menit
- 8) Preparat diberi antibodi sekunder Biotinilated ©Santa Cruz selama 60 menit
- 9) Bilas dengan larutan PBS 3 x 5 menit
- 10) Preparat dilakukan pewarnaan Diamono Benzidin (DAB) dalam substrate *buffer* selama 20 menit
- 11) Bilas dengan larutan PBS 3 x 5 menit
- 12) Bilas dengan akuades 10 menit
- 13) Preparat dilakukan pengecatan Mayer's Hematoxilin selama 45 detik
- 14) Bilas dengan air 10 menit
- 15) Mounting menggunakan cairan gliserin lalu ditutup dengan *cover glass*.

3.7 Pengamatan

Pengamatan ekspresi CRP dengan mikroskop Olympus BX 51 dengan perbesaran 400x dengan menggunakan *blinding method* pada 3 orang pengamat. Parameter yang diamati adalah intensitas warna coklat pada sitoplasma sel endotel tunika intima arteri koroner yang berwarna coklat.

Pengukuran histo score (H-score) menggunakan rumus berikut:

$$Skor = (IN \times \%IN) + (IL \times \%IL) + (IS \times \%IS) + (IK \times \%IK)$$

Keterangan :

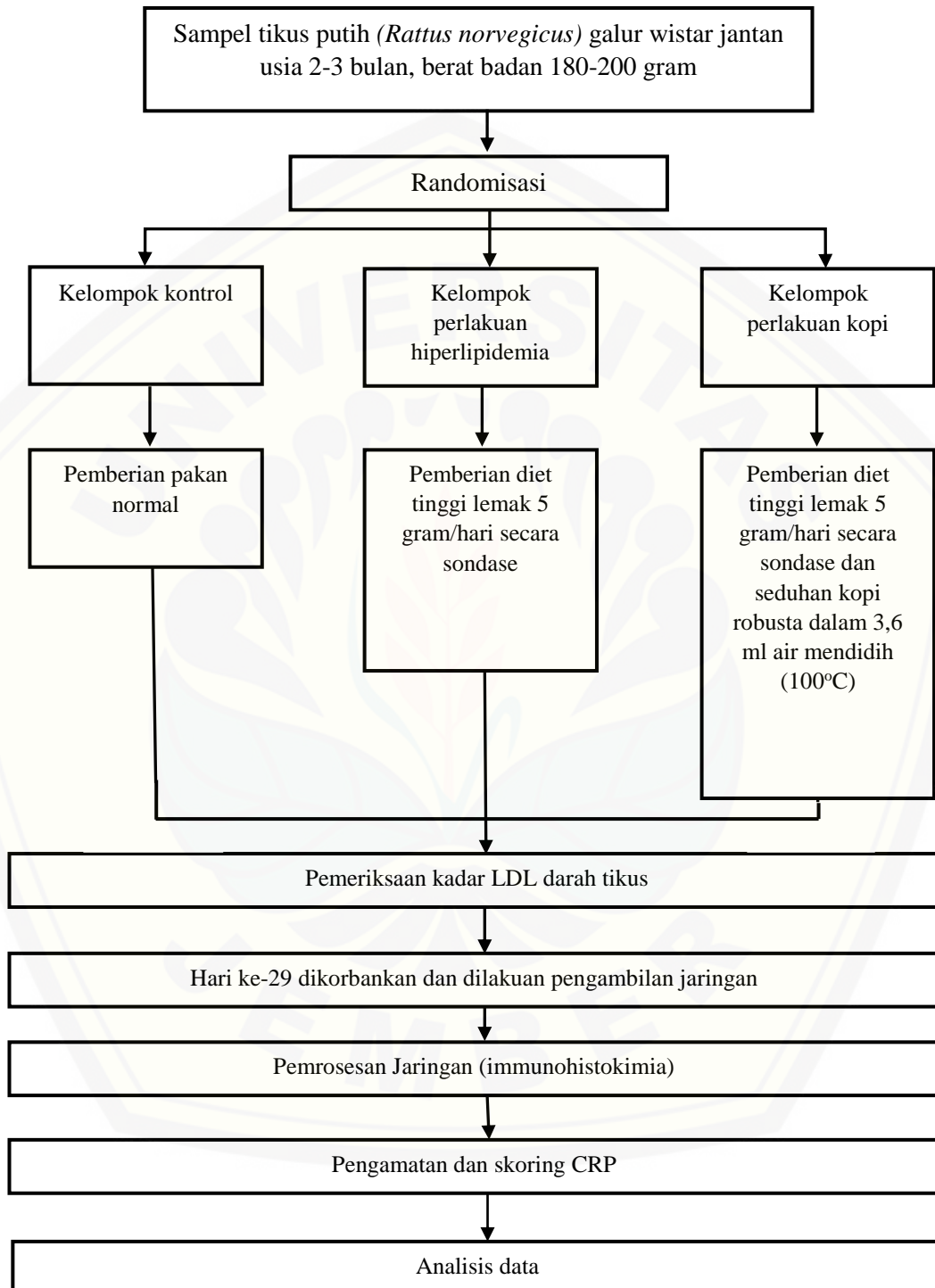
IN	: Intensitas normal	IL	: Intensitas lemah
IS	: Intensitas sedang	IK	: Intensitas kuat

Persentasi (%) didapat dari jumlah sel yang mengekspresikan CRP per seluruh jumlah sel tersebut dikali 100% (Stenger, 2015).

