



**POTENSI PASTA GIGI EKSTRAK BIJI HIJAU KOPI ROBUSTA
(*Coffea canephora*) TERHADAP EKSPRESI *Interleukin-10* (IL-10)
TIKUS PERIODONTITIS**

SKRIPSI

Oleh

Revani Putri Lailatul Syifa

221610101159

KEMENTRIAN PENDIDIKAN TINGGI, SAINS, DAN TEKNOLOGI

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS JEMBER

2026



**POTENSI PASTA GIGI EKSTRAK BIJI HIJAU KOPI ROBUSTA
(*Coffea canephora*) TERHADAP EKSPRESI *Interleukin-10* (IL-10)
TIKUS PERIODONTITIS**

*Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi sebagian syarat
memperoleh gelar Sarjana (S1) pada program studi Kedokteran Gigi.*

SKRIPSI

Oleh

Revani Putri Lailatul Syifa

221610101159

KEMENTERIAN PENDIDIKAN TINGGI, SAINS, DAN TEKNOLOGI

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS JEMBER

2026

SKRIPSI

**POTENSI PASTA GIGI EKSTRAK BIJI HIJAU KOPI ROBUSTA
(*Coffea canephora*) TERHADAP EKSPRESI *Interleukin-10* (IL-10)
TIKUS PERIODONTITIS**

Oleh

Revani Putri Lailatul Syifa

221610101159

Pembimbing :

Dosen Pembimbing : drg. Neira Najatus Sakinah, Sp.Perio

Penguji :

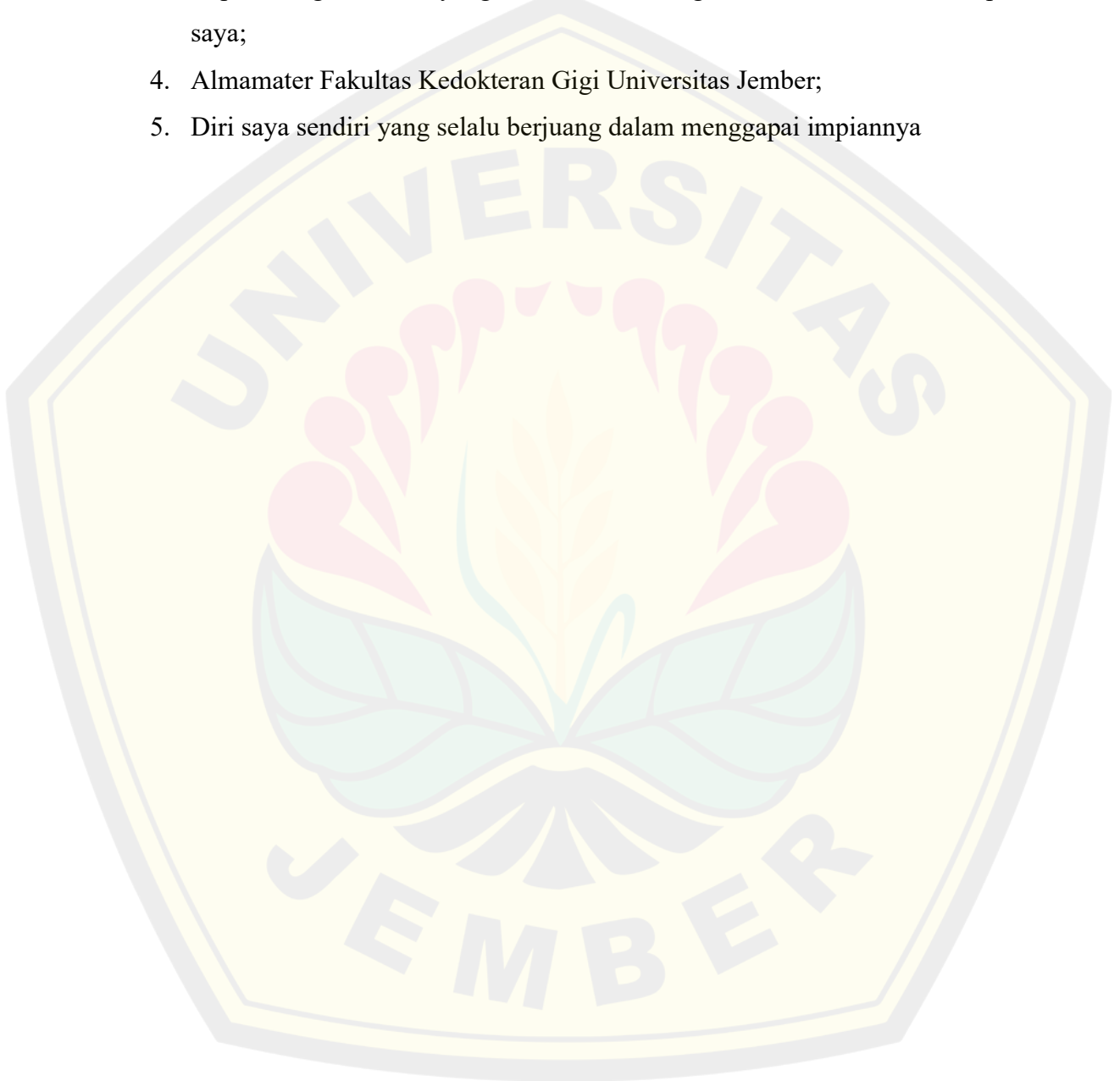
Dosen Penguji Utama : Dr. drg. Desi Sandra Sari, MD.Sc

Dosen Penguji Anggota : Dr. drg. I Dewa Ayu Susilawati, M.kes

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Allah SWT;
2. Kedua orang tua saya beserta seluruh keluarga yang saya cintai;
3. Bapak/Ibu guru/dosen yang telah membimbing dan memberikan ilmu kepada saya;
4. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
5. Diri saya sendiri yang selalu berjuang dalam menggapai impiannya



MOTTO

”Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya”

(QS. Al-Baqarah 286)

“Hey Jude, refrain! Don’t carry the world upon your shoulders”

-Paul McCartney

”You get one shot at life, why be unhappy”

-Noel Gallagher

“Semua orang memiliki gilirannya masing-masing, bersabarlah dan tunggu giliranmu”

-Gol D. Roger

PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Revani Putri Lailatul Syifa

NIM : 221610101159

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul: *Potensi Pasta Gigi Ekstrak Biji Hijau Kopi Robusta (Coffea canephora) Terhadap Ekspresi Interleukin-10 (IL-10) Tikus Periodontitis* Adalah benar-benar karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan skripsi 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, 6 Juli 2026

Yang menyatakan,

Revani Putri Lailatul Syifa

NIM 221610101159

HALAMAN PERSETUJUAN

Skripsi berjudul *Potensi Pasta Gigi Ekstrak Biji Hijau Kopi Robusta (Coffea canephora) Terhadap Ekspresi Interleukin-10 (IL-10) Tikus Periodontitis* telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada:

Hari : Senin

Tanggal : 6 Juli 2026

Tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Pembimbing

Tanda Tangan

1. Pembimbing Utama

Nama : drg. Neira Najatus Sakinah, Sp.Perio (.....)

NIP : 199310102019032031

Penguji

1. Penguji Utama

Nama : Dr. drg. Desi Sandra Sari, MD.Sc (.....)

NIP : 197512152003122005

2. Penguji Anggota

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

NIP : 196109031986022001

ABSTRACT

Background: Periodontitis is a chronic inflammatory disease characterized by the destruction of periodontal supporting tissues due to bacterial biofilm and host immune responses. Interleukin-10 (IL-10) is an anti-inflammatory cytokine that regulates inflammation and promotes periodontal tissue homeostasis. Green Robusta coffee bean (*Coffea canephora*) extract contains bioactive compounds with antibacterial, antioxidant, and anti-inflammatory properties. This study aimed to evaluate the effect of green Robusta coffee bean extract toothpaste on IL-10 expression in periodontitis-induced Wistar rats. **Methods:** An experimental post-test only control group design was conducted using male Wistar rats with periodontitis induced by *Porphyromonas gingivalis* LPS. The animals were assigned to control and treatment groups receiving toothpaste containing green Robusta coffee bean extract at concentrations of 0.78125%, 1.5625%, 3.125%, and 6.25% for 7 and 14 days. IL-10 expression in the periodontal ligament was assessed by immunohistochemistry and quantified using ImageJ. Data were analyzed using the Shapiro–Wilk, Levene's, and Kruskal–Wallis tests ($p < 0.05$). **Results:** Green Robusta coffee bean extract toothpaste increased IL-10 expression compared with the placebo group. The highest mean IL-10 expression was observed on day 7 in the 3.125% group (43.33 ± 5.77), which was higher than the control group (36.67 ± 5.77). Statistical analysis revealed significant differences in IL-10 expression among the treatment groups ($p < 0.05$). **Conclusion:** Green Robusta coffee bean extract toothpaste at concentrations of 0.78125%, 1.5625%, 3.125%, and 6.25% was shown to increase IL-10 expression in the periodontal ligament of periodontitis-induced Wistar r

Keywords: periodontitis, Interleukin-10, IL-10, green Robusta coffee bean extract, *Coffea canephora*, toothpaste, periodontal inflammation.

RINGKASAN

POTENSI PASTA GIGI EKSTRAK BIJI HIJAU KOPI ROBUSTA (*Coffea canephora*) TERHADAP EKSPRESI *Interleukin-10* (IL-10) TIKUS PERIODONTITIS; Revani Putri Lailatul Syifa, 221610101159; 2026; 36 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Periodontitis merupakan penyakit inflamasi kronis yang ditandai dengan kerusakan progresif jaringan penyangga gigi akibat interaksi antara biofilm bakteri dan respons imun inang. Salah satu bakteri utama penyebab periodontitis adalah *Porphyromonas gingivalis*, yang melalui lipopolisakarida (LPS) mampu memicu respons inflamasi sehingga menyebabkan kerusakan ligamen periodontal dan resorpsi tulang alveolar. Interleukin-10 (IL-10) berperan sebagai sitokin antiinflamasi yang penting dalam mengendalikan respons imun dan mempertahankan homeostasis jaringan periodontal. EBHKR diketahui mengandung senyawa bioaktif, seperti asam klorogenat, flavonoid, kafein, dan trigonelin, yang memiliki aktivitas antibakteri, antioksidan, dan antiinflamasi. Berdasarkan potensi tersebut, penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh pasta gigi ekstrak biji kopi robusta hijau terhadap peningkatan ekspresi IL-10 pada ligamen periodontal tikus Wistar yang diinduksi periodontitis.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan *post-test only control group design* menggunakan tikus Wistar jantan (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi periodontitis menggunakan LPS *P. gingivalis*. Hewan uji dibagi menjadi kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang diberikan pasta gigi ekstrak biji kopi robusta hijau dengan konsentrasi 0,78125%, 1,5625%, 3,125%, dan 6,25% selama 7 dan 14 hari. Pengaplikasian pasta gigi sebanyak seujung sonde dilakukan menggunakan *microbrush* dengan teknik *roll* selama 10 kali pada area molar rahang kiri bawah. Waktu pengaplikasian pada pukul 08.00 dan 15.00 selama 7 hari dan 14 hari. Ekspresi IL-10 pada ligamen periodontal diamati

menggunakan pewarnaan imunohistokimia, kemudian dihitung secara kuantitatif menggunakan perangkat lunak ImageJ berdasarkan jumlah sel positif. Analisis statistik dilakukan menggunakan uji *Shapiro–Wilk*, uji *Levene*, dan uji *Kruskal–Wallis* dengan tingkat signifikansi $p < 0,05$.

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pasta gigi ekstrak biji hijau kopi robusta (*Coffea canephora*) berpotensi meningkatkan ekspresi IL-10 pada ligamen periodontal tikus wistar yang mengalami periodontitis, dengan konsentrasi 3,125% memberikan efek paling optimal pada fase awal penyembuhan. Penelitian selanjutnya disarankan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa aktif melalui uji fitokimia, mengevaluasi mekanisme kerja ekstrak terhadap sitokin antiinflamasi lainnya, serta melakukan uji klinis guna mengonfirmasi efektivitas dan keamanan penggunaan pasta gigi ekstrak biji hijau kopi robusta pada manusia.

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan, yaitu kandungan senyawa bioaktif spesifik dalam ekstrak biji hijau kopi robusta yang berperan dalam meningkatkan ekspresi IL-10 belum diidentifikasi melalui uji fitokimia, sehingga mekanisme kerja pada tingkat molekuler belum dapat dipastikan. Keterbatasan tersebut juga dapat menjelaskan mengapa peningkatan ekspresi IL-10 tidak menunjukkan pola *dose-response* yang linear, dengan ekspresi tertinggi diperoleh pada konsentrasi 3,125% dan bukan pada konsentrasi 6,25%. Selain itu, penelitian ini menggunakan model hewan coba dengan waktu pengamatan yang terbatas hingga 14 hari, sehingga hasil penelitian belum dapat digeneralisasikan secara langsung pada manusia maupun untuk penggunaan jangka panjang.

