

Efek Preventif Ekstrak Etanol Kopi Robusta (*Coffea canephora*) terhadap Peningkatan Kadar Kolesterol Total Tikus Jantan Galur Wistar yang Diinduksi Kuning Telur

(The Preventive Effect of Robusta coffee (Coffea canephora) Ethanolic Extracts against the Increasing of Cholesterol in Males Rats Strain Wistar Induced by Egg Yolk)

Yan Agus Achtiar, Hairrudin, Kristianningrum Dian Sofiana
Fakultas Kedokteran Universitas Jember
Jln. Kalimantan 37, Jember 68121
e-mail : yanagusachtiar@gmail.com

Abstract

*Robusta coffee contains 7-14% of chlorogenic acid (CGA). Chlorogenic acid is expected to prevent the absorption of cholesterol in intestines. This study aimed to investigate the preventive effect of ethanolic extracts of robusta coffee (*Coffea canephora*) against the increasing of total cholesterol. This study was an experimental research laboratory using pre-post-test with control group. Twenty four male wistar rats aged 3-4 months, were split into group K1 induced with egg yolk, group K2 induced with egg yolk and coffee extract at therapeutic dose (0.5 mL / rat), group K3 induced with egg yolk and simvastatin, group K4 induced with egg yolks and coffee extract high dose (1 mL / rat) for 35 days. At the beginning and the end of treatment, the total cholesterol of blood serum was measured using CHOD-PAP method. Within 35 days, robusta coffee extract did not prevent the increasing of total cholesterol. It can be concluded that there was no preventive effect of ethanolic extracts of robusta coffee (*Coffea canephora*) against the increasing of total cholesterol of male wistar rats induced with yolk.*

Keywords: *Hypercholesterolemia, chlorogenic acid, total serum cholesterol*

Abstrak

Kopi robusta mengandung asam klorogenat (CGA) sekitar 7-14%. Asam klorogenat diduga dapat mencegah penyerapan kolesterol diusus. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan efek preventif ekstrak etanol kopi robusta (*Coffea canephora*) terhadap peningkatan kadar kolesterol total tikus. Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorium pre-post-test dengan kelompok kontrol. Dua puluh empat ekor tikus wistar jantan usia 3-4 bulan, dibagi menjadi kelompok perlakuan K1 diinduksi kuning telur, kelompok K2 diinduksi kuning telur dan ekstrak kopi dosis terapi (0,5 mL / ekor), kelompok K3 diinduksi kuning telur dan simvastatin, kelompok K4 diinduksi kuning telur dan ekstrak kopi dosis tinggi (1 mL / ekor) selama 35 hari. Pada awal dan akhir perlakuan diambil serum darah untuk mengetahui kadar kolesterol total darah menggunakan menggunakan metode CHOD-PAP. Dalam waktu 35 hari, pemberian ekstrak kopi robusta tidak mencegah kenaikan kadar kolesterol total. Sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak ada efek preventif ekstrak etanol kopi robusta (*Coffea canephora*) terhadap peningkatan kadar kolesterol total tikus wistar jantan yang diinduksi kuning telur.

Kata kunci: Hiperkolesterolemia, asam klorogenat, kolesterol total serum

Pendahuluan

Prevalensi kematian akibat penyakit kardiovaskular (CVD) di seluruh dunia terus meningkat tiap tahunnya. Penyebab utama penyakit kardiovaskular adalah manifestasi aterosklerosis di pembuluh darah koroner, dengan salah satu faktor risiko utamanya adalah hiperkolesterolemia [1]. Hiperkolesterolemia adalah keadaan dimana terjadi peningkatan kadar kolesterol total plasma dalam keadaan puasa. Kolesterol total adalah perhitungan total dari semua jenis kolesterol dalam darah, meliputi kolesterol LDL, kolesterol HDL, dan komponen lipid lainnya dalam tubuh [2]. Upaya masyarakat untuk menghindari hiperkolesterolemia, antara lain dengan olahraga teratur, diet rendah lemak, dan dengan mengonsumsi obat penurun lipid. Obat-obat paten penurun lipid yang tersedia di pasaran harganya relatif mahal sehingga tidak terjangkau oleh seluruh lapisan masyarakat, sehingga banyak upaya masyarakat untuk menggunakan obat-obat herbal sebagai upaya alternatif untuk mengatasi dan mengendalikan dislipidemia. Sebagai contoh misalnya kopi (*Coffea Sp*) [3,4]. Ada tiga spesies kopi yang cukup sering dibudidayakan yaitu kopi arabika (*Coffea arabica*), kopi robusta (*Coffea canephora*), dan kopi liberika (*Coffea liberica*).