3.8 Analisis Data

Analisis data yang digunakan adalah uji normalitas *shapiro wilk* dan uji homogenitas *levene test* yang menunjukkan data berdistribusi normal dan homogen ($p > 0,05$). Selanjutnya digunakan analisis *One Way ANOVA* dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc LSD* untuk melihat perbedaan antar kelompok menggunakan software *SPSS Statistics 16.0*.

3.10 Alur Penelitian



Gambar 3.3 Alur penelitian

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa pemberian seduhan kopi robusta dapat menurunkan ekspresi CRP pada sel endotel arteri koroner yang diinduksi diet tinggi lemak.

5.2. Saran

Saran yang dapat diberikan berkaitan dengan penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan variasi konsentrasi seduhan kopi robusta untuk mendapatkan konsentrasi efektif dalam menghambat ekspresi CRP pada model tikus hiperlipidemia.
2. Perlu dilakukan penelitian sejenis untuk meneliti ekspresi sitokin proinflamasi seperti IL-1, IL-6 dan TNF α

DAFTAR PUSTAKA

- Amit G, Vandana S, Sidharth M. 2011. Hyperlipidemia: An Updated Review. *International Journal of Biopharma & Toxicol Res.* 1:81-89.
- Asiah, N., Septiana, F., Saptono, U., Cempaka, L; Sari, D A., 2017. Identifikasi cita rasa sajian tubruk kopi robusta cibulao pada berbagai suhu dan tingkat kehalusan penyeduhan. *Barometer*, 2(2), pp. 52-56.
- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. 2013. *Riset kesehatan dasar (Riskesdas) 2013: Laporan Nasional*. Jakarta: Badan Litbangkes Depkes.
- Badshah, M., Qadir, M., Hasnain, J., Soames, R., Iqbal, Z. 2015. Anatomy of human coronary circulation. *J. Med. Sci.* 23(2): 62 – 65.
- Bastarrika, A.G., Burgos, A., Agüero, P.M.A. 2008. Normal anatomy, anatomical variants, and anomalies of the origin and course of the coronary arteries on multislice CT. *Radiologia.* 50(3): 197–206.
- Buscemi, S., Galvano, F., Volti, G.L., Grosso, G. 2014. *Coffe Components and Cardiovascular Risk: Beneficial and Detrimental Effects. International Journal of Food Science and Nutrition.*
- Calabro, P., E. Golia, dan E. T. H. Yeh. 2009. CRP and the risk of atherosclerotic events. *Semin Immunopathol.* 31: 79-94.
- Chun, Y-H.P., Chun K-R.J., Olguin, D.A., Wang, H-L. 2005. Biological Foundation for periodontitis as a potential risk factor for atherosclerosis. *Journal Periodont Res*, 40: 87-95.
- Chung SH, Makambi KH, Soldin OP. 2014. Tobacco smoke exposure, C-reactive protein and steroid hormones measured by Tandem Mass Spectrometry in healthy women. *J Steroid Hormon Sci.* 15(4): 1-6.
- Cui, Y., Y. Sheng, and X. Zhang. 2013. Genetic susceptibility to SLE: recent progress from GWAS. *J Autoimmun.* 41: 25-33.
- Daly, J.W. 2007. *Caffeine analogs: biomedical impact.* Cell Molekul Life Science. 64(16): 2153-69.
- Daniel, W. 2005. *Biostatic Foundation for Analysis in The Health Sciemce.* 8th Ed.Georgia: Willey

- Ding M, Bhupathiraju SN, Satija A, van Dam RM, and Hu FB. 2014. Long-Term Coffee Consumption and Risk of Cardiovascular Disease: A Systematic Review and a Dose-Response Meta-Analysis of Prospective Cohort Studies. *Circulation*. 129(6): 643-659.
- DiPiro, J. T., R. L. Talbert, G.C. Yee, G. R. Matzke, B. G. Wells, dan L. M. Posey. 2014. *Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach*. 9nd ed. New York: McGraw-Hill Education.
- Eckman, D.M., Stacey, R.B., Rowe, R., D'Agostino, R.J., Kock, N.D., Sane, D.C. 2013. Weekly doxorubicin increases coronary arteriolar walland adventitial thickness. *Plos One*. 8(2): 1 – 6.
- Eroschenko, V.P. 2008. *diFiore's Atlas of Histology with The Function Correlation eleventh edition*. Lippincott Williams & Wilkins, Philedelphia.
- Farah, A. 2012. *Coffe: Emerging Health Effects and Disease Prevention*. Wiley-Blackwell, Oxford.
- Fliser, D., Wiecek, A., Suleymanlar, G., Ortiz, A., Massy, Z., Lindholm, B. 2011. The dysfunctional endothelium in CKD and of kidneydisease in cardiovascular conditions for a research agenda. *Kidney International Supplements*, 1: 6-9.
- Hall, S., Desbrow, B., Anoopkumar-Dukie, S. 2015. *A Review Of The Bioactivity Of Coffe, Caffeine, and Key Coffe Constituents on Inflammatory Responses Linked to Depression*. *Food Research International*, 76: 626-636.
- Hansson, G.K. 2005. Mechanisms of Disease:Inflammation, Atherosclerosis, and Coronary Artery Disease: Review Literature. *New England Journal of Medicine*.
- Harsa, I.M.S. 2014. Efek Pemberian Diet Tinggi Lemak terhadap Profil Lemak Darah Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*). *Jurnal Ilmiah Kedokteran*. 3(1): 21-28
- Hoelzl, C., S. Knasmuller, K. H. Wagner, L. Elbling, W. Huber, N. Kager, F. Ferk, V. Ehrlich, A. Nersesyan, O. Neubauer, A. Desmarchelier, M. M. Kuan, T. Delatour, C. Verguet, C. Bezencon, A. Besson, D. Grathwohl, T. Simic, M. Kundi, B. Schilter, dan C. Cavin. 2010. Instant Coffee with High Chlorogenic Acid Levels Protects Humans Against Oxidative Damage of Macromolecules. *Journal Molecular Nutrition and Food*. 54: 1722-1733.
- Hussain T., B. Tan, Y. Yin, F. Blachier, M. C. B. Tossou, dan N. Rahu. 2016. Oxidative Stress and Inflammation: What Polyphenols Can Do for Us?. *Hindawi Publishing Corporation*. 16:1-9.

