



**EFEK KONSUMSI SEDUHAN BUBUK KOPI ROBUSTA
TERHADAP RESORPSI TULANG ALVEOLAR PADA
TIKUS YANG DIINDUKSI BAKTERI *Porphyromonas
gingivalis***

SKRIPSI

Oleh

Ghafran Nailul Farchi

161610101041

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS JEMBER

2020



**EFEK KONSUMSI SEDUHAN BUBUK KOPI ROBUSTA
TERHADAP RESORPSI TULANG ALVEOLAR PADA
TIKUS YANG DIINDUKSI BAKTERI *Porphyromonas
gingivalis***

SKRIPSI

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi Kedokteran gigi (S1) dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran Gigi

Oleh

Ghafran Nailul Farchi

161610101041

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS JEMBER

2020

PERSEMBAHAN

Dengan nama Allah Yang Maha Pengasih dan Penyayang, skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Mamaku tercinta Titik Suprihatin dan bapakku tersayang Mukh. Aslam Ashuri;
2. Adikku tersayang Lazuardi Firdaus;
3. Dosen pembimbing skripsi drg. Rendra Chriestedy Prasetya, M.D.Sc dan drg. Nadie Fatimatuzzahro, M.D.Sc;
4. Dosen pembimbing akademik prof.drg. Mei Syafriadi, M.D.Sc., Ph.D;
5. Guru-guruku sejak taman kanak-kanak sampai perguruan tinggi;
6. Teman-temanku semua yang telah memberikan semangat;
7. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

MOTTO

JIKA BENAR KEMAUANNYA, TERBUKALAH JALANNYA. ^{*)}



^{*)} Zainudin, A. 2010. *Man Jadda Wajada*. Jakarta : PT Gramedia Pustaka Utama.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Ghafran Nailul Farchi

NIM : 161610101041

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul **“EFEK KONSUMSI SEDUHAN BUBUK KOPI ROBUSTA TERHADAP RESORPSI TULANG ALVEOLAR PADA TIKUS YANG DIINDUKSI BAKTERI *Porphyromonas gingivalis*”** adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada intitusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember,2020

Yang menyatakan

Ghafran Nailul Farchi

NIM 161610101041

SKRIPSI

**EFEK KONSUMSI SEDUHAN BUBUK KOPI ROBUSTA
TERHADAP RESORPSI TULANG ALVEOLAR PADA
TIKUS YANG DIINDUKSI BAKTERI *Porphyromonas
gingivalis***

Oleh

Ghafran Nailul Farchi

161610101041

Pembimbing :

Dosen Pembimbing Utama : drg. Rendra Chriestedy Prasetya, MD.Sc

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

Penguji :

Dosen Penguji Ketua : Dr. drg. Desi Sandra, MD.Sc

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

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS JEMBER

2020

PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul “**EFEK KONSUMSI SEDUHAN BUBUK KOPI ROBUSTA TERHADAP RESORPSI TULANG ALVEOLAR PADA TIKUS YANG DIINDUKSI BAKTERI *Porphyromonas gingivalis***” karya Ghafran Nailul Farchi telah diuji dan disahkan pada:

Hari, tanggal :

Tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Penguji Ketua

Penguji Anggota

Dr. drg. Desi Sandra, MD.Sc
NIP. 197512152003122005

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

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping

drg. Rendra Chriestedy Prasetya, MD.Sc
NIP. 198305312008011003

drg. Nadie Fatimatuzzahro, MD.Sc
NIP. 198204242008012022

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Jember,

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

RINGKASAN

Efek Konsumsi Seduhan Bubuk Kopi Robusta Terhadap Resorpsi Tulang Alveolar pada Tikus yang Diinduksi Bakteri *Porphyromonas gingivalis* ; Ghafran Nailul Farchi; 161610101041; 2020; 78 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Bakteri *Porphyromonas gingivalis* adalah mikroorganisme yang banyak berperan dalam terjadinya periodontitis. *Porphyromonas gingivalis* dapat bertahan dan melawan pertahanan *host* dengan faktor virulensi yang dimiliki, seperti lipopolisakarida (LPS), reseptor membran luar yang spesifik, adhesin (*fimbriae*), dan produk ekstraselular. Pengaruh faktor virulensi pada bakteri *P.gingivalis* seperti *fimbriae* dan LPS dapat menstimulasi sel *host* untuk memproduksi sitokin proinflamasi (*Tumor Necrosis Factor- α* (TNF- α), IL-1 α , IL-1 β , dan IL6) dalam makrofag yang dapat mengganggu *remodeling* tulang alveolar, karena sitokin proinflamasi tersebut dapat meningkatkan osteoklasgenesis kemudian dapat meresorpsi tulang alveolar. Pada penelitian ini, peneliti menggunakan bahan alami yaitu kopi robusta sebagai pencegahan adanya kerusakan jaringan. Kopi robusta memiliki kandungan biologi aktif seperti asam klorogenat, *caffeic acid*, *ferulic acid* dan kafein. Kandungan biologis aktif tersebut memiliki sifat antibakteri, antiinflamasi, dan antioksidan yang membuat bakteri tidak dapat bertahan hidup dan menekan kerusakan jaringan. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis efek konsumsi seduhan bubuk kopi robusta terhadap resorpsi tulang alveolar pada tikus wistar jantan yang diinduksi bakteri *Porphyromonas gingivalis* pada gambaran histologi.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen laboratoris dengan rancangan *the post test only control group design* yang dilakukan di laboratorium Biomedik FKG UNEJ. Penelitian ini menggunakan 20 ekor tikus wistar yang dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok I (kontrol), Kelompok II merupakan kelompok yang diberi perlakuan injeksi 0,05 ml *P. gingivalis* dengan konsentrasi $1,5 \times 10^8$ CFU/ml dan didekapitasi pada hari ke-14. Kelompok III merupakan kelompok yang

diberi perlakuan injeksi 0,05 ml *P. gingivalis* dengan konsentrasi $1,5 \times 10^8$ CFU/ml bersamaan diberikan seduhan kopi sebanyak 3,6ml dan didekaputasi pada hari ke-14. Kelompok IV merupakan kelompok yang diberi perlakuan injeksi 0,05 ml *P. gingivalis* dengan konsentrasi $1,5 \times 10^8$ CFU/ml dan didekaputasi pada hari ke-28. Kelompok V merupakan kelompok yang diberi perlakuan injeksi 0,05 ml *P. gingivalis* dengan konsentrasi $1,5 \times 10^8$ CFU/ml bersamaan diberikan seduhan kopi sebanyak 3,6ml dan didekaputasi pada hari ke-28. Setelah didekaputasi dilanjutkan jaringan difiksasi dengan larutan formalin 10% kemudian dilakukan *prosesing* jaringan dengan perwarnaan *hemaktosilin-eosin*, kemudian pengamatan resorpsi tulang alveolar menggunakan aplikasi *image raster*.

Data dilakukan uji parametrik *One Way Anova* dengan hasil terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$) sehingga dilanjutkan uji LSD. Hasil uji LSD didapatkan kelompok periodontitis yang bersamaan diberi seduhan kopi robusta selama 14 hari tidak berbeda signifikan dengan kelompok kontrol, hal ini berarti konsumsi seduhan kopi robusta 14 hari dapat menekan resorpsi tulang alveolar karena rata-ratanya mendekati normal, sedangkan kelompok periodontitis yang bersamaan diberi seduhan kopi robusta selama 28 hari berbeda signifikan dengan kelompok kontrol, hal ini menunjukkan bahwa semakin lama perlakuan maka pemberian seduhan kopi robusta menjadi tidak bermakna. Kelompok yang tidak diberi seduhan kopi robusta tidak berbeda signifikan dengan kelompok yang diberi seduhan kopi robusta hari 14 (Kelompok II dan Kelompok III) maupun hari 28 (Kelompok IV dan Kelompok V), hal ini menunjukkan bahwa seduhan kopi kurang maksimal dalam menghambat resorpsi tulang alveolar.

Kesimpulan penelitian ini bahwa efek konsumsi seduhan kopi robusta dapat menghambat resorpsi tulang alveolar yang diakibatkan induksi bakteri *Porphyromonas gingivalis* pada tikus wistar hari ke 14, namun dengan perlakuan yang lebih lama selama 28 hari, efek konsumsi kopi robusta menjadi tidak bermakna. Saran untuk penelitian selanjutnya, dapat menggunakan dosis kopi yang lebih besar agar efek yang diberikan juga lebih maksimal.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT. atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Efek Konsumsi Seduhan Bubuk Kopi Robusta Terhadap Gambaran Histologi Resorpsi Tulang Alveolar pada Tikus Yang diinduksi Periodontitis Menggunakan Bakteri *Porphyromonas gingivalis*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada jurusan Pendidikan Dokter Gigi Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terimakasih kepada :

1. drg. Rendra Chriestedy Prasetya., MD.Sc., selaku dosen pembimbing utama, drg. Nadie Fatimatuzzahro., MD.Sc., selaku dosen pembimbing pendamping, yang telah membagikan ilmu, waktu dan pengamalannya dalam proses penyelesaian skripsi penulis;
2. Dr. drg. Desi Sandra., MD.Sc., selaku penguji ketua, Dr. drg. I Dewa Ayu Susilawati., M.Kes., selaku penguji anggota, yang telah bersedia melungkan waktu untuk membaca, memberikan kritik dan saran pada skripsi penulis;
3. Prof. drg. Mei Syafriadi., MD.Sc., Ph.D., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama penulis menjadi mahasiswa;
4. Keluargaku yang telah memberikan doanya demi terselesaikannya skripsi ini;
5. Semua guru yang mengajari penulis sampai bisa menempuh pendidikan sejauh ini;
6. Faradisa Jannata Ikhsani yang telah memberi dukungan dan doa setiap harinya dalam pengerjaan skripsi ini;
7. Teman-teman penelitian Apin, Astrid, Pintan, dan Riskur. Terimakasih sudah membantu saya selama penelitian;

8. Teman-teman “UMBRELLA”. Nafra, Arba, Firman, Shintia, Fika, Endang yang selama ini sudah memberi semangat kepada saya disetiap keadaan;
9. Nada, Nunung, Rafi, Kartika, Dania, Diskafit, Aruni, Salsa yang telah membantu saya yang awalnya tidak paham akan skripsi ini menjadi lebih paham dan lancar dalam mengerjakannya;
10. Semua pihak yang terlibat secara langsung maupun tidak langsung yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu, terima kasih kalian semua.

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

Jember,2020

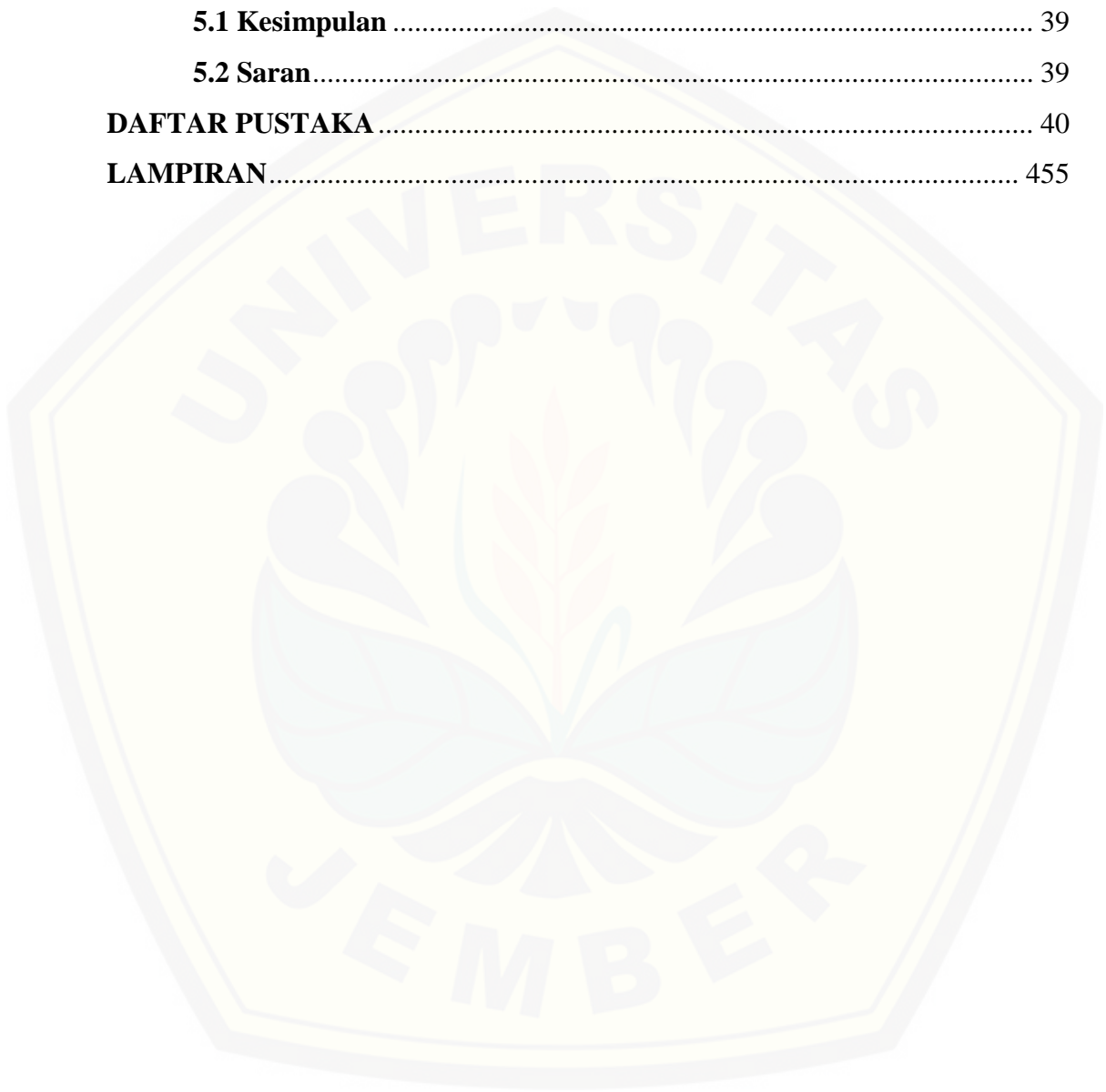
Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	Error! Bookmark not defined.
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Kopi Robusta	4
2.1.1 Komposisi dalam Kopi.....	5
2.1.2 Bioaktivitas Kopi.....	6
2.2 Tulang Alveolar	9
2.3 <i>Porphyromonas gingivalis</i>	10
2.3.1 Definisi	10
2.3.2 Klasifikasi.....	11
2.3.3 Faktor virulensi <i>Porphyromonas gingivalis</i>	11
2.4 Periodontitis	12

