



**EFEKTIVITAS SEDUHAN KOPI ROBUSTA (*Coffea robusta*) TERHADAP
JUMLAH SEL LIMFOSIT PADA DAERAH TARIKAN
LIGAMEN PERIODONTAL GIGI MARMUT
(*Cavia cobaya*) YANG DIINDUKSI GAYA
MEKANIS ORTODONTI**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan di Fakultas Kedokteran Gigi (S1) dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran Gigi Universitas Jember

Oleh :

Ginanjar Hidayatullah

151610101078

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

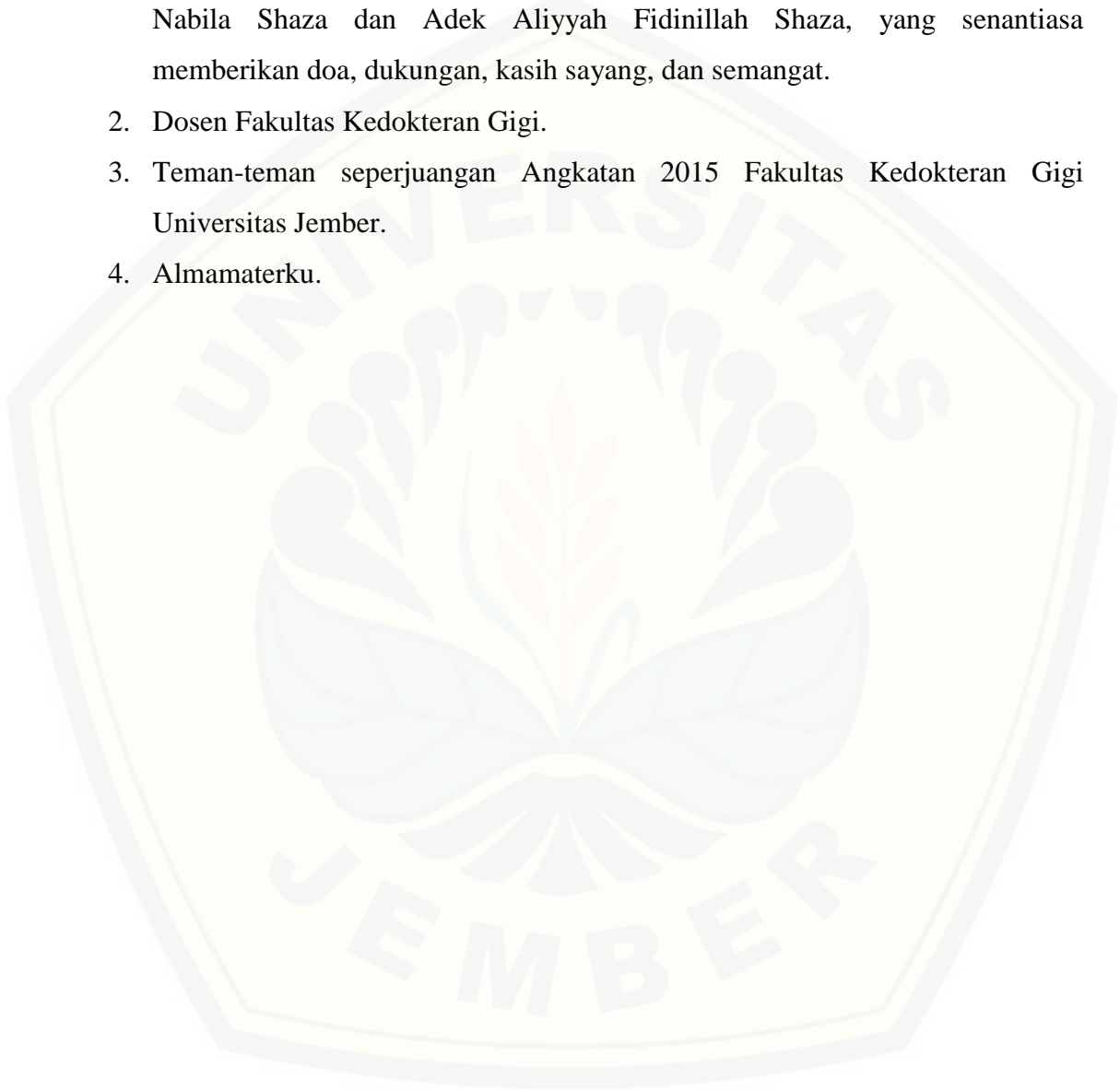
UNIVERSITAS JEMBER

2019

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Keluarga yang tercinta, Mama Harlina Wahdini, Ayah Perry Shaza, Kakak Nabila Shaza dan Adek Aliyyah Fidinillah Shaza, yang senantiasa memberikan doa, dukungan, kasih sayang, dan semangat.
2. Dosen Fakultas Kedokteran Gigi.
3. Teman-teman seperjuangan Angkatan 2015 Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
4. Almamaterku.



MOTTO

“Sesungguhnya bersama kesukaran itu ada kemudahan. Karena itu apabila engkau telah selesai (mengerjakan yang lain) dan kepada Allah, berharaplah.”

(QS. Al Insyirah: 6-8)^{*)}



^{*)} Departemen Agama Republik Indonesia. 2005. Al-Qur'an dan Terjemahannya. Bandung: PT Syamil Cipta Media.

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ginanjar Hidayatullah

NIM : 151610101078

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul **“Efek Seduhan Kopi Robusta (*Coffea robusta*) terhadap Jumlah Sel Limfosit pada Daerah Tarikan Ligamen Periodontal Gigi Marmut (*Cavia cobaya*) yang Diinduksi Gaya Mekanis Ortodonti”** adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 12 Mei 2019

Yang menyatakan,

Ginanjar Hidayatullah

NIM. 151610101078

SKRIPSI

**EFEKTIVITAS SEDUHAN KOPI ROBUSTA (*Coffea robusta*) TERHADAP
JUMLAH SEL LIMFOSIT PADA DAERAH TARIKAN
LIGAMEN PERIODONTAL GIGI MARMUT
(*Cavia cobaya*) YANG DIINDUKSI GAYA
MEKANIS ORTODONTI**

Oleh :

Ginanjari Hidayatullah

NIM. 151610101078

Pembimbing :

Dosen Pembimbing Utama : Prof. Dr. drg. Hj. Herniyati, M.Kes.

Dosen Pembimbing Pendamping : drg. Leliana Sandra Deviate Putri Sp.Orto.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Efek Seduhan Kopi Robusta (*Coffea Robusta*) terhadap Jumlah Sel Limfosit pada Daerah Tarikan Ligamen Periodontal Gigi Marmut (*Cavia Cobaya*) yang Diinduksi Gaya Mekanis Ortodonti” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada:

hari, tanggal : Rabu, 29 Mei 2019

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Dosen Penguji Ketua

Dr. drg. Sri Hernawati, M.Kes.
NIP. 197007052003122001

Dosen Pembimbing Utama

Prof. Dr. drg. Hj. Herniyati, M.Kes.
NIP. 195909061985032001

Dosen Penguji Anggota

drg. Happy Harmono M.Kes.
NIP. 196709011997021001

Dosen Pembimbing Pendamping

drg. Leliana Sandra D. P., Sp.Ort.
NIP. 197205171996012001

Mengesahkan

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember,

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

RINGKASAN

Efek Seduhan Kopi Robusta (*Coffea Robusta*) Terhadap Jumlah Sel Limfosit Pada Daerah Tarikan Ligamen Periodontal Gigi Marmut (*Cavia Cobaya*) Yang Diinduksi Gaya Mekanis Ortodonti; Ginanjar Hidayatullah, 151610101078; 2019: 60 halaman ; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Maloklusi adalah oklusi yang menyimpang dari keadaan normal, terdapat ketidak teraturan gigi atau penempatan yang salah dari lengkung gigi di luar rentang normal. Perawatan ortodonti adalah salah satu solusi untuk pasien yang memiliki maloklusi. Tujuan perawatan ini adalah memperbaiki susunan gigi geligi dan hubungan rahang, sehingga dapat tercapai fungsi oklusi yang normal dan estetis wajah yang baik. Perawatan ini dapat dilakukan menggunakan alat ortodonti. Alat ortodonti akan memberikan sejumlah gaya pada gigi dengan tepat, sehingga gigi dapat bergerak tanpa mengakibatkan kerusakan yang berlebih pada gigi, ligamen periodontal maupun pada tulang alveolar. Pergerakan gigi akibat gaya ortodonti yang diaplikasikan pada mahkota gigi akan diteruskan ke akar gigi, ligamen periodontal dan tulang alveolar.

Aplikasi alat ortodonti menyebabkan ligamen periodontal dan tulang alveolar akan membentuk daerah tekanan dan tarikan untuk *remodelling* tulang. Gaya mekanis yang dihasilkan oleh gaya ortodonti pada daerah tekanan akan merangsang pembentukan sel osteoklas untuk melakukan resorpsi tulang alveolar sehingga gigi geligi dapat bergerak. Sedangkan pada daerah tarikan, terjadi pembentukan tulang alveolar baru yang dilakukan oleh sel osteoblas. Tulang alveolar baru akan dikelilingi oleh tulang osteoid yang belum terkalsifikasi secara sempurna pada daerah tarikan, sehingga gigi geligi tidak cukup stabil setelah digerakkan. Oleh karena itu, harus terjadi keseimbangan proses *remodelling*. Pada proses *remodeling*, terdapat sel darah putih (leukosit). Limfosit akan memproduksi *transforming growth factor- β* (*TGF- β*) yang berperan dalam maturasi dan aktivasi osteoblas untuk meningkatkan sintesis kolagen, meningkatkan kecepatan aposisi tulang, serta menghambat diferensiasi osteoklas.

Kopi robusta (*Coffea robusta*) memiliki beberapa kandungan yaitu: kafein, polifenol, flavonoid, proantosianidin, kumarin, asam klorogenat, dan tokoferol.