- Hwang, J. H., K. J. Kim, S. J. Ryu, dan B. Y. Lee. 2016. Caffeine Prevents LPS-induced Inflammatory Responses in RAW264.7 Cells and Zebrafish. *Journal Chemico-Biological Interactions*. 248: 1-7.
- John, R.M., Gray, K., Figg, N., Kumar, S., Bennett, M.R. 2012. *The Methyl Xanthine Caffeine Inhibits DNA Damage Signaling and Reactive Species and Reduces Atherosclerosis in ApoE^{-/-} Mice*. *Arteriosclerosis Thromb vasc Biol*, 32: 2461-2467.
- Keche, A.S., Tirpude, B.H., Bobade, H.J. 2012. Correlation of Risk Factors with Coronary Atherosclerosis. *Journal Indian Academic Forensic medical*. 34-2.
- Kini S, Leroy Weaver. 2007. Normal and Variant Coronary Arterial and Venous Anatomy on High-Resolution CT Angiography. *AJR Am J Roentgenol*. 188(6): 1665-74.
- Lampiasi, N. dan G. Montana. 2015. The Molecular Events behind Ferulic Acid Mediated Modulation of IL-6 Expression in LPS-Activated Raw 264 Cells. *Journal Immunobiology*. 221(3): 486-493.
- Leguin B, Temmerman L, Biessen E, Lutgens. 2013. *Inflammation and immune system interactions in atherosclerosis*. *Journal of Cellular and Molecular Life Sciences*. 2013.
- Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI). 2009. *Pangan dan Kesehatan*. Jakarta : UPT Balai Informasi Teknologi LIPI.
- Libby, P., Ridker, P.M., Hansson, G.K. 2011. Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis. *Macmillan Publisher Limited*, 473: 317-25.
- Maramis R, Kaseke M, Tanudjadja M. 2014. Gambaran histologi aorta tikus Wistar dengan diet lemak babi setelah pemberian ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L). *Jurnal e-Biomedik*. 2(2): 430-435.
- Martiem M. 2011. Indeks Massa Tubuh sebagai Determinan Penyakit Jantung Koroner pada Orang Dewasa Berusia Di atas 35 Tahun. *J Kedokteran Trisakti*. Vol. 23 No. 3.
- Mescher, A.L. 2011. *Histologi Dasar Junqueira*. 12nd ed. Jakarta: EGC
- Montero I, Orbe J, Varo N, Beloqui O, Monreal JI, Rodríguez JA, Díez J, Libby P, Páramo JA. 2006. C-reactive protein induces matrix metalloproteinase-1

and -10 in human endothelial cells: implications for clinical and subclinical atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol* 47(7): 1369–1378

Montero I, Orbe J, Varo N, Beloqui O, Monreal JI, Rodríguez JA, Díez J, Libby P, Páramo JA. 2006. *C-reactive protein induces matrix metalloproteinase-1 and -10 in human endothelial cells: implications for clinical and subclinical atherosclerosis*. *J Am Coll Cardiol* 47(7): 1369–1378

Najayati, S. & Danarti, 2012. *Kopi, Budidaya dan Penanganan Lepas Panen*. Jakarta: PT. Penebar Swadaya.

Nasir, A., Muhith, A., Ideputri, M.E. 2011. *Buku Ajar: Metodologi Penelitian Kesehatan*. Yogyakarta: Nuha Medika

Pathak, L., Y. Agrawal, and A. Dhir 2013. *Natural polyphenols in the management of major depression*. *Expert Opin Investig Drugs*, 22(7): 863-80

Pepys, MB; Hirschfield, GM. 2003. C-reactive protein: a critical update. *J Clin Invest* 111 (12): 1805–12.

Peter, Libby. 2012. *The Pathogenesis Of Atherosclerosis*. Harrison internal medicine: 18th Edition. McGraw Hill. Chapter 241.

Purba JB. 2012. *Hubungan Kadar High Sensitivity - C Reactive Protein Dengan Derajat Stenosis Arteri Koroner Pada Pasien Angina Pectoris Stabil*. Sumatera Utara: Universitas Sumatera Utara.

