

THE ABILITY OF ROBUSTA COFFEE BEANS (*Coffea canephora*) GEL IN REDUCING TRAP ON THE PERIODONTITIS RATS MODEL INDUCED BY COMBINATION OF LPS *P. gingivalis* AND NITI WIRE

Dessy Rachmawati¹, Sari Setyaningsih¹, Herniyati², Tanzilal Azizir Rahmah³

Correspondensi e-mail: tanzilalrahma@gmail.com

¹Departemen Biomedik, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember

²Departemen Ortodontia, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember

³Program Studi Pendidikan Dokter Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember

ABSTRACT

Periodontitis is an inflammatory disease of the tooth supporting tissues caused by pathogenic microorganisms in dental plaque. *P. gingivalis* as the main etiology of periodontitis has a virulence factor in the form of lipopolysaccharide (LPS). The use of NiTi wires in initial orthodontic treatment can exacerbate periodontitis. Robusta coffee beans contain active compounds such as chlorogenic acid, caffeic acid, ferulic acid and caffeine as anti-inflammatories and antioxidants. This study aims to analyze the ability of robusta coffee bean extract gel to reduce TRAP in a rat model of periodontitis induced by the combination of LPS *P. gingivalis* and NiTi wire. The 28 male wistar rats were classified into 7 groups of normal (K), injected with LPS (P1), NiTi wire (P2), combination of LPS and NiTi wire (P3), injected with LPS and 500 mg/ml robusta coffee bean gel (P4), NiTi wire and 500 mg/ml robusta coffee bean gel (P5), combination of LPS and NiTi wire with 500 mg/ml robusta coffee bean gel (P6). The rats were decapitated, and then the tissue was stained with HE and IHC. The expression of TRAP was counted in the area around alveolar bone of the lower-left M1. Data were analyzed using SPSS software by going through several test, such as Saphiro-Wilk, Levene-Test, Kruskal-Wallis, and followed by Mann-Whitney. The results of TRAP expression showed a significant decreased ($p < 0,05$) on combination of LPS and NiTi wire with robusta coffee bean extract gel. Robusta coffee bean extract gel was able to reduce TRAP expression on periodontitis model rats induced by the combination of LPS *P. gingivalis* and NiTi wire.

ARTICLE INFO

Keywords:

Periodontitis; TRAP; Wire NiTi; Robusta coffee bean

KEMAMPUAN GEL EKSTRAK BIJI KOPI ROBUSTA (*Coffea canephora*) DALAM MENURUNKAN TRAP PADA TIKUS MODEL PERIODONTITIS YANG DIINDUKSI KOMBINASI LPS *P. gingivalis* DAN WIRE NITI

ABSTRAK

Periodontitis merupakan penyakit inflamasi pada jaringan penyangga gigi. *P. gingivalis* sebagai etiologi utama dari periodontitis mempunyai faktor virulensi berupa lipopolisakarida (LPS). Penggunaan wire NiTi pada perawatan awal ortodontik dapat memperparah kondisi periodontitis. Biji kopi robusta mengandung senyawa aktif asam klorogenat, asam kafeat, asam ferulat, dan kafein sebagai antiinflamasi dan antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kemampuan gel ekstrak biji kopi robusta dalam menurunkan TRAP pada model tikus periodontitis yang diinduksi kombinasi LPS *P. gingivalis* dan wire NiTi. 28 tikus wistar jantan digolongkan dalam 7 kelompok terdiri dari tikus kontrol (K), tikus diinjeksi LPS (P1), tikus yang dipasang wire NiTi (P2), tikus kombinasi LPS dan wire NiTi (P3), tikus diinjeksi LPS dengan gel ekstrak biji kopi robusta 500 mg/ml (P4), tikus yang dipasang wire NiTi dengan gel ekstrak biji kopi robusta 500 mg/ml (P5), tikus kombinasi LPS dan wire NiTi dengan gel ekstrak biji kopi robusta 500 mg/ml (P6). Tikus didekaputasi, dan jaringan diwarnai dengan HE dan IHC. Penghitungan jumlah ekspresi TRAP di area tulang alveolar M1 kiri bawah. Data dianalisis dengan uji statistik

DOI:

[10.24252/kesehatan.v17i2.39781](https://doi.org/10.24252/kesehatan.v17i2.39781)

dengan Kruskal Wallis dilanjutkan dengan Mann-Whitney ($P < 0,05$). Hasil ekspresi TRAP pada kelompok yang diinduksi kombinasi LPS *P. gingivalis* dan wire NiTi mengalami penurunan yang signifikan ($p < 0,05$). Gel ekstrak biji kopi robusta mampu menurunkan jumlah ekspresi TRAP pada tulang alveolar tikus model periodontitis yang diinduksi kombinasi LPS *P. gingivalis* dan wire NiTi.

Kata kunci:

Periodontitis; TRAP; Wire NiTi; Biji Kopi Robusta

Pendahuluan

Periodontitis merupakan suatu penyakit inflamasi pada jaringan penyangga gigi yang disebabkan oleh mikroorganisme patogen spesies bakteri gram negatif yaitu *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) (Kwon et al., 2021). Hal tersebut dapat mengakibatkan kerusakan progresif ligamen periodontal dan tulang alveolar disertai dengan terbentuknya poket, resesi gingiva, maupun kehilangan perlekatan klinis (Lim G et al., 2020; Ren et al., 2023). *P. gingivalis* menghasilkan faktor virulensi berupa endotoksin yang dikenal dengan lipopolisakarida (LPS), endotoksin ini dapat dilepaskan pada saat bakteri mati dan dinding selnya mengalami lisis (Zhang et al., 2018). LPS *P. gingivalis* mampu mengikat reseptor makrofag yaitu TLR-4 sehingga menghasilkan sitokin proinflamasi seperti interleukin-1 (IL-1), IL-6, IL-8, *tumor necrosis factor- α* (TNF- α) dan Prostaglandin E₂ (PGE₂) yang memicu terjadinya inflamasi dan mengganggu proses remodeling tulang (How et al., 2016).

