



**PERAN PASTA GIGI YANG MENGANDUNG EKSTRAK BIJI  
KOPI ROBUSTA (*Coffea canephora*) DALAM MEMODULASI  
ADHESI *Streptococcus sanguinis* PADA MONOSIT  
SECARA *IN-VITRO***

**SKRIPSI**

**Oleh**

**Puji Tyara Nazra Yusyifa  
211610101039**

**KEMENTERIAN PENDIDIKAN TINGGI, SAINS, DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
JEMBER  
2025**



**PERAN PASTA GIGI YANG MENGANDUNG EKSTRAK BIJI  
KOPI ROBUSTA (*Coffea canephora*) DALAM MEMODULASI  
ADHESI *Streptococcus sanguinis* PADA MONOSIT  
SECARA *IN-VITRO***

*Diajukan untuk memenuhi sebagian persyaratan memperoleh gelar Sarjana  
pada Program Studi Kedokteran Gigi (S1)*

**SKRIPSI**

Oleh

**Puji Tyara Nazra Yusyifa  
211610101039**

**KEMENTERIAN PENDIDIKAN TINGGI, SAINS, DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
JEMBER  
2025**

## **SKRIPSI**

# **PERAN PASTA GIGI YANG MENGANDUNG EKSTRAK BIJI KOPI ROBUSTA (*Coffea canephora*) DALAM MEMODULASI ADHESI *Streptococcus sanguinis* PADA MONOSIT SECARA *IN-VITRO***

**Oleh**

**Puji Tyara Nazra Yusyifa  
211610101039**

**Pembimbing:**

Dosen Pembimbing Utama : drg. Tantin Ermawati, M.Kes  
Dosen Pembimbing Anggota : drg. Depi Praharani, M.Kes

**Penguji:**

Dosen Penguji Utama : Dr. drg. Muhammad Nurul Amin, M.Kes  
Dosen Penguji Anggota : Dr. drg. I Dewa Ayu Susilawati, M.Kes

## **PERSEMBAHAN**

Puji syukur kepada Allah subhanahu wata'ala atas seluruh limpahan kasih dan sayang serta hidayah dan rahmat-Nya sehingga pendidikan sarjana ini dapat saya selesaikan dengan baik. Persembahkan karya tulis ini sebagai bentuk dari rasa bakti, tanggung jawab, dan terima kasih saya kepada:

1. Mami Ayoe Yuliva Rhana Sari dan Romo Pujianto serta adik-adik hebat saya Puji Chilas Nazrurrifan dan Puji Ragil Nazra Anindhita yang kasih, sayang, dan doanya untuk saya tak pernah terputus;
2. Dosen pembimbing drg. Tantin Ermawati, M.Kes dan drg. Depi Praharani, M.Kes yang senantiasa memberikan masukan dan bimbingan dalam menyusun dan menyelesaikan naskah ini;
3. Para guru dan dosen sejak taman kanak-kanak hingga perguruan tinggi yang telah memberikan ilmu yang bermanfaat;
4. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
5. Teman-teman seperjuangan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember angkatan 2021.

## MOTTO

”فَإِنَّ مَعَ الْعُسْرِ يُسْرًا”

*“Then indeed, with difficulty there is ease”*

(QS Asy-Syarh [94]: 5)

## PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Puji Tyara Nazra Yusyifa

NIM : 211610101039

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Peran Pasta Gigi yang Mengandung Ekstrak Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) dalam Memodulasi Adhesi *Streptococcus sanguinis* pada Monosit Secara *In-Vitro*” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta 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 adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 30 Juni 2025

Yang menyatakan,

Puji Tyara Nazra Yusyifa

NIM 211610101039

## HALAMAN PERSETUJUAN

Skripsi berjudul *Peran Pasta Gigi yang Mengandung Ekstrak Biji Kopi Robusta (Coffea canephora) dalam Memodulasi Adhesi Streptococcus sanguinis pada Monosit Secara In-Vitro* telah diuji dan disetujui oleh Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada:

Hari : Senin

Tanggal : 30 Juni 2025

Tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

### Pembimbing

### Tanda Tangan

#### 1. Pembimbing Utama

Nama : drg. Tantin Ermawati, M.Kes

(.....)

NIP : 198003222008122003

#### 2. Pembimbing Anggota

Nama : drg. Depi Praharani, M.Kes

(.....)

NIP : 196801221997022001

### Penguji

#### 1. Penguji Utama

Nama : Dr. drg. Muhammad Nurul Amin, M.Kes

(.....)

NIP : 197702042002121002

#### 2. Penguji Anggota

Nama : Dr. drg. I Dewa Ayu Susilawati, M.Kes

(.....)

NIP : 196109031986022001

## **ABSTRACT**

**Introduction:** *Streptococcus sanguinis* (*S. sanguinis*) is a primary colonizer in dental plaque formation. Plaque accumulation triggers gingival inflammation, known as gingivitis. Monocytes, as part of mononuclear phagocyte system, regulate this inflammatory response. Phagocytosis begins with adhesion between bacterial ligand and monocyte receptors. When bacterial load exceeds the monocyte's capacity, cell lysis can occur. Robusta coffee (*Coffea canephora*) bean extract has potential to modulate *S. sanguinis* adhesion to monocytes. This study evaluated the effect of toothpaste containing Robusta coffee bean extract (RCBE) at concentrations of 6.25%; 3.12%; 1.56%; and 0.78% on *S. sanguinis* adhesion to monocyte. **Methods:** This *in vitro* laboratory study used a post-test-only control group design. Monocyte samples were divided into five groups: a control group treated with placebo toothpaste and four treatment groups exposed to RCBE toothpaste at 6.25%; 3.12%; 1.56%; and 0.78% concentrations. RCBE was obtained through maceration using 96% ethanol and mixed into the toothpaste formulation. Prior to treatment, the toothpaste was diluted with RPMI solution (1:10). Samples were incubated with toothpaste for 2 hours, followed by exposure to *S. sanguinis* for 6 hours. Adhesion index was measured by counting *S. sanguinis* adhesion per 100 monocytes under compound microscope at 1000x magnification. **Results:** Parametric statistical test results showed all RCBE-treated groups showed a significant differences compared to control group. **Conclusion:** RCBE toothpaste effectively modulates *S. sanguinis* adhesion to monocytes, as indicated by a decrease adhesion index as concentration increases.

**Keywords:** Robusta coffee bean extract toothpaste, *Streptococcus sanguinis*, monocyte, adhesion

## RINGKASAN

**Peran Pasta Gigi yang Mengandung Ekstrak Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) dalam Memodulasi Adhesi *Streptococcus sanguinis* pada Monosit Secara *In-Vitro*; Puji Tyara Nazra Yusyifa; 211610101039; 2025; 36 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.**

*Streptococcus sanguinis* merupakan bakteri kolonisasi primer yang menginisiasi pembentukan plak. Akumulasi plak pada permukaan gigi akan menginduksi suatu respon inflamasi pada jaringan gingiva yang disebut dengan gingivitis. Pada kondisi gingivitis, eliminasi plak dengan menyikat gigi dapat menyebabkan masuknya bakteri ke dalam aliran darah atau bakteremia. Monosit, sebagai sel imun bawaan utama dalam aliran darah, memainkan peran penting dalam sistem fagosit mononuklear. Proses fagositosis diawali dengan adanya adhesi antara adhesin pada permukaan sel bakteri dengan reseptor pada permukaan monosit. Apabila bakteri yang difagosit melebihi batas maksimal kemampuan monosit, maka sel tersebut akan lisis. Penambahan bahan alami ekstrak biji hijau kopi Robusta (*Coffea canephora*), yang memiliki kandungan senyawa aktif asam klorogenat dan flavonoid, pada pasta gigi mampu memodulasi adhesi *S. sanguinis* pada monosit. Tujuan penelitian ini ialah untuk mengkaji kemampuan pasta gigi yang mengandung ekstrak biji kopi Robusta (EBKR) 6,25%; 3,12%; 1,56%; dan 0,78% dalam memodulasi adhesi *S. sanguinis* pada monosit.

Jenis penelitian eksperimental laboratoris secara *in vitro* dengan rancangan penelitian *post test only control group design*. Sampel monosit dibagi menjadi 5 kelompok yakni kelompok kontrol (monosit diinkubasi dengan pasta plasebo), kelompok konsentrasi 6,25% (monosit diinkubasi dengan EBKR konsentrasi 6,25%), kelompok konsentrasi 3,12% (monosit diinkubasi dengan EBKR konsentrasi 3,12%), kelompok konsentrasi 1,56% (monosit diinkubasi dengan EBKR konsentrasi 1,56%), dan kelompok konsentrasi 0,78% (monosit diinkubasi dengan EBKR konsentrasi 0,78%). EBKR didapatkan dari ekstraksi dengan teknik maserasi menggunakan pelarut ethanol 96%. Kemudian, dicampur dengan pasta plasebo untuk menghasilkan pasta gigi EBKR. Sebelum dilakukan perlakuan pada

monosit, pasta dilarutkan menggunakan larutan *Rosewel Park Memorial Institute Media* (RPMI) dengan perbandingan 1:10. Selanjutnya, monosit pada semua kelompok diinkubasi selama 2 jam dan dipapar dengan *S. sanguinis* selama 6 jam. Lalu, dihitung indeks adhesi dengan menghitung jumlah *S. sanguinis* yang melekat per 100 monosit dibawah mikroskop cahaya perbesaran 1000x.

Hasil uji normalitas dan homogenitas menggunakan uji Saphiro-Wilk dan uji Levene didapatkan hasil data berdistribusi normal dan homogen. Selanjutnya, dilakukan uji beda menggunakan *Anova One-way* didapatkan nilai signifikansi  $(p) < 0,05$ , artinya terdapat perbedaan signifikan antar kelompok. Kemudian, dilakukan uji lanjutan menggunakan uji *Least Significance Different (LSD) post hoc*. Hasil menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan artinya pasta gigi yang mengandung ekstrak biji kopi Robusta (EBKR) 6,25%; 3,12%; 1,56%; dan 0,78% mampu memodulasi adhesi *S. sanguinis* pada monosit.

## PRAKATA

Puji syukur saya panjatkan kepada Allah Subhanahu Wata'ala, Tuhan Yang Maha Esa, karena limpahan kasih dan sayang serta rahmat-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Peran Pasta Gigi yang Mengandung Ekstrak Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) dalam Memodulasi Adhesi *Streptococcus sanguinis* pada Monosit Secara *In-Vitro*” sebagai salah satu dari syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Sholawat serta salam saya curahkan kepada junjungan Nabi Muhammad yang telah menuntun ke arah kebenaran.

Penyusunan skripsi ini mendapat banyak bimbingan, dorongan, dukungan, dan doa dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada:

1. Ayahanda Pujianto dan Ibunda Yuliva Rhana Sari serta adik-adik saya Puji Chilas Nazrurifan dan Puji Ragel Nazra Anindhita yang kasih dan doanya tak pernah terputus;
2. Dr. Ir. Iwan Taruna, M.Eng., IPM selaku Rektor Universitas Jember;
3. drg. Dwi Kartika Apriyono, M.Kes., Sp.OF (K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
4. drg. Rendra Chriestedy Prasetya, MDSc selaku Dosen Pembimbing Akademik;
5. drg. Tantin Ermawati, M.Kes selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah membimbing dan meluangkan waktu, hati, pikiran, dan tenaga serta dukungan dalam penyusunan skripsi ini;
6. drg. Depi Praharani, M.Kes selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah membimbing dan meluangkan waktu, hati, pikiran, dan tenaga serta dukungan dalam penyusunan skripsi ini;
7. Dr. drg. Muhammad Nurul Amin, M.Kes selaku Dosen Penguji Ketua yang telah berkenan meluangkan waktu untuk menguji dan memberi saran serta masukan yang membangun dalam penelitian skripsi ini;

8. Dr. drg. I Dewa Ayu Susilawati, M.Kes selaku Dosen Penguji Anggota yang telah berkenan meluangkan waktu untuk menguji dan memberi saran serta masukan yang membangun dalam penelitian skripsi ini;
9. Seluruh sivitas akademika Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember dan seluruh pihak terkait yang membantu dalam proses administrasi, perizinan, serta segala proses persiapan berkas-berkas yang diperlukan dalam skripsi ini;
10. Teman penelitian dan Nisbri yang senantiasa memberi bantuan, saran, masukan, dan dukungan hingga skripsi ini terselesaikan;
11. Seluruh pihak yang terlibat baik langsung maupun tidak langsung dalam terselesaikannya skripsi ini yang tidak bisa disebutkan satu-persatu.

Besar harapan penulis agar skripsi ini dapat bermanfaat baik untuk pengembangan ilmu pengetahuan maupun penelitian lanjutan. Penulis mengharapkan kritik dan saran dari semua pihak demi perbaikan skripsi ini.