Senyawa flavonoid dapat meningkatkan proliferasi limfosit khususnya sel T. Flavonoid berperan sebagai imunomodulator. Penelitian tentang potensi imunomodulator biji kopi robusta telah membuktikan bahwa terdapat peningkatan sel limfosit pada hari ke-14 setelah pemberian kopi robusta, dengan tujuan untuk menganalisis efek seduhan kopi robusta (*Coffea robusta*) terhadap jumlah sel limfosit pada daerah tarikan ligamen periodontal gigi marmut (*Cavia cobaya*) yang diinduksi gaya mekanis ortodonti.

Jenis penelitian yang dilakukan adalah eksperimental laboratoris dan rancangan penelitian yang digunakan adalah *The Post Test Only Control Group Design*. Penelitian ini dilakukan pada bulan Agustus 2018. Pada penelitian ini, populasi penelitiannya adalah hewan coba marmut jantan spesies *Cavia cobaya*. Sampel yang digunakan sebanyak 5 ekor pada masing – masing kelompok sehingga jumlah sampel yang digunakan sebanyak 20 ekor yang terbagi dalam 4 kelompok. Seluruh hewan coba akan dipasangkan bracket ortodonti yang telah di wealding kemudian diinsersikan ke gigi insisif kanan dan kiri RB marmut.

Hasil penelitian menunjukkan peningkatan sel limfosit pada seluruh kelompok perlakuan kopi, baik kelompok perlakuan kopi 2 minggu dan kelompok perlakuan kopi 3 minggu dibandingkan kelompok kontrol. Kelompok perlakuan kopi 3 minggu menunjukkan jumlah rata-rata sel limfosit yang paling tinggi yaitu sebesar 1,54; lebih banyak dibandingkan kelompok kontrol 3 minggu. Sedangkan, jumlah rata-rata sel limfosit paling rendah pada kelompok kontrol 2 minggu sebesar 0,75. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa pemberian seduhan kopi robusta selama 2 minggu dapat meningkatkan jumlah sel limfosit pada daerah tarikan ligamen periodontal gigi marmut (*Cavia cobaya*) jantan yang diinduksi gaya mekanis ortodonti dibandingkan tanpa pemberian seduhan kopi robusta.

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT, atas limpahan rahmat, hidayah serta karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi berjudul “Efek Seduhan Kopi Robusta (*Coffea Robusta*) terhadap Jumlah Sel Limfosit pada Daerah Tarikan Ligamen Periodontal Gigi Marmut (*Cavia cobaya*) yang Diinduksi Gaya Mekanis Ortodonti”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat penyelesaian pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

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

1. Allah SWT atas rahmat, ridho, karunia, dan hidayah-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini.
2. Kedua Orang Tua, Mama Harlina Wahdini dan Ayah Perry Shaza atas segala doa, kasih sayang, dan dukungan yang selalu diberikan.
3. Drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes, Sp. Pros., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Dr.drg. I Dewa Ayu Susilawati, M.Kes., selaku Wakil Dekan I, Dr. drg. Sri Hernawati, M.Kes. selaku Wakil Dekan II, dan drg. Izzata Barid, M. Kes. selaku Wakil Dekan III.
4. Prof. Dr. drg. Herniyati, M.Kes., selaku pembimbing utama, dan drg. Leliana Sandra Deviade Putri Sp.Orto., selaku pembimbing pendamping, atas bimbingan, pengarahan, waktu serta perhatian yang diberikan selama penyusunan skripsi ini.
5. Dr. drg. Sri Hernawati, M.Kes selaku penguji utama, dan drg. Happy Harmono, M.Kes selaku penguji pendamping atas saran yang bermanfaat dan bimbingan yang diberikan hingga terselesainya skripsi ini.
6. Dr. drg. I Dewa Ayu Susilawati, M.Kes., selaku dosen pembimbing akademik atas bimbingan dan motivasi selama ini.
7. Mas Agus dan Ibu Wahyu selaku Staf Laboratorium Bagian Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember atas bimbingan dan bantuan selama penelitian ini dilakukan.

8. Kakak dan adik saya tercinta, Nabila Shaza dan Aliyyah Fidinillah Shaza yang selalu memberikan doa dan semangat untuk menyelesaikan skripsi ini.
9. Sahabat-sahabat yang sangat Reizy Abdillah, Hardhika Oktarianda F, Dani Agam R dan M. Idris Kamali yang selalu ada memberikan doa, bantuan, semangat, dan dukungan.
10. *Partner* penelitian ini yaitu Rizky Putri Agma W dan Ari Intan atas bantuan yang telah diberikan dan kerja samanya selama penelitian.
11. Teman-teman Angkatan 2015, Mas Widy Jatmiko, Iga Nadya, Nurafifa D. P. dan Sakti Wibawa atas segala bantuan dan kerjasamanya selama menuntut ilmu semoga kita semua menjadi dokter gigi yang sukses di kemudian hari.
12. Teman-teman angkatan 2015 yang telah bersama dari awal perkuliahan sampai saat ini .
13. Almamater tercinta Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
14. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis menerima semua kritik dan saran yang membangun dari semua pihak untuk melengkapi dan menyempurnakan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak.

Jember, 12 Mei 2019

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
SKRIPSI	i
PERSEMBAHAN.....	ii
MOTTO	iii
LEMBAR PERNYATAAN.....	iv
SKRIPSI	v
PENGESAHAN.....	vi
RINGKASAN.....	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
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	5
2.1 Pergerakan Ortodonti	5
2.1.1 Teori Elektrisitas Biologis (<i>Biologic Electricity/</i> <i>Piezeoelectric</i>)	5
2.1.2 Teori Tekanan-tarikan (<i>pressure-tension</i>)	6

2.2 Remodelling Tulang Alveolar	7
2.3 Sel Limfosit	9
2.3.1 Definisi Sel Limfosit.....	9
2.3.2 Jenis Limfosit.....	10
2.4 Hubungan Sel Limfosit Terhadap Gaya Ortodonti	12
2.5 Kopi Robusta (<i>Coffea robusta</i>)	13
2.5.1 Klasifikasi Kopi Robusta (<i>Coffea robusta</i>)	13
2.5.2 Struktur Kopi Robusta (<i>Coffea Robusta</i>).....	14
2.5.3 Habitat Kopi Robusta (<i>Coffea robusta</i>).....	15
2.5.4 Kandungan Kopi Robusta (<i>Coffea robusta</i>)	15
2.6 Efek Flavonoid terhadap Sel Limfosit	19
2.7 Kerangka Konsep Penelitian	20
2.8 Hipotesis	20
BAB 3. METODE PENELITIAN	21
3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	21
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	21
3.3 Populasi dan Sampel Penelitian	21
3.3.1 Populasi Penelitian.....	21
3.3.2 Sampel Penelitian	22
3.4 Identifikasi Variabel Penelitian	24
3.4.1 Variabel Bebas	24
3.4.2 Variabel Terikat	24
3.4.3 Variabel Terkendali	24
3.5 Definisi Operasional	24
3.5.1 Seduhan Kopi.....	24

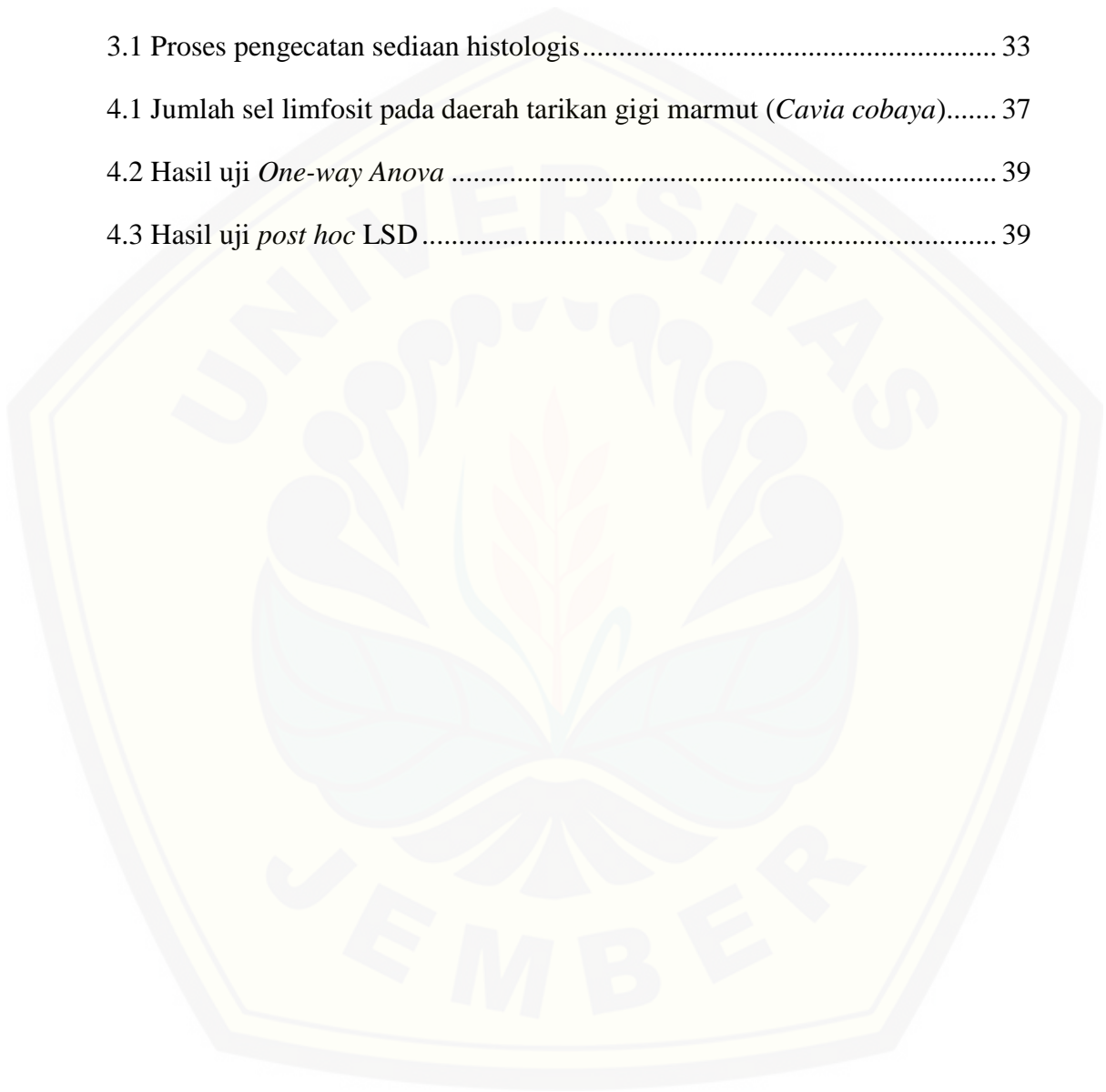
3.5.2 Induksi Gaya Mekanis Ortodonti.....	24
3.5.3 Sel Limfosit.....	25
3.6 Bahan dan Alat Penelitian	25
3.6.1 Bahan Penelitian	25
3.6.2 Alat Penelitian.....	26
3.7 Konversi Perhitungan Dosis.....	27
3.8 Prosedur Penelitian.....	27
3.8.1 Persiapan <i>Ethical Clearance</i>	27
3.8.2 Persiapan Hewan Coba	28
3.8.3 Pembagian Kelompok Perlakuan.....	28
3.8.4 Persiapan Seduhan Kopi	28
3.8.5 Persiapan Alat Ortodonti	29
3.8.6 Cara Kerja Penelitian	29
3.9 Pengamatan dan Penghitungan Jumlah Sel Limfosit.....	34
3.10 Analisis Data.....	34
3.11 Alur Penelitian	35
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	36
4.1 Hasil Penelitian.....	36
4.2 Analisis Data.....	38
4.3 Pembahasan.....	40
BAB 5. PENUTUP	43
5.1 Kesimpulan.....	43
5.2 Saran	43
DAFTAR PUSTAKA.....	44
LAMPIRAN	50

