



**SEDUHAN KOPI ROBUSTA *SPRAY DRYING* MENINGKATKAN
VIABILITAS MONOSIT YANG DIPAPAR *Streptococcus*
mutans SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh

Fiftiani Syarah

NIM 151610101123

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS JEMBER

2019



**SEDUHAN KOPI ROBUSTA *SPRAY DRYING* MENINGKATKAN
VIABILITAS MONOSIT YANG DIPAPAR *Streptococcus*
mutans SECARA *IN VITRO***

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

Fiftiani Syarah

NIM 151610101123

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS JEMBER

2019

PERSEMBAHAN

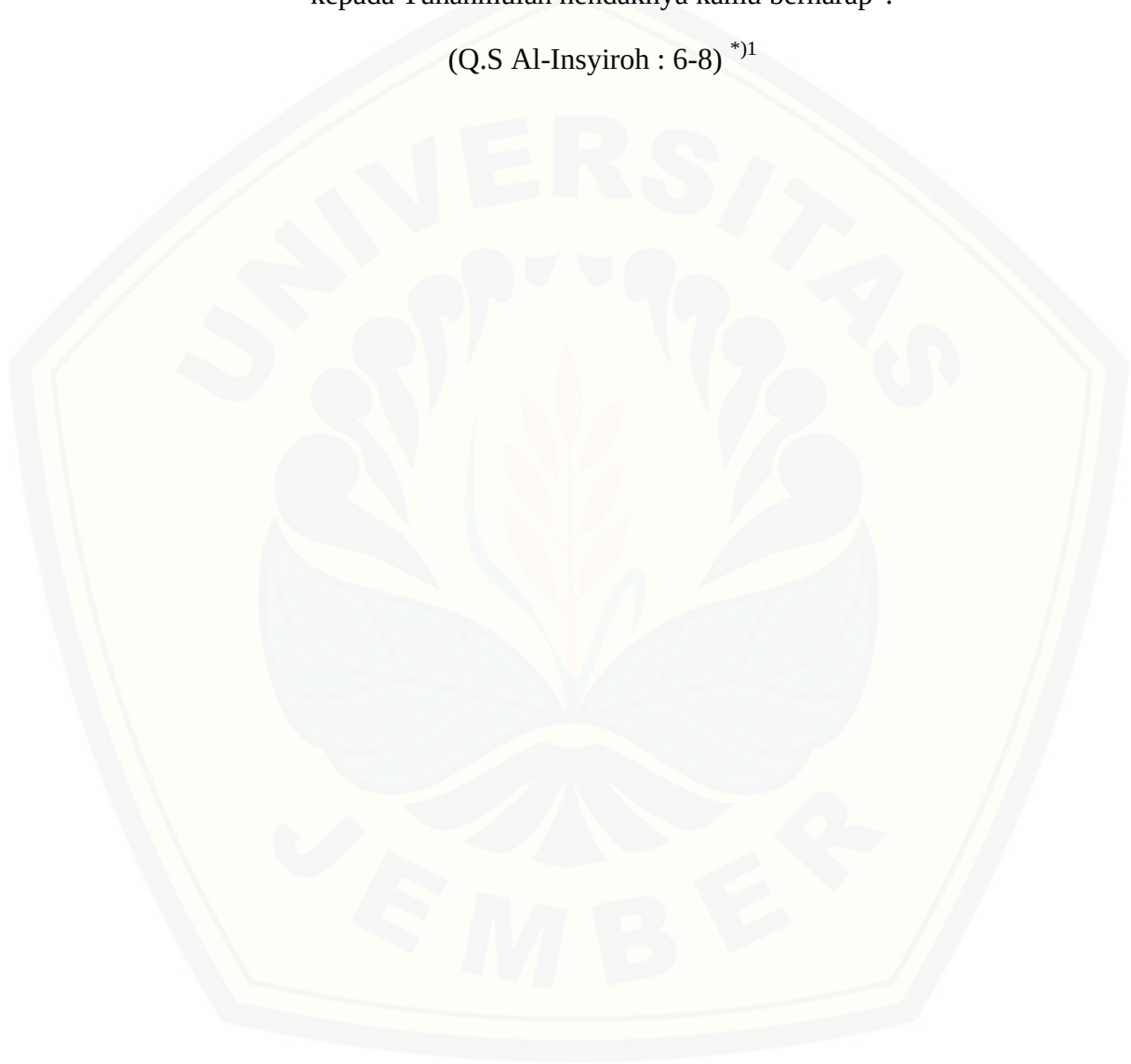
Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT, karena atas izin dan kehendak-Nya saya dapat menyelesaikan tugas akhir ini dengan lancar;
2. Orangtua tercinta, mama Indahyani dan ayah Ahmadi, karena segala dukungan, kesabaran dan doa yang tiada hentinya;
3. Dosen pembimbing saya Dr. drg I Dewa Ayu Susilawati, M.Kes dan drg. Nadie Fatimatuzzahro, MD.Sc yang telah dengan sabar membimbing dan mengarahkan sehingga tugas akhir ini dapat selesai dengan baik;
4. Guru-guruku sejak taman kanak-kanak sampai dengan perguruan tinggi;
5. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

MOTTO

“Sesungguhnya dibalik kesulitan ada kemudahan. Maka apabila engkau telah selesai dari suatu urusan, tetaplah bekerja keras untuk urusan yang lain, dan hanya kepada Tuhanmulah hendaknya kamu berharap”.

(Q.S Al-Insyiroh : 6-8) *)¹



*) Departemen Agama Republik Indonesia. 2013. *Al-Quran dan Terjemahannya*. Solo: PT Tiga Serangkai Pustaka Mandiri

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Fiftiani Syarah

NIM : 151610101123

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi saya yang berjudul “Seduhan Kopi Robusta *Spray Drying* Meningkatkan Viabilitas Monosit yang Dipapar *Streptococcus Mutans* secara *In Vitro*” 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, 30 April 2019

Yang menyatakan,

Fiftiani Syarah

NIM 151610101123

SKRIPSI

**SEDUHAN KOPI ROBUSTA *SPRAY DRYING* MENINGKATKAN
VIABILITAS MONOSIT YANG DIPAPAR *Streptococcus*
mutans SECARA *IN VITRO***

Oleh

Fiftiani Syarah

NIM 151610101123

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Dr. drg. I Dewa Ayu Susilawati, M.Kes

Dosen Pembimbing Pendamping : drg. Nadie Fatimatuzzahro, MD.Sc

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Seduhan Kopi Robusta *Spray Drying* Meningkatkan Viabilitas Monosit yang Dipapar *Streptococcus Mutans* secara *In Vitro*” karya Fiftiani Syarah telah diuji dan disahkan pada:

hari,tanggal : Selasa, 30 April 2019

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Dosen Penguji Utama

Dosen Penguji Anggota

Dr. drg. Purwanto, M.Kes
NIP. 195710241986031002

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

Dosen Pembimbing Utama

Dosen Pembimbing Pendamping

Dr. drg. I Dewa Ayu Susilawati, M.Kes
NIP. 196109031986022001

drg. Nadie Fatimatuzzahro, MD.Sc
NIP. 198204242008012022

Mengesahkan

Dekan,

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

RINGKASAN

Seduhan Kopi Robusta *Spray Drying* Meningkatkan Viabilitas Monosit yang Dipapar *Streptococcus Mutans* secara *In Vitro*; Fiftiani Syarah, 151610101123; 2019; 57 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Monosit berperan sebagai sel fagositik yang mengenal dan menangkap antigen. Monosit melakukan respon pertahanan melalui *respiratory burst* yang menghasilkan produk radikal bebas yaitu *Reactive Oxygen Spesies* (ROS). ROS yang berlebih dapat menyebabkan peroksidasi lipid pada ikatan lemak membran sel yang dapat mengakibatkan rusaknya struktur membran dan berdampak secara langsung terhadap kemampuan sel untuk mempertahankan hidup, tumbuh dan berkembang (*viabilitas*). Kerusakan sel dapat berhenti jika reaktivitasnya diredam oleh antioksidan. Antioksidan secara alami dapat ditemukan pada kopi, dan antioksidan yang terkandung dalam kopi merupakan yang paling tinggi bila dibandingkan dengan teh, coklat dan *wine* dalam sekali seduh. Kopi melalui berbagai proses pengolahan sebelum dapat dikonsumsi yang dapat berpengaruh terhadap kandungan antioksidannya. Kopi robusta yang diolah secara *spray drying* memiliki kandungan antioksidan yang tinggi daripada kopi bubuk biasa. Tujuan penelitian ini untuk mengkaji efek seduhan kopi robusta *spray drying* terhadap viabilitas monosit *in vitro*.

Jenis penelitian ini adalah *experimental laboratories in vitro* dengan rancangan penelitian *the post test only control group design*. Obyek penelitian adalah isolat monosit vena perifer orang sehat. Penelitian dilakukan pada bulan September-Desember 2018 di Laboratorium *Bioscience* RSGM Universitas Jember. Terdapat 6 kelompok pada penelitian ini, kelompok kontrol negatif (monosit), kontrol positif (monosit + *S.mutans*), perlakuan I (monosit + seduhan kopi bubuk biasa), perlakuan II (monosit + seduhan kopi bubuk biasa + *S.mutans*), kelompok perlakuan III (monosit + seduhan kopi *spray drying*), perlakuan IV (monosit + seduhan kopi *pray drying* + *S.mutans*). Metode pengujian viabilitas dengan menggunakan *trypan blue*, sel yang menyerap warna biru sebagai sel yang *non-viable* dan sel yang tidak menyerap warna biru sebagai sel *viable*. Parameter

yang digunakan dalam penelitian ini adalah menghitung persentase monosit yang *viable* dengan jumlah seluruh sel monosit. Hasil data perhitungan viabilitas monosit yang telah didapatkan dilanjutkan uji analisis statistik. Uji normalitas menggunakan uji *Shapiro Wilk*, uji homogenitas menggunakan *Levene Tes* dan dilanjutkan uji parametri *One-Way Anova* dan *Least Significant Difference*.

Hasil perhitungan viabilitas monosit menunjukkan urutan kelompok yang memiliki viabilitas monosit dari yang tertinggi adalah kelompok monosit, monosit + kopi *spray drying*, monosit + kopi bubuk biasa, monosit + kopi *spray drying* + *S.mutans*, monosit + kopi bubuk biasa + *S.mutans*, dan kelompok yang memiliki viabilitas terendah adalah kelompok monosit + *S.mutans*. Hasil analisis data statistik menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna pada seluruh kelompok. Hasil analisis statistik lanjutan menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol positif dengan seluruh kelompok yang lain kecuali dengan kelompok monosit + kopi bubuk biasa + *S.mutans*. Hal ini menunjukkan bahwa monosit yang diinkubasi seduhan kopi robusta *spray drying* dengan konsentrasi 1,5% dipapar *S.mutans* dapat meningkatkan viabilitas monosit. Pada kelompok monosit + kopi bubuk biasa + *S.mutans* tidak ada perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol hal ini menunjukkan bahwa seduhan kopi bubuk biasa dengan konsentrasi 1,5% tidak dapat meningkatkan viabilitas monosit. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa seduhan kopi robusta *spray drying* dapat meningkatkan viabilitas monosit yang dipapar *S.mutans* secara *in vitro*.

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Seduhan Kopi Robusta *Spray Drying* Meningkatkan Viabilitas Monosit yang Dipapar *Streptococcus Mutans* secara *In Vitro*”. 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 bimbingan, bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes., Sp.Prost. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
2. Dr. drg. I Dewa Ayu Susilawati, M.Kes. selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga dalam memberikan bimbingan, saran, dan motivasi dengan penuh kesabaran sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
3. drg. Nadie Fatimatuzzahro, MD.Sc. selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga dalam memberikan bimbingan, saran, dan motivasi dengan penuh kesabaran sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
4. Dr. drg. Purwanto, M.Kes. selaku Dosen Penguji Ketua yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga dalam memberikan saran, dan motivasi sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
5. drg. Dessy Rachmawati M.Kes Ph.D. selaku Dosen Penguji Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga dalam memberikan saran, dan motivasi sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
6. drg. Sri Lestari, M.Kes. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan saran dan motivasi selama penulis menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;

7. Seluruh dosen Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember yang telah mendidik dan memberikan bekal ilmu selama penulis menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
8. Teknisi Laboratorium Bioscience RSGM FKG Universitas Jember yang telah banyak membantu dalam proses penelitian;
9. Orangtua tercinta, mama Indahyani dan ayah Ahmadi, adikku tersayang Amira Mutia Hanin dan Diana Khoirun Nisa, serta seluruh keluarga besar yang senantiasa mendidik, mendukung, memberikan kasih sayang, pengorbanan, dan doa sehingga membantu saya menjadi manusia yang lebih baik dan kuat menghadapi segala sesuatu;
10. Teman-teman *complain* saya, Asmaradita Nourisha, Laila Fakhriyah, Sita Amelia, dan Kiki Rahmi yang selalu memberi bantuan dan semangat dalam penyelesaian tugas akhir ini;
11. Teman-teman kos Ikiwawa, Rizqy Apriliani, Qhorie Azra, dan Hillary Ingrid yang selalu memberi bantuan dan semangat dalam penyelesaian tugas akhir ini;
12. Semua pihak yang terlibat secara langsung maupun tidak langsung yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu, saya mengucapkan terima kasih banyak atas bantuan serta dukungannya.

