



**ANALISIS EFEK KONSUMSI SEDUHAN KOPI TERHADAP
KADAR ADRENALIN DARAH PADA MODEL TIKUS
PERIODONTITIS**

SKRIPSI

Oleh

Mochammad Fahmi

131610101026

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2017**



**ANALISIS EFEK KONSUMSI SEDUHAN KOPI TERHADAP
KADAR ADRENALIN DARAH PADA MODEL TIKUS
PERIODONTITIS**

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
Mochammad Fahmi
131610101026

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2017**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Ibu saya Mamluatul Ilmiyah dan Ayah saya Nur Huda, semoga beliau diberikan kesehatan dan segala sesuatunya menjadi berkah, beliaulah yang selalu memberi saya semangat, membesarkan saya dari kecil hingga saat ini, pendidikan, doa, dan dukungan moral maupun materiil;
2. Adik saya Fatchun Najib yang selalu mendukung hobi saya, membantu saya ketika dalam kesulitan, semoga Allah memberimu jalan hidup yang terbaik ;
3. Dosen-dosen saya yang telah mengajarkan ilmu untuk saya selama menjalani pendidikan di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember untuk kemaslahatan umat;
4. Guru-guru saya yang telah mengajarkan ilmu agama maupun dunia, semoga beliau diberi kesehatan dan keberkahan dalam hidupnya;
5. Almamater saya Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;

MOTTO

“wama kholaqtul jinna wal insa illa liya’budun”

“Dan Aku tidak menciptakan jin dan manusia melainkan agar mereka beribadah”
kepada-Ku”

(Q. S. Adh-dharyat:56)

“lainsyakartum laazidannakum walainkafartum inna ‘adabii lasyadid”

“Jika kalian bersyukur pasti akan Aku tambah ni’mat-Ku tetapi jika kalian kufur
sesungguhnya adzab-Ku amat pedih”

(Q. S. Ibrahim:7)

”fabiayyi ‘aalaa’i rabbikumaa tukadzdzibaan”

“Maka nikmat Tuhanmu yang manakah yang engkau dustakan?”

(Q. S. Ar-Rahman: 16)

*) Departemen Agama RI. 2009. Al-Qur’an Bayan. Depok. Penerbit: Bayan Qur’an

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Mochammad Fahmi

NIM : 131610101026

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul : "Analisis Efek Konsumsi Seduhan Kopi Terhadap Kadar Adrenalin Darah Pada Model Tikus Periodontitis" adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi 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 adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 11 April 2017

Yang menyatakan,

Mochammad Fahmi

NIM. 131610101026

SKRIPSI

**ANALISIS EFEK KONSUMSI SEDUHAN KOPI TERHADAP
KADAR ADRENALIN DARAH PADA MODEL TIKUS
PERIODONTITIS**

Oleh

Mochammad Fahmi

NIM. 131610101026

Pembimbing:

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

Dosen Pembimbing Pendamping : R. Rahardyan Parnaadji, drg., M.Kes., Sp.Pros.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Analisis Efek Konsumsi Seduhan Kopi Terhadap Kadar Adrenalin Darah Pada Model Tikus Periodontitis” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Gigi pada:

Hari, tanggal : 11 April 2017

Tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Penguji Ketua

Penguji Anggota

Dr. Zahreni Hamzah, drg., M.S.
NIP. 196104011985112001

Budi Yuwono, drg., M.Kes.
NIP. 196709141999031002

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping

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

R. Rahardyan P., drg., M.Kes., Sp.Pro.
NIP. 196901121996011001

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Jember

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

RINGKASAN

Analisis Efek Konsumsi Seduhan Kopi Terhadap Kadar Adrenalin Darah Pada Model Tikus Periodontitis; Mochammad Fahmi; 131610101026; 2017; 54 Halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Kopi merupakan minuman yang dikonsumsi oleh berbagai lapisan masyarakat di seluruh dunia. Konsumsi kopi menjadi perdebatan kontroversial terkait khasiatnya terhadap kesehatan. Kopi mengandung berbagai macam senyawa aktif yang mempunyai efek menguntungkan maupun merugikan bagi kesehatan, seperti kafein, asam klorogenat, dan asam kafeat. Kafein diduga menjadi kandungan kopi yang berhubungan dengan tekanan darah. Efek farmakologis kafein telah terbukti meningkatkan kewaspadaan dan kecemasan, mekanisme tersebut dinamakan "*Fight or Flight*" respons dan mengaktifkan HPA axis yang dapat memicu produksi adrenalin. Adrenalin adalah hormon alami yang dilepaskan dari medula kelenjar adrenal, senyawa ini membentuk sekitar 80% katekolamin di medula, dan tidak dibentuk di jaringan ekstraseluler. Selain itu, peningkatan tekanan darah juga dapat disebabkan oleh penyakit inflamasi. Periodontitis adalah infeksi periodontal akibat invasi bakteri Gram negatif seperti, *P. gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Fusobacterium nucleatum*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, dan *Campylobacter rectus*. Tingkat inflamasi dapat berpengaruh pada tiap tingkatan modulasi HPA axis, sehingga mempengaruhi produksi adrenalin. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis efek konsumsi kopi terhadap kadar adrenalin darah pada kondisi periodontitis.

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan obyek penelitian tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*). Parameter penelitian ini adalah kadar adrenalin darah dengan memakai uji ELISA (pg/mL). Hewan coba dibagi menjadi 4 kelompok yaitu kelompok kontrol, periodontitis, periodontitis kopi robusta, dan kopi robusta. kelompok kontrol diberi minum, pakan standart, sondase plasebo 0.6 ml/hari selama

28 hari. kelompok periodontitis yang dipapar *P. gingivalis* 0,05 ml dengan konsentrasi 2×10^9 CFU/ml pada area sulkus gingiva distobukal gigi molar pertama rahang bawah kiri dengan pengulangan injeksi tiga kali dalam seminggu selama 28 hari dan pemasangan *Wire ligature* berdiameter 0,5 mm dipasangkan pada gigi molar kiri rahang bawah. kelompok kopi robusta diberi sondase kopi robusta murni sebanyak 0,6 ml/hari (12 gram/100 mL) selama 28 hari. kelompok periodontitis kopi robusta yang dipapar *P. gingivalis* 0,05 ml dengan konsentrasi 2×10^9 CFU/ml pada area sulkus gingiva distobukal gigi molar pertama rahang bawah kiri dengan pengulangan injeksi tiga kali dalam seminggu selama 28 hari dan pemasangan *Wire ligature* berdiameter 0,5 mm dipasangkan pada gigi molar kiri rahang bawah dan seduhan kopi robusta murni sebanyak 0,6 ml/hari (12 gram/100 mL) selama 28 hari. Pada hari ke-29, seluruh sampel dikorbankan dan dilakukan pengambilan darah secara *intracardial*. Sebelum dilakukan pengukuran menggunakan metode *Sandwich ELISA*, sampel dilakukan *sentrifuge* untuk mendapatkan serum darah. Data kadar adrenalin darah didapatkan berupa hasil pembacaan *ELISA reader* kemudian data diuji statistik parametrik *One Way ANOVA* dan dilanjutkan dengan uji *Least Significant Difference (LSD)* dengan nilai signifikansi $p < 0,05$.

Hasil pengukuran kadar adrenalin darah menunjukkan data homogen dan normal. Hasil uji statistik parametrik menunjukkan bahwa tikus periodontitis yang mengkonsumsi kopi memiliki kadar adrenalin darah yang secara signifikan ($p < 0,05$) lebih tinggi dibandingkan tikus periodontitis yang tidak mengkonsumsi kopi. Kesimpulan pada penelitian ini adalah konsumsi kopi tidak meningkatkan kadar adrenalin pada kondisi periodontitis. Akan tetapi perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengingat adanya beberapa limitasi pada penelitian ini, 1) Tikus tidak dipelihara pada kandang individu (1 kandang diisi dengan 3 tikus), sehingga terdapat kemungkinan terjadi perkelaian yang dapat mengakibatkan peningkatan stres tikus yang secara langsung berpengaruh terhadap kadar adrenalin. 2) Derajat periodontitis tidak dilakukan pengukuran.

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat, karunia dan hidayahNya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Analisis Efek Konsumsi Seduhan Kopi terhadap Kadar Adrenalin Darah pada Model Tikus Periodontitis”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

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

1. R. Rahardyan Parnaadji, drg., M.Kes., Sp.Pros. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember dan pembimbing pendamping yang telah membantu, membimbing dan memberi semangat yang sangat membantu penulis dalam menyelesaikan Skripsi ini, semoga beliau selalu diberi kesehatan;
2. Dr. I Dewa Ayu Susilawati, drg., M.Kes. selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah menyempatkan waktunya membimbing penulis menyelesaikan Skripsi ini. Saya ucapkan terima kasih kepada beliau sebagai ketua Proyek Penelitian Hibah Kompetensi DRPM DIKTI tahun 2016 atas bantuannya dalam mendanai penelitian ini, semoga beliau diberi kesehatan oleh Tuhan;
3. Dr. Zahreni Hamzah, drg., M.S., selaku Dosen Penguji Ketua dan Budi Yuwono, drg., M. Kes., selaku Dosen Penguji Anggota yang telah banyak memberi masukan demi kesempurnaan skripsi ini;
4. Kiswaluyo, drg., M. Kes., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah banyak memberikan nasihat, saran, dan motivasi;
6. Ibunda tercinta Mamluatul Ilmiyah dan Ayahanda tercinta Nur Huda., yang telah membesarkan, mendidik, melatih, dan menyekolahkan saya hingga saat ini, semoga beliau selalu diberi kesehatan;
7. Adikku tercinta Fatchun Najib semoga dapat melanjutkan sekolah lebih tinggi;
8. Dhystika Zahrah Septania yang telah menemani dalam 3 tahun saya di FKG, memberi dukungan setiap harinya dalam pengerjaan Skripsi ini, semoga

Skripsinya lancar dan menemukan titik terang, maaf sudah merepotkan selama ini;

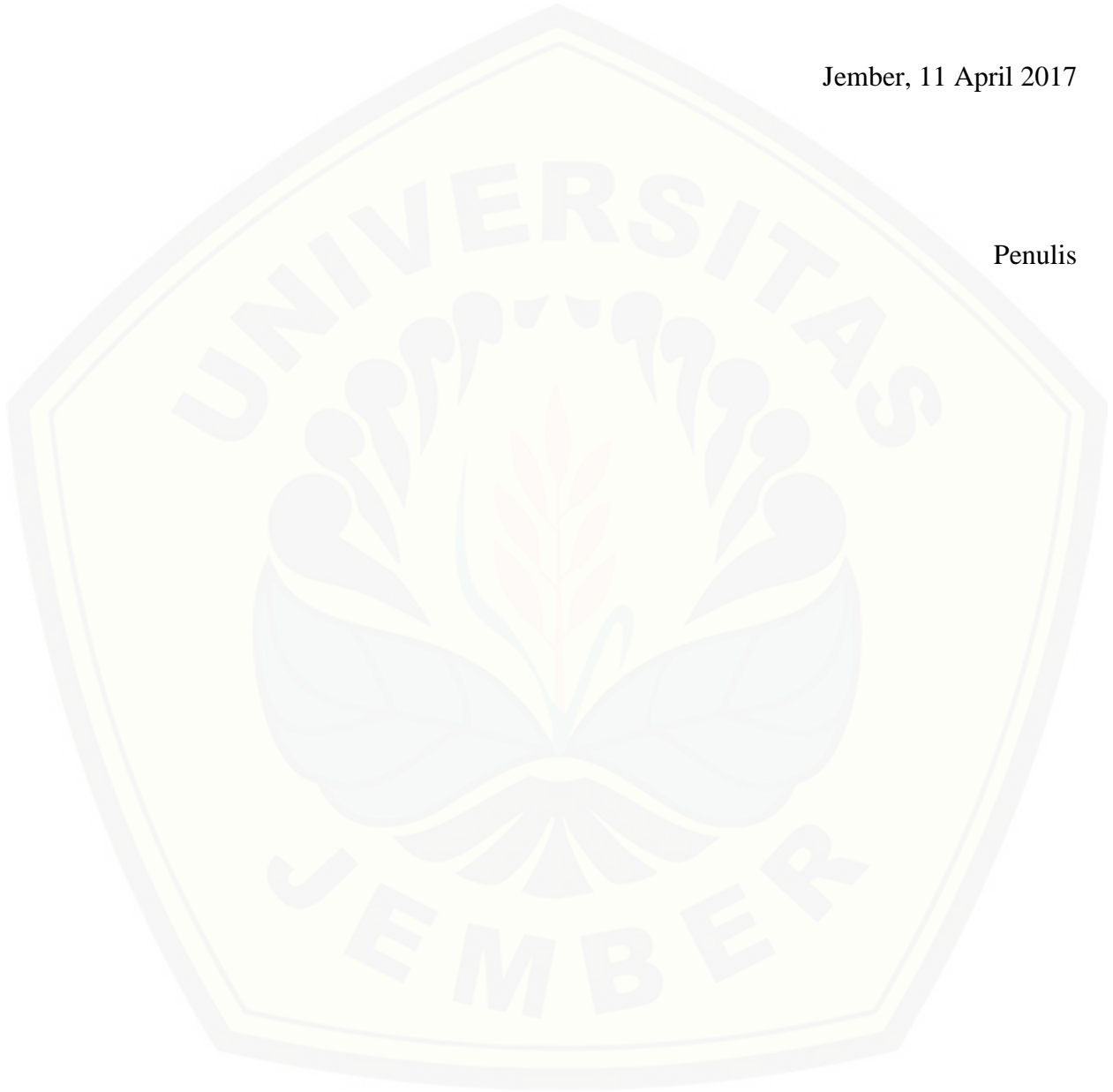
9. Teman-teman kontrakan berang-berang K4 Iman Santoso Adji, Aditya Pristyhari, Andika Sulistian yang telah belajar bersama selama 3 tahun, semoga kita bisa tetap menjadi keluarga kecil;
10. Teman-teman Pejuang Ateros, Christian Agung P, Lusi Hesti P, Natasha Destanti H, Cholida Rachmatia, dan Usnida Mubarakah yang selama ini sudah bekerjasama dalam menyelesaikan penelitian ini;
11. Mas Agus, Mas Erwan, Bu Umi, Mbak Kiki yang telah banyak membantu dalam penelitian saya sehingga dapat berjalan dengan lancar;
12. Teman-teman Lapas Stain Alvin, Ilham, Canggih, Randa, Iga, Tajul, Jerry, Reyhan, Mas Dede, Pedot, Om Gozali, Mas Angga, dan Riko.
13. Dulur-dulur UKM tercinta saya LISMA semoga kita bisa terus menjadi keluarga besar LISMA, Lisma Jaya;
14. Teman-teman grup merpati balap atnan, ilham, mas adit terima kasih telah member semangat yang sangat membantu dalam menyelesaikan Skripsi ini;
15. Teman-teman Kontrakan Pak RT, Yas'a Nuruha, Rahajeng Intan, dan Richa Arum terimakasih atas dukungan dan tumpangan wifinya sehingga memudahkan saya dalam mengerjakan skripsi ini;
16. Teman-teman seperjuangan saya di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember angkatan 2013. Terimakasih atas segala kebersamaannya. Semoga kita semua menjadi dokter gigi yang amanah dan sukses membangun bangsa sesuai slogan kita "FKG 2013 Jaya-Jaya Membangun Bangsa";
17. Teman KKN saya Tomi, Juanda, Ryan, Edgar, Ayu, Delin, Ririt, Ani, Om Bas, Dan Riska;
18. Semua pihak yang terlibat secara langsung maupun tidak langsung yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu, terima kasih kalian semua.