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Daerah tekanan dan tarikan pada ligamen periodontal dengan aplikasi gaya ortodontik	5
2.2 Mekanisme resorpsi tulang alveolar pada <i>remodelling</i> tulang.....	8
2.3 Mekanisme pembentukan tulang alveolar pada <i>remodelling</i> tulang.....	9
2.4 Sel limfosit	12
2.5 Migrasi Leukosit Pada Pergerakan Gigi Akbibat Gaya Ortodonti.....	12
2.6 Penampang melintang buah kopi	14
2.7 Struktur kimia kafein.....	17
2.8 Struktur senyawa flavonoid	18
3.1 <i>Open coil spring</i>	24
3.2 Braket ortodonti yang telah diwelding pada <i>matrix band</i>	29
3.3 Pemasangan alat ortodonti	30
4.1 Gambaran histologis potongan transversal gigi insisif marmut (<i>Cavia cobaya</i>).....	36
4.2 Gambaran histologis sel limfosit pada daerah tarikan gigi marmut (<i>Cavia cobaya</i>).....	37
4.3 Diagram rata-rata jumlah sel limfosit	38
4.4 Struktur senyawa flavonoid	41

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Komposisi biji kopi Robusta.....	16
3.1 Proses pengecatan sediaan histologis.....	33
4.1 Jumlah sel limfosit pada daerah tarikan gigi marmut (<i>Cavia cobaya</i>).....	37
4.2 Hasil uji <i>One-way Anova</i>	39
4.3 Hasil uji <i>post hoc</i> LSD.....	39



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
Lampiran A. Surat keterangan ethical clearance.....	50
Lampiran B. Surat ijin laboratorium biomedik.....	51
Lampiran C. Penghitungan konversi dosis manusia ke marmut.....	52
Lampiran D. Hasil penghitungan jumlah sel limfosit.....	53
Lampiran E. Analisis data.....	54
Lampiran F. Gambaran histologis sel limfosit pada daerah tarikan.....	56
Lampiran G. Gambaran klinis gigi insisif marmut.....	57
Lampiran H. Tahan perlakuan.....	58
Lampiran I. Alat dan bahan.....	61

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Maloklusi adalah oklusi yang menyimpang dari keadaan normal, terdapat ketidak teraturan gigi atau penempatan yang salah dari lengkung gigi di luar rentang normal (Graber, 2017). Melakukan perawatan ortodonti menjadi salah satu solusi untuk pasien yang memiliki maloklusi. Perawatan ini bertujuan memperbaiki susunan gigi - geligi dan hubungan rahang, sehingga dapat tercapai fungsi oklusi yang normal dan estetis wajah yang baik (Wahyuningsih *et al.*, 2014). Perawatan ortodonti dapat dilakukan dengan memasang alat ortodonti kepada pasien. Akan tetapi durasi perawatan ortodonti yang lama menjadi suatu pertimbangan bagi dokter gigi maupun bagi pasien itu sendiri. Penelitian yang dilakukan oleh Melo *et al.* (2013), menyebutkan bahwa rata-rata durasi perawatan ortodonti pada pasien usia rata-rata 27,7 tahun memerlukan waktu sekitar 32,2 bulan untuk mencapai hasil yang diinginkan. Durasi waktu yang relatif lama dalam perawatan ortodonti disebabkan oleh banyak faktor, seperti motivasi pasien dalam menjalankan perawatan ortodonti, kekooperatifan pasien, kesehatan jaringan rongga mulut pasien, dan respon tubuh pasien terhadap penggunaan alat ortodonti (Souza *et al.*, 2013).

Alat ortodonti akan memberikan sejumlah gaya pada gigi dengan tepat, sehingga gigi dapat bergerak tanpa mengakibatkan kerusakan yang berlebih pada gigi, ligamen periodontal maupun pada tulang alveolar. Pergerakan pada gigi terjadi oleh karena pemberian gaya ortodonti yang diaplikasikan pada mahkota gigi. Gaya tersebut kemudian diteruskan ke akar gigi, ligamen periodontal dan tulang alveolar (Utari, 2007). Aplikasi gaya ortodonti menyebabkan ligamen periodontal dan tulang alveolar akan membentuk daerah tekanan dan tarikan untuk proses *remodelling* tulang (Iskandar, 2010; Utari, 2007). Gaya mekanis yang dihasilkan oleh gaya ortodonti pada daerah tekanan akan merangsang pembentukan sel osteoklas untuk melakukan resorpsi tulang alveolar sehingga gigi geligi dapat bergerak. Sedangkan pada daerah tarikan, terjadi pembentukan tulang alveolar baru yang dilakukan oleh sel osteoblas (Amin, 2016; Utari, 2007).

Pembentukan tulang alveolar yang baru akan dikelilingi oleh tulang osteoid yang belum terkalsifikasi secara sempurna pada daerah tarikan, sehingga gigi geligi tidak cukup stabil setelah digerakan dan cenderung memperlambat dari pergerakan gigi ketika menggunakan alat ortodonti (Iswari S, 2012). Hal ini disebut dengan *relaps* (Liu, 2017). Salah satu faktor yang berpengaruh terhadap terjadinya relaps adalah ketidakseimbangan *remodelling* tulang, oleh karena itu harus terjadi keseimbangan pada *remodelling* tulang untuk mencegah terjadinya *relaps* (Isola *et al.*, 2016).

Pada proses *remodelling* tulang, terdapat sel darah putih (leukosit). Salah satu golongan leukosit yang berperan penting dalam proses *remodelling* tulang adalah limfosit (Isola *et al.*, 2016). Limfosit akan memproduksi *transforming growth factor- β* (*TGF- β*) yang berperan dalam maturasi dan aktivasi osteoblas untuk meningkatkan sintesis kolagen, meningkatkan kecepatan aposisi tulang serta menghambat deferensiasi osteoklas (Buckwalter J, 2008; Wiss, 2011)

Minuman kopi dikonsumsi sekitar 2,25 milyar gelas setiap hari diseluruh dunia (Ponte, 2002). Pada tahun 2013, *International Coffee Organization* (ICO) memperkirakan bahwa kebutuhan bubuk kopi dunia sekitar 8,77 juta ton (ICO, 2015). Jika dilihat dari jenis kopi yang ada di Indonesia, maka kopi robusta mendominasi produksi kopi Indonesia di tahun 2014. Dari 643.857 ton produksi kopi Indonesia, sebanyak 73,57% atau 473.672 ton adalah kopi robusta sementara sisanya sebanyak 26,43% atau 170.185 ton adalah kopi arabika (Kementrian Pertanian, 2016).

Kopi robusta (*Coffea robusta*) memiliki beberapa kandungan berupa kafein, polifenol, flavonoid, proantosianidin, kumarin, asam klorogenat, dan tokoferol (Harahap, 2017). Kopi robusta mengandung jumlah polifenol lebih banyak dibandingkan pada biji kopi arabika (Ferrazzano *et al.*, 2011). Kadar polifenol pada biji kopi arabika bervariasi antara 6 - 7 %, sedangkan pada robusta sekitar 10 % (Septianus, 2011). Selain itu, kandungan polifenol yang berada pada kopi robusta berupa asam klorogenat memiliki fungsi sebagai antiinflamasi dan antioksidan yang dapat mempercepat proses penyembuhan (Kadapi, 2015).

Polifenol memiliki 3 sub kelas antara lain: flavonoid, asam fenolik, dan polifenol lainnya (non flavonoid) (Sabir, 2003).

Sebuah penelitian yang dilakukan secara *in vivo* pada mencit membuktikan bahwa senyawa flavonoid dapat meningkatkan proliferasi limfosit khususnya limfosit T. Kandungan flavonoid diketahui berperan sebagai imunomodulator (Nugroho, 2012). Penelitian tentang potensi imunomodulator biji kopi robusta juga menyatakan bahwa adanya peningkatan sel limfosit pada hari ke-14 setelah pemberian kopi robusta (Budirahardjo, 2013).

Berdasarkan uraian tersebut, peneliti tertarik untuk mengetahui efektivitas seduhan kopi robusta (*Coffea robusta*) terhadap jumlah sel limfosit pada daerah tarikan ligamen periodontal gigi marmut (*Cavia cobaya*) yang diinduksi gaya mekanis ortodonti.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah efektivitas seduhan kopi robusta (*Coffea robusta*) dapat meningkatkan jumlah sel limfosit pada daerah tarikan ligamen periodontal gigi marmut (*Cavia cobaya*) yang diinduksi gaya mekanis ortodonti?