Rani V, Yadav UCS. 2015. *Free radicals in human health and disease*. India: Springer.

Saldarriaga B, Pinto SA, Ballesteros LE. 2008. Morphological expression of the renal artery a direct anatomical study in a Colombian half-caste population. *Int J Morphol* 26: 31-8.

Shi, H., L. Dong, J. Jiang, J. Zhao, G. Zhao, X. Dang, X. Lu, dan M. Jia. 2013. Chlorogenic Acid Reduces Liver Inflammation and Fibrosis Through Inhibition of Toll-Like Receptor 4 Signaling Pathway. *Journal Toxicology*. 303: 107–114.

Spagnoli, L.G., Bonanno, E, Sangiorgi, G., Mauriello, A. 2007. Role of Inflammation in Atherosclerosis. *The Journal of Nuclear Medicine*, 48(11): 1800-1815.

Stenger, M. 2015. Calculating H-Score. <http://www.ascopost.com/issues/april-10-2015/calculating-h-score/> . [Diakses pada 27 April 2018].

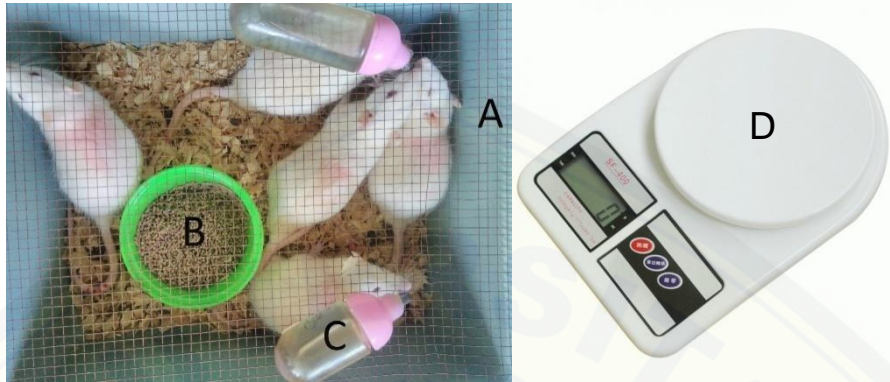
- Stone NJ, Robinson J, Alice H, Lichtenstein C, Noel Bairey Merz. 2013. ACC/AHA Guideline on the treatment of blood cholesterol to reduce atherosclerotic. published online November 12.
- Suryohudoyo, P. 2002. *Kapita Selektta Ilmu Kedokteran Molekuler*. Jakarta : CV Sagung Seto.
- Suyatna, F.D. 2007. *Hipolipidemik*. Dalam S.G Gunawan, R Setiabudy, Nafrialdi, dan Elysabeth Edisi 5. Farmakologi dan Terapi. Jakarta: Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia 374-379.
- Terry W, Du Clos. Pentraxins: Structure, function, and role in inflammation. 19 August 2013 [cited 2015 Oct 22]. Available from: <http://dx.doi.org/10.1155/2013/379040>.
- Tymchak LL. 2010. Amino acids and proteins. In: Bishop LM, Fody Ep, Schoeff LE editors. *Clinical Chemistry* (6th ed). Philadelphia: Wolters Kluwer. 245.
- Vogiatzi, G.,Tousoulis, D.,Stefanadis,C. 2009. *The Role Of Oxidative Stress in Atherosclerosis*. *Hellenic Journal Cardiol* 50(5): 402-409.
- World Health Organization (WHO). 2012. *Prevention of Cardiovascular Disease*. Geneva: WHO Library Cataloguing-in-Publication Data.
- Yamashita H, Shimada K, Seki E, Mokuno H, Daida H .2003. Concentrations of interleukins, interferon, and C-reactive protein in stable and unstable angina pectoris. *Am J Cardiol* 91:133–136
- Yukawa, G. S., M. Mune, H. Otani, Y. Tone, X. M. Liang, H. Iwahashi, dan W. Sakamoto. 2004. Effects of Coffee Consumption on Oxidative Susceptibility of Low-Density Lipoproteins and Serum Lipid Levels in Humans. *Journal Biochemistry*. 69: 70–74.
- Zampelas, A., D. B. Panagiotakos, C. Pitsavos, C. Chrysohoou, dan C. Stefanadis. 2004. Associations Between Coffee Consumption and Inflammatory Markers in Healthy Persons: The ATTICA Study. *American Journal Clinical Nutrition*. 80: 862–867.

Lampiran 1. *Ethical Clearance*

	<p>KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN (KEPK) FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI UNIVERSITAS JEMBER <i>(THE ETHICAL COMMITTEE OF MEDICAL RESEARCH FACULTY OF DENTISTRY UNIVERSITAS JEMBER)</i></p>
<p>ETHIC COMMITTEE APPROVAL <u>No.257/UN25.8/KEPK/DL/2019</u></p>	
Title of research protocol	: "Effect Of Robusta Coffee Steeping On Expression Of C-Reactive Protein In The Hyperlipidemia Rat Model"
Document Approved	: Research Protocol
Principal investigator	: Falah Yudana Fahmi
Member of research	: -
Responsible Physician	: Falah Yudana Fahmi
Date of approval	: December 12 th , 2018
Place of research	: Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Laboratorium Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya
<p>The Research Ethic Committee Faculty of Dentistry Universitas Jember states that the above protocol meets the ethical principle outlined and therefore can be carried out.</p>	
<p>Jember, January 9th, 2019</p>	
 Dean of Faculty of Dentistry Universitas Jember (drg. R. Rahardyan P. M. Kes, Sp. Pros)	 Chairperson of Research Ethics Committee Faculty of Dentistry Universitas Jember (Prof. Dr. Irena Dewa Ayu Ratna Dewanti, M.Si)