Jember, 30 Juni 2025

Penulis

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	i
PERSEMBAHAN.....	iv
MOTTO .....	v
PERNYATAAN ORISINALITAS.....	vi
HALAMAN PERSETUJUAN .....	vii
<i>ABSTRACT</i> .....	viii
RINGKASAN .....	ix
PRAKATA.....	xi
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR TABEL .....	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN .....	xvii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Latar Belakang .....</b>	<b>1</b>
<b>1.2 Rumusan Masalah.....</b>	<b>3</b>
<b>1.3 Tujuan Penelitian .....</b>	<b>4</b>
<b>1.4 Manfaat Penelitian .....</b>	<b>4</b>
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>5</b>
<b>2.1 <i>Biofilm</i> Plak.....</b>	<b>5</b>
<b>2.2 <i>Streptococcus sanguinis</i> .....</b>	<b>6</b>
2.2.1. Morfologi <i>Streptococcus sanguinis</i> .....	6
2.2.2. Patogenitas <i>Streptococcus sanguinis</i> .....	6
<b>2.3 Monosit.....</b>	<b>8</b>
2.3.1. Morfologi Monosit .....	8
2.3.2. Peran Monosit dalam Sistem Imun Tubuh .....	8
<b>2.4 Lisis Monosit Akibat Adhesi Bakteri .....</b>	<b>11</b>
<b>2.5 Pasta Gigi .....</b>	<b>12</b>
<b>2.6 Kopi Robusta (<i>Coffea canephora</i>).....</b>	<b>12</b>
<b>2.7 Modulasi Adhesi oleh Kandungan Biji Kopi Robusta (<i>Coffea canephora</i>).....</b>	<b>14</b>
<b>2.8 Kerangka Konsep.....</b>	<b>15</b>
<b>2.9 Hipotesis Penelitian.....</b>	<b>15</b>
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN.....</b>	<b>16</b>
<b>3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian .....</b>	<b>16</b>

<b>3.2 Waktu dan Tempat Penelitian .....</b>	<b>16</b>
<b>3.3 Definisi Operasional Variabel.....</b>	<b>16</b>
3.3.1 Variabel Bebas .....	16
3.3.2 Variabel Terikat.....	16
3.3.3 Variabel Terkendali .....	17
<b>3.4 Sampel Penelitian .....</b>	<b>17</b>
<b>3.5 Alat dan Bahan Penelitian.....</b>	<b>18</b>
3.5.1 Alat Penelitian .....	18
3.5.2 Bahan Penelitian.....	19
<b>3.6 Prosedur Penelitian.....</b>	<b>19</b>
3.6.1 <i>Ethical Clearance</i> .....	19
3.6.2 Pembuatan Ekstrak Biji Kopi Robusta .....	19
3.6.3 Pembuatan Pasta Plasebo .....	20
3.6.4 Pembuatan Pasta Gigi Ekstrak Biji Kopi Robusta .....	20
3.6.5 Pembuatan Suspensi <i>Streptococcus sanguinis</i> .....	20
3.6.6 Isolasi Monosit .....	20
3.6.7 Paparan Pasta Gigi Ekstrak Biji Kopi Robusta dan <i>S. sanguinis</i> pada monosit.....	21
3.6.8 Perhitungan Indeks Adhesi.....	22
<b>3.7 Analisis Data .....</b>	<b>22</b>
<b>3.8 Alur Penelitian.....</b>	<b>23</b>
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>24</b>
<b>4.1 Hasil Penelitian.....</b>	<b>24</b>
<b>4.2 Hasil Analisis Data .....</b>	<b>26</b>
<b>4.3 Pembahasan .....</b>	<b>27</b>
<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>30</b>
<b>5.1 Kesimpulan .....</b>	<b>30</b>
<b>5.2 Saran.....</b>	<b>30</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>31</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>39</b>

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel 4. 1</b> Hasil perhitungan indeks adhesi <i>S. sanguinis</i> pada monosit.....	26
<b>Tabel 4. 2</b> Hasil uji LSD.....	27

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar 2.1</b> Diagram pembentukan <i>biofilm</i> dan plak.....	5
<b>Gambar 2.2</b> <i>Streptococcus sanguinis</i> .....	6
<b>Gambar 2.5</b> Peningkatan permeabilitas jaringan gingiva oleh bakteri.....	7
<b>Gambar 2.3</b> Monosit.....	8
<b>Gambar 2.4</b> Peran monosit dalam sistem imun tubuh.....	11
<b>Gambar 2.6</b> Protein ligan pada membran sel bakteri Gram positif.....	10
<b>Gambar 2.7</b> LTA sebagai stimulator TLR-2 pada monosit.....	10
<b>Gambar 4.1</b> Gambaran mikroskopis adhesi <i>S. sanguinis</i> pada monosit dari kelompok kontrol dan kelompok dengan pasta gigi EBKR konsentrasi 6,25% menggunakan mikroskop cahaya pada perbesaran 1000x.....	24
<b>Gambar 4.2</b> Gambaran mikroskopis adhesi <i>S. sanguinis</i> pada monosit dari kelompok dengan pasta gigi EBKR konsentrasi 3,12% (a) dan 1,56% (b) menggunakan mikroskop cahaya pada perbesaran 1000x.....	25
<b>Gambar 4.3</b> Gambaran mikroskopis adhesi <i>S. sanguinis</i> pada monosit dari kelompok dengan pasta gigi EBKR konsentrasi 0,78% menggunakan mikroskop cahaya pada perbesaran 1000x.....	25
<b>Gambar 4.4</b> Diagram indeks adhesi <i>S. sanguinis</i> pada monosit.....	26

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Surat izin penelitian .....	39
Lampiran 2 <i>Ethical clearance</i> .....	39
Lampiran 3 Hasil perhitungan indeks adhesi <i>S. sanguinis</i> pada monosit .....	39
Lampiran 4 Hasil uji normalitas Saphiro Wilk .....	39
Lampiran 5 Hasil uji homogenitas Levene .....	39
Lampiran 6 Hasil uji beda <i>Anova One-way</i> .....	39
Lampiran 7 Hasil uji <i>Least Significance Different (LSD) post hoc</i> .....	39
Lampiran 8 Dokumentasi prosedur penelitian .....	39
Lampiran 9 Formulasi pasta plasebo .....	39
Lampiran 10 Hasil isolasi monosit.....	39

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Menurut laporan Riset Kesehatan Dasar, prevalensi gingivitis di Indonesia sebesar 74% (Kemenkes RI, 2018). Gingivitis adalah suatu respon inflamasi pada jaringan epitel dan jaringan ikat gingiva. Berdasarkan penyebabnya, gingivitis dapat diklasifikasikan sebagai *hormonal gingivitis*, *nutritional gingivitis*, *drug-induced gingivitis*, dan *plaque-induced gingivitis* (Rathee & Jain, 2023).

*Plaque-induced gingivitis*, sebagai bentuk paling umum, merupakan respon inflamasi pada jaringan gingiva yang disebabkan oleh akumulasi plak pada permukaan gigi (Darajat & Kodir, 2022). Pembentukan plak diawali dari terbentuknya biofilm oleh bakteri kolonisasi primer, salah satunya ialah *Streptococcus sanguinis*. Bakteri ini dapat berikatan dengan pelikel gigi dan menginisiasi serta memfasilitasi perlekatan bakteri lain dalam proses kolonisasi sekunder. Kemudian, terjadi maturasi bersamaan dengan peningkatan jumlah perlekatan bakteri pada *biofilm* gigi, sehingga terbentuk plak gigi (Newman *et al.*, 2024).

Akumulasi plak yang memicu inflamasi gingiva berdampak pada meningkatnya permeabilitas jaringan gingiva. Hal ini memungkinkan *S. sanguinis* masuk ke dalam aliran darah, terutama melalui prosedur perawatan gigi atau aktivitas rutin seperti makan, yang dapat menyebabkan perlukaan pada pembuluh darah gingiva (Rao & McFaull, 2019). Dibuktikan oleh Deng, dalam penelitiannya mengenai *bleeding on brushing*, frekuensi perdarahan saat menyikat gigi meningkat sejalan dengan tingkat inflamasi pada gingiva (Deng *et al.*, 2021). Perlukaan gingiva inilah yang menjadi gerbang masuk bakteri ke dalam aliran darah atau bakteremia (Irvan *et al.*, 2018; Isomura *et al.*, 2023). Bakteri akan masuk bersamaan dengan saliva didorong oleh tekanan pengunyahan dan tekanan sikat ke dalam vena gingiva dan mencapai sirkulasi darah melalui vena (Vitkov *et al.*, 2023).

Masuknya bakteri ke dalam sirkulasi darah akan memicu respon imun tubuh, salah satunya melalui aktivasi monosit. Sel ini berperan penting dalam eliminasi bakteri melalui mekanisme fagositosis (Dash *et al.*, 2024). Proses fagositosis

diawali dengan adanya deteksi *pathogen-associated molecular patterns* (PAMPs) pada bakteri oleh reseptor monosit, yakni *pattern-recognition receptors* (PRRs) (Espinoza & Emmady, 2023). Setelah bakteri berhasil dikenali, monosit akan bergerak menuju bakteri dan melakukan adhesi (Lee *et al.*, 2022). Adhesi keduanya terjadi antara ligan *Lipoteichoic Acid* (LTA) pada permukaan *S. sanguinis* dan *Toll-like Receptor-2* (TLR-2) pada permukaan monosit (Austermann *et al.*, 2022).

Keterbatasan kapasitas fagositik monosit menjadi kendala dalam eliminasi bakteri di sirkulasi darah. Kemampuan monosit dalam memfagosit bakteri hanya sejumlah 5-10 bakteri (Murphy & Weaver, 2017). Apabila bakteri yang difagosit melebihi batas maksimal kemampuan monosit, maka sel tersebut akan lisis. Lisisnya monosit menyebabkan tumpahnya cairan intrasel ke lingkungan ekstrasel, sehingga enzim antimikroba akan terpapar ke jaringan dan menyebabkan kerusakan jaringan (Dömer *et al.*, 2021; Hortová-Kohoutková *et al.*, 2020). Oleh karena itu, proses adhesi reseptor monosit kepada ligan bakteri perlu dimodulasi agar monosit dapat berperan secara optimal.

Pencegahan akumulasi plak, sebagai langkah awal dalam mencegah *gingivitis*, dapat dilakukan melalui kontrol plak yang adekuat. Kontrol plak dengan metode mekanis yang paling efektif, yakni dengan cara menyikat gigi (Vyas & Nagi, 2021) menggunakan sikat gigi dan pasta gigi. Bahan aktif yang terkandung dalam pasta gigi berperan penting dalam mengeliminasi plak (Aris *et al.*, 2022). Namun, penggunaan bahan aktif kimia sintetis dapat berdampak negatif bagi jaringan, seperti reaksi iritasi, deskuamasi mukosa, serta ulserasi (Sabri *et al.*, 2023; Thawani & Mani, 2019). Oleh karena itu, perlu adanya inovasi alternatif pasta gigi berbahan kimia alami untuk mengurangi efek negatif bahan kimia sintetis.

Tanaman kopi menjadi salah satu kandidat potensial dalam pengembangan pasta gigi herbal berbahan alami. Kopi adalah salah satu tanaman yang populer dibudidayakan oleh masyarakat Indonesia, khususnya kopi jenis Arabika dan Robusta. Wilayah Kabupaten Jember disebut sebagai salah satu produsen kopi Robusta terbesar di Indonesia (Purwandhini *et al.*, 2023). Kopi Robusta lebih unggul sebagai bahan herbal karena mengandung senyawa aktif lebih tinggi dibandingkan Arabika, yang memiliki kadar lipid dan gula lebih besar (Farha *et al.*,

2020; Konieczka et al., 2020). Penelitian oleh Shen juga menunjukkan bahwa kandungan senyawa aktif tertinggi terdapat pada biji kopi dibandingkan daun dan bunga (Shen *et al.*, 2023).

Kandungan senyawa aktif biji kopi Robusta dalam formulasi pasta gigi herbal berpotensi memodulasi inflamasi melalui kandungan asam klorogenat, yang menghambat jalur PRRs, khususnya TLRs pada permukaan monosit, sehingga mengganggu sinyal sitokin proinflamasi dalam proses adhesi bakteri (Savista *et al.*, 2023). Flavonoid, yang juga terkandung dalam biji kopi Robusta, terbukti pula mampu menurunkan ekspresi protein TLR sehingga menghambat persinyalan dengan ligan bakteri dan menghambat proses adhesi (Ysrafil *et al.*, 2023). Kandungan flavonoid biji kopi Robusta juga telah terbukti mempertahankan viabilitas monosit dengan mengikat radikal bebas dan molekul reaktif sehingga merusak sel terhambat (Deepika & Maurya, 2022).

Efektivitas ekstrak biji kopi Robusta dalam memodulasi inflamasi telah didukung oleh berbagai penelitian eksperimental. Berdasarkan penelitian sebelumnya oleh Maulidya, pasta gigi ekstrak biji kopi Robusta mampu menghambat proliferasi *S. sanguinis* dengan konsentrasi yang paling efektif yaitu 50% (Maulidya, 2024). Dalam penelitian lainnya oleh Asti, terbukti bahwa, ekstrak biji kopi Robusta dapat meningkatkan aktivitas fagositosis monosit dengan konsentrasi paling efektif yakni 25% (Asti, 2015). Berdasarkan laporan penelitian oleh Wahyukundari, konsentrasi ekstrak biji kopi Robusta 6,25%, 3,12%, 1,56%, 0,78% pada pasta gigi bersifat tidak toksik terhadap sel dengan rata-rata viabilitas sel >90% (Wahyukundari *et al.*, 2023). Hingga saat ini, belum ada penelitian lanjutan mengenai peran pasta gigi yang mengandung ekstrak biji kopi Robusta dalam memodulasi adhesi *S. sanguinis* pada monosit.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, didapatkan rumusan masalah yakni: apakah pasta gigi yang mengandung ekstrak biji kopi Robusta (*Coffea canephora*) 6,25%; 3,12%; 1,56%; dan 0,78% mampu memodulasi adhesi *S. sanguinis* pada monosit?

### **1.3 Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji kemampuan pasta gigi yang mengandung ekstrak biji kopi Robusta (*Coffea canephora*) 6,25%; 3,12%; 1,56%; dan 0,78% dalam memodulasi adhesi *S. sanguinis* pada monosit.