PRAKATA

Puji Syukur ke hadirat Allah SWT atas segala anugrah dan Rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan, dukungan, dorongan, dan bimbingan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

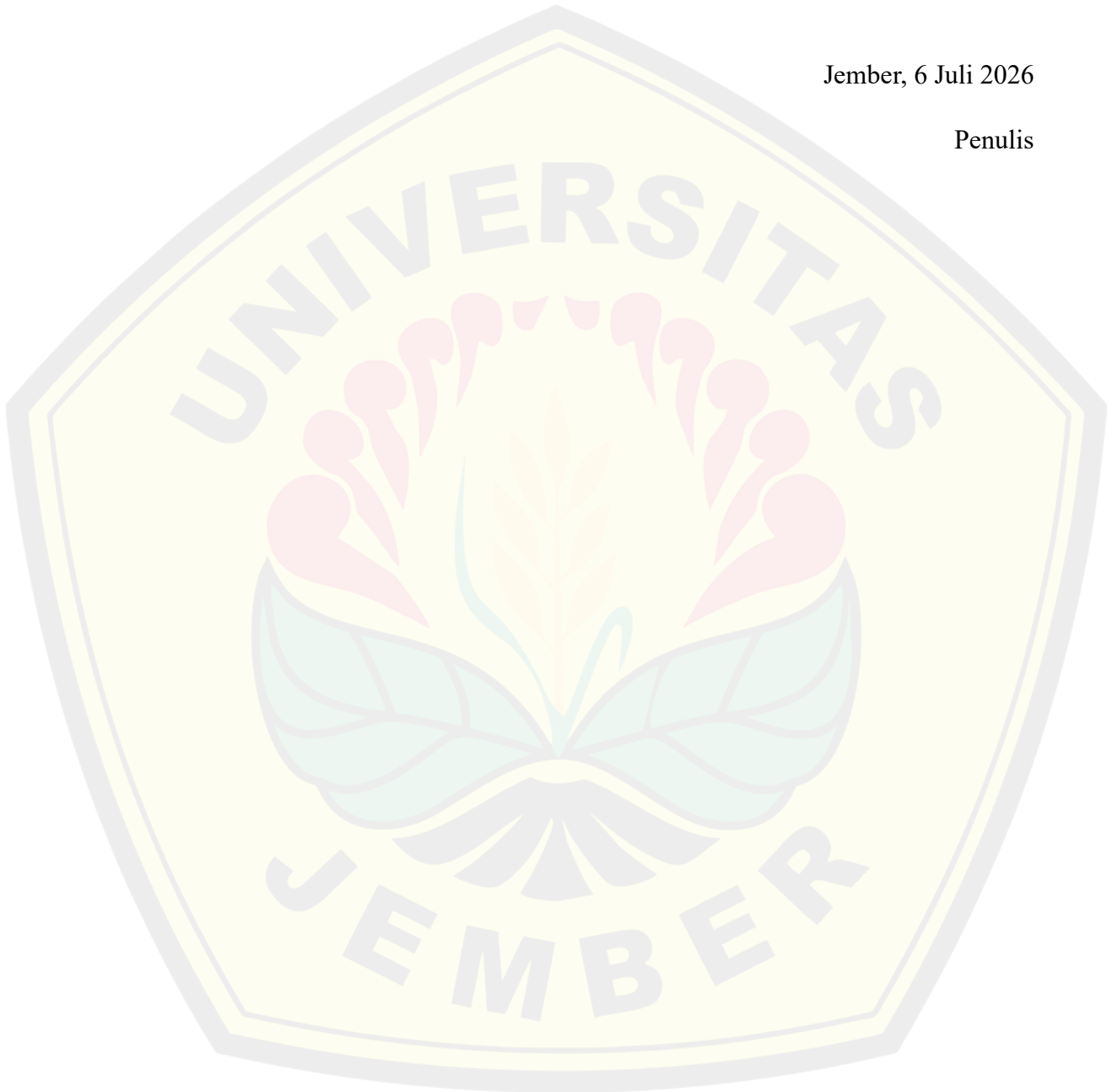
1. drg. Dwi Kartika Apriyono, M.Kes., Sp.OF(K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
2. Prof. Dr. drg. Herniyati, M.Kes selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing dan memberi nasihat serta motivasi selama masa preklinik;
3. drg. Neira Najatus Sakinah, Sp.Perio selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah meluangkan waktunya untuk bimbingan, arahan, perhatian, motivasi serta kesabaran selama proses penyusunan skripsi;
4. Dr. drg. Desi Sandra Sari, MD.Sc selaku Dosen Penguji Utama dan Dr. drg. I Dewa Ayu Susilawati, M.Kes selaku Dosen Penguji Anggota yang telah memberikan kritik, saran, dan masukan yang sangat bermanfaat untuk penyempurnaan skripsi ini;
5. Orang tua tercinta, Mama Dina dan Bapak Dilli yang selalu memberikan kasih sayang tiada batas, doa tiada henti dan dukungan yang tiada habisnya;
6. Keluarga tersayang, Ibu Sun'ah, Mbak Denis, Mas Candra, Mas Kevin, Adik Audi, Adik Felyn dan Adik Owen yang selalu memberi dukungan, pelukan hangat dan membawa canda tawa;
7. Sahabat terkasih, Jesika dan Rossa yang selalu menemani, mendukung dan mewarnai kehidupan saya sejak masa sekolah;
8. Sahabat saya tersayang "*Bolo Dewe Dental*", Jessica, Diska, Amel, Wawa, dan Nabila karena menjadi sahabat di masa suka dan duka, sahabat seperjuangan, dan tempat bercerita di kehidupan Kedokteran Gigi ini;
9. Tutorial 15 dan Tutorial 14 yang telah membantu saya selama masa studi preklinik;

10. Teman seperjuangan skripsi saya, Kinanti yang telah mendengarkan keluhan kesah dan membantu saya selama pengerjaan skripsi ini;

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi penyempurnaan skripsi. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, 6 Juli 2026

Penulis



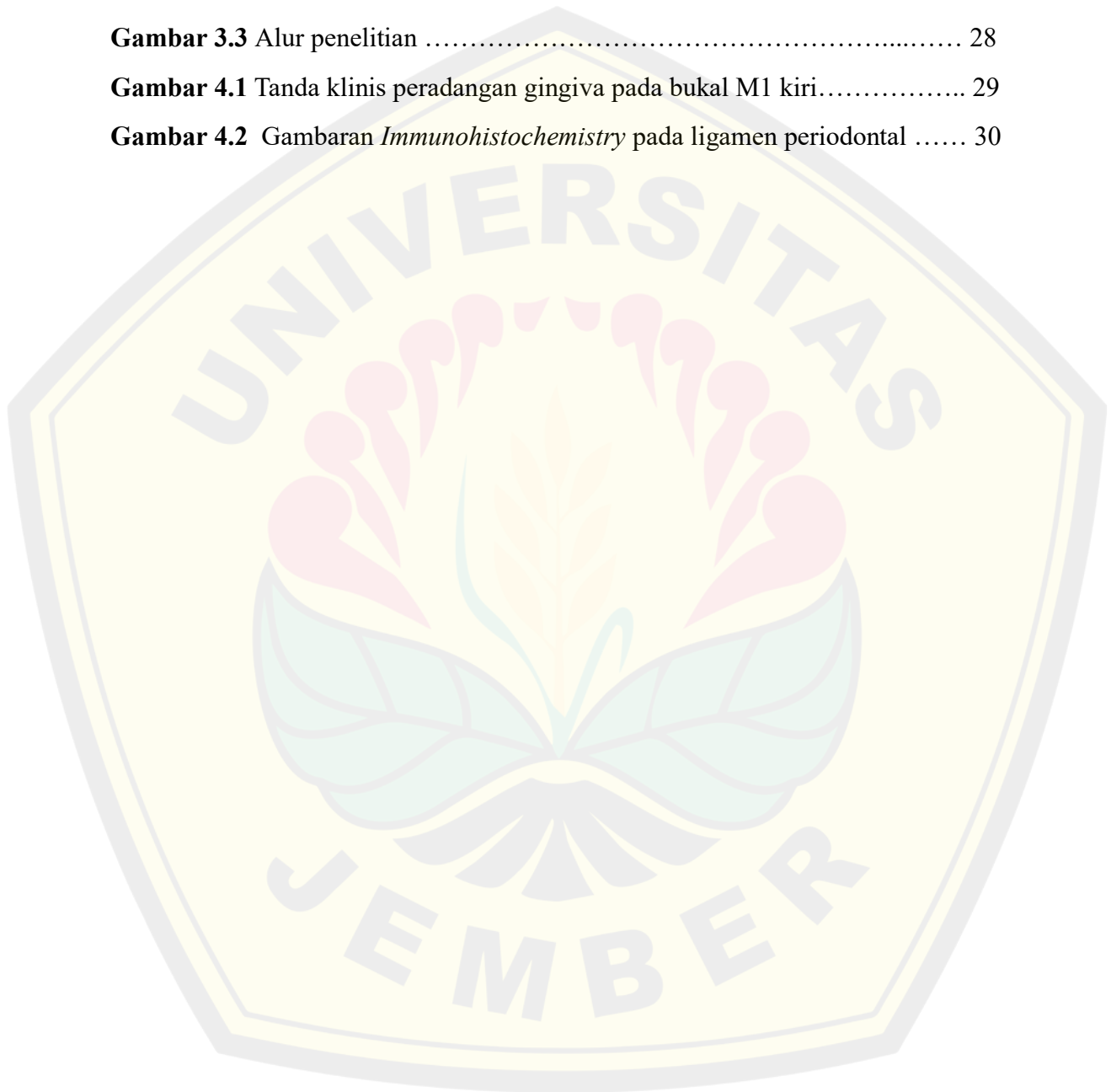
DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
PERSEMBAHAN	iii
MOTTO	iv
PERNYATAAN ORISINALITAS	v
HALAMAN PERSETUJUAN	vi
ABSTRACT	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA.....	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR TABEL	xv
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 Periodontitis	4
2.1.1 Definisi Periodontitis	4
2.1.2 Etiologi Periodontitis	4
2.1.3 Gambaran klinis Periodontitis.....	5
2.1.4 Patogenesis Periodontitis	6
2.2 <i>Porphyromonas gingivalis</i>	7
2.2.1 Faktor virulensi	7
2.2.2 Lipopolisakarida	9
2.2.3 Lipopolisakarida terhadap IL-10.....	10
2.3 IL-10	11
2.4 Pasta gigi.....	12
2.5 Biji hijau kopi robusta.....	12
2.6 Kerangka Konsep.....	15
2.7 Penjelasan Kerangka Konsep.....	15
2.8 Hipotesis	16
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	17
3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	17

3.2	Tempat dan Waktu Penelitian.....	17
3.2.1	Tempat Penelitian.....	17
3.2.2	Waktu Penelitian	17
3.3	Identifikasi Variabel Penelitian.....	17
3.4	Definisi Operasional	18
3.4.1	Pasta Gigi Ekstrak Biji Hijau Kopi Robusta.....	18
3.4.2	Tikus Periodontitis	18
3.4.3	Ekspresi IL-10.....	18
3.5	Sampel dan Kelompok Penelitian.....	19
3.5.1	Populasi Sampel.....	19
3.5.2	Penggolongan Sampel.....	19
3.5.3	Besar Sampel	20
3.6	Alat dan Bahan Penelitian.....	21
3.6.1	Alat Penelitian.....	21
3.6.2	Bahan Penelitian	21
3.7	Prosedur Penelitian	21
3.7.1	Pembuatan <i>Ethical clearance</i> dan Izin Penelitian	21
3.7.2	Pembuatan Pasta Gigi Ekstrak Biji Hijau Kopi Robusta	21
3.7.3	Tahap perlakuan hewan coba	22
3.7.4	Pembuatan preparat histologi.....	23
3.7.5	Tahap pengamatan dan pengukuran.....	25
3.8	Analisis Data.....	26
3.9	Alur Penelitian	26
BAB 4.	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	27
4.1	Hasil Penelitian	27
4.2	Analisis Data.....	29
4.3	Pembahasan.....	31
BAB 5.	KESIMPULAN DAN SARAN.....	34
5.1	Kesimpulan	34
5.2	Saran	34
DAFTAR PUSTAKA.....		35
LAMPIRAN		39

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Kerangka konsep	16
Gambar 3.1 Resorpsi tulang alveolar pada molar tikus secara radiografi	24
Gambar 3.2 Pewarnaan Imunohistokimia	26
Gambar 3.3 Alur penelitian	28
Gambar 4.1 Tanda klinis peradangan gingiva pada bukal M1 kiri.....	29
Gambar 4.2 Gambaran <i>Immunohistochemistry</i> pada ligamen periodontal	30



DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Rata-rata Ekspresi IL-10	31
Tabel 4.2 Hasil Analisis Statistik	32



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit periodontal, termasuk di dalamnya periodontitis, merupakan salah satu jenis penyakit infeksi kronis yang paling umum ditemukan secara global. Kondisi ini mempengaruhi jaringan penyangga gigi dan dapat menyebabkan kerusakan progresif dan irreversible apabila tidak ditangani dengan tepat, sehingga menjadikannya sebagai masalah kesehatan masyarakat yang signifikan di berbagai belahan dunia (Komang *et al.*, 2025). Menurut data RISKESDAS yang diterbitkan oleh Kementerian Kesehatan Republik Indonesia pada tahun 2018, menunjukkan bahwa prevalensi periodontitis di Indonesia mencapai 74,1%. (Riset Kesehatan Dasar, 2018). Bakteri plak yang terakumulasi pada permukaan gigi dan gingiva dianggap sebagai faktor primer penyebab periodontitis. Teori menyebutkan, bakteri plak yang dominan terhadap penyakit ini adalah *Porphyromonas gingivalis* (Newman and Carranza's, 2024).