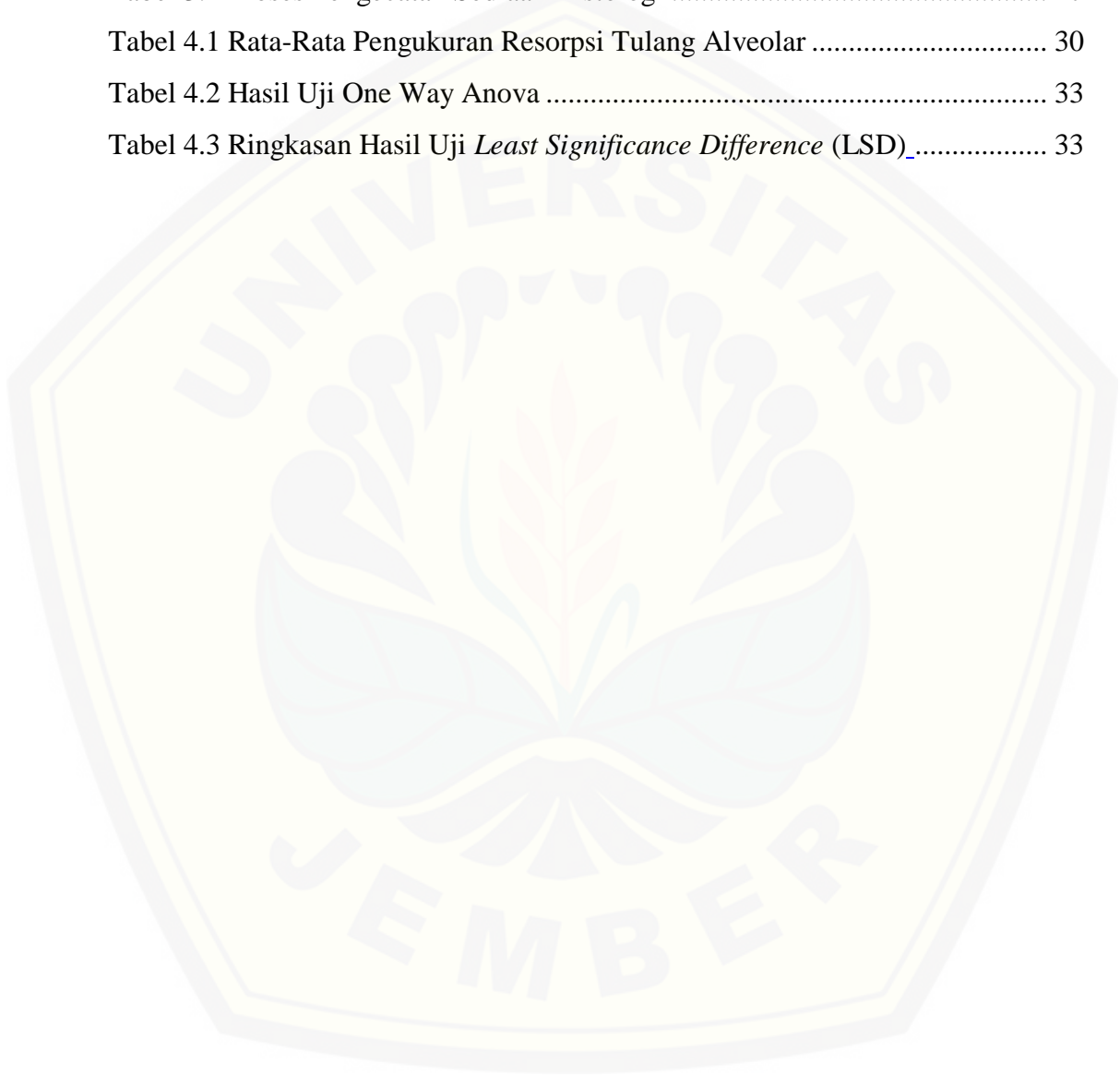
2.4.1 Etiologi	12
2.4.2 Patogenesis Periodontitis.....	12
2.5 Hubungan Periodontitis terhadap Resorpsi tulang alveolar	13
2.6 Penjelasan Kerangka Konsep	17
2.7 Hipotesis	18
BAB 3. METODE PENELITIAN	19
3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	19
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	19
3.2.1 Waktu Penelitian	19
3.2.2 Tempat Penelitian.....	19
3.3 Variabel Penelitian	19
3.3.1 Variabel bebas	19
3.3.2 Variabel terikat.....	19
3.3.3 Variabel terkontrol	19
3.4 Definisi Operasional	20
3.5 Obyek Penelitian	21
3.5.1 Kriteria Obyek Penelitian.....	21
3.5.2 Besar Sampel Penelitian.....	21
3.6 Alat dan Bahan Penelitian	22
3.6.1 Alat Penelitian	22
3.6.2 Bahan Penelitian.....	23
3.7 Prosedur Penelitian	23
3.7.1 Tahap Persiapan Penelitian	23
3.7.2 Persiapan Hewan coba	23
3.7.3 Persiapan Bahan Perlakuan	23
3.7.4 Pelaksanaan Penelitian.....	24
3.7.5 Tahap Pembuatan Sediaan Histologi.....	25
3.7.6 Tahap Pengamatan	28
3.8 Analisis Data	29
3.9 Alur Penelitian.....	30
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	31

4.1 Hasil Penelitian	31
4.2 Analisis Data	34
4.3 Pembahasan	35
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	39
5.1 Kesimpulan	39
5.2 Saran	39
DAFTAR PUSTAKA	40
LAMPIRAN	455



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Komposisi Kimia Dari Kopi Robusta Dan Kopi Arabika.....	5
Tabel 3.1 Prosedur Dehidrasi, Clearing Dan Impregnasi Jaringan	25
Tabel 3.2 Proses Pengecatan Sediaan Histologi	27
Tabel 4.1 Rata-Rata Pengukuran Resorpsi Tulang Alveolar	30
Tabel 4.2 Hasil Uji One Way Anova	33
Tabel 4.3 Ringkasan Hasil Uji <i>Least Significance Difference</i> (LSD).....	33

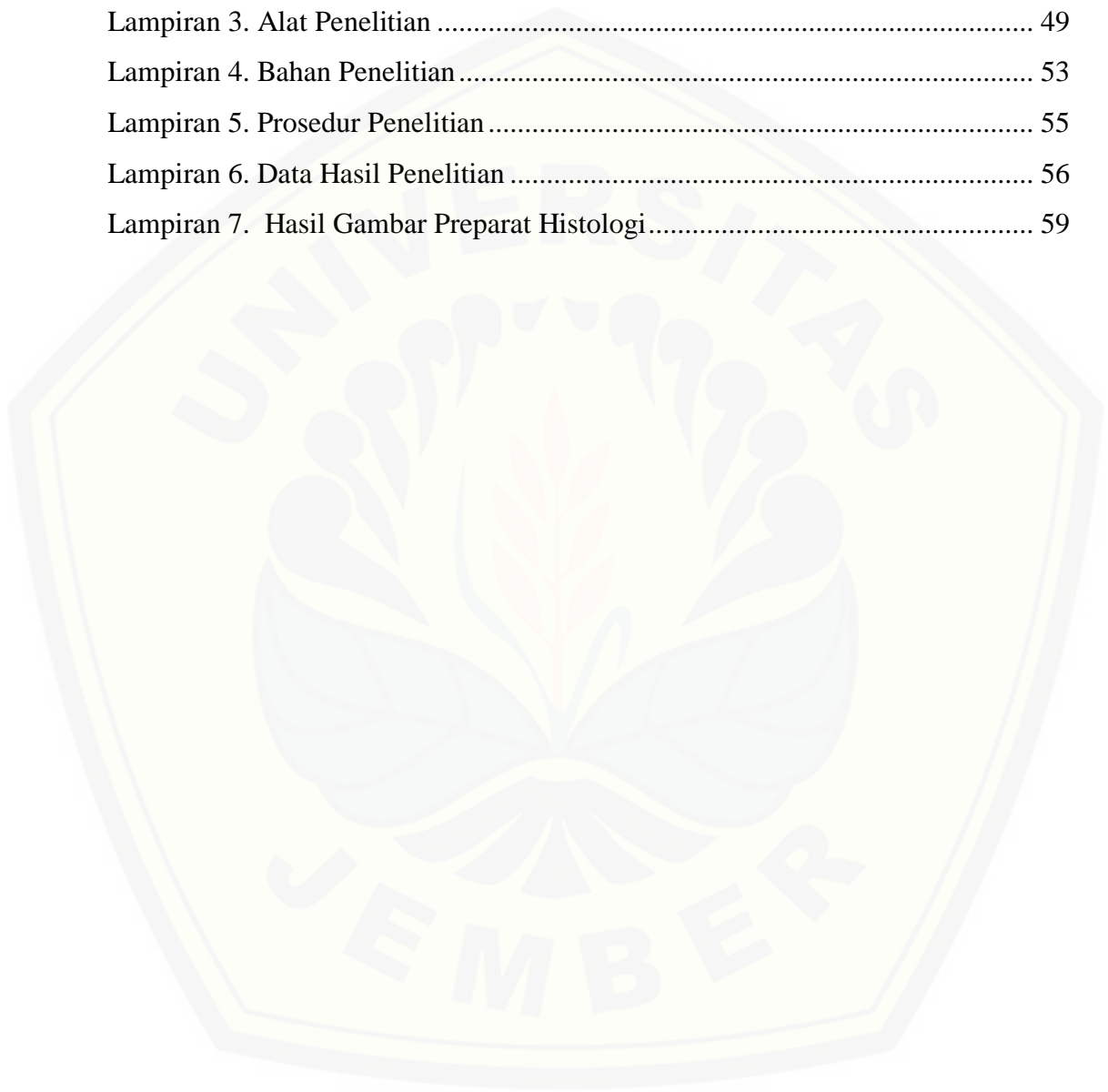


DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.Struktur Kimia Kafein	7
Gambar 2.2.Struktur Kimia Chlorogenic Acid	7
Gambar 2.3.Struktur Kimia Ferulic Acid	8
Gambar 2.4.Struktur Kimia Caffeic Acid	9
Gambar 2.5 Mekanisme kerusakan jaringan akibat bakteri	14
Gambar 4.1 Gambar Radiologi Resorpsi Tulang Alveolar	31
Gambar 4.2 Grafik Diagram Batang Rata-Rata Resorpsi Tulang Alveolar	31
Gambar 4.3 Gambar Histologi Resorpsi Tulang Alveolar	32

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. <i>Ethical Clearance</i>	45
Lampiran 2. Surat Ijin	46
Lampiran 3. Alat Penelitian	49
Lampiran 4. Bahan Penelitian	53
Lampiran 5. Prosedur Penelitian	55
Lampiran 6. Data Hasil Penelitian	56
Lampiran 7. Hasil Gambar Preparat Histologi	59



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit periodontal banyak diderita oleh manusia hampir di seluruh dunia dan mencapai 50% dari jumlah populasi dewasa. Asia dan Afrika memiliki prevalensi dan intensitas penyakit periodontal terlihat lebih tinggi daripada di Eropa, Amerika, dan Australia (Newman *et al.*, 2018). Hasil Riskesdas di Indonesia tahun 2018 menunjukkan bahwa penduduk Indonesia yang memiliki penyakit periodontitis adalah 74,1% (Kementrian Kesehatan RI, 2018).

Penyebab utama adanya penyakit periodontitis adalah mikroorganisme yang berkolonisasi di dalam plak yang menumpuk pada permukaan gigi (Nield-Gehrig and William, 2011). Bakteri gram negatif anaerob merupakan penyebab utama terjadinya periodontitis. Salah satunya yaitu Bakteri *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Tannerella denticola*, dan *Tannerella forsythia*. Bakteri tersebut dapat merusak jaringan pendukung gigi yang mengakibatkan kehilangan perlekatan antara jaringan periodontal dengan gigi dan dapat mengalami resorpsi tulang alveolar (Newman *et al.*, 2018).

Bakteri *Porphyromonas gingivalis* merupakan penyebab utama dalam terjadinya periodontitis. Asam amino dan sejumlah produk metabolit yang dihasilkannya bakteri ini bersifat racun terhadap jaringan periodontal dimana hasil dari metabolisme tersebut bersifat basa sehingga dapat menyebabkan terjadinya plak pada gigi dan selanjutnya akan terjadi periodontitis. *Porphyromonas gingivalis* dapat bertahan dan melawan pertahanan *host* dengan faktor virulensi yang dimiliki, seperti *lipopolisakarida* (LPS), reseptor membran luar yang spesifik, adhesin (*fimbriae*), dan produk ekstraselular (Mysak *et al.*, 2014).

Pengaruh faktor virulensi pada bakteri *P.gingivalis* seperti *fimbriae* dan LPS dapat menstimulasi sel *host* untuk memproduksi sitokin proinflamasi (*Tumor Necrosis Factor- α* (TNF- α), IL-1 α , IL-1 β , dan IL6) yang dapat mengganggu *remodeling* tulang alveolar dimulai dengan mampu menembus ke dalam jaringan, lalu menyebabkan peradangan dan juga berlanjut pada adanya resorpsi tulang

alveolar. Akibat adanya resorpsi tulang alveolar, gigi menjadi goyang dan mudah tanggal, yang nantinya dapat mempengaruhi estetika dan fungsi dari gigi geligi tersebut (Newman *et al.*, 2018).

Penyakit periodontitis perlu dilakukan perawatan agar tidak mengakibatkan efek yang lebih parah. Tujuan perawatan periodontitis adalah menghilangkan patogen periodontal, umumnya dilakukan secara khemis dengan obat-obatan dan secara mekanis dengan *scaling root planing* (SRP) yaitu menghilangkan deposit keras dan lunak serta bakteri yang menempel pada permukaan gigi dan dalam subgingiva, sehingga mengeliminasi bakteri. Pembersihan patogen periodontal dan produknya dengan SRP terkadang tidak maksimal karena terdapat bagian yang tidak dapat diakses oleh alat SRP, sehingga pemberian antimikroba secara sistemik per oral ataupun lokal dianjurkan untuk meningkatkan hasil terapi SRP (Andriani, 2012).

Akhir-akhir ini terdapat banyak penelitian yang berfokus pada bahan alam. Salah satu alasannya yaitu bahan alam dapat meminimalisir adanya efek samping dari penggunaan obat kimia dan kurangnya pengetahuan masyarakat tentang manfaat yang terdapat pada bahan alam (Bussmann *et al.*, 2010). Salah satu bahan alam yang digunakan yaitu kopi, selain enak untuk diminum, kopi juga berkhasiat untuk kesehatan tubuh kita, disisi lain Negara Indonesia merupakan salah satu negara yang banyak memiliki jenis kopi, diantaranya yaitu kopi robusta. Kopi robusta di Indonesia memiliki hasil produksi yang tinggi dibanding dengan produksi kopi jenis lainnya dikarenakan lahan perkebunan kopi robusta di Indonesia sangat luas, mencapai sekitar 1 juta hektar (Rahardjo, 2012). Disebutkan dalam penelitian Pratiwisari, (2016) bahwa konsumsi seduhan kopi robusta dapat menghambat inflamasi sistemik oleh karena infeksi periodontitis. Pada penelitian sebelumnya secara *in vitro* juga disebutkan bahwa kafein pada kopi dapat menghambat sitokin proinflamasi (TNF- α dan IL-6) yang mana sitokin tersebut memiliki peran untuk meresorpsi tulang alveolar (Yashin, 2010).

Berdasarkan uraian diatas, maka penulis ingin melakukan penelitian eksperimental menggunakan hewan coba untuk mengetahui pengaruh seduhan bubuk kopi robusta sebagai salah satu bahan alam yang dapat menekan adanya

penyakit periodontal yang diamati dari resorpsi tulang alveolar pada gambaran histologi.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka dapat dirumuskan permasalahan yaitu bagaimana efek konsumsi seduhan bubuk kopi robusta terhadap resorpsi tulang alveolar pada tikus wistar jantan yang diinduksi bakteri *Porphyromonas gingivalis* pada gambaran histologi?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian yang dilakukan bertujuan untuk menganalisis efek konsumsi seduhan bubuk kopi robusta terhadap resorpsi tulang alveolar pada tikus wistar jantan yang diinduksi bakteri *Porphyromonas gingivalis* pada gambaran histologi.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat :

- a. Memberikan informasi ilmiah mengenai efek konsumsi seduhan bubuk kopi robusta terhadap resorpsi tulang alveolar pada tikus wistar jantan yang diinduksi bakteri *Porphyromonas gingivalis* pada gambaran histologi.
- b. Memberikan informasi mengenai manfaat kopi robusta terhadap kesehatan.
- c. Hasil penelitian ini dapat dipakai sebagai acuan untuk penelitian yang selanjutnya.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kopi Robusta

Kopi merupakan sejenis minuman yang berasal dari proses ekstraksi dan pengolahan biji dari tanaman kopi. Kopi memiliki nama latin *Coffea sp* (Muchtadi, 2013). Tanaman kopi membutuhkan waktu kurang lebih 3 tahun dari saat perkecambahan hingga menjadi tanaman berbunga dan menghasilkan buah kopi. Buah kopi terdiri atas 4 bagian yaitu lapisan kulit luar (*exocarp*), daging buah (*mesocarp*), kulit tanduk (*parchment*), dan biji (*endosperm*) (Rahardjo, 2012).