### **1.4 Manfaat Penelitian**

Hasil penelitian ini diharapkan akan dapat berguna sebagai :

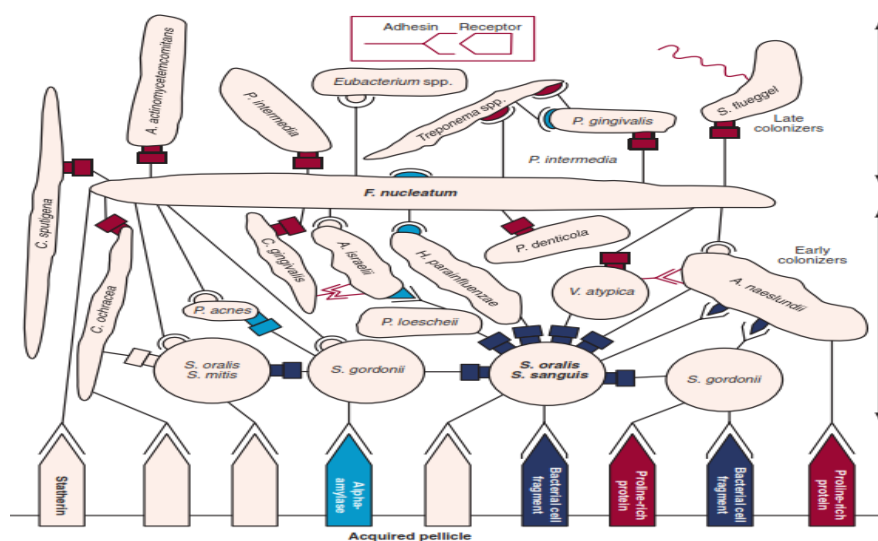
1. Sumber informasi dan acuan pengembangan penelitian selanjutnya terkait peran pasta gigi yang mengandung ekstrak biji kopi Robusta (*Coffea canephora*) dalam memodulasi adhesi *S. sanguinis* pada monosit
2. Pemanfaatan hasil agroindustri Kabupaten Jember yakni biji kopi Robusta (*Coffea canephora*) di bidang kedokteran gigi.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Biofilm Plak

*Biofilm* gigi secara klinis memiliki ciri-ciri berwarna kuning keabu-abuan yang melekat kuat pada permukaan enamel gigi. Terdapat dua klasifikasi *biofilm* yakni *supragingival biofilm* dan *subgingiva biofilm*. *Supragingiva* ditemukan diatas margin gingiva atau berkontak langsung dengan margin gingiva, sedangkan *subgingiva* ditemukan dibawah margin gingiva diantara permukaan gigi dengan *sulcular epithelium* (Newman *et al.*, 2024).

Proses pembentukan *biofilm* gigi (Gambar 2.1) terbagi menjadi 3 fase : (1) formasi pelikel pada permukaan gigi, (2) perlekatan awal bakteri, (3) kolonisasi/ maturasi *biofilm*. *Biofilm* disusun oleh bakteri kolonisasi primer yang didominasi oleh *Streptococcus sp.*, termasuk didalamnya ialah *Streptococcus sanguinis*. Bakteri ini akan menyediakan tempat perlekatan untuk bakteri oral lainnya diatas permukaan gigi atau yang dikenal sebagai proses *coadhesion*. Metabolisme bakteri kolonisasi primer memungkinkan lingkungan lokal bagi bakteri lain untuk melekat dan bertahan hidup diatas *biofilm* gigi. Selanjutnya, maturasi terjadi bersamaan dengan peningkatan jumlah perlekatan bakteri pada *biofilm* gigi. Hasil maturasi kolonisasi bakteri ini disebut dengan plak gigi (Newman *et al.*, 2024).

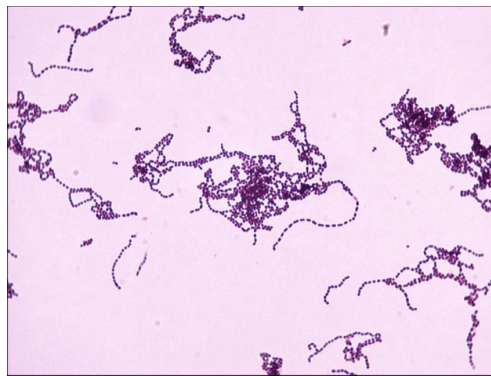


Gambar 2.1 Diagram pembentukan *biofilm* dan plak (Newman *et al.*, 2024)

## 2.2 *Streptococcus sanguinis*

### 2.2.1. Morfologi *Streptococcus sanguinis*

Bakteri ini merupakan bakteri anaerob fakultatif Gram-positif dengan diameter sekitar 0.6 hingga 1.0  $\mu\text{m}$  dan tidak membentuk spora. Seperti spesies *streptococcus* lainnya, pembelahan sel *S. sanguinis* terjadi sepanjang satu sumbu, menghasilkan rantai atau pasangan kokus (Gambar 2.2). *S. sanguinis* umumnya tidak memiliki struktur gerak pada permukaannya sehingga dikategorikan sebagai bakteri nonmotil (Zhu *et al.*, 2018).



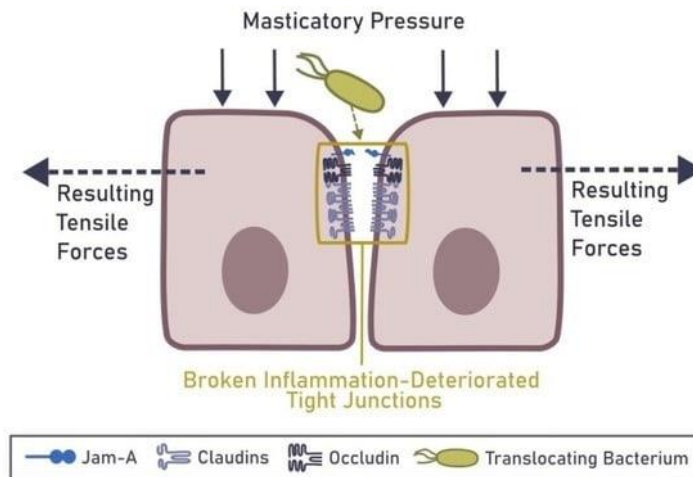
**Gambar 2.2** *Streptococcus sanguinis*  
(Rohit Dey, 2016)

### 2.2.2. Patogenitas *Streptococcus sanguinis*

*Streptococcus sanguinis* adalah salah satu bakteri komensal rongga mulut yang penting dalam menjaga keseimbangan rongga mulut tetapi dapat menjadi patogen dalam keadaan tertentu. *S. sanguinis* memiliki peranan penting dalam perkembangan *biofilm* plak. Namun, pada kondisi plak yang terakumulasi dapat menyebabkan inflamasi pada jaringan gingiva yang berdekatan.

Sel epitel gingiva yang distimulasi oleh bakteri komensal mulut akan memproduksi mediator inflamasi, guna melindungi jaringan gingiva terhadap patogen terkait gingivitis. Disaat yang bersamaan, respon imun terhadap *S. sanguinis*, yang merupakan flora normal rongga mulut, menjadi lebih lemah dibandingkan respon imun terhadap bakteri patogen. Oleh karena itu, dalam waktu inilah keberadaan bakteri ini, sebagai patogen oportunistik, lebih berpengaruh dalam proses inflamasi daripada bakteri patogen lainnya (Zhu *et al.*, 2018).

*S. sanguinis* mampu menghasilkan enzim histolitik, yang berperan dalam destruksi jaringan. Selain itu, bakteri ini mengeluarkan substansi toksik lainnya, seperti hyaluronidase, protease, endotoksin, dan asam organik. Substansi ini dapat mengubah permeabilitas, merusak jaringan epitel, dan mendegradasi jaringan ikat pada gingiva (Gambar 2.5) (Newman *et al.*, 2024).



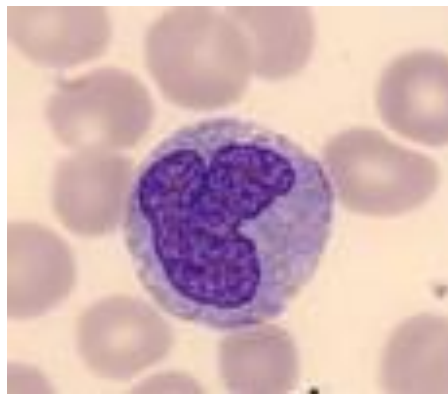
**Gambar 2.3** Peningkatan permeabilitas jaringan gingiva oleh bakteri (Vitkov *et al.*, 2023)

Saat permeabilitas gingiva meningkat, *S.sanguinis* dapat masuk ke dalam aliran darah melalui prosedur perawatan gigi atau aktivitas rutin seperti makan. Aktivitas mekanis ini dapat menimbulkan perlukaan pembuluh darah (Rao & McFaull, 2019). Perlukaan inilah yang menjadi gerbang masuk bakteri ke dalam pembuluh darah atau yang disebut dengan bakteremia (Irvan *et al.*, 2018; Isomura *et al.*, 2023). Bakteri akan masuk bersamaan dengan saliva didorong oleh tekanan pengunyahan dan tekanan sikat ke dalam venula gingiva dan mencapai sirkulasi darah melalui *vena cava superior*. Namun, kondisi bakteremia ini sementara, dimana akan berhenti setelah pengunyahan atau penyikatan gigi selesai (Vitkov *et al.*, 2023).

## 2.3 Monosit

### 2.3.1. Morfologi Monosit

Monosit adalah sel darah putih terbesar, berdiameter antara 12 hingga 20  $\mu\text{m}$  atau sekitar dua kali ukuran eritrosit. Inti tunggal berlobus dua memiliki kromatin matang, dan sitoplasma cukup hingga melimpah dan sering kali menunjukkan tepi basofilik yang tidak teratur. Inti berwarna ungu pucat, sedangkan sitoplasma yang melimpah berwarna abu-abu pucat hingga biru dengan banyak butiran sitoplasma berwarna biru kemerahan (Gambar 2.3) (Espinoza & Emmady, 2023). Monosit tergolong dalam sel agranulosit namun memiliki granula azurofil yang merupakan lisosom primer yang diproduksi oleh retikulum endoplasma dalam sitoplasma (Darwin *et al.*, 2021).



**Gambar 2.4** Monosit  
(Acevedo *et al.*, 2020)

### 2.3.2. Peran Monosit dalam Sistem Imun Tubuh

Monosit adalah sel imun bawaan utama yang memainkan peran penting dalam proses inflamasi dan merupakan bagian dari sistem fagosit mononuklear atau *mononuclear phagocyte system* (MPS) yang bertanggung jawab melawan bakteri dengan fagositosis. Jumlah normal monosit dalam tubuh manusia ialah sekitar 2 - 8% dari jumlah seluruh sel darah putih. Monosit bersirkulasi darah selama 1-3 hari sebelum bermigrasi ke jaringan dan berdiferensiasi menjadi makrofag (Dash *et al.*, 2024).

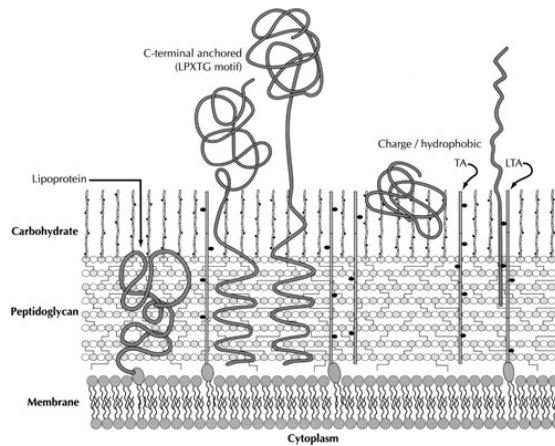
Fagositosis adalah mekanisme seluler penting yang ditujukan untuk menghilangkan patogen. Melalui proses ini, partikel berukuran  $>0,5 \mu\text{m}$  dikenali

melalui reseptor permukaan transmembran fagosit dan tertelan ke dalam vesikel yang berasal dari membran, yang dikenal sebagai fagosom. Fagosom ini kemudian menyatu dengan lisosom untuk pencernaan secara menyeluruh (Hortová-Kohoutková *et al.*, 2020).

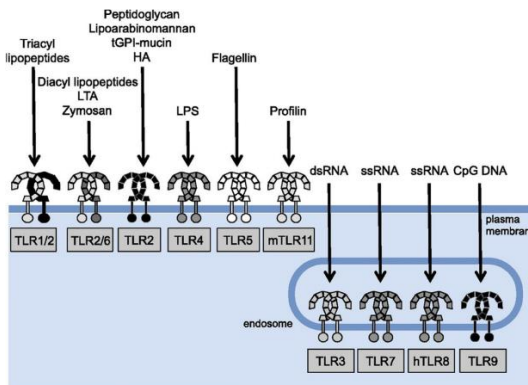
Proses fagositosis oleh monosit diawali dengan adanya adhesi. Adhesi ialah proses melekatnya membran sel bakteri dengan membran sel host, yang terjadi antara reseptor dan adhesin (Handoko, 2018). Adhesin merupakan protein dengan satu ujung yang mengikat domain ligan di permukaan bakteri (Graham *et al.*, 2024), sementara ujung lainnya berinteraksi dengan protein pada permukaan sel host (Guo *et al.*, 2021).

