

**PENINGKATAN VIABILITAS MONOSIT OLEH BIJI KOPI ROBUSTA
TERHADAP *Streptococcus mutans*.
(INCREASING THE VIABILITY MONOCYTES ROBUSTA COFFEE BEANS
ON *Streptococcus mutans*)**

Oleh :

Roedy Budirahardjo¹

¹Staf Bagian Pedodontia

Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Korespondensi : FKG Univ. Jember. Jl. Kalimantan 37 Jember.Email: roedy.budi@.g mail.com

ABSTRAK

Latar Belakang. Kandungan kimia kopi seperti *flavonoid*, *xanthine*, antioksidan, alkaloid, polifenol dapat berfungsi sebagai antiinflamasi, antibakteri, diduga dapat berperan sebagai imunomodulator terhadap karies gigi. Namboodiripad, K. Srividya (2009) membuktikan adanya zona hambatan kopi terhadap *S. mutans*. Di sisi lain karies harus dicegah dan diobati karena sebagai penyakit gigi yang paling sering ditemui dengan penyebab utama *S. mutans*. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui viabilitas sel terhadap *S. mutans*. **Tujuan.** menganalisis viabilitas monosit terhadap *S. mutans* dengan paparan seduhan biji kopi robusta. **Metode.** Darah orang sehat 6 cc ditambahkan antikoagulan. *Ficoll-hypaque centrifugation* dan disuspensikan dalam medium RPMI 1640. Sel ditempatkan pada plate mikrotiter 96-well 8 x 105 sel/well selama 45 menit 37°C dan dicuci 4 x dengan medium. Sel yang melekat adalah monosit. Selanjutnya dilakukan kultur monosit dan diberi perlakuan sesuai kelompoknya. Kelompok kontrol (K) : monosit yang tidak diberi perlakuan. KP1: monosit + *S. mutans*. Kelompok perlakuan : KP2 : monosit direaksikan dengan seduhan biji kopi 2,5% + *S. mutans*. KP3: Seduhan biji Kopi 5% + *S.mMutans*, KP3: Seduhan biji Kopi 10% + *S. mutans*. Setelah diinkubasi 24 jam, difiksasi dengan metanol, dilakukan pengecatan *Tripan blue*. Viabilitas sel monosit dianalisis di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x per 100 sel monosit. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan Anova dilanjutkan uji LSD. **Hasil penelitian.** KP3 paling banyak sel monosit yang hidup diikuti KP2 selanjutnya KP4. **Kesimpulan.** Biji kopi meningkatkan viabilitas monosit terhadap *S. mutans*.

Kata kunci : viabilitas ; biji kopi ; viabilitas ; *S. mutans* ; karies gigi

ABSTRACT

Introduction. Coffee chemical constituents, such as flavonoids, xanthine, antioxidant, alkaloid, polyphenol can serve as anti-inflammatory, antibacterial, thought to be as an immunomodulator to dental caries. Namboodiri Pad, K. Srividya (2009) prove the coffee zone of inhibition against *S. mutans*. On the other hand cavities should be prevented and treated as a dental diseases most frequently encountered with the main causes of *S. mutans*. Therefore it is necessary to investigate the viability cells against *S. mutans*. **Aim.** analyzing viabilities of the monocyte against *S. mutans* with exposure robusta coffee beans. **Research methods.** Blood of healthy people 6 cc added anticoagulants. *Ficoll-Hypaque centrifugation* and suspended in medium RPMI 1640. The cells were placed in 96-well microtiter plate 8 x 105 cells / well for 45 minutes at 37 ° C and washed 4 x with the medium. Attached is a monocytes. Furthermore, the culture of monocytes and treated with the appropriate group. The control group (K): monocytes untreated. KP1: monocytes + *S. mutans*. The treatment group: KP2:

monocytes reacted with steeping coffee beans 2.5% + *S. mutans*. KP3: Coffee beans brew 5% + *S. mutans*, KP3: steeping the coffee beans 10% + *S. mutans*. After incubated 24 hours, fixed with methanol, performed Tripian blue painting. Analyzed viability of under a light microscope with 400x magnification per 100 monocytes. Data were analyzed using ANOVA followed by LSD test. **Result.** KP3 most viable of monocytes of followed next KP2 KP4. **Conclusion.** The coffee beans increase viability of monocytes against *S. mutans*.