Perkebunan kopi di Indonesia paling banyak menghasilkan tiga jenis kopi yaitu Robusta, Arabika, dan Liberika. Kopi Robusta banyak ditanam pada daerah yang memiliki tanah mineral dengan ketinggian tempat antara 300 – 900 mdpl, kopi Arabika banyak ditanam pada daerah yang memiliki tanah mineral dengan ketinggian tempat lebih dari 1.000 mdpl, serta kopi Liberika banyak ditanam pada daerah tanah gambut di lahan pasang surut dan tanah mineral dekat permukaan laut (Prastowo *et al.*, 2010).

Kopi robusta adalah kopi yang sebagian besar dibudidayakan di Indonesia sebesar 90% sisanya kopi jenis lain. Penanaman kopi di Indonesia dimulai tahun 1696 dengan menggunakan kopi jenis arabika. Namun penanaman jenis ini kurang berhasil. Oleh karena itu pada tahun 1900 dikembangkan kopi robusta untuk menggantikan kopi arabika dan tahan terhadap penyakit karat daun. (Rahardjo, 2012).

Taksonomi tanaman kopi jenis robusta yaitu:

Kingdom : *Plantae*
Sub kingdom : *Tracheobionita*
Super Divisi : *Spermatophyta*
Divisi : *Magnoliophyta*
Kelas : *Magnoliopsida*
Sub Kelas : *Astridae*

Ordo : *Rubiales*
 Famili : *Rubiaceae*
 Genus : *Coffea*
 Species : *Coffea canephora* var. *robusta* (Rahardjo,2012).

Biji kopi robusta memiliki karakteristik yang membedakan dengan biji kopi lainnya. Secara umum, biji kopi robusta memiliki rendemen yang lebih tinggi dibandingkan kopi arabika. Selain itu, karakteristik yang menonjol yaitu bijinya yang agak bulat, lengkungan bijinya yang lebih tebal dibandingkan kopi arabika, dan garis tengah dari atas ke bawah hampir rata (Panggabean 2011).

2.1.1 Komposisi dalam Kopi

Tabel 2.1 Komposisi Kimia dari Kopi Arabika dan Kopi Robusta (Farah, 2012).

Kandungan	Kopi Arabika	Kopi Robusta
Karbohidrat		
Sukrosa	4.2-tr	1.6-tr
<i>Reducing sugars</i>	0.3	0.3
Polisakarida (<i>arabinogalactan, mannan,</i> dan <i>glucan</i>)	31–33	37
lignin	3.0	3.0
pektin	2.0	2.0
Senyawa Nitrogen		
Protein	7.5–10	7.5–10
Asam Amino Bebas	-	-
Kafein	1.1–1.3	2.4–2.5
<i>Trigonelina</i>	1.2–0.2	0.7–0.3
<i>Nicotinic acid</i>	0.016–0.026	0.014–0.025
Lipid		
Minyak Kopi (<i>trigliserida</i> dengan <i>unsaponifiables</i>)	17.0	11.0
Diterpene Esters	0.9	0.2
Mineral	4.5	4.7
Acids dan esters		
<i>Chlorogenic acids</i>	1.9–2.5	3.3–3.8
<i>Aliphatic acids</i>	1.6	1.6
<i>Quinic acid</i>	0.8	1.0
<i>Melanoidins</i>	25	25

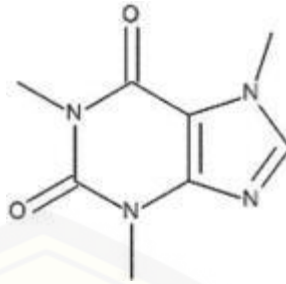
Di antara zat-zat yang ada dalam komposisi kimia kopi, hanya kafein yang termostabil, yaitu tidak dihancurkan oleh pemanggangan yang berlebihan. Zat lain seperti protein, gula, *Chlorogenic acids* (CGAs), *trigonelina*, dan lemak dapat menjadi diawetkan atau bahkan hancur dan berubah menjadi produk reaktif selama proses pemanggangan kopi (Solange *et al.*, 2011).

2.1.2 Bioaktivitas Kopi

Kopi mengandung banyak komponen biologis aktif, semisal polifenol dan alkaloid. Alkaloid yang ditemukan dalam kopi meliputi kafein, senyawa aktif paling melimpah yang ditemukan dalam seduan kopi dan telah terbukti memiliki kemungkinan efek anti-inflamasi. Sejumlah komponen lain yang ditemukan dalam kopi adalah *tanin*, *flavanols*, *flavones*, *anthocyanins*, *proanthocyanidins*, *phenolic acids*, *hydroxybenzoic acids* dan *hydroxycinnamic acids*. Senyawa lainnya merupakan senyawa golongan polifenol, polifenol dalam kopi terdiri dari *CGAs*, *Ferulic acid* dan *Caffeic acid*. Polifenol telah terbukti memiliki efek biologis yang menguntungkan bagi jantung dan gangguan metabolik, inflamasi dan kanker, stres oksidatif, iskemia serebral, obesitas dan fungsi otak (Hall *et al.*, 2015).

a. Kafein

Kafein (1,3,7-trimethylxanthine) merupakan salah satu komponen kopi yang banyak diteliti. Senyawa ini merupakan *kristal xanthine* alkaloid putih alami dibiji kopi. Telah dilaporkan bahwa konsentrasi kafein dalam kopi berkafein berkisar 29- 130 mg/cup(240 ml), sedangkan pada kopi espresso, kafein adalah berkisar 58-76 mg(35-50 ml). Penghapusan kafein dapat dilakukan pada kopi melalui proses dekafeinasi sehingga mengurangi kapasitas antioksidan dan juga menyebabkan menurunnya kandungan polifenol (Buscemi *et al.*, 2014).

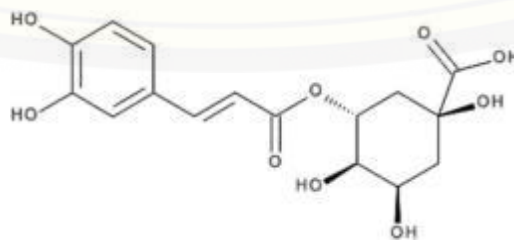


Gambar 2.1. Struktur kimia kafein (Hall *et al.*, 2015).

Penelitian telah mengevaluasi efek dari kafein dan metabolit terkait dengan inflamasi. Kafein dan salah satu metabolit utama, paraxanthine, telah ditunjukkan untuk menghambat produksi TNF- α yang dirangsang LPS. Kafein juga merupakan antioksidan kuat yang melindungi terhadap kerusakan sel yang disebabkan oleh radikal bebas dan peroksida. Penelitian telah menunjukkan bahwa kafein dan metabolitnya seperti *theobromine* dan *xanthine* melindungi terhadap produksi radikal bebas, seperti radikal hidroksil (OH), peroksil radikal (ROO) (Hall *et al.*, 2015).

b. *Chlorogenic acid*

Salah satu polifenol yang paling banyak dipelajari yang terkandung dalam kopi, salah satunya adalah CGAs yang merupakan keluarga ester asam hydroxycinnamic. Namun konsentrasi CGAs dalam kopi tetap bervariasi, kandungan CGAs pada kopi espresso bervariasi 96-111 mg per 30 ml cangkir, sedangkan kandungan CGAs dalam cangkir 130ml dapat berkisar dari 143 mg (arabika) sampai 247 mg (robusta) (Buscemi *et al.*, 2014).

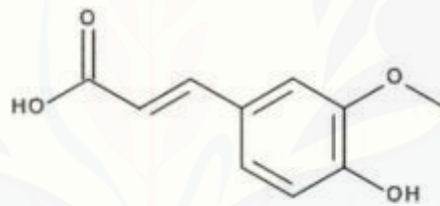


Gambar 2.2. Struktur kimia Chlorogenic acid (Hall *et al.*, 2015).

Chlorogenic acids menunjukkan sifat antioksidan yang kuat in vitro. CGAs telah terbukti mengurangi produksi sejumlah mediator proinflamasi, termasuk TNF- α , IL-1 β , IL-6 dan interferon- γ (IFN- γ) dalam sel makrofag (Hall *et al.*, 2015). CGAs juga memainkan peran sebagai faktor antitumor dengan menghambat *matrix metalloproteinase-9* (MMP-9), angiogenik enzim yang terlibat dalam genesis tumor hati manusia dan metastasis (Buscemi *et al.*, 2014).

c. *Ferulic acid*

Ferulic Acid telah terbukti memiliki banyak efek pada peradangan. Ferulic acid memicu penurunan produksi IL-1 β dan TNF- α . Selain itu ferulic acid juga dapat mempengaruhi katabolisme triptofan dalam otak sehingga berperan dapat digunakan sebagai biomarker depresi (Hall *et al.*, 2015).

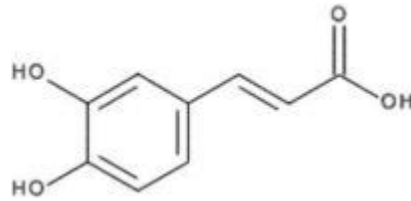


Gambar 2.3. Struktur kimia ferulic acid (Hall *et al.*, 2015).

Sejumlah penelitian telah mengungkapkan manfaat ferulic acid karena sifat antioksidan. *Ferulic acid* telah terbukti menghambat peroksidasi lipid pada tikus. Pada penelitian terhadap model sel saraf, *ferulic acid* telah terbukti memberikan perlindungan antioksidan terhadap hidroksil dan paparan radikal peroksil (Hall *et al.*, 2015).

d. *Caffeic acid*

Caffeic acid memiliki potensi sebagai antioksidan yang kuat dan antiinflamasi. Secara khusus *Caffeic acid* dapat menekan aktivasi *nuclear factor-kappa beta* (NF- κ B), yang penting dalam proses inflamasi (Hall *et al.*, 2015).



Gambar 2.4. Struktur kimia Caffeic acid (Hall *et al.*, 2015).

2.2 Tulang Alveolar

Tulang alveolar adalah bagian dari rahang atas dan rahang bawah yang membentuk dan menopang soket gigi (alveoli). Tulang alveolar terbentuk ketika gigi erupsi untuk memberikan perlekatan pada ligamen periodontal yang membentuk. Keberadaan tulang alveolar tergantung pada keberadaan gigi, ketika gigi permanen diekstraksi tulang alveolar akan resorpsi. Gigi tidak erupsi, tulang alveolar tidak berkembang (Newman *et al.*, 2015).

Matrik tulang alveolar tersusun atas 50-70% mineral, 20-40% matrik organik, 5-10% air, dan kurang dari 3% lemak. Kandungan mineral yang paling banyak terdapat di dalam tulang adalah *hidroksiapatit* $[Ca^{10}(PO_4)_6(OH)_2]$, dengan sedikit jumlah karbonat, magnesium, dan asam fosfat. *Periosteum* adalah selubung jaringan ikat fibrosa yang mengelilingi permukaan luar kortikal tulang, kecuali pada sendi dimana tulang dilapisi oleh tulang rawan artikular, berisi pembuluh darah, serabut saraf, osteoblas dan osteoklas. *Periosteum* erat melekat pada permukaan luar kortikal tulang oleh serat kolagen tebal, disebut serat Sharpeys, yang meluas ke jaringan tulang yang mendasarinya. *Endosteum* adalah struktur membran yang menutupi permukaan bagian dalam tulang kortikal, tulang trabekular dan kanal pembuluh darah (kanal *Volkman*) yang ada di dalam tulang. *Endosteum* berhubungan dengan ruang sumsum tulang, tulang trabekular dan kanal pembuluh darah dan mengandung pembuluh darah, osteoblas dan osteoklas (Sims dan Vrahnas, 2014)

Tulang alveolar terdiri dari tiga lapisan jaringan keras dan ditutupi oleh lapisan tipis jaringan ikat, diantaranya yaitu :

- 1) *Alveolar bone proper* atau *cribriform plate* adalah lapisan tipis tulang

yang melapisi soket untuk mengelilingi akar gigi. Nama lainnya yaitu lamina dura, terlihat pada gambaran radiografi.

- 2) Tulang kortikal adalah lapisan tulang padat yang membentuk dinding luar mandibula dan maksila yang keras, pada aspek fasial dan lingual. Tulang kortikal ini mengelilingi tulang alveolar dengan tepat dan memberikan dukungan pada soket.
 - i. Tulang kortikal bukal tipis di daerah gigi seri, kaninus, dan premolar, tulang kortikal lebih tebal di daerah molar
 - ii. Plat kortikal hanya pada sisi fasial dan lingual rahang, maka dari itu tidak akan muncul dalam radiografi. Hanya tulang kanselus dan *Alveolar bone proper* yang tepat dapat dilihat pada radiograf.
 - iii. *Alveolar crest* adalah bagian paling koronal dari proses alveolar. Normalnya puncak alveolar terletak 1 sampai 2 mm apikal (di bawah) CEJ. Bila dilihat dari aspek lingual atau fasial, puncak alveolar bertemu dengan gigi dalam garis (bergelombang) yang mengikuti kontur CEJ.
- 3) Tulang kanselus (atau tulang spons) adalah tulang seperti *latticel* yang mengisi bagian dalam proses alveolar (antara tulang kortikal dan *Alveolar bone proper*). Tulang kanselus diorientasikan di sekitar gigi untuk membentuk penyangga tulang alveolar yang tepat.
- 4) Periosteum adalah lapisan jaringan lunak ikat yang menutupi permukaan luar tulang; terdiri dari lapisan luar jaringan kolagen dan lapisan dalam serat elastis halus (Nield-Gehrig and William, 2011).

2.3 *Porphyromonas gingivalis*

2.3.1 Definisi

Porphyromonas gingivalis adalah bakteri gram - negatif anaerob yang terlibat dalam patogenesis periodontitis kronis, penyakit radang yang menghancurkan jaringan pendukung gigi, serta menyebabkan tanggalnya gigi. (Bostanci dan Belibasakis, 2012). Bakteri *P. gingivalis* bertahan hidup dengan

memfermentasi asam amino yang berada didalam sulkus gingiva, karena didalam sulkus gingiva sedikit atau hampir tidak ada gula untuk bakteri bertahan hidup (Kolenbrander *et al.*, 2011).

2.3.2 Klasifikasi

Klasifikasi bakteri *P. gingivalis* sebagai berikut:

Phylum : *Bacteroidetes* 9

Class : *Bacteroidetes*

Orde : *Bacteroidetes*

Family : *Porphyromonadaceae*

Genus : *Porphyromonas*

Spesies : *Porphyromonas gingivalis*

2.3.3 Faktor virulensi Porphyromonas gingivalis

Perlekatan *P. gingivalis* dibantu berbagai faktor virulensi yang berhubungan dengan destruksi jaringan dan mekanisme pertahanan terhadap inang, yang meliputi :

- a. *Fimbriae* sebagai perantara utama dalam perlekatan bakteri ke substrat yang tersedia, selain itu juga memiliki sifat kemotaktik dan induksi sitokin yang juga terlibat dalam patogenesis. *Fimbriae* pada permukaan sel bakteri sering disebut sebagai hidrofobin yang bertanggung jawab terhadap interaksi bakteri dengan sel hospes. Bakteri yang mempunyai protein dengan sifat hidrofob lebih mudah difagosit oleh sel-sel *polimorfonuklear leukosit* (Martin, 2014).
- b. Protease, terutama arginin-spesifik, yang disebut *gingipain*, dapat mendegradasi molekul inang seperti imunoglobulin, komplemen, protein seku ester hemin, hemolisin, kolagenase, dan protein jaringan ikat inang, serta berperan dalam jalur tidak langsung untuk mrnghancurkan dengan

mendegradasi inhibitor yang dihasilkan sel inang untuk mengatur protease sel inang yang terlibat dalam inflamasi (Mysak *et al.*, 2014).