Monosit memiliki reseptor *pattern-recognition receptors* (PRRs) guna mendeteksi adanya mikroba melalui *Pathogen-associated molecular patterns* (PAMPs) (Espinoza & Emmady, 2023). Adhesi *S. sanguinis* terhadap monosit terjadi antara ligan *S. sanguinis*, berupa *Lipoteichoic Acid* (LTA) (Gambar 2.4) dengan reseptor monosit yakni *Toll-like Receptor-2* (TLR-2) (Gambar 2.5) (Austermann *et al.*, 2022). Hal ini dibuktikan dalam penelitian lain oleh Austermann yang menyatakan bahwa, TLR-2 merupakan reseptor yang berikatan dengan LTA dalam respon inflamasi terhadap bakteri Gram positif (Kim *et al.*, 2014).

Perlekatan bakteri dapat dijumpai oleh *fibronectin* (Fn) dalam plasma darah. Fn akan berikatan dengan ligan C-terminal bakteri dan akan ditangkap oleh reseptor integrin sel (Speziale *et al.*, 2019). *Immunoglobulin*, antibodi dalam darah juga dapat mengaktifkan kaskade komplemen dan membentuk opsonin. Opsonin merupakan ikatan antara antibodi, komplemen, dinding sel bakteri, dan dinding sel fagosit (Thau *et al.*, 2023). Bakteri yang diopsonisasi dengan antibodi dan/atau protein komplemen akan dikenali oleh reseptor komplemen dan/atau reseptor antibodi sehingga terjadi fagositosis, proses ini disebut dengan opsonofagositosis (Nicholas, 2019).

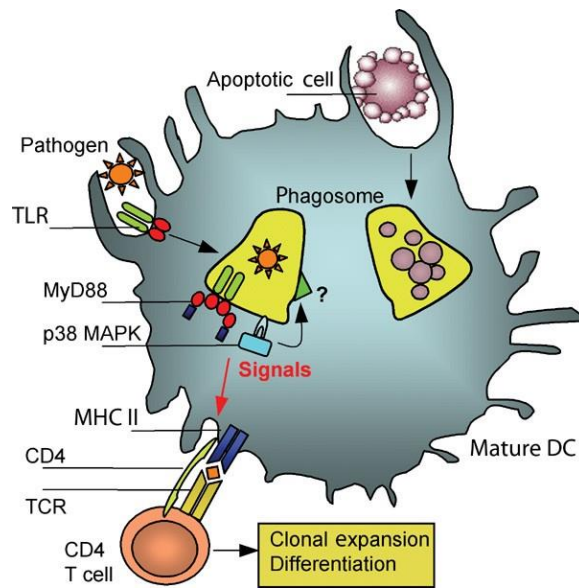


**Gambar 2.5** Protein ligan pada membran sel bakteri Gram positif (Fischetti, 2019)



**Gambar 2.6** LTA sebagai stimulator TLR-2 pada monosit (El-Zayat *et al.*, 2019)

Monosit sebagai sel inflamator, selain memfagosit, juga mampu mempresentasikan antigen atau disebut sebagai *antigen presenting cell* (APC). APC berinteraksi dengan sel T untuk menghubungkan respon imun bawaan dengan respon imun adaptif yakni perlawanan terhadap alergi, kanker, dan tumor (Gambar 2.4) (Darwin *et al.*, 2021).



**Gambar 2.7** Peran monosit dalam sistem imun tubuh  
(Darwin *et al.*, 2021)

## 2.4 Lisis Monosit Akibat Adhesi Bakteri

Pada proses maturasi *biofilm*, *S. sanguinis* memetabolisme karbohidrat sehingga menciptakan lingkungan asam bagi bakteri lain untuk bertahan hidup dan melekat. Disamping itu, proses ini menghasilkan produk lain berupa hidrogen peroksida. Berdasarkan hasil penelitian oleh Sumoika tahun 2017, ditemukan bahwa  $H_2O_2$  hasil metabolisme ini mengerahkan faktor virulensinya melalui aktivitas sitotoksik sehingga menginduksi kematian sel (Sumioka *et al.*, 2017).

*S. sanguinis*, sebagai bakteri kolonisasi primer, memiliki kemampuan untuk menghasilkan *immune evasion molecules* guna menghindari deteksi dari sel imun (Kobayashi *et al.*, 2018). Akibatnya, akan mudah berkembang biak dan berakumulasi di dalam darah. Disisi lain, kemampuan monosit dalam memfagosit bakteri hanya sejumlah 5-10 bakteri (Murphy & Weaver, 2017). Apabila bakteri yang difagosit melebihi batas maksimal kemampuan monosit, maka sel tersebut akan lisis. Selain itu, persinyalan antar sel selama proses fagositosis menghasilkan suatu radikal bebas yakni *reactive oxygen species* (ROS) (Chollet *et al.*, 2024).

ROS diproduksi terutama pada mitokondria, peroksisom, sitoplasma, dan membran plasma. Peningkatan kadar ROS dalam sel menyebabkan peroksidasi lipid membran yang berakibat pada lisisnya sel (Biller & Takahashi, 2018).

Lisisnya monosit menyebabkan tumpahnya cairan intrasel ke lingkungan ekstrasel. Peptida antimikroba, granula antimikroba, dan enzim protease yang terpapar ke jaringan dapat berakhir pada kerusakan jaringan dan kegagalan organ (Dömer *et al.*, 2021; Hortová-Kohoutková *et al.*, 2020).

## 2.5 Pasta Gigi

Gingivitis dapat dicegah dengan mengontrol *biofilm* plak secara adekuat. Kontrol plak diklasifikasikan menjadi dua yakni metode mekanis dan kimiawi. (Vyas & Nagi, 2021). Struktur yang kuat dari matriks ekstraseluler *biofilm*, tidak mungkin dapat dihilangkan hanya dengan membilas menggunakan air atau secara kimiawi menggunakan obat kumur. Oleh karena itu, diperlukan metode mekanis, yang merupakan metode paling efektif dalam mengurangi massa *biofilm*. Menyikat gigi adalah metode mekanis yang paling sering dilakukan untuk mengontrol plak (Peeran & Ramalingam, 2021).

Proses menyikat gigi dilakukan dengan alat sikat gigi dan pasta gigi (Aris *et al.*, 2022). Pasta gigi adalah sediaan yang mengandung berbagai bahan aktif. Bahan aktif yang terkandung pada pasta gigi memiliki fungsi dalam mengeliminasi plak (Aris *et al.*, 2022). Penggunaan bahan kimia dalam pasta gigi tidak hanya memberikan dampak positif, namun juga dampak negatif. Efek toksik dilaporkan, paling umum disebabkan oleh bahan deterjen pasta gigi, *sodium lauryl sulfate*. Efek ini terdiri dari reaksi iritasi, deskuamasi epitel mukosa bukal dan gingiva, pembengkakan, serta ulserasi (Sabri *et al.*, 2023). Selain itu, bahan abrasif (silika), pewarna, dan perasa (diethylene glycol) pada pasta gigi juga dapat menimbulkan efek negatif, seperti reaksi alergi, abrasi gigi, dan resesi gingiva (Thawani & Mani, 2019). Hingga saat ini, sifat sitotoksik pasta gigi hanya ditemukan pada pasta gigi berbahan dasar kimia sintetis. Pasta gigi herbal tidak ditemukan memiliki sifat sitotoksik sehingga aman digunakan dalam jangka panjang (Kanouté *et al.*, 2022).

## 2.6 Kopi Robusta (*Coffea canephora*)

Kopi merupakan salah satu jenis tanaman yang banyak dibudidayakan oleh masyarakat Indonesia dan menjadi salah satu komoditas unggulan. Kandungan

kimia kopi berbeda-beda tergantung pada spesies, kematangan, proses agrikultural, dan penyimpanan. Biji kopi secara umum mengandung 9% air, 15% protein, 18% lemak, 52% karbohidrat, 7% kafein, 0,25% caffetanic acid, dan 4% abu, (Zainuri *et al.*, 2023). Penelitian oleh Shen tahun 2023, tentang perbandingan kandungan pada tanamaman kopi menyatakan bahwa, kandungan senyawa aktif pada biji kopi lebih tinggi daripada bagian daun dan bunga tanaman kopi (Shen *et al.*, 2023).

Tanaman kopi yang banyak ditemukan di Indonesia ialah kopi Arabika dan Robusta (Zainuri *et al.*, 2023). Biji-bijian Arabika mengandung 4% lipid dan 3% karbohidrat lebih banyak daripada Robusta, sedangkan biji-bijian Robusta dicirikan oleh kandungan senyawa aktif alkaloid, berupa kafein, 2,2%-2,8% lebih besar (Makiso *et al.*, 2024). Selain itu, kandungan senyawa aktif polifenol, termasuk didalamnya yakni flavonoid, tanin, dan asam klorogenat, pada biji kopi Robusta lebih besar 6-7% dibandingkan dengan biji kopi Arabika (Farha *et al.*, 2020). Perbedaan ini berpengaruh pada aroma dan cita rasa kopi, dimana rasa dan aroma kopi Arabika lebih ringan. Disisi lain, berpengaruh pula pada potensi bioaktifnya seperti, efek antiinflamasi, antioksidan, dan antibakteri lebih besar pada kopi Robusta (Konieczka *et al.*, 2020).

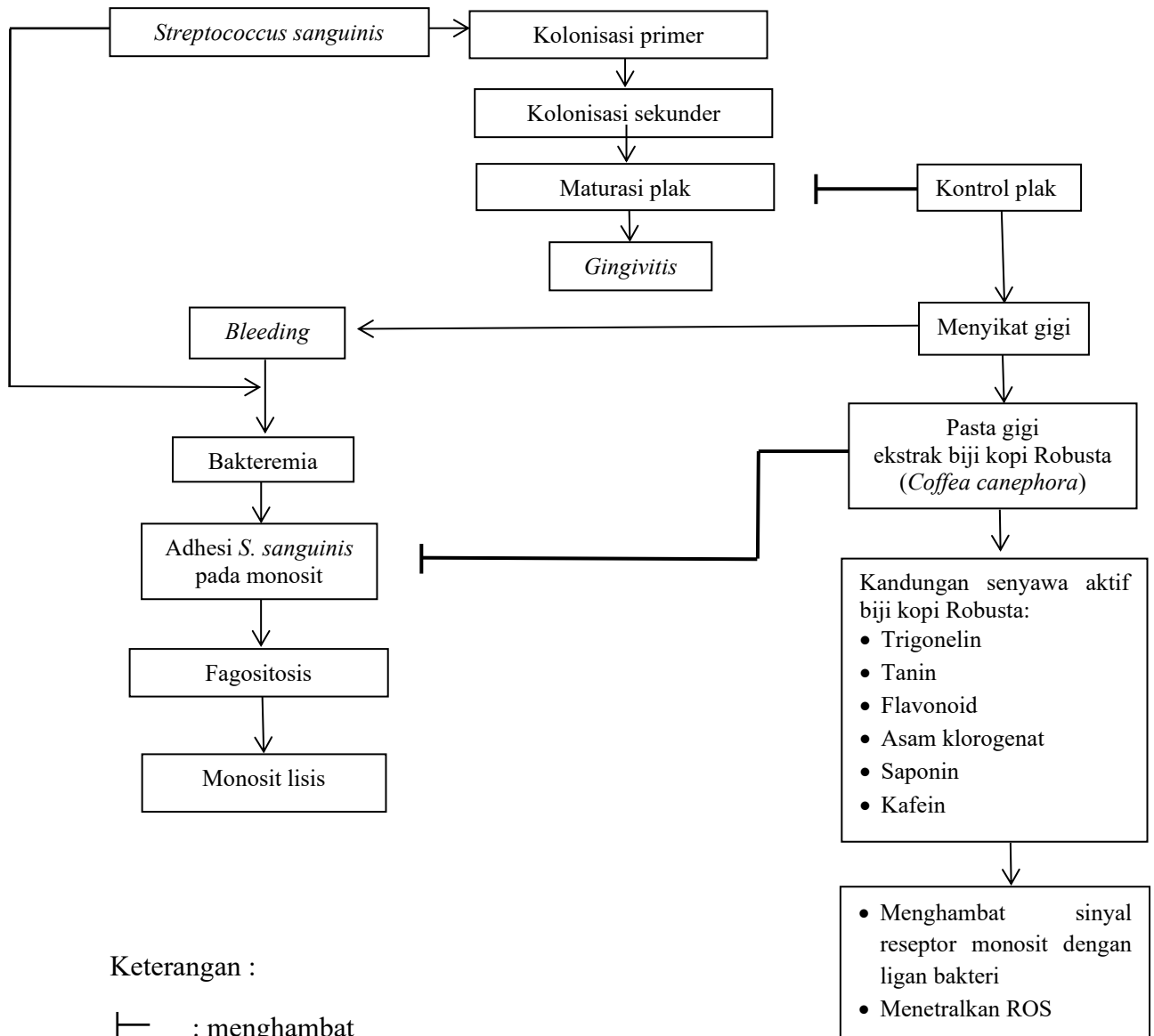
Biji kopi Robusta mengandung berbagai senyawa aktif yang diklasifikasikan berdasarkan jenis komponennya. Berdasarkan sifat fisiknya dibagi menjadi dua yakni senyawa nonvolatil/senyawa yang tidak mudah menguap (lipid, asam organik, mineral, dan melanoid) dan senyawa volatil/ senyawa yang mudah menguap (fenol, aldehid, asam butirat, ester butirat, dan furan) (Makiso *et al.*, 2024). Disamping itu, berdasarkan struktur kimia dibagi menjadi empat yakni, alkaloid (kafein, trigonelin, dan asam nikotinat), asam fenolik (asam klorogenat, asam kuinat, asam ferulat, asam kafeat), flavonoid (kaempferol, quercetin, katekin, dan rutin) dan terpenoid (aldehid dan cafestol) (Saud & Salamatullah, 2021).