Lampiran 3. Alat Penelitian

1. Alat Pemeliharaan Hewan Coba



Keterangan :

- A : Kandang tikus
- B : Tempat makan tikus
- C : Tempat minum tikus
- D : Timbangan digital

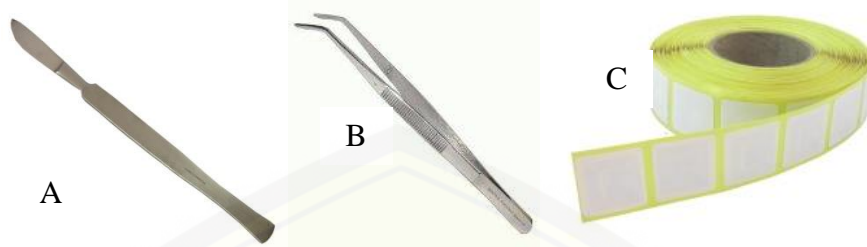
2. Alat Pemberian Diet Tinggi Lemak



Keterangan :

- A : Sonde lambung tikus
- B : *Disposable syringe*

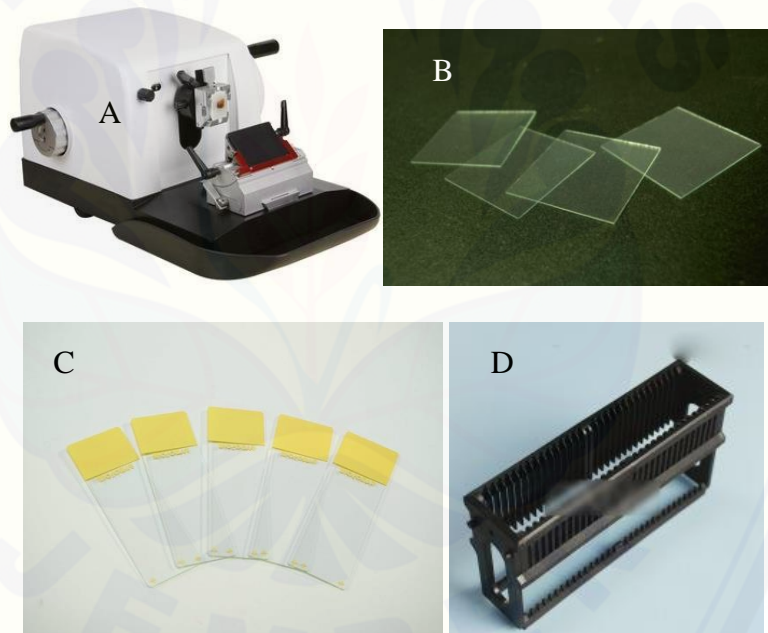
3. Alat Bedah



Keterangan :

- A : Scalpel
- B : Pinset
- C : Label identitas

4. Alat Proses Jaringan



Keterangan :

- A : Mikrotom
- B : *Deck glass*
- C : Glas objek *poly-l-lysine*
- D : Rak pengecatan

5. Alat Pengamatan Jaringan



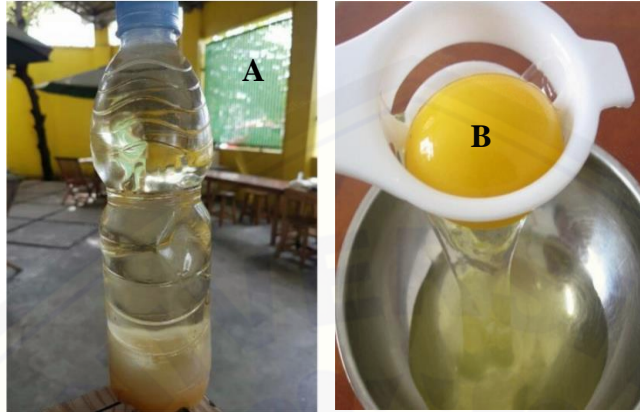
Keterangan :

A : Mikroskop

B : Optilab

Lampiran 4. Bahan Penelitian

1. Bahan pembuatan larutan diet tinggi lemak



Keterangan :

A : Lemak babi

B : Kuning telur bebek

2. Bahan pembuatan larutan kopi (Kopi bubuk robusta merk Gunung Ijen)

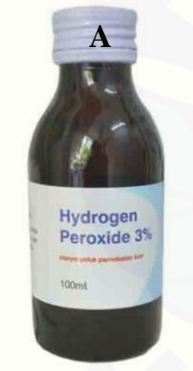


3. Bahan processing jaringan arteri koroner



Keterangan :

- A : Akuades steril
 B : PBS (*Phosphat Buffer Salin*)