Porphyromonas gingivalis (*P. gingivalis*) adalah bakteri gram negatif yang menjadi agen utama penyebab periodontitis dengan cara mengkolonisasi epitel rongga mulut dan membentuk plak pada gingiva, yang mengganggu keseimbangan mikroba dan menyebabkan disbiosis ekologis. Biofilm yang dihasilkannya memperburuk kerusakan jaringan dengan mendukung kolonisasi bakteri oral lain, sementara kelangsungan hidupnya bergantung pada protein dan metabolisme asam amino (Ziyan *et al.*, 2025; Jing ding *et al.*, 2025). Salah satu faktor virulensinya adalah produksi lipopolisakarida (LPS), komponen utama membran luar bakteri gram-negatif yang memicu respon inflamasi di jaringan periodontal. LPS dikenali oleh *Toll-like receptor 4* (TLR-4) pada sel imun, yang kemudian mengaktifkan produksi sitokin sebagai bagian dari mekanisme pertahanan tubuh yaitu sitokin pro-inflamatori dan anti-inflamatori. Sitokin pro-inflamatori yang berperan seperti Interleukin-1 β (IL-1 β), *Tumor Necrosis Factor- α* (TNF- α), dan Interleukin-6 (IL-6),

sedangkan sitokin anti-inflamatori yang berperan diantaranya adalah Interleukin-10 (IL-10) (Newman dan Carranza's, 2024).

IL-10 merupakan salah satu sitokin antiinflamasi yang berperan untuk menekan peradangan dan mempertahankan homeostasis (Xutao Chen *et al.*, 2022). IL-10 diproduksi oleh makrofag, sel T terutama Th2. IL-10 tidak hanya sebagai mediator regulasi, tetapi juga sebagai penghambat aktivitas lain seperti aktivasi sel B dan mencegah produksi IL-12 oleh makrofag dan sel dendritik yang diaktifkan (Baratawidjaja dan Rengganis, 2022). Sitokin seperti IL-10 berperan penting dalam imunopatologi dari penyakit periodontal. Pada beberapa penelitian menyatakan bahwa IL-10 dapat menurunkan respon inflamasi sehingga rentan terhadap kerusakan tulang alveolar (Newman dan Carranza's, 2024).

Kerusakan pada jaringan periodontal dapat dicegah dengan salah satunya yaitu kontrol plak (Newman dan Carranza's, 2024). Kontrol plak dapat dilakukan dengan penggunaan pasta gigi herbal atau non-herbal (Rajendiran *et al.*, 2021). Saat ini, pasta gigi ekstrak biji kopi robusta telah dikembangkan sebagai bahan terapi penyakit periodontal. Penelitian Wulandari *et al.* (2023) membuktikan bahwa pasta gigi ekstrak biji kopi robusta konsentrasi 12,5%, 25% dan 50% mempunyai daya hambat terhadap bakteri *P.gingivalis*. Pasta gigi ekstrak biji kopi robusta terbukti mengandung senyawa kafein, trigonelin, flavonoid dan asam klorogenat (Wulandari *et al.*, 2023). Senyawa tersebut memiliki sifat antimikroba yang berperan penting sebagai pencegahan penyakit periodontal. Penelitian lain mengkonfirmasi bahwa penggunaan pasta gigi ekstrak biji kopi robusta terbukti dapat mengurangi pembentukan plak gigi, peradangan gingiva dan menurunkan ekspresi IL-1 secara signifikan pada tikus model gingivitis (Pujiastuti *et al.*, 2023).

Kemampuan pasta gigi ekstrak biji hijau kopi robusta telah terbukti dapat membantu penyembuhan gingivitis. Namun, hingga saat ini masih belum diketahui potensi pasta gigi tersebut dalam meningkatkan IL-10 yang dapat menghambat inflamasi periodontal dan kerusakan tulang alveolar pada

periodontitis. Sehingga peneliti ingin melakukan penelitian terkait potensi pasta gigi ekstrak biji hijau kopi robusta dalam meningkatkan aktivitas sitokin antiinflamatori IL-10 pada jaringan periodontal tikus wistar yang diinduksi LPS *P.gingivalis*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan penjelasan latar belakang, didapatkan rumusan masalah yaitu:
Apakah pasta gigi ekstrak biji hijau kopi robusta (*Coffea canephora*) dapat meningkatkan ekspresi IL-10 pada tikus periodontitis?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

Penelitian ini bertujuan untuk Mengkaji peningkatan IL-10 terhadap tikus periodontitis dengan pengaruh pasta gigi ekstrak biji hijau kopi robusta (*Coffea canephora*).

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi salah satu referensi keilmuan dalam bidang kedokteran gigi terkait peningkatan ekspresi IL-10 terhadap tikus periodontitis dengan pengaruh pasta gigi ekstrak biji hijau kopi robusta.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Periodontitis

2.1.1 Definisi Periodontitis

Periodontitis merupakan penyakit inflamasi kompleks yang mempengaruhi struktur jaringan pendukung gigi, termasuk ligament periodontal dan tulang alveolar. Dalam konteks kalimat "kompleks", dijelaskan bahwa tidak hanya terdapat fakta mengenai keberadaan beberapa gejala klinis yang menjadi penyebab penyakit ini, tetapi juga karena beberapa faktor lain yang mengarah pada penyebab inflamasi periodontal (Newman dan Carranza's, 2024). Secara klinis, periodontitis ditandai oleh inflamasi kronis, pergeseran epitelium ke arah apikal, hilangnya jaringan ikat, serta resorpsi tulang alveolar secara permanen (Salsabilla *et al.*, 2024).

2.1.2 Etiologi Periodontitis

Faktor lokal yang menjadi penyebab periodontitis adalah adanya akumulasi plak pada gigi. Akumulasi plak dan perkembangan biofilm merupakan penyebab utama peradangan serta kerusakan pada jaringan periodontal. Oleh karena itu, faktor-faktor yang memfasilitasi akumulasi plak atau menghambat proses pembersihan plak melalui prosedur kebersihan mulut dapat berdampak negatif bagi kesehatan pasien. Faktor-faktor yang meningkatkan retensi plak sangat berpengaruh terhadap perkembangan periodontitis, karena hal tersebut memungkinkan mikroorganisme bertahan di dekat jaringan periodontal, serta menciptakan lingkungan yang mendukung pematangan biofilm. Kalkulus diakui sebagai salah satu faktor penahan plak yang paling signifikan, mengingat kemampuannya untuk menjebak dan menyimpan bakteri plak pada permukaan kasar serta di bagian dalamnya. Dengan demikian, pembersihan kalkulus menjadi suatu keharusan dalam upaya pemeliharaan periodonsium yang sehat (Newman dan Carranza's, 2024).

Morfologi gigi juga dapat memengaruhi retensi plak. Akar gigi dapat memiliki lekukan dan/atau cekungan, serta dalam beberapa kasus, proyeksi email pada permukaan dan/atau area pintu masuk furkasi. Variasi morfologi ini dapat mempermudah retensi plak, pembentukan kalkulus subgingiva, dan perkembangan penyakit periodontal. Margin restorasi yang berada di bawah garis gusi dan menjorok ke dalam, lesi karies yang meluas ke subgingiva, serta furkasi yang terpapar akibat kehilangan tulang juga berkontribusi dalam meningkatkan retensi plak (Newman dan Carranza's, 2024).

Selain faktor lokal, faktor sistemik juga mempengaruhi adanya periodontitis. Periodontitis merupakan suatu penyakit yang kompleks, yang tidak hanya terbatas pada infeksi di lokasi lokal. Dalam beberapa kasus, periodontitis juga terkait dengan berbagai gangguan sistemik lainnya, antara lain sindrom Haim-Munk, sindrom Papillon-Lefèvre, sindrom Ehlers-Danlos, sindrom Kindlers, dan sindrom Cohen. Pasien yang menderita penyakit yang mempengaruhi respons sistem kekebalan tubuh, seperti HIV/AIDS, juga dapat mengalami kerusakan periodontal. Adapun bukti yang menunjukkan bahwa osteoporosis, pola makan yang tidak seimbang, stres, serta faktor-faktor dermatologis, hematologis, dan neoplastik dapat memengaruhi respons inflamasi pada jaringan periodontal. Selain sindrom-sindrom yang telah diidentifikasi, periodontitis juga terkait dengan berbagai penyakit sistemik berat, seperti diabetes melitus, gangguan kardiovaskular, stroke, dan gangguan paru-paru (Newman dan Carranza's, 2024).

2.1.3 Gambaran klinis Periodontitis

Gambaran klinis merupakan penilaian medis yang dibuat oleh dokter berdasarkan kondisi pasien, termasuk gejala yang dialami, tanda-tanda fisik yang teramati, serta hasil pemeriksaan penunjang yang tersedia (Ahmed, 2019). Pada penyakit periodontitis terdapat beberapa gambaran klinis, antara lain (Salsabilla *et al.*, 2024) :

- a. Gingiva merah dan bengkak

- b. Bau mulut
- c. Poket periodontal
- d. Kehilangan tulang
- e. Kegoyangan gigi
- f. Resesi gingiva

2.1.4 Patogenesis Periodontitis

Periodontitis merupakan penyakit inflamasi kronis multifaktorial yang dipengaruhi oleh akumulasi plak serta ketidakseimbangan antara mikroorganisme dan respons imun inang (Anna et al., 2024). Penumpukan plak menyebabkan gingivitis, yaitu inflamasi gingiva tanpa kehilangan perlekatan. Apabila kontrol plak tidak adekuat, gingivitis dapat berkembang menjadi periodontitis yang ditandai dengan kehilangan perlekatan dan kerusakan jaringan periodontal. Meskipun tidak semua kasus gingivitis berkembang menjadi periodontitis, seluruh kasus periodontitis diawali oleh gingivitis. Perkembangannya dipengaruhi oleh respons imun individu (Newman dan Carranza's, 2024).

Patogenesis periodontitis terdiri atas empat tahap, yaitu *initial lesion*, *early lesion*, *established lesion*, dan *advanced lesion* (Newman dan Carranza's, 2024). Pada tahap *initial lesion*, yang terjadi sekitar 2–4 hari setelah akumulasi plak, terjadi vasodilatasi, peningkatan permeabilitas pembuluh darah, migrasi neutrofil dan monosit ke sulkus gingiva, serta peningkatan *gingival crevicular fluid* (GCF) sebagai respons terhadap bakteri (Newman dan Carranza's, 2024).

Tahap *early lesion* muncul sekitar satu minggu setelah penumpukan plak dan ditandai dengan peningkatan infiltrasi neutrofil dan limfosit T, apoptosis fibroblas, degradasi kolagen di sekitar epitel junctional, proliferasi epitel, serta edema gingiva yang menyebabkan pendalaman sulkus dan mendukung pembentukan biofilm subgingiva (Newman dan Carranza's, 2024).

Tahap *established lesion* merupakan bentuk gingivitis lanjut yang ditandai dominasi sel plasma, infiltrasi sel inflamasi yang lebih luas, kerusakan kolagen berkelanjutan, serta peningkatan aktivitas enzim MMP-8 dan MMP-9 yang mempercepat degradasi jaringan. Poket epitel menjadi lebih permeabel dan mudah berdarah, meskipun kondisi ini masih dapat pulih dengan pengendalian plak yang optimal (Newman dan Carranza's, 2024).