Paparan biomaterial di dalam rongga mulut seperti *wire* NiTi dapat memperparah kondisi periodontitis. *Wire* NiTi seringkali digunakan dalam tahap awal perawatan ortodontik karena memiliki sifat superelastis dan gaya rendah yang konstan pada berbagai macam aktivasi (Habar & Tatengkeng, 2020). Namun, Sulitnya menjaga kebersihan gigi dan mulut yang mempermudah melekatnya plak dan meningkatnya retensi bakteri plak pada alat ortodontik cekat (Sim et al., 2017). Ketika berada di lingkungan rongga mulut, *wire* NiTi akan selalu berkontak dengan saliva dan jaringan rongga mulut di sekitarnya. Interaksi antara *alloy* dengan saliva berpotensi mengalami pelepasan elemen ion logam penyusun *alloy* (Lubis & Purba, 2021). Pelepasan ion nikel secara khusus dapat mengaktifkan respon imun melalui reseptor TLR (*Toll-Like Receptor*)-4. Pengaktifan reseptor TLR-4 juga dapat mengenali adanya endotoksin LPS *P. gingivalis* (Sirvastava et al., 2022). Reseptor TLR-4 yang teraktivasi akan memicu pelepasan sitokin proinflamasi seperti IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α , dan PGE₂ (Ciesielska et al., 2021).

Adanya produksi sitokin proinflamasi yang dihasilkan dari paparan LPS *P. gingivalis* dan pelepasan ion nikel menyebabkan osteoblas mengsekresi protein *Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa-B Ligand* (RANKL) dan menurunkan produksi osteoprotegerin (OPG). Oleh karena itu, RANKL akan mudah berikatan dengan *Receptor Activator of Nuclear Factor* (RANK) yang dapat menstimulus pembentukan osteoklas dan menurunkan jumlah osteoblas (Epsley et al., 2021). Osteoklas merupakan sel multinukleat *giant cells* yang berasal dari *hematopoietic stem cells* (HSCs) (Usui et al., 2021). Osteoklas dan osteoblas mengatur keseimbangan secara dinamis dalam proses remodeling tulang. Apabila terjadi ketidakseimbangan dalam proses remodeling tulang maka hal ini dapat dipengaruhi oleh aktivitas sel osteoklas yang lebih banyak daripada sel osteoblas sehingga terjadi proses resorpsi tulang (Swastini et al., 2019).

TRAP merupakan enzim yang dihasilkan oleh osteoklas sebagai produk degradasi matriks tulang. TRAP akan mengalami peningkatan apabila terdapat aktivasi dan diferensiasi dari osteoklas yang diinduksi dari proses inflamasi. Oleh karena itu, peningkatan kadar TRAP dapat dikaitkan dengan adanya peningkatan aktivitas osteoklas yang ditandai dengan destruksi aktif pada jaringan periodontal penderita periodontitis (Baddam et al., 2021).

Salah satu terapi periodontitis adalah *scaling* dan *root planing*, yang hingga saat ini menjadi *gold standard* secara mekanis (Susanto et al., 2023). Keberhasilan terapi tersebut

perlu ditunjang dengan menggunakan terapi lain yaitu pemberian obat-obatan golongan antibiotik dan antiinflamasi non-steroid (AINS) (Ramanauskaite & Machiulskiene, 2020). Akan tetapi, penggunaan antibiotik dan antiinflamasi dalam jangka waktu yang panjang dapat menyebabkan resistensi bakteri, hipersensitivitas, gangguan fungsi ginjal, hipertensi, edema, dan perdarahan di gastrointestinal (Mendes et al., 2020; Lovell & Ernst, 2017).

Berdasarkan pertimbangan tersebut, pengobatan periodontitis dengan menggunakan bahan-bahan alami menjadi salah satu pengobatan yang dapat digunakan untuk meningkatkan kesehatan jaringan periodontal. Obat berbahan dasar alami dapat meminimalkan efek samping dari penggunaan obat dengan bahan kimia pada terapi periodontitis. Oleh karena itu, dikembangkan gel ekstrak biji kopi robusta sebagai alternatif lain yang memiliki kemampuan antiinflamasi dan antioksidan. Senyawa aktif yang terdapat pada biji kopi robusta seperti asam klorogenat, asam kafeat, asam ferulat, serta kafein berpotensi menurunkan derajat inflamasi dan diduga mampu menurunkan ekspresi TRAP sehingga mencegah terjadinya destruksi tulang (Baddam et al., 2021; Doss et al., 2018; Bagdas et al., 2020).

Metode Penelitian

Jenis penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan *the post-test only control group design* serta mendapatkan izin dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KPEK) Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember No. 1836/UN25.8/KEPK/DL/2023. Penelitian dilakukan mulai dari bulan November 2022-April 2023 di Laboratorium *Bioscience* RSGM Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Laboratorium Farmasetik Fakultas Farmasi Universitas Jember, Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, dan *Dental Research Center* Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga. Sampel penelitian merupakan tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*) yang berusia 2-3 bulan dengan berat badan 180-200 gram sebanyak 28 ekor tikus.

Pembuatan model tikus periodontitis dengan diinduksi menggunakan LPS *P. gingivalis* pada sulkus gingiva gigi molar pertama (M1) kiri bawah sebanyak 0,05 ml setiap 3 hari sekali selama 14 hari. Periodontitis pada tikus dapat dilihat menggunakan beberapa pemeriksaan, seperti pemeriksaan klinis dan radiografi. Secara klinis, terdapat warna kemerahan di area gingiva, pembengkakan margin gingiva, dan perdarahan spontan. Secara radiografi, tampak adanya resorpsi tulang alveolar (Gambar 1a).

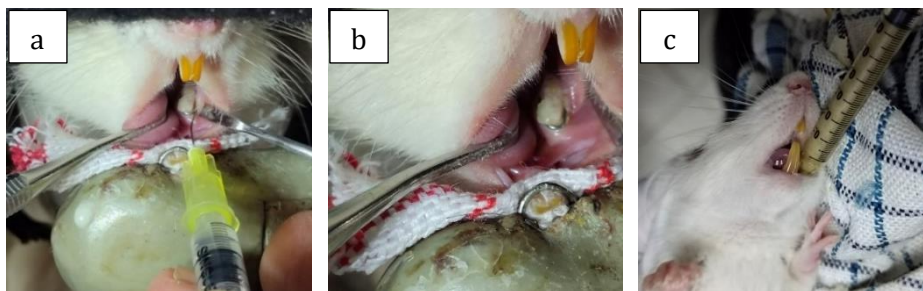
Pemasangan *wire* NiTi dilakukan dengan tikus dianestesi terlebih dahulu menggunakan ketamin dan *xylazine* untuk menghilangkan rasa sakit pada tikus. Kemudian *wire* NiTi dibentuk seperti huruf C dengan menggunakan tang adam, tang koil, dan tang potong. Agar tidak melukai mukosa, kedua ujung *wire* diamplas menggunakan amplas halus. *Wire* dipasang menggunakan *artery clamp* pada gigi molar dan alat retraksi lidah membantu supaya tidak terhalang. *Wire* dipasang dalam keadaan tidak menyentuh gingiva dan ujung kawat ditutup dengan komposit (Gambar 1b).