Penulis menyadari masih ada ketidaksempurnaan dalam penulisan skripsi ini sehingga kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan demi

kesempurnaan penulisan yang selanjutnya. Akhir kata, penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat.

Jember, 11 April 2017

Penulis



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
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. Kopi	4
2.2. Kafein	5
2.2.1. Definisi	5
2.2.2. Sumber kafein	6
2.2.3. Kafein dalam tubuh	7
2.3. Periodontitis	8
2.3.1. Etiologi	8
2.3.2. Pathogenesis	8
2.4. Adrenalin	9
2.4.1. Definisi	9
2.4.2. Sintesa Adrenalin	10

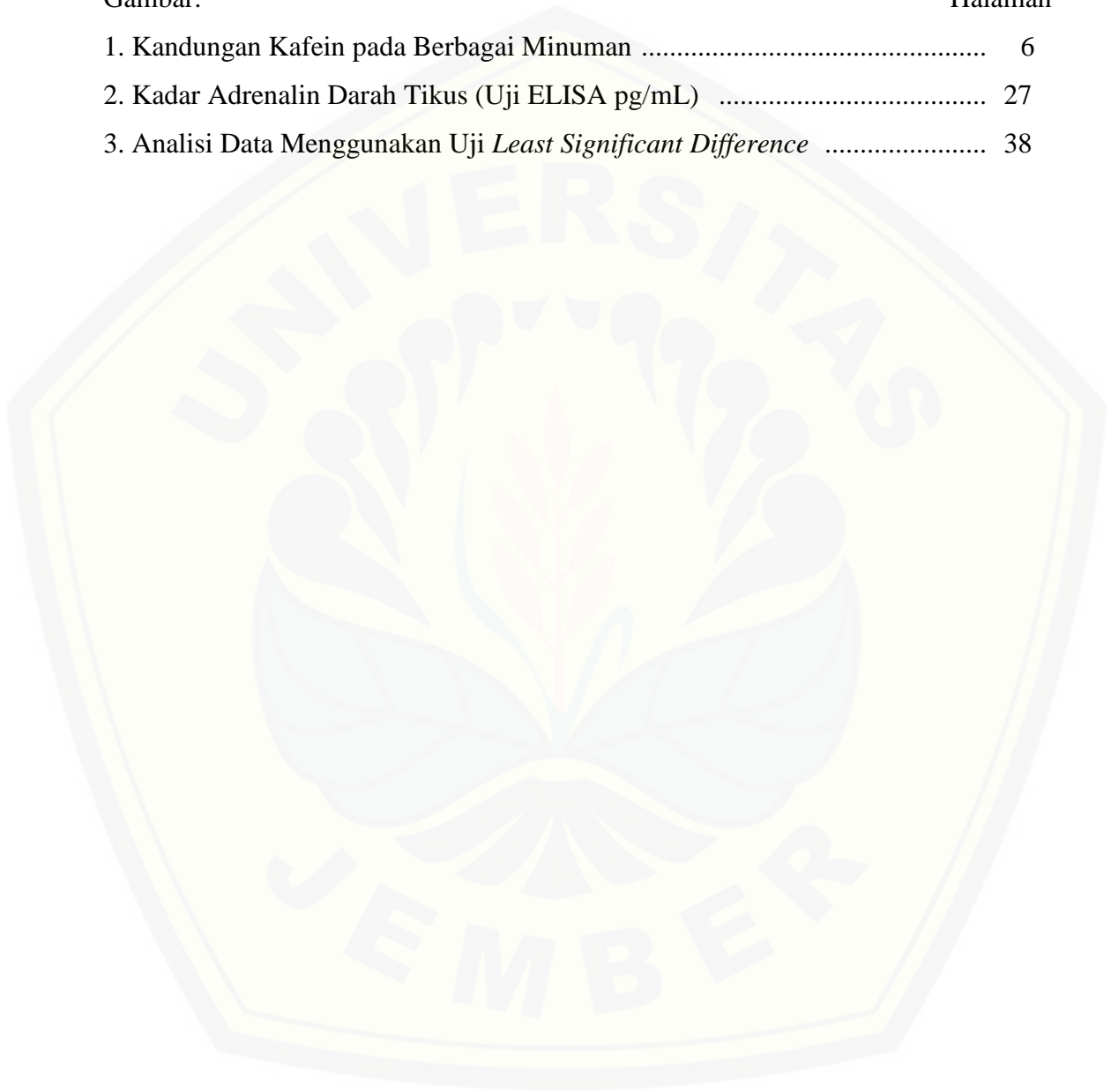
2.4.3. Farmakodinamik	12
2.4.4. Definisi ELISA	12
2.5. Hubungan Kopi, Periodontitis dan Adrenalin	13
2.6. Peta Konsep	15
2.7. Hipotesa	15
BAB 3. METODE PENELITIAN	16
3.1. Jenis Penelitian	16
3.2. Tempat Dan Waktu Penelitian	16
3.3. Obyek Penelitian	16
3.3.1. Kriteria Sampel	16
3.3.2. Kriteria Inklusi, Eksklusi, Dan <i>Drop Out</i>	16
3.3.3. Besar Sampel	17
3.4. Variabel Penelitian	18
3.4.1. Variabel Bebas	18
3.4.2. Variabel Terikat	18
3.4.3. Variabel Terkendali	18
3.5. Definisi Operasional	19
3.6. Bahan dan Alat	20
3.7. Prosedur Penelitian	20
3.8. Analisa Data	24
3.9. Alur Penelitian	25
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	26
4.1. Hasil Penelitian	26
4.2. Pembahasan	28
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	31
5.1. Kesimpulan	31
5.2. Saran	31
DAFTAR PUSTAKA	32
LAMPIRAN	38

DAFTAR GAMBAR

Gambar:	Halaman
1. Biji Kopi	5
2. Struktur Kafein	6
3. Sintesa Adrenalin	11
4. Foto Klinis Rahang Tikus	26
5. Foto Radiologis Rahang Tikus.....	26
6. Kadar Adrenalin Darah Tikus	27
7. Pemasangan <i>Wire Ligature</i>	46
8. Injeksi suspense <i>P.gingivalis</i>	46
9. Anastesi secara inhalasi menggunakan <i>Cloroform</i>	46
10. Pengambilan darah secara <i>intracardial</i>	47
11. Pengambilan Rahang Tikus	47
12. Pemeriksaan Sampel Menggunakan Uji ELISA	47
13. <i>Phorpyromonas gingivalis</i> ATCC 33277 perbesaran 400x	49

DAFTAR TABEL

Gambar:	Halaman
1. Kandungan Kafein pada Berbagai Minuman	6
2. Kadar Adrenalin Darah Tikus (Uji ELISA pg/mL)	27
3. Analisi Data Menggunakan Uji <i>Least Significant Difference</i>	38



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kopi merupakan minuman yang dikonsumsi oleh berbagai lapisan masyarakat di seluruh dunia. Pemakaian kopi sebagai minuman sangatlah luas dan menyeluruh, tidak hanya kalangan tua namun kalangan muda juga sangat menggemari minuman kopi. Konsumsi kopi menjadi perdebatan hangat terkait khasiatnya terhadap kesehatan yang masih kontroversial.

Kopi mengandung berbagai macam senyawa aktif yang mempunyai efek menguntungkan maupun merugikan bagi kesehatan, seperti kahweol, asam klorogenat, dan asam kafeat. Kahweol sebagai zat anti-inflamasi dan antioksidan yang dapat menurunkan risiko terjadinya kanker dengan mekanisme (Cardenas, 2011). Asam klorogenat terbukti menurunkan produksi mediator inflamasi seperti TNF- α , interleukin (IL)-1 β , IL-6 and interferon (IFN)- γ pada sel-sel makrofag (Shen *et al.*, 2012). Penelitian lain melaporkan, sifat anti-inflamasi asam kafeat, terbukti menurunkan konsentrasi *nitric oxide* (NO) pada sel makrofag yang stimulasi lipopolisakarida (Búfalo *et al.*, 2013). Efek negatif kopi menunjukkan bahwa terdapat hubungan antara kebiasaan minum kopi dengan peningkatan risiko terjadinya hipertensi (Lopez-Garcia *et al.* 2006; Cornelis, 2007). Penelitian lain menyebutkan bahwa konsumsi kopi terbukti memiliki efek buruk pada kolesterol, homosistein, dan tekanan darah (Cano-Marquina *et al.*, 20013; O'Keefe, *et al.*, 2013).

Kafein diduga menjadi kandungan kopi yang berhubungan dengan tekanan darah. Kenaikan tekanan darah yang terjadi setelah meminum kopi pada cangkir yang kedua atau ketiga akan lebih rendah dibandingkan saat meminum kopi pada cangkir yang pertama (James, 2004). Efek tersebut terjadi karena reseptor adenosin yang ada sudah jenuh dengan konsentrasi kafein dari kopi yang dikonsumsi pertama kali (James, 2004). Adenosin adalah nukleotida di dalam otak yang salah satunya berfungsi mengatur kondisi tidur dan terjaga. Efek farmakologis kafein telah terbukti meningkatkan kewaspadaan dan kecemasan (Smith, 2002), mekanisme tersebut

dinamakan “*Fight or Flight*” respons dan mengaktifkan HPA axis. Respon tersebut mengaktifkan saraf simpatis merangsang glandula pituitari memproduksi *Adrenocorticotrophic Hormone* (ACTH). Hormon ini berfungsi mengirimkan sinyal menuju kelenjar adrenal untuk menghasilkan hormon kortisol ke dalam darah. Banyaknya jumlah kortisol yang diproduksi dapat merangsang enzim *Feniletanolamin-N-Metil Transferase* (PNMT) mengubah norepinefrin (noreadrenalin) menjadi epinefrin (adrenalin) (Nussey, 2001).

Epinefrin adalah hormon alami yang dilepaskan dari medula kelenjar adrenal, senyawa ini membentuk sekitar 80% katekolamin di medula, dan tidak dibentuk di jaringan ekstrapituitari (Carlos *et al.*, 2003, Guyton & Hall, 2007). Epinefrin disintesis dari norepinefrin dalam sebuah jalur sintesis yang terbagi atas keseluruhan katekolamin, termasuk L-dopa, dopamin, noradrenalin, dan adrenalin (Ganong, 2005). Mekanisme pembentukan epinefrin pada penelitian melalui HPA aksis. Jalur ini melibatkan hipotalamus, kelenjar pituitary, dan kelenjar adrenal. Pada umumnya mekanisme ini dipercaya sebagai jalur peningkatan epinefrin yang berdampak ke tekanan darah. Selain itu, peningkatan tekanan darah juga dapat disebabkan oleh penyakit inflamasi.

Periodontitis adalah infeksi periodontal akibat invasi bakteri Gram negatif seperti, *P. gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Fusobacterium nucleatum*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, dan *Campylobacter rectus* (Socransky *et al.*, 2002; Sbordone *et al.*, 2003). Bakteri bakteri tersebut dapat bersirkulasi sehingga menyebabkan inflamasi sistemik dan aterosklerosis pada pembuluh darah (Panagakos *et al.*, 2011). Sel leukosit dapat menempel pada dinding pembuluh darah yang mengalami inflamasi dengan bantuan sitokin (IL-1, IL-6, IL-8, TNF α), *vascular cell adhesion molecule-1* (VCAM-1) dan *intercellular adhesion molecule-1* (ICAM-1) (Kim *et al.*, 2011). Tingkat inflamasi dapat berpengaruh pada modulasi HPA aksis, baik pada CRH di hipotalamus, ACTH di kelenjar pituitari, ataupun produksi kortisol pada kelenjar adrenal (Silvermann dan Stenberg, 2013).

Terkait efek kopi terhadap kondisi periodontitis, sampai saat ini belum banyak diteliti bagaimana mekanisme modulasinya terhadap adrenalin. Meskipun telah banyak dileliti secara eksperimental efek kopi terhadap tekanan darah, namun belum banyak yang meneliti kaitannya terhadap adrenalin. Berdasarkan uraian di atas, terdapat fenomena kopi dan periodontitis diduga meningkatkan adrenalin. Permasalahan lain yang muncul adalah bila mana pada kondisi periodontitis mengkonsumsi kopi ?

1.2 Rumusal Masalah

Berdasarkan fenomena yang ada bahwa kopi dan periodontitis diduga meningkatkan adrenalin, maka didapatkan rumusan masalah yaitu, apakah konsumsi kopi meningkatkan kadar adrenalin darah pada kondisi periodontitis?

1.3 Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis efek konsumsi kopi terhadap kadar adrenalin darah pada kondisi periodontitis.

1.4 Manfaat Penelitian

- 1.4.1 Penelitian ini diharapkan dapat meningkatkan pengetahuan tentang efek konsumsi kopi terhadap kadar adrenalin darah pada kondisi periodontitis.
- 1.4.2 Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar dalam melakukan tindakan preventif untuk menurunkan resiko terjadinya penyakit kardiovaskuler.
- 1.4.3 Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat untuk pengembangan penelitian-penelitian selanjutnya.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kopi

Sistematika tanaman kopi robusta menurut Rahardjo, (2012) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Sub kingdom	: <i>Tracheobionita</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Sub Kelas	: <i>Astridae</i>
Ordo	: <i>Rubiaceae</i>
Genus	: <i>Coffea</i>

Kopi mengandung banyak zat aktif yang berasal dari produl alam seperti polifenol dan alkaloid. Alkaloid yang berasal dari kopi terdapat kafein yang merupakan senyawa aktif paling melimpah dan terbukti memiliki efek anti-inflamasi serta imunosupresan (Daly, 2007). Kandungan-kandungan polifenol yang ditemukan pada kopi *tannins, flavanols, flavanols, flavones, anthocyanins, proanthocyanidins, phenolic acids, hydroxybenzoic acids and hydroxycinnamic acids* (Patrak, Agrawal, dan Dhir, 2013).