1.3 Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui efektivitas seduhan kopi robusta (*Coffea robusta*) terhadap jumlah sel limfosit pada daerah tarikan ligamen periodontal gigi marmut (*Cavia cobaya*) yang diinduksi gaya mekanis ortodonti.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah sebagai berikut:

- 1.4.1 Hasil penelitian ini dapat memberikan informasi tentang efektivitas pemberian seduhan kopi robusta (*Coffea robusta*) terhadap jumlah sel limfosit pada daerah tarikan ligamen periodontal gigi marmut (*Cavia cobaya*) yang diinduksi gaya mekanis ortodonti.
- 1.4.2 Hasil dari penelitian ini dapat dijadikan acuan untuk dijadikan penelitian berikutnya.

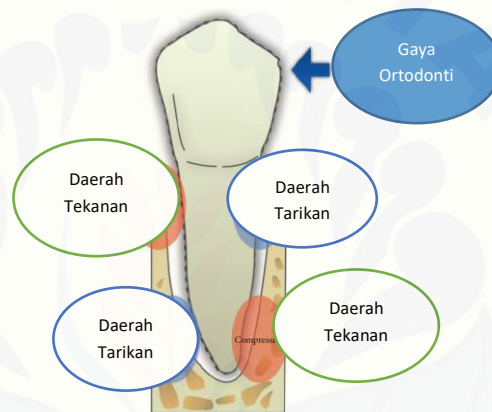
- 1.4.3 Hasil penelitian tentang efektivitas sudahan kopi robusta (*Coffea robusta*) diharapkan dapat meningkatkan *remodelling* pada tulang alveolar sehingga dapat mempercepat durasi perawatan ortodonti.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pergerakan Ortodonti

Pergerakan gigi yang diakibatkan gaya ortodonti dipengaruhi oleh *remodelling* tulang alveolar pada jaringan periodontal. Pergerakan gigi ortodonti terjadi karena adanya proses keseimbangan antara aposisi tulang pada daerah tarikan dan resorpsi tulang pada daerah tekanan (D'Apuzzo, 2013). Gambar 2.1 menunjukkan dimana posisi dari daerah tekanan dan tarikan pada ligamen periodontal yang diinduksi gaya ortodonti.



Gambar 2.1 Daerah tekanan dan tarikan pada ligamen periodontal dengan aplikasi gaya ortodontik (Sumber: Fabrizia d'Apuzzo *et al.*, 2013)

Terdapat dua teori tentang mekanisme pergerakan gigi secara ortodonti yaitu 1) elektrisitas biologis (*biologic electricity*) dan 2) teori tekanan-tarikan (*pressure-tension*) yang terjadi pada ligamen periodontal. Ada kemungkinan juga dimana kedua teori ini bersama - sama berperan dalam pergerakan gigi yang di induksi gaya ortodonti (Rahardjo, 2012).

2.1.1 Teori Elektrisitas Biologis (*Biologic Electricity/Piezeoelectric*)

Teori ini berhubungan dengan perubahan metabolisme pada tulang yang dikontrol sinyal elektrik yang terjadi ketika tulang alveolar berubah bentuk karena tekanan yang diakibatkan oleh gaya ortodonti. Tulang adalah massa atau bahan piezoelektrik, yaitu menghasilkan loncatan elektrik permukaan bila terjadi tekanan

(Rahardjo, 2012). Ketika alat ortodonti diaktivasi, gaya yang diberikan pada gigi disalurkan ke semua jaringan di sekelilingnya sehingga gigi akan bergerak lebih besar dibandingkan dengan lebar ligament periodontal yang menyebabkan terjadinya defleksi pada tulang alveolar (Amin, 2016).

Defleksi pada tulang juga memicu keluarnya potensial elektrik pada permukaan tulang atau piezoelektrik yang sering ditemukan pada material kristalin. Deformasi atau perubahan bentuk struktur kristal menghasilkan arus listrik seperti elektron yang berpindah dari molekul kristal yang satu ke molekul kristal yang lain. Apabila struktur kristal mengalami deformasi, elektron bermigrasi sehingga terjadi aliran listrik. Jika terdapat tekanan maka struktur kristal masih stabil dan tidak terjadi perpindahan elektron, namun jika tekanan dilepaskan, kristal akan kembali ke bentuk semula dan aliran elektron akan terjadi pada arah yang berlawanan (Amin, 2016).

Sumber struktur kristal tidak hanya pada mineral tulang, tetapi terdapat juga pada kolagen, hidroksiapatit, batas antara kolagen hidroksiapatit dan mukopolisakarida pada substansi dasar. Pada saat gigi diberi tekanan, tulang alveolar di sekitarnya akan mengalami pergerakan. Daerah yang cekung diasosiasikan dengan arus negatif dan menyebabkan deposisi tulang sedangkan daerah yang cembung diasosiasikan dengan arus positif dan menyebabkan resorpsi tulang. Daerah yang cekung diasosiasikan dengan arus negatif dan menyebabkan deposisi tulang sedangkan daerah yang cembung diasosiasikan dengan arus positif dan menyebabkan resorpsi tulang (Amin, 2016).

2.1.2 Teori Tekanan-tarikan (*pressure-tension*)

Sandstedt, Oppenheim dan Scwharz menyatakan bahwa jika gigi mendapatkan gaya ortodonti maka akan terjadi daerah tekanan dan tarikan. Daerah tekanan adalah daerah periodonsium yang mengalami tekanan karena gigi bergerak mendekat dan daerah tarikan adalah daerah periodonsium yang mengalami tarikan karena gigi bergerak menjauh. Daerah tekanan akan mengalami resorpsi tulang sedangkan daerah tarikan akan mengalami aposisi tulang (Amin, 2016).

Adanya tekanan dan tarikan pada ligamen periodontal menyebabkan perubahan kimiawi sebagai stimulus dari perubahan seluler pada pergerakan gigi. Perubahan aliran darah pada ligamen periodontal karena adanya tekanan yang lama menyebabkan gigi bergeser dalam soket gigi dan mempengaruhi ligamen periodontal. Aliran darah dan pasokan oksigen berkurang pada daerah ligamen periodontal yang tertekan, sedangkan pada daerah ligamen periodontal yang tertarik tekanan darah akan tetap atau bertambah (Rahardjo, 2012).

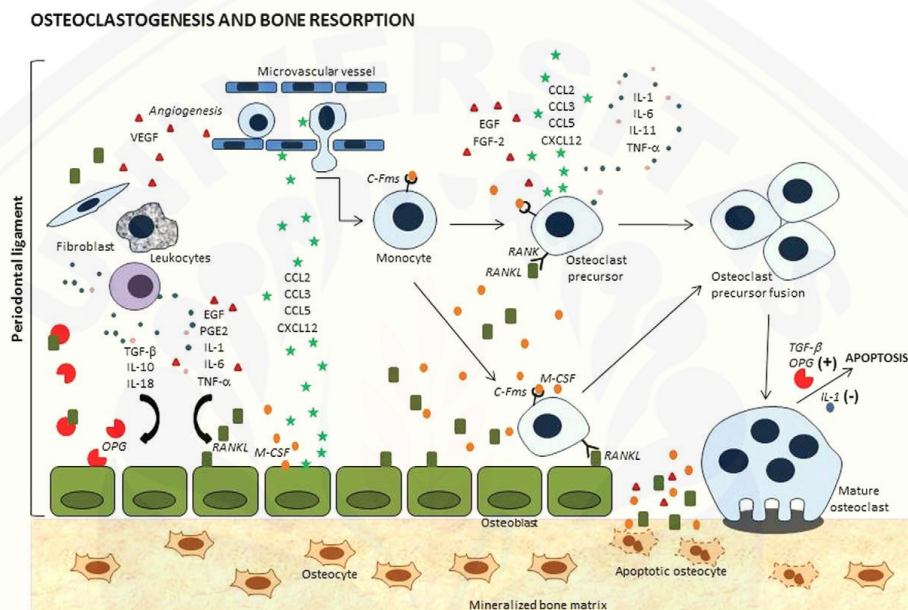
2.2 Remodelling Tulang Alveolar

Pergerakan gigi ortodonti terjadi karena adanya proses keseimbangan antara aposisi tulang pada daerah tarikan dan resorpsi tulang pada daerah tekanan, hal ini dinamakan *remodelling* tulang (d'Apuzzo, 2013). Pada fase awal pemasangan alat ortodonti akan terjadi respon inflamasi akut. Terlihat dari adanya dilatasi pembuluh darah dan keluarnya leukosit ke ligamen periodontal (Isola, 2016).

Mekanisme dari resorpsi tulang alveolar pada daerah tekanan berhubungan dengan pelepasan mediator inflamasi seperti *prostaglandin E* (PGE) dan *interleukin-1* (IL-1) yang diproduksi oleh leukosit. PGE dan IL-1 berinteraksi dengan sel-sel tulang secara langsung maupun tidak langsung melalui sel-sel terdekat di sekitar sel tulang yaitu berupa monosit, makrofag, limfosit dan fibroblas. Hasil interaksi tersebut memicu produksi sitokin dan *growth factors* (Isola, 2016).

Selain pelepasan mediator inflamasi berupa PGE dan IL-1, terdapat juga beberapa mediator inflamasi lain yang berperan dalam resorpsi tulang pada daerah tekanan antara lain IL-6, IL-11, dan TNF- α . IL-1 dan TNF- α menstimulasi osteoblas untuk memproduksi kemokin berupa CCL3, CCL2, dan CCL5. Kemokin-kemokin tersebut bergabung satu sama lain dengan CXCL12 dan sitokin (RANKL dan TNF- α) untuk menginduksi kemotaksis prekursor osteoklas menuju ke daerah yang mengalami osteolisis, dimana sel-sel prekursor osteoklas akan berdiferensiasi menjadi sel osteoklas yang matang, melalui jalur *osteoblast-osteoclast communication* (Andrade *et al.*, 2012).