Kopi robusta (*Coffea canephora*) mengandung asam klorogenat (CGA) lebih banyak dibandingkan dengan kopi arabika (*Coffea arabica*) dan kopi liberika (*Coffea liberica*) yaitu sekitar 7-14%. Sifat kimia asam klorogenat yang utama adalah memperlambat penyerapan glukosa di usus [5,6]. Apabila hambatan ini terjadi, maka mekanisme pembentukan piruvat pada proses glikolisis akan ikut berkurang. Proses Oksidasi piruvat yang merubah piruvat menjadi asetil-KoA juga mengalami penurunan, dengan demikian pembentukan kolesterol endogen yang berbahan asetil-KoA akan berkurang [7]. Asam klorogenat juga diduga dapat mencegah penyerapan kolesterol diusus dan menghambat pelepasan glukosa ke dalam aliran darah setelah makan [8]. Pada penelitian sebelumnya asam klorogenat yang terkandung di dalam jus buah terong belanda (*Cyphomandra betaceae*) efektif menurunkan kadar kolesterol darah tikus wistar jantan [9]. Pada penelitian lain CGA pada ekstrak etanol buah terong ungu (*Solanum melongena L.*) juga efektif mencegah kenaikan kadar kolesterol total tikus wistar jantan [10].

Kopi robusta (*Coffea canephora*) mengandung asam klorogenat yang

kemungkinan dapat mencegah kenaikan kadar kolesterol total. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan efek preventif ekstrak etanol kopi robusta (*Coffea canephora*) terhadap kenaikan kadar kolesterol total tikus.

Metode Penelitian

Sebelum penelitian, dilakukan uji coba untuk menentukan dosis terapi kopi robusta (*Coffea canephora*). Uji coba dilakukan di laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Sampel yang digunakan yaitu tikus wistar sebanyak delapan ekor. Sampel dibagi menjadi empat kelompok, semua kelompok diinduksi kuning telur dengan dosis 3 mL/ekor/hari. Masing-masing kelompok setiap hari diinduksi ekstrak kopi robusta (*Coffea canephora*) dengan dosis berbeda, kelompok 1 (dosis 0,25 mL/ekor/hari), kelompok 2 (dosis 0,5 mL/ekor/hari), kelompok 3 (dosis 0,75 mL/ekor/hari), kelompok 4 sebagai kontrol diinduksi kuning telur saja. Dari hasil uji coba dosis terapi dihitung dengan analisis probit dan didapat ED₅₀ (*Effective Dose 50*) sebesar 0,5 ml. Maka pada penelitian menggunakan dosis terapi ekstrak kopi robusta (*Coffea canephora*) sebesar 0,5 mL.

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris *pretest-posttest group design* [11]. Penelitian dilakukan di Pusat Penelitian Kopi dan Kakau Jember, Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Jember dan Laboratorium Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember. Pemilihan sampel penelitian untuk pengelompokan dan pemberian perlakuan dengan menggunakan *simple random sampling*. Jumlah sampel yang digunakan sebanyak 24 ekor tikus wistar jenis kelamin jantan dengan berat 130-160 g. Sampel dibagi menjadi 4 kelompok. Semua sampel dilakukan pretest (pemeriksaan kadar kolesterol total sebelum perlakuan). Masing-masing kelompok diberi perlakuan berbeda yaitu : kelompok kontrol negatif (K1) diinduksi kuning telur 3 mL/ekor/hari, kelompok kopi robusta (*Coffea canephora*) dosis terapi (K2) diinduksi kuning telur 3 mL/ekor/hari dan ekstrak kopi robusta 0,5 mL/ekor/hari, kelompok kontrol positif (K3) diinduksi kuning telur 3 mL/ekor/hari dan simvastatin dan kelompok kopi robusta (*Coffea canephora*) dosis tinggi (K4) diinduksi kuning telur 3 mL/ekor/hari dan ekstrak kopi robusta 1 mL/ekor/hari. Setelah 35 hari semua sampel