Asam klorogenat atau *Chlorogenic Acid* (CGA) telah terbukti memiliki efek biologis seperti antimutagen, antivirus, dan anti kanker, anti-inflamasi, antioksidan, dan *neuroprotective* (Xu *et al.*, 2012). CGA terbukti menurunkan produksi mediator inflamasi seperti TNF- α , interleukin (IL)-1 β , IL-6 and interferon (IFN)- γ pada sel-sel makrofag (Shen *et al.*, 2012). Konsentrasi CGA menjadi faktor penentu utama terhadap mediator inflamasi. Pada dosis tinggi (7 mg/kg), CGA memiliki efek yang berkebalikan yaitu meningkatkan konsentrasi mediator inflamasi diantaranya IL-6 dan TNF- α (Du *et al.*, 2013).



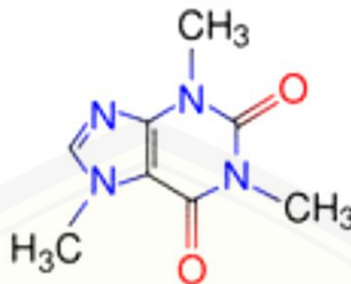
Gambar 1. Biji Kopi. (Sumber : www.vemale.com)

Asam ferulik merupakan salah satu asam fenolik terbanyak yang ada di tanaman dan dapat juga ditemukan pada tanaman dengan tinggi serat, seperti dedak jagung, terong, dan dedak gandum (Rosazza *et al.*, 1995; Kroon *et al.*, 1997; Rechner *et al.*, 2001; D'archivio *et al.*, 2007). Zat ini juga dapat ditemukan dalam kondisi bebas dan terdimerisasi atau diesterifikasi dengan protein dan polisakarida dalam dinding sel, seperti *arabinoxylans* di rumput dan *xyloglucans* di bambu (Iiyama *et al.*, 1994; Rumbold *et al.*, 2003; Fazary, Ju, 2007). Asam ferulik terbukti dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan gram negatif (*E. coli*), zat ini juga sudah tersedia dalam salah satu obat anti-inflamasi yang digunakan di bidang *Oral Medicine* (Jeong *et al.*, 2000).

2.2 Kafein

2.2.1. Definisi

Kafein adalah senyawa alkaloid turunan xantine (basa purin) yang berwujud kristal berwarna putih. Kafein bersifat psikoaktif, digunakan sebagai stimulan sistem saraf pusat dan mempercepat metabolisme (diuretik). Konsumsi kafein berguna untuk meningkatkan kewaspadaan, menghilangkan kantuk dan menaikkan mood. Overdosis



Gambar 2. Struktur Kafein (Sumber : www.silfiaemilda.blogspot.com)

kafein akut, biasanya lebih dari 300 mg per hari, dapat menyebabkan sistem saraf pusat terstimulasi secara berlebihan (Smith *et al.*, 1993).

2.2.2. Sumber Kafein

Tabel 1. Kandungan kafein pada produk makanan dan minuman

Beverage/Food	Caffeine Content [mg per standard unit of consumption]	Mean Units Consumed/ Day (\pm SD)	Proportion of Caffeine Consumed in Study Cohort
Regular coffee—8 oz	137	1.0 \pm 0.14	71%
Decaffeinated coffee—8 oz	3	0.08 \pm 0.31	0.1%
Caffeinated cola—12 oz	46	0.55 \pm 0.99	13%
Caffeine-free cola—12 oz	0	0.18 \pm 0.51	0
Black tea—8 oz	47	0.29 \pm 0.74	7%
Green tea—8 oz	30	0.25 \pm 0.66	4%
Herbal tea—8 oz	0	0.16 \pm 0.57	0
Cocoa—8 oz	6	0.06 \pm 0.24	0.2%
Caffeine-fortified drinks— 1 Can	71	0.02 \pm 0.10	0.6%
Candy chocolate bars—1 oz	7	0.21 \pm 0.31	0.7%
Caffeine pill	200	0.03 \pm 0.14	3%
Total	—		100%

(Sumber : Modi, 2011)

Kafein merupakan senyawa kimia alkaloid yang terkandung secara alami pada lebih dari 60 jenis tanaman terutama teh (1-4,8%), kopi (1-1,5%), dan biji kola(2,7-3,6%) (Misra *et al.*, 2008). Kafein terdapat dalam berbagai minuman dan makanan

yang sering dikonsumsi seperti kopi, teh, minuman kola, suplemen dan obat-obatan (Donovan & Devane, 2001).

2.2.3. Kafein dalam Tubuh

Di Amerika Serikat, kafein rata-rata dikonsumsi sebanyak 211 mg per hari dan paling banyak dikonsumsi dari minuman kopi. Kebiasaan mengonsumsi kafein dapat diklasifikasikan dalam tiga level yaitu pengonsumsi kafein tingkat rendah (kurang dari 200 mg per hari), tingkat sedang (antara 200-400 mg per hari), dan pengonsumsi kafein tingkat tinggi (lebih dari 400 mg per hari) (Weinberg, 2000).

Kafein dimetabolisme dalam hati oleh sistem enzim sitokrom P450 oksidase (khususnya isoenzim IA2) menjadi tiga *dimethylxanthines* metabolis, dimana tiap bentukannya memiliki efek yang berbeda terhadap tubuh. *Paraxanthine* (84%) memiliki efek meningkatkan lipolisis, memicu peningkatan gliserol dan asam lemak bebas dalam plasma darah. *Teobromin* (12%) memperbesar pembuluh darah serta meningkatkan volume urin. *Teobromin* juga merupakan alkaloid utama pada kakao, dan pastinya pada coklat. *Teofilin* (4%) melenturkan otot lunak pada bronkus dan biasa digunakan untuk terapi asma. Ketiganya dimetabolis dan dikeluarkan melalui urin (Nurachman, 2008).

Kafein adalah stimulan dari sistem saraf pusat dengan cara menaikkan tingkat kewaspadaan, sehingga pikiran lebih jelas dan terfokus dan koordinasi badan menjadi lebih baik. Kadar rendah kafein dalam plasma akan menurunkan denyut jantung, sebaliknya kadar kafein dan *teofilin* yang lebih tinggi menyebabkan takikardi, bahkan pada individu yang sensitif mungkin menyebabkan aritmia yang berdampak kepada kontraksi ventrikel yang prematur. Pada pembuluh darah, kafein menyebabkan dilatasi pembuluh darah termasuk pembuluh darah koroner dan pulmonal, karena efek langsung pada otot pembuluh darah. Resistensi pembuluh darah otak naik disertai pengurangan aliran darah dan PO₂ di otak, ini diduga merupakan refleksi adanya blokade adenosin oleh *Xantin* (Nurachman, 2008).

Kadar tertinggi kafein dalam plasma biasanya tercapai setelah 30-120 menit setelah asupan oral, kemudian mengalami metabolisme di hati. Setelah minum satu cangkir kopi (100 mg kafein) kadar puncak dalam plasma adalah antara 0,5-3 mg/liter sama dengan 2-15 $\mu\text{mol/liter}$ (Fredholm, *et al.*, 1999). Waktu paruh kafein antara 2-10 jam, dengan rata-rata 4-5 jam (Nurminem, *et al.*, 1999) dan akan segera dieliminasi setelah 24 jam terakhir dikonsumsi. Tidak terdapat perbedaan waktu paruh antara usia muda dan tua (Freedholm, *et al.*, 1999). Kafein memiliki waktu singkat untuk beredar di dalam tubuh. Ini berarti membutuhkan waktu sekitar 4-5 jam untuk menghilangkan efek kafein dalam tubuh. Setelah 8-10 jam, sebesar 75% kafein akan hilang (Purwanti, 2006).

2.3 Periodontitis

2.3.1. Etiologi

Periodontitis merupakan suatu penyakit peradangan jaringan pendukung gigi yang disebabkan oleh kelompok organisme tertentu sehingga mengakibatkan kerusakan progresif ligamen periodontal dan tulang alveolar, ditandai dengan pembentukan poket, resesi, atau keduanya (Susilawati, 2008). Etiologi infeksi periodontal diakibatkan invasi bakteri Gram negatif seperti, *P. gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Fusobacterium nucleatum*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, dan *Campylobacter rectus* (Socransky *et al.*, 2002; Sbordone *et al.*, 2003).

2.3.2. Patogenesis Periodontitis

Periodontitis merupakan penyakit inflamasi akibat bakteri pada plak gigi. Proses ini dimulai ketika bakteri plak gigi mengeluarkan produk LPS, yang akan berdifusi ke dalam lapisan epitel gingiva. Material ini akan merangsang sel epitel untuk memproduksi mediator inflamasi seperti IL-8, IL-1 β , PGE2, MMP dan TNF- α . Akibatnya kemokin seperti IL-8 akan merangsang kemotaksi sel leukosit keluar dari pembuluh darah menuju lokasi plak gigi. LPS dapat pula merangsang sel endotel

untuk mengeluarkan mediator guna mengaktifkan sel pada jaringan konektif yang berperan sebagai kemokin maupun sebagai mediator penyebab peningkatan permeabilitas vaskuler (Newman *et al*, 2012; Paquette, 2007; Dennison, 1997).

Peningkatan permeabilitas vaskuler menyebabkan ekstravasasi sel leukosit. Protein serum seperti komplemen, protein fase akut dan sistem plasmin akan semakin meningkatkan respon inflamasi dan mengaktifkan sel endotel untuk memproduksi mediator lebih banyak mediator seperti IL-1 akan mengaktifkan sel makrofag untuk memproduksi mediator lainnya seperti TNF- α , IL-8, IL-6, IL-10, IL-12, PGE2, MMP, IFN- γ , dan kemokin seperti MCP dan MIP. Meningkatnya level IL-8 juga menyebabkan aktivasi dan migrasi sel neutrofil ke tempat plak gigi (Dennison, 1997).

Setelah fase awal inflamasi terjadi, sel mononuklear seperti makrofag dan sel limfosit mulai infiltrasi. Sel limfosit T akan mengeluarkan produk mediator seperti IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13, TNF- α , TGF- β dan kemokin seperti MCP dan MIP. LPS mampu secara langsung mengaktifkan sel limfosit B untuk memproduksi antibodi dan merangsang sel makrofag mengeluarkan mediator seperti TGF- β , IL-1, IL-12, dan IL-10. Hasil akhir dari fase ini ialah semakin banyaknya infiltrasi sel makrofag dan limfosit disertai semakin tinggi tingkat kerusakan matrik ekstraseluler seperti kolagen (Newman *et al*, 2012; Dannison, 2007).

2.4 Adrenalin (epinefrin)

2.3.1. Definisi

Epinefrin adalah hormon alami dilepaskan dari medula kelenjar adrenal. Fungsi adrenalin adalah vasokonstriksi perifer, meningkatkan tingkat sinus node, peningkatan kontraktilitas miokardium jantung, peningkatan konduksi AV, meningkat miokard kesal, bronkodilatasi, dan vasodilatasi otot rangka. Penurunan penyerapan sistemik terkait dengan aksi lokal vasokonstriktor (adrenalin sebagai referensi) dengan merangsang α_1 reseptor dari otot polos pembuluh perifer. Konsekuensi dari tindakan ini adalah pengurangan perfusi jaringan yang mengakibatkan iskemia lokal dari jaringan (Carlos *et al.*, 2003).

2.3.2. Sintesis Adrenalin

Produk utama kelenjar adrenalin adalah adrenalin (epinefrin). Senyawa ini membentuk sekitar 80% katekolamin di medula, dan tidak dibentuk di jaringan ekstrapedula. Epinefrin merupakan salah satu dari 3 amina yang disintesis dari tirosin di sel kromafin medula adrenal. Menurut Guyton & Hall (2007), perubahan tirosin menjadi epinefrin memerlukan 4 tahap berurutan:

1. Hidroksilasi cincin

Tirosin adalah prekursor langsung katekolamin, dan tirosin hidroksilase adalah enzim penentu laju kecepatan biosintesis katekolamin. Enzim ini berfungsi sebagai suatu oksidoreduktase, dengan tetrahidropteridin sebagai kofaktor, untuk mengubah L-tirosin menjadi L-hidroksifenilalanin (L-dopa).

2. Dekarbosilasi

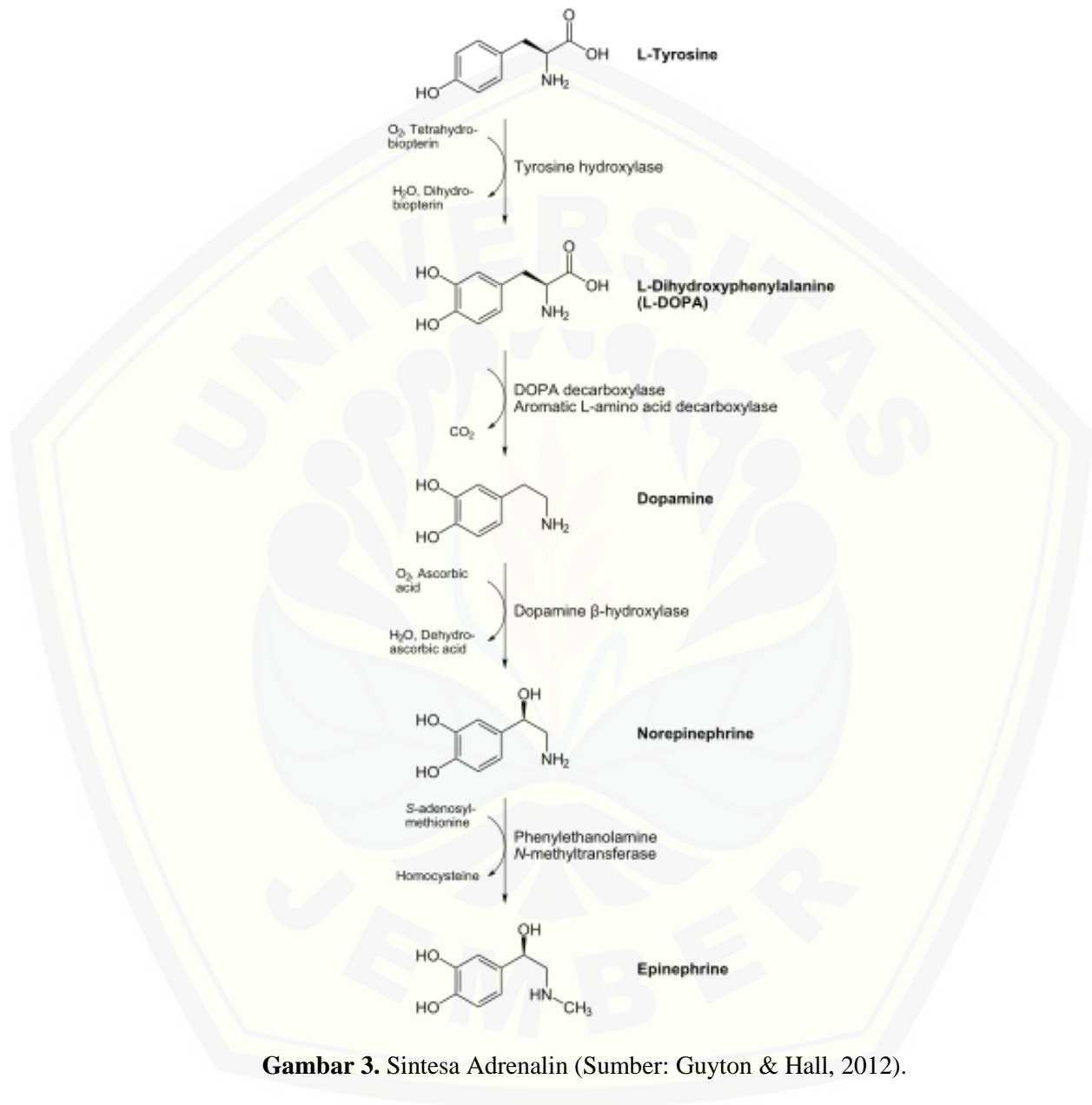
Pada tahap ini terdapat enzim dopa dekarboksilase di semua jaringan. Enzim larut ini memerlukan piridoksal fosfat untuk mengubah L-dopa menjadi 3,4-dihidroksifeniletamin(dopamin). Senyawa ini mirip L-dopa, misalnya α -Metildopa yang dapat menjadi obat untuk beberapa penyakit hipertensi.

