

## Daya hambat ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*) terhadap pertumbuhan bakteri plak

*(Inhibition activity of Robusta coffee bean extract (Coffea canephora) on bacterial plaque growth)*

Ratih Ayu Maheswari<sup>1</sup>, Agung Krismariono<sup>2</sup>, Lambang Bargowo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mahasiswa Program Sarjana Kedokteran Gigi

<sup>2</sup>Staf Departemen Periodonsia

Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Airlangga

Surabaya – Indonesia

### ABSTRACT

**Background.** Plaque is the major causative factor for periodontal disease, such as gingivitis and periodontitis. Local antibacterial substances can reduce plaque accumulation. Many herbs have antibacterial properties. One of them is Robusta coffee. Robusta coffee contains caffeine, polyphenols, and trigonelline, which has the ability to lead to bacterial cell death. **Purpose.** The aim of this study was to determine the inhibition of Robusta coffee bean extract on bacterial plaque growth. **Method.** This study was using Soxhlet technique to prepare Robusta coffee extract. Dilution techniques were used to form 8 concentrations, 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,56%, and 0,78%. Antibacterial effect of extract was studied by counting the number of growth colonies which grow on Mueller-Hinton Agar (MHA) medium. **Results.** Inhibition activity of Robusta coffee bean extract started from concentration 1,56%. **Conclusion.** Robusta coffee bean extract was effective to inhibit the growth of plaque bacterial colony from concentration 1,56%.

**Keywords :** plaque, antibacterial, *Coffea canephora*, bacteria colony

Korespondensi (*correspondence*): Ratih Ayu Maheswari, Bagian Periodonsia, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga. Jl Mayjen Prof. Dr. Moestopo No.37 Surabaya 60113, Indonesia. E-mail: ratihmaheswari88@gmail.com.

### PENDAHULUAN

Penyakit periodontal yang sering ditemukan adalah gingivitis dan periodontitis. Di dunia, sekitar 50-90% orang dewasa menderita gingivitis.<sup>1</sup> Sedangkan di Indonesia, prevalensi penyakit gingivitis mencapai 96,58% dari seluruh penduduk.<sup>2</sup>

Pada umumnya, penyebab penyakit periodontal adalah plak. Plak gigi merupakan kumpulan mikroorganisme yang terdapat pada permukaan gigi sebagai biofilm.<sup>3</sup> *Streptococcus mutans* merupakan bakteri pembentuk yang menginisiasi perlekatan plak pada permukaan gigi.<sup>4</sup>

Gingivitis dapat berkembang menjadi periodontitis.<sup>5</sup> Periodontitis menyebabkan

kerusakan lokal maupun sistemik. Secara lokal, periodontitis dapat menyebabkan poket dan *bone loss*, yang dapat berlanjut menjadi *tooth loss*.<sup>6</sup> Periodontitis juga dapat menyebabkan penyakit sistemik, seperti diabetes melitus dan berat bayi lahir rendah (BBLR)<sup>7</sup> yang dapat berakibat fatal terhadap penderitanya. Oleh karena itu terjadinya penyakit periodontal dan progresifitasnya harus dicegah.

Perawatan penyakit periodontal dilakukan dengan mengurangi faktor penyebab utama, yaitu bakteri.<sup>8</sup> Perawatan umumnya dilakukan dengan pemberian obat kumur antiseptik. Namun, obat kumur yang banyak digunakan mengandung bahan kimia sintetik yang sering menimbulkan

efek samping antara lain perubahan pengecapan rasa, pembentukan bercak atau *staining*, *burning sensation*, iritasi dan deskuamasi rongga mulut.<sup>9</sup>

Salah satu bahan alami yang dapat digunakan untuk pengobatan adalah biji kopi Robusta. Berdasarkan penelitian, kopi merupakan minuman yang paling banyak dikonsumsi di dunia setelah air mineral.<sup>10</sup> Dalam ekstrak biji kopi Robusta terdapat beberapa senyawa yang mempunyai aktivitas antibakteri, yaitu *chlorogenic acid* (CGA), kafein, *caffeic acid* dan *trigonelline*.<sup>11</sup> Selain sebagai antibakteri, senyawa dalam biji kopi Robusta juga mempunyai efek antioksidan dan antiinflamasi.<sup>12</sup>