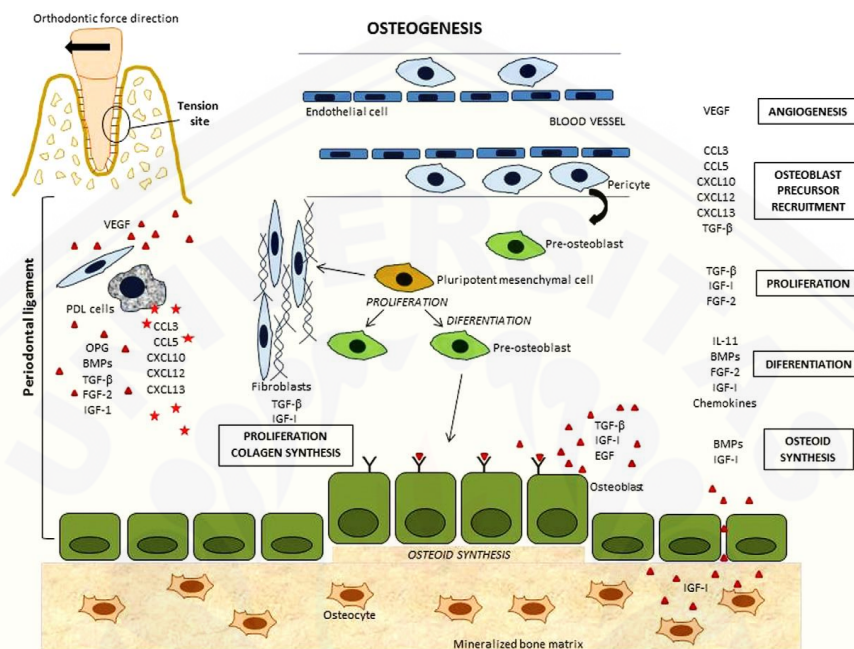
Proses diferensiasi terjadi apabila PGE dan sitokin - sitokin (IL-1, IL-6, dan TNF- α) menstimulasi osteoblas atau sel-sel stromal secara langsung maupun tidak langsung untuk menghasilkan regulator utama pada diferensiasi osteoklas yaitu: M-CSF dan RANKL. Proses ini dapat dicapai ketika M-CSF dan RANKL berikatan dengan reseptor spesifik yaitu c-Fms dan RANK, yang keduanya diekspresikan pada prekursor osteoklas. Proses ini disebut dengan osteoklastogenesis (Gambar 2.2) (Andrade *et al.*, 2012).



Gambar 2.2 Mekanisme resorpsi tulang alveolar pada *remodelling* tulang
(Sumber: Andrade, 2012)

Sedangkan pada daerah tarikan terjadi pembentukan tulang yang ditandai diferensiasi osteoblas. Sel-sel ligamen periodontal yang tertarik akibat induksi dari gaya ortodonti akan menstimulasi replikasi sel dengan cara melepaskan berbagai macam kemokin, sitokin dan *growth factors*. Stem sel bermigrasi dari dinding pembuluh darah, dan sel-sel stem mesenkimal berdeferensiasi menjadi sel sel pre-osteoblastik setelah induksi gaya ortodonti. Kemokin, CCL3, CCL5, CXCL10, CXCL12 dan CXCL13 menginduksi pemanggilan prekursor osteoblas, proliferasi, diferensiasi dan kelangsungan hidup. Osteoblas dan *Osteocyte Express Growth Factors* (TGF- β dan IGF-1) menginduksi proliferasi dan diferensiasi dari prekursor osteoblas dan juga mensintesis kolagen, sehingga terjadi proses

mineralisasi dari tulang baru oleh osteoblas yang matang. Pada daerah tarikan, osteoblas dan fibroblas mengekspresi VEGF yang menstimulasi angiogenesis yang berperan juga dalam pembentukan tulang atau osteogenesis (Gambar 2.3) (Andrade *et al.*, 2012).



Gambar 2.3 Mekanisme pembentukan tulang alveolar pada *remodelling* tulang
(Sumber: Andrade, 2012)

2.3 Sel Limfosit

2.3.1 Definisi Sel Limfosit

Limfosit merupakan sel utama pada sistem getah bening yang memiliki ukuran relatif lebih kecil daripada makrofag dan neutrofil. Neutrofil memiliki umur tidak lebih dari 7-10 hari (Ibad, 2008). Limfosit memiliki rentang usia sekitar 100-300 hari. Selama periode ini, sebagian besar dari sel-sel ini secara kontinu beredar di antara jaringan limfoid, limfe, dan darah dengan menghabiskan waktu beberapa jam saja di dalam darah. Dengan demikian, hanya sebagian kecil limfosit total yang transit di darah setiap waktu tertentu (Sherwood, 2001).

Limfosit merupakan suatu famili sel yang berbentuk sferis dengan karakteristik morfologi yang sama. Limfosit dapat diklasifikasikan menjadi beberapa kelompok berdasarkan molekul-molekul permukaan yang mencolok

(penanda), yang dapat dikenali dengan metode imunositokimia. Limfosit juga memiliki berbagai peran fungsional, dan semuanya berhubungan dengan reaksi imun dalam pertahanan terhadap serangan mikroorganisme, makro molekul asing, dan sel-sel kanker (Junqueira, *et al.*, 2007).

Limfosit merupakan sel berbentuk bulat di dalam darah manusia. Sel ini mempunyai diameter yang bervariasi antara 6 sampai 8 μm , walaupun beberapa diantaranya mungkin lebih besar. Kebanyakan hanya lebih besar sedikit dibandingkan eritrosit. Jumlah limfosit adalah 20 sampai 35 persen dari leukosit darah normal. Pada jaringan ikat, limfosit merupakan sel yang paling kecil diantara sel bebas, kebanyakan berukuran hanya 7 sampai 8 μm . Mereka memiliki inti bulat, gelap yang hampir memenuhi seluruh sel. Di sekitar inti terdapat sedikit sitoplasma homogen yang basofil (Leeson *et al.*, 1996).

2.3.2 Jenis Limfosit

Menurut Fawcet (2002), berdasarkan diameter dan jumlah relatif sitoplasmanya limfosit dibagi menjadi tiga, yaitu:

a. Limfosit kecil

Limfosit kecil mendominasi dalam darah, memiliki inti sferis yang terlihat lekukan kecil pada salah satu intinya yang bulat, kromatinnya padat dan tampak sebagai gumpalan kasar, sehingga inti lebih terlihat gelap. Sitoplasmanya sangat sedikit dan pada hapusan darah tampak sebagai tepian tipis disekitar inti. Limfosit hidup bersifat motil dan dapat menyusup diantara sel-sel endotel pembuluh darah. Mereka juga mampu bermigrasi melalui epitel basal lainnya (Junqueira *et al.*, 2007). Berdasarkan fungsinya, limfosit kecil digolongkan dalam dua kelompok besar yaitu Limfosit-T dan Limfosit-B.

Limfosit-T berasal dari dalam sel induk sumsum tulang yang bermigrasi di timus. Kemudian berdiferensiasi menjadi limfosit T dewasa dan meninggalkan timus. Sel limfosit T *mature* ikut aliran darah dan aliran limfe torakal dan juga berada di jaringan limfoid perifer. Limfosit T ini mengarahkan beragam unsur imunitas selular juga penting untuk menginduksi imunitas humoral yang berasal dari sel B terhadap antigen. Limfosit T berjumlah 60%-70% dari limfosit total

yang berada dalam sirkulasi darah dan juga merupakan tipe limfosit utama dalam selaput periarteriol limpa (Robbins *et al.*, 2007).

Limfosit T bertanggung jawab dalam pembentukan limfosit teraktivasi yang dapat membentuk imunitas diperantai sel. Ketika terpapar antigen yang sesuai, limfosit T akan berproliferasi dan melepaskan banyak limfosit T yang teraktivasi, yang kemudian akan masuk kedalam sirkulasi dan disebarkan keseluruh tubuh, melewati dinding kapiler masuk kedalam cairan limfe dan darah, dan bersirkulasi keseluruh tubuh demikian seterusnya, kadang-kadang berlangsung sampai berbulan-bulan atau bahkan bertahun-tahun (Guyton and Hall, 2008).

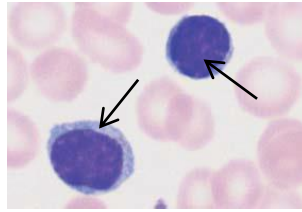
Limfosit B merupakan kelompok limfosit yang bertanggung jawab dalam pembentukan antibodi yang memberikan imunitas humoral. Limfosit B ini mula-mula dibentuk dalam hati selama masa pertengahan kehidupan janin dan sesudah dilahirkan. Kemudian sel ini bermigrasi ke jaringan limfoid di seluruh tubuh dimana mereka menempati daerah yang sedikit lebih kecil daripada limfosit-T (Guyton and Hall, 2008).

b. Limfosit Sedang

Menurut Bajpai (1989) limfosit sedang mempunyai ukuran 10-12 μm , dengan inti besar, eukariotik, sitoplasma lebih banyak dan mengandung retikulum endoplasma.

c. Limfosit besar

Limfosit besar memiliki inti yang sedikit lebih besar dari limfosit kecil (Gambar 2.4). Intinya bulat atau bengkok kecil pada salah satu sisinya. Pada mulanya sangat sulit membedakan limfosit besar dan monosit yang sepintas agak mirip. Namun pada umumnya limfosit besar lebih sedikit kecil dari monosit dan jumlah sitoplasmanya tidak sebanyak pada monosit. Meskipun intinya mungkin berlekuk kecil, tidak pernah berbentuk ginjal seperti pada monosit. Apabila dibandingkan dengan limfosit kecil, limfosit besar memiliki lebih banyak sitoplasma dan tingkat basofilia sitoplasma yang seimbang (Junqueira *et al.*, 2007).