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

Jember, April 2019

Penulis

DAFTAR ISI

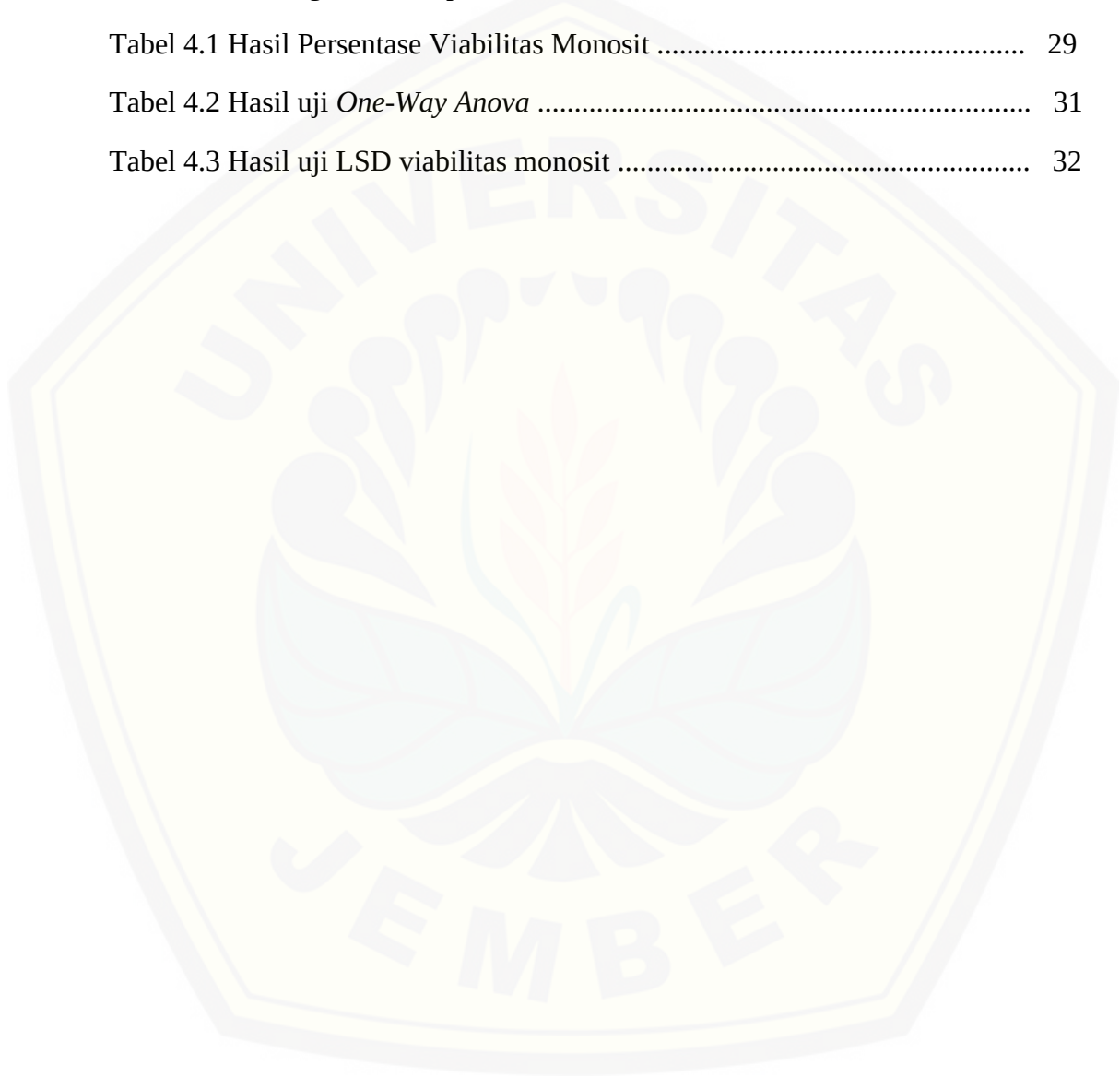
	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
PERSEMBAHAN	iii
MOTTO	iv
PERNYATAAN	v
PEMBIMBINGAN	vi
PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 <i>Streptococcus mutans</i>	4
2.1.1 Morfologi	4
2.1.2 Taksonomi	5
2.2 Monosit	5
2.2.1 Morfologi	5

2.2.2 Fungsi Monosit	7
2.2.3 Respon Monosit terhadap <i>Streptococcus mutans</i>	7
2.3 Viabilitas Sel	8
2.4 Radikal Bebas	9
2.5 Kopi Robusta	10
2.5.1 Klasifikasi Kopi Robusta	10
2.5.2 Morfologi Kopi Robusta	11
2.5.3 Pengolahan	11
2.5.4 <i>Spray Drying</i>	12
2.5.5 Kandungan Kopi	13
2.6 Kerangka Konsep	16
2.7 Keterangan Kerangka Konsep	17
2.8 Hipotesis	17
BAB 3. METODE PENELITIAN	18
3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	18
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	18
3.3 Variabel Penelitian	18
3.3.1 Variabel Bebas	18
3.3.2 Variabel Terikat	19
3.3.3 Variabel Terkendali	20
3.4 Sampel Penelitian	20
3.4.1 Kelompok Penelitian	20
3.4.2 Besar Sampel Penelitian	21
3.5 Alat dan Bahan Penelitian	21
3.5.1 Alat Penelitian	21
3.5.2 Bahan Penelitian	22
3.6 Prosedur Penelitian	23

3.6.1	Pengurusan Surat Izin Penelitian dan <i>Etichal Clearance</i>	23
3.6.2	Prosedur Pembuatan Kopi <i>Spray Drying</i>	23
3.6.3	Sterilisasi Alat	23
3.6.4	Prosedur Pengambilan Sampel Darah	24
3.6.5	Prosedur Isolasi Monosit	24
3.6.6	Pembuatan Seduhan Kopi Robusta	25
3.6.7	Pembuatan Suspensi <i>Streptococcus mutans</i>	26
3.6.8	Prosedur Perlakuan	26
3.6.9	Prosedur Uji Viabilitas Monosit	27
3.6.10	Perhitungan Viabilitas Monosit	27
3.7	Analisis Data	27
3.8	Alur Penelitian	28
BAB 4.	HASIL DAN PEMBAHASAN	29
4.1	Hasil Penelitian	29
4.1.1	Hasil Uji Viabilitas Monosit	29
4.1.2	Analisis Data	31
4.2	Pembahasan	32
BAB 5.	KESIMPULAN DAN SARAN	37
5.1	Kesimpulan	37
5.2	Saran	37
DAFTAR PUSTAKA	38

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Kandungan Kopi	15
Tabel 3.1 Pembagian Kelompok Perlakuan	20
Tabel 4.1 Hasil Persentase Viabilitas Monosit	29
Tabel 4.2 Hasil uji <i>One-Way Anova</i>	31
Tabel 4.3 Hasil uji LSD viabilitas monosit	32



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 <i>Streptococcus mutans</i>	4
Gambar 2.2 Monosit	5
Gambar 2.3 Struktur lapisan membran sel	6
Gambar 2.4 Struktur fosfolipid membran sel	6
Gambar 2.5 Viabilitas monosit	8
Gambar 2.6 Kopi robusta	11
Gambar 2.7 Bagan alur pengolahan biji kopi.....	12
Gambar 2.8 Struktur kimia asam klorogenat	14
Gambar 2.9 Struktur kimia kafein	14
Gambar 4.1 Gambar mikroskopis viabilitas monosit	30
Gambar 4.2 Histogram persentase hasil perhitungan viabilitas monosit	31
Gambar 4.3 Proses peroksidasi lipid pada membran sel akibat radikal bebas ...	33
Gambar 4.4 Mekanisme antioksidan endogen sebagai pertahanan tubuh.....	34

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran A. Surat Izin Penelitian	43
Lampiran B. <i>Ethical Clearance</i>	44
Lampiran C. Surat Identifikasi Bakteri	45
Lampiran D. <i>Informed Consent</i>	46
Lampiran E. Gambar Alat dan Bahan Penelitian	47
Lampiran F. Prosedur Penelitian	50
Lampiran G. Gambar Hasil Isolasi Monosit	52
Lampiran H. Hasil Penelitian	53
Lampiran I. Tabel Perhitungan Viabilitas Monosit	54
Lampiran J. Analisis Data	56

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Streptococcus mutans (*S. mutans*) merupakan salah satu bakteri penyebab adanya plak di permukaan gigi, gingivitis, *denture* stomatitis dan bakteri utama yang dapat menyebabkan kerusakan gigi (Liantari, 2014; Fatmawati, 2011; Namboodiripad dan Kori, 2009). Menurut Riskesdas (2013), jumlah kerusakan gigi meningkat dari 43,4% pada tahun 2007 menjadi 53,2% pada tahun 2013. Kerusakan gigi bermula dari adanya demineralisasi jaringan keras gigi dan jika dibiarkan bakteri dapat menginvasi ke dalam pulpa (Gutomo dan Kristanti, 2011). Saat terjadinya invasi bakteri, akan merangsang respon inflamasi oleh sel pertahanan tubuh non spesifik salah satunya adalah monosit (Baratawidjaja dan Rengganis, 2013).

Monosit merupakan salah satu leukosit yang berperan sebagai sel fagositik yang mengenal dan menangkap antigen. Monosit melakukan respon pertahanan menggunakan oksigen dengan jumlah besar (*respiratory burst*) yang menghasilkan produk *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) termasuk anion superoksida, hidrogen peroksida dan hidroksil radikal (Birben, 2012; Baratawidjaja dan Rengganis, 2013; William dan Wilkins, 2009).

ROS merupakan salah satu jenis radikal bebas yang akan menarik elektron dari senyawa di sekelilingnya dan akan merubah senyawa tersebut menjadi radikal bebas yang baru (*chain reaction*) (Sayuti dan Yenrina, 2015). ROS dalam konsentrasi rendah hingga sedang dibutuhkan dalam proses fisiologis, namun pada kondisi berlebih dapat menyebabkan terjadinya stres oksidatif yang akan mengakibatkan kerusakan struktur sel (Birben dkk., 2012; Astuti, 2008). ROS menyebabkan peroksidasi lipid pada ikatan lemak membran sel, kerusakan DNA inti sel, dan kerusakan protein (Sayuti dan Yenrina, 2015). Kerusakan struktur membran akibat peroksidasi lipid yang terjadi akan berefek secara langsung terhadap fluiditas, struktur dan fungsi membran sel yang akan mengakibatkan menurunnya kemampuan sel untuk mempertahankan hidup,

tumbuh dan berkembang (*viabilitas*). Viabilitas monosit merupakan faktor yang sangat penting dalam proses pertahanan tubuh untuk merespon adanya mikroorganisme yang dapat ditinjau dari keutuhan membran selnya. Sel yang tidak dapat mempertahankan hidupnya akan mengakibatkan kematian sel (Delita, 2016; Yuslianti, 2018; Louis dan Siegel, 2011). Kerusakan sel akibat radikal bebas dapat berhenti jika reaktivitasnya diredam oleh senyawa yang bersifat antioksidan (Sayuti dan Yenrina, 2015).

Antioksidan adalah zat alamiah atau sintetik yang berfungsi mencegah atau menunda oksidasi (Dorland, 2012). Antioksidan akan mendonorkan satu elektronnya kepada radikal bebas sehingga menghentikan *chain reaction* yang terjadi (Inggrid dan Santoso, 2014). Antioksidan secara alami bisa didapatkan dari makanan dan minuman (Sayuti dan Yenrina, 2015). Salah satu minuman yang memiliki kandungan antioksidan tinggi adalah kopi. Antioksidan yang terkandung dalam kopi merupakan yang paling tinggi bila dibandingkan dengan teh, coklat dan *wine* dalam sekali seduh (Yashin dkk., 2013). Kopi memiliki berbagai macam jenis, salah satunya adalah kopi robusta. Kopi robusta diketahui memiliki kandungan antioksidan yang lebih tinggi daripada kopi arabika (Farah, 2012). Senyawa antioksidan yang terkandung dalam kopi robusta antara lain asam klorogenat (polifenol) dan kafein (Yashin dkk., 2013).

Kopi melalui berbagai proses pengolahan sebelum dapat dikonsumsi. Proses pengolahan kopi berpengaruh terhadap ketersediaan antioksidan (Yusmarini, 2011). Salah satu hasil pengolahan biji kopi adalah kopi instan. Pengolahan kopi instan melalui tahapan *roasting*, *grinding*, ekstraksi, pengeringan, dan pengemasan. Salah satu dari proses pengeringan adalah *spray drying* yang dapat berpengaruh terhadap kadar antioksidan (Pastiniasih, 2012; Yashin dkk., 2013). Menurut penelitian Niseteo dkk. (2012), proses pengeringan *spray drying* dapat meningkatkan kadar antioksidan. Belum ada penelitian lebih lanjut tentang efek seduhan kopi robusta *spray drying* terhadap sel manusia. Berdasarkan uraian tersebut peneliti tertarik untuk meneliti efek seduhan kopi robusta *spray drying* terhadap viabilitas monosit yang dipapar oleh *S. mutans* secara *in vitro*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas maka timbul permasalahan, yaitu bagaimana efek seduhan kopi robusta *spray drying* terhadap viabilitas monosit yang dipapar *Streptococcus mutans* secara *in vitro*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian yang dilakukan adalah mengkaji efek pemberian seduhan kopi robusta *spray drying* terhadap viabilitas sel monosit yang dipapar *Streptococcus mutans* secara *in vitro*.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian yang dilakukan adalah:

- 1.4.1 Meningkatkan pemahaman tentang aktivitas antioksidan kopi robusta
- 1.4.2 Memberikan sumbangan pemikiran bagi ilmu pengetahuan tentang manfaat kopi robusta sebagai antioksidan untuk mencegah berbagai penyakit.
- 1.4.3 Meningkatkan efektivitas pengolahan kopi yang dapat meningkatkan derajat kesehatan.
- 1.4.4 Sebagai dasar untuk penelitian-penelitian selanjutnya.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Streptococcus mutans*

2.1.1 Morfologi

Streptococcus mutans merupakan bakteri anaerob fakultatif gram positif berbentuk *coccus* (bulat) yang membentuk seperti rantai (Gambar 2.1) dan memiliki diameter 0.7–0.9 μm (Jawetz dkk., 2010). *S. mutans* bersifat tidak bergerak (*nonmotil*) dan dapat tumbuh dengan optimal pada suhu 18–40^o. *S. mutans* memiliki sifat dapat menghasilkan asam (*asidogenic*), dapat tinggal dalam kondisi asam (*asidoduric*) dan dapat menghasilkan polisakarida yang disebut dekstran. *S. mutans* biasa ditemukan pada rongga mulut manusia dan menjadi bakteri yang paling kondusif yang dapat menyebabkan karies gigi (Nugraha, 2008). Menurut Purwanto dan Susilawati (2014), *S. mutans* dapat berinvasi ke sirkulasi darah melalui karies yang dalam. Terdapat beberapa karakteristik dinding *S. mutans* yaitu memiliki *surface* protein antigen I/II yang berfungsi sebagai mediator perlekatan *S. mutans*, *serotipe* yang berjumlah 6 yang berfungsi sebagai perlekatan spesifik, dan *Glukan Binding Protein* yang berfungsi sebagai akumulasi (Bidarisugma dkk., 2012).