4. Bahan *immunostaining*

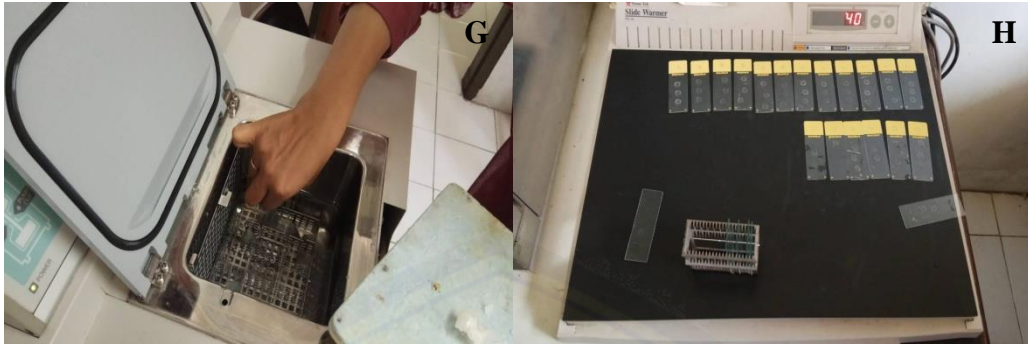
Keterangan :

- A : Hidrogen peroksida 3%
 B : Antibodi skunder, DAB kromagen, xylene, dan Mayer's hematoksilin
 C : Antibodi primer (anti CRP)

Lampiran 5. Prosedur Penelitian

Keterangan :

- A : Adaptasi hewan coba
- B : Pemberian diet tinggi lemak (kuning telur dan lemak babi)
- C : Pemberian seduhan kopi
- D : Pengambilan darah secara infraorbital
- E : Sampel darah untuk pengujian kadar LDL
- F : Pengujian kadar LDL



Keterangan :

G : Impregnasi

H : Immunostaining



Lampiran 6. Data Hasil Penelitian

Uji Normalitas

Tests of Normality

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
CRP Kontrol	.230	4	.	.958	4	.767
perlakuan kopi	.244	4	.	.957	4	.760
hiperlipid	.271	4	.	.874	4	.313

a. Lilliefors Significance Correction

Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

CRP

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.233	2	9	.797

Hasil Uji Beda *One Way ANOVA*

ANOVA

CRP	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	59423.391	2	29711.696	8.882E3	.000
Within Groups	30.107	9	3.345		
Total	59453.499	11			

Hasil Uji Lanjut *Least Significant Difference (LSD)***Multiple Comparisons**

CRP

LSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol	perlakuan kopi	-34.60250*	1.29330	.000	-37.5281	-31.6769
	hiperlipid	-163.54000*	1.29330	.000	-166.4656	-160.6144
perlakuan kopi	Kontrol	34.60250*	1.29330	.000	31.6769	37.5281
	hiperlipid	-128.93750*	1.29330	.000	-131.8631	-126.0119
hiperlipid	Kontrol	163.54000*	1.29330	.000	160.6144	166.4656
	perlakuan kopi	128.93750*	1.29330	.000	126.0119	131.8631

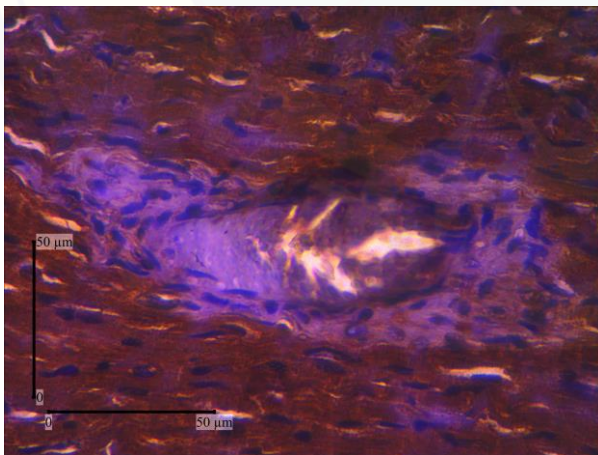
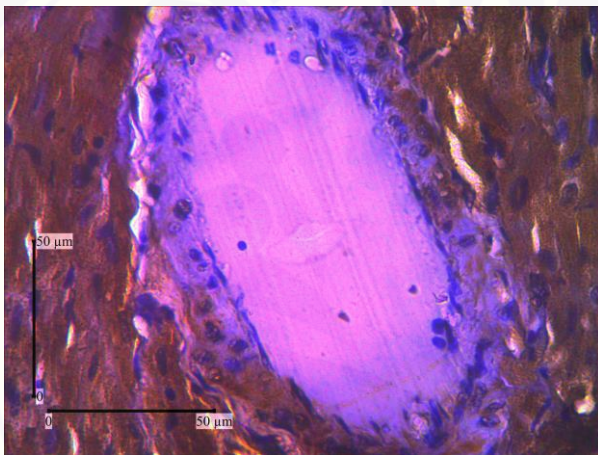
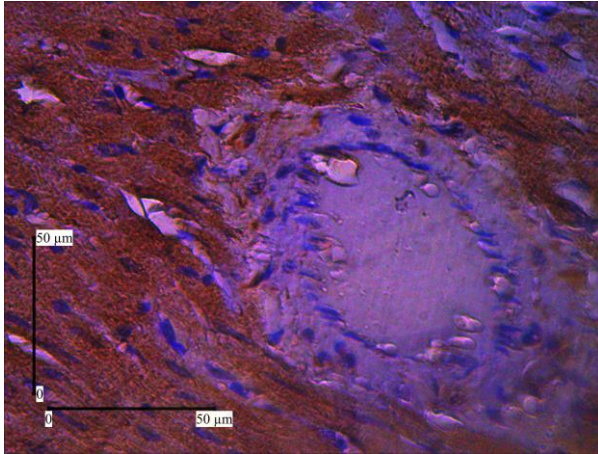
*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Deskripsi Data