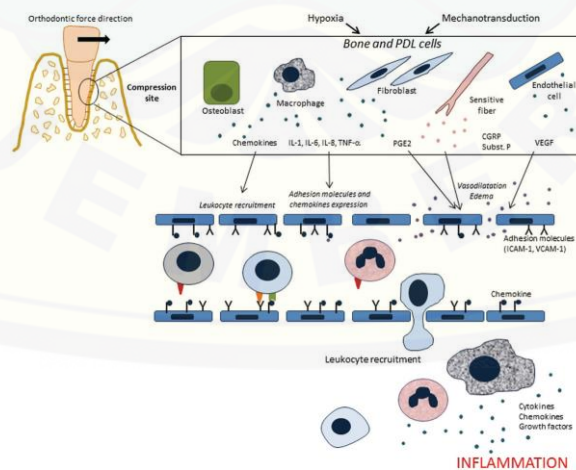


Gambar 2.4 Tanda panah menunjukkan sel limfosit (Sumber: Theml *et al.*, 2004)

2.4 Hubungan Sel Limfosit Terhadap Gaya Ortodonti

Ketika gaya ortodonti diaplikasikan pada gigi maka akan terjadi perubahan pada jaringan periodontal (Andrade, 2012). Gaya mekanis yang dihasilkan oleh gaya ortodonti pada daerah tekanan akan merangsang pembentukan sel osteoklas untuk melakukan resorpsi tulang alveolar sehingga gigi geligi dapat bergerak. Sedangkan pada daerah tarikan, terjadi pembentukan tulang alveolar baru yang dilakukan oleh sel osteoblas (Amin, 2016; Utari, 2007).

Pada area tekanan ditandai dengan adanya kerusakan sel dan kerusakan vaskuler yang mengakibatkan iskemia dan hipoksia pada jaringan. Hal ini memicu terjadinya respon inflamasi akut yang ditandai dengan adanya vasodilatasi dan migrasi leukosit dari kapiler. Proses migrasi leukosit ini akan memicu ekspresi IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α , dan VEGF pada ligamen periodontal. IL-1 dan TNF- α akan memicu aktivasi osteoklas dan apoptosis osteosit, hal ini yang mengawali adanya proses resorpsi tulang alveolar pada daerah tekanan (Gambar 2.5) (Andrade, 2012).



Gambar 2.5 Migrasi leukosit pada pergerakan gigi akibat gaya ortodonti (Sumber: Andrade, 2012)

IL-1 β dan TNF- α akan mengaktifkan mikrosirkulasi sel endotelial dan meningkatkan permeabilitas vaskuler sehingga meningkatkan migrasi leukosit seperti monosit, makrofag dan limfosit (Andrade, 2012). Limfosit akan memproduksi *transforming growth factor- β* (TGF- β) yang berperan dalam hal maturasi dan aktivasi osteoblas sehingga terbentuk tulang alveolar baru pada daerah tarikan (Buckwalter J, 2008; Wiss, 2011).

Pembentukan tulang alveolar baru ditandai oleh adanya osteoid yang belum terkalsifikasi secara sempurna, hal ini menyebabkan gigi geligi tidak cukup stabil setelah digerakkan dan gigi geligi akan cenderung untuk kembali ke posisi semula sehingga tujuan dari alat ortodonti untuk menghilangkan maloklusi tidak tercapai dengan baik. Keadaan ini akan menyebabkan terjadinya *relaps* (Iswari S, 2012).

Salah satu faktor penting pada proses *remodelling* tulang adalah limfosit. Limfosit akan memproduksi *transforming growth factor- β* (TGF- β) yang berperan dalam maturasi dan aktivasi osteoblas untuk meningkatkan sintesis kolagen, meningkatkan kecepatan aposisi tulang serta menghambat deferensiasi osteoklas (Buckwalter J, 2008; Wiss, 2011).

2.5 Kopi Robusta (*Coffea robusta*)

2.5.1 Klasifikasi Kopi Robusta (*Coffea robusta*)

Berdasarkan taksonomi tumbuhan, kopi robusta (*Coffea robusta*) diklasifikasikan sebagai berikut (Rahardjo, 2012):

Kingdom	: Plantae
Sub Kingdom	: Tracheobionta
Super Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub Kelas	: Asteridae
Ordo	: Rubiales
Famili	: Rubiaceae
Genus	: Coffea
Spesies	: Coffea canephora

2.5.2 Struktur Kopi Robusta (*Coffea Robusta*)

Buah kopi yang sudah masak umumnya berwarna kuning kemerahan sampai merah tua (merah kehitaman bila lewat masak), tetapi ada pula yang belum cukup tua sudah berwarna kuning kemerahan pucat yaitu buah kopi yang terserang hama bubuk buah kopi. Buah kopi biasanya memiliki dua keping biji, tetapi ada juga yang hanya mengandung satu keping biji saja bahkan ada yang tidak mempunyai keping biji sama sekali yang disebut kopi gabug (Kustantini, 2014). Buah kopi terdiri atas lima bagian, seperti terlihat pada Gambar 2.6, yaitu :

- Lapisan kulit luar (*exocarp/epicarp*) atau yang disebut juga dengan kulit buah, merupakan bagian terluar dari buah kopi.
- Lapisan daging (*mesocarp*), disebut juga dengan daging buah, merupakan bagian yang berasa agak manis, dan mempunyai kandungan air yang cukup tinggi. Persentase gabungan antara *epicarp* dan *mesocarp* adalah sebesar 40,17% dari buah kopi.
- Lapisan kulit tanduk (*endoscarp*), merupakan lapisan kulit kopi paling keras, tersusun oleh selulosa dan hemiselulosa.
- Lapisan kulit ari (*spermoderm*), merupakan kulit yang tipis dan menempel pada biji kopi.
- Keping biji (*endosperm*), merupakan bagian buah kopi yang diambil manfaatnya untuk diolah menjadi kopi bubuk. Persentase *endosperm* adalah 49,42% dari buah kopi.



Gambar 2.6 Penampang melintang buah kopi (Sumber: web.ipb.ac.id)

2.5.3 Habitat Kopi Robusta (*Coffea robusta*)

Kopi merupakan salah satu jenis tanaman perkebunan yang sudah lama dibudidayakan dan memiliki nilai ekonomis yang lumayan tinggi. Kopi berasal dari Afrika, yaitu daerah pegunungan di Etiopia. Namun, kopi sendiri baru dikenal oleh masyarakat dunia setelah tanaman tersebut dikembangkan di luar daerah asalnya. (Rahardjo, 2012). Provinsi Jawa Timur termasuk ke dalam lima provinsi penghasil kopi robusta terbesar di Indonesia, salah satunya di Kabupaten Jember. Data Kementerian Pertanian menunjukkan bahwa Kabupaten Jember mampu menghasilkan sebanyak 2.532 ton biji kopi robusta tiap tahunnya (Kementerian Pertanian, 2016).

Kopi di Indonesia saat ini umumnya dapat tumbuh baik pada ketinggian tempat lebih dari 700 m di atas permukaan laut (dpl) pada suhu sekitar 20°C. Lahan pertanaman kopi yang tersedia di Indonesia sampai saat ini sebagian besar berada di ketinggian antara 700 sampai 900 mdpl. Mungkin hal ini yang menyebabkan sebagian besar (sekitar 95%) jenis kopi di Indonesia saat ini adalah kopi robusta. Selain itu, curah hujan yang sesuai untuk kopi seyogyanya adalah 1500–2500 mm per tahun (Syakir, 2010).

2.5.4 Kandungan Kopi Robusta (*Coffea robusta*)

Kandungan kimia pada kopi robusta adalah alkaloid, saponin, kafein, flavonoid dan polifenol (Balitbangkes, 2000). Tanaman kopi banyak mengandung polifenol terutama pada bagian bijinya. Biji kopi robusta mengandung jumlah polifenol lebih banyak dibandingkan pada biji kopi arabika (Ferrazzano et al, 2011). Polifenol memiliki 3 sub kelas antara lain: flavonoid, asam fenolik, dan polifenol lainnya (non flavonoid) (Sabir, 2003).

Kadar polifenol pada biji kopi arabika bervariasi antara 6 - 7 %, sedangkan pada robusta sekitar 10 % (Septianus, 2011). Biji kopi robusta (*C. robusta*) memiliki kandungan aktif berupa polifenol (asam klorogenat), alkaloid (kafein), dan saponin. Kandungan polifenol berupa Asam klorogenat memiliki fungsi sebagai antiinflamasi dan antioksidan yang dapat mempercepat proses penyembuhan (Kadapi, 2015).

Tabel 2.1 Komposisi biji kopi robusta (*C. robusta*)

Komponen	Arabika Green	Arabika Roasted	Robusta Green	Robusta Roasted
Mineral	3,0-4,2	3,5-4,5	4,0-4,5	4,6-5,0
Kafein	0,9-1,2	1,0	1,6-2,4	2,0
Trigonelline	1,0-1,2	0,5-1,0	0,6-0,75	0,3-0,6
Lemak	12,0-18,0	14,5-20,0	9,0-13,0	11,0-16,0
Total Chlorogenic Acid	5,5-8,0	1,2-2,3	7,0-10,0	3,9-6
Asam Alifatis	1,5-2,0	1,0-1,5	1,5-1,2	1,0-1,5
Oligosakarida	6,0-8,0	0-3,5	5,0-7,0	0-3,5
Total Polisakarida	50,0-55,0	24,0-39,0	37,0-47,0	-
Asam amino	2,0	0	-	0
Protein	11,0-13,0	13,0-15,0	-	13,0-15,0
Humic acids	-	16,0-17,0	-	16,0-17,0

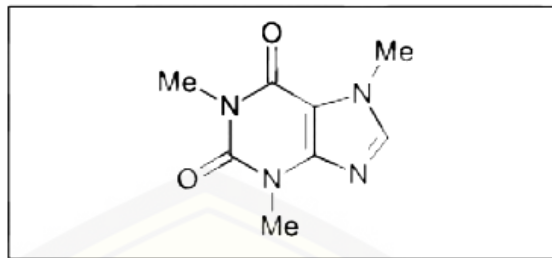
Sumber: Clarke dan Macrae, (1987).

a. Alkaloid

Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik yang banyak ditemukan di alam. Hampir seluruh senyawa alkaloida berasal dari tumbuh-tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan. Semua alkaloida mengandung paling sedikit satu atom nitrogen yang biasanya bersifat basa dan dalam sebagian besar atom nitrogen ini merupakan bagian dari cicin heterosiklik. Hampir semua alkaloida yang ditemukan di alam mempunyai keaktifan biologis tertentu, ada yang beracun ada juga yang berguna dalam pengobatan (Lenny, 2006).

b. Kafein

Kafein adalah alkaloid dari group xantin yang sangat populer karena mudah didapatkan pada berbagai hidangan, makanan dan minuman. Beberapa sumber kafein selain berbagai varietas kopi (Kopi robusta dan arabika) juga daun teh, biji kola, dan biji coklat. Kafein juga terdapat pada makanan harian seperti *soft drink*, *energy drink* dan beberapa obat-obatan seperti obat stimulan, penghilang rasa sakit, dan flu (Tello, J *et al.*, 2011). Kafein telah terbukti meningkatkan kewaspadaan dan kecemasan dan memiliki potensi antiinflamasi dan imunosupresan (Daly, 2007).