Tahap *advanced lesion* menandai perkembangan menjadi periodontitis, ditandai dengan kerusakan ligamen periodontal dan tulang alveolar, migrasi apikal epitel junctional, pembentukan poket periodontal, serta resorpsi tulang alveolar. Biofilm yang menetap di dalam poket mempertahankan inflamasi kronis sehingga kerusakan jaringan terus berlanjut dan pengendalian bakteri menjadi semakin sulit (Newman dan Carranza's, 2024).

2.2 *Porphyromonas gingivalis*

2.2.1 Faktor virulensi

Porphyromonas gingivalis merupakan bakteri Gram-negatif anaerob yang berperan sebagai *keystone pathogen* dalam patogenesis periodontitis. Walaupun jumlahnya tidak dominan di dalam biofilm subgingiva, bakteri ini mampu mengganggu keseimbangan mikrobiota rongga mulut (*dysbiosis*) dan memengaruhi respons imun inang. Akibatnya, terjadi proses inflamasi kronis yang berlanjut hingga menyebabkan kerusakan jaringan periodontal. Kemampuan tersebut didukung oleh berbagai faktor virulensi yang saling berinteraksi dalam proses kolonisasi, invasi jaringan, penghindaran terhadap sistem imun, serta kerusakan jaringan periodontal (Nadaf et al., 2024).

Salah satu faktor virulensi yang paling penting pada *P. gingivalis* adalah gingipain, yaitu enzim protease sistein yang terdiri atas *arginine-specific gingipain* (RgpA dan RgpB) serta *lysine-specific gingipain* (Kgp). Enzim ini berfungsi menguraikan berbagai protein penyusun matriks ekstraseluler, seperti kolagen dan fibronektin, serta

komponen pertahanan tubuh, termasuk imunoglobulin, sitokin, dan protein komplemen. Aktivitas tersebut tidak hanya menyediakan sumber nutrisi bagi bakteri, tetapi juga membantu bakteri menghindari respons imun sekaligus mempercepat kerusakan jaringan periodontal (Polishchuk et al., 2025).

Selain gingipain, *P. gingivalis* memiliki struktur fimbriae yang tersusun atas fimbriae mayor (FimA) dan fimbriae minor (Mfa1). Fimbriae berperan sebagai molekul adhesi yang memungkinkan bakteri melekat pada permukaan gigi, epitel gingiva, maupun bakteri lain dalam biofilm. Struktur ini juga mempermudah proses invasi ke dalam sel epitel dan fibroblas gingiva serta mengaktifasi reseptor *Toll-like receptor* (TLR), yang kemudian memicu peningkatan produksi mediator inflamasi sehingga mempercepat perkembangan periodontitis (Nadaf et al., 2024; Polishchuk et al., 2025).

Faktor virulensi lainnya adalah lipopolisakarida (LPS) yang terdapat pada membran luar *P. gingivalis*. LPS bakteri ini memiliki karakteristik yang berbeda dari bakteri Gram-negatif pada umumnya karena memiliki variasi struktur lipid A. Variasi tersebut memungkinkan *P. gingivalis* memodulasi aktivasi reseptor TLR2 dan TLR4, sehingga respons inflamasi dapat diatur sesuai kebutuhan bakteri. Mekanisme ini membantu bakteri menghindari eliminasi oleh sistem imun sekaligus mempertahankan proses inflamasi kronis pada jaringan periodontal (Polishchuk et al., 2025).

Selain itu, *P. gingivalis* dilengkapi dengan kapsul polisakarida yang berfungsi sebagai pelindung terhadap mekanisme pertahanan inang, terutama proses fagositosis. Keberadaan kapsul meningkatkan kemampuan bakteri untuk bertahan hidup di dalam poket periodontal, menghambat aktivasi sistem komplemen, serta mendukung kolonisasi pada jaringan periodontal yang mengalami inflamasi (Nadaf et al., 2024).

P.gingivalis juga menghasilkan *outer membrane vesicles* (OMVs), yaitu vesikel berukuran nano yang mengandung berbagai komponen virulensi, seperti gingipain, LPS, fimbriae, hemagglutinin, dan protein adhesi. Dibandingkan sel bakteri utuh, OMVs lebih mudah menembus jaringan sehingga berperan sebagai media penghantar faktor virulensi ke sel inang. Melalui mekanisme tersebut, OMVs dapat meningkatkan respons inflamasi, memperberat kerusakan jaringan periodontal, memengaruhi fungsi sel imun, serta berpotensi menyebarkan efek patogenik ke berbagai organ melalui sirkulasi sistemik (Wu et al., 2025).

Secara keseluruhan, berbagai faktor virulensi yang dimiliki *P. gingivalis* bekerja secara terpadu dalam mendukung kolonisasi bakteri, pembentukan biofilm, penghindaran terhadap sistem imun, dan kerusakan jaringan periodontal. Interaksi antara gingipain, fimbriae, LPS, kapsul polisakarida, dan OMVs menjadikan *P.gingivalis* sebagai salah satu patogen utama penyebab periodontitis. Selain berperan dalam kerusakan jaringan periodontal, bakteri ini juga dikaitkan dengan berbagai penyakit sistemik akibat inflamasi kronis yang ditimbulkannya (Polishchuk et al., 2025; Wu et al., 2025).

2.2.2 Lipopolisakarida

Lipopolisakarida (LPS) adalah komponen utama dari membran luar bakteri Gram negatif (GNB), yang sangat dikenal karena peranannya yang penting dalam sistem imun bawaan mamalia, serta kaitannya dengan tingkat kematian di unit perawatan intensif (Jiao Liu et al., 2024).

Lipopolisakarida adalah komponen mayor pada luar membrane bakteri gram-negatif. Tidak hanya sebagai komponen mayor, tetapi juga sebagai kunci utama dalam inisiasi dan pertahanan respon inflamasi pada gingiva dan jaringan periodontal.

Lipopolisakarida (LPS) dikenal oleh sel-sel sistem kekebalan tubuh melalui *Toll-like receptors* (TLRs). (Newman dan Carranza's, 2024).

Struktur LPS tersusun atas tiga komponen utama, yaitu lipid A, inti oligosakarida (*core oligosaccharide*), dan rantai polisakarida O (*O-antigen*). Di antara ketiga komponen tersebut, lipid A merupakan bagian yang paling berperan dalam mengaktivasi respons imun. Variasi struktur lipid A pada *P. gingivalis* menyebabkan bakteri mampu berinteraksi dengan reseptor *Toll-like receptor* (TLR), khususnya TLR2 dan TLR4, sehingga respons imun yang dihasilkan dapat berbeda dibandingkan respons terhadap bakteri Gram-negatif lainnya (Polishchuk et al., 2025).

2.2.3 Lipopolisakarida terhadap IL-10

Lipopolisakarida (LPS) berperan dalam mengaktifkan reseptor Toll-like receptor (TLR)-4 yang terletak pada membran sel makrofag, yang kemudian memicu respons imun tubuh terhadap infeksi (Jiao Liu et al., 2024). TLR adalah keluarga protein transmembrane yang sangat dijaga di manusia. TLR-4 secara khusus bisa mengenali LPS dari bakteri gram-negatif dan berfungsi dalam kompleks molekul di permukaan sel. Interaksi antara TLR-4 dan LPS dapat merangsang produksi sitokin antiinflamasi (Newman dan Carranza's, 2024).

Lipopolisakarida (LPS) yang berasal dari bakteri periodontal mengikat reseptor TLR4, yang kemudian meningkatkan ekspresi CD14 dan MyD88. Jalur pensinyalan ini memicu proses inflamasi lokal, namun juga merangsang produksi IL-10 sebagai bagian dari mekanisme umpan balik negatif. IL-10 berperan dalam meningkatkan ekspresi TLR4 melalui aktivasi jalur PI3K/Akt, yang memperkuat kemampuan sel dalam mendeteksi patogen. Di sisi lain, IL-10 juga menghambat respons proinflamasi yang diinduksi oleh TLR4 dengan cara menekan fosforilasi NF- κ B (Newman dan Carranza's, 2024).

2.3 IL-10

Interleukin-10 (IL-10) merupakan sitokin antiinflamasi yang termasuk dalam famili IL-10. IL-10 adalah protein homodimer yang tersusun atas dua subunit identik, masing-masing terdiri dari sekitar 160 asam amino dengan berat molekul sekitar 18–21 kDa. Kedua subunit tersebut berikatan membentuk struktur aktif melalui interaksi nonkovalen dan distabilkan oleh ikatan disulfida intramolekul yang penting untuk mempertahankan konformasi protein serta aktivitas biologisnya (Neurath et al., 2024).

Secara kimia, IL-10 merupakan glikoprotein yang tersusun atas rantai polipeptida dengan berbagai gugus fungsi yang berasal dari residu asam aminonya, antara lain gugus amino ($-\text{NH}_2$), gugus karboksil ($-\text{COOH}$), gugus hidroksil ($-\text{OH}$), gugus sulfhidril ($-\text{SH}$), serta gugus amida ($-\text{CONH}-$). Gugus sulfhidril pada residu sistein berperan membentuk ikatan disulfida ($-\text{S}-\text{S}-$) yang menjaga kestabilan struktur tiga dimensi IL-10, sedangkan proses glikosilasi pada residu tertentu berkontribusi terhadap stabilitas dan aktivitas biologis protein tersebut (Alvarez et al., 2023; Neurath et al., 2024).

Struktur tiga dimensi IL-10 didominasi oleh enam heliks α (*alpha-helix*) pada setiap monomer. Setelah membentuk homodimer, IL-10 dapat berikatan dengan reseptor IL-10 receptor 1 (IL-10R1) dan IL-10 receptor 2 (IL-10R2) pada permukaan sel target. Ikatan tersebut mengaktifasi jalur transduksi sinyal Janus kinase/signal transducer and activator of transcription (JAK/STAT), terutama STAT3, yang selanjutnya menghambat ekspresi berbagai gen proinflamasi dan meningkatkan aktivitas antiinflamasi (Neurath et al., 2024; Ouyang & O'Garra, 2023).

Interleukin-10 (IL-10) merupakan salah satu sitokin antiinflamasi yang berperan untuk menekan peradangan dan mempertahankan homeostasis (Xutao Chen *et al.*, 2022). Interleukin-10 (IL-10) adalah sitokin antiinflamasi yang memiliki berbagai fungsi dan sangat penting dalam pengaturan respons imun pada penyakit periodontal. IL-10 diproduksi oleh sel Treg, monosit dan sel B. IL-10 tidak hanya sebagai mediator regulasi, tetapi juga sebagai penghambat aktivitas lain seperti aktivasi sel B). Sitokin seperti IL-10 berperan

penting dalam imunopatologi dari penyakit periodontal. Pada beberapa penelitian menyatakan bahwa IL-10 dapat menurunkan respon inflamasi sehingga rentan terhadap kerusakan tulang alveolar (Newman dan Carranza's, 2024).

Pada periodontitis, kadar IL-10 berperan penting dalam menentukan keseimbangan antara proses inflamasi dan resolusi inflamasi. Ekspresi IL-10 yang memadai berkontribusi terhadap penurunan infiltrasi sel inflamasi, penghambatan produksi mediator proinflamasi, serta perlindungan terhadap jaringan periodontal. Sebaliknya, penurunan ekspresi IL-10 dapat menyebabkan respons inflamasi berlangsung lebih lama sehingga meningkatkan risiko kerusakan jaringan dan progresivitas periodontitis (Cebesoy et al., 2024; Neurath et al., 2024).

Beberapa penelitian juga menunjukkan bahwa peningkatan ekspresi IL-10 berhubungan dengan perbaikan kondisi periodontal setelah terapi. Oleh karena itu, IL-10 banyak dikaji sebagai biomarker antiinflamasi sekaligus target potensial dalam pengembangan terapi imunomodulator untuk periodontitis. Kemampuan IL-10 dalam menghambat inflamasi tanpa menghilangkan fungsi pertahanan tubuh menjadikannya salah satu sitokin yang berperan penting dalam proses penyembuhan jaringan periodontal (Cebesoy et al., 2024; Neurath et al., 2024).

2.4 Pasta gigi

Pasta gigi adalah sediaan pembersih gigi yang sejak peradaban Mesir Kuno telah digunakan untuk menghilangkan sisa makanan, noda, serta memperbaiki rasa dan bau mulut, dan dalam perkembangannya diformulasikan dengan berbagai bahan aktif maupun nonaktif untuk memberikan manfaat pencegahan dan terapeutik pada kesehatan gigi dan mulut (Suvan, 2025).

2.5 Biji hijau kopi robusta

Biji kopi hijau (*green coffee bean*) merupakan biji kopi yang belum mengalami proses penyangraian (*roasting*), sehingga kandungan senyawa bioaktifnya masih terjaga. Dibandingkan dengan biji kopi yang telah disangrai,

biji kopi hijau mengandung kadar polifenol, terutama asam klorogenat (*chlorogenic acid*), yang lebih tinggi karena senyawa tersebut belum mengalami degradasi akibat paparan suhu tinggi selama proses penyangraian. Oleh karena itu, biji kopi hijau banyak dimanfaatkan sebagai sumber senyawa alami yang memiliki aktivitas antioksidan, antiinflamasi, dan antibakteri (Tripathi et al., 2023).