Gambar 2.1 *Streptococcus mutans* (Nugraha, 2008)

2.1.2 Taksonomi

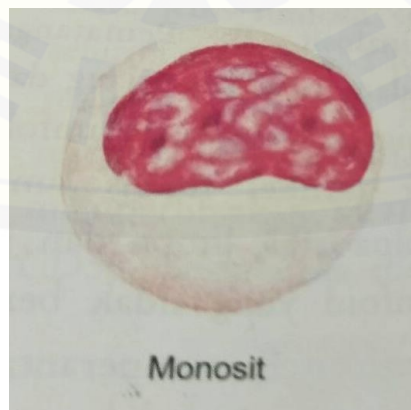
Taksonomi *Streptococcus mutans* :

Kingdom	: <i>Monera</i>
Divisi	: <i>Firmicutes</i>
Kelas	: <i>Bacilli</i>
Ordo	: <i>Lactobacilalles</i>
Famili	: <i>Streptococcaceae</i>
Genus	: <i>Streptococcus</i>
Species	: <i>Streptococcus mutans</i> (Nugraha, 2008)

2.2 Monosit

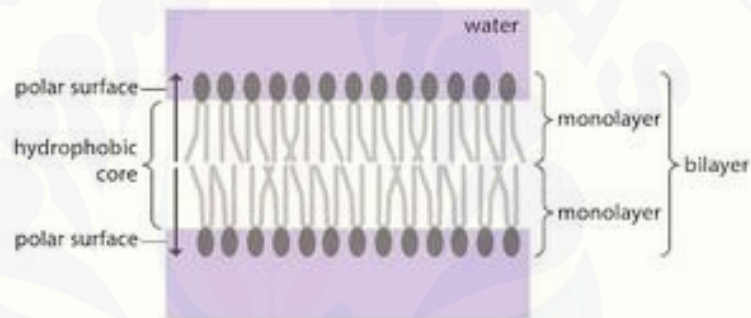
2.2.1 Morfologi

Monosit merupakan sel leukosit agranulosit yang berjumlah 3-8 % dari seluruh leukosit serta sel leukosit terbesar yang memiliki diameter 12-15 μm yang berasal dari sum-sum tulang (Hestianah dkk., 2013). Monosit berada di dalam darah 10 hingga 20 jam, kemudian bermigrasi dari sistem sirkulasi ke jaringan dan berdiferensiasi menjadi makrofag pada jaringan (Guyton dan Hall, 2014; Williams dan Wilkins, 2009). Monosit berbentuk bulat memiliki inti yang besar dan berbentuk seperti kacang atau ginjal (Gambar 2.2), kromatinnya halus dan tersebar merata serta memiliki sitoplasma lebih banyak daripada limfosit (Hestianah dkk., 2013; Williams dan Wilkins, 2009).

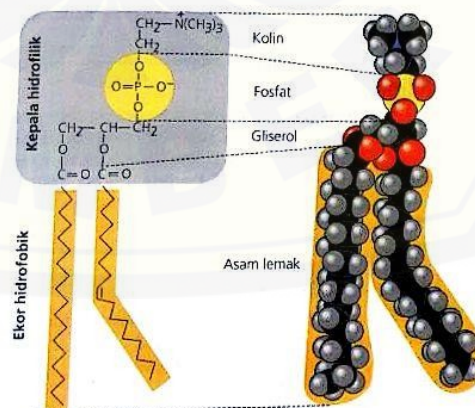


Gambar 2.2 Monosit (Gunawijaya dkk., 2013)

Semua sel termasuk monosit dibungkus oleh membran sel. Membran sel adalah suatu struktur yang menyelubungi sel yang hampir seluruhnya tersusun atas protein dan lipid (fosfolipid) serta memiliki ketebalan 7,5-10 μm . Struktur dasar dari membran sel adalah lapisan lipid ganda (*bilayer*) yang setiap lapisnya hanya memiliki ketebalan satu molekul pada seluruh permukaan sel (Gambar 2.3) (Guyton dan Hall, 2014). Kandungan fosfolipid (Gambar 2.4) pada membran sel memiliki kepala yang bersifat hidrofilik yang terletak di luar lapisan *bilayer* dan dua ekor yang bersifat hidrofobik mengarah ke dalam lapisan *bilayer* menjauhi air. Lapisan ganda dari membran sel ini membentuk batas antara sel dengan lingkungan luarnya (Campbell dkk., 2008).



Gambar 2.3 Struktur lapisan membran sel (Buehler, 2016)



Gambar 2.4 Struktur fosfolipid membran sel (Campbell dkk., 2008)

Membran sel memiliki sifat selektif permeabel karena membran sel mengontrol lalu lintas ke dalam dan keluar sel dan hanya beberapa zat yang dapat menembus membran lebih mudah daripada zat lain (Campbell dkk., 2008). Lapisan lipid yang berada di tengah membran akan mudah ditembus oleh zat yang larut dalam lemak seperti oksigen, karbon dioksida, dan alkohol dan akan sulit ditembus oleh zat yang biasanya larut dalam air, seperti ion, glukosa dan urea (Guyton dan Hall, 2014).

2.2.2 Fungsi Monosit

Monosit memiliki peranan yang penting di dalam tubuh yaitu sebagai sistem imun nonspesifik yang berfungsi menemukan mikroba penyebab terjadinya infeksi, membuang sel sel yang sudah mati, sel yang sudah tua, benda asing maupun sel asing (William dan Wilkins, 2009; Baratawidjaja dan Rengganis, 2013; Kiswari, 2014). Monosit juga berperan mengatur fungsi dari sel sel yang lain, memproses dan mempresentasikan antigen (*Antigen Presenting Cell*) pada reaksi imun, ikut serta dalam reaksi inflamasi dan merusak mikroba dan sel tumor. Monosit mampu bermigrasi menembus kapiler dan masuk ke dalam jaringan ikat dan berubah menjadi makrofag (Hestianah dkk., 2013).

2.2.3 Respon Monosit Terhadap *Streptococcus mutans*

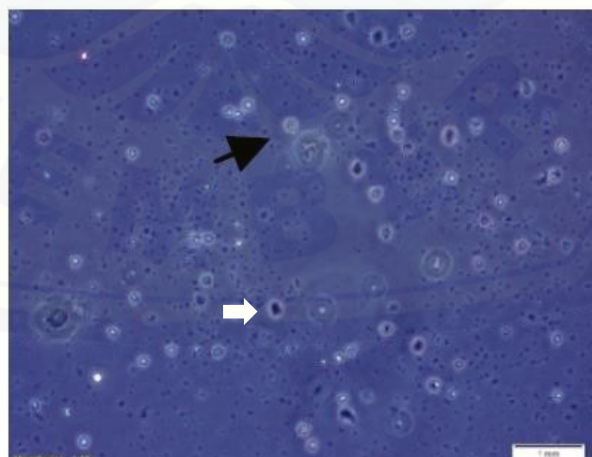
Penghancuran bakteri terjadi dalam berbagai tingkat yaitu kemotaksis, menangkap, fagositosis, memusnahkan dan mencerna (Baratawidjaja dan Rengganis, 2013). Penghancuran bakteri oleh monosit dilakukan dengan menggunakan oksigen dengan jumlah besar yang disebut *respiratory burst*. Penggunaan oksigen dengan jumlah yang besar akan menstimulasi penambahan satu elektron kepada oksigen menjadi anion superoksida yang dimediasi oleh NAD(P)H (*Nicotine Adenine Dinucleotide Phospat*) oksidase sebagai aktivitas bakteriosid. NAD(P)H oksidase juga akan memproduksi hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida yang terbentuk akan beraksi dengan anion superoksida sehingga menghasilkan hidroksil radikal yang merupakan salah satu molekul yang

sangat reaktif dan dapat merusak lipid, protein, karbohidrat dan DNA. Hidroksil radikal juga dapat menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid pada membran sel sehingga integritas membran sel terganggu (Birben, 2012; Williams dan Wilkins, 2009; Baratawidjaja dan Rengganis, 2013).

2.3 Viabilitas Sel

Viabilitas sel adalah kemampuan sel untuk tumbuh dan mempertahankan hidupnya (Dorland, 2012; Yuwono, 2011). Viabilitas sel dapat dipertahankan, maka fungsi dari sel tersebut akan dapat tetap berjalan. Viabilitas sel didasarkan dari integritas membran selnya. Sel yang *viable* memiliki membran sel yang masih utuh, berbentuk bulat, serta sitoplasmanya tampak jelas dan jernih. Sel yang tidak *viable* tampak lebih gelap, dan tidak berbentuk bulat membran sel sudah rusak (Strober, 2015).

Penentuan viabilitas sel dapat dilihat menggunakan *trypan blue*. Sel *viable* akan tampak jernih (Gambar 2.5) karena tidak menyerap pewarnaan tertentu seperti *trypan blue*. Sel *non-viable* mengalami kerusakan membran sehingga sel tampak lebih gelap karena sitoplasma sel tersebut menyerap pewarnaan seperti *trypan blue* sehingga sitoplasmanya berwarna biru (Louis dan Siegel, 2011; Strober, 2015).



Gambar 2.5 Viabilitas monosit dengan pewarnaan *trypan blue* perbesaran 200x. Panah hitam menunjukkan sel yang masih *viable*, panah putih menunjukkan sel yang *non-viable* (Sumber : Budirahardjo, 2016).

2.4 Radikal Bebas

Radikal bebas adalah suatu molekul yang sangat reaktif karena pada orbital terluarnya memiliki elektron tidak berpasangan, sehingga akan mengambil elektron dari molekul di sekelilingnya dan merubah molekul tersebut menjadi radikal bebas yang baru. Senyawa tersebut akan mengambil elektron dari molekul yang lain yang akan mengakibatkan terjadinya reaksi berantai (*chain reaction*) (Sayuti dan Yenrina, 2015).

Radikal bebas diproduksi oleh organisme hidup sebagai hasil dari metabolisme sel normal. Pada konsentrasi yang rendah hingga sedang radikal bebas berperan sebagai proses fisiologis sel seperti agregasi platelet dan kemotaksis bakteri (Sayuti dan Yenrina, 2015; Wahdaningsih dkk., 2011).

Salah satu jenis radikal bebas adalah *Reactive Oxygen Spesies* (ROS). ROS terbentuk dari reduksi sebagian oksigen menjadi anion superoksida (O_2^-), hidrogen peroksida (H_2O_2), hidroksil radikal (HO), hidropeksil radikal (HOO), dan peroksil radikal (ROO) (Gaschler dan Stockwell, 2017). ROS berperan dalam proses bakteriolisis dan bakterisidal (Birben dkk., 2012; Sayuti dan Rina, 2015). Radikal bebas dalam konsentrasi yang tinggi, akan menyebabkan stres oksidatif yang akan berkontribusi banyak pada kerusakan sel (Astuti, 2008; Sayuti dan Yenrina, 2015; Wahdaningsih dkk., 2011)

Radikal bebas menyebabkan kerusakan sel dengan cara peroksidasi komponen lipid dari membran sel, kerusakan DNA, serta modifikasi protein (Sayuti dan Yenrina, 2015). Peroksidasi lipid merupakan proses yang terjadi akibat reaksi asam lemak tak jenuh penyusun fosfolipid membran sel dengan ROS membentuk hidroperoksida (Retno dkk., 2012).

Lipid memiliki tanggung jawab untuk mempertahankan integritas membran sel, pembentukan, komposisi, struktur dan dinamika dari lipid membran (Gaschler dan Stockwell, 2017). Target utama peroksidasi oleh ROS adalah asam lemak tak jenuh majemuk (PUFA) yang merupakan komponen penting dalam penyusunan fosfolipid membran (Yuslianti, 2018). PUFA memiliki sifat yang mudah diserang oleh radikal bebas dan menghasilkan produk akhir yang disebut dengan Malondialdehida (MDA) yang merupakan indikator terjadinya kerusakan

membran akibat radikal bebas. Peroksidasi lipid mengganggu fungsi dan integritas membran sel serta menyebabkan perubahan struktur membran sel yang akan mengakibatkan kematian sel, sehingga sel tidak lagi dapat bertahan hidup (*non-viable*) (Birben dkk., 2012; Louis dan Siegel, 2011). Radikal bebas akan selalu membentuk reaksi berantai yang terus berlanjut sampai radikal bebas tersebut dihilangkan oleh radikal bebas lain dan oleh sistem antioksidan dari tubuh (Retno dkk., 2012).

2.5 Kopi Robusta

Tanaman kopi memiliki nilai ekonomis yang relatif tinggi di pasaran dunia sehingga termasuk komoditas ekspor unggulan yang dikembangkan di Indonesia. Menurut data *Wordbank* pada periode tahun 2005-2008 Indonesia merupakan eksportir kopi ke-4 dunia dengan kontribusi rata-rata 4,76 persen. Permintaan kopi Indonesia baik kopi robusta maupun arabika dari waktu ke waktu terus meningkat (Afriliana, 2018). Di Indonesia sebagian besar tanaman kopi yang banyak dibudidayakan adalah kopi robusta (90%) dan sisanya adalah kopi arabika (Rahardjo, 2012). Kopi robusta lebih resisten terhadap penyakit karat daun yang disebabkan oleh jamur, memiliki syarat tumbuh serta pemeliharaan yang mudah, dan tingkat produksinya lebih tinggi (Prastowo dkk., 2010)

2.5.1 Klasifikasi Kopi Robusta

Taksonomi tanaman kopi robusta (*Coffea canephora*)

Kingdom	: <i>Plantae</i> (Tumbuhan)
Subkingdom	: <i>Tracheobionta</i> (tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: <i>Spermatophyta</i> (menghasilkan biji)
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i> (tumbuhan berbunga)
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i> (Berkeping dua, dikotil)
Sub kelas	: <i>Asteridae</i>
Ordo	: <i>Rubiales</i>
Famili	: <i>Rubiaceae</i> (Suku kopi-kopian)

Genus : *Coffea*

Spesies : *Coffea canephora* (Rukmana, 2014)

2.5.2 Morfologi Kopi Robusta

Kopi robusta memiliki perbandingan berat biji kopi dengan berat buah kopi lebih tinggi dibanding kopi arabika yaitu sebesar 20-22%. Kemampuan adaptasi kopi robusta lebih baik dibandingkan kopi arabika karena dapat tumbuh pada daerah yang lebih rendah sekitar 0-1000 mdpl dan pada suhu udara 21-24°C. Kopi robusta memiliki biji yang berbentuk agak bulat dan lengkungan biji lebih tebal dibanding arabika (Rukmana, 2014). Kopi robusta memiliki bunga berwarna putih di ketiak daun dan beraroma wangi, daun kopi berbentuk lonjong dengan tulang daun yang tegas, berwarna hijau mengilap yang berpasangan dengan berlawanan arah (Gambar 2.6). Buah kopi robusta tersusun dari kulit buah (*epicarp*), daging buah (*mesocarp*) yang biasa disebut *pulp* dan kulit tanduk (*endocarp*) dan setiap buah kopi memiliki dua buah biji yang memiliki alur pada bagian datarnya (Rahardjo, 2017).