3. Hidroksilasi rantai samping untuk membentuk norepinefrin

Dopamin β -hidroksilase (DBH) adalah suatu mono-oksigenase dan menggunakan askorbat sebagai donor elektron, tembaga sebagai tempat aktif, dan fumarat sebagai modulator. DBH berada di fraksi sel medula yang berbentuk partikel, mungkin di granula sekretorik. Oleh sebab itu, perubahan dopamin menjadi norepinefrin terjadi di organel ini.

4. N-metilasi untuk menghasilkan epinefrin

Feniletanolamin-N-Metil Transferase (PNMT) mengatalisis N-metilasi norepinefrin untuk membentuk epinefrin sel pembentuk epinefrin pada medula adrenal. Karena PNMT bersifat larut, muncul dugaan bahwa perubahan norepinefrin menjadi epinefrin berlangsung di sitoplasma. Sintesis PNMT diinduksi oleh hormon glukokortikoid yang mencapai medula melalui sistem porta intra-adrenal.



Gambar 3. Sintesa Adrenalin (Sumber: Guyton & Hall, 2012).

2.3.3. Farmakodinamik

Mekanisme kerja *epinephrine* dibagi berdasarkan tempat kerja, yaitu pada sistem kardiovaskular dan sistem pernapasan. Pada kardiovaskular *epinephrine* dapat

memperkuat dan mempercepat daya kontraksi otot jantung (*myocard*) yang akan menyebabkan curah jantung meningkat sehingga mempengaruhi kebutuhan efek oksigen dari otot jantung. Kerja lain dari *epinephrine* adalah mendilatasi pembuluh darah ke hati dan otot rangka. Oleh karena itu, efek kumulatif *epinephrine* adalah meningkatkan tekanan sistolik dan menurunkan tekanan diastolik (Hoffman, 2012). Pada sistem pernapasan, *epinephrine* bekerja pada otot polos bronkus yang mengandung reseptor Beta-2 sehingga menyebabkan relaksasi (bronkodilatasi) (Hoffman, 2012).

2.3.4. ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorben Assay*)

ELISA adalah suatu metode uji serologis untuk menganalisa adanya interaksi antigen dengan antibodi di dalam suatu sampel dengan menggunakan enzim sebagai pelapor (*reported label*) (Lequin, 2005). Prinsip kerja ELISA yaitu, Pertama antigen atau antibodi yang hendak diuji ditempelkan pada suatu permukaan yang berupa microtiter. Penempelan tersebut dapat dilakukan melalui dua cara, yaitu penempelan secara non spesifik dengan adsorbs ke permukaan microtiter, dan penempelan secara spesifik dengan menggunakan antibody atau antigen lain yang bersifat spesifik dengan antigen atau antibodi yang diuji (cara ini digunakan pada teknik ELISA sandwich). Selanjutnya antibodi atau antigen spesifik yang telah ditautkan dengan suatu enzim signal (disesuaikan dengan sampel => bila sampel berupa antigen, maka digunakan antibodi spesifik, sedangkan bila sampel berupa antibodi, maka digunakan antigen spesifik) dicampurkan ke atas permukaan tersebut, sehingga dapat terjadi interaksi antara antibodi dengan antigen yang bersesuaian. Kemudian ke atas permukaan tersebut dicampurkan suatu substrat yang dapat bereaksi dengan enzim signal. Pada saat substrat tersebut dicampurkan ke permukaan, enzim yang bertaut dengan antibodi atau antigen spesifik yang berinteraksi dengan antibodi atau antigen sampel akan bereaksi dengan substrat dan menimbulkan suatu signal yang dapat dideteksi. Pada ELISA fluorescence misalnya, enzim yang tertaut dengan antibodi

atau antigen spesifik akan bereaksi dengan substrat dan menimbulkan signal yang berupa pendaran fluorescence.

Kit ELISA ini menggunakan metode Competitive-ELISA. Pelat mikrotiter yang disediakan dalam kit ini telah dilapisi dengan EPI (Epinefrin/Adrenalin). Selama reaksi, EPI dalam sampel atau standar bersaing dengan sejumlah EPI yang tetap pada setiap bagian pendukung fase padat Deteksi Biotinilasi Ab khusus untuk EPI. Kelebihan sampel dan standar konjugasi dan tak terikat dicuci dari piring, dan Avidin dikonjugasikan ke Horseradish Peroxidase (HRP) ditambahkan ke setiap lempeng lempeng sumur dan diinkubasi. Kemudian larutan substrat TMB ditambahkan ke masing-masing sumur. Reaksi enzim-substrat diakhiri dengan penambahan larutan asam sulfat dan perubahan warna diukur secara spektrofotometri pada panjang gelombang $450 \text{ nm} \pm 2 \text{ nm}$. Konsentrasi EPI dalam sampel kemudian ditentukan dengan membandingkan sampel OD dengan kurva standar. Hasil diukur dalam satuan pg/mL

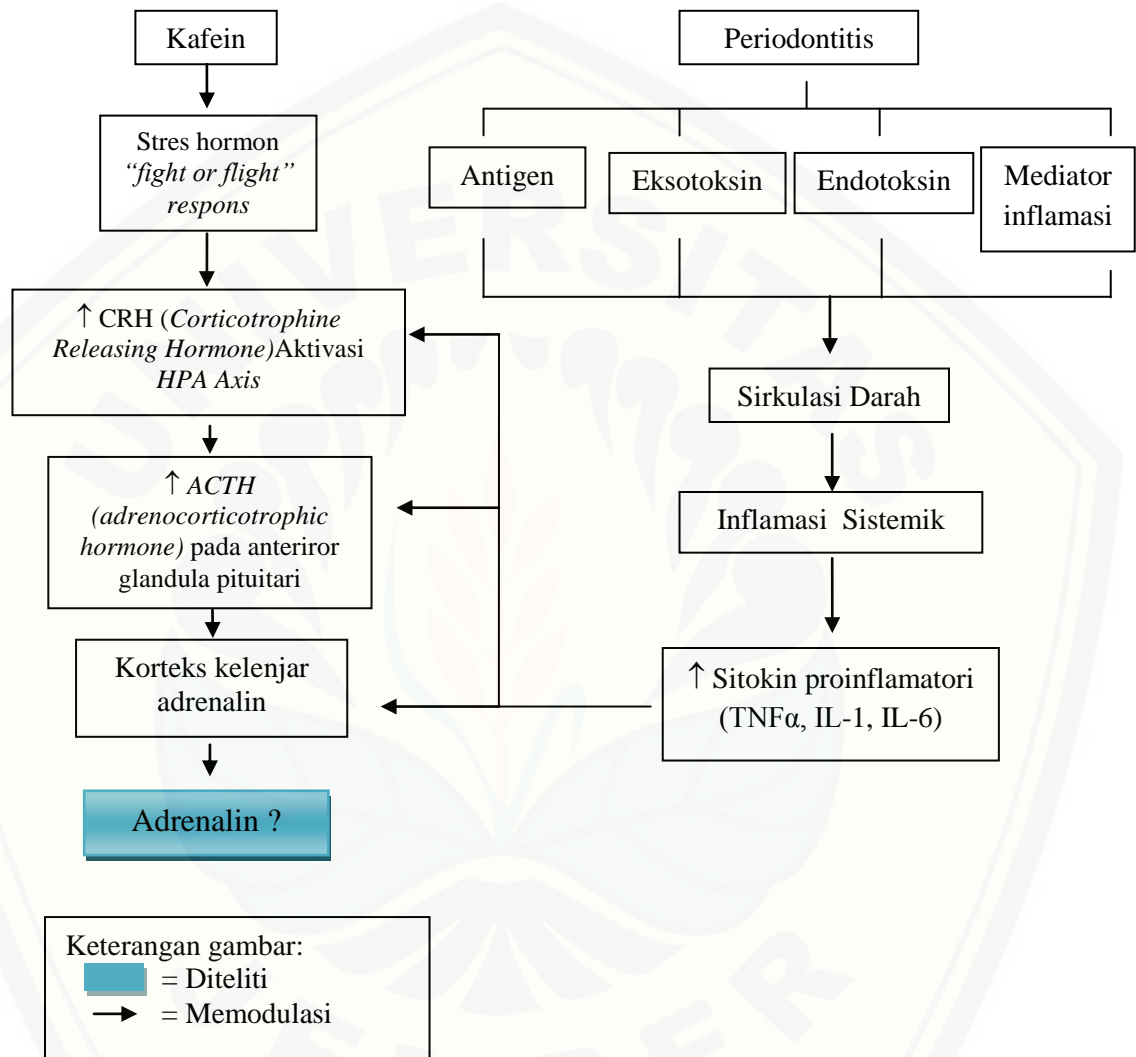
2.5 Hubungan Kopi, Periodontitis, dan Adrenalin

Kopi mengandung banyak zat aktif yang berasal dari produk alam seperti polifenol dan alkaloid. Alkaloid yang berasal dari kopi terdapat kafein yang merupakan senyawa aktif paling melimpah dan terbukti memiliki efek anti-inflamasi serta immunosupresan (Daly, 2007). Kafein yang dikonsumsi setiap hari hanya menyebabkan efek toleransi secara parsial. Kafein tetap memberikan pengaruh peningkatan tekanan darah, baik pada populasi yang tidak terbiasa minum kopi, peminum ringan, sedang ataupun berat (James, 2004; Lovallo, *et al.*, 2004). Konsumsi kafein akut dosis tinggi dan sedang dapat mengaktifkan HPA aksis (Michael, 2006). Hal ini juga dapat meningkatkan hormon ACTH dan kortisol pada seseorang (Lovallo *et al.*, 1996). Produksi kortisol pada korteks kelenjar adrenal yang meningkat dapat merangsang enzim PNMT untuk mengubah norepinefrin menjadi epinefrin (Nussey, 2001).

Periodontitis adalah penyakit inflamasi pada jaringan periodontal yang melibatkan jaringan lunak dan tulang yang mengelilingi gigi di rahang. Periodontitis disebabkan oleh bakteri plak Gram negatif seperti *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, dan *Campylobacterrectus* (Papapanou, *et al.*, 1997; Socransky, *et al.*, 2002; Sbordone and Bortolaia, 2003). Bakteri periodontal tersebut merusak dan menyerang jaringan gingiva kemudian bersirkulasi melalui pembuluh darah, menyebabkan bakterimia sesaat (F. Panagakos and F. Scannapieco, 2011). Sel leukosit dapat menempel pada dinding pembuluh darah yang mengalami inflamasi dengan bantuan sitokin (IL-1, IL-6, IL-8, TNF α), *vascular cell adhesion molecule-1* (VCAM-1) dan *intercellular adhesion molecule-1* (ICAM-1) (Kim *et al.*, 2011). Tingkat inflamasi dapat berpengaruh pada modulasi HPA aksis, baik pada CRH di hipotalamus, ACTH di kelenjar pituitari, ataupun produksi kortisol pada kelenjar adrenal (Caloger *et al.*, 1992; Zelazowskio *et al.*, 1992,1993; Sternberg *et al.*, 1998b, 1989a; Bernardini *et al.*, 1996; dalam Silvermann dan Stenberg, 2013).

2.6 Kerangka Konsep

Gambar/Skema : Efek kopi terhadap adrenalin pada kondisi periodontitis



2.6 Hipotesis

Konsumsi seduhan kopi meningkatkan kadar adrenalin darah pada kondisi periodontitis.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis 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 (Notoatmodjo, 2010).

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember untuk proses perlakuan hewan coba. Peremajaan dan pembuatan suspensi bakteri *Porphyromonas gingivalis* dilaksanakan di Laboratorium *Bioscience* Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Kopi didapatkan dari *Cafe Rolas PT. Perkebunan Nusantara XII Jember*. Pengamatan sel inflamasi dilakukan di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Sedangkan penghitungan kadar adrenalin dalam darah diteliti di Laboratorium Faal Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September sampai dengan November 2016.

3.3 Obyek Penelitian

3.3.1 Kriteria Sampel Penelitian

Sampel penelitian adalah tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*) dengan kriteria sampel sesuai kriteria inklusi.

3.3.2 Kriteria Inklusi, Eksklusi dan *Drop Out*

1. Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi adalah jenis tikus yang digunakan dalam penelitian tikus (*Rattus norvegicus*), jenis kelamin jantan, berat badan tikus 170-190 gram, umur 3-4 bulan, pakan yang seragam, yaitu diet normokolesterol standart berupa pakan pelet dan minum secara *ad libitum*, dan kondisi sehat ditandai dengan nafsu makan baik dan perilaku normal.

2. Kriteria Eksklusi

Kriteria Eksklusi adalah tikus yang mati selama penelitian, penurunan berat badan secara drastis, diare ditandai dengan feses yang tidak berbentuk, kelainan fisik dan tikus yang agresif.

3. Drop Out

Hewan coba dinyatakan drop out apabila memenuhi kriteria eksklusi dan diganti dengan tikus lain sesuai kriteria inklusi sehingga didapat jumlah tikus sesuai perhitungan besar sampel.