Tanaman kopi robusta (*Coffea canephora*) merupakan tanaman budidaya yang berbentuk pohon dan termasuk ke dalam famili Rubiaceae serta genus *Coffea*. Secara taksonomi kopi robusta diklasifikasikan menjadi (Nurmaniyanti et al., 2025) :

Kingdom : *Plantae*
Divisi : *Magnoliophyta*
Kelas : *Magnoliopsida*
Ordo : *Gentianales*
Famili : *Rubiaceae*
Genus : *Coffea*
Spesies : *Coffea canephora*

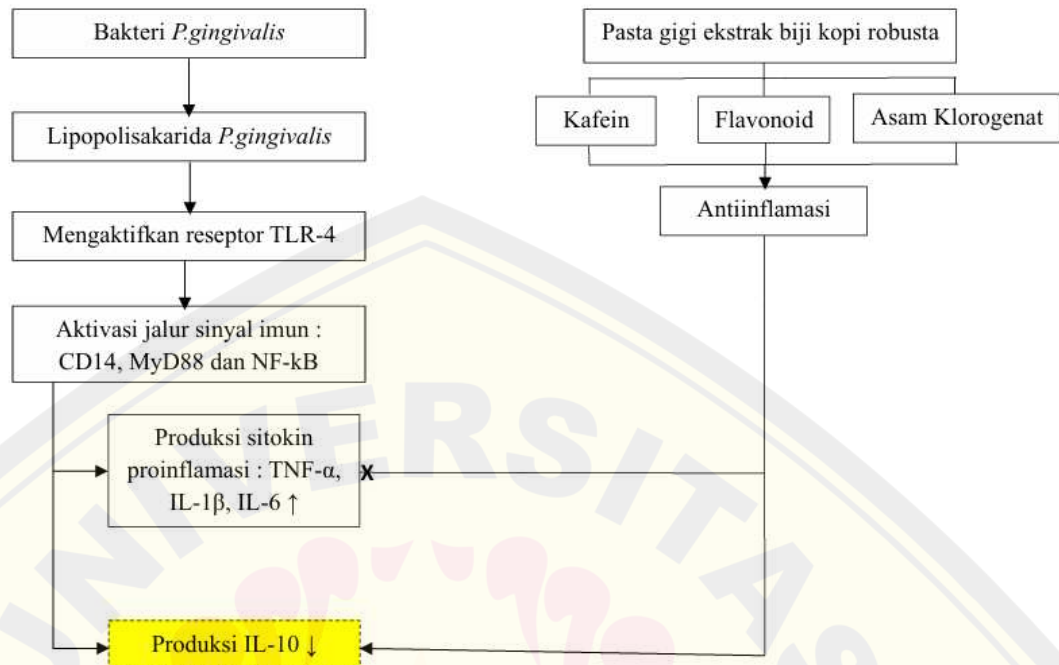
Biji kopi hijau robusta mengandung berbagai senyawa bioaktif, antara lain asam klorogenat, asam kafeat, asam ferulat, flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, kafein, trigonelin, serta diterpen (cafestol dan kahweol). Di antara senyawa tersebut, asam klorogenat merupakan komponen fenolik utama dengan kadar sekitar 6–12% dari berat kering biji kopi dan menyumbang bersama kafein sekitar 90% dari total kandungan fenol. Kandungan asam klorogenat akan menurun setelah proses penyangraian akibat degradasi termal (Tripathi et al., 2023; Kanchanasurakit et al., 2023; Jesica Virginia et al., 2024).

Kandungan bioaktif pada kopi robusta memberikan berbagai aktivitas farmakologis. Flavonoid, tanin, dan saponin berperan sebagai antioksidan dengan menangkap radikal bebas sehingga mampu mengurangi stres oksidatif. Kafein memiliki efek antiinflamasi melalui modulasi reseptor adenosin, sedangkan asam klorogenat menunjukkan aktivitas antibakteri dengan meningkatkan permeabilitas membran plasma bakteri, menyebabkan

kebocoran nukleotida dan isi sitoplasma sehingga menghambat pertumbuhan bakteri. Flavonoid juga berperan merusak integritas dinding dan membran sel bakteri sehingga memperkuat aktivitas antibakteri ekstrak kopi robusta (Jesica Virginia et al., 2024).

Efek antiinflamasi ekstrak biji kopi hijau terutama dimediasi oleh asam klorogenat yang berfungsi sebagai antioksidan dan imunomodulator. Senyawa ini menghambat aktivasi jalur *nuclear factor-kappa B* (NF- κ B), sehingga produksi sitokin proinflamasi seperti tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-1 β (IL-1 β), dan interleukin-6 (IL-6) menurun. Selain itu, asam klorogenat mendorong polarisasi makrofag dari fenotipe M1 menjadi M2 serta meningkatkan aktivitas sel T regulator (*Treg*), yang berkontribusi terhadap peningkatan sekresi interleukin-10 (IL-10). Peningkatan ekspresi IL-10 membantu mengendalikan inflamasi dan mempercepat proses penyembuhan jaringan periodontal. Dengan demikian, ekstrak biji kopi hijau robusta berpotensi dikembangkan sebagai agen terapi alami untuk periodontitis melalui aktivitas antioksidan, antibakteri, dan imunomodulator yang dimilikinya (Tripathi et al., 2023; Neurath et al., 2024; Zhang et al., 2024).

2.6 Kerangka Konsep



Gambar 2.1. Kerangka Konsep

2.7 Penjelasan Kerangka Konsep

Lipopolisakarida (LPS) dari *P. gingivalis* mengikat reseptor TLR-4 pada permukaan sel imun seperti makrofag, lalu mengaktifkan jalur sinyal imun yang melibatkan CD14, MyD88, dan NF-κB. Aktivasi jalur ini memicu produksi sitokin proinflamasi seperti TNF-α dan IL-1β, yang menyebabkan peradangan dan kerusakan jaringan. Penggunaan pasta gigi berbahan ekstrak biji hijau kopi robusta dapat memodulasi respon ini. Kandungan biji kopi robusta yakni kafein, flavonoid, dan asam klorogenat memiliki sifat antiinflamasi yang mampu menghambat jalur NF-κB dan menurunkan produksi sitokin proinflamasi. Selain itu, senyawa tersebut juga meningkatkan produksi IL-10, yaitu sitokin antiinflamasi yang membantu menekan respon imun berlebihan dan melindungi jaringan. Dengan demikian, pasta gigi ini berperan sebagai agen imunomodulator yang membantu mengurangi peradangan dan mendukung keseimbangan sistem imun.

2.8 Hipotesis

Penggunaan pasta gigi ekstrak biji hijau kopi robusta (*Coffea canephora*) dapat meningkatkan ekspresi IL-10 pada tikus periodontitis.



BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan rancangan *post test only control group design* yakni pengamatan dilakukan setelah diberikan perlakuan kemudian membandingkan kelompok kontrol dengan kelompok eksperimen (Adiputra *et al.*, 2021)

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

- a. Pembuatan ekstrak biji hijau kopi robusta (*Coffea canephora*) dan pembuatan suspensi LPS *P.gingivalis* dilakukan di Laboratorium Bioscience Rumah Sakit Gigi dan Mulut Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- b. Pembuatan pasta gigi ekstrak biji hijau kopi robusta (*Coffea canephora*) dilakukan di Laboratorium Farmasetika Fakultas Farmasi Universitas Jember.
- c. Perlakuan hewan coba dilakukan di Laboratorium Farmakologi Bagian Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- d. Pembuatan preparat dan pengamatan IL-10 dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya.

3.2.2 Waktu Penelitian

Waktu penelitian dilakukan pada bulan Agustus – November 2025

3.3 Identifikasi Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah pasta gigi ekstrak biji hijau kopi robusta (*Coffea canephora*) dengan konsentrasi 0,78125%, 1,5625%, 3,125%, dan 6,25%.

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah peningkatan ekspresi IL-10 pada tikus periodontitis.

3.3.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah semua prosedur mulai perlakuan terhadap tikus periodontitis yang diinduksi dengan LPS *P.gingivalis*, frekuensi dan konsentrasi penggunaan pasta gigi ekstrak biji hijau kopi robusta, dan pembuatan preparate penelitian

3.4 Definisi Operasional

3.4.1 Pasta Gigi Ekstrak Biji Hijau Kopi Robusta

Pasta gigi ekstrak ethanol 96% biji hijau kopi robusta sehingga dihasilkan pasta gigi EBHKR konsentrasi 0,78125%, 1,5625%, 3,125%, dan 6,25%.

3.4.2 Tikus Periodontitis

Tikus periodontitis merupakan tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi dengan LPS *P. gingivalis* (#05H23-SV) (InvivoGen, San Diego, CA) pada konsentrasi 0,5 mg/ml dan volume sebesar 10 µl yang disuntikkan sebanyak 3x dalam seminggu selama 14 hari pada bukal gigi M1 mandibula kiri.

3.4.3 Ekspresi IL-10

Ekspresi sel IL-10 merupakan ekspresi protein pada sitoplasma sel yang ditandai terpulas positif (berwarna coklat) pada preparat imunohistokimia (IHC) menggunakan antibodi anti-rat IL-10 (Bioss, USA) yang diamati menggunakan preparat dengan pewarnaan imunohistokimia di bawah mikroskop binokuler (Optilab) dengan perbesaran 400x dan aplikasi ImageJ pada 3 lapang pandang di area *epithel junctional* dan ligamen periodontal yang mengalami destruksi. Intensitas pewarnaan pada setiap lapang pandang dihitung menggunakan fitur *Analyze Particles*, kemudian ekspresi IL-10 akan ditentukan berdasarkan persentase intensitas warna dari seluruh lapang pandang yang diamati

3.5 Sampel dan Kelompok Penelitian

3.5.1 Populasi Sampel

Populasi pada penelitian ini adalah tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*). Terdapat kriteria inklusi sebagai berikut untuk menentukan dapat tidaknya sampel untuk digunakan :

- a) Tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*)
- b) Usia 2-3 bulan
- c) Kondisi sehat (tidak ada tanda penyakit maupun kelainan fisik) dengan berat badan 150-200 gram.

Penelitian ini juga terdapat kriteria eksklusi yakni tikus yang mati selama proses penelitian.

3.5.2 Penggolongan Sampel

Pada penelitian ini, sampel dibagi menjadi 10 kelompok yaitu :

K7: Tikus periodontitis yang diaplikasikan pasta gigi plasebo selama 7 hari

P1: Tikus periodontitis yang diaplikasikan pasta gigi EBHKR dengan konsentrasi M1 kiri 0,78125% selama 7 hari.

P2: Tikus periodontitis yang diaplikasikan pasta gigi EBHKR dengan konsentrasi M1 kiri 1,5625% selama 7 hari.

P3: Tikus periodontitis yang diaplikasikan pasta gigi EBHKR dengan konsentrasi M1 kiri 3,125% selama 7 hari.

P4: Tikus periodontitis yang diaplikasikan pasta gigi EBHKR dengan konsentrasi M1 kiri 6,25% selama 7 hari.

K14: Tikus periodontitis yang diaplikasikan pasta gigi plasebo selama 14 hari

P5: Tikus periodontitis yang diaplikasikan pasta gigi EBHKR dengan konsentrasi M1 kiri 0,78125% selama 14 hari.

P6: Tikus periodontitis yang diaplikasikan pasta gigi EBHKR dengan konsentrasi M1 kiri 1,5625% selama 14 hari.

P7: Tikus periodontitis yang diaplikasikan pasta gigi EBHKR dengan konsentrasi M1 kiri 3,125% selama 14 hari.

P8: Tikus periodontitis yang diaplikasikan pasta gigi EBHKR dengan konsentrasi M1 kiri 6,25% selama 14 hari.

3.5.3 Besar Sampel

Perhitungan besar sampel menggunakan rumus Federer dalam (Fauziyah, 2019) , sebagai berikut:

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

Keterangan :

k = jumlah kelompok perlakuan

n = jumlah sampel

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

$$(10 - 1)(n - 1) \geq 15$$

$$9(n - 1) \geq 15$$

$$n \geq 2,66 \approx 3$$

Sampel yang telah didapat dengan jumlah 3 tersebut, ditambahkan dengan faktor koreksi dengan rumus sebagai berikut :

$$N = n/(1-f)$$

Keterangan :

N = besar sampel koreksi

n = besar sampel awal

f = perkiraan proporsi drop out sebesar 20%

$$N = n/(1-f)$$

$$N = 3/(1-20\%)$$

$$N = 3/0.8$$

$$N = 4$$

Berdasarkan perhitungan rumus di atas, jumlah sampel yang akan digunakan pada tiap kelompok adalah 4 ekor ($N = 4$). Namun setelah dilakukan penelitian, terdapat tikus dengan kriteria eksklusi sehingga jumlah sampel yang digunakan tiap kelompok sebesar 3 ekor.