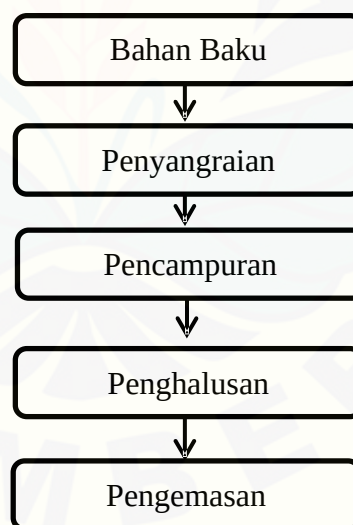
Gambar 2.6 Kopi Robusta (Prastowo dkk., 2010)

2.5.3 Pengolahan

Kopi robusta siap dipanen ketika kulit buah kopi telah bewarna merah sekitar 8–11 bulan sejak kuncup hingga matang (Rukmana, 2014). Buah kopi

robusta yang sudah matang diolah dengan pengolahan basah (Iddawani, 2015). Pengolahan dilakukan dengan cara pemilihan kopi (*sortasi*), pengupasan kulit buah (*pulping*), fermentasi atau tanpa fermentasi untuk menghilangkan lendir, pencucian hingga kesat, penjemuran, pengupasan kulit (*hulling*), pemilihan biji, pengemasan, dan penggudangan (Rukmana, 2014).

Pengolahan biji kopi untuk menghasilkan kopi bubuk melalui proses penyangraian (*roasting*), pencampuran, penghalusan biji kopi sangrai dan pengemasan. Proses penyangraian merupakan proses pembentukan aroma dan cita rasa kopi dengan perlakuan panas dengan suhu sekitar 190 - 205 °C dengan waktu antara 7-30 menit kemudian dilakukan pencampuran dari biji kopi pengolahan basah dan biji kopi pengolahan kering. Biji kopi yang telah disangrai dan dicampur, kemudian dihaluskan dengan alat penghalus (*grinder*) hingga diperoleh bubuk kopi dengan ukuran tertentu kemudian dikemas (Gambar 2.7) (Rukmana, 2014).



Gambar 2.7 Bagan alur pengolahan biji kopi (Rukmana, 2014)

2.5.4 *Spray Drying*

Kopi robusta lebih sering digunakan sebagai kopi instan daripada kopi arabika, karena kopi robusta memiliki padatan terlarut yang lebih banyak sehingga dapat meningkatkan hasil kopi instan (Farah, 2012). Kopi instan adalah

bubuk kopi yang dapat segera diminum setelah diseduh dan tidak memiliki ampas (*soluble coffee*) (Pratiwi, 2017). Pengolahan kopi instan melalui proses penyangraian (*roasting*), penggilingan (*grinding*), ekstraksi, *spray drying* dan pengemasan produk (Ridwansyah, 2003).

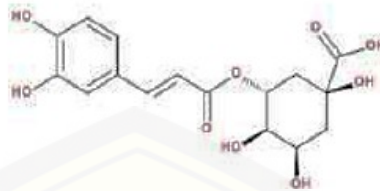
Spray drying adalah proses pengeringan dengan cara menyemprot ekstrak kopi berair menggunakan suhu tinggi dan mengeringkan ekstrak tersebut menjadi bubuk kopi instan (Farah, 2012). Proses *spray drying* terjadi di dalam tower silindris dengan dasar kerucut. Cairan ekstrak kopi dimasukkan kedalam tower bersamaan dengan semprotan udara panas. Partikel ekstrak kopi yang telah disemprotkan udara panas, akan kering dan jatuh serta terkumpul sebagai bubuk kopi instan (Ridwansyah, 2003).

2.5.5 Kandungan Kopi

Kopi memiliki banyak komponen kimia yang memiliki sifat antibakteri, antiinflamasi, dan antioksidan (Tabel 2.1) (Ciptaningsih 2012). Kopi mengandung kafein, asam klorogenat (polifenol), trigonelin, karbohidrat, lemak, asam organik, asam amino, aroma volatile dan mineral (Farhaty dan Muchtaridi, 2016). Kafein dan asam klorogenat yang terkandung pada kopi termasuk sumber antioksidan. Antioksidan yang terkandung pada kopi merupakan yang paling tinggi bila dibandingkan dengan teh, coklat dan *wine* dalam sekali seduh (Yashin dkk., 2013).

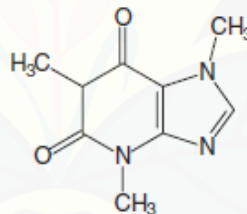
Asam klorogenat adalah senyawa fenolik yang mempunyai sifat yang larut dalam air dan terbentuk dari esterifikasi asam *quinic* dan asam *transcinnamic* tertentu seperti asam kafein, asam *ferulic*, dan asam *pcoumaric*. Manfaat dari asam klorogenat yang terkandung dari kopi yaitu sebagai antioksidan, antiinflamasi, antivirus, dan hepatoprotektif pada manusia, dan sebagai pelindung dari mikroorganisme dan virus yang mengenai tumbuhan kopi (Ciptaningsih, 2012; Farhaty dan Muchtaridi, 2016). Menurut Yunarti (2007), asam klorogenat (Gambar 2.8) (polifenol) merupakan antioksidan kuat yang dapat melindungi sel

imun dari radikal bebas serta mencegah terjadinya peningkatan produksi sitokin proinflamasi.



Gambar 2.8 Struktur kimia asam Klorogenat

Kafein (Gambar 2.9) merupakan salah satu antioksidan yang dikandung oleh kopi yang termasuk senyawa alkaloid. Konsumsi kafein dalam jumlah rendah hingga sedang dapat meningkatkan kewaspadaan, meningkatkan kapasitas belajar, dan olahraga, namun dalam jumlah yang berlebih pada orang yang sensitif dapat menyebabkan kegelisahan, tekanan darah tinggi, dan insomnia. Kafein juga memiliki fungsi sebagai antibakteri yang cukup tinggi untuk mikroorganisme kariogenik (Farah, 2012).



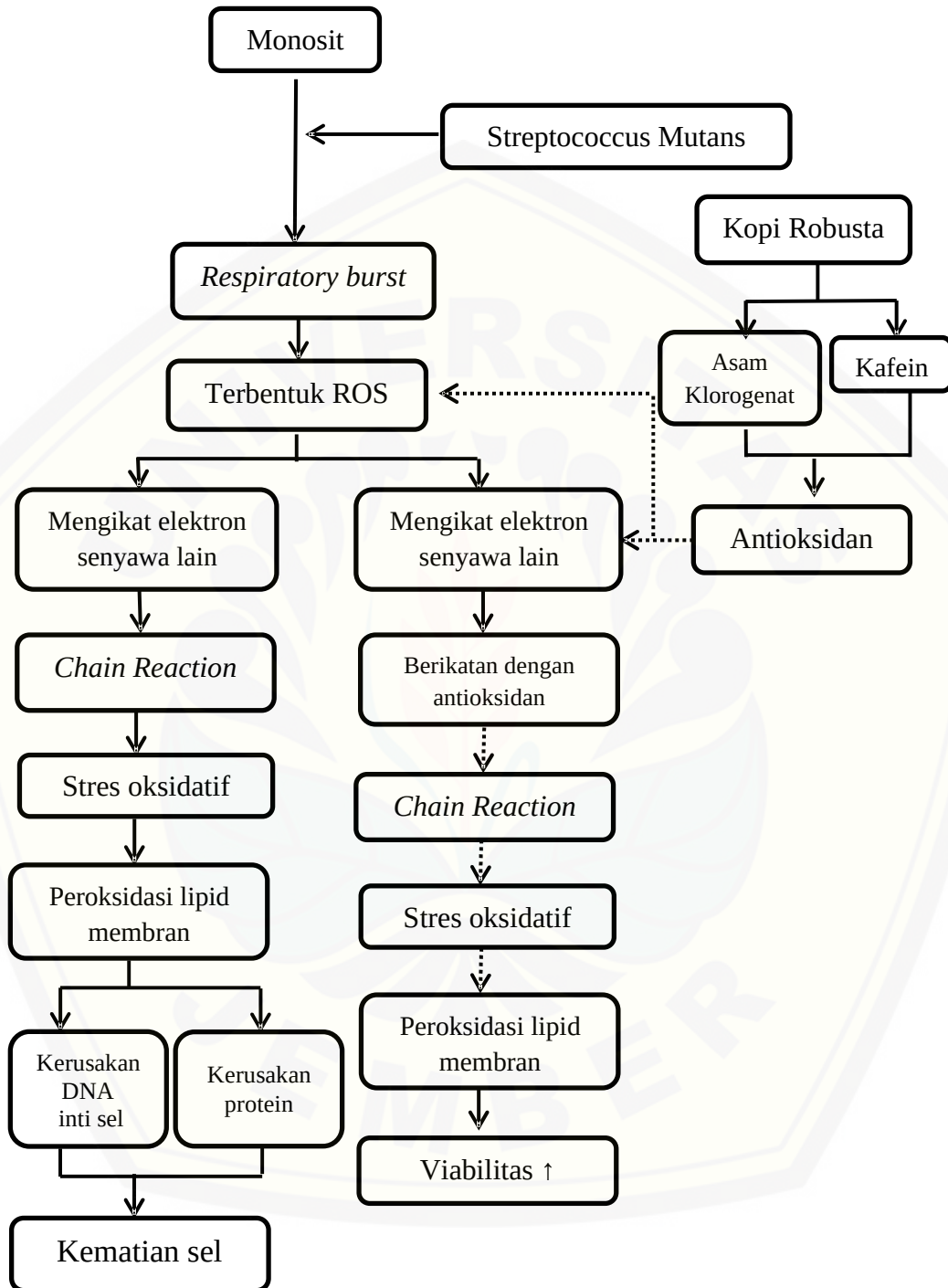
Gambar 2.9 Struktur kimia kafein (Farah, 2012)

Tabel 2.1 Kandungan Kopi

Komponen	Konsentrasi (g/100g)	
	Kopi Arabika	Kopi Robusta
Sukrosa	4,2 – tr	1,6 – tr
Gula pereduksi	0,3	0,3
Polisakarida	31 – 33	37
Lignin	3,0	3,0
Pektin	2,0	2,0
Protein	7,5 – 10	7,5 – 10
Asam amino bebas	Tidak terdeteksi	Tidak terdeteksi
Kafein	1,1 -1,3	2,4 – 2,5
Trigonelline	1,2 – 0,2	0,7 – 0,3
Asam nikotinic	0,016 – 0,026	0,014 – 0,025
Minyak kopi	17,0	11,0
Diterpen	0,9	0,2
Mineral	4,5	4,7
Asam klorogenat	1,9 – 2,5	3,3 – 3,8
Asam alifatik	1,6	1,6
Asam quinic	0,8	1,0
Melanoidin	25	25

Sumber : Farah, 2012

2.6 Kerangka Konsep



Keterangan :
 ↓ Stimulasi
 ⋮ Menghambat

2.7 Keterangan Kerangka Konsep

Monosit yang diambil dari vena perifer orang sehat dan diinduksi *S. mutans* akan menginduksi monosit untuk melakukan proses pertahanan tubuh dengan meningkatkan penggunaan oksigen (*respiratory burst*) yang akan meningkatkan ROS. ROS merupakan salah satu radikal bebas yang akan mengikat elektron dari senyawa lain disekitarnya, dan senyawa tersebut akan menjadi radikal bebas yang baru, mekanisme ini disebut dengan reaksi berantai (*chain reaction*). Jumlah radikal bebas yang tidak dapat diatasi oleh antioksidan akan menyebabkan stres oksidatif pada sel. Stres oksidatif dapat menyebabkan peroksidasi lipid membran, kerusakan protein, dan kerusakan DNA dari sel yang dapat menyebabkan penurunan viabilitas monosit sehingga mengakibatkan kematian sel. Pemberian seduhan kopi robusta *spray drying* diduga dapat menurunkan produksi ROS dan diduga dapat menghambat proses *chain reaction* karena molekul dari radikal bebas akan berikatan dengan antioksidan yang terkandung dalam kopi. Hal ini menyebabkan tidak terjadinya stres oksidatif, maka tidak terjadi kerusakan pada struktur lipid membran, protein, dan DNA sel sehingga viabilitas sel meningkat.

2.8 Hipotesis

Berdasarkan teori yang telah diungkapkan, hipotesis dari penelitian ini adalah seduhan kopi robusta *spray drying* dapat meningkatkan viabilitas monosit yang distimulasi dengan *S. mutans*.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental *laboratories (in vitro)* pada sel isolat monosit vena perifer manusia. Rancangan penelitian ini adalah *the post test only control group design*. Metode dilakukan dengan cara melakukan pengamatan setelah diberi perlakuan dan hasilnya dibandingkan dengan kontrol (Notoatmodjo, 2010).

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Pelaksanaan penelitian dilaksanakan pada bulan September 2018 di Laboratorium *Bioscience* Rumah Sakit Gigi dan Mulut (RSGM) Universitas Jember.

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dari penelitian ini adalah seduhan kopi *spray drying* dan seduhan kopi bubuk biasa.

a. Seduhan Kopi *Spray Drying*

1) Definisi Operasional

Seduhan kopi *spray drying* adalah pelarutan sediaan produk kopi robusta merek Gunung Ijen produksi PTPN XII yang telah diproses secara *spray drying* di Laboratorium RPHP (Rekayasa Pangan dan Hasil Pertanian) Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember dengan aquades mendidih.