Keywords: phagocytosis; coffee beans ; viability; *S. mutans*; dental caries

PENDAHULUAN

Tanaman kopi merupakan komoditi ekspor yang cukup menggembirakan karena mempunyai nilai ekonomis yang relatif tinggi di pasaran dunia. Minuman kopi banyak digemari oleh masyarakat seluruh dunia. Aroma dan rasa yang khas pada kopi seringkali membuat para penikmat kopi merasa kecanduan. Kopi mengandung banyak antioksidan yang dapat menghambat penyakit yang disebabkan oleh kerusakan oksidatif, mengurangi resiko stroke, parkinson, mencegah kanker, meningkatkan fungsi kognitif, mengobati liver, meningkatkan kerja fisik dan membuka peredaran darah. studi eksplorasi menunjukkan bahwa asupan kopi memodifikasi berbagai fungsi kekebalan tubuh.^{1,2,3} Komponen bioaktif dari biji kopi seperti *flavonoid*, *xanthine*, antioksidan, alkaloid, polifenol telah diketahui dapat berfungsi sebagai imunomodulator, antiinflamasi, antibakteri juga mempengaruhi agregasi platelet. Kemampuan bioavailabilitas polifenol kopi juga sudah diteliti.^{4,5,6,7} Ekstrak etanol biji kopi terbukti sebagai antioksidan yang dapat mempertahankan hidup sel.⁸ Pengaruh biji kopi terhadap karies gigi telah diketahui adanya zona hambatan kopi terhadap *S. mutans*.⁹ *S. mutans* adalah anaerob fakultatif, Gram-positif bakteri kokus berbentuk umum ditemukan di rongga mulut manusia dan merupakan kontributor yang signifikan untuk kerusakan gigi.⁹

Saat ini perubahan paradigma yang menyatakan bahwa penggantian jaringan berubah menjadi regenerasi jaringan, menyebabkan pendekatan penggunaan material kedokteran diarahkan untuk perbaikan jaringan secara biologis. Biokompabilitas mengindikasikan bahwa material ini dapat

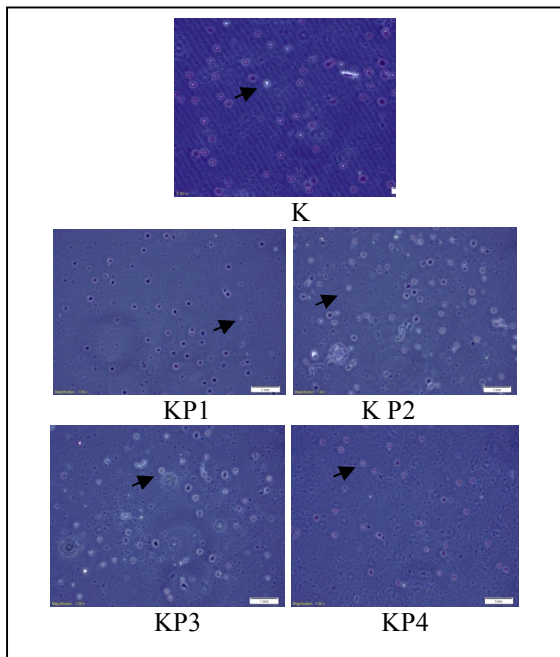
diterima oleh tubuh.¹⁰ Oleh karena itu tujuan penelitian ini adalah menganalisis viabilitas monosit terhadap *S. mutans* dengan paparan seduhan biji kopi robusta.