3.6 Alat dan Bahan Penelitian

3.6.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah jas laboratorium, kandang tikus, *dental rat chair*, neraca digital (Ohaus, USA), botol minum tikus, masker medis (OneMed, Indonesia), sarung tangan steril (Altamed, Indonesia), tisu, *syringe* dengan kapasitas 1 ml, jarum 30 gauge, mikroskop cahaya (Olympus, Jepang), optilab (Optilab Advance, Indonesia), *object glass* dan penutupnya, waterbath (Medite-TFB55, Jerman), microbrush, gelas ukur, pisau bedah, base mould paraffin (Vision, Indonesia), dan microtom.

3.6.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah LPS *P.gingivalis* (LPS-PG Ultrapure, USA), tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus wistar*), biji hijau kopi robusta (Perkebunan Kopi Rakyat Garahan Jember, Indonesia), *phosphate buffer saline* (PBS), *buffer formaline* 10%, pakan tikus, akuades steril, etanol 96%, xylol (Leica, USA), alkohol (Leica, USA), Tris-EDTA buffer, blocking serum, kromogen DAB (Diaminobenzidine), dan antibodi IL-10 (Bioss, USA).

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Pembuatan *Ethical clearance* dan Izin Penelitian

Pembuatan keterangan kelayakan etik penelitian (*ethical clearance*) diperoleh sebelum dilakukan penelitian. Keterangan ini diperoleh agar dapat melaksanakan urutan kegiatan penelitian pada hewan coba. *Ethical clearance* dilakukan pada Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember dan pengurusan izin di Lab Biomedik untuk peminjaman alat dan izin melakukan penelitian.

3.7.2 Pembuatan Pasta Gigi Ekstrak Biji Hijau Kopi Robusta

Proses pertama Adalah pembuatan EBHKR yang diperoleh dari Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia (Puslitkoka)

menggunakan metode maserasi. Sebanyak 1 kg biji kopi robusta digiling hingga menjadi serpihan kecil, kemudian diayak menggunakan saringan berukuran 40 mesh hingga diperoleh serbuk halus. Serbuk bubuk kopi tersebut ditimbang sebanyak 346,30 gram kemudian direndam etanol 96% dan diaduk selama lima hari. Selama proses maserasi, etanol dalam filtrat yang diperoleh diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C lalu dikentalkan dengan *water bath* pada suhu yang sama hingga diperoleh ekstrak pekat dengan konsentrasi 100% (Pujiastuti *et al.*, 2023).

Pembuatan pasta gigi EBHKR menggunakan bahan ekstrak biji kopi robusta dan plasebo. Bahan plasebo terdiri dari magnesium karbonat 26%, kalsium karbonat 29%, gliserin 6%, propilen glikol 8%, trietanolamin 4%, akuades steril 25%, dan *oleum menthae piperithae* 2%. Kemudian diaduk hingga homogen dan diletakkan didalam wadah 100 gram dan ditutup rapat (Pujiastuti *et al.*, 2023). EBHKR dicampurkan dengan plasebo untuk dibuat konsentrasi 0,78125%, 1,5625%, 3,125%, dan 6,26% (Pujiastuti *et al.*, 2023). Penggunaan pasta gigi EBHKR dengan konsentrasi tersebut dipilih karena konsentrasi tersebut bersifat non toksik serta memiliki biokompatibilitas yang sangat baik (Wahyukundari *et al.*, 2025).

3.7.3 Tahap perlakuan hewan coba

a. Adaptasi hewan coba

Tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*) berusia 2-3 bulan dengan kondisi sehat tidak ada gejala penyakit diklimatisasi di dalam kandang selama satu minggu. Pembersihan kandang seperti alas, tempat pakan dan minum, dan kotoran maupun sisa makanan tikus dilakukan setiap tiga hari sekali.

b. Pemberian LPS *P. gingivalis* pada hewan coba

Tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*) dibius menggunakan ketamin dan kemudian diinduksi dengan LPS *P. gingivalis* pada konsentrasi 0,5 mg/ml dan volume sebesar 10 µl menggunakan

syringe dengan jarum 30G. Injeksi dilakukan 3x dalam seminggu selama 14 hari setiap pukul 08.00 pada bukal gigi M1 mandibula kiri (Sari *et al.*, 2024).

c. Aplikasi pasta gigi ekstrak biji hijau kopi robusta

Aplikasi pasta gigi EBHKR dilakukan setelah tikus mengalami periodontitis. Pengaplikasian pasta gigi sebanyak seujung sonde dilakukan menggunakan microbrush dengan teknik roll selama 10 kali pada area molar rahang kiri bawah. Waktu pengaplikasian pada pukul 08.00 dan 15.00 selama 7 hari dan 14 hari. Konsentrasi yang digunakan pada pasta gigi yaitu 0,78125%, 1,5625%, 3,125%, dan 6,25% (Pujiastuti *et al.*, 2023)

d. Pengambilan sampel

Setelah 7 hari penggunaan pasta gigi, dilakukan dekaputasi pada tikus wistar dari kelompok kontrol dan tiga kelompok perlakuan yang diberi pasta gigi EBHKR dengan konsentrasi berbeda. Kemudian setelah 14 hari penggunaan pasta gigi, dilakukan dekaputasi dengan pola yang sama. Setelah dekaputasi, kemudian dilakukan pembedahan untuk mengambil jaringan periodontal khususnya jaringan sekitar pada molar pertama kiri rahang bawah. Jaringan yang telah diambil kemudian difiksasi dengan formalin buffer 10% selama 24-48 jam lalu diproses menggunakan metode histologi rutin dan dipotong dengan mikrotom setebal 4-5 μm kemudian ditempelkan pada slide (Reza dan Edy, 2024).

3.7.4 Pembuatan preparat histologi

a. Biopsi

Pengambilan jaringan dengan cara eksisi biopsi menggunakan pisau bedah pada jaringan sekitar molar pertama rahang bawah.

b. Fiksasi

Jaringan yang telah diambil kemudian segera difiksasi setelah biopsi dalam waktu ideal kurang dari satu jam. Fiksasi menggunakan formalin buffer 10% selama 24-48 jam.

c. Embedding

Sampel dimasukkan ke dalam paraffin untuk penyimpanan jangka panjang dan agar bisa dipotong untuk pewarnaan.

d. Sectioning dan Mounting

Jaringan yang telah difiksasi dan disisipkan dalam paraffin dipotong tipis menggunakan mikrotom setebal 4-5 μm kemudian ditempelkan pada kaca objek yang telah dilapisi perekat.

e. Deparafinisasi

Tempatkan slide dalam xylene selama 5-10 menit untuk menghilangkan paraffin dan dilakukan hingga dua kali.

f. Rehidrasi

Letakkan slide dalam dua kali alkohol absolut selama 2-3 menit, alkohol 95% selama 2-3 menit dan alkohol 70% selama 2-3 menit kemudian bilas slide dalam air mengalir selama 2-3 menit.

g. Antigen Retrieval

Antigen retrieval dilakukan untuk memulihkan antigen yang mungkin telah termodifikasi selama proses fiksasi. Proses ini menggunakan Tris-EDTA buffer dengan pH 9.0 kemudian dipanaskan dengan water bath 20-40 menit pada suhu 95-100°C.

h. Pewarnaan

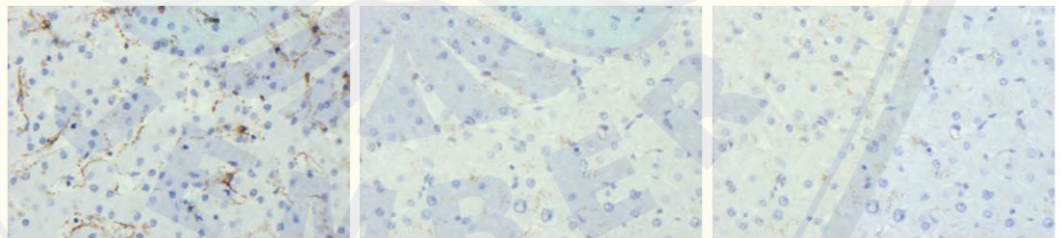
Slide didinginkan lalu diblok dengan blocking serum selama 10–30 menit untuk mengurangi ikatan non-spesifik. Selanjutnya, antibodi primer anti-IL-10 diaplikasikan dan diinkubasi selama 1–2 jam suhu ruang atau overnight 4°C. Setelah pembilasan, diaplikasikan antibodi sekunder yang dikonjugasikan dengan enzim atau fluorokrom. Setelah inkubasi dan pembilasan, substrat kromogen seperti DAB ditambahkan hingga warna berkembang. Reaksi dihentikan dengan air suling, lalu slide

dikounterstain (hematoksilin), dibilas, dan ditutup dengan mounting media.

3.7.5 Tahap pengamatan dan pengukuran

Ekspresi sel IL-10 diamati menggunakan preparat dengan pewarnaan imunohistokimia di bawah mikroskop binokuler (optilab) dengan perbesaran 400x dan 1000x. Ekspresi IL-10 dihitung menggunakan perhitungan jumlah sel dengan aplikasi ImageJ. Analisis ekspresi IL-10 dilakukan menggunakan perangkat lunak ImageJ/Fiji melalui penggunaan antibodi anti-rat untuk IL-10. Sel dengan pewarnaan coklat diidentifikasi sebagai sel yang mengekspresikan IL-10, sedangkan sel tanpa pewarnaan coklat diklasifikasikan sebagai sel negatif. Intensitas pewarnaan pada setiap lapang pandang dihitung menggunakan fitur *Analyze Particles*, kemudian nilai ekspresi IL-10 ditentukan berdasarkan persentase intensitas warna dari seluruh lapang pandang yang diamati (Cayuela López et al., 2022). Klasifikasi pewarnaan dibagi sebagai berikut :

- 0 = tidak ada pewarnaan
- 1 = pewarnaan lemah
- 2 = pewarnaan sedang
- 3 = pewarnaan kuat

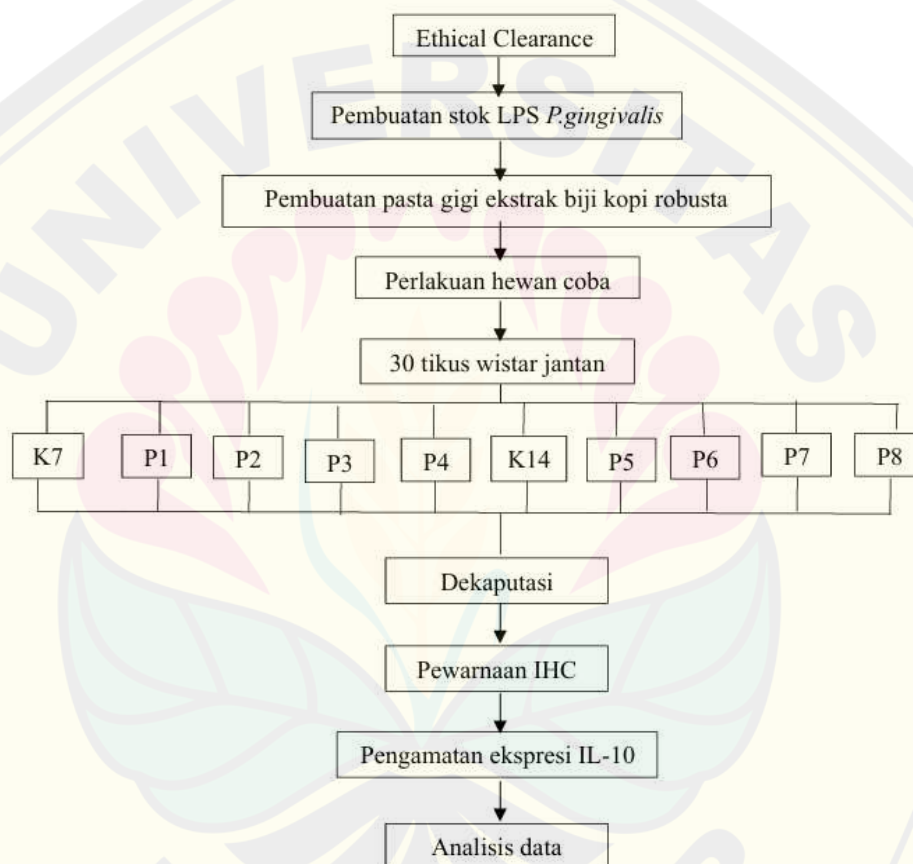


Gambar 3.1. Imunohistokimia pada organ hati normal dari tiga kasus yang berbeda. Intensitas pewarnaan sel otot polos perisinusoidal bervariasi dari lemah hingga negatif, dan secara konsekuensi merupakan jaringan kontrol yang buruk karena ekspresi antigen yang bervariasi di antara sampel jaringan (Taylor, 2010)

3.8 Analisis Data

Data penelitian dianalisis statistik menggunakan program SPSS. Tahap pertama menggunakan metode uji normalitas *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas *Lavene*. Didapatkan data tidak terdistribusi normal dan homogen maka dilakukan uji non-parametrik *Kruskal Wallis*. Didapatkan hasil signifikan ($p > 0.05$) sehingga tidak dilanjutkan dengan uji *post-hoc*.