3.3.3 Besar Sampel

Besar sampel penelitian yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 6 ekor tikus tiap kelompok perlakuan. Adapun besar sampel didapat dari perhitungan rumus sebagai berikut (Daniel, 2005).

$$n \geq \frac{Z^2 \times \sigma^2}{d^2}$$

Keterangan :

n : besar sample tiap kelompok

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

σ : standar deviasi sampel

d : kesalahan yang masih dapat di toleransi

$$\begin{aligned} n &\geq \frac{Z^2 \times \sigma^2}{d^2} \\ n &\geq 3,84 \\ n &\geq (1,96^2) \\ n &\geq 4 \end{aligned}$$

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

Berdasarkan rumus di atas, jumlah sampel minimum yang harus digunakan adalah 4 sampel untuk masing-masing kelompok. Pada penelitian ini menggunakan

16 ekor tikus sebagai sampel yang terbagi secara acak dalam 4 kelompok yang masing-masing terdiri dari 4 ekor.

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas adalah pada penelitian ini adalah konsumsi kopi dan periodontitis. Kopi diberikan sesuai dosis yang telah dikonversi ke berat badan tikus. Periodontitis diinduksi dengan cara menyuntikan *Phorpirominas gingivalis*.

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah kadar adrenalin darah. Adrenalin diukur menggunakan ELISA *reader* dalam satuan pg/mL.

3.4.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dari penelitian ini adalah :

a. Kriteria hewan coba

Hewan coba yang digunakan adalah tikus wistar jantan dengan umur 3-4 bulan, berat badan 170-210 gram, dan kondisi fisik baik.

b. Pakan dan minum tikus

Semua kelompok tikus diberikan pakan standar merk turbo, Indonesia dan minum aquades.

c. Tempat dan cara pemeliharaan tikus

Tikus ditempatkan pada kandang dengan ukuran 30x30cm. Setiap kandang berisi 3 ekor tikus. Kandang dibersihkan secara berkala satu kali seminggu untuk menghindari stres.

d. Stres

Prosedur penelitian dan perlakuan yang berhubungan dengan stres fisik hewan coba disamaratakan sehingga setiap tikus mendapatkan stress yang sama.

3.5 Definisi Operasional

3.5.1 Konsumsi kopi

Pemberian seduhan kopi robusta murni dengan cara sondase satu kali sehari setara 1 cangkir (*single dose*) sebanyak 0,6 ml selama 28 hari.

3.5.2 Periodontitis

Periodontitis adalah peradangan jaringan periodontal yang dipapar dengan *Phorphiromonas gingivalis* dan stres mekanis memakai *wire ligature* pada gigi molar pertama rahang bawah kiri dan menginjeksikan 0,05 ml *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 dengan konsentrasi 2×10^9 CFU/ml sebanyak tiga kali selama 1 minggu pada sulkus gingiva bagian bukal gigi molar pertama rahang bawah kiri (Permana *et al.*, 2013). Periodontitis ditandai dengan terjadinya pengurangan puncak tulang alveolar yang lebih ke apikan gigi pada foto radiologis.

3.5.3 Adrenalin

Adrenalin adalah salah satu hormon endokrin yang disintesis oleh medula kelenjar adrenal menuju pembuluh darah. Penghitungan kadar adrenalin dengan memakai metode *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) dengan *epinephrine plasma kit*. ELISA adalah suatu metode uji serologis untuk menganalisa adanya interaksi antigen dengan antibodi di dalam suatu sampel dengan menggunakan enzim sebagai pelapor (*reported label*) (Lequin, 2005).

3.6 Bahan dan Alat Penelitian

3.6.1 Bahan Penelitian

1. Kopi robusta murni didapatkan dari PTPN XII Jember.
2. Bahan pembuatan model tikus periodontitis terdiri atas tikus wistar jantan, *wire ligature* diameter 0,5 mm (Wiply, Jerman), bakteri *Porphyromonas gingivalis* (tipe ATCC 33277), ketamin (KTM 100, Indonesia).
3. Pakan standar (Turbo, Indonesia) serta air minum (Aqua, Indonesia).
4. Bahan untuk proses pembedahan yaitu kloroform.
5. Bahan tambahan sterilisasi terdiri atas kapas steril dan spritus.
6. ELISA kit yaitu *ephinephrine plasma kit* untuk tikus.

3.6.2 Alat Penelitian

1. Alat-alat untuk pemeliharaan hewan coba terdiri atas kandang, wadah pakan, wadah minum dan timbangan neraca.
2. Alat untuk pemberian seduhan kopi dan larutan garam dapur terdiri atas syring dengan ujung tumpul.
3. Alat-alat untuk bedah tikus terdiri atas papan *wax*, jarum, pinset anatomis, pinset *chirurgis*, gunting, *scalpel*, masker, sarung tangan dan wadah untuk membersihkan menampung darah.
4. Alat untuk mengukur tekanan darah pada tikus.
5. Alat-alat untuk penghitungan kadar adrenalin terdiri atas wadah mengandung EDTA untuk menampung darah, pemisahan serum darah menggunakan *centrifuge*, dan *ELISA reader*.

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Tahap Persiapan dan Pembagian Kelompok Hewan Coba

Penelitian ini akan dilakukan pada hewan coba tikus dengan kriteria yang sudah ditentukan. Hewan coba dilakukan pengukuran berat badan lalu diadaptasikan

terhadap lingkungan kandang selama 1 minggu sebelum perlakuan. Hewan coba dibagi menjadi 4 kelompok secara acak, yaitu:

1. Kelompok I (4 ekor) merupakan kelompok kontrol yang diberi minuman standart, sondase plasebo 0.6 ml/hari.
2. Kelompok II (4 ekor) merupakan kelompok periodontitis yang dipapar *P. gingivalis* 0,05 ml dengan konsentrasi 2×10^9 CFU/ml.
3. Kelompok III (4 ekor) merupakan kelompok yang diberi sondase kopi robusta murni sebanyak 0,6 ml/hari.
4. Kelompok IV (4 ekor) merupakan kelompok periodontitis yang dipapar *P. gingivalis* 0,05 ml dengan konsentrasi 2×10^9 CFU/ml dan seduhan kopi robusta murni sebanyak 0,6 ml/hari.

3.7.2 Persiapan Bahan Perlakuan

1. Pembuatan *Wire Ligature*

Wire ligature bediameter 0,5 mm dipasangkan pada gigi molar kiri rahang bawah. Pembuatan *wire ligature* dilakukan pada model rahang yang didapat dari hewan coba yang telah didekapitulasi dan diambil rahangnya. *Wire ligature* dibentuk menyerupai huruf U menggunakan tang koil. Setelah pembuatan *wire ligature* selesai, dilakukan pemasangan pada hewan coba. Pemasangan *wire ligature* menggunakan pinset anatomis dan dilakukan dengan hati-hati agar tidak melukai dan terjadi perdarahan. *Wire ligature* dipasang memeluk mesial dari molar tikus, kemudian *wire ligature* ditekan keraha apikal secara hati – hati agar tepat pada servikal gigi, posisi akhir dari *wire* adalah di atas sulkus gingiva agar tidak menyebabkan iritasi (Permana *et al*, 2013)

2. Seduhan Kopi

Pembuatan seduhan kopi didasarkan pada dosis yang biasa digunakan untuk membuat secangkir kopi. Sebanyak 12 gram bubuk kopi robusta murni dilarutkan dalam 200 ml aquades. Mula – mula aquades dididihkan (suhu 100^0)

C) kemudian bubuk kopi dimasukkan dan diaduk selama 2 menit. Seduhan kopi didinginkan dalam suhu ruangan, kemudian di sondasekan ke tikus sebanyak 0,6 ml/hari. Dosis tersebut memakai *single dose*, didapat dari perbandingan seduhan kopi 200 ml pada manusia dengan berat 70 kg dan tikus wistar jantan dengan berat 200 gram.

$$\frac{70 \text{ kg}}{200 \text{ mL}} = \frac{0,2 \text{ kg}}{x}$$

$$x = \frac{40}{70}$$

$$x = 0,6 \text{ mL}$$

3. Bakteri *P.gingivalis*

Bakteri dibiakkan di media agar. Ketika akan melakukan injeksi, bakteri dibiakkan di media cair. Konsentrasi *P.gingivalis* murni sebanyak 0,05 ml dengan konsentrasi 2×10^9 CFU/ml. (Rezha, 2012).

3.7.3. Pelaksanaan Penelitian

1. Pemberian Seduhan Kopi

Seduhan kopi diberikan pada tikus menggunakan syring dengan ujung tumpul secara sondase lambung setiap pagi sebanyak 0,6 ml/hari selama 28 hari.

2. Injeksi *P. gingivalis*

Konsentrasi *P.gingivalis* yang digunakan adalah 0,05 ml dengan konsentrasi 2×10^9 CFU/ml (Rezha, 2012). Injeksi *P. gingivalis* menggunakan jarum insulin ukuran 26 G pada sulkus molar kiri rahang bawah bagian bukal dan diberikan selama 4 minggu dengan frekuensi injeksi 1 minggu 3 kali.

3. Pengambilan Darah

Di akhir penelitian tikus dipuasakan selama 10 jam sebelum dilakukan pengambilan darah (Hardini, 2006). Sebelum dilakukan pengambilan darah, semua peralatan disterilisasi terlebih dahulu dengan alkohol 70%. Kemudian, dilakukan pembiusan dengan cara memasukkan tikus ke dalam tabung berisikan kasa yang telah dibasahi dengan *chloroform* hingga tikus hilang kesadaran (Kolondam *et al.*, 2008). Setelah itu, tikus difiksasi di papan seksi untuk dilakukan pembedahan *torax* sampai organ jantung terlihat. Kemudian, darah diambil dengan menggunakan *disposable syringe* secara *intracardial* sebanyak 3 ml dan dimasukkan ke dalam tabung stereril. Selanjutnya, tabung berisi darah dimasukkan ke wadah dengan suhu rendah.

4. Konfirmasi Periodontitis

Tikus yang telah dilakukan pengambilan darah dikorbankan untuk pengambilan mandibula kiri. Pengambilan mandibula kiri ini dilakukan untuk mengkonfirmasi terjadinya periodontitis kronis pada kelompok periodontitis. Pengamatan dilakukan melalui foto klinis dan radiologi untuk mengetahui ada tidaknya resorpsi tulang alveolar yang merupakan tanda adanya periodontitis.

5. Pengukuran Kadar Adrenalin

Sebelum dilakukan pengukuran menggunakan metode *Sandwich* ELISA, darah tikus dilakukan *sentrifuge* untuk mendapatkan serum darah. Pengukuran kadar epinefrin pada penelitian ini menggunakan satuan pg/mL dengan prosedur sebagai berikut :

1. Siapkan semua reagen dan serum darah pada masing-masing sumuran
2. Tambahkan 50 μ l *Detection Reagen A* yang telah siap (kocok dan campurkan) pada masing-masing sumuran dan diinkubasi selama 1 jam pada suhu 37⁰C
3. Aspirasi larutan pada tiap sumuran menggunakan mikro pipet dan cuci menggunakan aquades sebanyak 3 kali

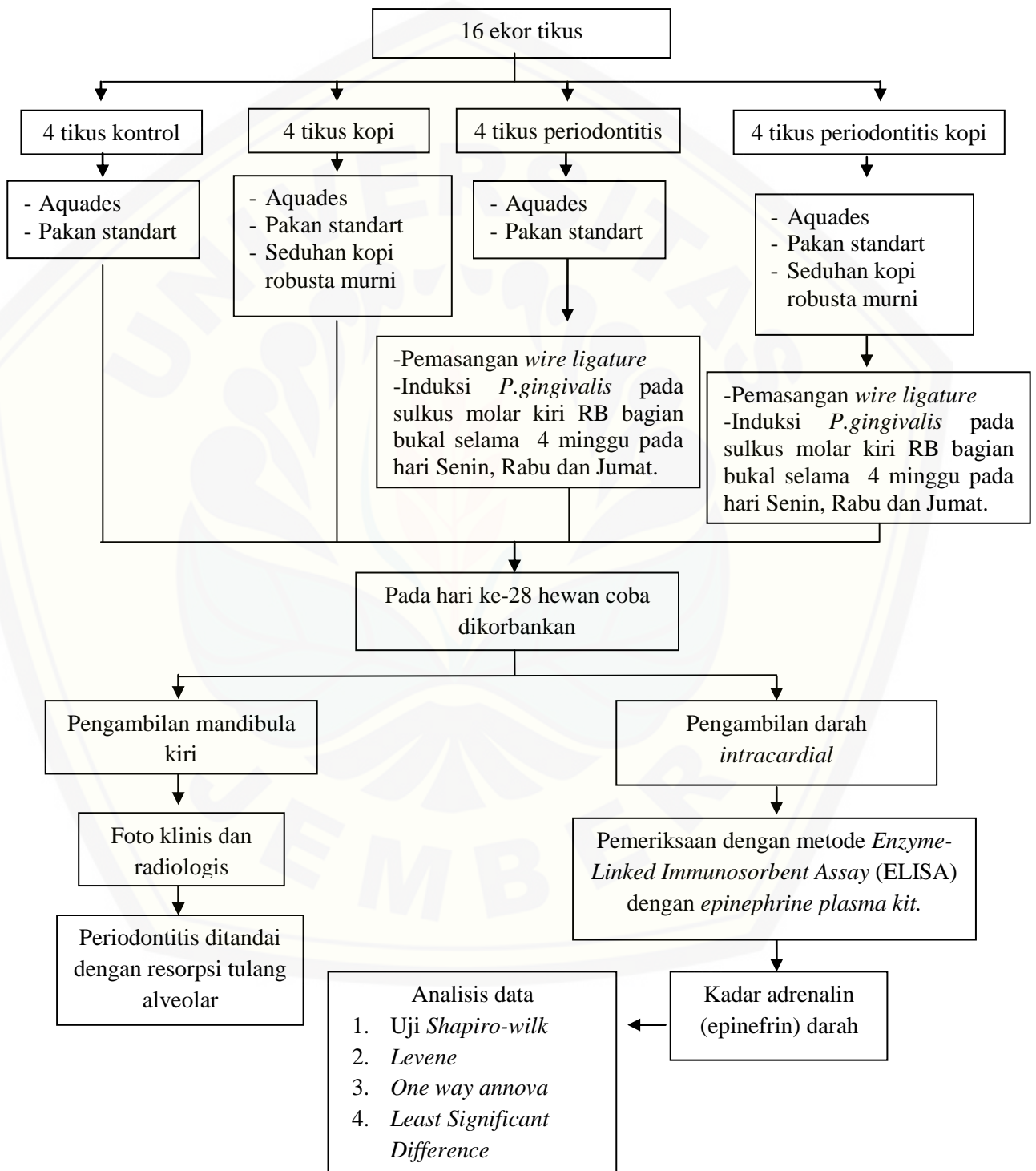
4. Tambahkan 100 μl *Detection Reagen B* pada tiap sumuran, inkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C
5. Aspirasi dan buang larutan pada tiap sumuran menggunakan mikro pipet serta cuci menggunakan aquades sebanyak 5 kali
6. Tambahkan 90 μl *substrate solution*, inkubasi selama 15-25 menit pada suhu 37°C
7. Tambahkan 50 μl *stop solution*. Segera baca di *ELISA reader* pada gelombang cahaya 450 nm

3.8 Analisis Data

Penelitian ini menghasilkan data kuantitatif berupa kadar adrenalin. Data diuji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk test* dan uji homogenitas menggunakan *Levene test*, serta dianalisa dengan uji beda menggunakan *One Way ANOVA* dan dilanjutkan dengan uji *Least Significant Difference (LSD)*.