- c. Kapsular polisakarida yang menghambat fagositosis oleh sel imun inang serta berperan penting dalam perlekatan sel (Pratiwi *et al.*, 2015).
- d. Lipopolisakarida (LPS) dari *P.gingivalis* menginduksi dan melepaskan sel-sel radang, seperti ROS dan dapat menyebabkan reaksi berantai dan menghasilkan senyawa radikal bebas baru (Mysak *et al.*, 2014).

2.4 Periodontitis

2.4.1 Etiologi

Penyebab utama penyakit periodontal adalah adanya mikroorganisme yang berkolonisasi di dalam plak gigi. Plak gigi adalah substansi yang terstruktur, lunak, berwarna kuning, yang melekat pada permukaan gigi. Kandungan dari plak gigi adalah berbagai jenis mikroorganisme, khususnya bakteri sisanya adalah jamur, protozoa dan virus. Plak yang mengandung mikroorganisme patogenik ini berperan penting dalam menyebabkan dan memperparah infeksi periodontal. Peningkatan jumlah mikroorganisme gram negatif di dalam plak subgingiva seperti *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Tannerella denticola*, dan *Tannerella forsythia* dapat menginisiasi infeksi periodontal (Quamilla, 2016).

2.4.2 Patogenesis Periodontitis

Periodontitis merupakan penyakit inflamasi akibat bakteri pada plak gigi. Proses ini dimulai ketika bakteri plak gigi salah satunya bakteri *p. gingivalis* memiliki faktor virulensi yang akan berdifusi ke dalam lapisan epitel gingiva. Material ini akan merangsang sel epitel untuk memproduksi mediator inflamasi seperti IL-6, IL-1 β , PGE2, dan TNF- α yang nantinya dapat mengakibatkan peningkatan resorpsi tulang alveolar (Newman *et al.*, 2018).

Bertambahnya bakteri juga berperan secara tidak langsung dalam memproduksi mediator inflamasi lebih banyak, seperti prostaglandin atau sitokin yaitu IL-1 dan TNF- α yang dapat memicu terjadinya kehilangan tulang secara akut. Peran IL-1 dan TNF- α adalah merangsang produksi enzim yang merusak

jaringan gingiva dan menyebabkan kematian fibroblast dimana fibroblas berguna untuk memperbaiki jaringan yang rusak. Pada tulang, bakteri dan produknya merangsang makrofag membentuk IL-1 atau TNF untuk meningkatkan produksi osteoklas yang meresorpsi tulang dan menyebabkan kematian osteoblas yang dapat memperbaiki tulang (Ulpe, 2011).

Pada onset awal periodontitis, telah terjadi sedikit pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) sitokin dari netrofil karena adanya aktivasi netrofil oleh bakteri, konsentrasinya semakin meningkat sejalan dengan keparahan penyakit. Bahkan pada pasien dengan *adult periodontitis*, selain terjadi peningkatan superoksid juga terjadi peningkatan pengeluaran elastase dan laktoferin dari netrofil sehingga terjadi destruksi jaringan (Sharma, 2011).

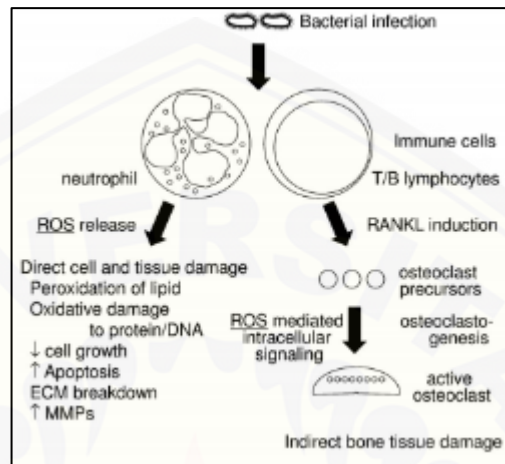
Pada pasien *Chronic* dan *Adult periodontitis*, terjadi peningkatan ROS netrofil dikarenakan adanya stimuli bakteri penyebab penyakit periodontal. Hal ini membuktikan bahwa aktivitas netrofil yang berlebihan dapat menyebabkan kerusakan jaringan secara lokal (Sharma, 2011).

2.5 Resorpsi Tulang Alveolar pada Periodontitis

Kerusakan jaringan pada periodontitis dapat disebabkan oleh toksin yang diproduksi oleh bakteri maupun oleh aktifitas sel-sel dan mediator proinflamatori yang berlebihan. Komponen struktur bakteri dapat merangsang perkembangan reaksi kekebalan *host* yang tidak hanya mampu melindungi inang terhadap infeksi tetapi juga menyebabkan kerusakan jaringan periodontal parah. Salah satu penyebab dari terjadinya periodontitis kronis adalah bakteri *P. gingivalis* (Newman *et al.* , 2018).

Bakteri *P. gingivalis* memiliki banyak faktor virulensi agar dapat masuk atau melekat dan merusak jaringan seperti *lipopolisakarida* (LPS) yang dapat merangsang pelepasan sitokin pro-inflamasi, prostaglandin, oksida nitrat, dan radikal bebas. Zat-zat kimia tersebut adalah mediator peradangan dan kebanyakan dari mereka dapat merangsang resorpsi tulang. Selain LPS ada juga gingipain yang dapat menstimulasi sel *host* untuk memproduksi sitokin proinflamasi seperti IL-1 β dan TNF- α dan ada juga fimbriae/pili yang dapat menstimulasi sel *host*

untuk memproduksi sitokin $TNF-\alpha$, $IL-1\alpha$, $IL-1\beta$, and $IL-6$ melalui reseptor *Toll like reseptor 2* (TLR2) guna medestruksi jaringan dan meresorpsi tulang (Jia *et al.*, 2019).



Gambar 2.5 Mekanisme kerusakan jaringan akibat bakteri (Kanzaki *et al.*, 2017).

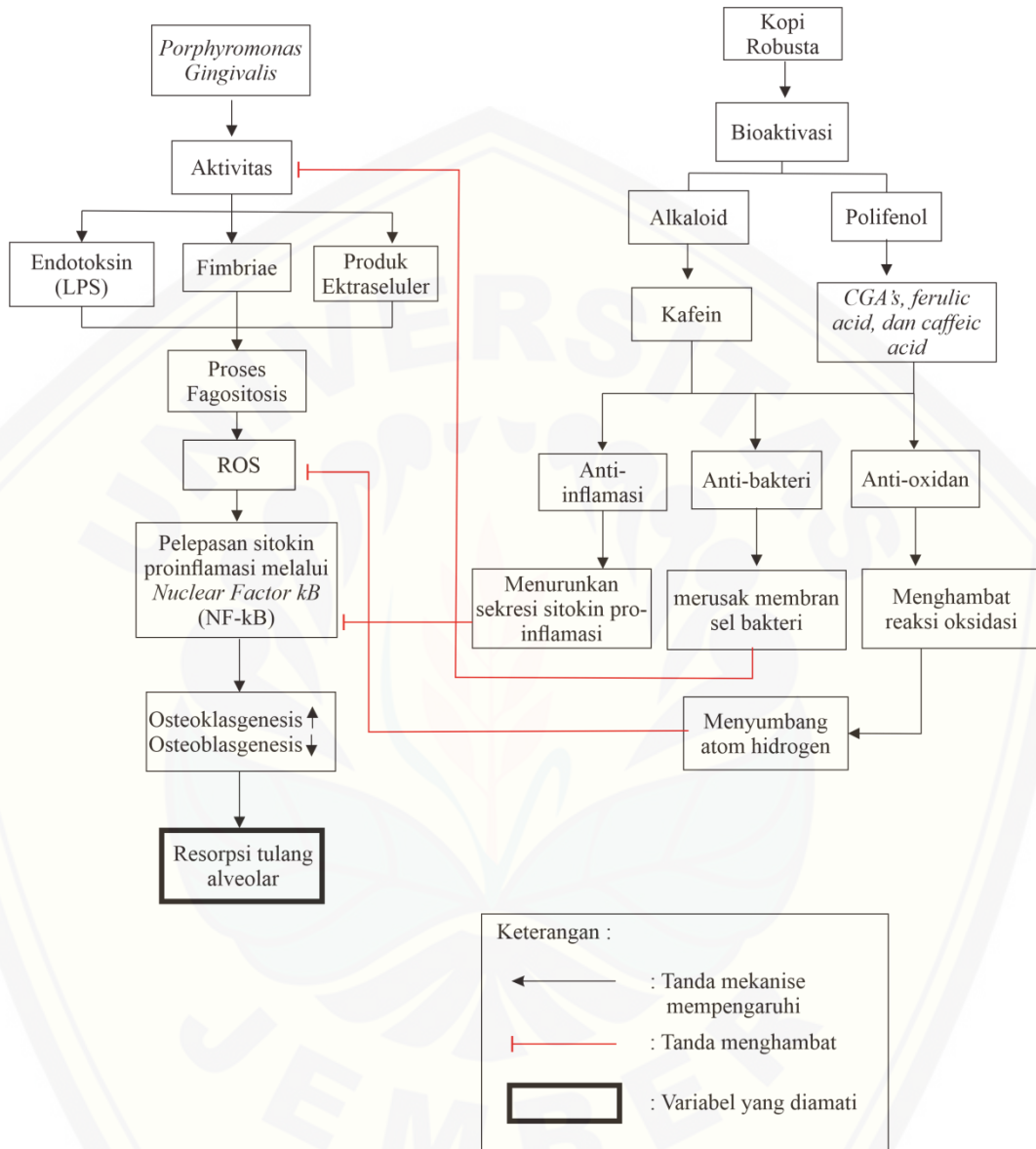
RANKL dan *macrophage-colony stimulating factor* (M-CSF) merupakan faktor-faktor utama yang terlibat dalam differensiasi osteoklas dan RANKL diekspresikan dengan diaktifkannya limfosit T. $IFN-\gamma$ memicu aktivasi sel T dan sel T mensekresi faktor-faktor osteoklastogenik RANKL dan $TNF-\alpha$. Meskipun osteoklastogenesis (proses resorpsi tulang) bisa diinduksi oleh $TNF-\alpha$ pada mekanisme dependent dan independent, $IL-1$ dan $IL-6$ berperan juga dalam resorpsi tulang melalui induksi RANKL. RANKL, yang mengikat RANK, merupakan salah satu penginduksi kuat terhadap pembentukan dan aktivitas osteoklas (Kanzaki *et al.*, 2017).

Bakteri *P. gingivalis* bertindak sebagai antigen yang menstimulasi sel-sel radang keluar dari pembuluh darah kapiler sehingga terjadi proses fagositosis. Pada saat proses fagositosis, sel-sel neutrofil dan makrofag menghasilkan *reactive oxygen species* (ROS) yang dilepaskan ke lingkungan ekstraselular. ROS tersebut tidak memiliki target yang spesifik sehingga dapat mengakibatkan kerusakan jaringan dengan melalui mekanisme kerusakan DNA, lipid peroksidase, kerusakan protein dan oksidasi enzim penting lainnya serta rangsangan dalam pelepasan sitokin proinflamatori oleh monosit dan makrofag (Dhotre *et al.*, 2012).

ROS yang dihasilkan oleh mitokondria khususnya radikal hidroksil (OH·) akan mengaktifasi jalur regulasi proses inflamasi melalui mekanisme *extracellular signal-regulated kinase* (ERK) dan selanjutnya akan mengaktifasi *produksi Nuclear Factor kB* (NF-kB) yang akan merangsang produksi sitokin proinflamasi, seperti TNF- α dan IL-6. TNF- α dan IL-6 akan meningkatkan osteoklastogenesis, menghambat apoptosis osteoklas dan menghambat aktivasi osteoblas (Dahiya *et al.*, 2014).

Peningkatan ROS menginduksi apoptosis osteoblas dan osteosit melalui aktivasi p66^{Shc} dan juga merangsang aktivitas transkripsi FoxO. Aktivasi FoxO dapat menurunkan kadar β -catenin yang merupakan faktor transkripsi *T-Cell Factor* (TCF) dan berperan pada proses osteoblastogenesis, sehingga aktivasi FoxO menghambat osteoblastogenesis. Oksidasi lipid melalui 4-HNE berkontribusi terhadap pembentukan ROS. Ekspresi *lipoxigenase* Alox15 kemudian meningkat sebagai respon peningkatan kadar ROS dan meningkatkan laju oksidasi lipid. Lipid teroksidasi yang dihasilkan kemudian mengaktifkan PPAR γ , yang juga menurunkan kadar β -catenin. Aktivasi PPAR juga menyebabkan peningkatan adipositas sumsum tulang (Almedia, 2010).

Kerangka Konsep



2.6 Penjelasan Kerangka Konsep

Bakteri *Porphyromonas gingivalis* merupakan salah satu faktor utama terjadinya penyakit periodontitis. Bakteri ini memiliki faktor virulen untuk dapat bertahan pada *host*. Faktor virulen bakteri *P. gingivalis* meliputi *lipopolisakarida* (endotoksin), *fimbriae*, dan produk ekstraseluler. Masuknya bakteri dalam jaringan dapat memicu pengaktifan neutrofil untuk memfagosit bakteri. Pada saat proses fagositosis, sel-sel neutrofil dan makrofag menghasilkan *reactive oxygen species* (ROS) yang dilepaskan ke lingkungan ekstraselular. ROS tersebut tidak memiliki target yang spesifik sehingga dapat mengakibatkan kerusakan jaringan dengan melalui mekanisme kerusakan DNA, lipid peroksidase, kerusakan protein dan oksidasi enzim penting lainnya serta rangsangan dalam pelepasan sitokin proinflamatori oleh monosit dan makrofag. ROS yang dihasilkan oleh mitokondria khususnya radikal hidroksil (OH[•]) akan mengaktifasi jalur regulasi proses inflamasi melalui mekanisme *extracellular signal-regulated kinase* (ERK) dan selanjutnya akan mengaktifasi produksi *Nuclear Factor kB* (NF-kB) yang akan merangsang produksi sitokin proinflamasi, seperti TNF- α dan IL-6. TNF- α dan IL-6 akan meningkatkan osteoklastogenesis, menghambat apoptosis osteoklas dan menghambat aktivasi osteoblas, kemudian dapat meresorpsi tulang alveolar. Untuk menekan adanya resorpsi tulang alveolar disini penulis menggunakan bahan alami yaitu kopi robusta, kopi robusta memiliki kandungan bioaktif seperti alkaloid yang meliputi kafein dan polifenol yang meliputi *CGA's*, *cafeic acid* dan *ferulic acid*. Kandungan bioaktif kopi robusta tersebut dapat menghambat terbentuknya radikal bebas karena memiliki kandungan antioksidan yang dapat menyumbangkan atom hidrogen kepada ROS dan dapat menghentikan reaksi berantai, kemudian dapat menghambat sekresi sitokin pro-inflamasi karena memiliki sifat anti-inflamasi dan dapat menghambat aktivitas bakteri karena mengandung anti-bakteri yang dapat merusak membran sel bakteri untuk bertahan hidup. Maka dari itu dilihat dari kandungannya diharapkan kopi robusta dapat menghambat terjadinya resorpsi tulang alveolar.

2.7 Hipotesis

Efek seduhan kopi robusta dapat menghambat resorpsi tulang alveolar pada tikus wistar jantan yang diinduksi bakteri *Porphyromonas gingivalis*.



BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimen laboratoris dengan rancangan *the post test only control group design*, yaitu melakukan pengamatan atau pengukuran setelah perlakuan dan hasilnya dibandingkan dengan kontrol.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

3.2.1 Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari - Maret 2020.

3.2.2 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Hewan Coba bagian biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember untuk proses perlakuan hewan coba. Pembuatan suspensi bakteri *P. gingivalis* dilaksanakan di Laboratorium *Bioscience* Rumah Sakit Gigi dan Mulut Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Pengamatan jaringan di Laboratorium Histologi bagian biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah seduhan kopi.

3.3.2 Variabel terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah resorpsi tulang alveolar.

3.3.3 Variabel terkontrol

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah :

a. Kriteria hewan coba

Hewan coba yang digunakan adalah tikus Wistar jantan dengan umur 3-4 bulan, berat badan 150-200 gram, dan kondisi fisik baik.

- b. Makanan tikus
Pakan standar tikus merek Turbo, Indonesia
- c. Minuman tikus
Air mineral merek Aqua, Indonesia
- d. Tempat dan cara pemeliharaan tikus.
Tikus di tempatkan pada kandang dengan ukuran 30x30 cm. Setiap kandang berisi 4 ekor tikus. Kandang dibersihkan secara berkala yaitu 2 kali dalam seminggu.
- e. *Porphyromonas gingivalis*
Porphyromonas gingivalis digunakan sebanyak 0,05 ml dengan konsentrasi $1,5 \times 10^8$ CFU/ml. Berdasarkan penelitian Susilawati *et al.* (2014), pemberian *P. gingivalis* setiap 3 hari sekali selama 28 hari pada bagian bukal gigi molar pertama kiri rahang bawah. Frekuensi injeksi tersebut untuk membentuk infeksi kronis pada hewan coba.
- f. Prosedur penelitian
Terdapat 2 prosedur penelitian, pertama, hanya diinjeksi bakteri *Porphyromonas gingivalis* dan kedua, diberi perlakuan injeksi bakteri *Porphyromonas gingivalis* bersamaan dengan pemberian seduhan kopi robusta.

3.4 Definisi Operasional

- a. Seduhan bubuk Kopi Robusta adalah seduhan bubuk murni biji kopi robusta yang nantinya akan dikonsumsi ke hewan coba dengan cara sondase satu kali sehari setara secangir (*single dose*) sebanyak 3,6 ml selama 14 dan 28 hari.
- b. Model tikus periodontitis adalah tikus wistar jantan yang diinjeksi dengan 0,05 mL *P.gingivalis* dengan konsentrasi 1.5×10^8 CFU/ml melalui sulkus gingiva bagian bukal gigi molar pertama kiri bawah. Pemberian *P. gingivalis* sebanyak 3 hari sekali selama 14 dan 28 hari menggunakan *tuberculline syringe* 30 gauge.

- c. Resorpsi tulang alveolar adalah berkurangnya tinggi puncak tulang alveolar dari tinggi normalnya yang dilihat melalui gambar histologi dan diukur dengan bantuan aplikasi *Image Raster* untuk mengetahui berapakah pengurangan tulang alveolar.

3.5 Obyek Penelitian

3.5.1 Kriteria Obyek Penelitian

Obyek penelitian adalah tikus putih galur wistar jantan (*Rattus norvegicus*) dengan kriteria inklusi sebagai berikut :

- a. Tikus putih (galur/strain Wistar);
- b. Jenis Kelamin jantan;
- c. Berat badan \pm 150-200 gram;
- d. Usia tikus \pm 2-3 bulan;
- e. Tikus dalam kondisi sehat.

Kriteria eksklusi dari penelitian ini sebagai berikut :

- a. Hewan coba mati selama penelitian;
- b. Hewan coba tidak sehat selama penelitian;
- c. Berat badan kurang atau melebihi kriteria.

Jika hewan coba masuk dalam kriteria eksklusi maka diganti dengan hewan coba yang sesuai dengan kriteria inklusi.

3.5.2 Besar Sampel Penelitian

Besar sampel yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 4 ekor tikus tiap kelompok perlakuan. Adapun besar sampel ditentukan berdasarkan rumus sebagai berikut (Daniel , 2005):

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

Keterangan :

- n = Besar sampel tiap kelompok
 σ = Standar deviasi sampel
d = Kesalahan yang masih dapat ditolerir
z = Nilai pada tingkat kesalahan tertentu, $z = 1,96$ (Daniel, 2005).

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

$$\frac{n \geq Z^2 \times \sigma^2}{d^2}$$
$$n \geq (1,96^2)$$
$$n \geq 4$$

Berdasarkan rumus di atas, jumlah sampel minimum yang harus digunakan adalah 4 sampel. Pada penelitian ini menggunakan 20 ekor tikus sebagai sampel yang terbagi secara acak dalam 5 kelompok dengan rincian sebagai berikut :

1. Kelompok I (4 ekor) merupakan kelompok kontrol yang tidak diberi perlakuan.
2. Kelompok II (4 ekor) merupakan kelompok yang diberi perlakuan injeksi 0,05 ml *P. gingivalis* dengan konsentrasi $1,5 \times 10^8$ CFU/ml dan didekaputasi pada hari ke-14.
3. Kelompok III (4 ekor) merupakan kelompok yang diberi perlakuan injeksi 0,05 ml *P. gingivalis* dengan konsentrasi $1,5 \times 10^8$ CFU/ml bersamaan diberikan seduhan kopi sebanyak 3,6ml dan didekaputasi pada hari ke-14.
4. Kelompok IV (4 ekor) merupakan kelompok yang diberi perlakuan injeksi 0,05 ml *P. gingivalis* dengan konsentrasi $1,5 \times 10^8$ CFU/ml dan didekaputasi pada hari ke-28.
5. Kelompok V (4 ekor) merupakan kelompok yang diberi perlakuan injeksi 0,05 ml *P. gingivalis* dengan konsentrasi $1,5 \times 10^8$ CFU/ml bersamaan diberikan seduhan kopi sebanyak 3,6ml dan didekaputasi pada hari ke-28.

3.6 Alat dan Bahan Penelitian

3.6.1 Alat Penelitian

Kandang hewan coba, Wadah pakan, Wadah minum, Timbangan digital, Pinset anatomis, Pinset *chirurgis*, Gunting, Scalpel, Sonde lambung, Pengaduk, Gelas ukur, *Water Heater*, *Rat Dental Chair*, *Plastis filling instrument* (Dentica), Pisau model kecil, Lap meja, *Object glass*, *Cover*

glass, Microtom rotary (Leica RM2135), kuas kecil (Pagoda), alat cetak parafin, *Waterbath* (Memmert), *Slide Warmer* (Tissue Tek PS-53), Rak pengecatan, Kertas saring, Mikroskop cahaya (Olympus), Kamera mikroskop (Optilab).

3.6.2 Bahan Penelitian

Kopi robusta, Tikus wistar jantan, *P.gingivalis* (Isolat Laboratorium Bioscience Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember), Pakan standar (turbo), Air minum (PDAM), Klorofom, Formalin 10%, Minyak imersi (Olympus), Aquades steril (Otsuka), *Hematoxylin Eosin*, *EDTA*, *PBS*, Xylol, Alkohol 70%, 80%, 95%, Alkohol absolut, Parafin.

5.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Tahap Persiapan Penelitian

Persiapan pertama adalah pembuatan *ethical clearance* di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

3.7.2 Persiapan Hewan coba

Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus dengan kriteria inklusi yang telah ditentukan. Sebelum perlakuan tikus ditimbang dan diadaptasi selama satu minggu. Selanjutnya hewan coba dikelompokkan menjadi 5 kelompok sesuai dengan kriteria masing-masing.

3.7.3 Persiapan Bahan Perlakuan

a. Pembuatan Seduhan Kopi

Pembuatan seduan kopi didasarkan pada dosis yang biasa digunakan untuk membuat secangkir minuman kopi, sebanyak 10 gram bubuk kopi dilarutkan dalam 200 ml aquades (Asiah *et al.*, 2017). Mula-mula aquades dididihkan (100°C) kemudian bubuk kopi dimasukkan dan diaduk-aduk selama 2 menit. Seduhan kopi didinginkan dalam suhu ruangan sampai mencapai suhu tubuh, jadilah seduhan kopi untuk manusia. Beda lagi jika dikonsumsi ke hewan coba tikus. Konversi dosis kopi pada tikus yaitu

10 gram x 0,018 = 0,18 gram/ekor. Setelah itu bubuk kopi tersebut dilarutkan dalam perbandingan:

$$10 \text{ gram}/200 \text{ ml} = 0,18 \text{ gr}/ X$$

$$X = 3,6 \text{ ml}$$

Jadi bubuk kopi sebanyak 0,18gr akan dilarutkan kedalam air mendidih sebanyak 3,6 ml.

Pemberian dosis tersebut berdasarkan aturan *single dose one cup of coffee per day* yang merupakan simulasi kebiasaan meminum satu cangkir kopi (200ml) dalam satu hari (Fatimatuzzahro dan Prasetya, 2018).

b. Pembuatan suspensi *P. gingivalis*

Porphyromonas gingivalis ditanam pada *Tryptone Soya Agar* (TSA) (Oxoid, England) yang mengandung 10% darah domba, 0,4 µl/ml vitamin K1 dan 5 µl/ml hemin, kemudian ditumbuhkan selama 14 hari pada suhu 37°C dalam inkubator anaerobik 80% N₂, 10 % H₂ dan 10% CO₂. Untuk membuat suspensi bakteri, maka bakteri disubkultur dan diinkubasi selama 3 hari. Selanjutnya, dipanen dengan ose plastik steril dan dilarutkan dalam larutan salin. Berdasarkan penelitian pendahuluan, konsentrasi *P.gingivalis* untuk periodontitis eksperimental ditentukan sebesar 1,5x10⁸ CFU/ml (Kusumawardani, 2012).

3.7.4 Pelaksanaan Penelitian

a. Injeksi *P. gingivalis*

P.gingivalis diinjeksikan untuk membuat model tikus periodontitis. *P.gingivalis* diinjeksikan pada sulkus gingiva bagian bukal gigi M1 kiri bawah 0,05 ml dengan konsentrasi 0,5 McFarland (setara 1,5x10⁸ CFU/ml). Injeksi dilakukan 3 hari sekali selama 28 hari untuk menciptakan kondisi periodontitis kronis (Fernandes *et al.*, 2010).

b. Perlakuan Seduhan Kopi Robusta

Seduhan murni kopi robusta yang dikonsumsi ke hewan coba dengan cara sondase satu kali sehari setara secangir (*single dose*) sebanyak 3,6 ml

selama 14 hari dan 28 hari.

- c. Dekaputasi hewan coba

3.7.5 Tahap Pembuatan Gambaran Radiografi

Setelah perlakuan semua selesai sesuai dengan kelompok yang sudah ditentukan, hewan coba akan dikorbankan untuk diambil rahang bawahnya, yaitu rahang bawah kiri. Aturan pengambilan jaringan yaitu dari mesial gigi insisivus sampai bagian posterior gigi m3 rahang bawah kiri tikus beserta jaringan lunak (gingiva) bagian bukal dan lingual.

Jaringan segera dimasukkan dalam larutan formalin 10% bertujuan untuk mencegah degenerasi dan autolisis pada jaringan, kemudian jaringan saat itu juga segera dilakukan foto radiologi dengan prosedur yaitu :

- a. Menyiapkan alat dan bahan;
- b. Meletakkan jaringan diatas kertas film;
- c. Tembakan sinar x dengan ketentuan KO: 70, MA: 7, S: 0,25;
- d. Meletakkan jaringan ditempatnya;
- e. Mencuci film dengan cairan developer dan fikser;
- f. Mengeringkan dan tempel pada figura.

3.7.6 Tahap Pembuatan Sediaan Histologi

Setelah dilakukan fiksasi selama 24 jam dalam formalin, selanjutnya dilakukan tahap dekalsifikasi jaringan menggunakan larutan EDTA (*disodium ethylenediaminetetra-acetat*) 10%, dengan cara jaringan diambil dari larutan fiksasi kemudian dicuci menggunakan PBS (*Phosphate Buffered Saline*), setelah itu jaringan dimasukkan dalam larutan dekalsifikasi yaitu EDTA 10% sampai jaringan lunak yang dapat dilihat dengan cara ditusuk menggunakan jarum sampai dapat menembus jaringan dan mudah dipotong. Rendaman larutan EDTA 10% diganti setiap 3 hari sekali.

Rahang bawah tikus yang telah dipotong segera dibuat sediaan histologi dengan tahap sebagai berikut:

1. Melakukan proses dehidrasi, *clearing*, dan impregnasi dengan mencelupkan jaringan ke dalam larutan seperti pada Tabel 3.1 berikut ini sesuai dengan waktu yang ditentukan.

Tabel 3.1 Prosedur Dehidrasi, *Clearing*, dan Impregnasi jaringan

Tahapan	Bulan	Waktu	Tujuan
Dehidrasi	Alkohol 70%	± 15 menit	Menarik air dari jaringan yang sudah difiksasi.
	Alkohol 80%	1 jam	
	Alkohol 95%	2 jam	
	Alkohol absolut	1 jam	
	Alkohol absolut	1 jam	
	Alkohol absolut	1 jam	
Clearing	Xylol	1 jam	Menghilangkan alkohol sebelum jaringan ditanam di parafin.
	Xylol	2 jam	
	Xylol	2 jam	
Impregnasi	Parafin cair (56 ° C - 58 °C)	2 jam	Sebagai penyangga sediaan agar dapat dilakukan penyimpanan.
	Parafin cair (56 ° C - 58 °C)	2 jam	
	Parafin cair (56 ° C - 58 °C)	2 jam	
	Parafin cair (56 ° C - 58 °C)	2 jam	

(Tim Patologi Anatomi FKG UNEJ, 2007).

2. Pembuatan blok (*embedding*)
 - a. Persiapan alat cetak dari logam berbentuk siku-siku disusun di atas permukaan kaca. Alat dan alas kaca diolesi gliserin untuk mempermudah pemisahan alat cetak dengan blok parafin yang sudah kaku.
 - b. Parafin cair dalam dua wadah, yaitu parafin untuk *embedding* dan parafin sebagai media penyesuaian temperatur yang akan ditanam.
 - c. Parafin cair pada tempat pertama dituangkan ke dalam alat cetak pertama hingga penuh pada permukaannya, lalu jaringan ditanam pada posisi yang sesuai dan bagian jaringan permukaan yang menempel

pada kaca diusahakan diratakan.

- d. Bila parafin sudah cukup keras, alat cetak dilepaskan dan blok paraffin diberi label dan siap untuk disayat. Parafin yang berlebihan dipotong dengan menyisakan 2 mm parafin dari tepi jaringan yang di blok.

3. Pemotongan jaringan menggunakan mikrotom

- a. Meletakkan jaringan dalam blok parafin. Blok bagian belakang yang harus diletakkan pada logam blok dari mikrotom.
- b. Meletakkan blok parafin pada logam pemegang blok dengan jalan memanaskan logam tersebut dan menekannya pada blok paraffin kemudian didinginkan dengan mencelupkan ke dalam air agar paraffin dapat mengeras kembali.
- c. Memasang pemegang blok pada mikrotom.
- d. Memasang pisau mikrotom pada posisinya, sebelumnya bersihkan pisau mikrotom menggunakan kassa/kertas saring yang telah dibasahi xylol dengan arah tegak lurus.
- e. Mengatur indikator yang menunjukkan ketebalan pemotongan. Ketebalan pemotongan dan penyayatan secara rutin adalah 4-6 mikron.
- f. Memindahkan hasil pemotongan berupa pita tipis dengan hati-hati ke dalam *water bath* dengan temperatur tetap 56°C-58°C menggunakan pinset kecil agar sayatan jaringan dapat mengambang dengan baik.
- g. Hasil sayatan diseleksi dan dipindahkan di atas *object glass* dan diberi label sesuai dengan label yang berada pada blok.
- h. Sediaan jaringan dibiarkan kering dengan *hotplate* pada suhu 35°C-35°C selama minimal 12 jam, lalu dilakukan pengecatan (Tim Patologi Anatomi FKG UNEJ, 2007).