2) Metode

Pembuatan seduhan kopi dilakukan dengan konsentrasi 1,5 %, yaitu dengan melarutkan 3 gram bubuk kopi *spray drying* pada 200 ml aquades mendidih yang kemudian ditempatkan pada *hotplate stirer* dengan kecepatan 60 rpm selama 1 menit, lalu didiamkan hingga mencapai suhu ruangan. Seduhan tersebut kemudian disaring dengan menggunakan *whatman puradisc syringe filter 0.2 µm* (Budirahardjo, 2016; Pratama, 2018).

b. Seduhan Kopi Bubuk Biasa

1) Definisi Operasional

Seduhan kopi bubuk biasa adalah pelarutan sediaan produk kopi bubuk robusta merek Gunung Ijen produksi PTPN XII dengan aquades mendidih.

2) Metode

Pembuatan seduhan kopi bubuk biasa dilakukan dengan konsentrasi 1,5%, yaitu dengan melarutkan 3 gram bubuk kopi pada 200 ml aquades mendidih yang kemudian ditempatkan pada *hotplate stirer* dengan kecepatan 60 rpm selama 1 menit, lalu didiamkan hingga mencapai suhu ruangan. Seduhan tersebut kemudian disaring dengan menggunakan *whatman puradisc syringe filter 0.2 µm* (Budirahardjo, 2016; Pratama, 2018).

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dari penelitian ini adalah viabilitas monosit.

a. Definisi Operasional

Kemampuan monosit untuk bertahan hidup setelah diinkubasi dengan seduhan kopi Robusta (*Coffea canephora*) dan dipapar dengan *S. mutans*.

b. Metode

Uji viabilitas monosit dilakukan dengan menggunakan pewarnaan *trypan blue* dan dilakukan pengamatan serta perhitungan menggunakan mikroskop *inverted* perbesaran 400x dalam empat lapang pandang pada setiap *well* oleh tiga orang pengamat. Monosit yang hidup (*viable*) memiliki membran sel yang utuh, tidak menyerap warna *trypan blue* dan terlihat seperti sel bening. Monosit yang mati (*non-viable*) terlihat berwarna lebih gelap dan menyerap warna *trypan blue*, tidak berbentuk bulat karena membran sel lisis (Louis dan Siegel, 2011).

c. Parameter

Parameter yang digunakan dalam penelitian ini adalah persentase monosit yang masih hidup (*viable*) dengan jumlah seluruh monosit.

3.3.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah :

a. Kriteria sampel

Monosit yang digunakan sebagai sampel dalam penelitian ini adalah isolat monosit yang diambil dari vena perifer manusia sehat berusia 20-25 tahun, tidak memiliki riwayat kelainan darah dan penyakit sistemik berdasarkan hasil anamnesa, memiliki *vital sign* yang normal, tidak merokok, dan bersedia mengisi *informed consent*.

b. *Streptococcus mutans*

S. mutans termasuk bakteri berbentuk bulat (*coccus*) gram positif anaerob fakultatif yang terlihat berwarna ungu yang memiliki struktur berantai pada media pewarnaan gram. Dalam penelitian ini *S. mutans* yang digunakan dalam media cair *Brain Heart Infusion Broth* (BHI-B) yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (F.MIPA) Universitas Jember. Penentuan konsentrasi bakteri dilakukan dengan *densitometer* sebesar 1 mcfarland.

c. Jenis dan konsentrasi kopi

Kopi yang digunakan adalah kopi robusta merek Gunung Ijen produksi PTPN XII dengan konsentrasi awal seduhan yaitu 1,5 % yang didapatkan dari 3 gram bubuk kopi dicampur dalam 200 mL aquades mendidih. Konsentrasi akhir paparan seduhan kopi robusta pada sel monosit setelah dicampur dengan RPMI dalam 24 *well plate* adalah 0,15%.

3.4 Sampel Penelitian

3.4.1 Kelompok Penelitian

Terdapat 3 kelompok dalam penelitian yaitu (tabel 3.1):

Tabel 3.1 Pembagian kelompok perlakuan

Kelompok	Perlakuan
Kontrol negatif	monosit
Kontrol positif	monosit + <i>S. Mutans</i>
Perlakuan I	monosit + seduhan kopi bubuk biasa 1,5%
Perlakuan II	monosit + seduhan kopi bubuk biasa 1,5% + <i>S. mutans</i>
Perlakuan III	monosit + seduhan kopi <i>spray drying</i> 1,5%
Perlakuan IV	monosit + seduhan kopi <i>spray drying</i> 1,5% + <i>S. Mutans</i>

3.4.2 Besar Sampel Penelitian

Jumlah sampel yang digunakan untuk tiap kelompok dalam penelitian ini didasarkan pada perhitungan rumus (Daniel 2009) :

$$n = \frac{z^2 \times \sigma^2}{d^2}$$

Keterangan:

n = besar sampel tiap kelompok

Z = nilai pada tingkat tertentu jika $\alpha = 0,05$, maka $Z = 1,96$

σ = standar deviasi sampel

d = kesalahan yang masih dapat di tolerir, diasumsikan $\sigma = d$

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

$$n = \frac{z^2 \times \sigma^2}{d^2}$$

$$n = \frac{(1,96)^2 \sigma^2}{\sigma^2}$$

$$= (1,96)^2$$

$$= 3,84 \text{ dibulatkan menjadi } 4$$

Berdasarkan rumus di atas, diperoleh besar sampel minimal yang harus digunakan dalam penelitian ini adalah 4 sampel untuk setiap kelompok. Pada penelitian ini terdapat 6 kelompok penelitian, sehingga jumlah sampel secara keseluruhan adalah sebanyak 24 sampel.

3.5 Alat dan Bahan Penelitian

3.5.1 Alat Penelitian

Alat yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Autoclave
- b. UV sterilizer
- c. Masker

- d. *Handschoen*
- e. *Disposable syringe 10 cc*
- f. Tabung heparin
- g. *Tourniquet*
- h. *Laminar air flow cabinet*
- i. Tabung *falcon 15ml*
- j. *Cover glass*
- k. *Object glass*
- l. *Blue tip*
- m. *Yellow tip*
- n. *Well Plate 24*
- o. Rak tabung
- p. Mikroskop *inverted*
- q. Pipet mikro
- r. *Petridish kecil*
- s. Gelas ukur
- t. *Centrifuse*
- u. *Inkubator shaker*
- v. *Stopwatch*
- w. Timbangan
- x. *Vortex*
- y. *Syringe filter 0.2 µm.*

3.5.2 Bahan Penelitian

Bahan –bahan yang akan digunakan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. *Trypan blue*
- b. *Lymphoprep*
- c. Alkohol
- d. Akuades steril
- e. *Media culture*

- f. Darah vena perifer
- g. *Giemsa stain*
- h. Pewarnaan gram
- i. *Alumunium foil*
- j. Kopi robusta merek Gunung Ijen produksi PTPN XII yang telah diproses *spray drying*
- k. Kopi bubuk robusta merek Gunung Ijen produksi PTPN XII
- l. *S. mutans* (Laboratorium Biologi F. MIPA Universitas Jember)

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Pengurusan Surat Izin Penelitian dan *Ethical Clearance*

Pengurusan surat izin penelitian ditujukan untuk Laboratorium *Bioscience* RSGM Universitas Jember, dan *ethical clearance* diajukan kepada Komisi Etik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

3.6.2 Prosedur Pembuatan Kopi *Spray Drying*

Prosedur pembuatan bubuk kopi *spray drying* dilakukan di Laboratorium RPHP Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember. Bubuk kopi robusta merek Gunung Ijen produksi PTPN XII sebanyak 500 gram dilakukan proses ekstraksi dengan menggunakan air mendidih dengan perbandingan kopi dan air sebesar 1:2, kemudian dilakukan proses penyaringan menggunakan ayakan *mess* 100. Hasil penyaringan dilakukan penyemprotan dengan suhu 140°C sehingga air akan menguap dan filtrat akan jatuh ke tabung menjadi kopi bubuk instan.

3.6.3 Sterilisasi Alat

Semua alat yang akan digunakan dicuci bersih kemudian disterilkan di dalam alat sterilisasi (*autoclave*) khusus untuk alat yang terbuat dari kaca dan logam selama 15 menit dengan suhu 12°C. Alat yang terbuat dari bahan yang tidak tahan terhadap suhu tinggi disterilisasi menggunakan alkohol.

3.6.4 Prosedur Pengambilan Sampel Darah

Subyek peneliti telah menyetujui *informed consent*, kemudian subyek peneliti diminta untuk duduk nyaman mungkin. Memasang *tourquinet* kira kira 10 cm di atas *fossa cubiti*. Membersihkan kulit pada daerah yang akan dilakukan pengambilan sampel darah menggunakan alkohol 70%. Melakukan pengambilan darah sebanyak 6 ml dari vena perifer orang sehat yaitu pada vena *brachialis* menggunakan *disposable syringe*. Darah tersebut dimasukkan kedalam tabung heparin dan digoyang goyangkan sampai merata dan agar tidak terjadi penggumpalan.

3.6.5 Prosedur Isolasi Monosit

- a. Darah vena yang telah dimasukkan ke dalam tabung heparin dimasukkan ke dalam dua tabung *falcon* yang lain yang telah diisi 3 ml larutan *lymphoprep* dengan perbandingan dengan darah 1 : 2. Darah dimasukkan melalui dinding tabung dengan mikro pipet secara perlahan.
- b. Tabung *falcon* tersebut disentrifugasi dengan kecepatan 2100 rpm selama 30 menit pada suhu 27°C. Hasil dari sentrifugasi akan membentuk 4 lapisan yaitu plasma darah pada lapisan paling atas, *mononuclear* pada lapisan kedua, *lymphoprep* pada lapisan ketiga dan *polymorfonuclear eritrosit* pada lapisan terbawah.
- c. Melakukan pengambilan lapisan kedua yaitu *mononuclear* pada masing-masing tabung *falcon* dengan menggunakan mikro pipet dengan perlahan kemudian dimasukkan ke dalam satu tabung *falcon* lain.
- d. Sampel *mononuclear* diencerkan menggunakan media RPMI kemudian dihomogenkan.
- e. Melakukan sentrifugasi dengan kecepatan 1800 rpm selama 15 menit dengan suhu 20°C.
- f. Menyiapkan *well plate culture 24*, dan memasukkan *coverslip steril* pada masing masing *well* sesuai dengan kebutuhan.
- g. Meneteskan larutan hasil isolasi sel monosit dengan menggunakan mikro pipet sebanyak 100 µl pada *coverslip*.

- h. *Well plate culture 24* diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37 °C, setelah selesai dikeluarkan dari *incubator shaker*, ditambahkan 1 ml media kultur RPMI pada tiap *well*, diinkubasi lagi selama 30 menit pada suhu 37°C.
- i. *Well plate culture 24* setelah diinkubasi selama 30 menit dikeluarkan dari *incubator shaker*, kemudian melakukan pengamatan di bawah mikroskop *inerted*.
- j. Tiap *well* dilakukan pencucian menggunakan media RPMI sebanyak 3 kali secara perlahan untuk melepaskan kontaminasi.
- k. Mengamati kembali *well plate culture 12* diamati kembali menggunakan mikroskop *inverted*, untuk melihat kontaminasi.
- l. Sel siap untuk diberi perlakuan (Pratama, 2018).

3.6.6 Pembuatan Seduhan Kopi Robusta

a. Seduhan Kopi *Spray Drying*

Pembuatan seduhan kopi *spray drying* dengan konsentrasi sebesar 1,5%, dilakukan dengan cara melarutkan bubuk kopi robusta merek Gunung Ijen produksi PTPN XII yang telah diproses *spray drying* dengan aquades mendidih. Pelarutan dilakukan dengan melarutkan 3 gram bubuk kopi *spray drying* dengan aquades mendidih 200 ml. Seduhan kopi *spray drying* ditempatkan pada *hotplate stirrer* dengan kecepatan 60 rpm selama 1 menit, lalu seduhan dimasukkan kedalam *falcon* kemudian di sentrifugasi. Hasil sentrifugasi didiamkan hingga mencapai suhu ruangan, kemudian disaring menggunakan *whatman puradisk syringe filter* 0,2 µl.

b. Seduhan Kopi Bubuk Biasa

Pembuatan seduhan produk bubuk kopi biasa dengan konsentrasi sebesar 1,5%, dilakukan dengan cara melarutkan bubuk kopi merek Gunung Ijen produksi PTPN XII dengan aquades mendidih. Pelarutan dilakukan dengan melarutkan 3 gram bubuk kopi dengan aquades mendidih 200 ml. Seduhan kopi ditempatkan pada *hotplate stirrer* dengan kecepatan 60 rpm selama 1 menit, lalu seduhan dimasukkan kedalam *falcon* kemudian di sentrifugasi. Hasil sentrifugasi

didamkan hingga mencapai suhu ruangan, kemudian disaring menggunakan *whatman puradisk syringe filter* 0,2 µl.

3.6.7 Pembuatan suspensi bakteri *Streptococcus mutans*

Pembuatan media pertumbuhan bakteri dilakukan dengan memasukkan *Brain Heart Infusion Broth* (BHI-B) sebanyak 3,7 gram ke dalam *erlenmeyer*, kemudian ditambahkan 100 ml aquades steril dan dipanaskan di atas kompor listrik hingga mendidih. Tabung *erlenmeyer* ditutup dengan kapas dan disterilkan dalam *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit. Media BHI-B dimasukkan ke dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam untuk memastikan media dalam keadaan steril (Safaatin, 2018)

Pembuatan suspensi *S. mutans* dilakukan dengan cara mengambil 4 ml BHIB kedalam tabung reaksi. Menambahkan 1 ose isolate *S. mutans* kemudian dicampurkan dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam. Melakukan pengecatan gram untuk melihat morfologi bakteri *S. mutans* (Rahim dan Khan, 2006). Penentuan konsentrasi bakteri dilakukan dengan *densicheck* sebesar 1 *mcfarland*, kemudian dilakukan tahapan penyaringan untuk memisahkan antara bakteri dengan medianya dan dilakukan dengan menggunakan *syringe filter* (Sukma, 2018).