Pemberian terapi menggunakan gel ekstrak biji kopi robusta yang diaplikasikan pada poket periodontal gigi M1 kiri bawah sebanyak 0,05 ml menggunakan *tuberculine syringe* ukuran 30 *gauge* dengan konsentrasi 500 mg/ml pada poket periodontal M1 kiri bawah selama 14 hari (Gambar 1c).

Setelah diberi perlakuan pada tiap kelompok, tikus didekaputasi, untuk diambil tulang mandibulanya dan difiksasi menggunakan *buffer neutral formaline* (BNF) 10% selama 24 jam agar jaringan yang diamati tidak mengalami kerusakan dan mempertahankan morfologi sel. Kemudian didekalsifikasi dengan EDTA. Selanjutnya dilakukan *processing* jaringan, memotong jaringan menggunakan mikrotom dengan ketebalan 4-6 μ m. Hasil sayatan

diletakkan ke *waterbath* dengan suhu 37-40°C dan dipindahkan ke *object glass*. Pewarnaan jaringan dilakukan dengan metode *Mayer's Hematoxylin-Eosin*. Dilanjutkan, dengan pewarnaan dengan metode immunohistokimia *monoclonal antibody* (MoAb) anti-TRAP. Pengamatan jaringan dilakukan oleh 3 orang pengamat dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 40x, 100x, dan 400x kemudian diambil gambarnya sesuai letak yang diteliti. TRAP akan terlihat pada sel osteoklas yang memendarkan warna kecoklatan pada permukaan tulang alveolar.

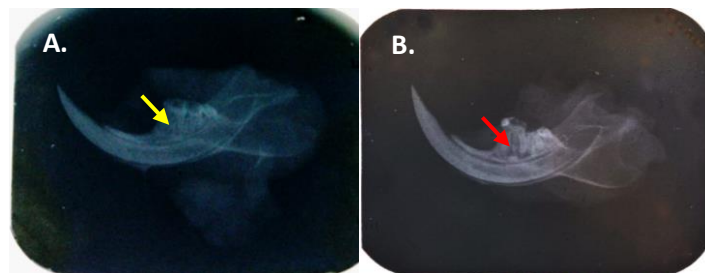
Data hasil pengamatan yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan *Statistical Product and Service Solutions* (SPSS) seri 26.0. Analisis data dimulai dengan melakukan uji normalitas *Saphiro-Wilk* dan uji homogenitas *Levene*. Kemudian, dianalisis dengan uji non parametrik *Kruskal-Wallis* yang diikuti dengan uji *Mann-Whitney* untuk menentukan kelompok mana yang memiliki perbedaan secara signifikan ($p < 0,05$).



Gambar 1. (a) Injeksi LPS *P. gingivalis*, (b) Pemasangan wire NiTi, dan (c) Terapi gel ekstrak biji kopi robusta.

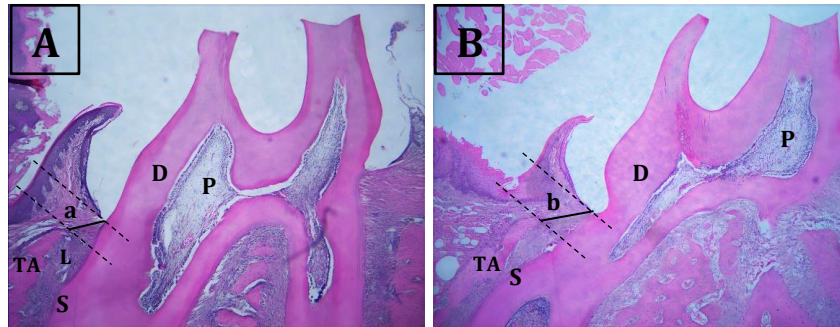
Hasil Penelitian

Gambaran radiografi tikus periodontitis diamati dengan membandingkan dua kelompok yaitu pada kelompok perlakuan yang diinduksi LPS *P. gingivalis* selama 14 hari (P1) dan kelompok kontrol tanpa diberi perlakuan (K). Gambaran radiografi resorpsi tulang alveolar diinterpretasikan sebagai warna gelap atau radiolusen (Gambar B). Sedangkan pada kelompok tikus kontrol terlihat lebih radiopak yang menandakan tidak terjadi resorpsi tulang (Gambar A) (Gambar 2.).



Gambar 2. Gambaran radiografi rahang bawah kiri tikus (A: Tikus normal; B: Tikus Periodontitis). Tanda panah merah menunjukkan area radiolusen yang terdapat resorpsi tulang alveolar, sedangkan tanda panah kuning menunjukkan struktur tulang alveolar yang normal.

Pengamatan gambaran histologi pada tikus periodontitis dilakukan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 40x dengan arah potong mesio-distal, kemudian membandingkan gambaran histologi kelompok perlakuan yang diinduksi LPS *P. gingivalis* (P1) dan kelompok kontrol (K) tanpa diberi perlakuan. Hasil penelitian pada tikus periodontitis menunjukkan bahwa terdapat migrasi *junctional epithelium* ke arah apikal dan terlihat adanya resorpsi tulang (Gambar 3.).



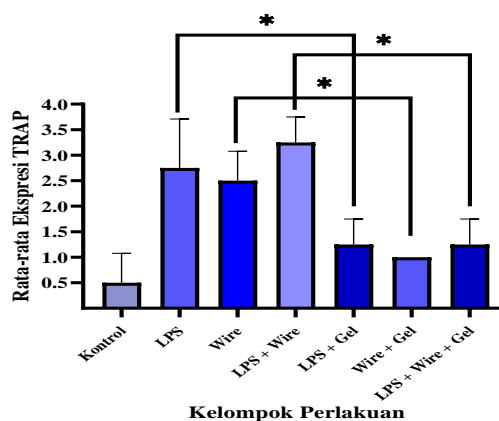
Gambar 3. Gambaran histologi dengan potongan arah mesio-distal gigi molar pertama (M1) tikus dengan pewarnaan Hematoksin & Eosin perbesaran 40x (A: Tikus normal tanpa terapi; B: Tikus Periodontitis). (D: Dentin; S: Sementum; LP: Ligamen periodontal; TA: Tulang alveolar; P: Pulpa; a: Jarak antara dasar sulkus ke puncak tulang alveolar; b: Jarak antara poket periodontal ke puncak tulang alveolar).