dilakukan posttest (pemeriksaan kadar kolesterol total setelah perlakuan). Pembuatan ekstrak kopi robusta (*Coffea canephora*) menggunakan metode maserasi dan evaporasi dengan pelarut etanol 96%. Biji kopi robusta (*Coffea canephora*) didapat dari perkebunan kopi di kecamatan Silo kabupaten Jember.

Data yang didapat berupa kadar kolesterol total. Pemeriksaan kadar kolesterol total dilakukan di laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Evaluasi kadar kolesterol total dilakukan dengan menggunakan metode CHOD-PAP (*Cholesterol Oxidase Phenol Aminoantipyrin*). Hasil pemeriksaan kadar kolesterol total dianalisis dengan menggunakan uji nonparametrik *K-independent test*.

Hasil penelitian

Berikut hasil rata-rata kadar kolesterol total serum sebelum dan setelah perlakuan antar kelompok disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Rata-rata kolesterol total serum sebelum dan setelah perlakuan pada masing-masing kelompok

Kelompok	Pretest (mean \pm SD)	Posttest (mean \pm SD)
K ₁	48,95 \pm 7,76	102,12 \pm 11,65
K ₂	47,82 \pm 12,72	95,62 \pm 12,36
K ₃	52,12 \pm 12,2	101,41 \pm 10,24
K ₄	54.38 \pm 6,75	-

Pada penelitian ini tidak didapatkan hasil nilai posttest K4 karena semua tikus K4 mati di hari ke-6, sehingga perlakuan pada K4 tidak dapat dilanjutkan. Hasil pemeriksaan kadar kolesterol total sebelum perlakuan (pretest) merupakan kadar kolesterol total tikus sebelum diberi perlakuan apapun, sehingga hasil tersebut dianggap sebagai kadar normal kolesterol total tikus yang digunakan pada penelitian ini. Untuk mengetahui nilai normal ditentukan dengan nilai rata-rata \pm standar deviasi (mean \pm SD) menggunakan analisis deskriptif program komputer. Hasil analisis deskriptif didapatkan nilai mean sebesar 51,29 dan standar deviasi sebesar 13.63. Nilai mean \pm SD adalah 22.03-74.75, sehingga kadar normal kolesterol total tikus yang digunakan adalah 22,03-74,75 mg/dL.

Hasil pretest menunjukkan bahwa rata-rata kadar kolesterol total darah dari ketiga kelompok adalah normal yaitu K1 (48,95 \pm 7,76 mg/dl), K2 (47,82 \pm 12,72 mg/dl) dan K3 (52,12

\pm 12,2 mg/dl). Hasil posttest menunjukkan bahwa rata-rata kadar kolesterol total darah dari kelompok 1,2 dan 3 meningkat yaitu K1 (102,12 \pm 11,65 mg/dl), K2 (95,62 \pm 12,36 mg/dl) dan K3 (101,41 \pm 10,24 mg/dl). Hasil rata-rata posttest K2 lebih rendah dari K1. Untuk melihat apakah ada perbedaan yang signifikan pada kenaikan kadar kolesterol total antara K1, K2 dan K3 (*between group*) maka dilanjutkan pada analisis data. Hasil uji nonparametrik diperoleh nilai *significance* 0,849 (*sig*>0,05) yang berarti tidak terdapat perbedaan signifikan pada peningkatan rata-rata kadar kolesterol total antara kelompok K1, K2 dan K3.