3.6.8 Prosedur Perlakuan

Isolat monosit yang telah menempel pada *well plate culture* diberikan perlakuan sesuai dengan kelompoknya masing masing. Kelompok kontrol positif dan kelompok kontrol negatif ditetaskan media RPMI sebanyak 100 µl, kelompok perlakuan I dan II ditetaskan kopi bubuk biasa sebanyak 100 µl, dan kelompok perlakuan III dan perlakuan IV ditetaskan kopi *spray drying* sebanyak 100 µl. *Well plate* diletakkan pada inkubator *shaker* selama 1,5 jam, dilanjutkan pemaparan *S. mutans* sebanyak 100 µl pada *well plate culture* kelompok kontrol positif, perlakuan II, dan perlakuan IV. Pada kelompok kontrol negatif, perlakuan I dan perlakuan III diberi media RPMI sebanyak 100 µl, kemudian *well plate* diletakkan kembali pada inkubator *shaker* selama 1,5 jam pada suhu 37°C.

3.6.9 Prosedur Uji Viabilitas Monosit

Inkubasi telah selesai dilakukan, media *well plate* diganti dengan HBSS dan diberi pewarnaan menggunakan *trypan blue* sebanyak 50 μ l. Dilakukan pengamatan dan pemotretan menggunakan mikroskop *inverted* perbesaran 400x sebanyak empat lapang pandang pada setiap well (Budirahardjo, 2016).

3.6.10 Perhitungan Viabilitas Monosit

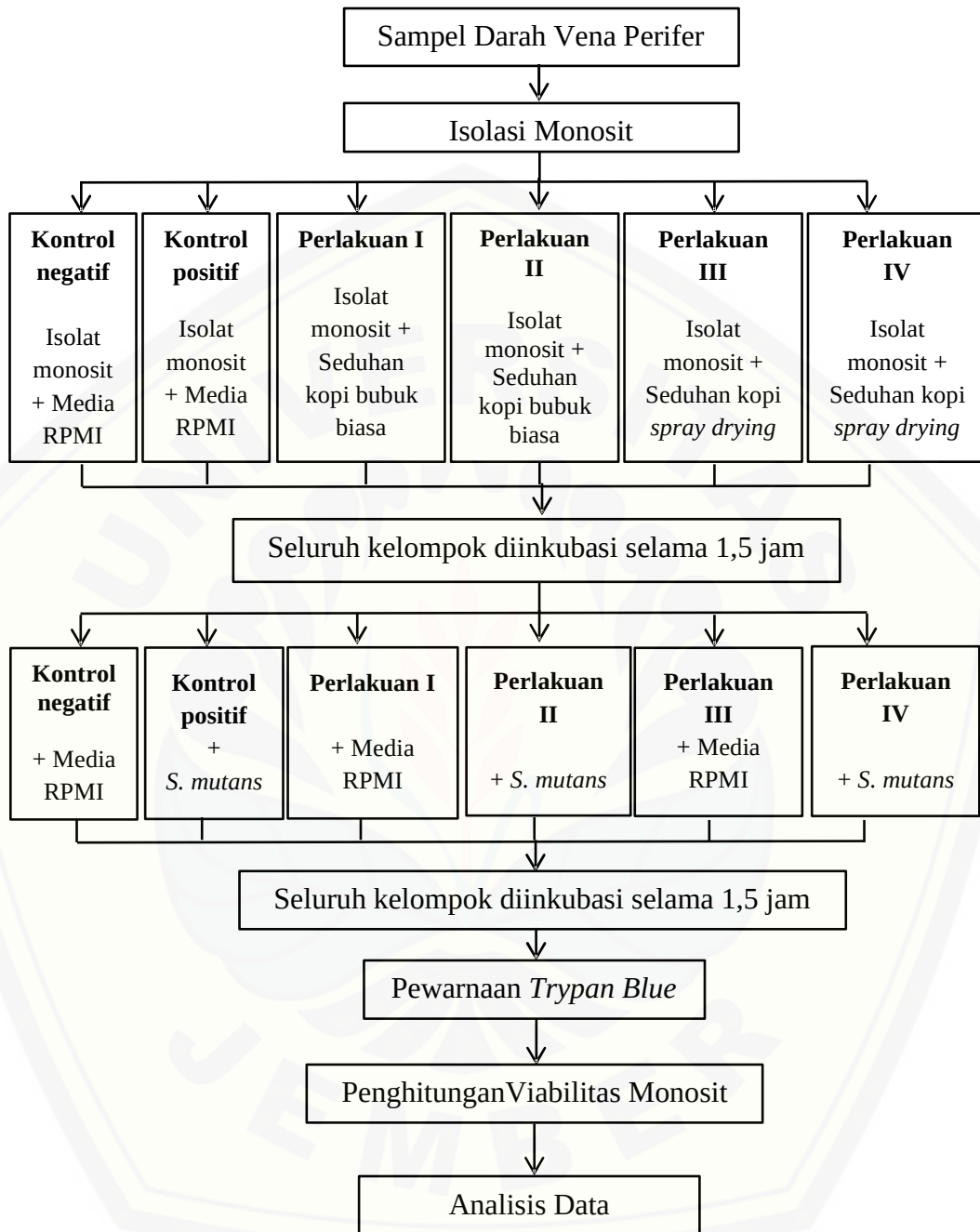
Perhitungan viabilitas monosit dilakukan menggunakan mikroskop *inverted* dengan perbesaran 400x dalam empat lapang pandang oleh tiga orang pengamat. Sel yang memiliki membran yang utuh dan bewarna bening dihitung sebagai sel yang *viable*, sedangkan sel yang menyerap warna biru dihitung sebagai sel *non-viable*. Parameter yang digunakan dalam penelitian ini adalah persentase monosit *viable* dengan jumlah seluruh sel monosit. Dapat diperoleh dengan rumus (Louis dan Siegel, 2011):

$$\text{Viabilitas sel (\%)} = \frac{\text{Jumlah monosit yang viabel}}{\text{Jumlah monosit seluruhnya}} \times 100$$

3.7 Analisis Data

Hasil perhitungan monosit dilakukan analisis data menggunakan aplikasi *Statistical Package for the Social Science* (SPSS) 16.0. Uji *Shapiro Wilk* digunakan untuk menguji normalitas dan uji *Levene-test* untuk uji homogenitas. Data dikatakan normal dan homogen jika $p > 0,05$. Hasil pengolahan data dilanjutkan pengujian *One-Way Anova* untuk mengetahui perbedaan seluruh kelompok dan uji lanjutan *Least Significant Difference* (LSD) untuk mengetahui perbedaan pada setiap kelompok. Data dikatakan memiliki perbedaan yang bermakna jika memiliki nilai $p < 0,05$.

3.8 Alur Penelitian



BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Seduhan kopi robusta (*Coffea canephora*) yang diproses secara *spray drying* terbukti dapat meningkatkan viabilitas monosit yang dipapar *Streptococcus mutans* secara *in vitro*.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui berbagai konsentrasi kopi robusta *spray drying* dan waktu yang efektif untuk meningkatkan viabilitas monosit.
2. Perlu dilakukan penelitian mengenai efek seduhan kopi robusta dengan jenis pengeringan yang lain terhadap viabilitas monosit.
3. Perlu dilakukan penelitian selanjutnya mengenai efek seduhan kopi robusta *spray drying* terhadap viabilitas monosit yang dipapar *Streptococcus mutans* secara *in vivo*.

DAFTAR PUSTAKA

- Afriliana, A. 2018. *Teknologi Pengolahan Kopi Terkini*. Yogyakarta: Deepublish CV Budi Utama.
- Astuti, Sussi. 2008. Isoflavon kedelai dan potensinya sebagai penangkap radikal bebas. *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian*. 13 (2): 126-136.
- Baratawidjaja, K. G., dan I. Rengganis. 2013. *Imunologi Dasar*. Edisi ke-10. Jakarta: Balai Penerbit FKUI.
- Bidarisugma, B., S. P. Timur dan R. Purnamasari. 2012. Antibodi monoklonal *streptococcus mutans* 1 (c) 67 kda sebagai imunisasi pasif dalam alternatif pencegahan karies gigi secara topikal. *BIMKGI*. 1(1): 1-7.
- Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., dan Kalayci, O. 2012. Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organization Journal*. 5:270.
- Budiraharjo, Roedy. 2016. Peningkatan Viabilitas Monosit oleh Biji Kopi Robusta terhadap *Streptococcus Mutans*. <http://repository.unej.ac.id/handle/123456789/73665> [Diakses pada 17 Mei 2018]
- Buehler, L.K. 2016. *Cell Membranes*. New York: Garland Science, Taylor & Francis Group.
- Campbell, Neil A., J. B. Reece dan Urry, Cain, Wasserman, Minorsky, Jackson. 2008. *Biologi Edisi Kedelapan Jilid 1*. Jakarta: Erlangga.
- Ciptaningsih, E. 2012. Uji Aktivitas Antioksidan dan Karakteristik Fitokimia Pada Kopi Luwak Arabika dan Pengaruhnya terhadap Tekanan Darah Tikus Normal dan Tikus Hipertensi. *Thesis*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Daniel, W. 2009. *Biostatistic Foundation for Analysis in The Health Sciences 9th edition*. United States of America: Wiley.
- Delita, Y. N. 2016. Viabilitas Monosit yang Dipapar *Streptococcus viridans* dan Diinkubasi dengan Minyak Zaitun (*Oleum Olivae*). *Skripsi*. Jember: Universitas Jember.

- Dorland, W. A. N. 2012. *Kamus Saku Kedokteran Dorland Edisi 28*. Jakarta: EGC.
- Farah, A. 2012. *Coffee: Emerging Health Effect And Disease Prevention*. Oxford: Wiley-Blackwell.
- Farhaty, Naely dan Muchtaridi. 2016. Tinjauan kimia dan aspek farmakologi senyawa asam klorogenat pada biji kopi : review. *Farmaka Suplemen*. 14 (1): 214-227.
- Fatmawati, D. W. A. 2011. Hubungan biofilm *streptococcus mutans* terhadap resiko terjadinya karies gigi. *Stomatognatic(J.K.G Unej)*. 8 (3): 127-130.
- Gaschler, M. M. dan B. R. Stockwell. 2017. Lipid peroxidation in cell death. *Biochemical and Biophysical Research Communications*: 482.
- Ghirisan, A. dan Vasile M. 2017. Comparative Study of Spray Drying and Freeze Drying on the Soluble Coffee Properties. *Studia UBB Chemia LXII* (4): Tom II 309-316.
- Gunawijaya, F.A., A. Hartono dan D. Djuantoro. 2013. *Sinopsis Organ System Hematologi dan Onkologi*. Tangerang: Karisma Publishing Group.
- Gutomo, A. S. dan Y. Kristanti. 2011. Perawatan saluran akar satu kunjungan disertai restorasi dan pasak resin komposit pada nekrosis pulpa dengan lesi periapikal (terhadap gigi insisivus sentralis kanan maksila). *Majalah Kedokteran Gigi*. 18(1): 39-43.
- Guyton, A. C. dan J. E. Hall. 2014. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Edisi keduabelas*. Singapore: Elsevier.
- Herawati, H., dan Sukohar A. 2013. Pengaruh Chlorogenic acid Kopi Robusta Lampung terhadap Ekskresi Cyclin D1 dan Caspase 3 pada Cell Lines HEP-G2. Lampung: Lembaga Penelitian Universitas Lampung.
- Hestianah, E. P., C. Anwar, S. Kuncorojakti dan L. R. Yustinasari. 2013. *Buku Ajar Histologi Veteriner*. Jilid 1. Surabaya: Revka Petra Media.
- Iddawani. 2015. Pengolahan Pascapanen Kopi. Litbang Pertanian <http://nad.litbang.pertanian.go.id/ind/index.php/info-teknologi/664-pengolahan-pascapanen-kopi>. [07 Juli 2018]

- Inggrid, M. dan H. Santoso. 2014. *Ekstraksi Antioksidan dan Senyawa Aktif dari Buah Kiwi (Actinidia deliciosa)*, Perjanjian No: III/LPPM/2014-03/10-P, Universitas Katolik Parahyangan.
- Jawetz, E., Melnick dan Adelberg. 2010. *Review of Medical Microbiology 15th edition*. California: Lange Medical Publication.
- Kiswari, Rukman. 2014. *Hematologi dan Transfusi*. Jakarta: Erlangga.
- Lavenia, Avissa. 2010. Penghambatan Peroksidasi Lipid oleh Ekstrak Kulit Batang Mahoni (*Switenia macrophylla King*) pada Tikus Hiperurisemia. *Skripsi*. Bogor. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- Liantari, D. S. 2014. Effect of wuluh starfruit leaf extract for *streptococcus mutans* growth. *J Majority*. 3(7): 27-33.
- Louis, K.S. dan A. C. Siegel. 2011. Cell viability analysis using trypan blue: manual and automated methods. *Methods Mol Biol*. 740:7-12.
- Mulanto, S. dan E. Suharyanto. 2012. *Kopi, Seduhan, dan Kesehatan*. Jember; Puslitkoka Indonesia.
- Namboodiripad, P. C. A., dan S. Kori. 2009. Can coffee prevent caries?. *Journal of Conservative Dentistry*. 12(1) : 17-21.
- Niseteo, T. D. K., A. Belščak-Cvitanovic' dan D. H. Maja B. 2012. Bioactive composition and antioxidant potential of different commonly consumed coffee brews affected by their preparation technique and milk addition. *Journal of Sci Verse Science Direct Food Chemistry* 134: 1870–1877.
- Notoatmodjo, S. 2010. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: Rineka Cipta.
- Nugraha, A.W. 2008. *Streptococcus mutans, Si Plak Dimana-mana*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta.
- Pastiniasih, Luh. 2012. Pengolahan Kopi Instan Berbahan Baku Kopi Lokal Buleleng, Bali (Campuran Robusta Dan Arabika). *Skripsi*. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor.