METODE PENELITIAN

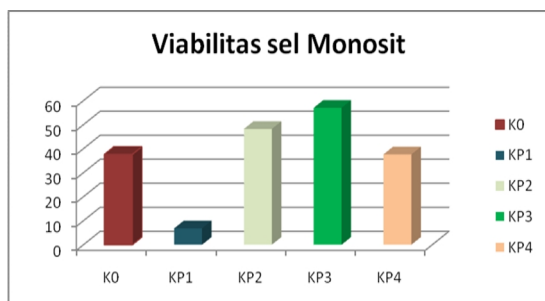
Seduhan kopi dibuat dengan cara : 20 g kopi diseduh dalam air mendidih 200 ml. Kemudian dibuat sesuai konsentrasi yang dibutuhkan. Pengambilan darah peripherial orang sehat 6 cc ditambahkan antikoagulan. *Ficoll-hypaque* ditambahkan dan dilakukan *centrifugation*, kemudian disuspensikan dalam medium RPMI 1640. Sel ditempatkan pada plate mikrotiter 96-well 8 x 105 sel/well selama 45 menit 37°C dan dicuci 4 x dengan medium RPMI. Sel yang melekat adalah monosit. Monosit ditapis pada masing-masing coverslip (@100 µL) dan diletakkan dalam 16 *microplate*, kemudian diinkubasi selama 15 menit. Tambahkan RPMI 1 cc pada tiap *well*, *penstrepe* 20 µL dan *fungizone* 5 µL, inkubasi selama 20 menit. Pencucian kira-kira sebanyak 2x hingga tidak ada kontaminasi. Kemudian tambahkan *media complete* dan kopi dengan konsentrasi yang diperlukan 200 µL. Adapun kelompok penelitian ini adalah : Kelompok kontrol (K) : monosit yang tidak diberi perlakuan. KP1: monosit + *S. mutans*. Kelompok perlakuan : KP2 : monosit direaksikan dengan seduhan biji kopi 2,5% + *S. mutans*. KP3: Seduhan biji Kopi 5% + *S. mutans*, KP3: Seduhan biji Kopi 10% + *S. mutans*. Inkubasi selama 3,5 jam kalau sudah tidak ada kontaminasi dipapar *S. mutans* sebanyak 100 µL, inkubasi selama 5 jam. dilakukan pengecatan *Tripian blue*. Viabilitas sel monosit dianalisis di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x per 100 sel

monosit (sel yang bercahaya (putih)).¹¹ Data yang diperoleh ditabulasi dan dianalisis menggunakan Anova dilanjutkan uji LSD.

HASIL PENELITIAN



Gambar 1. Viabilitas sel monosit (Panah merah) (pembesaran 200X dengan mikroskop cahaya).



Gambar 2. Diagram batang viabilitas sel monosit

Hasil analisis Anova dan uji LSD menunjukkan perbedaan yang signifikan antar kelompok. Berbagai konsentrasi seduhan biji kopi robusta meningkatkan viabilitas sel monosit. Di mana konsentrasi biji kopi 5% (KP3) paling kuat dalam meningkatkan viabilitas sel monosit, namun konsentrasi 10% (KP4) lebih sedikit sel yang hidup dibandingkan kedua konsentrasi (KP2 dan KP3). Kelompok sel monosit yang hanya dipapar *S. mutans* terlihat banyak sekali sel yang mati (gambar 1 dan 2).

PEMBAHASAN

sel monosit yang tampak normal pada penelitian ini oleh karena telah terlindungi oleh biji kopi sehingga sel monosit menjadi lebih dapat bertahan. Monosit memiliki reseptor yang dapat mengenali *S. mutans*. Perlekatan bakteri melalui multiple *binding site* karena adanya interaksi *lectinlike*, yaitu protein yang terdapat pada permukaan bakteri *S. mutans* akan bereaksi dengan *high molecular weight salivary glycoproteins*.

Kerusakan membran sel monosit terendah terdapat pada kelompok yang diberi biji kopi, banyak sel dalam keadaan aktif dan hanya sedikit membran sel monosit yang mengalami lisis. Sedangkan pada kelompok kontrol dan kelompok yang diberikan *S. mutans* banyak membran sel monosit mengalami lisis. Kerusakan sel monosit disebabkan efek dari radikal bebas nitrit oksida (NO). Dalam proses imunologis, NO dihasilkan oleh sel *host* yang terpapar infeksi. Sel *host* yang menghasilkan NO meliputi sel monosit, neutrofil, makrofag, sel kupffer, sel hepatosit, sel astrosit dan mikroglial, sel kondrosit, sel otot polos vaskular, sel otot jantung dan termasuk sel monosit. NO akan dihasilkan akibat aktivasi berbagai sitokin dan endotoksin bakteri patogen yang mampu merusak sel target atau sel bakteri melalui perannya sebagai bahan sitotoksik. Pada keadaan infeksi Nitrogen oksida disintesis dalam jumlah besar. Semua itu menimbulkan gangguan fungsi dan proliferasi sel (sitostatik).¹² Di sini diduga biji kopi dapat mempengaruhi produksi NO. Biji kopi diketahui bersifat immunosupresan terhadap produksi NO untuk menghindari adanya stress jaringan. Biji kopi diduga berperan sebagai antioksidan. Senyawa ini mampu menekan produksi NO melalui 2 jalur, yakni pada konsentrasi rendah (10 μ M), menghambat kerja enzim *cytokine-induced NO synthase (iNOS)* melalui pengendalian *iNOS mRNA*, sedangkan pada konsentrasi tinggi (40 μ M) menghambat transport arginin melalui mekanisme pengendalian *CAT-2 mRNA (Cationic Amino Acid Transporter-2 mRNA)*. Berkurangnya produksi NO mencegah terjadinya kerusakan membran sel monosit.¹³ Hal tersebut yang menyebabkan pada kelompok perlakuan yang diberikan biji kopi kerusakan membran sel monosit lebih rendah daripada kelompok kontrol.