3.9 Alur Penelitian



Gambar 3.3. Alur Penelitian

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

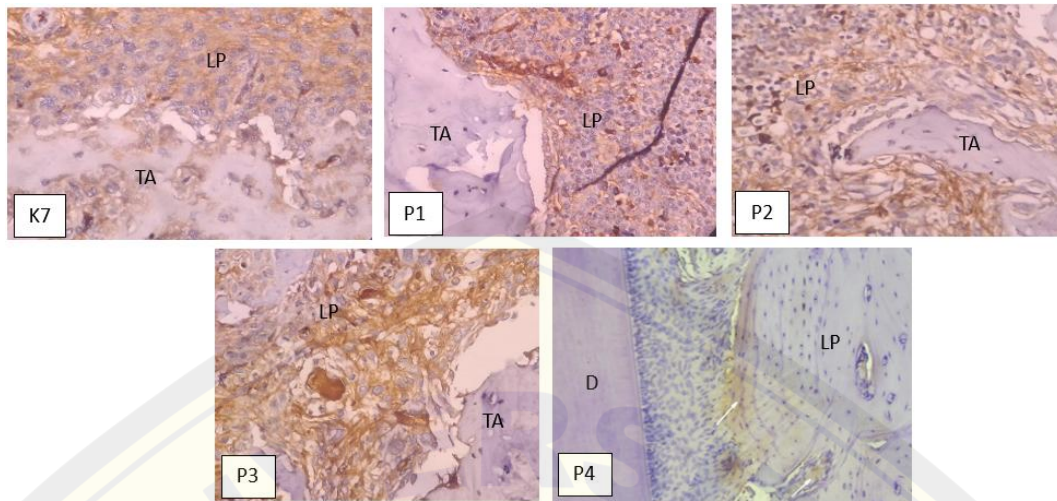
Model tikus periodontitis yang diperoleh dari proses induksi LPS *P.gingivalis* sebanyak 10 μ l dengan konsentrasi 0,5 mg/ml yang disuntikkan dalam waktu tiga kali seminggu selama 14 hari pada sulkus gingiva area bukal M1 rahang bawah kiri. Pada area sulkus gingiva bagian bukal M1 rahang bawah kiri didapatkan adanya tanda peradangan yakni kemerahan dan kontur gingiva yang membulat serta terdapat adanya penurunan margin gingiva.



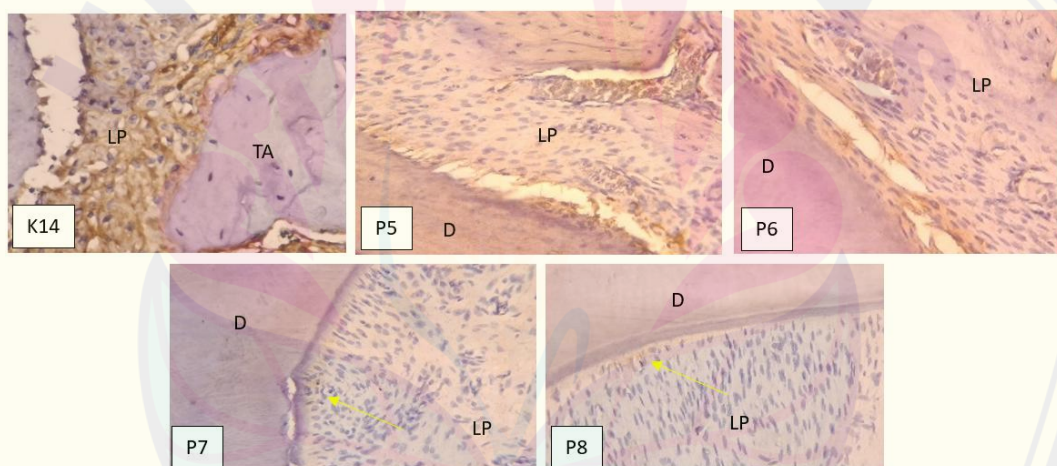
Gambar 4.1 Margin gingiva bagian bukal M1 rahang bawah kiri tikus wistar yang mengalami kemerahan dan kontur gingiva yang membulat.

Pada preparat dengan pewarnaan *Immunohistochemistry* (IHC) menunjukkan adanya ekspresi IL-10 pada ligamen periodontal masing-masing kelompok perlakuan. Ekspresi IL-10 ditunjukkan berupa intensitas warna coklat (panah kuning) seperti pada Gambar 4.3 berikut

Hari ke-7



Hari ke-14



Gambar 4.3 Gambaran *Immunohistochemistry* pada area ligamen periodontal dengan perbesaran 400x. TA: tulang alveolar; LP: ligamen periodontal; D: dentin. Pada hari ke 7; K7: LPS *Pg* + pasta plasebo; P1: LPS *Pg* + pasta EBHKR 0,78125%; P2: LPS *Pg* + pasta EBHKR 1,5625%; P3: LPS *Pg* + pasta EBHKR 3,125%; P4: LPS *Pg* + pasta EBHKR 6,25%. Pada hari ke 14; K14: LPS *Pg* + pasta plasebo; P5: LPS *Pg* + pasta EBHKR 0,78125%; P6: LPS *Pg* + pasta EBHKR 1,5625%; P7: LPS *Pg* + pasta EBHKR 3,125%; P8: LPS *Pg* + pasta EBHKR 6,25%

Hasil pengamatan ekspresi IL-10 pada ligamen periodontal M1 bukal kiri rahang bawah tikus wistar setelah dilakukan perlakuan sikat gigi menggunakan pasta gigi EBHKR berbagai konsentrasi menunjukkan adanya peningkatan ekspresi IL-10 dibandingkan kelompok kontrol yang hanya menggunakan pasta

gigi plasebo. Data ekspresi IL-10 pada masing-masing kelompok perlakuan tertera pada Tabel 4.1

Tabel 4.1 Rata-rata ekspresi IL-10 pada ligamen periodontal M1 bukal kiri rahang bawah tikus wistar

Waktu Pengamatan	Kelompok	Ekspresi IL-10 (%)			Rerata (%)	Standar Deviasi
		N1	N2	N3		
7 Hari	K7	40	40	30	36,67	5,77
	P1	25	25	25	25	0
	P2	25	15	30	23,33	7,63
	P3	40	50	40	43,33	5,77
	P4	40	30	40	36,67	5,77
14 Hari	K14	40	35	40	38,33	2,88
	P5	45	50	25	40	13,22
	P6	25	20	25	23,33	2,88
	P7	15	30	40	28,33	12,58
	P8	30	40	50	40	10

Ket: N1: Sampel tikus 1; N2: Sampel tikus 2; N3: Sampel tikus 3; ; K7: LPS *Pg* + pasta plasebo; P1: LPS *Pg* + pasta EBHKR 0,78125%; P2: LPS *Pg* + pasta EBHKR 1,5625%; P3: LPS *Pg* + pasta EBHKR 3,125%; P4: LPS *Pg* + pasta EBHKR 6,25%; K14: LPS *Pg* + pasta plasebo; P5: LPS *Pg* + pasta EBHKR 0,78125%; P6: LPS *Pg* + pasta EBHKR 1,5625%; P7: LPS *Pg* + pasta EBHKR 3,125%; P8: LPS *Pg* + pasta EBHKR 6,25%.

Hasil perhitungan ekspresi IL-10 pada berbagai kelompok sampel, kemudian dilakukan rerata seperti pada yang tertera pada Tabel 4.1. Hasil rata-rata ekspresi IL-10 pada setiap kelompok sampel dengan perlakuan menggunakan pasta gigi EBHKR menunjukkan adanya peningkatan ekspresi IL-10 dibandingkan dengan kelompok sampel yang hanya menggunakan pasta gigi plasebo.

4.2 Analisis Data

Ekspresi IL-10 yang didapatkan dari masing-masing kelompok perlakuan akan dianalisis secara statistik menggunakan SPSS. Uji normalitas *Shapiro Wilk* dilakukan pertama kali dengan tujuan mengetahui apakah data terdistribusi secara normal atau tidak. Kemudian, dilakukan uji homogenitas menggunakan metode *Levene* untuk menilai homogenitas data antar kelompok.

Pada hasil uji normalitas didapatkan bahwa data ekspresi IL-10 tidak terdistribusi normal ($p < 0,05$), sehingga perlu dilakukan uji non-parametrik. Uji *Kruskal Wallis* dilakukan untuk mengetahui perbedaan ekspresi IL-10 antar kelompok sampel dengan waktu pengamatan (hari ke-7 dan hari ke-14). Hasil uji statistic terdapat pada tabel 4.2

Tabel 4.2 Hasil statistik uji beda ekspresi IL-10 pada ligamen periodontal menggunakan uji *Shapiro Wilk*, *Lavene*, *Kruskal Wallis* pada SPSS

Waktu Pengamatan	Kelompok	Uji Normalitas (Shapiro-wilk)	Uji Homogenitas (Lavene)	Uji Non-Parametrik (Kruskal Wallis)
7 Hari	K7 (kontrol 7 hari)	0,00		
	P1 (0,78125%)	-		
	P2 (1,5625%)	0.637*	0,07*	
	P3 (3,125%)	0,00		
	P4 (6,25%)	0,00		0.044**
14 Hari	K14 (kontrol 14 hari)	0,00		
	P5 (0,78125%)	0.363*		
	P6 (1,5625%)	0.00	0,171*	
	P7 (3,125%)	0.00		
	P8 (6,25%)	1.00*		

Ket: (*) signifikan dengan nilai signifikansi $p > 0,05$

(**) signifikan dengan nilai signifikansi $p < 0,05$

Hasil uji *Kruskal Wallis* pada tabel 4.2 menunjukkan nilai signifikansi $p < 0,05$, sehingga nilai tersebut menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan ekspresi IL-10 antar kelompok perlakuan. Berdasarkan hasil uji *Kruskal Wallis* yang signifikan tersebut, maka uji statistic tidak dilanjutkan menggunakan metode uji *Mann Whitney* sebagai uji *post-hoc*.

4.3 Pembahasan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi pasta gigi EBKR dalam meningkatkan ekspresi IL-10 pada tikus wistar yang diinduksi LPS *P. gingivalis*. Berdasarkan hasil penelitian yang tertera pada Tabel 4.1, penggunaan pasta gigi EBHKR pada berbagai konsentrasi selama 7 hari dan 14 hari menunjukkan adanya peningkatan ekspresi IL-10 pada ligamen periodontal dibandingkan dengan kelompok kontrol yang hanya menggunakan pasta gigi plasebo.

Hasil pengamatan gambaran *Immunohistochemistry* pada ligamen periodontal menunjukkan ekspresi IL-10 berupa intensitas warna coklat pada sitoplasma sel. Metode pewarnaan *Immunohistochemistry* digunakan untuk mendeteksi ekspresi IL-10 secara kuantitatif menggunakan perhitungan jumlah sel dengan aplikasi ImageJ. Metode ini dipilih karena mampu menunjukkan distribusi dan intensitas ekspresi protein secara spesifik pada jaringan (Wen *et al.*, 2024).

Model periodontitis pada tikus wistar dikonfirmasi melalui pemeriksaan klinis dan radiografis menggunakan *Micro Computed Tomography* (MCT). Pada area sulkus gingiva bukal M1 rahang bawah kiri tikus terdapat tanda-tanda peradangan berupa kemerahan, kontur gingiva yang membulat, dan penurunan margin gingiva. Pemeriksaan MCT juga menunjukkan adanya resorpsi pada puncak tulang alveolar. Hal ini sesuai dengan patogenesis periodontitis, bahwa akumulasi plak yang mengandung LPS *P. gingivalis* mengaktifkan respon imun yang berujung pada kerusakan jaringan penyangga gigi secara progresif (Salsabilla *et al.*, 2024; Newman dan Carranza's, 2024).