3.9 Alur Penelitian

Gambar/Skema: Alur Penelitian



BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat ditarik kesimpulan kopi tidak meningkatkan kadar adrenalin darah pada kondisi periodontitis.

5.2. Saran

Pada penelitian ini terdapat keterbatasan penelitian, sehingga saran untuk penelitian selanjutnya adalah :

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai kopi hitam dengan berbagai jenis.
2. Perlu dilakukan penelitian kadar adrenalin dengan metode *time series*.

DAFTAR PUSTAKA

- Akalin, E. Baltacıoğlu, A. Alver, and E. Karabulut. "Lipid peroxidation levels and total oxidant status in serum, saliva and gingival crevicular fluid in patients with chronic periodontitis," *Journal of Clinical Periodontology*, vol. 34, no. 7, pp. 558–565. 2007.
- Bernardini R. Adenylate-cyclase-dependent pituitary adrenocorticotropin secretion is defective in the inflammatory-disease-susceptible Lewis rat. *Neuroendocrinology*. 1996; 63:468– 474. [PubMed: 8738585]
- Boos C. J. and G. Y. H. Lip. "Is hypertension an inflammatory process?" *Current Pharmaceutical Design*, vol. 12, no. 13, pp. 1623–1635. 2006.
- Caranza, F.A., Newman, M.G., Takei, H.H., Klokkevold, P.R., *Caranza's Clinical Periodontology*, Eleventh Edition. Philadelphia London : Elsevier Saunders. 2012.
- Cano-Marquina, A. The impact of coffee on health. *Maturitas* 75, 7–21. 2013.
- Chapple I. L. C. and J. B. Matthews. "The role of reactive oxygen and antioxidant species in periodontal tissue destruction," *Periodontology 2000*, vol. 43, no. 1, pp. 160–232, 2007.
- Chapple I. L. C., G. R. Brock, M. R. Milward, N. Ling, and J. B. Matthews. "Compromised GCF total antioxidant capacity in periodontitis: cause or effect?" *Journal of Clinical Periodontology*, vol. 34, no. 2, pp. 103–110, 2007.
- Calogero A. E. Neurotransmitter-induced hypothalamic-pituitary-adrenal axis responsiveness is defective in inflammatory disease-susceptible Lewis rats: in vivo and in vitro studies suggesting globally defective hypothalamic secretion of corticotropin-releasing hormone. *Neuroendocrinology*. 1992; 55:600–608. [PubMed: 1350069]
- Carlos Madrid , Rapporteur Bruno Courtois, Marc Vironneau, Recommendations to use vasoconstrictors in dentistry and Oral surgery, *medicine buccale chirurgie buccale*, 9: 3-21. 2003.
- Cornelis MC, El-Sohemy A. Coffee, Caffeine, and Coronary Heart Disease. *Curr Opin Lipidol*. 18:13-19. 2007.

- Cotti, E., Dessi, C., Piras, A., Mercurio, G. Can A Chronic Dental Infection Be Considered A Cause of Cardiovascular Disease ? : A Review Literature. *Elsevier Ireland Ltd.* 2010.
- Daly, J.W. Caffeine analogs: Biomedical impact. *Cell. Mol. Life Sci.* 64(16). 2153–2169. <http://dx.doi.org/10.1007/s00018-007-7051-9>. 2007.
- Deglin, J. H. *Pedoman Obat untuk Perawat*. Jakarta: EGC. 2005.
- Du, W. Y., Chang, C., Zhang, Y., Liu, Y. Y., Sun, K., Wang, C. S. High-dose chlorogenic acid induces inflammation reactions and oxidative stress injury in rats without implication of mast cell degranulation. *J. Ethnopharmacol.*, 147(1), 74–83. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2013.01.042>. 2013.
- Ekuni, T. Tomofuji, N. Tamaki. “Mechanical stimulation of gingiva reduces plasma 8-OHdG level in rat periodontitis,” *Archives of Oral Biology*, vol. 53, no. 4, pp. 324–329, 2008.
- Fredholm, BB, Battig, K, Holmen, J. Actions of caffeine in the brain with special reference to factors that contribute to its widespread use. *Pharmacol Rev* 1999; 51:83–133.
- Hatta, M. *Penyakit Periodontal dan Hubungannya Dengan Aterosklerosis*. Skripsi. Makasar. Unuversitas Hasanudin. 2011.
- Hardini D., Yuwanta T., Supadmo, Zuprizal. Pengaruh Telur Beromega-3 dan 6 Hasil Olahan terhadap Profil Lipid Darah Tikus *Rattus norvegicus* L. Normal dan Hiperkolesterolemia. *Media Peternakan*, vol. 20, no. 1, 2006.
- Haritsah, S., Penetapan Kadar Epinefrin dalam Sediaan Injeksi Obat Pemacu Kerja Jantung dengan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). *USU Institutional Repository*, 2011.
- Hoffman, B. B. Obat-obat pengaktif adrenoseptor dan simpatomimetik lainnya. In B. G. Katzung, *Farmakologi Dasar dan Klinik* (pp.123-142). Jakarta: EGC. 2012.
- James J.E., Critical Review of Dietary Caffeine and Blood Pressure: A relationship That Should Be Taken More Seriously. *Psychosomatic Medicine*. 66:63–71. 2004.

- Kashyap M. K., V. Yadav, B. S. Sherawat et al., "Different antioxidants status, total antioxidant power and free radicals in essential hypertension," *Molecular and Cellular Biochemistry*, vol. 277, no. 1-2, pp. 89–99, 2005.
- Katzung, B., Pendahuluan. In B. Katzung, *Farmakologi Dasar dan Klinik* (pp.1-10). Jakarta: EGC, 2012.
- Kim Y. M., M. Y. Kim, H. J. Kim. "Compound C independent of AMPK inhibits ICAM-1 and VCAM-1 expression in inflammatory stimulants-activated endothelial cells in vitro and in vivo," *Atherosclerosis*, vol. 219, no. 1, pp. 57–64. 2011.
- Kinnear, J. Adrenalin (Epinephrine) Anesthesia Tutorial of the Week 226. *Anesthesia Tutorial of the Week*, 1-8. 2011.
- Kumar, V., R. S. Cotren, dan S. L. Robbins. Buku Ajar Patologi Edisi 7. Jakarta; EGC. 2012.
- Lequin, RM "Enzyme Immunoassay (EIA)/Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)". *Clinical Chemistry* 51 (12): 2415–2418. 2005.
- Lopez-Garcia E, *et al.*, Coffee Consumption and Coronary Heart Disease in Men and Women: A Prospective Cohort Study. *Circulation*. 113:2045-2053, 2006.
- Lovallo, W. R. Stress-like adrenocorticotropin responses to caffeine in young healthy men. *Pharmacol Biochem Behav*.55:365–9. [PubMed: 8951977]. 1996.
- Nawrot P, Jordan S, Eastwood J. Effects of caffeine on human health, *Food Addit Contam*; 20:1–30. 2003
- Nussey , S., Whitehead S., *Endocrinology: An Integrated Approach*. Oxford: BIOS Scientific Publishers. 2001.
- O. Shaker, N. A. Ghallab, E. Hamdy, and S. Sayed, "Inducible nitric oxide synthase (iNOS) in gingival tissues of chronic periodontitis with and without diabetes: immunohistochemistry and RT-PCR study," *Archives of Oral Biology*, vol. 58, no. 10, pp.1397–1406, 2013.
- O’Keefe, J.H. et al., Effects of habitual coffee consumption on cardiometabolic disease, cardiovascular health, and all-cause mortality. *J. Am. Coll. Cardiol*. 62, 1043–1051. 2013.

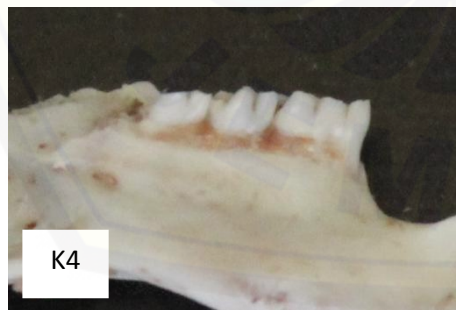
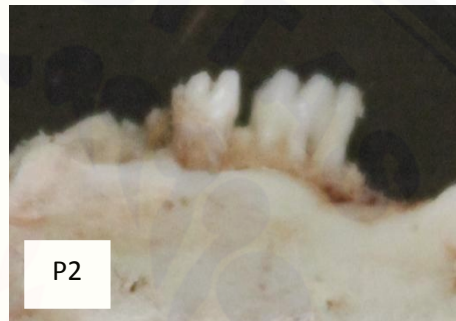
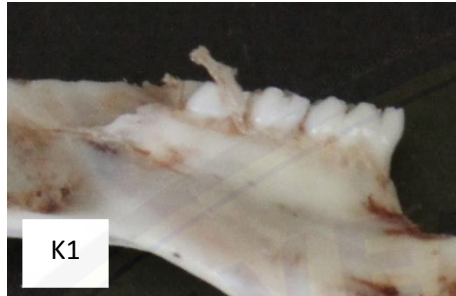
- Pathak, L., Agrawal, Y., & Dhir, A. Natural polyphenols in the management of major depression. *Expert Opin. Investig. Drugs* <http://dx.doi.org/10.1517/13543784.2013.794783>. 2013.
- Permana, R., Rizqi, F., Perdana, A., Susilawati, I.D.A., Ermawati, T. Histomorphometrical Analysis of Coronary Atherosclerosis Lesions Formation in Rat (*Rattus norvegicus*) Model. *Journal of Dentistry Indonesia*. Vol. 20: 73-77. 2013.
- Ranheim T, Halvorsen B. Coffee consumption and human health: beneficial or detrimental? Mechanisms for effects of coffee consumption on different risk factors for cardiovascular disease and type 2 diabetes mellitus. *Mol Nutr Food Res*; 49:274–284. 2005.
- Romero-Alvira and E. Roche. “High blood pressure, oxygen radicals and antioxidants: etiological relationships,” *Medical Hypotheses*, vol. 46, no. 4, pp. 414–420. 1996.
- Patil S. B., M. V. Kodliwadmth, and S. M. Kodliwadmth.. “Correlation between lipid peroxidation and non-enzymatic antioxidants in pregnancy induced hypertension,” *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, vol. 23, no. 1, pp. 45–48,. 2008.
- Seaward B. L., *Managing Stress: Principles And Strategies For Health And Well-Being*. 7th Edition. London: *Jones & Bartlett Publiser Canada*. 2011.
- Shen, W., Qi, R., Zhang, J., Wang, Z., Wang, H., Hu, C., Chlorogenic acid inhibits LPS-induced microglial activation and improves survival of dopaminergic neurons. *Brain Res. Bull.*, 88(5), 487–494. <http://dx.doi.org/10.1016/j.brainresbull.2012.04.010>. 2012.
- Smith, A. Effects of caffeine on human behavior. *Food Chem. Toxicol.*, 40(9), 1243–1255. 2002.
- Sobaniec, H. and. Sobaniec-Lotowska, M. E., “Morphological examinations of hard tissues of paradontium and evaluation of selected processes of lipid peroxidation in blood serum of rats in the course of experimental periodontitis,” *Medical Science Monitor*, vol. 6, no. 5, pp. 875–881. 2000.
- Spiller M. A., *The chemical components of coffee*. In: Spiller GA, editor. *Caffeine*. Boca Raton: CRC Press; pp. 97–161. 1998.