KESIMPULAN DAN SARAN

Seduhan biji kopi meningkatkan viabilitas sel monosit yang dipapar *S. mutans*, sedangkan konsentrasi 5% paling tinggi meningkatkan viabilitas monosit. Selanjutnya perlu dilakukan penelitian tentang pemanfaatan biji kopi secara in vivo untuk mengatasi karies gigi, misalkan sebagai bahan kaping pulpa.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada Lembaga Penelitian Universitas Jember yang memberi kesempatan untuk mengajukan penelitian serta DIKTI yang memberikan hibah penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Dodik Luthfianto, Siti Chalimah, Noni Tri Hastuti. Peningkatan Kualitas Kesehatan Dengan Minuman Kopi Non Kafein. Proseding Seminar Nasional XI Pendidikan Biologi FKIP UNS.201-205
2. Melamed I¹, Kark JD, Spierer Z. Coffee and the immune system. *Int J Immunopharmacol.* 1990;12(1):129-34.
3. Meri Rafetto, RD, Stephen Cherniske, MS and Gerri French, Rd, MS, CDE Health Effects of Coffee and Caffeine on Stress Reviewed by. ©2004 Teeccino Caffé, Inc.
4. Scalbert Augustin and Gary Williamson. Dietary Intake and Bioavailability of Polyphenols, *J. Nutr.* August 1, 2000 vol. 130 no. 8 2073S-2085S.
5. Coralie J. Dupas, Agnès C. Marsset-Baglieri, Claire S. Ordonaud, Fabrice M. G. Ducept, Marie-Noëlle Maillard, Coffee Antioxidant Properties: Effects of Milk Addition and Processing Conditions, *Issue Journal of Food Science*, Volume 71, Issue 3, pages S253–S258, April 2006.
6. Natella F, Nardini M, Belevi F, Pignatelli P, Di Santo S, Ghiselli A, Violi F, Scaccini C. Effect of coffee drinking on platelets: inhibition of aggregation and phenols incorporation. *Br J Nutr.* 2008 Dec;100(6):1276-82. Epub 2008 Apr 28.
7. Naziq Ahmad, 12 Manfaat kopi bagi kesehatan, 8 Juli 2012. Diakses 12 April 2015.
8. Ji Hee Jeong, Hee Rok Jeong, Yu Na Jo, Hyun Ju Kim, Uk Lee, and Ho Jin Heo. Antioxidant and Neuronal Cell Protective Effects of Columbia Arabica Coffee with Different Roasting Conditions. *Prev Nutr Food Sci.* 2013 Mar; 18(1): 30–37.
9. Namboodiripad P., K. Srividya: Can Coffee Prevent Caries? - An In-Vitro Study. *The Internet Journal of Dental Science.* 2009 Volume 7 Number 2.
10. F.J. Harty dan R Ogston (1995): ‘Kamus Kedokteran Gigi’ (Jakarta : EGC) Johan D. Söderholm and Mary H. Perdue. Stress and intestinal barrier function. *AJP - GI* January 1, 2001 vol. 280 no. 1 G7-G13.
11. Ningtyas T. 2011.” Inhibisi Ekstrak Daun Beluntas terhadap Indeks Adhesi *Streptococcus Mutans* pada Neutrofil.” Skripsi. Jember: Program Sarjana Universitas Jember.
12. Gunawijaya & Arhana. 2000. Peran Nitrogen Oksida pada Infeksi. *Denpasar: Sari Pediatri* Vol. 2: 2.
13. Hernawan U & Setyawan A. 2003. Senyawa Organosulfur Bawang Putih (*Allium sativum* L.) dan Aktivitas Biologinya. *Surakarta: Biofarmasi* . Vol 1 (2): 65-76.