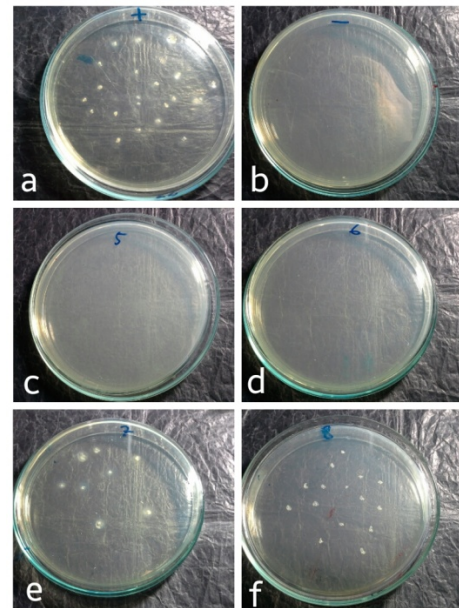
## BAHAN DAN METODE

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratoris dilakukan di Laboratorium Biologi Oral Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga. Sebanyak 30 sampel diambil dari bakteri plak pasien normal berumur 18-30 tahun dengankondisironggamulut yang sehatdantidakmenderita penyakit sistemik.Sampel yang digunakan dibagi menjadi 8 perlakuan disertai kontrol positif dan negatif.Biji kopi Robusta diambil dari perkebunan di daerah Bondowoso, Jawa Timur kemudian dicuci dan dikeringkan. Ekstrak biji kopi Robusta diperoleh dengan teknik Soxhlet menggunakan penyari ethanol 70%. Plak yang telah diambil dimasukkan dan diinkubasi dalam media *Brain Heart Infusion Broth* (BHIB) selama 1×24 jam pada suhu 37°C secara anaerob dengan standard kekeruhan McFarland 0,5. Pengenceran ekstrak biji kopi Robusta menggunakan metode dilusi dengan cara membagi menjadi 8 konsentrasi, yaitu 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,56% dan 0,78%. Selanjutnya dicampur dengan suspensi bakteri plak. Campuran dari hasil pengenceran ekstrak dan suspensi bakteri plak kemudian diinkubasi selama 1×24 jam pada suhu 37°C dan selanjutnya ditanam pada media *Mueller-Hinton Agar* (MHA). Setelah itu diinkubasilagi selama 1×24 jam pada suhu 37°C.

Pengamatan hasil dilakukan dengan menghitung jumlah koloni yang tumbuh pada media MHA dengan *colony counter*. Data yang telah didapatkan diuji normalitasnya dengan uji Kolmogorov-Smirnov serta uji homogenitas Levene. Pengujian antar kelompok menggunakan ANOVA Brown-Forsythe dilanjutkan dengan post-hoc Games-Howell.

## HASIL

Koloni bakteri plak yang tumbuh pada media MHA dengan penambahan ekstrak biji kopi Robusta pada konsentrasi tertentu dapat dilihat pada Gambar 1.

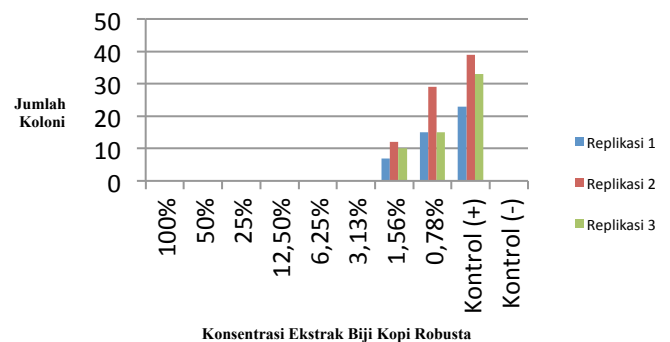


**Gambar 1.** Koloni bakteri plak setelahdiberiekstrak biji kopi Robusta (*Coffea canephora*)

Keterangan:

a.Kontrol positif, b.Kontrol negatif, c.Konsentrasi ekstrak6,25%, d. Konsentrasi ekstrak3,125%, eKonsentrasi ekstrak 1,56%, f.Konsentrasi ekstrak0,78%

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat penurunan jumlah koloni bakteri plak yang tumbuh pada mediaseiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak. Perbandingan jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada media *Mueller-Hinton Agar* (MHA) setelah diberi ekstrak biji kopi Robusta pada setiap konsentrasi ekstrak biji kopi Robusta dapat dilihat pada Gambar 2.



**Gambar 2.** Grafik pertumbuhan koloni bakteri plak pada tiap konsentrasi ekstrak biji kopi Robusta

Uji normalitas dilakukan dengan Kolmogorov-Smirnov pada masing-masing

kelompok kecuali kelompok konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25% dan 3,125% karena tidak didapatkan pertumbuhan koloni bakteri. Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa semua data berdistribusi normal ( $p>0,05$ ), uji homogenitas dengan *Levene's test* menunjukkan bahwa data bersifat homogen ( $p>0,05$ ). Oleh karena itu, analisis data dilakukan dengan uji *one-way ANOVA*, dan didapatkan  $p=0,117$  ini berarti terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan. Selanjutnya dilakukan uji post-hoc Tukey untuk mengetahui kelompok-kelompok yang mempunyai perbedaan satu dengan yang lain.