4. Tahap Pengecatan

Proses pengecatan sediaan jaringan menggunakan Hematoxylin eosin (HE) dengan tahap seperti berikut (Tabel 3.2).

Tabel 3.2 Proses pengecatan Sediaan Histologis

Proses	Larutan	Waktu
Deparafinisasi	xylol	2 – 3 menit
	xylol	2 – 3 menit
Rehidrasi	Alkohol absolut	3 menit
	Alkohol absolut	3 menit
	Alkohol 95%	3 menit
	Alkohol 95%	3 menit
	Air mengalir	10 menit
Cat utama	<i>Mayer's Hematoylin</i>	15 menit
	Air mengalir	20 menit
Cat pembanding	Eosin	15 detik – 2 menit
Dehidrasi	Alkohol 95%	2 – 3 menit
	Alkohol 95%	2 – 3 menit
	Alkohol absolut	2 – 3 menit
	Alkohol absolut	2 – 3 menit
Clearing	xylol	3 menit
	xylol	3 menit
	xylol	3 menit
Mounting	Entelan	5 menit

(Tim Patologi Anatomi FKG UNEJ, 2007).

3.7.7 Tahap Pengamatan

Jaringan yang sudah diberi pewarnaan diamati dengan menggunakan mikroskop dan diambil gambarnya sesuai letak yang akan diteliti yaitu pada gigi molar 1. Untuk mengetahui resorpsi tulang alveolar menggunakan aplikasi *Image Raster*. Aplikasi *Image Raster* merupakan aplikasi bawaan dari optilab mikroskop yang dapat mengukur resorpsi tulang alveolar. Pengukurannya dengan cara menentukan CEJ pada bukal molar 1, lalu tarik garis vertikal dari CEJ ke arah

apikal sampai ke puncak tertinggi tulang alveolar, dari garis tersebut kita dapatkan hasil pengukuran besar resorpsi tulang alveolar.

3.8 Analisis Data

Data penelitian ini berupa data berskala *ratio*, dan akan disajikan dalam bentuk tabel. Uji normalitas dilakukan dengan menggunakan uji *Shapiro- Wilk*, dan uji homogenitas dengan uji *Levene* dengan nilai signifikansi 95% ($p > 0,05$). Jika data hasil penelitian terdistribusi normal dan homogen maka dapat dilakukan uji parametrik menggunakan *One way analysis of varian* (Anova) dan dilanjutkan dengan uji *Least Significance Difference* (LSD) (Sugiyono, 2012).



3.9 Alur Penelitian



BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Efek konsumsi seduhan kopi robusta dapat menghambat resorpsi tulang alveolar yang diakibatkan oleh induksi bakteri *Porphyromonas gingivalis* pada tikus wistar selama 14 hari, namun dengan perlakuan yang lebih lama selama 28 hari, efek konsumsi kopi robusta menjadi tidak bermakna.

5.2 Saran

Saran yang dapat disampaikan dari penelitian ini adalah :

1. Perlu penelitian lebih lanjut mengenai metode pemberian seduhan kopi robusta yang bersamaan dengan perlakuan induksi bakteri *P.gingivalis* tetapi menggunakan dosis yang lebih besar untuk membuktikan metode ini bisa efektif untuk menghambat resorpsi tulang alveolar dan bisa dijadikan dasar untuk penelitian selanjutnya;
2. Perlu penelitian lebih lanjut mengenai efektifitas seduhan kopi robusta terhadap kerusakan jaringan lain akibat periodontitis untuk mengetahui seberapa efektif seduhan kopi robusta dalam memperbaiki kerusakan jaringan.

DAFTAR PUSTAKA

- Almeida, D.V., da Silva Nornberg, B.F., Geracitano, L.A., Barros, D.M., Monserrat, J.M., and Marins, L.F. 2010. Induction of phase II enzymes and hsp70 genes by copper sulfate through the electrophile-responsive element (EpRE): insights obtained from a transgenic zebrafish model carrying an orthologous EpRE sequence of mammalian origin. *Fish physiology and biochemistry*. 36(3): 347-353.
- Andalusia, S. K., M. Hasan., dan D. W. Desie. 2018. Konsumsi Kopi Robusta Menurunkan Kekuatan Tulang Femur Tikus Wistar Jantan. *Jurnal Pustaka Kesehatan*. 6(3) : 398-402.
- Andriani, Ika. 2012. Efektivitas Antara Scaling Root Planing (Srp) Dengan Dan Tanpa Pemberian Ciprofloxacin Per Oral Pada Penderita Periodontitis. *IDJ*. 1(2) : 81-70
- Arif, E. M., N. Dina., dan R. A. Awang. 2010. The effect of *chlorhexidine* and *triclosan* on undisturbed plaque formation for 72 hours duration. *Dentofasial*. 9(1) : 1-6.
- Asiah, N., Septiana, F., Saptono , U., Cempaka , L; Sari, D A., 2017. Identifikasi cita rasa sajian tubruk kopi robusta cibulao pada berbagai suhu dan tingkat kehalusan penyeduhan. *Barometer*. 2(2) 52-56.
- Bascones-Martinez, A., P. Matesanz-Perez., dan M. Escribano-Bermejo. 2011. Periodontal disease and diabetes-review of the literature. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 16(6) : e722-e729.
- Bostanci, N. dan G. N. Belibasakis. 2018. *Phatogenesis of Periodontal Disease: Biological Concepts for Clinicians*. Switzerland: Springer International Publishing.
- Bussmann, R.W., A. Glenn., K. Meyer., A. Kuhlman., dan A. Townesmith. 2010. Herbal mixtures in traditional medicine in Northern Peru. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*. 6(10) : 1-6
- Dahiya, P., R. Kamal., R. Gupta., R. Bhardwaj., K. Chaudhary., dan S. Kaur. 2013. Reactive Oxygen Species in Periodontitis. *Journal of Indian Society of Periodontology*. 8(1) : 52-59
- Dhotre, Pradnya Shree, A. N. Suryakar, R. B. Bhogade. 2014. Oxidative stress in periodontitis. *European Journal of General Medicine*. 9(2):81-84
- Ermawati, T. 2015. Potensi Gel Ekstrak Biji Kopi Robusta (*C. robusta*) pada Tikus Periodontitis yang Diinduksi Porphyromnas gingivalis. Laporan

Penelitian Dosen Pemula. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

- Farah, A., 2012. *Coffee constituents*. In: Chu, Y.-F. (Ed.), *Coffee: Emerging Health Effects and Disease Prevention*. USA : IFT Press/Willey-Blackwell.
- Fatimatuzzahro N, Prasetya RC. 2018. Efek Seduhan Kopi Robusta terhadap Profil Lipid Darah dan Berat Badan Tikus yang Diinduksi Diet Tinggi Lemak. *J Kedokt Brawijaya*. 30(1):7
- Fernandes, L. A., T. M. Martins, dan J. M. D. Almeida. 2010. Eksperimental Periodontal disease treatment by subgingival irrigation with *tetracycline hydrochloride* in rats. *J Appl Oral Sci*. 18(6):635-640.
- Freedman, N., Y. Park., C. C. Abnet., A. R. Hollenbeck., dan R. Sinha. 2012. Association of coffee drinking with total and cause-specific mortality. *New England Journal of Medicine*. 167(4):228-235.
- Hall, S., B. Desbrow., dan S. A. Dukie., 2015. A Review of the Bioactivity of Coffee, Caffeine and Key Coffee Constituents on Inflammatory Responses Linked to Depression. *Food Research International*. 76(3):626-636.
- Hienz S. A., S. Paliwal., dan S. Ivanovski. 2015. Mechanisms of bone resorption in periodontitis. *J Immunol Res*. 79(8):1569-1576.
- Javed. F., M. Al-Askar., dan K. Al-Hezaimi. 2012. Cytokine profile in the gingival crevicular fluid of periodontitis patients with and without type 2 diabetes: a literature review. *J Periodontol*. 83(2):156-161.
- Jia, L., N. Han., J. Du., L. Guo., Z. Luo., dan Y. Liu. 2019. Pathogenesis of Important Virulence Factors of *Porphyromonas gingivalis* via Toll-Like Receptors. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 9: 262.
- Kanzaki H, Wada S, Narimiya T, Yamaguchi Y, Katsumata Y, Itohiya K, Fukaya S, Miyamoto Y dan Nakamura Y .2017. Pathways that Regulate ROS Scavenging Enzymes, and Their Role in Defense Against Tissue Destruction in Periodontitis. *Front. Physiol*. 8(351) : 1-8
- Kementrian Kesehatan RI. 2018. Laporan Nasional RISKESDAS 2018. Jakarta : Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan
- Kolenbrander, P. E., R. J. Palmer., S. Jr. Periasamy., dan N.S. Jakubovics. 2011. Oral multispecies biofilm development and the key role of cell-cell distance. *Nat Rev Microbiol*. 8(7):471-480.
- Kusumawardani, B. 2012. Dampak Infeksi *Porphyromonas gingivalis* Pada Jaringan Periodontal Maternal Terhadap Pertumbuhan Janin. *Disertasi*. Yogyakarta : Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada.

- Matsuzaki, E., H. Anan, N. Matsumoto, J. Hatakeyama, dan M. Minakami. 2016. Immunopathology of Apical Periodontitis and Refractory Cases. *J Tissue Sci Eng.* 7(184):1-5.
- Muchtadi, D. 2013. *Antioksidan dan Kiat Sehat di Usia Produktif*. Bandung : Penerbit Alfabeta.
- Mysak, J., S. Podzimek, P. Sommerova, P. Lyuya-Mi, J. Bartova, Janatova, T.J. Prochazkova, dan J. Duskova. 2014. Porphyromonas gingivalis: Major Periodontopathic Pathogen Overview. *Hindawi Publishing Corporation, Journal of Immunology Research.* 7: 53.
- Newman, M.G., Takei, H.I.,Klokkevold, P.R., Carranza, F.A. 2018. *Carranza's Clinical Periodontology 13thed*. The Curtis Center Independence Square West : Philadelphia.
- Nield-Gehrig, J. S, dan D. E. Willman. 2011. *Foundation of periodontics for the Dental Hygienist*. Maryland: Lippincot Williams and Wilkins.
- Notoatmodjo, S. 2014. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: PT Rineka Cipta.
- Panggabean, E. 2011. *Buku Pintar Kopi*. Jakarta: PT. Argo Media Utama.
- Pathak, L., Y. Agrawal, dan A. Dhir. 2013. Natural Polyphenols in the Management of Major Depression. *Expert Opin Investig Drugs.* 22(7):863-880.
- Prastowo, B., E. Karmawati, Rubijo, Siswanto, Indrawanto., Munarso, S. Joni. 2010. *Budidaya dan Pasca Panen Kopi*. Jakarta: PT. Agromedia Pustaka.
- Pratiwi, E. W., D Praharani, Y. M. D. Arina. 2015. Daya Hambat Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap Adhesi Bakteri *Porphyromonas gingivalis* pada Neutrofil. *e-Jurnal Pustaka Kesehatan.* 3(2) : 193-198
- Quamilla, N. 2016. Stres dan Kejadian Periodontitis. *Journal of Syiah Kuala Dentistry Society* 1(2): 161 - 168.
- Rahardjo, P. 2012. *Panduan Budidaya dan Pengolahan Kopi Arabika dan Kopi Robusta*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Rosyada, S. M. 2013. Perbedaan Pengaruh Antara Ekstrak Dan Rebusan Daun Salam (*Eugenia polyantha*) Dalam Pencegahan Peningkatan Kadar Kolesterol Total Pada Tikus Sprague Dawley. *Artikel Penelitian*. Semarang : Program Studi Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.

- Shen, W., Qi, R., Zhang, J., Wang, Z., Wang, H., Hu, C. 2012. *Chlorogenic acid inhibits LPS-induced microglial activation and improves survival of dopaminergic neurons. Brain Res Bull.* 88(5): 487-94.
- Sims, Natalie A., C. Vrahnas,. 2012. Regulation of cortical and trabecular bone mass by communication between osteoblasts, osteocytes and osteoclasts. *Arch. Biochem. Biophys.* 1-7
- Solange, I., Mussatto, Ercília, M.S., Machado, Martins, S., José, A., dan Teixeira. 2011. Production, Composition, and Application of Coffee and Its Industrial Residues. *Food Bioprocess Technol.* 4(661).
- Sugiyono. 2012. *Statistika Untuk Penelitian.* Bandung: Alfabeta.
- Sukohar, A., F. F. Setiawan, dan H. Wirakusumah., 2011, Isolasi Dan Karakterisasi Senyawa Sitotoksik Kafein Dan Asam Klorogenat Dari Biji Kopi Robusta Lampung. *Jurnal Medika Planta.* 1(4).
- Susilawati, IDA, Suryono, dan T. Ermawati 2014. Protective effect of coffee Against Coronary Atherosclerosis in Periodontitis Rat Model. *Journal of the Hongkong College of Cardiology.* 22(1).
- Tanauma, H. A. G. Citraningtyas., dan W. A. Lolo. 2016. Aktivitas antibakteri ekstrak biji robusta (*Coffea canephora*) terhadap bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Ilmiah Farmasi.* 5 (4): 243-251.
- Tim Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. 2007. *Petunjuk Praktikum Patologi Anatomi Degenerasi dan Inflamasi.* Jember. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Ulipe. 2011. *Hubungan antara Periodontitis dengan Diabetes Melitus Tipe 2 Ditinjau dari Aspek Destruksi Periodontal.* Sumatera : USU Press.
- Widyaningsih, T.D., N. Wijayanti, dan N.I.P. Nugrahini. 2017. Pangan Fungsional: *Aspek Kesehatan, Evaluasi dan Regulasi.* Malang: UB Press.
- Wilkins, E. M. 2009. *Clinical practice of the dental hygienist : dental biofilm and other soft deposit.* 10th ed. Lippincot :Williams and Wilkins.
- Xu, J. -G., Hu, Q. -P., dan Liu, Y. 2012. Antioxidant and DNA-protective activities of *chlorogenic acid* isomers. *J. Agric. Food Chem.* 60(46)
- Yashin, A., Y. Yashin, J.Y. Wang, dan B. Nemzer. 2013. Antioxidant and Antiradical Activity of Coffee. *Antioxidants Journal.* 2(4): 230–245.
- Yuanita, T., T. W. Radito., W. Agustin., dan R. Dian. 2017. Ekspresi Matriks Metalloproteinase-8 Dan Interleukin-8 Pada Kerusakan Jaringan Periapikal Akibat Induksi Bakteri *Enterococcus Faecalis* (Studi

Eksperimental Laboratoris Pada Tikus Wistar). *Conservative Dentistry Journal*. 7 (2) : 37-43.

Yustina, A. 2012. Peningkatan Jumlah Sel Osteoklas pada Keradangan Periapikal Akibat Induksi Lipopolisakarida *Porphyromonas gingivalis* (Suatu Penelitian Laboratories Menggunakan Tikus). *Jurnal Bioscience Pascasarjana*. 14(3) : 140-144.