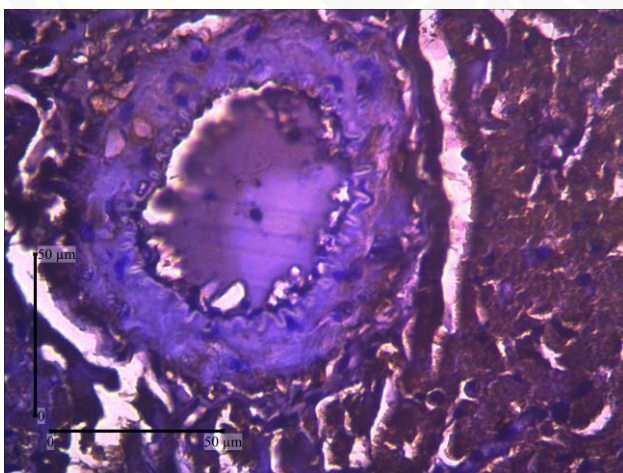
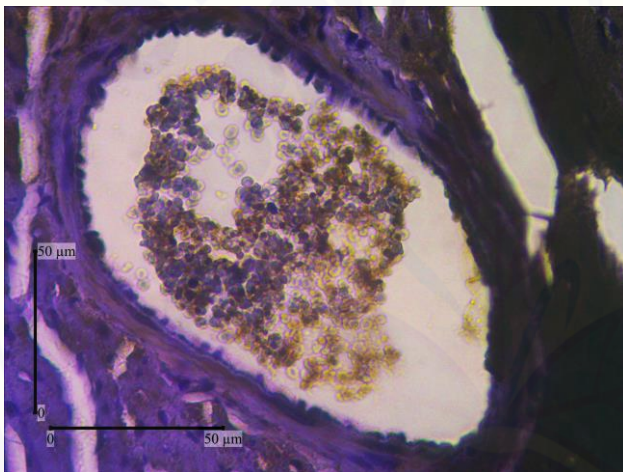
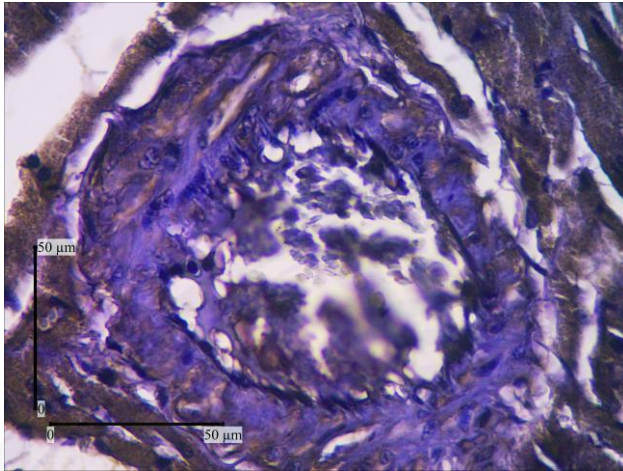
Descriptives

CRP	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					Kontrol	4		
perlakuan kopi	4	59.3375	1.50349	.75175	56.9451	61.7299	57.53	61.21
hiperlipid	4	1.8827E2	1.83700	.91850	185.3519	191.1981	185.66	189.76
Total	12	90.7825	73.51778	21.22275	44.0715	137.4935	21.90	189.76