Tabel 1. Hasil uji post-hoc Tukey

	Post-hoc Tukey ANOVA	Mean difference	p
<b>1,56%</b>	0,78%	-19.000	0.074
	Kontrol positif	-22.000*	0.039
	Kontrol negatif	9.667	0.487
<b>0,78%</b>	1,56%	19.000	0.074
	Kontrol positif	-3.000	0.966
	Kontrol negatif	28.667*	0.010
<b>Kontrol positif</b>	1,56%	22.000	0.039
	0,78%	3.000	0.966
	Kontrol negatif	31.667*	0.005
<b>Kontrol negatif</b>	1,56%	-9.667	0.054
	0,78%	-28.667	0.160
	Kontrol positif	-31.667	0.052

\*= ada perbedaan yang signifikan ( $p<0,05$ )

## PEMBAHASAN

Berdasarkan pernyataan Jawetz (2008) dan Radji (2010), pertumbuhan koloni bakteri pada media pembiakan dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain suhu, pH, tekanan osmotik dan ionik, oksigen, dan zat kimia.<sup>13,14</sup> Pada penelitian ini, suhu, pH, oksigen serta tekanan osmotik telah diatur pada kondisi optimal untuk pertumbuhan koloni bakteri plak. Oleh karena itu, faktor yang paling berperan dalam penelitian ini adalah zat kimia yang terdapat dalam ekstrak biji kopi Robusta.

Ekstrak biji kopi Robusta mengandung beberapa zat kimia antara lain *chlorogenic acid* (CGA), kafein, *caffeic acid*, dan *trigonelline*. Berdasarkan uji kandungan yang dilakukan di BKPI Ketintang, ekstrak biji kopi Robusta pada penelitian ini mengandung 2,16% kafein, 1,46% *chlorogenic acid*, 1,82% *caffeic acid*, 1,18% *trigonelline*. Kemungkinan senyawa ini yang berperan dalam menghambat pertumbuhan koloni bakteri plak.

Hal ini sesuai dengan hasil dari beberapa penelitian sebelumnya. Penelitian ini mendukung penelitian yang sebelumnya dilakukan oleh Almeida *et al*, yang meneliti tentang daya hambat ekstrak biji kopi Robusta terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Disebutkan bahwa kafein pada ekstrak biji kopi Robusta dapat menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* pada konsentrasi 0,5-1 mg/ml. Ini sejalan dengan hasil penelitian ini dimana terdapat penghambatan total pertumbuhan koloni bakteri plak dimulai dari konsentrasi 3,125%.<sup>15</sup> Pada ekstrak biji kopi Robusta dengan konsentrasi 3,125% diperkirakan terdapat sekitar 0,625mg/ml konsentrasi kafein, jumlah ini berasal dari penelitian yang dilakukan oleh Farah *et al*(2011) yang menyatakan bahwa pada kopi Robusta terdapat konsentrasi kafein sekitar 2g/100g.<sup>12</sup> Dengan konsentrasi kafein yang tersebut diatas, ini sudah melebihi kadar konsentrasi minimal yang dibutuhkan untuk penghambatan pertumbuhan koloni bakteri plak. Sehingga pada media MHA pada konsentrasi 3,125% tidak terlihat ada pertumbuhan bakteri plak.

Penelitian ini juga mendukung penelitian yang dilakukan oleh Norizan *et al* (2013) dan Raut *et al* (2013) yang meneliti tentang efek kafein terhadap proses pembentukan koloni.<sup>16,17</sup> Didapatkan hasil bahwa kafein berpengaruh pada *quorum sensing* bakteri pembentuk biofilm. *Quorum sensing* berfungsi untuk mengatur psikologi bakteri seperti pembentukan biofilm, *bioluminescence*, dan faktor virulensi. Kafein memiliki sifat fungistatik terhadap pertumbuhan *Candida albicans* dengan kadar MIC sebesar 12,5 mM. Vinod (2004) menunjukkan bahwa kafein juga mempunyai peranan penting dalam perkembangan resistensi imun terhadap invasi bakteri dengan meningkatkan konsentrasi dari sel imunokompeten dan mengaktifkan kembali aktivitas lisozim yang semakin memperkuat hasil dari penelitian ini.<sup>18</sup>