## 2.7 Modulasi Adhesi oleh Kandungan Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*)

Kandungan senyawa aktif biji kopi Robusta diduga memiliki potensi bioaktif dalam memodulasi adhesi melalui berbagai mekanisme, diantaranya:

1. Trigonelin dan tanin, memiliki sifat reaktif gugus basa yang berikatan dengan gugus asam amino pada lapisan peptidoglikan membran sel bakteri, sehingga dapat mengganggu stabilitas membran dan menyebabkan ketidakseimbangan metabolisme bakteri (Farha *et al.*, 2020; Ranasatri *et al.*, 2021)
2. Flavonoid, tanin, dan saponin pada biji kopi Robusta memiliki peran penting dalam efek antioksidan, senyawa ini mampu menyumbangkan atom hidrogen yang berfungsi menetralkan *reactive oxygen species* (ROS) atau radikal bebas guna melindungi lipid membran sehingga integritas membran monosit terjaga dari lisisnya sel (Deepika & Maurya, 2022; Kurnia *et al.*, 2024; Kurniawan *et al.*, 2023).
3. Asam klorogenat, yang juga terkandung pada biji kopi Robusta terbukti, dapat menurunkan inflamasi dengan menekan proliferasi *Streptococcus sp.* (Huang *et al.*, 2023).
4. Flavonoid dan asam klorogenat, berkemampuan menghambat sinyal PRRs, jalur TLRs, sehingga sinyal sitokin-sitoikin proinflamasi akan terhambat. Keduanya memiliki kompleks Toll-Interacting Protein (TOLLIP) yang bertindak sebagai penghambat persinyalan TLR (Byun *et al.*, 2013; Lannoy *et al.*, 2021; Maslin *et al.*, 2022; Savista *et al.*, 2023).
5. Kafein memiliki kemampuan menghambat produksi mediator inflamasi yang berlebihan, seperti sitokin proinflamasi dan spesies oksigen reaktif. Senyawa ini terbukti dapat digunakan dalam memodulasi peradangan kronis dan mencegah kondisi peradangan yang lebih parah (Lemos *et al.*, 2022).

## 2.8 Kerangka Konsep



Keterangan :

- ┃ : menghambat
- ↔ : saling berhubungan
- : menyebabkan

## 2.9 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan teori diatas, didapatkan hipotesis yaitu pasta gigi yang mengandung ekstrak biji kopi Robusta (*Coffea canephora*) 6,25%; 3,12%; 1,56%; dan 0,78% mampu memodulasi adhesi *Streptococcus sanguinis* pada monosit ditandai dengan penurunan indeks adhesi tiap kenaikan konsentrasi.

## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yakni eksperimental laboratoris secara *in vitro* dengan rancangan penelitian yakni *post test only control group design*.

### 3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Juni tahun 2024-Januari tahun 2025 di beberapa tempat yakni pembuatan ekstrak biji kopi Robusta di Laboratorium Farmasetika Fakultas Farmasi dan uji indeks adhesi di Laboratorium *Bioscience* Rumah Sakit Gigi dan Mulut Fakultas Kedokteran Gigi, Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi, dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

### 3.3 Definisi Operasional Variabel

#### 3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini ialah pasta gigi yang mengandung ekstrak biji kopi Robusta konsentrasi dengan konsentrasi 6,25%; 3,12%; 1,56%; dan 0,78%. Definisi operasional dari variabel bebas, sebagai berikut:

- a. Ekstrak biji kopi Robusta didapat dari ekstraksi biji kopi *green bean* (mentah belum disangrai) yang sudah digiling dengan teknik maserasi menggunakan pelarut etanol 96% sehingga menghasilkan ekstrak kasar (*crude extract*).
- b. Pasta gigi ekstrak biji kopi Robusta adalah pasta gigi ekstrak dengan konsentrasi 6,25%; 3,12%; 1,56%; dan 0,78% yang dilarutkan dalam RPMI perbandingan 1:10 (0,1 mg pasta gigi ekstrak : 1 ml RPMI)

#### 3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah adhesi *Streptococcus sanguinis* pada monosit. Definisi operasional dari variabel terikat, sebagai berikut:

- a. Monosit dalam penelitian ini didapatkan dari kultur vena perifer dengan metode *gradient density centrifugation* menggunakan *centrifuge* (Eppendorf 5810 R).

Pengamatan mikroskopis persebaran kepadatan monosit dilakukan dengan menggunakan mikroskop *inverted* (Olympus Microscope CKX53) dengan perbesaran 400x (Lampiran 8).

- b. *S. sanguinis* yang digunakan ialah strain ATCC 10556 yang didapat dari Laboratorium Riset Terpadu Universitas Gajah Mada. Isolat *S. sanguinis* disuspensikan dalam BHI-B dan NaCl 0,9% lalu kekeruhan disetarakan menggunakan standar 0,5 *McFarland* menggunakan *densitometer*.
- c. Adhesi *S. sanguinis* pada monosit adalah perlekatan *S. sanguinis* pada dinding terluar monosit. Indeks adhesi diperoleh dengan menghitung rata-rata jumlah *S. sanguinis* yang melekat pada 100 monosit, menggunakan mikroskop cahaya (Olympus CX21) pada perbesaran 1000x.

### 3.3.3 Variabel Terkendali

Variabel terkendali pada penelitian ini ialah biji kopi Robusta, suspensi *S. sanguinis*, dan kriteria subjek penelitian. Definisi operasional dari variabel terkendali, sebagai berikut:

- a. Biji kopi Robusta diambil dari kopi ceri merah (matang petik) dengan jenis biji kopi *green bean* (biji mentah yang belum disangrai) yang didapat dari Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia.
- b. *S. sanguinis* strain ATCC 10556 didapat dari Laboratorium Riset Terpadu Universitas Gajah Mada.
- c. Sampel darah diambil dari subjek penelitian dengan kriteria laki-laki yang telah bersedia diambil sampel darahnya, tidak merokok, dan sehat tanpa riwayat penyakit sistemik maupun kelainan darah.

### 3.4 Sampel Penelitian

Sampel penelitian dibagi menjadi 6 kelompok, sebagai berikut :

- a. Kelompok kontrol : pasta plasebo yang hanya mengandung bahan basis pasta
- b. Kelompok konsentrasi 6,25% : pasta gigi yang mengandung ekstrak biji kopi Robusta konsentrasi 6,25%

- c. Kelompok konsentrasi 3,12% : pasta gigi yang mengandung ekstrak biji kopi Robusta konsentrasi 3,12%
- d. Kelompok konsentrasi 1,56%: pasta gigi yang mengandung ekstrak biji kopi Robusta konsentrasi 1,56%
- e. Kelompok konsentrasi 0,78%: pasta gigi yang mengandung ekstrak biji kopi Robusta konsentrasi 0,78%

Perhitungan jumlah sampel dihitung dengan rumus Federer sebagai berikut:

$$(n - 1)(t - 1) \geq 15$$

$$(n - 1)(6 - 1) \geq 15$$

$$(n - 1) \geq \frac{15}{5}$$

$$n - 1 \geq 3$$

$$n \geq 3 + 1$$

$$n \geq 4$$

Keterangan :

n = besar sampel setiap kelompok

t = jumlah kelompok

Berdasarkan hasil perhitungan yang telah dilakukan maka didapatkan besar sampel minimal yang digunakan pada penelitian ini adalah lebih besar atau sama dengan 4 sampel untuk setiap kelompok. Sehingga jumlah sampel yang digunakan pada penelitian ini sebanyak 20 sampel.

### 3.5 Alat dan Bahan Penelitian

#### 3.5.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini ialah *autoclave*, *centrifuge* (Eppendorf 5810 R), *coverslip poli L-lysine*, gelas ukur, *humaroller rotator*, *incubator shaker*, *laminar flow cabinet* (Labtech), lampu spirtus, desikator, ose, *densitometer* (Biomerieux), *microplate cell 6 well*, mikroskop *inverted* (Olympus CKX53), mikroskop cahaya (Olympus CX21), *object glass*, oven, pipet mikro, *syringe 5 ml*, tabung *eppendorf*, tabung *falcon*, tabung *heparin*, neraca timbang

(Adam), *vortex mixer*, *rotary evaporator* (SNC), mesin penggiling, pengayak serbuk kopi, *mortar*, dan *pestle*.

### 3.5.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini ialah biji Kopi Robusta (Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia), bakteri *S. sanguinis* ATCC 10556 (Laboratorium Riset Terpadu Universitas Gajah Mada), darah vena (subjek penelitian), *Hank's Balanced Salt Solution* (HBSS) (Gibco), *Rosewel Park Memorial Institute Media* (RPMI) (Gibco), *medium complex* M199 (SIGMA), *Lymphoprep* 1077 (SIGMA), *methanol absolute*, pewarna *Giemsa*, pewarna Gram, NaCl 0,9%, etanol 96%, alkohol 70%, *penicillin-streptomycin solution*, *fungizone*, magnesium karbonat, kalsium karbonat, gliserin, propilen glikol, trietanolamin, *oleum menthae piperithae*, *Brain Heart Infusion-Broth* (BHI-B), dan *aquades*.

## 3.6 Prosedur Penelitian

### 3.6.1 *Ethical Clearance*

Dilakukan pengajuan *ethical clearance* kepada Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember dengan nomor surat No.2689/UN25.8/KEPK/DL/2024 (Lampiran 2).

### 3.6.2 Pembuatan Ekstrak Biji Kopi Robusta

Biji kopi Robusta (*green bean*) dikeringkan di oven dengan suhu 40-50°C selama 24 jam dan digiling sampai halus. Kemudian diayak menggunakan ayakan *mesh* 40 ( $\pm 3$  kali pengulangan). Teknik pembuatan ekstrak biji kopi Robusta yang dilakukan ialah *crude ethanol extract*, yakni dilakukan perendaman pada pelarut etanol 96% selama 3 hari. Hasil perendaman disaring sampai diperoleh ekstrak dalam bentuk cair. Ekstrak diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 40°C untuk mendapatkan ekstrak biji kopi Robusta berkonsentrasi 100%. Hasil ekstraksi 500 gram biji Kopi menghasilkan ekstrak kasar (*crude extract*) sebanyak 50 gram.

### 3.6.3 Pembuatan Pasta Plasebo

Pasta plasebo dibuat dengan mencampurkan bahan berupa magnesium karbonat sebanyak 26%, kalsium karbonat sebanyak 29%, gliserin sebanyak 6%, propilen glikol sebanyak 8%, trietanolamin sebanyak 4%, *oleum menthae piperithae* sebanyak 2%, dan ditambahkan aquades steril sebanyak 25% sampai konsistensi pasta sesuai. Kemudian, diaduk hingga tidak ada gumpalan yang artinya pasta sudah homogen.

### 3.6.4 Pembuatan Pasta Gigi Ekstrak Biji Kopi Robusta

Pembuatan pasta gigi yang mengandung ekstrak biji kopi Robusta dilakukan pada *mortar* dan *pestle*. Konsentrasi 6,25% didapatkan dengan mencampurkan 93,75 mg pasta plasebo dengan 6,25 mg ekstrak. Konsentrasi 3,12% didapatkan dengan mencampurkan 96,87 mg pasta plasebo dengan 3,12 mg ekstrak. Konsentrasi 1,56% didapatkan dengan mencampurkan 98,43 mg pasta plasebo dengan 1,56 mg ekstrak. Konsentrasi 0,78% didapatkan dengan mencampurkan 99,21 mg pasta plasebo dengan 0,78 mg ekstrak.

Pasta dilarutkan dengan media RPMI dengan perbandingan 1:10. Diambil 0,1 mg pasta lalu ditambahkan 1 ml media RPMI. Selanjutnya, diambil 100 µl untuk dilakukan perlakuan pada monosit.

### 3.6.5 Pembuatan Suspensi *Streptococcus sanguinis*

Mengambil 1 ose *S. sanguinis* dari media biakan yang ditambahkan pada media BHI-B sebanyak 2 ml dan ditempatkan dalam desikator untuk memberikan suasana anaerob. Diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Pertumbuhan *S. sanguinis* ditunjukkan dengan adanya kekeruhan media atau larutan. Selanjutnya, bakteri diambil dengan pipet mikro dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi larutan NaCl 0,9% sebanyak 5 ml. Kekeruhan bakteri disetarakan menggunakan standar 0,5 *McFarland*.

### 3.6.6 Isolasi Monosit

Monosit diambil dari darah vena laki-laki sehat tanpa riwayat penyakit dan tidak merokok. Darah diambil sebanyak 6 ml lalu dimasukkan ke dalam tabung

heparin kemudian dicampur hingga homogen. Setelah homogen, buat darah diluent dengan mencampurkan HBSS sebanyak 1:1 lalu campur hingga homogen. Disiapkan tabung yang sudah terisi 3 ml *lymphoprep* secara perlahan sehingga terbentuk 2 lapisan, dengan perbandingan *diluent* darah dan *lymphoprep* yakni 1:2. Dilakukan sentrifugasi pada kecepatan 1900 RPM selama 20 menit pada suhu 20°C sehingga menciptakan 4 lapisan (plasma, mononuklear, *lymphoprep*, dan erosit). Lapisan monosit disebut bavicot (lapisan putih tipis atau cincin kabut) dilakukan *pipetting* lalu dipindahkan ke dalam tabung steril. Sampel diencerkan menggunakan HBSS (1:1) sampai homogen. Disentrifugasi selama 3 menit dan dilakukan 3 kali pengulangan. Kemudian, 1 ml HBSS ditambahkan sampai homogen. Ditambahkan 5 µl *fungizone* dan 20 µl *penicillin-sterptomycin*. Setelah itu, *Well culture* disiapkan kemudian *coverslip* steril dimasukkan pada masing-masing *well* sesuai yang dibutuhkan. Kemudian, 100 µl endapan hasil isolasi sel diteteskan pada *coverslip*. Inkubasi selama 20-30 menit pada suhu 37°C, diamati dibawah mikroskop *inverted* dengan menggoyang perlahan untuk melihat penempelan selnya. Lalu, cuci menggunakan media RPMI sebanyak 3 kali untuk menghilangkan kontaminasi sel. Apabila ada kontaminasi, maka dapat ditambahkan kembali 5 µl *fungizone* dan 20 µl *penicillin-sterptomycin*. Setelah steril, media kultur diganti dengan menggunakan *medium complex* M199 kemudian sel siap untuk dilakukan perlakuan sel.