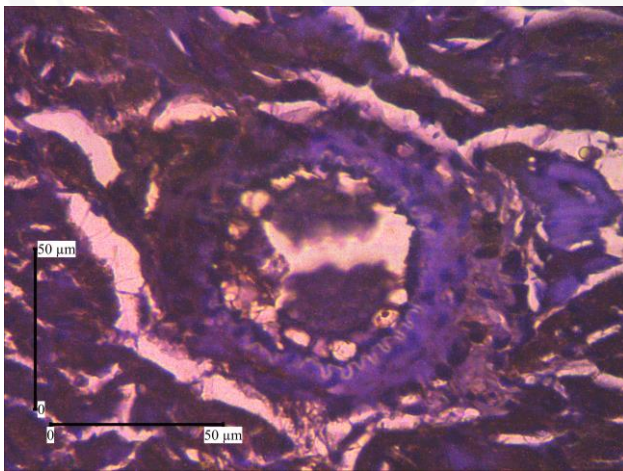
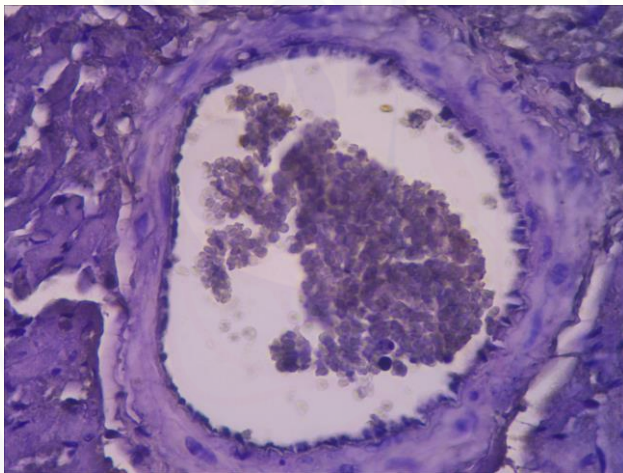
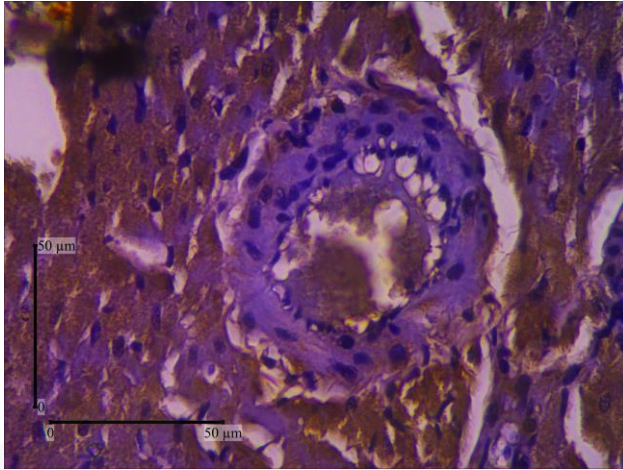
Kelompok Kontrol dengan Perbesaran 400x



Kelompok Hiperlipidemia dengan Perbesaran 400x



Kelompok Kopi dengan Perbesaran 400x



Data Hasil Penelitian

Pengamatan 3 Pengamat

Kelompok	P1					P2					P3				
	1	2	3	4	N	1	2	3	4	N	1	2	3	4	N
Kontrol D1	35	9	0	0	44	36	9	1	1	47	34	8	1	0	43
kontrol D2	33	11	1	0	45	33	9	0	0	42	34	10	0	0	44
kontrol D3	37	13	0	0	50	39	11	1	1	52	36	11	0	0	47
kontrol D4	35	9	0	0	44	38	7	0	1	46	36	11	0	0	47
10 gram B	20	15	1	0	36	18	17	1	0	36	20	16	1	1	38
10 gram C	19	18	2	1	40	20	18	1	0	39	20	18	1	0	39
10 gram U	23	15	1	0	39	22	14	1	0	37	22	16	1	0	39
10 gram V	21	16	0	1	38	19	16	0	1	36	22	14	0	0	36
Khp E	15	23	34	55	127	14	21	36	54	125	15	22	22	55	114
khp H	14	25	36	59	134	15	23	35	59	132	15	23	23	57	118
khp F	15	22	38	53	128	15	22	38	54	129	13	22	23	57	115
khp D	12	23	33	57	125	16	22	34	56	128	14	21	22	55	112

Keterangan :

Khp : Kelompok hiperlipid

10 gram : Kelompok perlakuan kopi

P1 : Pengamat 1

P2 : Pengamat 2

P3 : Pengamat 3

N : Jumlah sel endotel tunika intima arteri koroner

Rata-Rata Ekspresi CRP

Kelompok	Rata-Rata					%				IN	IL	IS	IK	SKOR	Rata-Rata
	1	2	3	4	N	1	2	3	4						
Kontrol D1	35	8.7	0.67	0.33	44.7	78.4	19.4	1.49	0.7	0	19	3	2.2	24.6268657	24.449449
kontrol D2	33.3	10	0.33	0	43.7	76.3	22.9	0.76	0	0	23	1.5	0	24.4274809	
kontrol D3	37.3	12	0.33	0.33	49.7	75.2	23.5	0.67	0.7	0	23	1.3	2	26.8456376	
kontrol D4	36.3	9	0	0.33	45.7	79.6	19.7	0	0.7	0	20	0	2.2	21.8978102	
10 gram B	19.3	16	1	0.33	36.7	52.7	43.6	2.73	0.9	0	44	5.5	2.7	51.8181818	49.63087
10 gram C	19.7	18	1.33	0.33	39.3	50	45.8	3.39	0.8	0	46	6.8	2.5	55.0847458	
10 gram U	22.3	15	1	0	38.3	58.3	39.1	2.61	0	0	39	5.2	0	44.3478261	
10 gram V	20.7	15	0	0.67	36.7	56.4	41.8	0	1.8	0	42	0	5.5	47.2727273	
KHP E	14.7	22	30.7	54.7	122	12	18	25.1	45	0	18	50	134	202.73224	203.76406
khp 1	14.7	24	31.3	58.3	128	11.5	18.5	24.5	46	0	18	49	137	204.166667	
khp 2	14.3	22	33	54.7	124	11.6	17.7	26.6	44	0	18	53	132	203.225806	
khp 3	14	22	29.7	56	122	11.5	18.1	24.4	46	0	18	49	138	204.931507	

Keterangan :

- N : Jumlah sel endotel tunika intima arteri koroner
- 1 : Intensitas normal (tidak mengekspresikan CRP)
- 2 : Intensitas lemah
- 3 : Intensitas sedang
- 4 : Intensitas kuat
- % : Prosentase