- Prastowo, B., Karmawati., Rubijo., Siswanto., Chandra, I. dan S. Munarso. 2010. *Budidaya dan Pasca Panen Kopi*. Bogor: Pusat Penelitian dan Pengembangan.
- Pratama, D.L.A.N. 2018. Aktivitas Antioksidan Seduhan Bubuk Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Terhadap Radikal Superoksida Monosit yang Dipapar Bahan *Dental Bleaching* Karbamid Peroksida. *Skripsi*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Praptiningsih, Yhulia dan Niken W.P. 2015. Aplikasi Tapioka Teroksidasi Pada Enkapsulasi Antioksidan Dari Ampas Seduhan Kopi dengan Tekhnik Coacervation. Laporan Akhir Penelitian Hibah Bersaing.
- Pratiwi, I.D.P. Kartika. 2017. Modul MK. Teknologi Kopi. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Udayana.
- Purwanto, dan I. D. A. Susilawati. 2014. Induksi *Streptococcus mutans* terhadap Aktivitas Proteinase Netrofil pada Degradasi Kolagen Tipe IV. *e-Jurnal Pustaka Kesehatan*. 2 (1): 160-166.
- Rahardjo, Pudji. 2012. *Kopi Panduan Budi Daya dan Pengolahan Kopi Arabika dan Robusta*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Rahardjo, Pudji. 2017. *Berkebun Kopi*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Rahim, Z.H.A. dan Khan, H.B.S.G. 2006. Comparative studies on the effect of crude aqueous (ca) and solvent (cn) extract of clove on the cariogenic properties of streptococcus mutans. *Journal Oral Science*. 48;117-123.
- Retno, Tyas., S. K. Widyastuti dan N. Suarsana. 2012. Pengaruh pemberian isoflavon terhadap peroksidasi lipid pada hati tikus normal. *Indonesia Medicus Veterinus*. 1(4) : 483 – 491.
- Ridwansyah. 2003. Pengolahan Kopi. Digital Library. Jurusan Teknologi Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara, Sumatera Utara. <http://repository.usu.ac.id/bitstream/123456789/776/1/tekper-ridwansyah4.pdf> . [Diakses 2 Juni 2018]
- Riskesdas. 2013 . *Riset Kesehatan Dasar*. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI.

- Rukmana, H.R. 2014. *Untung Selangit dari Agribisnis Kopi*. Yogyakarta: Lily Publisher.
- Safaatin, A. 2018. Aktivitas Antioksidan Seduhan Bubuk Kopi Robusta Terhadap Radikal Superoksida Neutrofil In Vitro. *Skripsi*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Sayuti, Kesuma dan R. Yenrina 2015. *Antioksidan Alami dan Sintetik Cetakan I*. Padang: Andalas University Press.
- Sukma, P. V. 2018. Aktivitas Antioksidan Seduhan Bubuk Kopi Robusta (*Coffea canephora*) terhadap Produksi Radikal Superoksida Monosit In Vitro. *Skripsi*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Strober, W. 2015. Trypan blue exclusion test of cell viability. *Curr. Protoc. Immunol.* 111:A3.B.1-A3.B.3.
- Wahdaningsih, Sri. 2011. Aktivitas Penangkap Radikal Bebas Dari Batang Pakis (*Alsophila glauca* J. Sm). Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Tanjungpura Pontianak.
- Werdhasari, Asri. 2014. Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia.* 3 (2); 59-68.
- Williams, L. dan Wilkins. 2009. *Wintrobe's Clinical Hematology*. Philadelphia. Wolters Kluwer.
- Yashin, A., Y. Yashin, J. Y. Wang, dan B. Nemzer. 2013. Antioxidant and antiradical activity of coffee. *Antioksidan.* 2(4): 230–245.
- Yunarti. 2007. Pengaruh *Polyphenols* Teh Hijau terhadap Kapasitas Produksi Tnf- α oleh Sel Mononuklear Darah Tepi pada Penderita Karsinoma Nasofaring yang Mendapat Radioterapi. *Thesis*. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Yuslianti, Euis Reni. 2018. Pengantar Radikal Bebas dan Antioksidan. Jogjakarta: Deepublish.
- Yusmarini. 2011. Mini review senyawa polifenol pada kopi pengaruh pengolahan, metabolisme dan hubungannya dengan kesehatan. *SAGU.* 10 (2) : 22-30.
- Yuwono, T. 2011. *Biologi Molekuler Edisi 5*. Jakarta: Erlangga.

LAMPIRAN

Lampiran A. Surat Izin Penelitian



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
 UNIVERSITAS JEMBER
 FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
 Jl. Kalimantan No. 37 Jember ☎(0331) 333536, Fak. 331991

Nomor : 3645/UN25.8.TL/2018
 Perihal : Ijin Penelitian

Kepada Yth.
 Direktur RSGM Universitas Jember
 di
 Jember

Dalam rangka pengumpulan data penelitian guna penyusunan skripsi maka, dengan hormat kami mohon bantuan dan kesediaannya untuk memberikan ijin penelitian bagi mahasiswa kami dibawah ini :

- | | | |
|----|-------------------------|---|
| 1 | Nama | : Fiftiani Syarah |
| 2 | NIM | : 15161010101123 |
| 3 | Semester/Tahun | : 2017/2018 |
| 4 | Fakultas | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember |
| 5 | Alamat | : Jl. Semeru II no B3 Sumbersari Jember |
| 6 | Judul Penelitian | : Efek Seduhan Kopi Robusta <i>Spray Drying</i> terhadap Viabilitas Monosit yang Dipapar <i>Streptococcus mutans</i> Secara <i>In Vitro</i> |
| 7 | Lokasi Penelitian | : Laboratorium Bioscience RSGM Universitas Jember |
| 8 | Data/alat yang dipinjam | : Mikroskop inverted, laminar flow, dll |
| 9 | Waktu | : Agustus 2018 s/d Selesai |
| 10 | Tujuan Penelitian | : Untuk Menganalisis Viabilitas Monosit yang Diinkubasi Seduhan Kopi Robusta <i>Spray Drying</i> dan Dipapar <i>Streptococcus mutans</i> Secara <i>in vitro</i> |
| 11 | Dosen Pembimbing | : 1. Dr. drg. I Dewa Ayu Susilawati, M.Kes
2. drg. Nadie Fatimatuzzahro, MD.Sc |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih

Jember, 25 September 2018
 an. Dekan
 Wakil Dekan I,

Dr. drg. IDA Susilawati, M.Kes
 NIP. 196109031986022001

Lampiran B. *Ethical Clearance*

	<p>KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN (KEPK) FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI UNIVERSITAS JEMBER (THE ETHICAL COMMITTEE OF MEDICAL RESEARCH FACULTY OF DENTISTRY UNIVERSITAS JEMBER)</p>
<p>ETHIC COMMITTEE APPROVAL <u>No. 112/UN25.8/KEPK/DL/2018</u></p>	
Title of research protocol	: "The Effect of Spray Drying Robusta Coffee Brew on the Viability of Monocytes Exposed by <i>Streptococcus mutans</i> In Vitro"
Document approved	: Research Protocol
Principal investigator	: Fiftiani Syarah
Member of research	: Asmaradita Nourisha Isthi
Responsible Physician	: Fiftiani Syarah
Date of approval	: August 10 th , 2018
Place of research	: Laboratorium of Bioscience Faculty of Dentistry Universitas Jember
<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, August 14th, 2018</p>	
Dean of Faculty of Dentistry Universitas Jember	Chairperson of Research Ethics Committee Faculty of Dentistry Universitas Jember
  (Dr. B. Rahardyan P. M. Kes, Sp. Pros)	  (Prof. Dr. I Dewa Ayu Ratna Dewanti, M.Si)

Lampiran C. Surat Identifikasi Bakteri



**LABORATORIUM MIKROBIOLOGI FAKULTAS
MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN
ALAM (MIPA) JURUSAN BIOLOGI
UNIVERSITAS JEMBER**

Jalan Kalimantan III No. 23 FMIPA, Universitas Jember
Jawa Timur 68123

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI

Sehubungan dengan keperluan identifikasi bakteri yang digunakan
Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi FMIPA oleh:

Nama : 1. Asmaradita Nourisha Isthi (151610101093)
2. Fiftiani Syarah (151610101123)
Instansi : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

melalui pengecatan Gram dan pengamatan mikroskopis menunjukkan
bahwa bakteri tersebut adalah *Streptococcus mutans*.

Jember, 8 Oktober 2018

Kepala Laboratorium Mikrobiologi

Drs. Rudju Winarsa, M. Kes
NIP. 196008161989021001

Lampiran D. Lembar Persetujuan (*Informed Consent*)

**SURAT PERSETUJUAN
(INFORMED CONCENT)**

Saya yang bertandatangan di bawah ini :

Nama :

Fakultas/NIM :

Usia :

Jenis Kelamin :

Menyatakan bersedia untuk menjadi subyek penelitian dari :

Nama : Fiftiani Syarah

Fakultas/NIM : Kedokteran Gigi / 151610101123

Alamat : Jl. Semeru 2 no B3 Sumbersari Jember

No Telp : 081234066525

Dengan judul penelitian skripsi “Efek Seduhan Kopi Robusta *Spray Drying* terhadap Viabilitas Monosit yang Dipapar *Streptococcus mutans* secara *In Vitro*”, dimana prosedur pelaksanaan untuk pengambilan sampel ini tidak akan menimbulkan resiko dan ketidaknyamanan pada subyek yang bersangkutan.

Saya telah membaca atau telah dibacakan prosedur penelitian yang terlampir dan telah diberi kesempatan untuk menanyakan hal-hal yang belum jelas dan diberi jawaban yang jelas. Dengan penuh kesadaran dan tanpa paksaan saya menyatakan sukarela dan bersedia menjadi subyek dalam penelitian ini.

Jember,

Yang menyetujui,
Subyek penelitian

.....

Lampiran E. Alat dan Bahan Penelitian

E.1 Alat penelitian



UV sterilizer



Autoclave



Blue tip



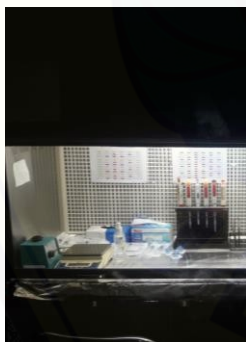
Yellow tip



Tabung heparin



Tourniquet



Laminar air flow



Tabung Falcon 15mL



Cover slip



Disposable syringe



Well plate 24



Oven



Mikroskop *inverted*



Pipet mikro



Vortex



Petridish kecil



Centrifuge



Inkubator shaker



Timbangan



Densicheck



Syringe filter

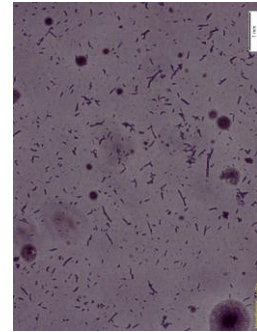
E.2 Bahan Penelitian



Lymphoprep



Trypan blue



Streptococcus mutans



Alkohol



Media Culture



Darah vena perifer



Kopi spray drying



Kopi bubuk

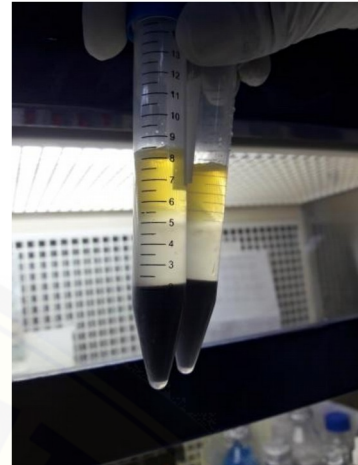
Lampiran F. Prosedur Penelitian



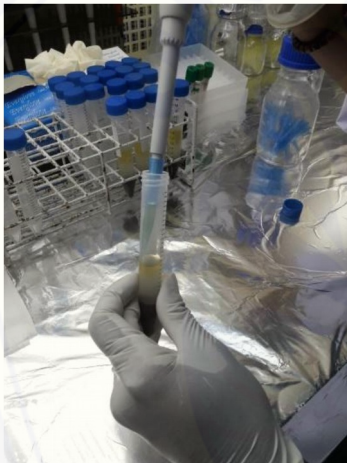
Pengambilan sampel darah



Memasukkan ke lymphoprep 1:2



Sentrifugasi (Hasil Sentrifugasi)