### 3.6.7 Paparan Pasta Gigi Ekstrak Biji Kopi Robusta dan *S. sanguinis* pada monosit

Sel dilakukan perlakuan dengan menambahkan pasta gigi yang mengandung ekstrak biji kopi Robusta dengan konsentrasi 6,25%; 3,12%; 1,56%; dan 0,78% ke dalam masing-masing sampel sebanyak 200 µl, lalu pada kelompok kontrol tidak ditambahkan ekstrak. Kemudian, di inkubasi selama 2 jam pada suhu 37°C. Diamati setiap jam untuk melihat penyerapan ekstrak pada monosit. Setelah diinkubasi, media dibuang dan digantikan M199 yang baru sebanyak 1000 µl menggunakan pipet mikro. Masing-masing sampel diberi 200 µl *S. sanguinis*, lalu diinkubasi selama 6 jam pada suhu 37°C dan diamati perubahannya setiap 1 jam. Setelah

diinkubasi, suspensi media dibuang dengan diambil menggunakan pipet mikro, lalu dicuci dengan HBSS sebanyak 1 kali. Suspensi kemudian difiksasi dengan methanol absolut selama 3 menit, lalu methanol dibuang menggunakan pipet mikro dan dikeringkan. Dilakukan pengecatan dengan meneteskan pada *coverslip* yang terdapat sel. Didiamkan selama 5 menit, lalu dicuci menggunakan alkohol atau air mengalir dan dikeringkan.

### 3.6.8 Perhitungan Indeks Adhesi

Perhitungan indeks adhesi dilakukan dengan cara menghitung banyaknya bakteri yang melekat pada setiap sel monosit menggunakan mikroskop *inverted* dengan perbesaran 1000x pada 4-5 lapang pandang hingga didapatkan jumlah 100 monosit, lalu dihitung rata-ratanya.

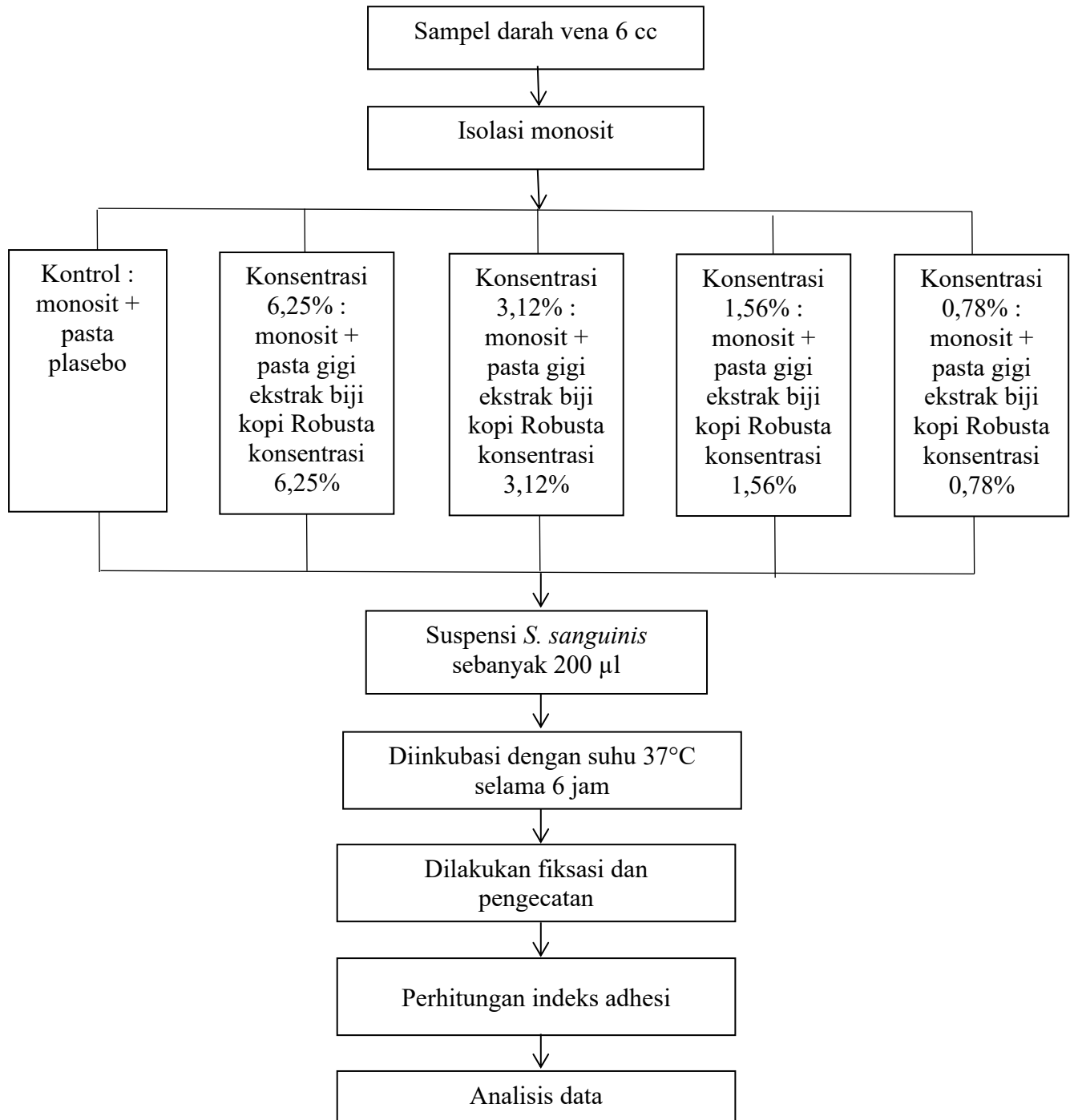
Perhitungan indeks adhesi dilakukan dengan rumus berikut:

$$\text{Indeks adhesi} = \frac{\text{Jumlah } S.sanguinis \text{ yang melekat per monosit}}{100 \text{ monosit}}$$

### 3.7 Analisis Data

Data dianalisis dengan *Statistical Product and Service Solutions* (SPSS). Normalitas data diuji dengan uji *shapiro-wilk* dan uji homogenitas dengan menggunakan uji *levene*. Selanjutnya dilakukan uji beda menggunakan uji *Anova One-way* dan dilakukan uji lanjutan *Least Significance Different (LSD) post hoc* untuk mengetahui lebih spesifik letak perbedaan antar kelompok sampel.

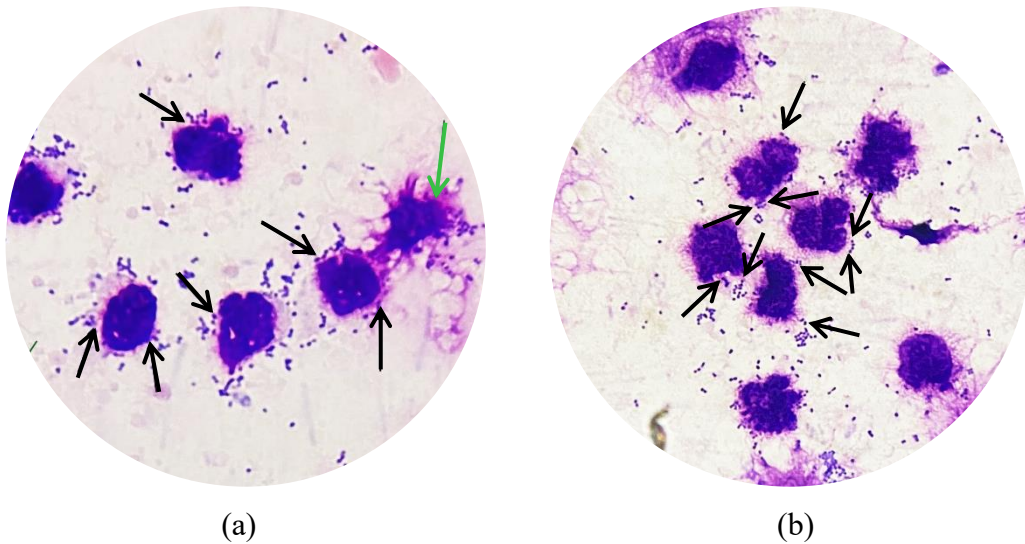
### 3.8 Alur Penelitian



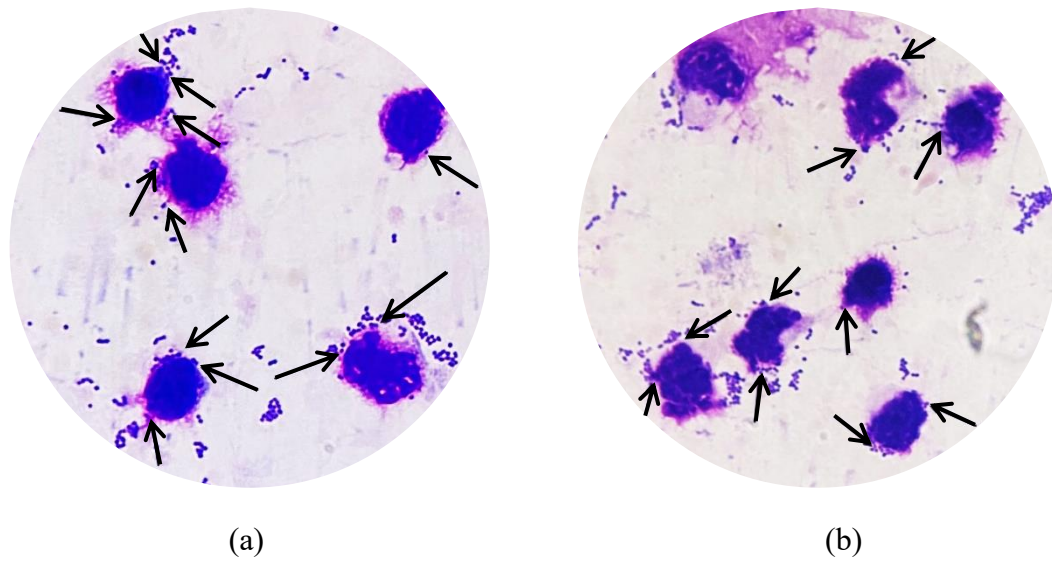
## BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Hasil Penelitian

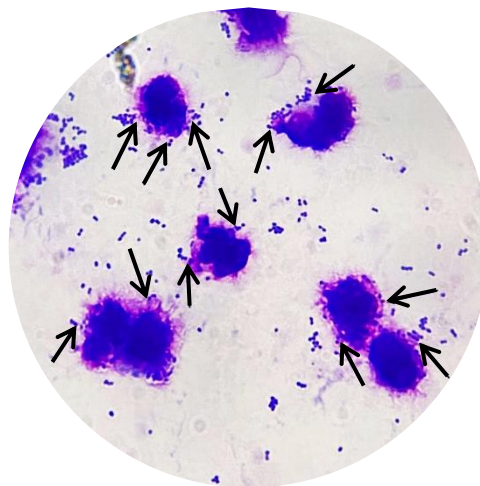
Hasil pengamatan secara mikroskopis menunjukkan adanya adhesi antara *S. sanguinis* dan monosit ditandai dengan bentukan *coccus*/bulat yang menempel pada dinding sel monosit (Gambar 4.1-4.3 dengan tanda panah hitam). Adapun monosit yang lisis ditandai dengan tumpahnya cairan intrasel ditandai dengan cairan berwarna ungu muda tersebar disekitar monosit (Gambar 4.1a dengan tanda panah hijau).



**Gambar 4.1** Gambaran mikroskopis adhesi *S. sanguinis* pada monosit dari kelompok kontrol dan kelompok dengan pasta gigi EBKR konsentrasi 6,25% menggunakan mikroskop cahaya pada perbesaran 1000x



**Gambar 4.2** Gambaran mikroskopis adhesi *S. sanguinis* pada monosit dari kelompok dengan pasta gigi EBKR konsentrasi 3,12% (a) dan 1,56% (b) menggunakan mikroskop cahaya pada perbesaran 1000x



**Gambar 4. 3** Gambaran mikroskopis adhesi *S. sanguinis* pada monosit dari kelompok dengan pasta gigi EBKR konsentrasi 0,78% menggunakan mikroskop cahaya pada perbesaran 1000x

Hasil pengamatan indeks adhesi *S. sanguinis* pada monosit untuk setiap kelompok dapat dilihat pada Tabel 4.1, Gambar 4.4, dan Lampiran 3. Hasil menunjukkan bahwa indeks adhesi tertinggi terdapat pada kelompok kontrol, yaitu sebesar 8,24 dan indeks terendah terdapat pada kelompok konsentrasi 6,25%, yaitu sebesar 5,25.