Jumlah rata-rata ekspresi TRAP pada sel osteoklas mengalami penurunan pada semua kelompok perlakuan yang diberi terapi menggunakan gel ekstrak biji kopi robusta, yaitu pada kelompok yang diberikan paparan LPS (P4), pemasangan *wire* NiTi (P5), dan kombinasi LPS dan pemasangan *wire* NiTi yang diberi gel ekstrak biji kopi robusta (P6). Sedangkan pada kelompok tanpa diberi terapi gel ekstrak biji kopi robusta mengalami peningkatan jumlah ekspresi TRAP, yaitu pada kelompok LPS (P1), kelompok perlakuan pemasangan *wire* NiTi (P2) dan kelompok induksi kombinasi LPS dan pemasangan *wire* (P3) (Tabel 1.).

Tabel 1. Rata-rata jumlah ekspresi TRAP

Kelompok	N	$\bar{X} \pm SD$
Kontrol (K)	4	0,5 ± 0,57
LPS <i>P. gingivalis</i> (P1)	4	2,75 ± 0,95
<i>Wire</i> NiTi (P2)	4	2,50 ± 0,57
LPS <i>P. gingivalis</i> dan <i>wire</i> NiTi (P3)	4	3,25 ± 0,50
LPS <i>P. gingivalis</i> dan gel Kopi (P4)	4	1,25 ± 0,50
<i>Wire</i> NiTi dan gel kopi (P5)	4	1,00 ± 0,00
LPS <i>P. gingivalis</i> , <i>wire</i> NiTi dan gel kopi (P6)	4	1,25 ± 0,50

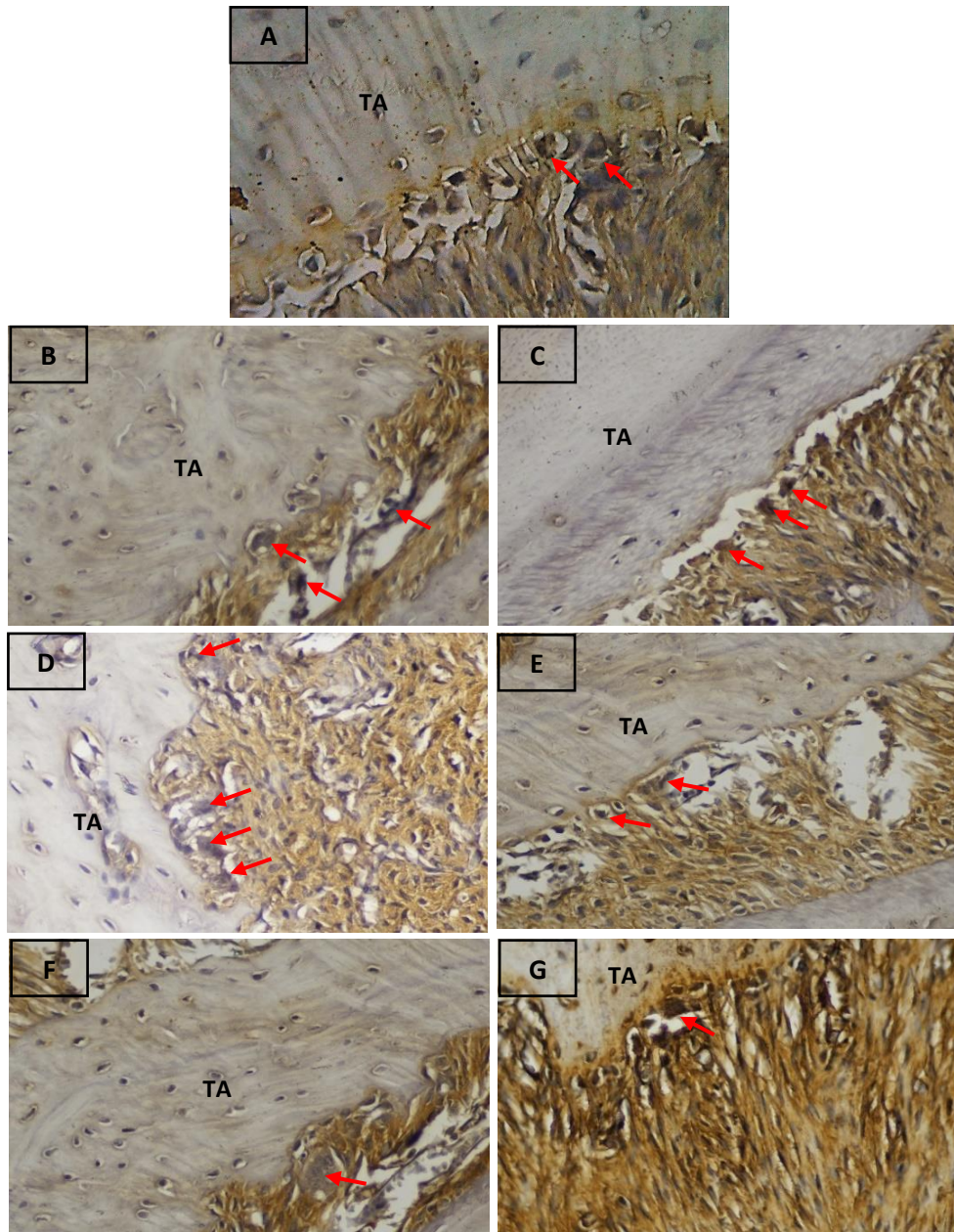
Berdasarkan hasil penghitungan rata-rata jumlah ekspresi TRAP tersebut diperoleh grafik rata-rata jumlah TRAP pada masing-masing kelompok yang tertera pada Gambar 4.



Gambar 4. Grafik rata-rata ekspresi TRAP pada sel osteoklas sebelum dan setelah terapi gel ekstrak biji kopi robusta.

Gambaran Immunohistokimia ekspresi TRAP menunjukkan bahwa pada tikus yang tidak diterapi dengan gel ekstrak biji kopi robusta (B, C, D) mengekspresikan jumlah TRAP

relatif lebih banyak dibandingkan dengan kelompok lainnya. Tikus dengan terapi gel ekstrak biji kopi robusta (E, F, G) terlihat jelas adanya jumlah ekspresi TRAP mengalami penurunan. Dengan demikian, pada kelompok tikus yang diinduksi kombinasi LPS *P. gingivalis* dan pemasangan *wire* NiTi dengan terapi gel ekstrak biji kopi robusta (Gambar G) menunjukkan adanya penurunan jumlah ekspresi TRAP yang ditunjukkan dengan berkurangnya jumlah sel osteoklas yang memendarkan warna kecoklatan pada daerah tepi permukaan tulang alveolar (Gambar 5.).