LAMPIRAN

Lampiran 1. *Ethical Clearance*

	<p>KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN (KEPK) FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI UNIVERSITAS JEMBER (THE ETHICAL COMMITTEE OF MEDICAL RESEARCH FACULTY OF DENTISTRY UNIVERSITAS JEMBER)</p>
<p>ETHIC COMMITTEE APPROVAL <u>No.797/UN25.8/KEPK/DL/2019</u></p>	
<p>Title of research protocol : *The Effects of Consumption of Robusta Coffee Brewing on Alveolar Bones in Rats Induced by <i>Porphyromonas Gingivalis</i> Bacteria *</p>	
Document Approved	: Research Protocol
Principal Investigator	: Ghafran Nailul Farehi
Member of research	: -
Responsible Physician	: Ghafran Nailul Farehi
Date of approval	: Januari 2020- selesai
Place of research	: Laboratorium Hewan Coba FKG UNEJ
<p>The Research Ethic Committee Faculty of Dentistry Universitas Jember States That the above protocol meets the ethical principle outlined and therefore can be carried out.</p>	
<p>Jember, January 9th 2020</p>	
<p>Dean of Faculty of Dentistry Universitas Jember</p>  <p>(Dr. R. Rahardyan P. M. Kes, Sp. Pros.)</p>	<p>Chairperson of Research Ethics Committee Faculty of Dentistry Universitas Jember</p>  <p>(Dr. Ayu Ratna Dewanti, M.Si.)</p>

CamScanner

Lampiran 2. Surat Ijin



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

Nomor : 0089/UN25.8.TL/2020

Perihal : *Processing* jaringan dan pengukuran ketinggian tulang alveolar

09 JAN 2020

Kepada Yth
Ketua Bagian Biomedik
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
Di Jember

Dalam rangka pengumpulan data penelitian guna penyusunan skripsi maka, dengan hormat kami mohon bantuan dan kesediaannya untuk memberikan ijin dalam *Processing* jaringan dan pengukuran ketinggian tulang alveolar mahasiswa kami di bawah ini:

- | | | |
|----|------------------------|--|
| 1 | Nama | : Ghafran Nailul Farchi |
| 2 | NIM | : 161610101041 |
| 3 | Semester/Tahun | : VIII/2020 |
| 4 | Fakultas | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember |
| 5 | Alamat | : Jl. Mastrip 2 No. 10 Sumbarsari Jember |
| 6 | Judul Penelitian | : Efek Konsumsi Seduhan Bubuk Kopi Robusta Terhadap Tulang Alveolar Pada Tikus Yang Diinduksi Bakteri <i>Porphyromonas gingivalis</i> |
| 7 | Lokasi Penelitian | : Laboratorium Histologi, Fakultas kedokteran gigi Universitas Jember |
| 8 | Data/alat yg di pinjam | : Mikrotom, mikroskop, dan lain – lain |
| 9 | Waktu | : Maret 2020 s/d Selesai |
| 10 | Tujuan Penelitian | : Mengetahui efek konsumsi seduhan bubuk kopi robusta terhadap tulang alveolar pada tikus yang diinduksi bakteri <i>Porphyromonas gingivalis</i> |
| 11 | Dosen Pembimbing | : 1. drg. Rendra Christedy P., MDSc.
2. drg. Nadie Fatimatuzzahro, MDSc |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih





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

Nomor : ~~009~~/UN25.8.TL/2020
Perihal : Perlakuan Hewan Coba

09 JAN 2020

Kepada Yth
Ketua Bagian Biomedik
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
Di Jember

Dalam rangka pengumpulan data penelitian guna penyusunan skripsi maka, dengan hormat kami mohon bantuan dan kesediannya untuk memberikan ijin dalam perlakuan hewan coba mahasiswa kami di bawah ini:

- | | | |
|----|------------------------|---|
| 1 | Nama | : Ghafran Nailul Farchi |
| 2 | NIM | : 161610101041 |
| 3 | Semester/Tahun | : VIII/2020 |
| 4 | Fakultas | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember |
| 5 | Alamat | : Jl. Mastrip 2 No. 10 Sumbersari Jember |
| 6 | Judul Penelitian | : Efek Konsumsi Seduhan Bubuk Kopi Robusta Terhadap Tulang Alveolar Pada Tikus Yang Diinduksi Bakteri <i>Porphyromonas gingivalis</i> |
| 7 | Lokasi Penelitian | : Laboratorium Hewan Coba, Fakultas kedokteran gigi Universitas Jember |
| 8 | Data/alat yg di pinjam | : - |
| 9 | Waktu | : Januari 2020 s/d Selesai |
| 10 | Tujuan Penelitian | : Menjadikan hewan coba model periodontitis dan perlakuan konsumsi kopi robusta pada hewan coba model periodontitis tersebut. |
| 11 | Dosen Pembimbing | : 1. drg. Rendra Christedy P., MDSc.
2. drg. Nadie Fatimatuzzahro, MDSc |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih

an-Dekan
Wakil Dekan I,

Dl. drg. Murshari Novita, M.Kes., Sp.OF(K)
NIP. 196811251999032001



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

Nomor : 009/UN25.8.TL/2020
Perihal : Pembuatan Suspensi Bakteri *Porphyromonas gingivalis*

09 JAN 2020

Kepada Yth
Kepala Direktur
Rumah Sakit Gigi dan Mulut Universitas Jember
Di Jember

Dalam rangka pengumpulan data penelitian guna penyusunan skripsi maka, dengan hormat kami mohon bantuan dan kesediaannya untuk memberikan ijin dalam pembuatan suspensi bakteri *Porphyromonas gingivalis* mahasiswa kami di bawah ini:

- 1 Nama : Ghafran Nailul Farchi
- 2 NIM : 161610101041
- 3 Semester/Tahun : VIII/2020
- 4 Fakultas : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
- 5 Alamat : Jl. Mastrip 2 No. 10 Sumbersari Jember
- 6 Judul Penelitian : Efek Konsumsi Seduhan Bubuk Kopi Robusta Terhadap Tulang Alveolar Pada Tikus Yang Diinduksi Bakteri *Porphyromonas gingivalis*
- 7 Lokasi Penelitian : Laboratorium Bioscience, Rumah Sakit Gigi dan Mulut Universitas Jember
- 8 Data/alat yg di pinjam : -
- 9 Waktu : Januari 2020 s/d Selesai
- 10 Tujuan Penelitian : Mendapat bakteri *Porphyromonas gingivalis* untuk diinduksikan ke hewan coba.
- 11 Dosen Pembimbing :
 1. drg. Rendra Christedy P., MDSc.
 2. drg. Nadie Fatimatuzzahro, MDSc

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih



Lampiran 3. Alat Penelitian

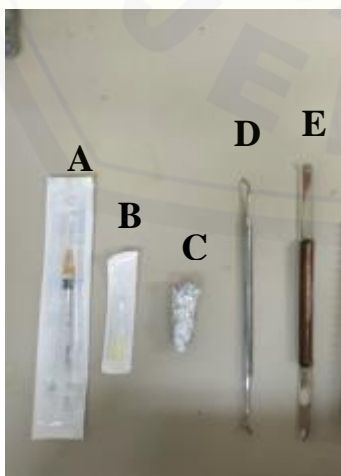
1. Alat Pemeliharaan Hewan Coba



Keterangan :

- A : Tempat makan tikus
- B : Kandang tikus
- C : Timbangan digital
- D : Tempat minum tikus

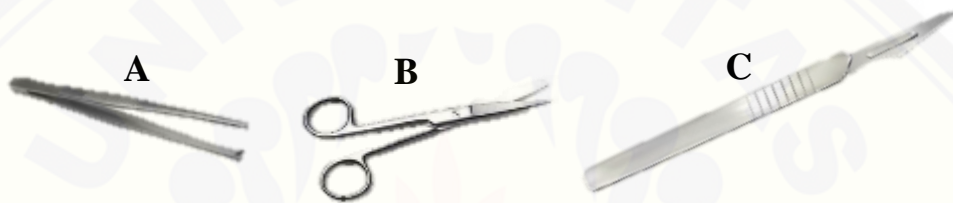
2. Alat Pemberian Seduhan Kopi Dan Injeksi bakteri *P.gingivalis*



Keterangan :

- A : Spet 3cc
- B : Jarum 30 gauge
- C : Wadah bakteri *P.gingivalis*
- D : *Plastic filling instrument* (PFI)
- E : Pisau malam
- F : Rat dental chair
- G : Sonde lambung

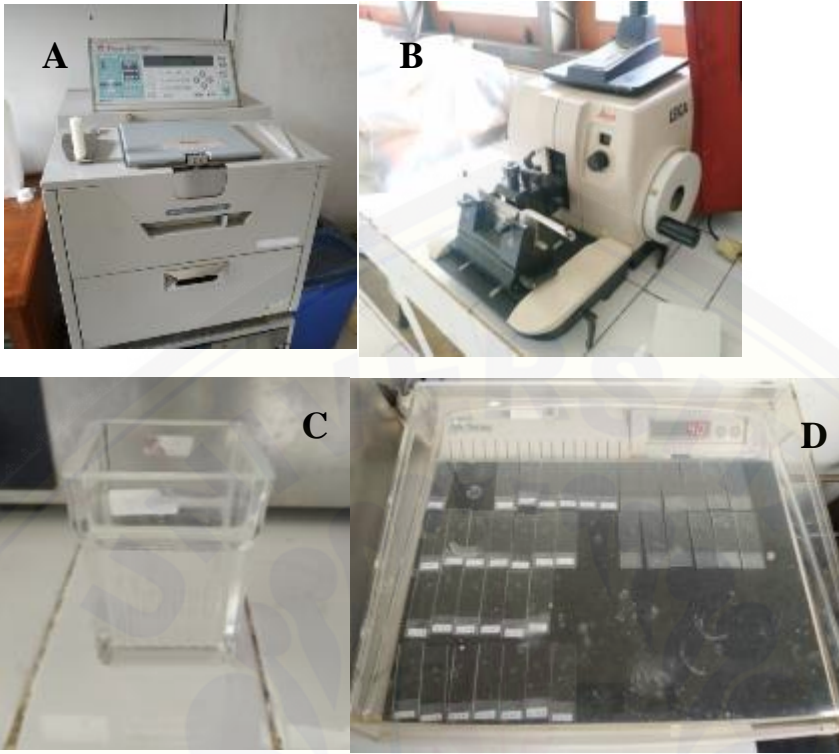
3. Alat Bedah



Keterangan :

- A : Pinset cirugis
- B : Gunting bedah
- C : Scalpel

4. Alat Proses Jaringan



Keterangan :

- A : Tissue Tek VIP 5
- B : Mikrotom
- C : Wadah pewarnaan
- D : *Slide warmer*

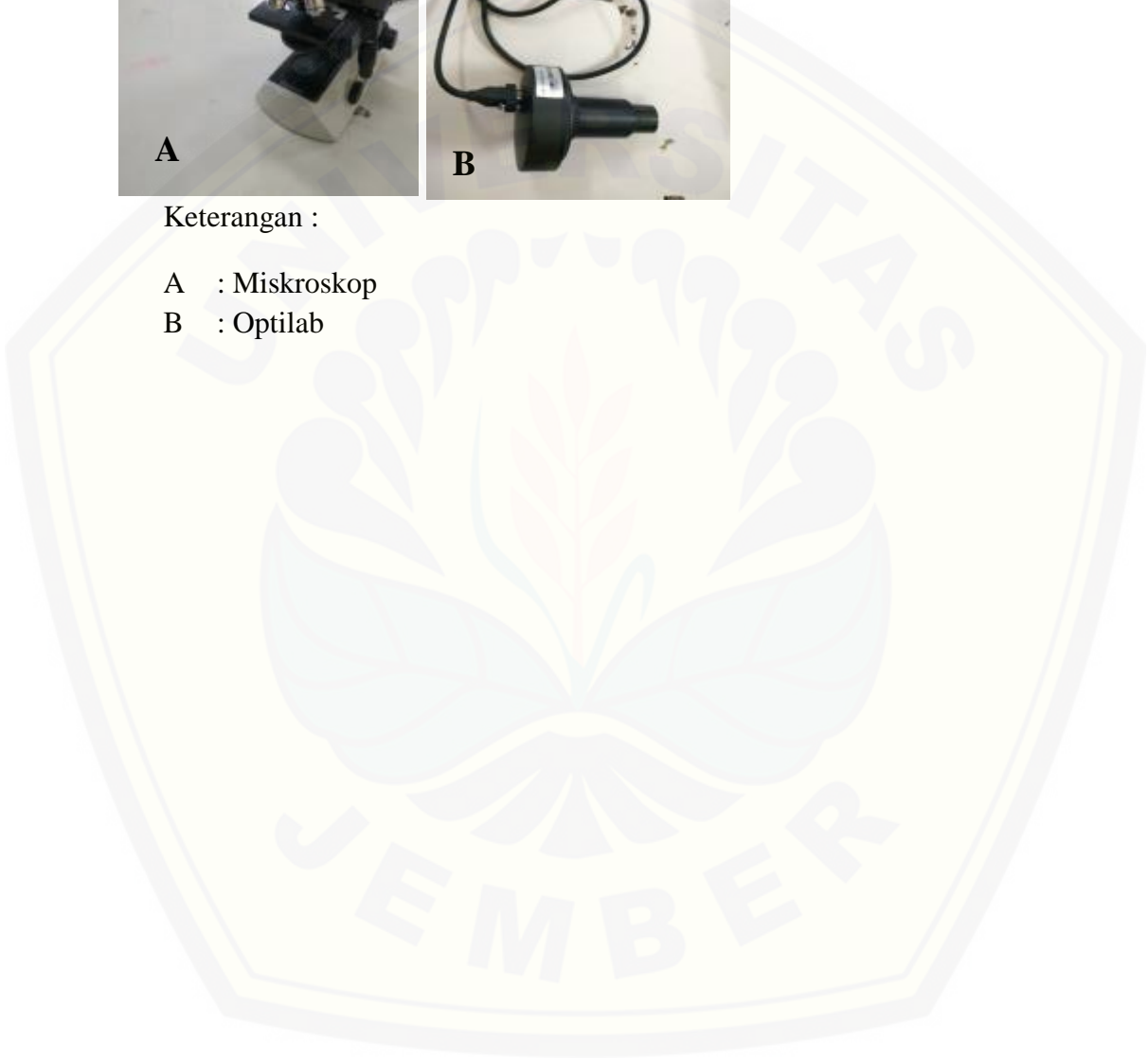
5. Alat Pengamat Jaringan



Keterangan :

A : Miskroskop

B : Optilab

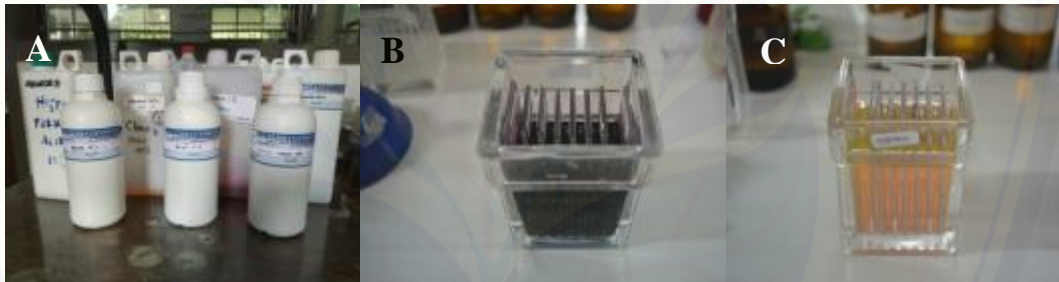


Lampiran 4. Bahan Penelitian

1. Bahan Pembuatan Seduhan Kopi (Kopi Robusta Garahan, Silo)



2. Bahan Prosesing Jaringan



Keterangan :