**Tabel 4. 1** Hasil perhitungan indeks adhesi *S. sanguinis* pada monosit

Kelompok	Jumlah Sampel	Mean $\pm$ SD
Kontrol	4	8,24 $\pm$ 0,21
Konsentrasi 6,25%	4	5,25 $\pm$ 0,19
Konsentrasi 3,12%	4	5,62 $\pm$ 0,37
Konsentrasi 1,56%	4	6,47 $\pm$ 0,07
Konsentrasi 0,78%	4	6,65 $\pm$ 0,37

Kontrol: pasta plasebo

Konsentrasi 6,25%: pasta gigi EBKR konsentrasi 6,25%

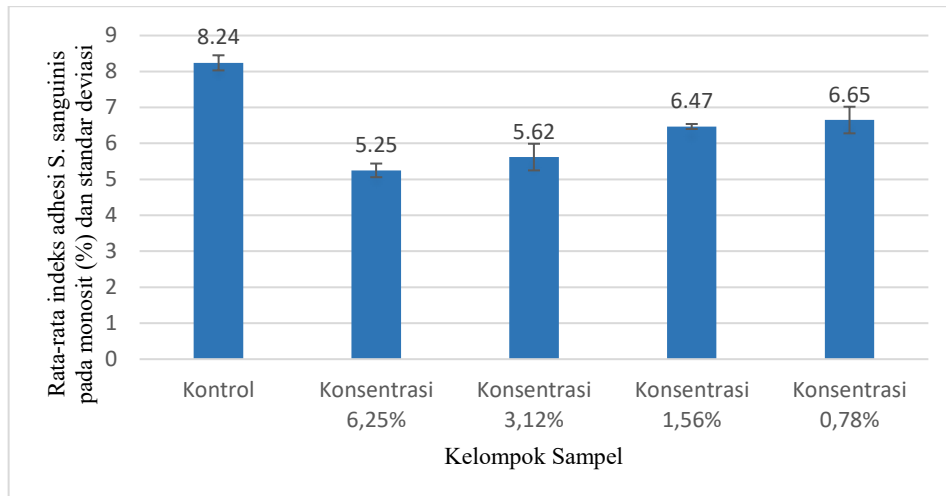
Konsentrasi 3,12%: pasta gigi EBKR konsentrasi 3,12%

Konsentrasi 1,56%: pasta gigi EBKR konsentrasi 1,56%

Konsentrasi 0,78%: pasta gigi EBKR konsentrasi 0,78%

Mean: rata-rata indeks adhesi *S. sanguinis* pada monosit

SD: standar deviasi



**Gambar 4.4** Diagram indeks adhesi *S. sanguinis* pada monosit

#### 4.2 Hasil Analisis Data

Hasil analisis data didapatkan nilai signifikansi  $p > 0,05$  pada uji normalitas menggunakan uji *shapiro-wilk* dan uji homogenitas menggunakan uji *levene* yang artinya data berdistribusi normal dan homogen (Lampiran 4 dan 5). Hasil uji beda

*Anova One-way* menunjukkan signifikansi  $p < 0,05$  yakni 0,001 yang artinya terdapat perbedaan pada tiap kelompok (Lampiran 6).

**Tabel 4. 2** Hasil uji LSD

Kelompok	Kontrol	6, 25%	3, 12%	1, 56%	0, 78%
Kontrol		0.001*	0.001*	0.001*	0.001*
Konsentrasi 6,25%			0.075	0.001*	0.001*
Konsentrasi 3,12%				0.001*	0.001*
Konsentrasi 1, 56%					0.366
Konsentrasi 0, 78%					

Keterangan: signifikan ( $p < 0.05$ )\*

Hasil uji LSD kelompok kontrol terhadap kelompok perlakuan pasta gigi yang mengandung ekstrak biji kopi Robusta (*Coffea canephora*) 6,25%; 3,12%; 1,56%; dan 0,78% menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna. Namun, tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok konsentrasi 6,25% dengan 3,12% dan kelompok konsentrasi 1,56% dengan 0,78%.

Berdasarkan hasil uji statistik tersebut, dapat diinterpretasikan bahwa pasta gigi EBKR mampu memodulasi adhesi *S.sanguinis* pada monosit. Hal ini ditandai dengan penurunan indeks adhesi tiap kenaikan konsentrasi. Semakin tinggi indeks adhesi maka efektifitas pasta gigi EBKR dalam memodulasi adhesi semakin rendah. Sebaliknya, semakin rendah indeks adhesi maka efektifitas pasta gigi EBKR dalam memodulasi adhesi semakin tinggi.

### 4.3 Pembahasan

Pada kelompok kontrol (monosit diinkubasi dengan pasta plasebo tanpa ekstrak biji kopi Robusta), indeks adhesi *S. sanguinis* terhadap monosit menunjukkan nilai paling tinggi. Monosit yang memfagosit lebih dari batas kemampuannya, yakni 5-10 bakteri (Murphy & Weaver, 2017), mengalami lisis dan menyebabkan tumpahnya cairan intrasel ke lingkungan ekstrasel. Akan tetapi, pada kelompok konsentrasi 6,25% dan 3,12%, terdapat monosit yang jumlah adhesinya melebihi batas kemampuan fagosit, namun tidak terjadi lisis. Hal ini berkaitan dengan kemampuan senyawa yang terkandung dalam pasta gigi ekstrak biji kopi Robusta.

Berdasarkan studi pustaka, senyawa aktif dalam biji kopi Robusta memiliki berbagai mekanisme dalam penjagaan integritas sel monosit. Senyawa flavonoid, tanin, dan saponin dalam biji kopi Robusta mampu menetralkan *reactive oxygen species* (ROS) hasil fagositosis. Senyawa ini mengurai H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (non radikal) dan menangkap O<sub>2</sub> yang dilepaskan oleh peroksida (radikal). Kemudian, senyawa ini akan menyumbangkan atom hidrogen atau satu elektronnya kepada radikal bebas sehingga dapat menghambat reaksi oksidasi. Oleh karena itu, flavonoid mampu melindungi lipid membran sel dari reaksi oksidasi yang dapat merusak integritas membran sel (Chamima, 2012; Deepika & Maurya, 2022)

Kandungan senyawa flavonoid dan asam klorogenat pada biji kopi Robusta berperan pula dalam menghambat adhesi bakteri. Keduanya memiliki kemampuan menghambat sinyal PRRs, jalur TLRs, dengan kompleks Toll-*Interacting Protein* (TOLLIP) sehingga sinyal sitokin proinflamasi akan terhambat (Byun *et al.*, 2013; Lannoy *et al.*, 2021; Maslin *et al.*, 2022; Savista *et al.*, 2023). Oleh karena itu, senyawa ini mampu menurunkan adhesi bakteri terhadap monosit dan meningkatkan kemampuan sel dalam melawan invasi bakteri.

Modulasi adhesi perlu dilakukan untuk mencegah kerusakan jaringan akibat lisisnya monosit. Ketika monosit lisis, peptida antimikroba, granula antimikroba, dan enzim protease akan terpapar ke jaringan dan dapat berakhir pada kerusakan jaringan serta kegagalan organ (Dömer *et al.*, 2021; Hortová-Kohoutková *et al.*, 2020). Namun, eliminasi bakteri dalam darah tidak hanya dilakukan oleh monosit. Akan tetapi, dilakukan bersamaan dengan sel imun lain. Oleh karena itu, ketika salah satu mekanisme dihambat, maka sistem imun lain akan mengeliminasi dengan mekanisme perlawanannya masing-masing (Minasyan, 2016).

Penelitian ini menemukan bahwa pasta gigi ekstrak biji kopi Robusta efektif dalam memodulasi adhesi *S. sanguinis* pada monosit melalui penjagaan integritas membran sel sehingga sel mampu memfagosit lebih dari kemampuannya. Mekanisme lainnya yakni dengan menurunkan ekspresi TLR sehingga menghambat jalur persinyalan adhesi bakteri dengan monosit.

Hal ini dibuktikan dari hasil analisis data yang menyatakan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dengan semua kelompok

perlakuan, artinya pasta gigi EBKR mampu memodulasi adhesi *S. sanguinis* pada monosit. Tidak adanya perbedaan yang bermakna antara kelompok konsentrasi 6,25% dengan 3,12% dan kelompok konsentrasi 1,56% dengan 0,78% dapat terjadi karena kandungan senyawa aktif diantara keduanya tidak jauh berbeda. Akan tetapi, tetap terdapat perbedaan yang ditandai dengan penurunan indeks adhesi tiap kenaikan konsentrasi.

## **BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN**

### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian dapat diperoleh kesimpulan yakni pasta gigi yang mengandung ekstrak biji kopi Robusta (*Coffea canephora*) 6,25%; 3,12%; 1,56%; dan 0,78% mampu memodulasi adhesi *Streptococcus sanguinis* pada monosit yaitu dengan menurunkan indeks adhesi tiap kenaikan konsentrasi.

### **5.2 Saran**

Berdasarkan hasil penelitian, penulis dapat memberikan saran sebagai berikut:

1. Perlu adanya penelitian lanjutan mengenai kandungan zat aktif dalam ekstrak biji kopi Robusta dan bagaimana pengaruh masing-masing zat aktif tersebut terhadap adhesi bakteri dengan monosit.
2. Perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai peran pasta gigi yang mengandung ekstrak biji kopi Robusta dalam memodulasi adhesi bakteri pada monosit secara *in-vivo*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Acevedo, A., Merino, A., Alférez, S., Molina, Á., Boldú, L., & Rodellar, J. (2020). A dataset of microscopic peripheral blood cell images for development of automatic recognition systems. *Data in Brief*, *30*, 105474. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2020.105474>
- Aris, M., Adriana, A. N. I., & Arsyad, S. K. (2022). Formulasi dan Uji Stabilitas Fisik Sediaan Pasta Gigi Ekstrak Daun Murbei (*Morus alba* L) dengan Variasi Na-CMC Sebagai Gelling Agent. *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, *8*(2). <https://jurnal-pharmaconmw.com/jmpi/index.php/jmpi/article/view/254>
- Asti, S. I. P. (2015). Pengaruh Ekstrak Biji Kopi Robusta (*Coffea robusta*) Terhadap Aaktivitas Fagositosis Sel Monosit. *Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember*.
- Austermann, J., Roth, J., & Barczyk-Kahlert, K. (2022). The Good and the Bad: Monocytes' and Macrophages' Diverse Functions in Inflammation. *Cells*, *11*(12), 1979. <https://doi.org/10.3390/cells11121979>
- Biller, J. D., & Takahashi, L. S. (2018). Oxidative stress and fish immune system: Phagocytosis and leukocyte respiratory burst activity. *Anais Da Academia Brasileira de Ciências*, *90*(4), 3403–3414. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201820170730>
- Byun, E.-B., Yang, M.-S., Choi, H.-G., Sung, N.-Y., Song, D.-S., Sin, S.-J., & Byun, E.-H. (2013). Quercetin negatively regulates TLR4 signaling induced by lipopolysaccharide through Tollip expression. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *431*(4), 698–705. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2013.01.056>
- Chamima, A. R. (2012). Inhibisi Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchae indica* (L.) Less) terhadap Adhesi *Streptococcus mutans* pada monosit. *Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember*.
- Chollet, S., Hernandez Padilla, A. C., Daix, T., Gaschet, M., François, B., Piguet, C., Gachard, N., Da Re, S., Jeannet, R., & Ploy, M.-C. (2024). Phagosomal granulocytic ROS in septic patients induce the bacterial SOS response. *iScience*, *27*(6), 109825. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2024.109825>

- Darajat, R. S. M., & Kodir, A. I. A. (2022). Efektivitas Ekstrak Daun Jamblang (*Syzygium cumini* L) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus Sanguinis*. *Konsentasi Ilmiah Mahasiswa UNISSULA (KIMU)*, 7. <https://jurnal.unissula.ac.id/index.php/kimukes/article/view/20290>
- Darwin, E., Elvira, D., & Elfi, E. F. (2021). *Imunologi dan Infeksi. Padang: Andalas University Press.*
- Dash, S. P., Gupta, S., & Sarangi, P. P. (2024). Monocytes and macrophages: Origin, homing, differentiation, and functionality during inflammation. *Heliyon*, 10(8), e29686. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e29686>
- Deepika, & Maurya, P. K. (2022). Health Benefits of Quercetin in Age-Related Diseases. *Molecules*, 27(8), 2498. <https://doi.org/10.3390/molecules27082498>
- Deng, K., Pelekos, G., Jin, L., & Tonetti, M. S. (2021). Gingival bleeding on brushing as a sentinel sign of gingival inflammation: A diagnostic accuracy trial for the discrimination of periodontal health and disease. *Journal of Clinical Periodontology*, 48(12), 1537–1548. <https://doi.org/10.1111/jcpe.13545>
- Dömer, D., Walther, T., Möller, S., Behnen, M., & Laskay, T. (2021). Neutrophil Extracellular Traps Activate Proinflammatory Functions of Human Neutrophils. *Frontiers in Immunology*, 12, 636954. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.636954>
- El-Zayat, S. R., Sibaii, H., & Manna, F. A. (2019). Toll-like receptors activation, signaling, and targeting: An overview. *Bulletin of the National Research Centre*, 43(1), 187. <https://doi.org/10.1186/s42269-019-0227-2>
- Espinoza, V. E., & Emmady, P. D. (2023). *Histology, Monocytes*. StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557618/>
- Farha, A. K., Yang, Q.-Q., Kim, G., Li, H.-B., Zhu, F., Liu, H.-Y., Gan, R.-Y., & Corke, H. (2020). Tannins as an alternative to antibiotics. *Food Bioscience*, 38, 100751. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100751>