Gambar 5. Gambaran histologi potongan dengan arah mesio-distal gigi M1 tikus dengan pewarnaan imunohistokimia dengan perbesaran 400x. (A: Normal sebagai Kontrol (K); B: Induksi LPS *P. gingivalis* (P1); C: Pemasangan *wire* NiTi (P2); D: Induksi LPS *P. gingivalis* dan pemasangan *wire* NiTi (P3); E: LPS *P. gingivalis* dan terapi (P4); F: Pemasangan *wire* NiTi dan terapi (P5); G: LPS *P. gingivalis* dengan pemasangan *wire* NiTi dan terapi (P6)). (TA: Tulang alveolar). Tanda panah merah menunjukkan sel osteoklas yang mengekspresikan TRAP.

Berdasarkan hasil uji *Mann-Whitney* terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) pada ekspresi TRAP antara kelompok kontrol (K) dengan semua kelompok perlakuan kecuali pada kelompok LPS *P. gingivalis* dengan terapi gel ekstrak biji kopi robusta (P4), kelompok

pemasangan *wire* NiTi dengan terapi gel ekstrak biji kopi robusta (P5), dan kelompok yang diinduksi kombinasi LPS *P. gingivalis* dan *wire* NiTi dengan terapi gel ekstrak biji kopi robusta (P6). Ekspresi TRAP pada kelompok LPS *P. gingivalis* (P1) berbeda secara signifikan dengan kelompok LPS *P. gingivalis* yang diberi gel ekstrak biji kopi robusta (P4). Begitu pula pada kelompok *wire* NiTi (P2) dan kelompok kombinasi LPS *P. gingivalis* dengan *wire* NiTi (P3) menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan dengan kelompok *wire* NiTi dengan terapi gel ekstrak biji kopi robusta (P5) dan kelompok kombinasi LPS *P. gingivalis* dengan *wire* NiTi yang diberi terapi gel ekstrak biji kopi robusta (P6) (Tabel 2.).

Tabel 2. Hasil uji Mann-Whitney ekspresi TRAP

Kelompok	K	P1	P2	P3	P4	P5	P6
K	-						
P1	0,19*	-					
P2	0,18*	0,752	-				
P3	0,17*	0,35	0,096	-			
P4	0,096	0,034*	0,032*	0,015*	-		
P5	0,127	0,013*	0,013*	0,011*	0,317	-	
P6	0,096	0,034*	0,032*	0,015*	1	0,317	-

All p values * < 0.05 (significant difference).

Diskusi

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian gel ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*) terhadap jumlah ekspresi TRAP terutama pada model tikus periodontitis setelah dipapar kombinasi LPS *P. gingivalis* dan *wire* NiTi. Periodontitis merupakan penyakit inflamasi kronis pada jaringan pendukung gigi yang disebabkan oleh mikroorganisme patogen di dalam rongga mulut. Periodontitis dikarakteristikan dengan kerusakan progresif ligamen periodontal, resorpsi tulang alveolar, dan kehilangan perlekatan (Kwon et al., 2021).

Berdasarkan hasil penelitian menggunakan pewarnaan imunohistokimia dapat dilihat pada Tabel 1. bahwa pada kelompok tikus kontrol menunjukkan rerata jumlah ekspresi TRAP lebih rendah dibandingkan dengan kelompok yang lain. Kelompok tikus kontrol (K) merupakan kondisi tikus dalam keadaan normal (periodontal sehat), yang tidak ditemukan adanya inflamasi pada jaringan periodontal tikus. Oleh karena itu, pada kelompok kontrol (K) jumlah ekspresi TRAP relatif lebih rendah dibandingkan dengan kelompok tanpa perlakuan (P1, P2, P3) dan kelompok perlakuan dengan terapi gel ekstrak biji kopi robusta (P4, P5, P6).

Rerata jumlah ekspresi TRAP pada kelompok tikus yang diinduksi LPS *P. gingivalis* (P1), kelompok tikus dengan *wire* NiTi (P2), dan kelompok tikus kombinasi LPS *P. gingivalis* dengan *wire* NiTi (P3), lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok tikus dalam keadaan normal (K). Peningkatan ekspresi TRAP terjadi dikarenakan adanya proses inflamasi akibat periodontitis di dalam rongga mulut tikus yang mengarah pada resorpsi tulang alveolar. Hal ini sejalan dengan penelitian Salinas-Munoz et al., 2017 menyebutkan bahwa peningkatan ekspresi TRAP berkaitan dengan peningkatan aktivitas osteoklas dan perkembangan penyakit destruksi tulang.

Pada kelompok tikus yang diinduksi kombinasi LPS *P. gingivalis* dan *wire* NiTi (P3) menunjukkan jumlah ekspresi TRAP yang lebih tinggi dibandingkan dengan semua kelompok perlakuan. Begitu pula dengan hasil uji *Mann-Whitney* menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$). Hal ini dipengaruhi oleh induksi LPS *P. gingivalis* yang diperparah dengan keberadaan *alloy* di dalam rongga mulut. Saliva mengandung komponen ion organik dan anorganik seperti natrium, kalium, klorida, dan bikarbonat. Salah satu komponen utama

ion anorganik saliva yaitu ion klorida, yang termasuk dari golongan asam kuat. Ion klorida inilah yang mampu merusak lapisan pelindung dari permukaan logam sehingga terjadi pelepasan ion logam nikel (Febriani & Rachmawati, 2021). Pada kondisi rongga mulut yang lebih asam, pelepasan ion logam nikel di lingkungan rongga mulut akan semakin meningkat. Hal tersebut menyebabkan terakumulasinya ion nikel di jaringan sekitar, terutama di daerah gingiva sehingga memicu terjadinya inflamasi (Däguci, et al., 2020).

Reaksi inflamasi dimulai dengan ion nikel berikatan dengan reseptor TLR-4. Ion nikel akan menginduksi dimerisasi TLR-4 yang mengarah ke interaksi dengan ko-reseptornya yaitu MD-2. Proses ini dapat mengaktifkan jalur persinyalan faktor transkripsi NF- κ B, yang meningkatkan produksi sitokin proinflamasi seperti IL-8 dan TNF- α (Peana et al., 2017; Oblak et al., 2015). Hal ini didukung dengan penelitian Rachmawati et al., (2017) menyebutkan bahwa secara *in vitro* paparan *alloy* setelah perendaman dengan penambahan LPS *P. gingivalis*, menghasilkan stimulasi imun bawaan yang lebih kuat dibandingkan dengan paparan tanpa endotoksin bakteri.