A : - Alkohol

- Eosin

- Aquades

B : Hematoxyline

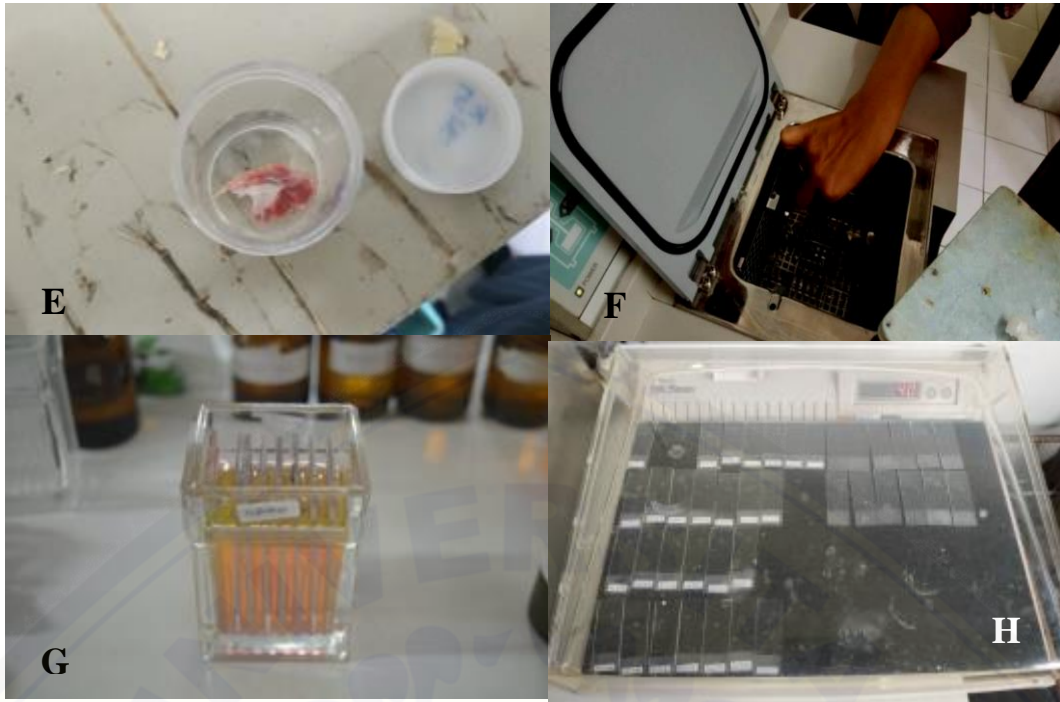
C : Xylol

Lampiran 5. Prosedur Penelitian



Keterangan :

- A : Adaptasi hewan coba
- B : Pemberian seduhan kopi robusta
- C : Injeksi bakteri *P.gingivalis*
- D : Dekaputasi rahang kiri hewan coba



Keterangan :

- E : Direndam dalam buffer formalin kemudian lanjut asam formiat
- F : Impregnasi jaringan
- G : Pewarnaan jaringan
- H : Perlekatan dengan slide warmer

Lampiran 6. Data Hasil Penelitian

Uji Normalitas

Tests of Normality							
	KELOMPOK	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
HASIL	NORMAL	.259	4	.	.848	4	.221
	PERIO 14	.267	4	.	.952	4	.727
	PERIO KOPI 14	.213	4	.	.981	4	.907
	PERIO 28	.297	4	.	.901	4	.436
	PERIO KOPI 28	.254	4	.	.844	4	.206

a. Lilliefors Significance Correction

Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

HASIL

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.358	4	15	.834

Hasil Uji Beda *One Way ANOVA*

ANOVA

HASIL

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	102296.551	4	25574.138	10.240	.000
Within Groups	37460.839	15	2497.389		
Total	139757.390	19			

Hasil Uji Lanjut *Least Significant Difference (LSD)*

Multiple Comparisons

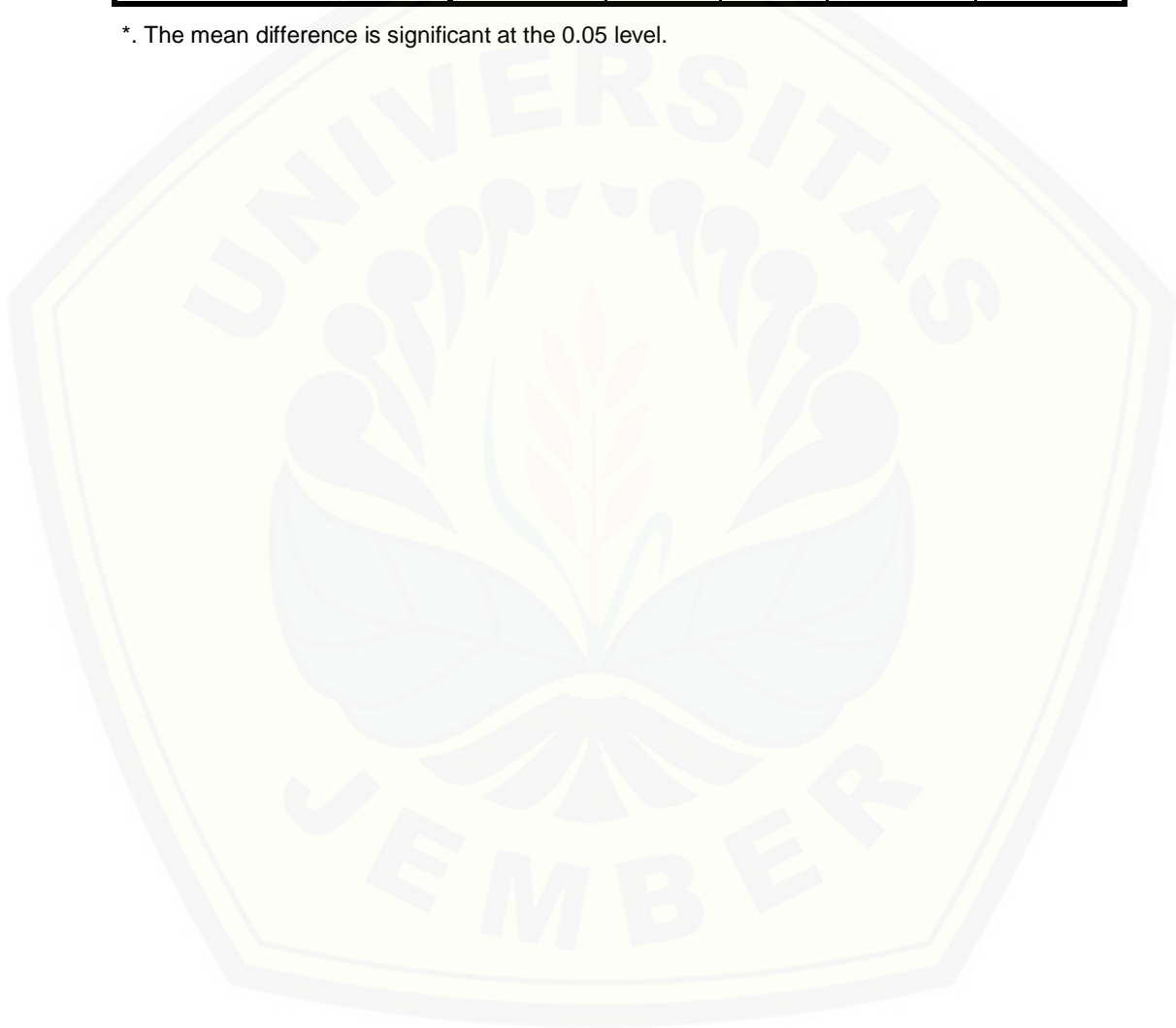
Dependent Variable: HASIL

LSD

(I) KELOMPOK	(J) KELOMPOK	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
NORMAL	PERIO 14	-95.74000*	35.33687	.016	-171.0588	-20.4212
	PERIO KOPI 14	-63.57250	35.33687	.092	-138.8913	11.7463
	PERIO 28	-211.32750*	35.33687	.000	-286.6463	-136.0087
	PERIO KOPI 28	-143.29000*	35.33687	.001	-218.6088	-67.9712
PERIO 14	NORMAL	95.74000*	35.33687	.016	20.4212	171.0588
	PERIO KOPI 14	32.16750	35.33687	.377	-43.1513	107.4863
	PERIO 28	-115.58750*	35.33687	.005	-190.9063	-40.2687
	PERIO KOPI 28	-47.55000	35.33687	.198	-122.8688	27.7688
PERIO KOPI 14	NORMAL	63.57250	35.33687	.092	-11.7463	138.8913
	PERIO 14	-32.16750	35.33687	.377	-107.4863	43.1513
	PERIO 28	-147.75500*	35.33687	.001	-223.0738	-72.4362
	PERIO KOPI 28	-79.71750*	35.33687	.039	-155.0363	-4.3987
PERIO 28	NORMAL	211.32750*	35.33687	.000	136.0087	286.6463
	PERIO 14	115.58750*	35.33687	.005	40.2687	190.9063
	PERIO KOPI 14	147.75500*	35.33687	.001	72.4362	223.0738
	PERIO KOPI 28	68.03750	35.33687	.073	-7.2813	143.3563

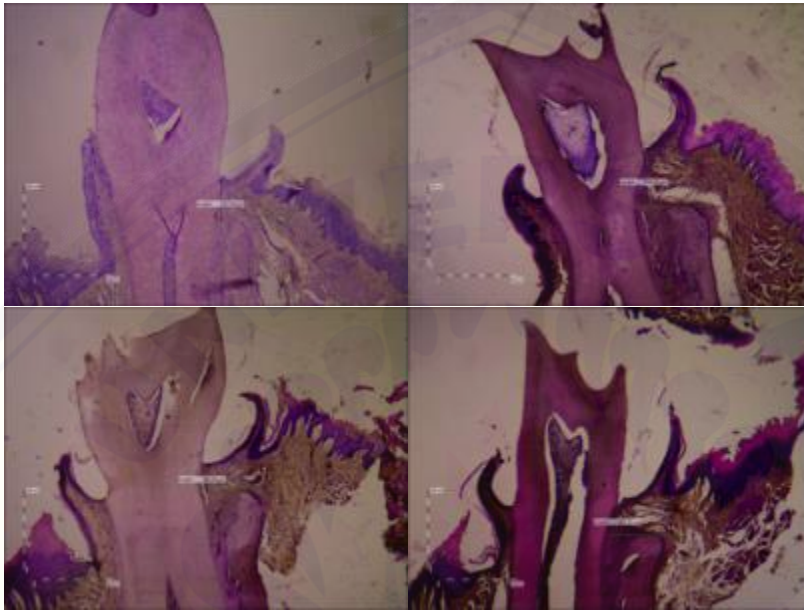
PERIO KOPI 28	NORMAL	143.29000*	35.3368 7	.001	67.9712	218.6088
	PERIO 14	47.55000	35.3368 7	.198	-27.7688	122.8688
	PERIO KOPI 14	79.71750*	35.3368 7	.039	4.3987	155.0363
	PERIO 28	-68.03750	35.3368 7	.073	-143.3563	7.2813

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

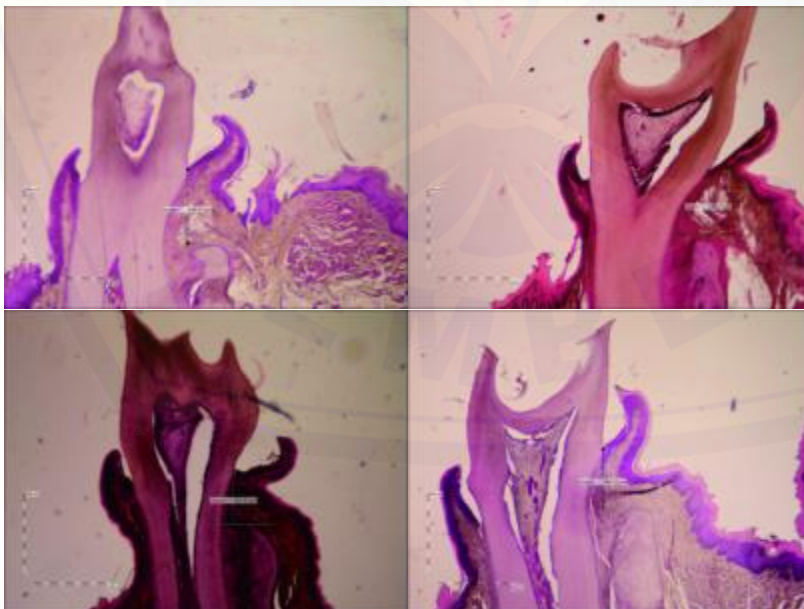


Lampiran 7. Hasil Gambar Preparat Histologi

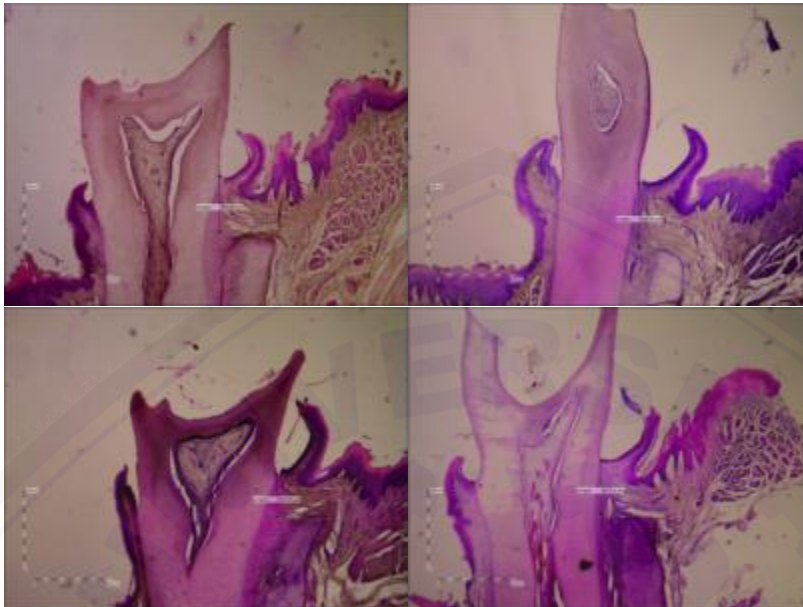
A. KELOMPOK I (Kelompok Kontrol)



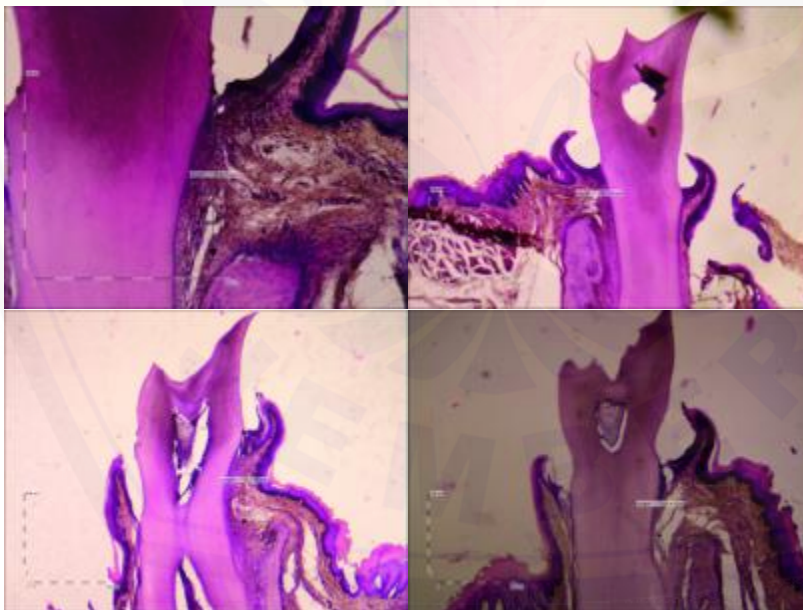
B. KELOMPOK II (Kelompok Periodontitis Hari ke-14)



C. Kelompok III (Kelompok Periodontitis Hari ke-14 + Kopi Robusta)



D. Kelompok IV (Kelompok Periodontitis Hari ke-28)



E. Kelompok V (Kelompok Periodontitis Hari ke-28 + Kopi Robusta)