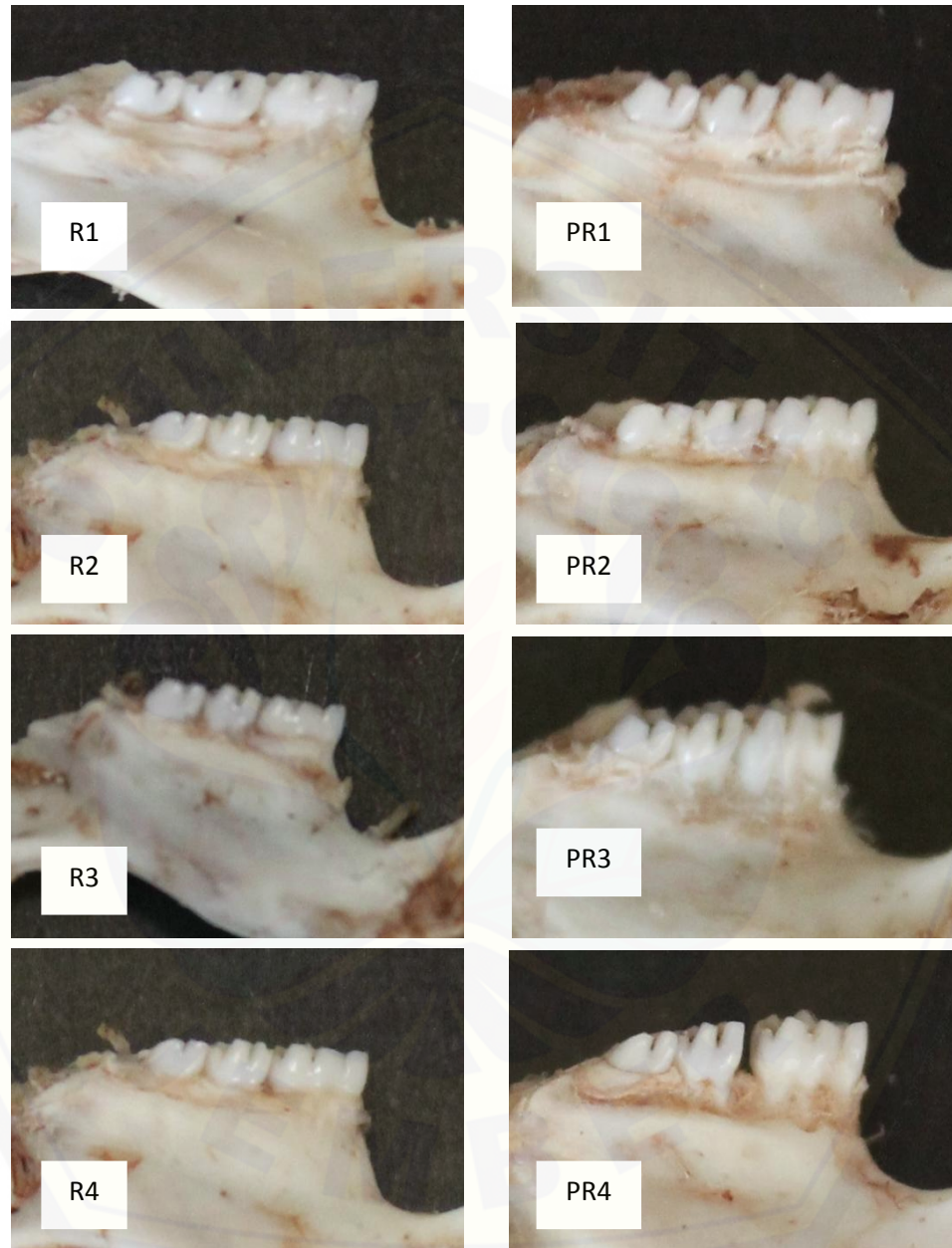
- Sternberg EM, et al. Inflammatory mediator-induced hypothalamic-pituitary-adrenal axis activation is defective in streptococcal cell wall arthritis-susceptible Lewis rats. *Proc Natl Acad Sci.* 1989a; 86:2374–2378. [PubMed: 2538840]
- Sternberg EM, et al. A central nervous system defect in biosynthesis of corticotropin-releasing hormone is associated with susceptibility to streptococcal cell wall-induced arthritis in Lewis rats. *Proc Natl Acad Sci.* 1989b; 86:4771–4775. [PubMed: 2786636]
- Sugiono, E., Pengaruh Kebiasaan Minum Kopi Terhadap Tekanan Darah. Universitas Hasanudin. 2008.
- Tomofuji, T., Azuma, T., Kusano et al., “Oxidative damage of periodontal tissue in the rat periodontitis model: effects of a high-cholesterol diet,” *FEBS Letters*, vol. 580, no. 15, pp. 3601–3604. 2006.
- Tomofuji, T., Ekuni D., Yamanaka et al., “Chronic administration of lipopolysaccharide and proteases induces periodontal inflammation and hepatic steatosis in rats,” *Journal of Periodontology*, vol. 78, no. 10, pp. 1999–2006. 2007.
- Touyz R. M., “Reactive oxygen species, vascular oxidative stress, and redox signaling in hypertension: what is the clinical significance?” *Hypertension*, vol. 44, no. 3, pp. 248–252. 2004.
- Tsai C. C., H. S. Chen, S. L. Chen. “Lipid peroxidation: a possible role in the induction and progression of chronic periodontitis,” *Journal of Periodontal Research*, vol. 40, no. 5, pp.378–384. 2005.
- Winkelmayer W. C., Stampfer MJ, Willett WC, Curhan GC, Habitual Caffeine Intake and The Risk of Hypertension in Woman. *JAMA.* 294:2330 -2335.. 2005.
- Xin-Fang Leong, Chun-Yi Ng, Baharin Badiah, and Srijit Das., Association between Hypertension and Periodontitis: Possible Mechanisms: A Review Literature. Hindawi Publishing Corporation. 2014.
- Xu, J. -G., Hu, Q. -P., & Liu, Y. Antioxidant and DNA-protective activities of chlorogenic acid isomers. *J. Agric. Food Chem.*, 60(46), 11625-11630. <http://dx.doi.org/10.1021/jf303771s>. 2012.
- Zelazowski P, et al. In vitro regulation of pituitary ACTH secretion in inflammatory disease susceptible Lewis (LEW/N) and inflammatory disease resistant Fischer (F344/N) rats. *Neuroendocrinology.* 1992; 56:474–482. [PubMed: 1335552]

Zelazowski P, et al. Release of hypothalamic corticotropin-releasing hormone and arginine vasopressin by interleukin 1 beta and alpha MSH: studies in rats with different susceptibility to inflammatory disease. *Brain Res.* 1993; 631:22–26. [PubMed: 8298992]

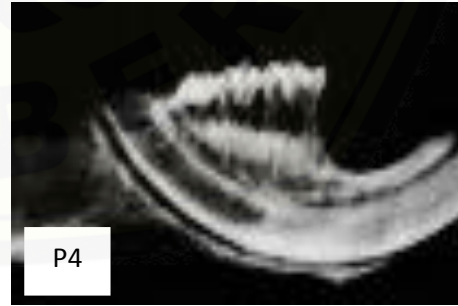
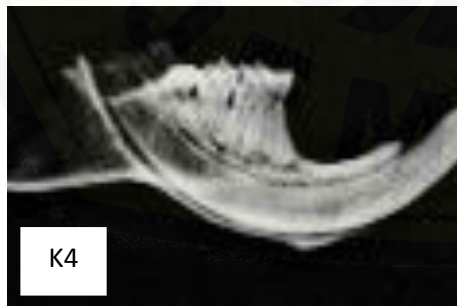
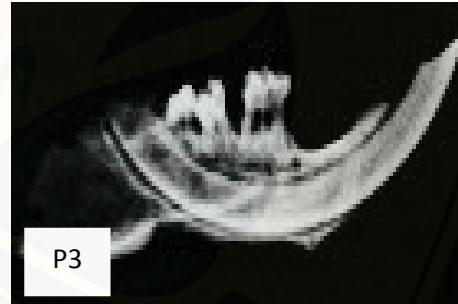
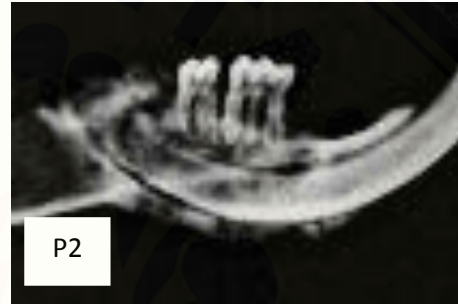
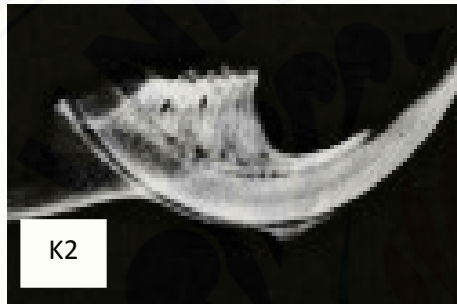
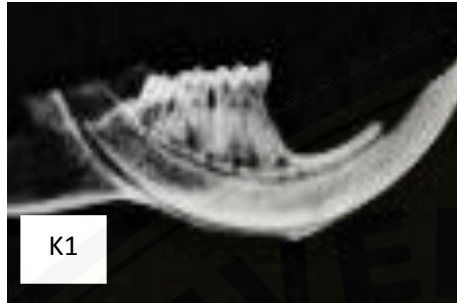


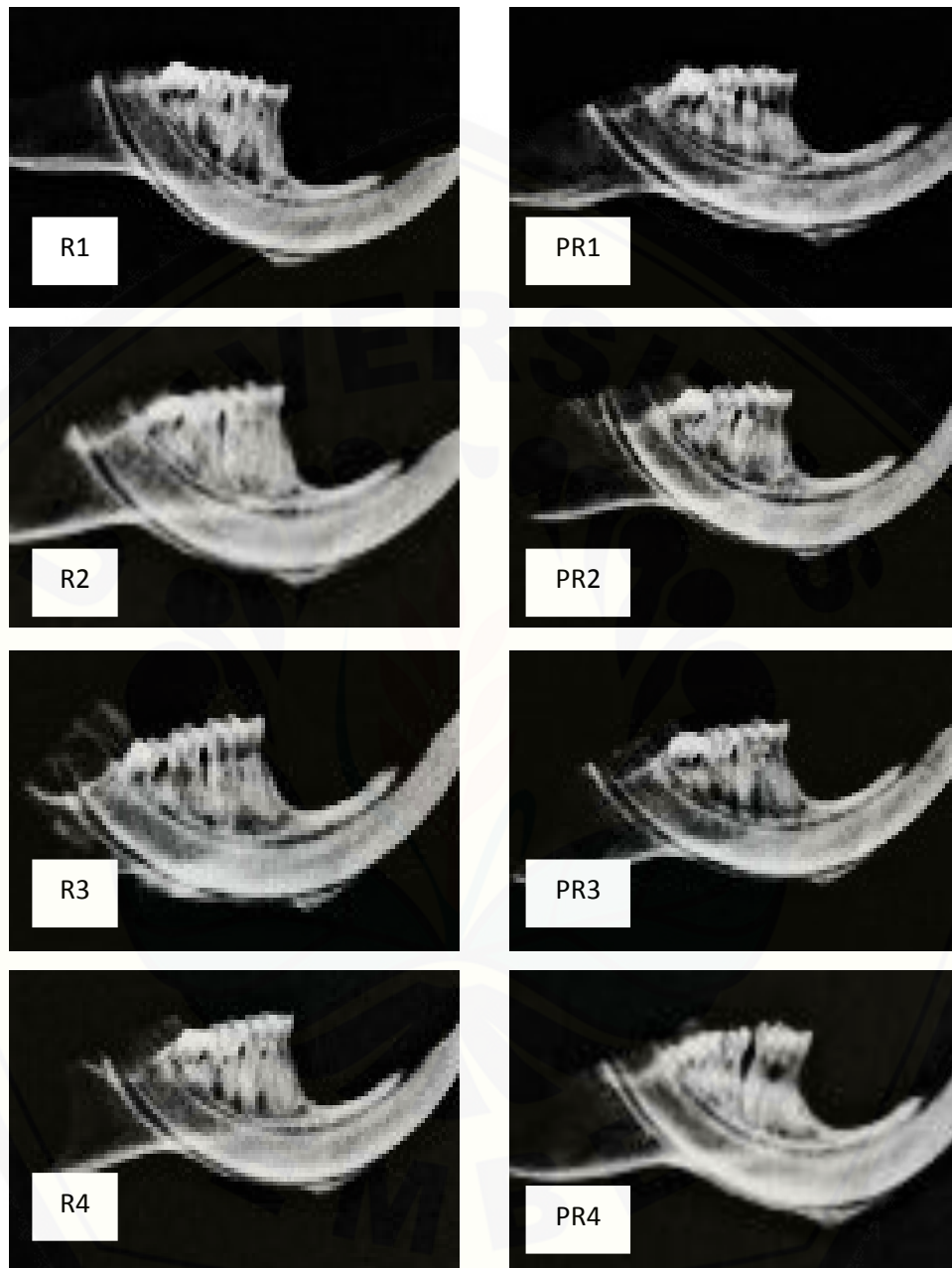
LAMPIRAN A. Gambaran Klinis dan Radiologis Rahang Hewan Coba





Gambar 7. Foto klinis mandibula. Kelompok kontrol (K1, K2, K3, K4) menunjukkan tulang alveolar dalam keadaan normal. Kelompok periodontitis (P1, P2, P3, P4) menunjukkan tulang alveolar mengalami pengurangan. Kelompok kopi robusta (R1, R2, R3, R4) menunjukkan tulang alveolar dalam keadaan normal. Kelompok periodontitis kopi robusta (PR1, PR2, PR3, PR4) menunjukkan pengurangan tulang alveolar.





Gambar 7. Foto radiologis mandibula. Kelompok kontrol (K1, K2, K3, K4) menunjukkan tulang alveolar dalam keadaan normal. Kelompok periodontitis (P1, P2, P3, P4) pengurangan terlihat gambaran radiolusen pada tulang menunjukkan tulang alveolar mengalami. Kelompok kopi robusta (R1, R2, R3, R4) menunjukkan tulang alveolar dalam keadaan normal. Kelompok periodontitis kopi robusta (PR1, PR2, PR3, PR4) menunjukkan pengurangan tulang alveolar.

Lampiran B. Analisis Data

Tests of Normality

kode		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
perlakuan	kontrol	.241	4	.	.895	4	.407
	perio	.261	4	.	.944	4	.677
	periorobusta	.243	4	.	.925	4	.563
	robusta	.182	4	.	.980	4	.903

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

perlakuan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.293	3	12	.322

ANOVA

perlakuan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	34318.262	3	11439.421	4.148	.031
Within Groups	33091.016	12	2757.585		
Total	67409.277	15			

Multiple Comparisons

perlakuan
LSD

(I) kode	(J) kode	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol	perio	127.187500 [*]	3.713209E1	.005	46.28362	208.09138
	periorobusta	38.750000	3.713209E1	.317	-42.15388	119.65388
	robusta	45.000000	3.713209E1	.249	-35.90388	125.90388
perio	kontrol	-127.187500 [*]	3.713209E1	.005	-208.09138	-46.28362
	periorobusta	-88.437500 [*]	3.713209E1	.035	-169.34138	-7.53362
	robusta	-82.187500 [*]	3.713209E1	.047	-163.09138	-1.28362
periorobusta	kontrol	-38.750000	3.713209E1	.317	-119.65388	42.15388
	perio	88.437500 [*]	3.713209E1	.035	7.53362	169.34138
	robusta	6.250000	3.713209E1	.869	-74.65388	87.15388
robusta	kontrol	-45.000000	3.713209E1	.249	-125.90388	35.90388
	perio	82.187500 [*]	3.713209E1	.047	1.28362	163.09138
	periorobusta	-6.250000	3.713209E1	.869	-87.15388	74.65388

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

Tabel 3. Analisa Data Menggunakan Uji *Least Significant Difference*

Keterangan:

Uji *Kolmogorov-smirnov* menunjukkan hasil signifikan ($p > 0,05$)

Uji *Levene* menunjukkan hasil signifikan ($p > 0,05$)

Uji *One Way Anova* menunjukkan hasil signifikan ($p > 0,05$)

Uji *Kolmogorov-smirnov* menunjukkan hasil signifikan ($p > 0,05$)

Uji *Least Significant Difference* menunjukkan hasil signifikan ($p > 0,05$) pada kelompok (kontrol - periodontitis), (periodontitis - periodontitis+robusta), (periodontitis - robusta)

Lampiran C. Surat Pembelian Tikus

Malang, 11 Juni 2016.

Surat Pernyataan.

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Suwaji .

Alamat : Jl. Sudimoro rt.5 Rk-7 Malang

Bersedia menyediakan tikus wistar jantan pada tanggal 12 Juli 2016 dengan berat 150 gr, guna penelitian mahasiswa FKG Unej .