TRAP merupakan enzim yang dilepaskan bersamaan dengan produk degradasi matriks tulang lain oleh osteoklas (Salinas-Munoz et al., 2017). Aktivasinya dimulai pada saat bakteri *P. gingivalis* yang mengeluarkan endotoksin berupa LPS. Endotoksin yang dilepaskan akan berikatan dengan reseptor TLR-4. Sama halnya dengan *wire* NiTi, dapat melepaskan ion nikel yang akan berikatan dengan reseptor TLR-4 (Srivastava et al., 2022). Reseptor inilah yang akan mengaktifkan makrofag dan membentuk sitokin proinflamasi seperti IL-1, IL-6, IL-8, dan TNF- α . Sitokin proinflamasi akan meningkatkan regulasi RANKL di osteoblas (Omi & Mishina, 2020). Sebagai proses awal destruksi tulang, RANKL akan berikatan dengan RANK. Ikatan ini menginduksi serangkaian jalur transduksi sinyal yang dimediasi melalui TRAF6 (Mira-Pascual, 2019). Setelah memicu persinyalan dengan TRAF6, kemudian melibatkan pengaktifan MAPK, dan faktor transkripsi NF- κ B. MAPK memiliki tiga jalur dalam proses transduksi berupa p38, ERK, JNK (Yu et al., 2022). Sedangkan jalur aktivasi faktor transkripsi NF- κ B menghasilkan induksi dari ekspresi c-Fos. Kedua faktor tersebut berperan sebagai komponen penting untuk menghasilkan faktor transkripsi AP-1. AP-1 merupakan heterodimer dengan aktivasi transkripsi yang terbentuk dari interaksi antara c-Fos dan c-Jun. Faktor transkripsi AP-1 inilah yang dapat menginduksi aktivasi NFATc1 sebagai kunci utama faktor transkripsi dalam osteoklastogenesis. Translokasi nukleus dan aktivasi berikutnya mengarah pada regulasi langsung dari beberapa gen spesifik osteoklas seperti TRAP (Epsley et al., 2021). Dengan demikian, resorpsi tulang akan meningkat melalui upregulasi TRAP (Kim et al., 2018).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata jumlah ekspresi TRAP mengalami penurunan pada kelompok tikus yang diberi terapi gel ekstrak biji kopi robusta (P4, P5, dan P6) dibandingkan dengan kelompok tanpa terapi gel ekstrak biji kopi robusta (P1, P2, P3). Hasil uji *Mann-Whitney* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) terhadap jumlah ekspresi TRAP antara tikus tanpa terapi (P1, P2, P3) dan tikus yang diberi terapi gel ekstrak biji kopi robusta (P4, P5, P6). Penurunan paling signifikan terjadi antara kelompok tikus yang diinduksi kombinasi LPS *P. gingivalis* dan pemasangan *wire* NiTi (P3) dengan kelompok tikus yang diinduksi kombinasi LPS *P. gingivalis* dan pemasangan *wire* NiTi dengan terapi gel ekstrak biji kopi robusta (P6). Temuan ini sejalan dengan penelitian Sandra et al., (2022) yang menyebutkan bahwa menurunnya pembentukan osteoklas disekitar tulang alveolar ditandai dengan berkurangnya ekspresi TRAP.

Penurunan ekspresi TRAP disebabkan karena senyawa aktif yang terkandung dalam biji kopi robusta terbukti mempunyai aktivitas antiinflamasi dan antioksidan sehingga dapat menghambat terjadinya proses inflamasi. Senyawa aktif tersebut berupa senyawa polifenol dengan jumlah yang cukup banyak di dalam biji kopi robusta seperti asam klorogenat, asam ferulat, asam kafeat, dan senyawa alkaloid berupa kafein (Bagdas et al., 2020; Lu et al., 2020). Asam klorogenat bekerja sebagai antiinflamasi dengan cara menghambat proses

osteoklastogenesis yang diinduksi oleh RANKL. Senyawa ini mampu menurunkan aktivasi jalur transkripsi NF- κ B dan MAPK, termasuk di dalamnya melalui penghambatan fosforilasi ERK, p38, dan JNK sehingga tidak terjadi translokasi nuklear NFATc1 yang mengarah pada penurunan ekspresi TRAP. Oleh karena itu, asam klorogenat dapat menjadi sebuah kandidat terapi yang berpotensi untuk mengobati penyakit dengan destruksi tulang akibat inflamasi (Bagdas et al., 2020; Kwak et al., 2013). Hal ini didukung dengan penelitian Nishida et al., (2023) pengaruh asam klorogenat terhadap periodontitis yang diinduksi ligatur, menyebutkan bahwa pemberian asam klorogenat selama dua minggu dapat menurunkan rasio kehilangan tulang alveolar.

Peningkatan ROS pada tahap awal terjadinya periodontitis dapat memengaruhi proses remodeling tulang dan merangsang diferensiasi osteoklas, sehingga terjadi peningkatan resorpsi tulang alveolar (Yu et al., 2022). Selama proses osteoklastogenesis yang diperantarai RANKL, telah dilaporkan bahwa *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) oxidase 1 (Nox1)* berperan utama dalam mengganggu homeostasis redoks seluler dengan menginduksi stress oksidatif melalui peningkatan ROS (Chen et al., 2016). Produksi berlebihan dari ROS menstimulasi apoptosis osteoblas dan osteosit, serta mengaktifkan beberapa jalur persinyalan NF- κ B dan MAPK termasuk ERK, JNK, dan p38 yang mengakibatkan peningkatan osteoklastogenesis sehingga terjadi resorpsi tulang (Cao et al., 2015; Ekeuku et al., 2021; Behl et al., 2022).

Senyawa aktif polifenol (asam klorogenat, asam ferulat, asam kafeat) dan kafein berperan sebagai antioksidan yang dapat menurunkan inflamasi dengan mengurangi produksi radikal bebas dan meningkatkan pertahanan antioksidan endogen (Nugraha et al., 2022; Iantomasi et al., 2022). Untuk mengurangi produksi ROS maka polifenol memblokir jalur Nox1 dan menekan jalur MAPK serta NF- κ B sehingga menghambat terjadinya pembentukan osteoklas (Cao et al., 2015; Doss et al., 2018; Ekeuku et al., 2021). Sebagai antioksidan kuat, polifenol dan kafein telah terbukti mengurangi radikal lipoperosil dan radikal hidroksil dengan menyumbangkan atom hidrogen ke hidroperoksida yang sesuai, sehingga menghentikan reaksi berantai berantai peroksidasi lipid dan melindungi dari kerusakan sel (Ekeuku et al., 2021; Hall et al., 2015). Hal ini diperkuat dengan penelitian Jeszka-Skowron *et al.*, (2016) bahwa komponen polifenol dan kafein dari ekstrak biji kopi hijau mampu mengurangi stress oksidatif dan ROS, serta mempertahankan sistem antioksidan.