Gambar 2.7 Struktur kimia kafein (Sumber: O'Neil *et al*, 2001)

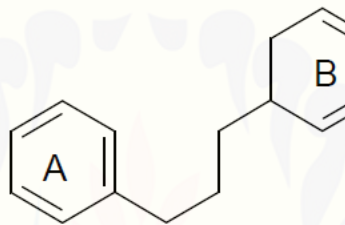
c. Saponin

Saponin adalah glikosida triterpen dan sterol dan telah terdeteksi pada lebih dari 90 suku tumbuhan (Harborne, J.B., 1987). Sehingga ketika direaksikan dengan air dan dikocok maka akan terbentuk buih yang dapat bertahan lama. Saponin mudah larut dalam air dan tidak larut dalam eter, memiliki rasa pahit menusuk dan menyebabkan bersin serta iritasi pada selaput lendir. Saponin merupakan racun yang dapat menghancurkan butir darah atau hemolisis pada darah selain itu bersifat racun bagi hewan berdarah dingin dan banyak diantaranya digunakan sebagai racun ikan. Saponin yang bersifat keras atau racun biasa disebut sebagai saptotoksin. Saponin diklasifikasikan menjadi 2 yaitu: saponin steroid dan saponin triterpenoid. Saponin steroid tersusun atas inti steroid (C27) dengan molekul karbohidrat jika dihidrolisis menghasilkan suatu aglikon yang dikenai sebagai saraponin. Tipe saponin ini memiliki efek antijamur (Prihatman, 2001).

d. Flavonoid

Menurut strukturnya, semua flavonoid merupakan turunan senyawa induk flavon yang terdapat berupa tepung putih pada tumbuhan *Primula* dan semuanya mempunyai sejumlah sifat yang sama. Dikenal sekitar sepuluh kelas flavonoid: antosianin, proantosianidin, flavonol, flavon, glikoflavon, biflavonil, khlakon dan auron, flavanon, dan isoflavon. Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari 16 atom karbon, dimana dua inti benzena (C6) terikat pada rantai propana (C3) sehingga mempunyai susunan C6 – C3 – C6 (Lenny, 2006). Flavonoid adalah senyawa yang larut dalam air. Mereka dapat diekstraksi dengan etanol 70% dan tetap ada dalam lapisan air setelah ekstrak

ini dikocok dengan eter minyak bumi. Flavonoid berupa senyawa fenol, karena itu warnanya berubah bila ditambah basa atau amonia. Flavonoid mengandung sistem aromatik yang terkonyugasi dan karena itu menunjukkan pita serapan kuat pada daerah spektrum UV dan spektrum tampak. Pada umumnya flavonoid terikat pada gula sebagai glikosida dan aglikon. Flavonoid terdapat dalam semua tumbuhan berpembuluh tetapi beberapa kelas lebih tersebar daripada yang lainnya; flavon dan flavonol tersebar merata, sedangkan isoflavon dan biflavonol hanya terdapat pada beberapa suku tumbuhan (Harborne, J.B., 1987).



Gambar 2.8 Struktur senyawa flavonoid (Sumber: Lenny, 2006)

e. Polifenol

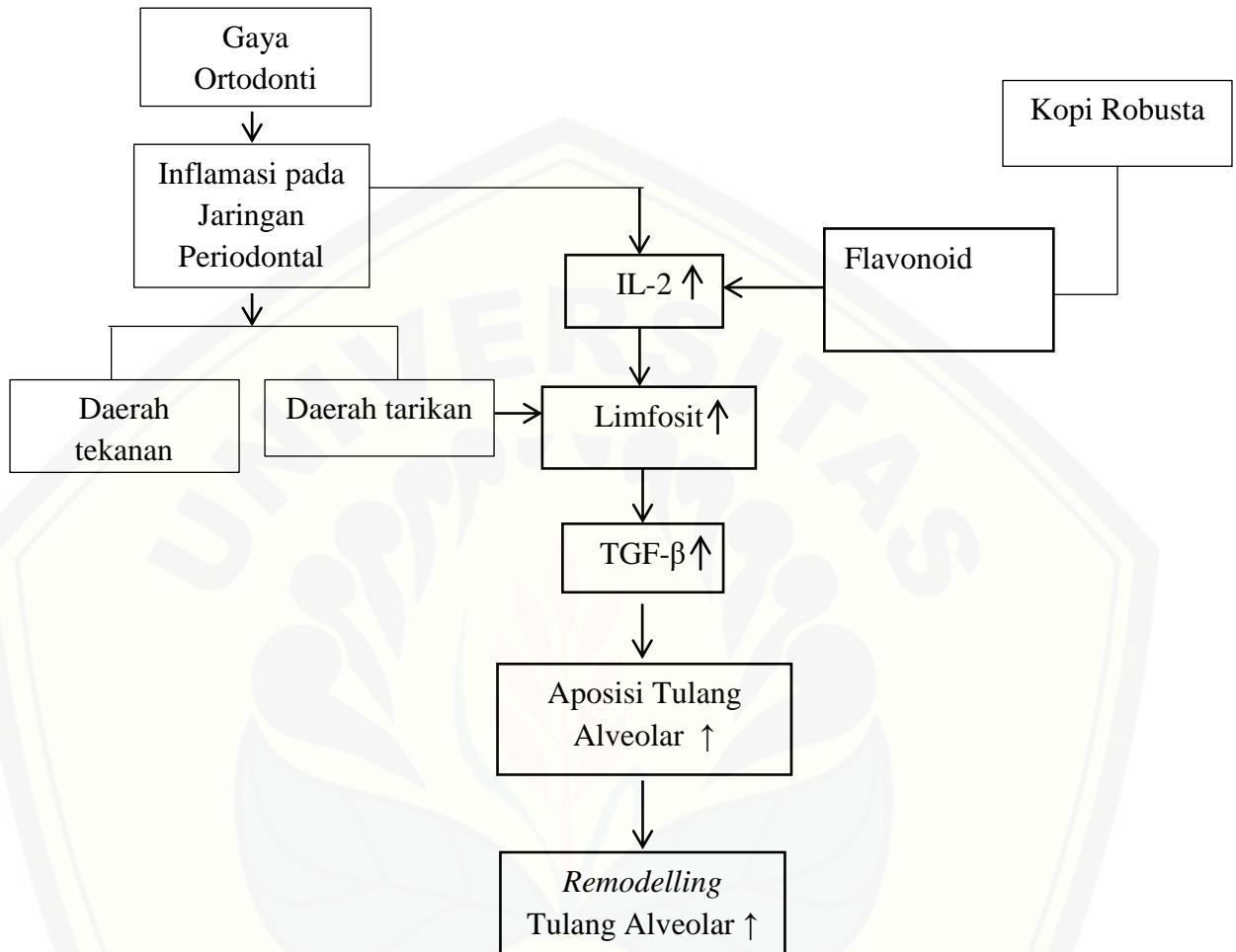
Polifenol merupakan antioksidan terbanyak pada makanan. Total asupan polifenol dalam sehari bisa mencapai satu gram. Sebagai perbandingan, polifenol memiliki aktivitas antioksidan 10 kali lebih tinggi dibanding vitamin C dan 100 kali lebih tinggi dibanding vitamin E dan karotenoid. Sumber utama polifenol yaitu buah-buahan dan minuman yang berasal dari tumbuhan seperti jus buah, teh, kopi dan *red wine*. Sayuran, sereal, coklat dan kacang-kacangan kering juga penyumbang asupan total polifenol. Pada kategori minuman, dari suatu penelitian disebutkan sumber polifenol terbesar adalah dari daun teh segar, teh bubuk dan biji kopi (Pellegrini, N. *et al.*, 2003; Carelsen, M.H. *et al.*, 2010).

2.6 Efek Flavonoid terhadap Sel Limfosit

Kopi robusta (*Coffea robusta*) memiliki kandungan kimia berupa alkaloid, saponin, kafein, flavonoid dan polifenol (Balitbangkes, 2000). Berdasarkan penelitian yang dilakukan secara *in vivo* pada mencit membuktikan bahwa senyawa flavonoid dapat meningkatkan proliferasi limfosit khususnya limfosit T karena kandungan flavonoid diketahui berperan sebagai imunomodulator dengan cara menginduksi pembentukan IL-2 yang berperan dalam proliferasi limfosit (Nugroho, 2012). Imunomodulator merupakan suatu senyawa yang dapat meningkatkan mekanisme pertahanan tubuh baik secara spesifik maupun non spesifik (Parlinaningrum, 2014). Imunomodulator mengubah aktivitas sistem imun tubuh dengan merubah regulasi sel-sel imun seperti sitokin. Cara kerja Imunomodulator meliputi mengembalikan fungsi imun yang terganggu (imunorestorasi), memperbaiki fungsi sistem imun (imunostimulator) dan menekan respons imun (imunosupresi) (Spelman *et al.*, 2006; Katzung, 2007).