Mengambil lapisan mononuklear



Penambahan media kultur



Penempelan sel



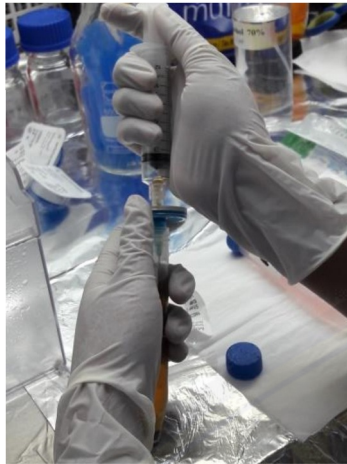
Pencucian sel



Inkubasi 30 menit



Pembuatan seduhan kopi



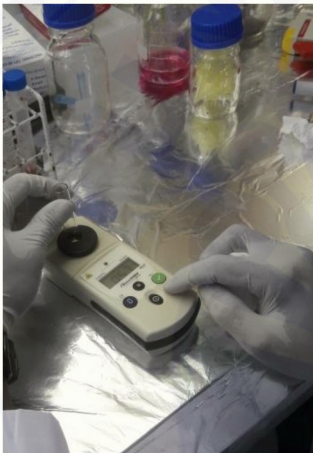
Penyaringan hasil sentrifugasi kopi



perlakuan kopi 100 μ l



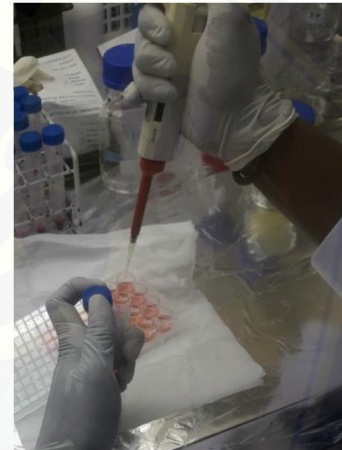
Inkubasi 30 menit



Penentuan konsentrasi bakteri



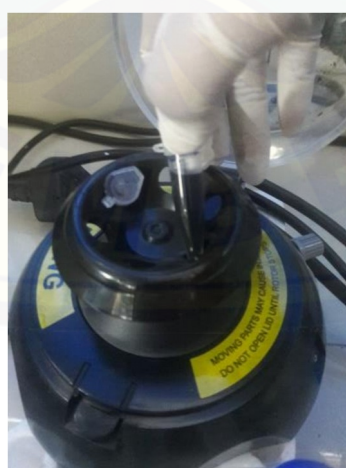
Pengambilan antigen *S. mutans*



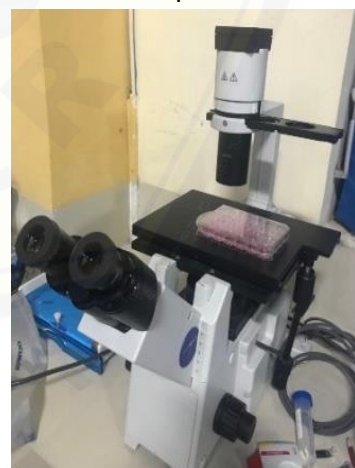
Perlakuan *S. mutans* 100 μ l



Inkubasi 90 menit



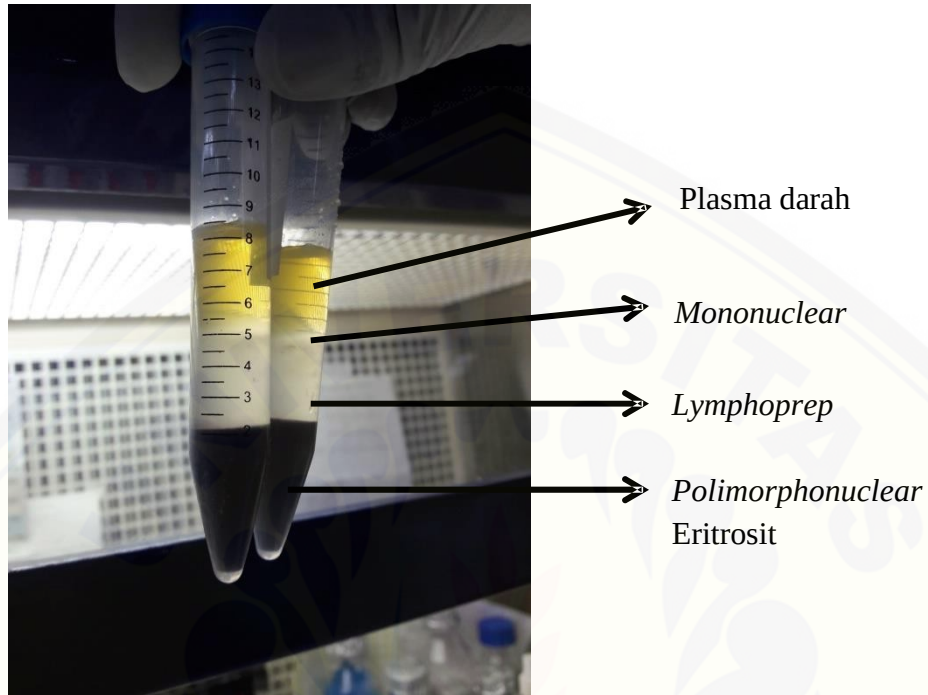
Persiapan pewarnaan



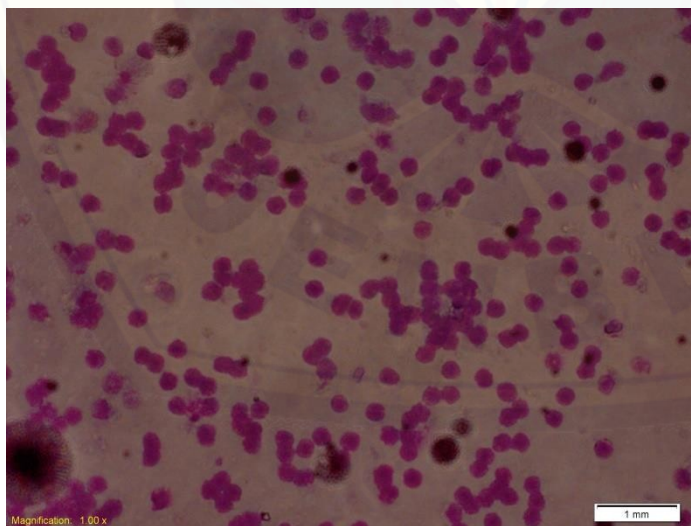
Pengamatan viabilitas sel

Lampiran G. Gambaran Hasil Isolasi Monosit

G.1 Hasil Setrifugasi Prosedur Isolasi Monosit

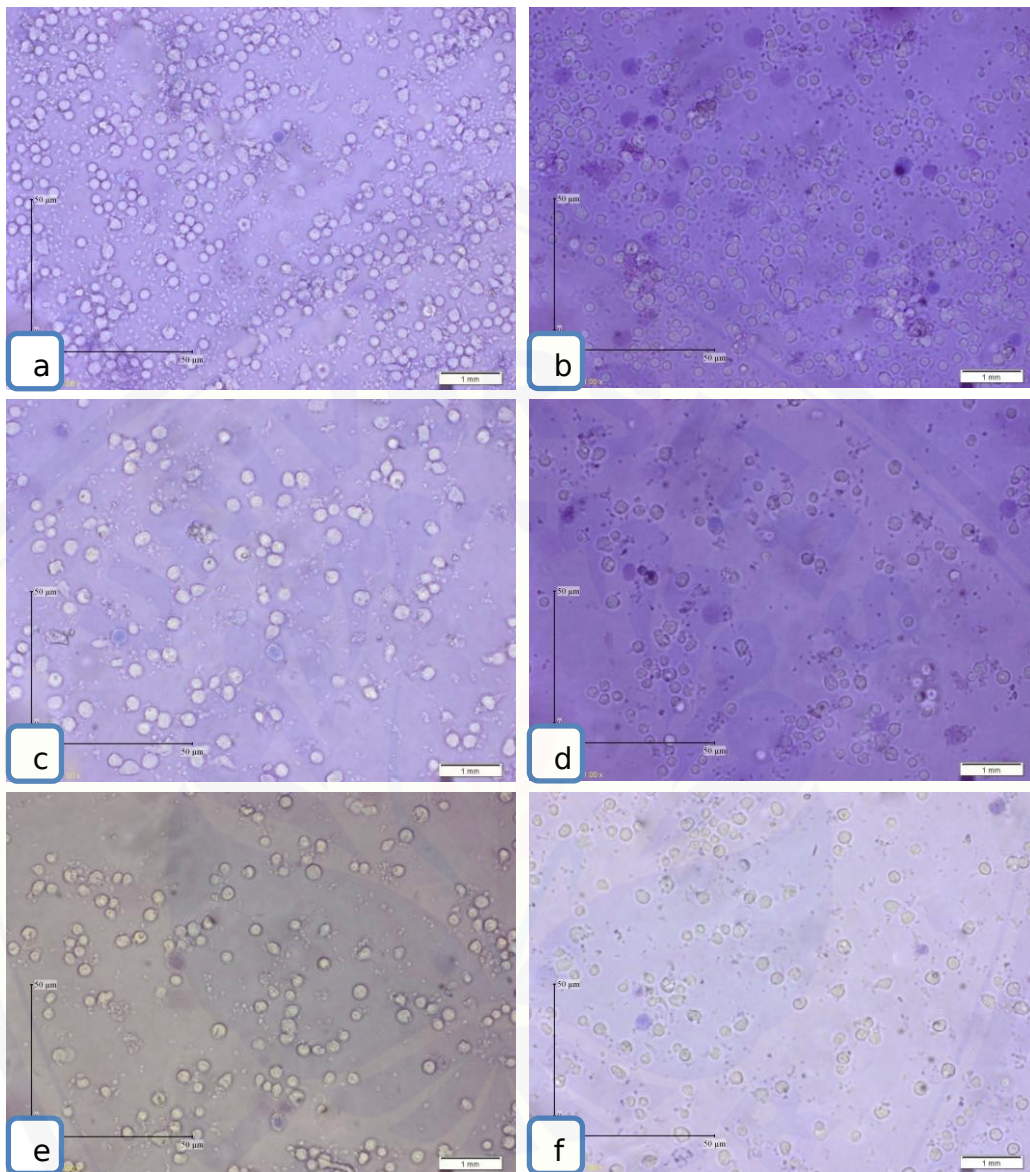


G.2 Gambaran Mikroskopis Hasil Isolasi Monosit Pewarnaan Giemsa



Gambaran mikroskopis isolasi monosit pengecatan giemsa perbesaran 400x

Lampiran H. Hasil Penelitian



- a. Monosit (Kontrol negatif)
- b. Monosit + *S. mutans* (Kontrol positif)
- c. Monosit + seduhan kopi bubuk biasa (Perlakuan I)
- d. Monosit + seduhan kopi bubuk biasa + *S. mutans* (Perlakuan II)
- e. Monosit + seduhan kopi *spray drying* (Perlakuan III)
- f. Monosit + seduhan kopi *spray drying* + *S. mutans* (Perlakuan IV)

Lampiran I. Tabel Perhitungan Viabilitas Monosit

I.1 Kontrol negatif (Monosit)

	Pengulangan 1	Pengulangan 2	Pengulangan 3	Pengulangan 4
Pengamat 1	98.84	99.33	98.41	98.39
Pengamat 2	98.7	99.43	98.49	98.32
Pengamat 3	99.07	99.43	98.49	98.32
Rata-Rata	98.87	99.4	98.46	98.34
Total Rata-rata				98.77

I.2 Kontrol positif (Monosit + *S. mutans*)

	Pengulangan 1	Pengulangan 2	Pengulangan 3	Pengulangan 4
Pengamat 1	93.34	94.89	94.29	95.01
Pengamat 2	92.95	94.7	93.76	95.32
Pengamat 3	93.13	94.37	94.39	95.09
Rata-Rata	93.14	94.65	94.15	95.14
Total Rata-rata				94.27

I.3 Perlakuan I (Monosit + Kopi Bubuk)

	Pengulangan 1	Pengulangan 2	Pengulangan 3	Pengulangan 4
Pengamat 1	97.41	96.7	97.21	96.76
Pengamat 2	97.57	96.52	97.65	96.94
Pengamat 3	97.61	96.72	97.13	96.98
Rata-Rata	97.53	96.65	97.33	96.89
Total Rata-rata				97.1

I.4 Perlakuan II (Monosit + Kopi Bubuk + *S. mutans*)

	Pengulangan 1	Pengulangan 2	Pengulangan 3	Pengulangan 4
Pengamat 1	96.31	96.91	96.99	90.38
Pengamat 2	95.68	97.52	97.39	91.38
Pengamat 3	96.19	97.3	96.96	92.19
Rata-Rata	96.06	97.24	97.11	91.32
Total Rata-rata				95.43

I.5 Perlakuan III (Monosit + Kopi *Spray Drying*)

	Pengulangan 1	Pengulangan 2	Pengulangan 3	Pengulangan 4
Pengamat 1	98.47	97.62	97.35	96.96
Pengamat 2	98.42	97.84	97.34	96.93
Pengamat 3	98.46	98.13	96.96	96.95
Rata-Rata	98.45	97.86	97.22	96.95
Total Rata-rata				97.62

I.6 Perlakuan IV (Monosit + Kopi *Spray Drying* + *S. mutans*)

	Pengulangan 1	Pengulangan 2	Pengulangan 3	Pengulangan 4
Pengamat 1	97.53	97.03	97.16	96.54
Pengamat 2	97.48	96.66	97.14	96.7
Pengamat 3	97.51	96.28	96.66	96.76
Rata-Rata	97.51	96.66	96.99	96.67
Total Rata-rata				96.95

Lampiran J. Analisis Data

J.1 Uji Normalitas *Shapiro Wilk*

Tests of Normality

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Viabilitas Kontrol	.194	4	.	.969	4	.836
Kontrol Negatif	.240	4	.	.923	4	.552
Perlakuan I	.224	4	.	.954	4	.744
Perlakuan II	.216	4	.	.949	4	.709
Perlakuan III	.264	4	.	.851	4	.229
Perlakuan IV	.339	4	.	.770	4	.058

a. Lilliefors Significance Correction

Data terdistribusi normal ketika $p > 0.05$

J.2 Uji Homogenitas *Levene Test*

Test of Homogeneity of Variances

Viabilitas

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.304	5	18	.009

Data homogen ketika $p > 0.05$

J.3 Uji Statistik Parametrik *One-way Anova*

ANOVA

Viabilitas

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	51.433	5	10.287	6.477	.001
Within Groups	28.585	18	1.588		
Total	80.018	23			

Data terdapat perbedaan ketika $p < 0.05$

J.4 Uji Post Hoc *Least Significant Difference*

Multiple Comparisons

Viabilitas
LSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Mon	Mon + S	4.49750*	.89109	.000	2.6254	6.3696
	Mon + KB	1.66750	.89109	.078	-.2046	3.5396
	Mon + KB + S	3.33500*	.89109	.001	1.4629	5.2071
	Mon + KS	1.14750	.89109	.214	-.7246	3.0196
	Mon + KS + S	1.81000	.89109	.057	-.0621	3.6821
Mon + S	Mon	-4.49750*	.89109	.000	-6.3696	-2.6254
	Mon + KB	-2.83000*	.89109	.005	-4.7021	-.9579
	Mon + KB + S	-1.16250	.89109	.208	-3.0346	.7096
	Mon + KS	-3.35000*	.89109	.001	-5.2221	-1.4779
	Mon + KS + S	-2.68750*	.89109	.007	-4.5596	-.8154
Mon + KB	Mon	-1.66750	.89109	.078	-3.5396	.2046
	Mon + S	2.83000*	.89109	.005	.9579	4.7021
	Mon + KB + S	1.66750	.89109	.078	-.2046	3.5396
	Mon + KS	-.52000	.89109	.567	-2.3921	1.3521
	Mon + KS + S	.14250	.89109	.875	-1.7296	2.0146
Mon + KB + S	Mon	-3.33500*	.89109	.001	-5.2071	-1.4629
	Mon + S	1.16250	.89109	.208	-.7096	3.0346
	Mon + KB	-1.66750	.89109	.078	-3.5396	.2046
	Mon + KS	-2.18750*	.89109	.024	-4.0596	-.3154
	Mon + KS + S	-1.52500	.89109	.104	-3.3971	.3471
Mon + KS	Mon	-1.14750	.89109	.214	-3.0196	.7246
	Mon + S	3.35000*	.89109	.001	1.4779	5.2221
	Mon + KB	.52000	.89109	.567	-1.3521	2.3921
	Mon + KB + S	2.18750*	.89109	.024	.3154	4.0596
	Mon + KS + S	.66250	.89109	.467	-1.2096	2.5346
Mon + KS + S	Mon	-1.81000	.89109	.057	-3.6821	.0621
	Mon + S	2.68750*	.89109	.007	.8154	4.5596
	Mon + KB	-.14250	.89109	.875	-2.0146	1.7296
	Mon + KB + S	1.52500	.89109	.104	-.3471	3.3971
	Mon + KS	-.66250	.89109	.467	-2.5346	1.2096

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