Berdasarkan pembahasan diatas, pemberian gel ekstrak biji kopi robusta pada model tikus periodontitis yang diinduksi kombinasi LPS *P. gingivalis* dan *wire* NiTi sejalan dengan hipotesis penelitian ini. Dengan demikian, alternatif terapi periodontitis berbahan dasar alam seperti gel ekstrak biji kopi robusta dapat menjadi kandidat yang berpotensi sebagai antiinflamasi dan antioksidan untuk mengurangi terjadinya destruksi tulang.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa pemberian gel ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*) memiliki kemampuan untuk menurunkan TRAP pada tulang alveolar tikus model periodontitis yang diinduksi kombinasi LPS *P. gingivalis* dan *wire* NiTi.

Referensi

Baddam, H., Vivekanandan, G., Kondreddy, K., Peddi, S., Chitnis, P. P., Singh, Y. P., & Tiwar, R. (2021). Evaluation of Gingival Crevicular Fluid and Serum Tartrate-resistant Acid Phosphatase Levels in Subjects with Clinically Healthy Periodontium and Chronic Periodontitis-A Clinico-biochemical Study. *Journal of pharmacy & bioallied sciences*, 13(Suppl 2), S1275–S1279.

- Bagdas, D., Gul, Z., Meade, J. A., Cam, B., Cinkilic, N., & Gurun, M. S. 2020. Pharmacologic overview of chlorogenic acid and its metabolites in chronic pain and inflammation. *Current Neuropharmacology*, 18(3), 216-228.
- Cao, Y. J., Zhang, Y. M., Qi, J. P., Liu, R., Zhang, H., & He, L. C. 2015. Ferulic Acid Inhibits H₂O₂-Induced Oxidative Stress and Inflammation in Rat Vascular Smooth Muscle Cells Via Inhibition of the NADPH Oxidase and NF- κ B Pathway. *International immunopharmacology*, 28(2), 1018-1025.
- Chen, Y., Sun, J., Dou, C., Li, N., Kang, F., Wang, Y., & Dong, S. 2016. Alliin Attenuated RANKL-Induced Osteoclastogenesis by Scavenging Reactive Oxygen Species Through Inhibiting Nox1. *International journal of molecular sciences*, 17(9), 1516
- Ciesielska, A., Matyjek, M., & Kwiatkowska, K. 2021. TLR4 and CD14 Trafficking and Its Influence on LPS-induced Pro-Inflammatory Signaling. *Cellular and molecular life sciences*, 78, 1233-1261.
- Dăguci, L., Dăguci, C., Dumitrescu, C. I., Farcașiu, C., Tărlungeanu, D. I., Bătăiosu, M., & Andrei, O. C. 2020. Periodontal Clinico-Morphological Changes in Patients Wearing Old Nickel-Chromium and Copper Alloys Bridges. *Romanian Journal of Morphology and Embryology*, 61(2), 449.
- Doss, H. M., Samarpita, S., Ganesan, R., & Rasool, M. 2018. Ferulic acid, a Dietary Polyphenol Suppresses Osteoclast Differentiation and Bone Erosion Via the Inhibition of RANKL Dependent NF- κ B Signalling Pathway. *Life sciences*, 207, 284-295.
- Epsley, S., Tadros, S., Farid, A., Kargilis, D., Mehta, S., & Rajapakse, C. S. 2021. The Effect of Inflammation on Bone. *Frontiers in physiology*, 11, 1695.
- Ekeuku, S. O., Pang, K. L., & Chin, K. Y. 2021. Effects of Caffeic Acid and Its Derivatives on Bone: A Systematic Review. *Drug design, development and therapy*, 259-275.
- Febriani, M., & Rachmawati, E. 2021. Corrosion Inhibition Effect of Starfruit Leaf Extract (Averrhoa bilimbi L.) on Stainless Steel Orthodontic Wire. *Journal of Advanced Medical and Dental Sciences Research*, 9(3), 4-7.
- Habar, E. H., & Tatengkeng, F. 2020. The Difference of Corrosion Resistance Between NiTi Archwires and NiTi with Additional Cooper Archwires in Artificial Saliva. *Journal of Dentomaxillofacial Science*, 5(2), 120-3.
- Hall, S., Desbrow, B., Anoopkumar-Dukie, S., Davey, A. K., Arora, D., McDermott, C., & Grant, G. D. 2015. A Review of The Bioactivity of Coffee, Caffeine and Key Coffee Constituents on Inflammatory Responses Linked to Depression. *Food Research International*, 76, 626-636.
- How, K. Y., Song, K. P., & Chan, K. G. 2016. Porphyromonas gingivalis: an Overview of Periodontopathic Pathogen Below the Gum Line. *Frontiers in microbiology*, 7, 53.
- Iantomasi, T., Palmi, G., Romagnoli, C., Donati, S., Miglietta, F., Aurilia, C., & Brandi, M. L. 2022. Dietary Polyphenols and Osteoporosis: Molecular Mechanisms Involved. *Int J Bone Frag*, 2(3), 97-101.
- Jeszka-Skowron, M., Sentkowska, A., Pyrzyńska, K., & De Peña, M. P. 2016. Chlorogenic Acids, Caffeine Content and Antioxidant Properties of Green Coffee Extracts: Influence of Green Coffee Bean Preparation. *European Food Research and Technology*, 242, 1403-1409.
- Kim, H., Kim, C., Kook, K. E., Yanti, Choi, S., Kang, W., & Hwang, J. K. 2018. Inhibitory Effects of Standardized Boesenbergia Pandurata Extract and Its Active Compound Panduratin a on Lipopolysaccharide-Induced Periodontal Inflammation and Alveolar Bone Loss in Rats. *Journal of medicinal food*, 21(10), 961-970.
- Kwak, S. C., Lee, C., Kim, J. Y., Oh, H. M., So, H. S., Lee, M. S., & Oh, J. 2013. Chlorogenic Acid Inhibits Osteoclast Differentiation and Bone Resorption by Down-Regulation of Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa-B Ligand-Induced Nuclear Factor of Activated T Cells C1 Expression. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 36(11), 1779-1786.
- Kwon, T., Lamster, I. B., & Levin, L. 2021. Current concepts in the management of periodontitis. *International dental journal*, 71(6), 462-476.