- Fischetti, V. A. (2019). Surface Proteins on Gram-Positive Bacteria. *Microbiology Spectrum*, 7(4), 7.4.19. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.GPP3-0012-2018>
- Graham, L. A., Hansen, T., Yang, Y., Sherik, M., Ye, Q., Soares, B. P., Kinrade, B., Guo, S., & Davies, P. L. (2024). Adhesin domains responsible for binding bacteria to surfaces they colonize project outwards from companion split domains. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, prot.26689. <https://doi.org/10.1002/prot.26689>
- Guo, S., Zahiri, H., Stevens, C., Spaanderman, D. C., Milroy, L.-G., Ottmann, C., Brunsveld, L., Voets, I. K., & Davies, P. L. (2021). Molecular basis for inhibition of adhesin-mediated bacterial-host interactions through a peptide-binding domain. *Cell Reports*, 37(7), 110002. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.110002>
- Handoko, G. V. (2018). Daya Hambat Ekstrak Daun Wungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) Terhadap Adhesi Bakteri *Porphyromonas gingivalis* Pada Sel Neutrofil. *Skripsi Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember*.
- Hortová-Kohoutková, M., Tidu, F., De Zuani, M., Šrámek, V., Helán, M., & Frič, J. (2020). Phagocytosis–Inflammation Crosstalk in Sepsis: New Avenues for Therapeutic Intervention. *Shock*, 54(5), 606–614. <https://doi.org/10.1097/SHK.0000000000001541>
- Huang, J., Xie, M., He, L., Song, X., & Cao, T. (2023). Chlorogenic acid: A review on its mechanisms of anti-inflammation, disease treatment, and related delivery systems. *Frontiers in Pharmacology*, 14, 1218015. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1218015>
- Irvan, I., Febyan, F., & Suparto, S. (2018). Sepsis dan Tata Laksana Berdasar Guideline Terbaru. *JAI (Jurnal Anestesiologi Indonesia)*, 10(1), 62. <https://doi.org/10.14710/jai.v10i1.20715>
- Isomura, E. T., Suna, S., Kurakami, H., Hikoso, S., Uchihashi, T., Yokota, Y., Sakata, Y., & Tanaka, S. (2023). Not brushing teeth at night may increase the risk of cardiovascular disease. *Scientific Reports*, 13(1), 10467. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-37738-1>

- Kanouté, A., Dieng, S. N., Diop, M., Dieng, A., Sene, A. K., Diouf, M., Lo, C. M., Faye, D., & Carrouel, F. (2022). Chemical vs. natural toothpaste: Which formulas for which properties? A scoping review. *Journal of Public Health in Africa*, 13(3). <https://doi.org/10.4081/jphia.2022.1945>
- Kemenkes RI. (2018). *Laporan Nasional Riskesdas 2018*. Lembaga Penerbit Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. <https://repository.badankebijakan.kemkes.go.id/id/eprint/3514/1/Laporan%20Riskesdas%202018%20Nasional.pdf>
- Kim, H., Jung, B. J., Jeong, J., Chun, H., & Chung, D. K. (2014). Lipoteichoic Acid from *Lactobacillus plantarum* Inhibits the Expression of Platelet-Activating Factor Receptor Induced by *Staphylococcus aureus* Lipoteichoic Acid or *Escherichia coli* Lipopolysaccharide in Human Monocyte-Like Cells. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24(8), 1051–1058. <https://doi.org/10.4014/jmb.1403.03012>
- Kobayashi, S. D., Malachowa, N., & DeLeo, F. R. (2018). Neutrophils and Bacterial Immune Evasion. *Journal of Innate Immunity*, 10(5–6), 432–441. <https://doi.org/10.1159/000487756>
- Konieczka, P., González, M. J., González, M., Barbero, G. F., & Palma, M. (2020). Characterization of Arabica and Robusta Coffees by Ion Mobility Sum Spectrum. *Sensors*, 20(11), 3123. <https://doi.org/10.3390/s20113123>
- Kurnia, D., Desty, M., Marliani, L., Febrina, E., & Asnawi, A. (2024). A Review of Tannin Compounds in Avocado as Antioxidants. *Tropical Journal of Natural Product Research*, 8(10). <https://doi.org/10.26538/tjnpr/v8i10.1>
- Kurniawan, G., Chabibah, C., Rahmawati, R. P., Arif, F., & Apriliyani, F. (2023). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Biji Kopi Robusta (*Coffea robusta* L.) di Kudus dengan Metode DPPH. *IJF (Indonesia Jurnal Farmasi)*, 8(2), 127–135. <https://doi.org/10.26751/ijf.v8i2.2302>
- Lannoy, V., Côté-Biron, A., Asselin, C., & Rivard, N. (2021). Phosphatases in toll-like receptors signaling: The unfairly-forgotten. *Cell Communication and Signaling*, 19(1), 10. <https://doi.org/10.1186/s12964-020-00693-9>

- Lee, M., Lee, S. Y., & Bae, Y.-S. (2022). Emerging roles of neutrophils in immune homeostasis. *BMB Reports*, *55*(10), 473–480. <https://doi.org/10.5483/BMBRep.2022.55.10.115>
- Lemos, M. F., De Andrade Salustriano, N., De Souza Costa, M. M., Lirio, K., Da Fonseca, A. F. A., Pacheco, H. P., Endringer, D. C., Fronza, M., & Scherer, R. (2022). Chlorogenic acid and caffeine contents and anti-inflammatory and antioxidant activities of green beans of conilon and arabica coffees harvested with different degrees of maturation. *Journal of Saudi Chemical Society*, *26*(3), 101467. <https://doi.org/10.1016/j.jscs.2022.101467>
- Makiso, M. U., Tola, Y. B., Ogah, O., & Endale, F. L. (2024). Bioactive compounds in coffee and their role in lowering the risk of major public health consequences: A review. *Food Science & Nutrition*, *12*(2), 734–764. <https://doi.org/10.1002/fsn3.3848>
- Maslin, L. A., Weeks, B. R., Carroll, R. J., Byrne, D. H., & Turner, N. D. (2022). Chlorogenic Acid and Quercetin in a Diet with Fermentable Fiber Influence Multiple Processes Involved in DSS-Induced Ulcerative Colitis but Do Not Reduce Injury. *Nutrients*, *14*(18), 3706. <https://doi.org/10.3390/nu14183706>
- Maulidya, A. (2024). Daya Antibakteri Pasta Gigi dengan Kandungan Ekstrak Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Terhadap *Streptococcus sanguinis*. *Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember*.
- Minasyan, H. (2016). Mechanisms and pathways for the clearance of bacteria from blood circulation in health and disease. *Pathophysiology*, *23*(2), 61–66. <https://doi.org/10.1016/j.pathophys.2016.03.001>
- Murphy, K., & Weaver, C. (2017). *Janeway's Immunobiology 9th Edition* (9th ed.). Garland Science.
- Newman, M. G., Perry, K., & Carranza, F. A. (2024). *Clinical Periodontology and Implantology* (14th ed.). Elsevier.
- Nicholas, M. (2019). Role of B Cells and Antibodies in Controlling Bacterial Pathogens. In *Encyclopedia Of Microbiology (Fourth Edition)* (pp. 194–200). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.66120-2>

- Peeran, S., & Ramalingam, K. (2021). Plaque control. In *Essentials of Periodontics and Oral Implantology*. Saranraj JPS Publication.
- Purwandhini, A., Pudjiastutik, E., & Suhaeriyah, N. (2023). Analisis Perwilayahan Komoditas Kopi. *Jurnal Sosial Ekonomi Pertanian*, 19(2), 167–178. <https://doi.org/10.20956/jsep.v19i2.25124>
- Ranasatri, A. A., Nur Mahmudah, Riandini Aisyah, & Retno Sintowati. (2021). Aktivitas Antibakteri Ekstral Etanol 70% Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Salmonella typhi*. *Universitas Muhammadiyah Surakarta*. <https://doi.org/DOI: 10.23917>
- Rao, D. P., & McFaull, S. (2019). Tooth ‘aches’: Injuries related to toothbrush use. *Paediatrics & Child Health*, 24(1), e40–e44. <https://doi.org/10.1093/pch/pxy073>
- Rathee, M., & Jain, P. (2023). *Gingivitis*. StatPearls. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557422/>
- Rohit Dey. (2016). Platelet Adherence by Oral Streptococci. *University Bremen gGmbH*. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.24814.15687>
- Sabri, H., Barjoei, M. M. D., Azarm, A., Sadighnia, N., Shakiba, R., Aghebati, G., Hadilou, N., Kheiri, P., Ghanbari, F., Deravi, N., & Mokhtari, M. (2023). The Yin and Yang of Sodium Lauryl Sulfate Use for Oral and Periodontal Health: A Literature Review. *In Vivo*.
- Saud, S., & Salamatullah, A. M. (2021). Relationship between the Chemical Composition and the Biological Functions of Coffee. *Molecules*, 26(24), 7634. <https://doi.org/10.3390/molecules26247634>
- Savista, T. M. V., Yunus, J., & Arfian, N. (2023). Pengaruh Pemberian Asam Klorogenat Terhadap Ekspresi mRNA TLR-4, mRNA MCP-1, Jumlah makrofag M1 dan M2 Pada Ginjal Mencit Swiss Webster dengan Model Unilateral Uretral Obstruction (UUO). *Jurnal Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Universitas Gajah Mada*, 5(2), 88–96.
- Shen, X., Nie, F., Fang, H., Liu, K., Li, Z., Li, X., Chen, Y., Chen, R., Zheng, T., & Fan, J. (2023). Comparison of chemical compositions, antioxidant

activities, and acetylcholinesterase inhibitory activities between coffee flowers and leaves as potential novel foods. *Food Science & Nutrition*, 11(2), 917–929. <https://doi.org/10.1002/fsn3.3126>

Speziale, P., Arciola, C. R., & Pietrocola, G. (2019). Fibronectin and Its Role in Human Infective Diseases. *Cells*, 8(12), 1516. <https://doi.org/10.3390/cells8121516>

Sumioka, R., Nakata, M., Okahashi, N., Li, Y., Wada, S., Yamaguchi, M., Sumitomo, T., Hayashi, M., & Kawabata, S. (2017). Streptococcus sanguinis induces neutrophil cell death by production of hydrogen peroxide. *PLOS ONE*, 12(2), e0172223. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0172223>

Thau, L., Asuka, E., & Mahajan, K. (2023). Physiology, Opsonization. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK534215/>

Thawani, V., & Mani, A. (2019). Are all additives of toothpastes rational? *Journal of Mahatma Gandhi Institute of Medical Sciences*, 24(2), 71. [https://doi.org/10.4103/jmgims.jmgims\\_34\\_18](https://doi.org/10.4103/jmgims.jmgims_34_18)

Vitkov, L., Singh, J., Schauer, C., Minnich, B., Krunic, J., Oberthaler, H., Gamsjaeger, S., Herrmann, M., Knopf, J., & Hannig, M. (2023). Breaking the Gingival Barrier in Periodontitis. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(5), 4544. <https://doi.org/10.3390/ijms24054544>

Vyas, T., & Nagi, R. (2021). *Chemical plaque control—A brief review. J Family Care Med 2021;10:1562.*

Wahyukundari, M. A., Praharani, D., Pujiastuti, P., Sakinah, N. N., Sari, D. S., & Arina, Y. M. D. (2023). *Analisis Aktivitas Sitotoksik dan Antioksidan Pasta Gigi Berbasis Ekstrak Biji Kopi Robusta Secara In-vitro*. Laporan Penelitian Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember.

Ysrafil, Y., Sapiun, Z., Slamet, N. S., Mohamad, F., Hartati, H., Damiti, S. A., Alexandra, F. D., Rahman, S., Masyeni, S., Harapan, H., Mamada, S. S., Emran, T. B., & Nainu, F. (2023). Anti-inflammatory activities of flavonoid derivatives. *ADMET and DMPK*. <https://doi.org/10.5599/admet.1918>

Zainuri, Paramartha, D. N. A., Fatinah, A., Nofrida, R., Rahayu, N., Anggraini, I. M. D., & Utama, Q. D. (2023). The Chemical Characteristics of Arabica and Robusta Green Coffe Beans From Geopark Rinjani, Indonesia. *BIOTROPIA*, 30(3), 318–328. <https://doi.org/10.11598/btb.2023.30.3.1940>

Zhu, B., Macleod, L. C., Kitten, T., & Xu, P. (2018). *Streptococcus sanguinis* biofilm formation & interaction with oral pathogens. *Future Microbiology*, 13(8), 915–932. <https://doi.org/10.2217/fmb-2018-0043>

## LAMPIRAN

- Lampiran 1 [Surat izin penelitian](#)
- Lampiran 2 [Ethical clearance](#)
- Lampiran 3 [Hasil perhitungan indeks adhesi \*S. sanguinis\* pada monosit](#)
- Lampiran 4 [Hasil uji normalitas Saphiro Wilk](#)
- Lampiran 5 [Hasil uji homogenitas Levene](#)
- Lampiran 6 [Hasil uji beda \*Anova One-way\*](#)
- Lampiran 7 [Hasil uji \*Least Significance Different \(LSD\) post hoc\*](#)
- Lampiran 8 [Dokumentasi prosedur penelitian](#)
- Lampiran 9 [Formulasi pasta plasebo](#)
- Lampiran 10 [Hasil isolasi monosit](#)

Lampiran dapat diakses melalui *barcode* dan/atau *link* dibawah ini:



<https://unej.id/lampiranskripsiPujiTyara>