Pada pengamatan hari ke-7, kelompok P3 (konsentrasi 3,125%) menunjukkan rerata ekspresi IL-10 tertinggi sebesar $43,33 \pm 5,77$, lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol K7 sebesar $36,67 \pm 5,77$. Kelompok P4

(6,25%) memiliki rerata yang sama dengan kontrol K7 yakni $36,67 \pm 5,77$. Pada kelompok P1 (0,78125%) dan P2 (1,5625%) menunjukkan rerata yang lebih rendah dengan masing-masing sebesar $25,00 \pm 0$ dan $23,33 \pm 7,63$. Pola ini menunjukkan bahwa peningkatan respons tidak terjadi secara linier terhadap peningkatan konsentrasi pasta gigi EBHKR. Kondisi tersebut mengindikasikan adanya konsentrasi optimum pasta gigi EBHKR dalam mempengaruhi aktivitas IL-10. Perbedaan respon tersebut diduga berkaitan kandungan senyawa aktif kopi robusta, seperti polifenol, flavonoid, dan asam klorogenat yang berperan sebagai antioksidan dan antiinflamasi (Virginia *et al.*, 2024)

Pada pengamatan hari ke-14, kelompok P5 (0,78125%) dan P8 (6,25%) menunjukkan rerata ekspresi IL-10 sebesar 40,00, setara dengan kelompok kontrol K14 sebesar $38,33 \pm 2,88$. Pada kelompok P7 (3,125%) menunjukkan rerata sebesar $28,33 \pm 12,58$, sementara kelompok P6 (1,5625%) menunjukkan rerata terendah sebesar $23,33 \pm 2,88$. Variabilitas hasil pengamatan pada hari ke-14 dapat dikaitkan dengan respon imun tikus yang semakin kompleks seiring bertambahnya waktu paparan. Hal ini mengindikasikan patogenesis penyakit periodontitis seperti respon imun yang dipengaruhi oleh berbagai faktor local maupun sistemik (Newman dan Carranza's, 2024).

Hasil uji statistik menggunakan *Kruskal Wallis* menunjukkan nilai signifikansi $p < 0,05$, yang menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada ekspresi IL-10 antar kelompok perlakuan baik pada hari ke-7 maupun hari ke-14. Uji normalitas *Shapiro-Wilk* menunjukkan sebagian besar data tidak terdistribusi normal, sehingga dilakukan uji non-parametrik. Uji homogenitas *Lavene* pada hari ke-7 maupun hari ke-14 menunjukkan nilai signifikan dengan nilai signifikansi $p > 0,05$.

Hasil penelitian ini berkorelasi dengan penelitian sebelumnya yang telah membuktikan efektivitas pasta gigi EBHKR dalam manajemen penyakit periodontal. Wulandari *et al.* (2023) menunjukkan bahwa pasta gigi EBHKR pada konsentrasi 12,5%; 25%; 50% memiliki daya hambat yang signifikan terhadap pertumbuhan bakteri *P.gingivalis* secara in vitro. Lebih lanjut pada hasil penelitian Pudjiastuti *et al.* (2023) mengkonfirmasi bahwa pasta gigi

EBHKR terbukti dapat mengurangi pembentukan plak gigi dan peradangan gingiva, serta menurunkan ekspresi IL-1 β secara signifikan pada tikus model gingivitis. Hasil penelitian ini memperluas temuan tersebut dengan menunjukkan bahwa pasta gigi EBKR juga mampu memodulasi ekspresi IL-10 pada tikus periodontitis, mengindikasikan peran yang lebih luas sebagai agen immunomodulator.

Secara keseluruhan, hasil penelitian ini mendukung hipotesis bahwa pasta gigi EBKR berpotensi meningkatkan ekspresi IL-10 pada tikus periodontitis. Namun, penelitian ini juga memiliki beberapa keterbatasan yang perlu diperhatikan dalam menginterpretasikan hasilnya. Kandungan senyawa bioaktif spesifik dalam ekstrak biji hijau kopi robusta yang berperan dalam meningkatkan ekspresi IL-10 belum diidentifikasi melalui uji fitokimia, sehingga mekanisme kerja pasti pada tingkat molekuler belum dapat dipastikan. Hal ini turut menjelaskan mengapa rerata ekspresi IL-10 pada penelitian ini tidak menunjukkan pola dose-response yang linear, karena ekspresi tertinggi ditemukan pada konsentrasi 3,125% dan bukan pada konsentrasi tertinggi 6,25%. Penelitian ini menggunakan model hewan coba (tikus wistar) dengan durasi pengamatan yang relatif singkat, yaitu maksimal 14 hari, sehingga hasil ini belum tentu dapat digeneralisasikan langsung pada manusia maupun untuk penggunaan jangka panjang, dan diperlukan penelitian lanjutan berupa uji klinis untuk mengonfirmasi efektivitas dan keamanannya pada manusia.

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa pasta gigi EBHKR dengan konsentrasi 0,78125%, 1,5625%, 3,125%, dan 6,25% terbukti mampu meningkatkan ekspresi IL-10 pada ligamen periodontal tikus periodontitis.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui mekanisme kerja pasta gigi EBHKR dalam meningkatkan aktivitas sitokin antiinflamasi yang lain.
2. Perlu dilakukan uji fitokimia pada pasta gigi EBHKR

DAFTAR PUSTAKA

- Agilent Dako. 2021. Immunohistochemical staining methods: IHC guidebook (6th ed.). Agilent Technologies.
- Ahmed Samei Huda. 2019. The Medical Model In Mental Health. Oxford Academic. DOI: 10.1093/med/9780198807254.003.0004
- Ali A. Abdulkareem, Firas B. Al-Taweel, Ali J.B. Al-Sharqi, Sarhang S. Gul, Aram Sha and Iain L.C. Chapple. 2023. Current concepts in the pathogenesis of periodontitis: from symbiosis todysbiosis. JOURNAL OF ORAL MICROBIOLOGY 2023, VOL. 15, 2197779. doi.org/10.1080/20002297.2023.2197779
- Dessy, O., Setyawati, S., & Fuadiyah, D. (2024). Pengaruh lama paparan lipopolisakarida (LPS) *Porphyromonas gingivalis* sebagai inductor periodontitis terhadap kadar kolesterol total tikus Wistar (*Rattus norvegicus*). Medic Nutricia: Jurnal Ilmu Kesehatan, 3(4), 25–31. doi.org/10.5455/mnj.v1i2.644
- Ding J, Tan L, Wu L, Li J, Zhang Y, Shen Z, Zhang C, Zhao Z and Gao L. 2025. Regulation of tryptophan-indole metabolic pathway in *Porphyromonas gingivalis* virulence and microbiota dysbiosis in periodontitis. Npj Biofilms and Microbiomes. doi.org/10.1038/s41522-025-00669-y
- Farahdila, N.A., Pujiastuti, P., Sari, D.S. 2024. Daya Hambat Pasta Gigi yang Mengandung Ekstrak Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* Secara In Vitro. Stomatognathic (J.K.G Unej) Vol. 21 No. 1 2024: 52 – 55.
- Huang Z, Hao M, Shi N, Wang X, Yuan L, Yuan H and Wang X (2025) *Porphyromonas gingivalis*: a potential trigger of neurodegenerative

disease. Front. Immunol. 16:1482033. doi: 10.3389/fimmu.2025.1482033

Jass JR. 2006. Role of the mitogen-activated protein kinase and phosphoinositide 3-kinase/AKT pathways downstream molecules, phosphorylated extracellular signal-regulated kinase and phosphorylated AKT, in colorectal cancer: a clinicopathologic study of 50 cases. *Histopathology*;49(4):438–444.

Komang *et al.* 2025. Periodontitis Kontemporer. Universitas Airlangga. DOI: 10.20473/aup.1378

Marwani, E., Syamsudin, T. S., Awaliyah, S., Maulani, R. R., Hidayat, A., Husyari, U. D., & Widiyanto, S. (2024). Volatile metabolite profiles of Robusta green bean coffee from different geographical origins in West Java and their correlation with temperature, rainfall, and altitudes using SPME GC-MS–based metabolomics. *International Journal of Food Science*, 2024, 1–16. <https://doi.org/10.1155/2024/6908059>

Michael DiDonato *et al.* 2025. A novel interleukin-10 antibody graft to treat inflammatory bowel disease. DOI: 10.1016/j.str.2024.12.010

Newman and Carranza's. 2024. Clinical Periodontology and Implantology. 14th Edition.

Nurmayanti, S., Tahir, M., Indrawati, W., Mahhendra, B., & Kartika Sari, R. P. (2025). Analisis kekerabatan morfologi dan kedekatan kelas pada tanaman kopi robusta (*Coffea canephora* Pierre ex Froehner). *Jurnal Agrotek Tropika*, 13(1), 29–37. <https://doi.org/10.23960/jat.v13i1.7598>

Pujiastuti, P., Sakinah, N.N., Arina, Y.M.D., Wahyukundari, M.A., Praharani, D., Sari, D.S. 2023. The potential of toothpaste containing Robusta coffee bean extract in reducing gingival inflammation and dental plaque formation. *Dental Journal (Majalah Kedokteran Gigi)* 2023 June; 56(2): 109–114. DOI: 10.20473/j.djmk.v56.i2.p109-114

- Putri, S. Astuti, L. Komala, O. 2024. Periodontitis Pada Lansia. JKGT VOL. 6, NO.2, Desember (2024) 36-38 , DOI : 10.25105/jkgt.v6i2.22369
- Reza, A., Edy, P. 2024. Panduan Prosesing dan Pewarnaan Jaringan dalam Histopatologi. Klaten: Penerbit Lakeisha
- Suvan, J., & Marruganti, C. (2025). The complex world of toothpaste diversity, meeting patient clinical needs: An umbrella review. *International Journal of Dental Hygiene*. Advance online publication. <https://doi.org/10.1111/idh.12904>
- Taylor, C. R., Shi, S.-R., & Barr, N. J. (Eds.). (2010). *Diagnostic immunohistochemistry: Principles, pitfalls and standardization* (4th ed.). Elsevier.
- Viginia, J. Iqbal, M. Triyandi, R. Andrifiane. 2024. Review Artikel: Aktivitas Farmakologi Tanaman Kopi Robusta (*Coffea canephora*). Universitas Lampung. Journal of Medula; Vol. 14.
- Wen, Z., Luo, D., Wang, S., Rong, R., Evers, B. M., Jia, L., Fang, Y., Daoud, E. V., Yang, S., Gu, Z., Arner, E. N., Lewis, C. M., Solis Soto, L. M., Fujimoto, J., Behrens, C., Wistuba, I. I., Yang, D. M., Brekken, R. A., O'Donnell, K. A., ... Xiao, G. (2024). *Deep learning-based H-score quantification of immunohistochemistry-stained images*. *Modern Pathology*, 37, 100398. doi.org/10.1016/j.modpat.2023.100398
- Wulandari, A.T., Arina, Y.M.D., Pujiastusi, P. 2023. Daya Hambat Pasta Gigi yang Mengandung Ekstrak Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Jurnal Penelitian Kesehatan Suara Forikes. Volume 4 Nomor 1, Januari 2023.

- Xutao Chen *et al.* 2022. Exosomes derived from reparative M2-like macrophages prevent bone loss in murine periodontitis models via IL-10 mRNA. DOI: 10.1186/s12951-022-01314-y
- Y.K. Sinzato, D.C. Damasceno, R. Laufer-Amorim, M.M.P. Rodrigues, M. Oshiiwa, K.N. Taylor and M.V.C. Rudge. 2011. Plasma concentrations and placental immunostaining of interleukin-10 and tumor necrosis factor- α as predictors of alterations in the embryo fetal organism and the placental development of diabetic rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 44: 206-211
- Cayuela López, A., Gómez-Pedrero, J. A., Blanco, A. M. O., & Sorzano, C. O. S. (2022). *Cell-TypeAnalyzer: A flexible Fiji/ImageJ plugin to classify cells according to user-defined criteria. Biological Imaging*, 2, e5. <https://doi.org/10.1017/S2633903X22000058>
- Nadaf R, Kumbar VM, Ghagane S. Unravelling the intricacies of *Porphyromonas gingivalis*: virulence factors, lifecycle dynamics and phytochemical interventions for periodontal disease management. *APMIS*. 2024.
- Polishchuk I, dkk. *Porphyromonas gingivalis*: Multiple Tools of an Inflammatory Damage. *Molecular Oral Microbiology*. 2025.
- Wu Z, dkk. Outer membrane vesicles of *Porphyromonas gingivalis*: recent advances in pathogenicity and associated mechanisms. *Frontiers in Microbiology*. 2025.

LAMPIRAN

Lampiran 1. [Alat dan Bahan Penelitian](#)

Lampiran 2. [Perlakuan Hewan Coba](#)

Lampiran 3. [Pengamatan Hasil Preparat](#)

Lampiran 4. [Data Ekspresi IL-10](#)

Lampiran 5. [Analisis Data](#)

Lampiran 6. [Ijin Penelitian](#)



<https://unej.id/LampiranSkripsiRevaniPutriLailatulSyifa>