Pembahasan

Pada kelompok kontrol negatif rata-rata kadar kolesterol total posttest 102,12 \pm 11,65 mg/dL. Nilai tersebut menunjukkan bahwa diet kuning telur dosis 3 ml/ekor/hari selama 35 hari dapat menaikkan kadar kolesterol total tikus wistar atau mengakibatkan tikus mengalami hiperkolesterol. Hasil ini sesuai dengan teori sebelumnya yaitu kuning telur dapat meningkatkan kadar kolesterol total tikus dengan dosis 5 g/200 g berat badan tikus (Lamanepa, 2005). Kuning telur ayam mempunyai kandungan kolesterol yang tinggi yaitu sekitar 922 mg/100g kuning telur, sehingga akan meningkatkan absorpsi kolesterol di usus yang nantinya juga meningkatkan kolesterol eksogen [11].

Pada kelompok kopi robusta (*Coffea canephora*) dosis terapi rata-rata kadar kolesterol total mengalami peningkatan menjadi 95,62 \pm 12,36 mg/dL. Pada uji nonparametrik *K-independent test* metode *Kruskal-Wallis* peningkatan rata-rata kadar kolesterol total kelompok kopi robusta (*Coffea canephora*) dosis terapi tidak berbeda signifikan dibanding kelompok kontrol negatif. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kopi robusta 0,5 mL selama 35 hari tidak mencegah kenaikan kadar kolesterol total jika dibandingkan dengan diet tinggi kolesterol. Hasil ini tidak sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Syariah (2011) yaitu asam klorogenat yang terkandung dalam jus buah terong belanda (*Cyphomandra betaceae*) dapat menurunkan kadar kolesterol total [9]. Perbedaan hasil ini kemungkinan disebabkan karena penelitian sebelumnya bersifat kuratif atau penyembuhan, sedangkan penelitian ini bersifat preventif atau pencegahan. Asam klorogenat dapat mencegah penyerapan kolesterol di usus dan menghambat pelepasan glukosa ke dalam aliran darah

setelah makan [7]. Pada penelitian ini kopi robusta (*Coffea canephora*) belum terbukti menunjukkan efek preventif terhadap peningkatan kadar kolesterol total tikus jantan galur wistar yang diinduksi kuning telur.

Pada kelompok kontrol positif rata-rata kadar kolesterol total mengalami peningkatan menjadi $101,41 \pm 10,24$ mg/dL. Pada uji nonparametrik *K-independent test* metode *Kruskal-Wallis* peningkatan rata-rata kadar kolesterol total kelompok tiga tidak berbeda signifikan dibanding kelompok satu. Hal ini menunjukkan bahwa pada penelitian ini pemberian simvastatin selama 35 hari tidak memberikan efek pencegahan kenaikan kadar kolesterol total yang diinduksi kuning telur. Hasil ini kemungkinan disebabkan karena cara kerja simvastatin yang menghambat sintesis kolesterol endogen, sedangkan kuning telur meningkatkan kolesterol eksogen. Simvastatin dapat menurunkan kolesterol dengan cara menurunkan produksi kolesterol di hati sehingga kadar kolesterol darah akan menurun. Obat ini menghambat kerja enzim HMG Ko-A reduktase.

Pada penelitian sebelumnya oleh Sofian (2011) simvastatin dapat mencegah kadar kolesterol total tikus pada dosis terapi yaitu 0,18 mg/ekor/hari [10]. Pada penelitian ini menggunakan dosis simvastatin yang sama dengan penelitian sebelumnya namun pemberian simvastatin tidak mencegah kenaikan kadar kolesterol total. Hal ini kemungkinan dikarenakan lama perlakuan yang berbeda. Penelitian sebelumnya dilakukan selama 20 hari, sedangkan pada penelitian ini kuning telur dan simvastatin diberikan selama 35 hari.

Peningkatan kolesterol eksogen kemungkinan dapat dicegah dengan menggunakan obat yang bekerja menghambat absorpsi kolesterol di usus, misalnya ezetimibe. Ezetimibe adalah inhibitor penyerapan kolesterol selektif yang efektif blok penyerapan usus makanan dan empedu kolesterol. Ezetimibe mengalami *glucuronidation* (penambahan asam glukuronat pada substrat) ke metabolit tunggal dan terlokalisir di dinding usus, di mana mencegah penyerapan kolesterol. Ezetimibe tidak mempengaruhi penyerapan vitamin yang larut dalam lemak atau trigliserida [12].