- Lim, G., Janu, U., Chiou, L. L., Gandhi, K. K., Palomo, L., & John, V. 2020. Periodontal Health and Systemic Conditions. *Dentistry Journal*, 8(4), 130.
- Lu, H., Tian, Z., Cui, Y., Liu, Z., & Ma, X. 2020. Chlorogenic Acid: A Comprehensive Review of the Dietary Sources, Processing Effects, Bioavailability, Beneficial Properties, Mechanisms of Action, and Future Directions. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(6), 3130-3158
- Lubis, H. F., & Purba, Y. A. 2021. Release Of Nickel Ion and Surface Microstructure of Niti Archwire After Immersion in Tomato and Orange Juice. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 912, No. 1, p. 012017). IOP Publishing.
- Mendes, C. L., de Assis, P., Annibal, H., de Oliveira, L. J. R., de Albuquerque, M. S., de Lima Soares, M., & Braz, R. 2020. Metronidazole and Amoxicillin Association in Aggressive Periodontitis: A systematic review and meta-analysis. *The Saudi Dental Journal*, 32(6), 269-275.
- Mira-Pascual, L. 2019. *Role of Tartrate-Resistant Acid Phosphatase in Bone Remodeling* (Doctoral dissertation, Karolinska Institutet (Sweden)).
- Nishida, Y., Shimada, K., Horibe, K., Seki, K., Murai, Y., Sogawa, C., & Sogawa, N. 2023. Preventive Effects of Chlorogenic Acid on Alveolar Bone Loss in Ligature-Induced Periodontitis in Mice. *Applied Sciences*, 13(7), 4129.
- Nugraha, A. P., Ardani, I. G. A. W., Sitalaksmi, R. M., Ramadhani, N. F., Rachmayanti, D., Kumala, D., & Luthfi, M. 2022. Anti-Peri-implantitis Bacteria's Ability of Robusta Green Coffee Bean (Coffea Canephora) Ethanol Extract: An in Silico and in Vitro Study. *European Journal of Dentistry*.
- Oblak, A., Pohar, J., & Jerala, R. 2015. MD-2 Determinants of Nickel and Cobalt-Mediated Activation of Human TLR4. *PloS one*, 10(3), e0120583.
- Omi, M., & Mishina, Y. 2020. Role of Osteoclasts in Oral Homeostasis and Jawbone Diseases. *Oral science international*, 18(1), 14-27.
- Peana, M., Zdyb, K., Medici, S., Pelucelli, A., Simula, G., Gumienna-Kontecka, E., & Zoroddu, M. A. 2017. Ni (II) Interaction with a Peptide Model of The Human TLR4 Ectodomain. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 44, 151-160.
- Rachmawati, D., von Blomberg, B. M. E., Kleverlaan, C. J., Scheper, R. J., & van Hoogstraten, I. M. 2017. Immunostimulatory Capacity of Dental Casting Alloys on Endotoxin Responsiveness. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 117(5), 677-684.
- Ramanauskaitė, E., & Machiulskienė, V. 2020. Antiseptics as Adjuncts to Scaling and Root Planing in The Treatment of Periodontitis: A Systematic Literature Review. *BMC Oral Health*, 20(1), 1-19.
- Ren, J., Fok, M. R., Zhang, Y., Han, B., & Lin, Y. 2023. The Role of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs as Adjuncts to Periodontal Treatment and in Periodontal Regeneration. *Journal of Translational Medicine*, 21(1), 149.
- Salinas-Muñoz, M., Garrido-Flores, M., Baeza, M., Huamán-Chipana, P., García-Sesnich, J., Bologna, R., & Hernández, M. 2017. Bone Resorptive Activity in Symptomatic and Asymptomatic Apical Lesions of Endodontic Origin. *Clinical oral investigations*, 21, 2613-2618.
- Sandra, F., Rizal, M. I., Dewi, N. M., & Kukita, T. 2022. Caffeic Acid Inhibits Swelling, Bone Loss, and Osteoclastogenesis in Adjuvant-induced Arthritis Rats. *The Indonesian Biomedical Journal*, 14(3), 276-81.
- Sim, H. Y., Kim, H. S., Jung, D. U., Lee, H., Lee, J. W., Han, K., & Yun, K. I. 2017. Association Between Orthodontic Treatment and Periodontal Diseases: Results from a National Survey. *The Angle Orthodontist*, 87(5), 651-657.
- Srivastava, A. K., Snapper, D. M., Zheng, J., Yildirim, B. S., Srivastava, S., & Wood, S. C. 2022. Examining The Role of Nickel and Niti Nanoparticles Promoting Inflammation and Angiogenesis. *Journal of Immunotoxicology*, 19(1), 61-73.
- Susanto, A., Rusminah, N., & Pertiwi, Y. P. 2023. Subgingival Chlorhexidine Irrigation for Scaling and Root Planing Adjunctive Therapy in Chronic Periodontitis: a systematic review. *Medical Journal of Indonesia*.

The Ability of Robusta Coffee Beans (coffea canephora) Gel in Reducing Trap on the Periodontitis Rats Model Induced by Combination of Ips p. gingivalis and Niti Wire

- Swastini, I. G. A. A. P., Mahadewa, T. G. B., & Widyadharna, I. P. E. 2019. Alveolar Bone Osteoclast Profile in The Periodontitis Wistar Rats Model with The Snail Slime (*Achatina fulica*) application. *Open access Macedonian journal of medical sciences*, 7(10), 1680.
- Usui, M., Onizuka, S., Sato, T., Kokabu, S., Ariyoshi, W., & Nakashima, K. 2021. Mechanism of Alveolar Bone Destruction in Periodontitis. *Periodontal Bacteria and Inflammation. Japanese Dental Science Review*, 57, 201-208.
- Yu, Y., Zhao, S., Gu, D., Zhu, B., Liu, H., Wu, W., & Miao, L. 2022. Cerium Oxide Nanozyme Attenuates Periodontal Bone Destruction by Inhibiting The ROS-NFκB Pathway. *Nanoscale*, 14(7), 2628-2637.
- Zhang, J., Yu, C., Zhang, X., Chen, H., Dong, J., Lu, W., & Zhou, W. (2018). Porphyromonas gingivalis Lipopolysaccharide Induces Cognitive Dysfunction, Mediated by Neuronal Inflammation Via Activation of The TLR4 Signaling Pathway in C57BL/6 mice. *Journal of neuroinflammation*, 15(1), 1-14.