Kandungan antibakteri ekstrak biji kopi Robusta yang tidak kalah penting dalam menghambat pertumbuhan koloni bakteri plak adalah *Chlorogenic acid* (CGA). Asumsi ini dikuatkan oleh penelitian yang dilakukan oleh Luo *et al* (2011) yang menyebutkan bahwa CGA dapat menghambat bakteri jenis gram positif maupun gram negatif. Pada gram negatif, CGA dapat menghambat pertumbuhan bakteri sebesar 20-40 µg/mL sedangkan pada gram positif sebesar 20-80 µg/mL.<sup>19</sup>

*Chlorogenic acid* meningkatkan permeabilitas membran luar dan membran plasma

secara signifikan, yang menyebabkan menurunnya fungsi pertahanan, serta kebocoran dari nukleotida. CGA juga secara signifikan meningkatkan permeabilitas membran luar dan dalam *S.dysenteriae* dan *S. pneumoniae* yang menyebabkan kebocoran isi sitoplasma, termasuk nukleotida. Dengan konsentrasi CGA yang sedikit, CGA sudah mampu menghambat pertumbuhan koloni bakteri. Ini terlihat dari data hasil penelitian, ekstrak biji kopi Robusta dapat menghambat pertumbuhan koloni bakteri plak mulai dari konsentrasi yang kecil, yaitu konsentrasi 1,56% dan terus meningkat keefektifannya seiring dengan bertambahnya konsentrasi.<sup>19</sup>

Daya hambat ekstrak biji kopi Robusta dalam penelitian ini dapat juga disebabkan karena adanya kandungan *caffeic acid*. Meskipun kadar *caffeic acid* dalam ekstrak biji kopi Robusta lebih sedikit, peran senyawa ini juga penting dalam proses penghambatan pertumbuhan koloni bakteri. Seperti yang dikemukakan oleh Campos (2003) bahwa *caffeic acid* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escheria coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* dan beberapa jamur dengan mendegradasi dinding sel bakteri.<sup>20</sup> Taguri *et al* (2004) juga menjelaskan bahwa *caffeic acid* lebih sensitif jika dicobakan dengan bakteri gram-positif dibandingkan dengan gram-negatif. Hal ini karena ada perbedaan komposisi membran sel bakteri. *Caffeic acid* dapat mendegradasi dinding sel dari bakteri. Bakteri gram-positif lebih sensitif terhadap *caffeic acid* dibandingkan dengan gram-negatif. Ini dikarenakan adanya perbedaan komposisi dari membran dinding sel.<sup>21</sup>

Kandungan *trigonelline* pada ekstrak biji kopi Robusta juga dapat dijadikan dasar penyebab adanya penurunan pertumbuhan koloni bakteri plak pada penelitian ini. Meskipun dari hasil penelitian kadar zat ekstrak biji kopi Robusta, hanya terdapat 1,18% dari total ekstrak, *trigonelline* sudah dapat berperan dalam menghambat pertumbuhan koloni bakteri plak. Beberapa penelitian juga menunjukkan bahwa *trigonelline* dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Hal ini didukung oleh hasil penelitian Nuhu *et al* (2013) bahwa *trigonelline* yang terkandung pada ekstrak biji kopi Robusta berkorelasi positif terhadap penurunan formasi biofilm oleh *Streptococcus mutans* melalui aksi bakteriostatiknya.<sup>22</sup> Selain itu, Suhad *et al* (2005) juga menjelaskan mekanisme penghambatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* oleh

*trigonelline* juga dengan cara mengganggu stabilitas membran sitoplasmanya yang berakibat pada tidak seimbangannya fungsi metabolisme dari bakteri tersebut. Sehingga terjadi penghambatan pertumbuhan koloni bakteri plak yang dalam penelitian ini terlihat ada penurunan jumlah koloni bakteri plak yang tumbuh pada media MHA. Bahkan pada konsentrasi tertentu terdapat penghambatan total sehingga tidak terdapat koloni bakteri plak yang tumbuh.<sup>23</sup>