Peneliti membuat kelompok kopi robusta (*Coffea canephora*) dosis tinggi dengan tujuan untuk mencari tahu apakah dengan ekstrak kopi robusta dosis tinggi yaitu 1 mL/ekor lebih bisa mencegah kenaikan kadar kolesterol total atau tidak dibandingkan ekstrak kopi

robusta dosis terapi 0,5 mL. Selain itu jika sebagian sampel pada kelompok kopi robusta (*Coffea canephora*) dosis tinggi mati maka dapat dicari *lethal dose 50* (LD_{50}) yaitu dosis efektif untuk membunuh 50% kematian dari seluruh populasi. Pada kelompok kopi robusta (*Coffea canephora*) dosis tinggi didapatkan 3 ekor tikus mati pada hari ke-4 atau 50 % dari seluruh sampel mati, sehingga dapat dikatakan bahwa LD_{50} dari ekstrak kopi robusta adalah 1 mL (1,78 g CGA). Belum ada penelitian terdahulu yang berkaitan dengan LD_{50} dari CGA.

Simpulan dan Saran

Tidak ada efek preventif ekstrak etanol kopi robusta (*Coffea canephora*) terhadap peningkatan kadar kolesterol total tikus wistar jantan yang diinduksi kuning telur.

Perlu dilakukan penelitian yang bersifat kuratif atau penyembuhan tentang pengaruh ekstrak etanol kopi terhadap kadar kolesterol total tikus dan penelitian menggunakan obat yang sesuai dengan cara kerja asam klorogenat yaitu pada penghambat absorpsi kolesterol eksogen, misalnya ezetimibe.

Ucapan Terima Kasih

Terimakasih yang sebesar-besarnya kepada Bantuan Operasional Perguruan Tinggi Negeri (BOPTN) sebagai sumber pendanaan penelitian ini serta kepada Aris Prasetyo.

Daftar Pustaka

- [1] World Health Organization (WHO). Cardiovascular diseases (CVDs) [Internet]. 2013. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/>
- [2] Anwar B. Manfaat Diet Pada Penanggulangan Hiperkolesterolemi, USU; 2003.
- [3] Mahley RM & Bersot TP. Drug therapy for hypercholesterolemia and dyslipidemia. In: Laurence L. Brunton, John S. Lazo, Keith L. Parker., eds. Goodman & Gillman's the pharmacological basis of therapeutics, 11th ed. New York: McGraw Hill; 2005.
- [4] Baselt R. Disposition of toxic drugs and chemicals in man. Foster City: Biomedical Publications; 2008.
- [5] Panagiotakos DB, Pitsavos C, Stefanadis C, Kokkinos P, Christina C, Toutouzas P, et al. Consumption of fruits and vegetables in relation to the risk of developing acute

- coronary syndromes; the cardio 2000 case-control study. *Nutrition Journal*. 2003; 2:2.
- [6] [IFIC] International Food Information Council Foundation. *Caffeine and Health: Clarifying The Controversies* [Internet]. 2007. Available from: <http://www.ific.org>
- [7] Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. *Biokimia Harper Edisi 25*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC; 2003.
- [8] Hu FB. Globalization of Diabetes. *Diabetes Care*. 2011; 34:1249–1257.
- [9] Syariah Wa Ode. Pengaruh Jus Buah Terong Belanda (*Cyphomandra betaceae*) Terhadap Kolesterol Total Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan. *Journal UNHAS*; 2011.
- [10] Sofian Ferry Ferdiansyah. Efek Ekstrak Etanol Buah Terung Ungu (*Solanum melongena L.*) Terhadap Kadar Kolesterol Total dan Trigliserida Pada Tikus; 2011.
- [11] Saidin Muhamad. Kandungan Kolesterol Dalam Berbagai Bahan Makanan dan Hewan. Pusat Penelitian dan Badan Pengembangan Gizi, Badan Litbangkes, Depkes RI; 2000.
- [12] Catapano AL. Ezetimibe: a selective inhibitor of cholesterol absorption. *European Heart Journal Supplements*. 2001; 3 (Suppl E): E6–E10.