Demikian surat ini saya buat , dengan keadaan sadar .

Malang, 11 Juni 2016.



Suwaji

Lampiran D. Surat Keterangan Layak Etik Penelitian



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI

UNIVERSITAS JEMBER

KOMISI ETIK PENELITIAN

Jl. Kalimantan 37 Kampus Bumi Tegal Boto Telp/Fax (0331) 337877 Jember 68121 – Email :
fk_unej@telkom.net

KETERANGAN PERSETUJUAN ETIK

ETHICAL APPROVA

Nomor : 100/H25.1.11/KE/2016

Komisi Etik, Fakultas Kedokteran Universitas Jember dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul :

The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, Jember University, With regards of the protection of human rights and welfare in medical research, has carefully reviewed the proposal entitled :

ANALISIS EFEK KONSUMSI SEDUHAN KOPI TERHADAP KADAR ADRENALIN, INFLAMASI SISTEMIK, LAJU ENDAP DARAH, AGREGASI PLATELET, DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI LESI ATEROSKLEROSIS PADA ARTERI KORONER, RENALIS, FEMORALIS TIKUS WISTAR (*Rattus norvegicus*) PERIODONTITIS

Nama Peneliti Utama : Dr. Drg. I Dewa Ayu Susilawati, M.Kes

Name of the principal investigator

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Name of institution

Dan telah menyetujui protokol tersebut diatas.

And approved the above mentioned proposal.

Jember, 23 Des 2016

dr. Rini Riyanti, Sp.PK

Lampiran E. Ijin Penelitian



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

Nomor : ~~4164~~ /UN25.8.TL/2016
Perihal : Ijin Penelitian

01 DEC 2016

Kepada Yth
Direktur RSGM Universitas Jember
Di
Jember

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

- | | | |
|----|-------------------------|--|
| 1 | Nama | : Mochammad Fahmi |
| 2 | NIM | : 131610101026 |
| 3 | Semester/Tahun | : 2016/2017 |
| 4 | Fakultas | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember |
| 5 | Alamat | : Perum Mastrip K7 |
| 6 | Judul Penelitian | : Analisis Efek Konsumsi Seduhan Kopi Terhadap Kadar Adrenalin Darah Pada Model Tikus Periodontitis |
| 7 | Lokasi Penelitian | : Laboratorium Bioscience RSGM Universitas Jember |
| 8 | Data/alat yang dipinjam | : Alat Setrifuse |
| 9 | Waktu | : Agustus – November 2016 |
| 10 | Tujuan Penelitian | : Untuk Mengetahui Analisis Efek Konsumsi Seduhan Kopi Terhadap Kadar Adrenalin Darah Pada Model Tikus Periodontitis |
| 11 | Dosen Pembimbing | : 1. Dr.drg. IDA Susilawati, M.Kes
: 2. drg. R.Rhardyan P, M.Kes,Sp.Prost |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih





KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
Jl. Kalimantan No. 37 Jember ☎(0331) 335536. Faks. 331991

Nomor : 4163 /UN25.8.TL/2016
Perihal : Ijin Penelitian

01 DEC 2016

Kepada Yth
Kepala Bagian Laboratorium 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 penelitian bagi mahasiswa kami dibawah ini :

- | | | |
|----|-------------------------|--|
| 1 | Nama | : Mochammad Fahmi |
| 2 | NIM | : 131610101026 |
| 3 | Semester/Tahun | : 2016/2017 |
| 4 | Fakultas | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember |
| 5 | Alamat | : Perum Mastrip K7 |
| 6 | Judul Penelitian | : Analisis Efek Konsumsi Seduhan Kopi Terhadap Kadar Adrenalin Darah Pada Model Tikus Periodontitis |
| 7 | Lokasi Penelitian | : Laboratorium Farmakologi FKG Universitas Jember |
| 8 | Data/alat yang dipinjam | : Kandang Tikus |
| 9 | Waktu | : Desember 2016 s/d Selesai |
| 10 | Tujuan Penelitian | : Untuk Mengetahui Analisis Efek Konsumsi Seduhan Kopi Terhadap Kadar Adrenalin Darah Pada Model Tikus Periodontitis |
| 11 | Dosen Pembimbing | : 1. Dr.drg. IDA Susilawati, M.Kes
: 2. drg. R.Rhardyan P, M.Kes, Sp.Prost |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih

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



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

Nomor : 3016 /UN25.8.TL/2016
Perihal : Ijin Penelitian

Kepada Yth.
Kepala Bagian Laboratorium Bioscience
Kedokteran Gigi
Di
Universitas Jember

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

- | | |
|--------------------------|---|
| 1. Nama | : Mochammad Fahmi |
| 2. NIM | : 131610101026 |
| 3. Tahun Akademik | : VII/2016-2017 |
| 4. Fakultas | : Kedokteran Gigi |
| 5. Alamat | : Perum Mastrip K-4 Sumbersari Jember |
| 6. Judul Penelitian | : Analisis Efek Kosumsi Kopi Terhadap Kadar Adrenalin Darah Pada Tikus Yang diberi Diet Tinggi Garam. |
| 7. Lokasi Penelitian | : Laboratorium Bioscience FKG Unej |
| 8. Data/Alat yg dipinjam | : Centrifuge |
| 9. Waktu | : Oktober-November |
| 10. Tujuan Penelitian | : Pembuatan serum darah |
| 11. Dosen Pembimbing | : 1. Dr. drg. I Dewa Ayu Susilawati, M.Kes
2. drg.R.Rahardyan Parnaadji, M.Kes, Sp.Pro |

Demikian atas perkenan dan kerjasama yang baik disampaikan terima kasih.

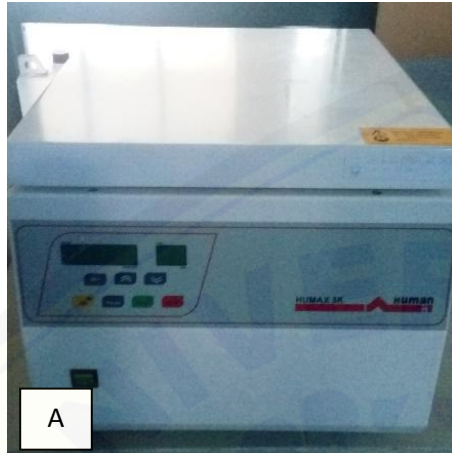
Jember, 30 SEP 2016

Dekan
Pembantu Dekan I



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

Lampiran F. Alat dan Bahan Penelitian



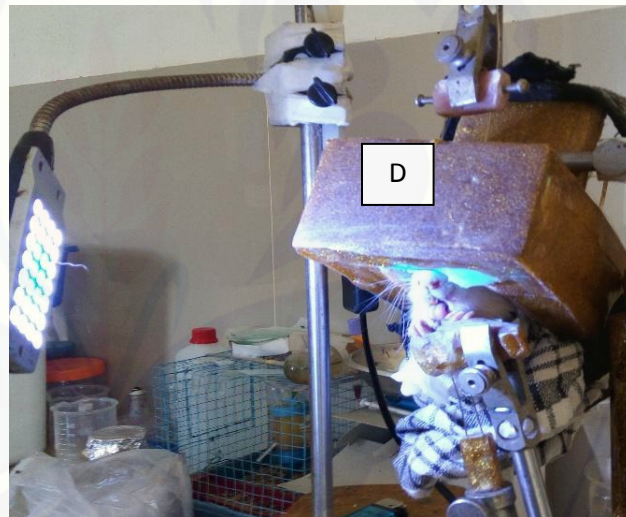
A



B



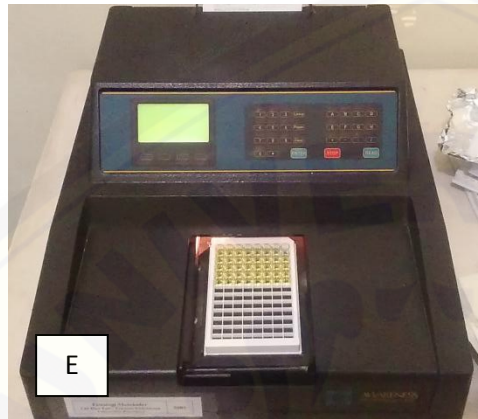
C



D

KETERANGAN

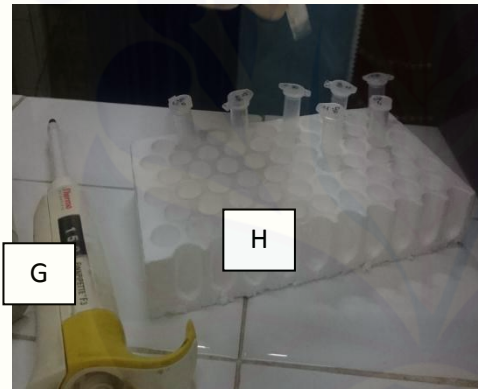
- A. Alat sentrifus
- B. Vibrator (vortex)
- C. *Vacum tube*
- D. *Dental rat* (Murdojohadi, 2015)



E

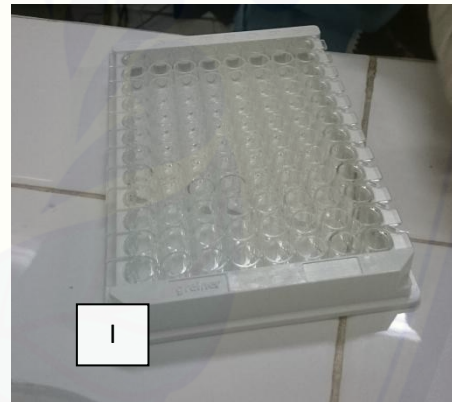


F



G

H



I

E. ELISA *Reader*

F. ELISA *Kit*

G. Mikro *pipet*

H. *Sample Cup Serum*

I. ELISA *well*

Lampiran G. Pelaksanaan Penelitian



Gambar 7. Pemasangan *wire ligature*



Gambar 8. Injeksi suspensi *P.gingivalis*



Gambar 9. Anestesi secara inhalasi menggunakan *Cloroform*



Gambar 10. Pengambilan darah secara *intracardial* sebanyak 6 mL



Gambar 11. Pengambilan rahang tikus



Gambar 12. Pemeriksaan sampel menggunakan Uji ELISA

LAMPIRAN H. Surat Keterangan Bakteri



LABORATORIUM MIKROBIOLOGI
BAGIAN BIOMEDIK KEDOKTERAN GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAN JEMBER

SURAT KETERANGAN

No. 0120/MIKRO/S.KET/2017

Sehubungan dengan keperluan identifikasi mikroorganism, maka kami menerangkan bahwa mahasiswa berikut:


Nama : Mochammad Fahmi
NIM : 131610101026
Fakultas : Kedokteran Gigi
Keperluan : Identifikasi bakteri *Porphyromonas gingivalis*

Telah melakukan uji identifikasi terhadap isolah bakteri *Porphyromonas gingivalis* dengan menggunakan pengecatan Gram dan diamati secara mikroskopis menunjukkan sel bakteri basilus *Gram negatif* dan tidak terkontaminasi.


Jember, 22 Maret 2016

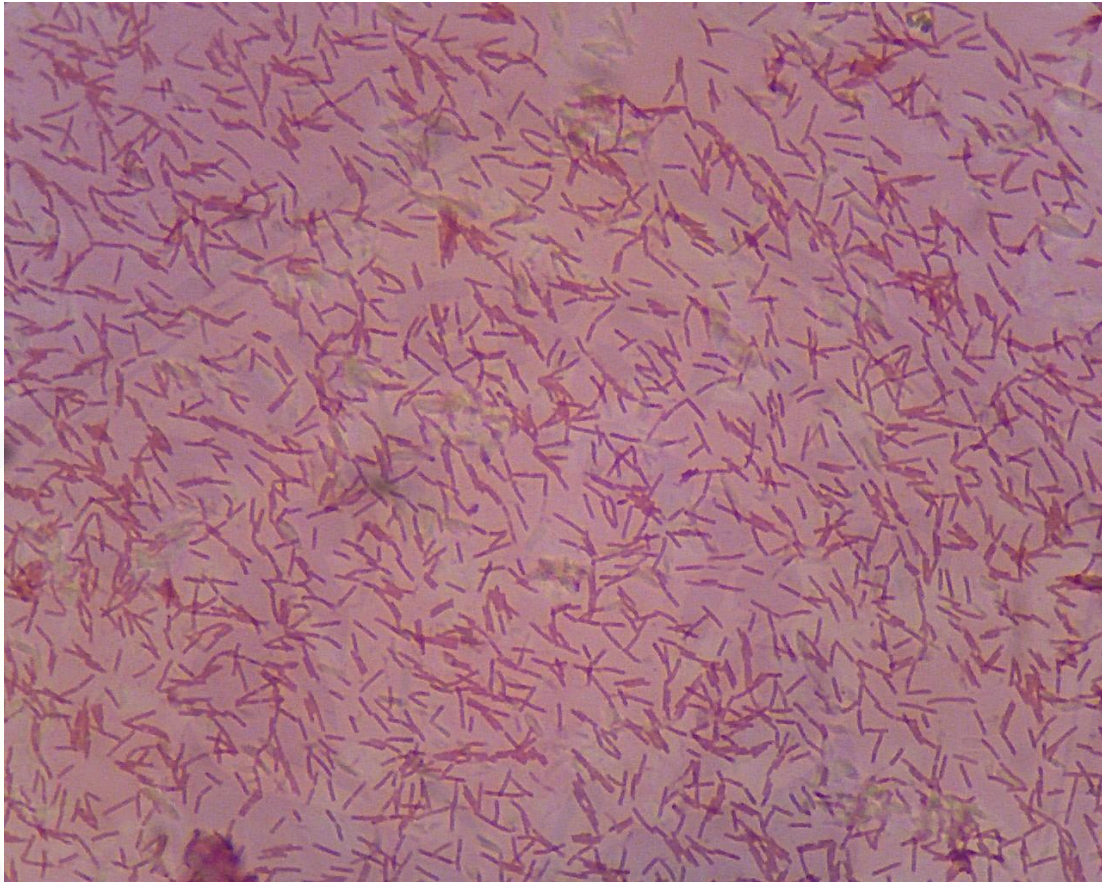
Mengetahui

Kepala Bagian Biomedik Kedokteran Gigi


Drg. Suharlina, M. Biotech
NIP. 197909262006042002

Penanggung Jawab Lab. Mikrobiologi


drg. Pujiana Endah Lestari, M.Kes
NIP. 197608092005012002



Gambar 13. Gambaran Sitologi *Phorpyromonas gingivalis* ATCC 33277 perbesaran 400x