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak biji kopi Robusta dapat menghambat pertumbuhan koloni bakteri plak mulai konsentrasi 1,56%.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Albandar, Jasim M & Rams, Thomas E 2002, *Global epidemiology of periodontal diseases: an overview*, Periodontology 2000, Vol.29, Blackwell Munksgaard, Denmark, pp.7-10
2. Anonimous. Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) 2007. Laporan Nasional. Departemen Kesehatan Republik Indonesia 2008. [cited 2014 Mei 1]; Available from URL: <http://www.scribd.com/doc/82922543/laporan-Nasional-Riskesdas-2007> p. 130-2
3. Marsh PD, 2004, *Dental plaque as a microbial biofilm*, *Caries Res*, Vol.38, pp.204-211
4. Todar, Kenneth 2012, *The Normal Bacteria Flora of Human*, Todar's Online Textbook of Bacteriology "The Good, the Bad, and the Deadly" accessed at pp.1-3
5. Newman, M.G, Takei, H , Klokkevoeld, P.R 2006 *Carranza's Clinical Periodontology 10<sup>th</sup>*, Elsevier, Los Angeles, pp.127, 140-143.
6. Marya, CM 2011, *A Textbook of Public Health Dentistry*, Jaypee Brothers Medical Publishers(P), India Ltd ISBN 978-93-5025-216-1 p.112
7. Li X, Koltveit KM, Tronstad L, Olsen I, Systemic disease caused by oral infection . *Clin Microbiol Rev.*2010; 13;547-58
8. American Academy of Pediatric Dentistry. Advertising in Originating Group American Academy of Periodontology - Research, Science, and Therapy Committee 2004,. *J Periodontal* 2001 Vol.72, pp.1790-1800.
9. Farah, C.S, McIntosh, Lidija, McCullogh,M.J 2009, *Mouthwash*, Australian Prescriber, Vol.32.pp.162-164

10. Ohshima T, Miyakawa Y, Watanabe T, Ohyama K 2003, *Effect of amphotericin B dilution with various beverages on the survival of Candida albicans cells*. *Kansenshogaku Zasshi* vol.77, pp.29-33
11. Radji, M. 2010. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi & Kedokteran*. Jakarta : EGC
12. A.A.P. Almeida, C.C Naghetini, V.R. Santos, A.G. Antonio, A.Farah, M.B.A. Gloria.2012. Influence of natural coffee compounds, coffee extract and increased levels of caffeine on the inhibition of *Streptococcus mutans*. *Food Research International* 49 459-461
13. Norizan, SNM, Yin, W-F and Chan, K-G 2013, *Caffeine as a Potential Quorum Sensing Inhibitor*, Division of Genetics and Molecular Biology, Institute of Biological Sciences, Faculty of Science, University of Malaya, Kuala Lumpur 50603, Malaysia, pp.5118-5129
14. Raut, Jayant S; Chauhan, Nitin M; Shinde, Ravikumar B; Karuppayil, S. Mohan. 2013. Inhibition of Planktonic and biofilm growth of *Candida albicans* reveals novel antifungal activity of caffeine. *Academic Journals. Journal of Medicinal Plants Research*. Vol. 7(13), 3 April 2013 DOI:
15. Vinod D.Rangari, *Pharmacognosy and Phytochemistry*, Carrier Publication, 1st edn. September 2004, volume II pp.311-312
16. Luo C, Wang X, Gao G, Wang L, Li Y, Sun C. .2011. Identification and quantification descriptors of roasting intensity in beverages of Arabica and Robusta coffee beans. *Int J Food Sci Nutr*. Dec;62(8):865-71
17. Lim, T.K 2013, *Edible Medicinal and Non-Medicinal Plant* vol 5, Springer Dordrecht Heidelberg, London p.121
18. Farah A 2011, *Coffee: Emerging Health Effects and Disease Prevention*. In: *Coffee Constituents* John Wiley & Sons. In Press,p.45.
19. Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA 2008, *Mikrobiologi Kedokteran*. (H.Hartanto, C. Rachman, A.Dimanti, A. Diani Jakarta. EGC Ed 20th, pp.46-50
20. Campos FM, Couto JA and Hogg TA, 2003, Influence of phenolic acids on growth and in activation of *Oenococcus oeni* and *Lactobacillus hilgardii*, *J Appl Microbiol*, 94: 167–74, p.74
21. Taguri T, Tanaka T and Kouno I 2004, *Antimicrobial activity of 10 different plant polyphenols against bacteria causing food borne disease*, *Biol Pharm Bull*, Vol.27, pp.1965–9.
22. Nuhu, Abdulmumin. 2013. *Bioactive Micronutrient in Coffee : Recent Analytical Approaches for Characterization and Quantification*. Hindawi Publishing Corporation ISRN Nutrition vol. 2014 , article ID 384230. Nigeria, pp 1-13
23. Suhad, Al-Muhammadi S, Ekbal, Al-Khateeb, Ali, Al-Shamma 2004, *Antimicrobial investigation of Suaeda baccata (chenopodiaceae)*, *AJPS*, vol.2, no. 1, pp.49-51