Proliferasi limfosit T yang dirangsang oleh antigen, terutama diatur oleh pengaruh IL-2 terhadap reseptor IL-2 yang dimiliki pada permukaan selnya. Selain itu, IL-2 juga merangsang proliferasi dan diferensiasi sel B dan NK. Penambahan bahan yang bersifat imunostimulator yang ada dalam flavonoid dapat meningkatkan respon pada limfosit dan merangsang pembelahan sel sehingga terjadi proliferasi sel limfosit (Parlinaningrum, 2014). Penelitian tentang potensi imunomodulator biji kopi robusta juga menyatakan bahwa terdapat peningkatan sel limfosit pada hari ke-14 setelah pemberian kopi robusta (Budirahardjo, 2013).

2.7 Kerangka Konsep Penelitian



2.8 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah seduhan kopi robusta dapat meningkatkan jumlah sel limfosit pada daerah tarikan gigi marmut yang diinduksi gaya ortodonti, sehingga diharapkan dapat mempercepat proses *remodelling* tulang.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimental laboratoris yaitu penelitian yang mencari hubungan sebab akibat dengan mengintervensi variabel dalam kelompok dan mengendalikan faktor yang dapat memengaruhi sebab akibat. Sedangkan rancangan penelitian yang digunakan adalah *The Post Test Only Control Group Design*, yaitu rancangan penelitian yang memungkinkan peneliti mengukur pengaruh perlakuan (intervensi) pada kelompok eksperimen dengan cara membandingkan dengan kelompok kontrol (Notoatmojo, 2002).

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Agustus 2018 – November 2018. Penelitian ini dilaksanakan di :

- a. Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, untuk keseluruhan proses perlakuan hewan coba dan pengambilan jaringan penelitian.
- b. Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, untuk proses pembuatan preparat histologi, pemeriksaan, dan pembacaan preparat jaringan.

3.3 Populasi dan Sampel Penelitian

3.3.1 Populasi Penelitian

Populasi dalam suatu penelitian merupakan kumpulan individu atau obyek yang menggambarkan sifat-sifat umum. Pada penelitian ini, populasi penelitiannya adalah hewan coba marmut jantan spesies *Cavia cobaya*.

3.3.2 Sampel Penelitian

a. Kriteria Sampel Penelitian

Pemilihan sampel penelitian ini menggunakan *Purposive Sampling* atau *Judgmental Sampling*, merupakan cara penarikan sampel yang dilakukan dengan memilih subjek berdasarkan kriteria spesifik yang ditetapkan peneliti (Arikunto, 2010). Adapun kriteria sampel, antara lain:

1. Marmut spesies *Cavia cobaya*
2. Jenis kelamin jantan
3. Kondisi fisik sehat
4. Berat badan 500 gram
5. Umur 3-4 bulan (Putri, 2013).

b. Kriteria Inklusi, Eksklusi dan *Drop out*

1. Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi adalah spesies marmut yang digunakan dalam penelitian marmut *Cavia cobaya*, jenis kelamin jantan, kondisi fisik sehat, berat badan 500 gram, umur 3-4 bulan.

2. Kriteria Eksklusi

Kriteria diluar diluar kriterian inkkklusi sehingga tidak dapat dijadikan sampel.

3. *Drop out*

Hewan coba dinyatakan *drop out* apabila marmut mati selama penelitian dan spesimen tidak dapat diamati.

c. Besar Sampel Penelitian

Besar sampel yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 4 ekor marmut tiap kelompok perlakuan. Adapun besar sampel didapat dari perhitungan rumus sebagai berikut (Daniel, 2005) :

$$n = \frac{Z^2 \cdot \sigma^2}{d^2}$$

Keterangan :

n : jumlah sampel minimum

σ : standart deviasi sampel

d : kesalahan yang masih dapat ditoleransi, diasumsikan $d = \sigma$

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

Perhitungan :

$$n = \frac{Z^2 \times \sigma^2}{d^2}, \text{ diasumsikan } d = \sigma, \text{ maka } n = Z^2$$

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

$$n = 3,84$$

$$n = 4$$

Sampel penelitian yang berjumlah 4 tersebut, ditambahkan dengan faktor koreksi dengan rumus sebagai berikut (Usman dan Akbar, 2008):

$$N = \frac{n}{(1-f)}$$

Keterangan :

N : besar sampel setelah dikoreksi

n : jumlah sampel minimum

f : perkiraan terjadinya *drop out* pada sampel sebesar 20% (0,20)

maka didapatkan hasil :

$$\begin{aligned} N &= \frac{4}{(1-0,2)} \\ &= \frac{4}{0,8} \\ &= 5 \end{aligned}$$

Berdasarkan rumus di atas, sampel yang digunakan sebanyak 5 ekor pada masing-masing kelompok sehingga jumlah sampel yang digunakan sebanyak 20 ekor yang terbagi dalam 4 kelompok.

3.4 Identifikasi Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah seduhan ekstrak kopi robusta.

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah jumlah sel limfosit pada daerah tarikan.

3.4.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah:

- Jenis makanan hewan coba
- Berat badan hewan coba
- Kriteria hewan coba
- Alat Ortodonti dan cara pemasangan
- Prosedur penelitian
- Dosis kopi

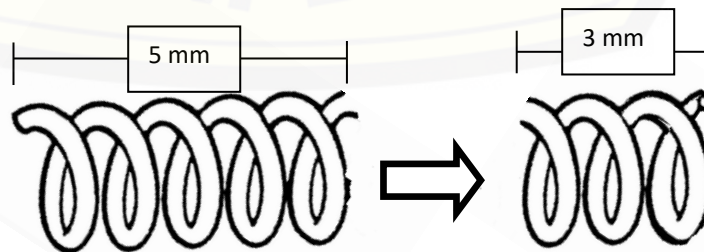
3.5 Definisi Operasional

3.5.1 Seduhan Kopi

Seduhan kopi merupakan hasil dari *Freeze Dried Ekstract* kopi robusta yang dilarutkan dalam aquades 3 ml sebanyak 87,5 mg/hari untuk satu marmut dengan berat badan 500 gram.

3.5.2 Induksi Gaya Mekanis Ortodonti

Kekuatan yang diberikan sebesar 52,5 gram = 0,0525 N yang diperoleh dengan cara mengompres *open coil springs* dari 5 mm menjadi 3 mm atau sebesar 60% (Gambar 3.1) (Bourke *et al.*, 2010).



Gambar 3.1 *Open coil spring* dari 5 mm menjadi 3 mm

3.5.3 Sel Limfosit

Sel limfosit adalah sel-sel mononuklear yang sitoplasmanya tidak mengandung granul berwarna spesifik. Intinya bulat dan besar hampir memenuhi sitoplasma. Limfosit berbentuk bulat dengan diameter yang bervariasi antara 6 – 8 μm , walaupun di antaranya mungkin lebih besar (Leeson *et al.*, 1996). Sel limfosit diamati pada sediaan ligamen periodontal marmut (*Cavia cobaya*) jantan pasca induksi gaya mekanis ortodonti dengan pewarnaan *Haematoxilin Eosin* perbesaran 400x. Untuk menghitung jumlah sel limfosit pada sediaan foto preparat, dilakukan tabulasi data jumlah sel limfosit yang didapatkan dan kemudian diambil rata – ratanya.

3.6 Bahan dan Alat Penelitian

3.6.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan untuk penelitian ini adalah:

- a. Hewan coba yaitu marmut (*Cavia cobaya*) jantan
- b. Seduhan kopi kering bubuk dari biji kopi robusta (*PTPN X Jember, Indonesia*)
- c. Ketamin (*Ilium, Australia*)
- d. *Aquadest* (*WIDA, Indonesia*)
- e. *Buffered Neutral Formalin 10%* (*Millipore, Germany*)
- f. Asam Formiat 10% (*Ultradent, Germany*)
- g. Alkohol 95%, 97% (*Kimia Farma, Indonesia*)
- h. *Xylol* (*Millipore, Germany*)
- i. *Meyer egg albumin* (*Medsupplypartners, USA*)
- j. *Paraffin solid* (*Histoplast, USA*)
- k. *Haematoksin Eosin* (HE)
- l. *Entellan/Canada Balsam* (*Millipore, Germany*)
- m. Label (*Self Adhesive Labels, Indonesia*)
- n. Kertas saring (*Whatman, England*)
- o. Pakan standar untuk hewan coba (Turbo, Indonesia)
- p. Air mineral (Aqua, Indonesia),

- q. Kloroform
- r. *Glass Ionomer type IX (Fuji, Japan)*

3.6.2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- a. Kandang pemeliharaan hewan coba (*Lion Star, Indonesia*)
- b. Tempat makan dan minum hewan coba (*Lion Star, Indonesia*)
- c. Karet separator ortodonti (*American Orthodontics, USA*)
- d. Separator *applier* (*Medesy, Italy*)
- e. Timbangan digital (*Lucky, Indonesia*)
- f. *Syringe* (*Pro-Ject, Indonesia*)
- g. Gelas ukur (*Pyrex, Japan*)
- h. *Beaker glass* (*Pyrex, Japan*)
- i. *Blade Scalpel* (*Dentica, USA*)
- j. *Scalpel* (*Dentica, USA*)
- k. Alat potong tulang/*knable* tang (*Yamaco, Japan*)
- l. Pinset anatomi (*Dentica, USA*)
- m. Botol untuk dekalsifikasi (*Lion Star, Indonesia*)
- n. Mikrotom (*Roundfin, China*)
- o. *Waterbath* (*Roundfin, China*)
- p. *Paraffin dispenser* (*Roundfin, China*)
- q. *Slide warmer* (*Sakura, Japan*)
- r. Kuas kecil (*Mastona, China*)
- s. Mikroskop Binokuler (*Olympus photo slide BX51 with Cam DP71 12 mpx*)
- t. Kamera Optilab[®]
- u. Oven
- v. *Object glass* (*Sail Brand, China*)
- w. *Deck glass* (*Sail Brand, China*)
- x. Sarung tangan dan masker (*Sensi Gloves, Indonesia*)

3.7 Konversi Perhitungan Dosis

Dosis seduhan kopi pada manusia adalah 1 sendok makan kopi bubuk sebesar 10 gr dilarutkan dengan 150 ml air/ 1 cangkir. Selanjutnya seduhan kopi dibuat menjadi seduhan kopi kering atau *Freeze Dried Ekstract* didapatkan berat sebesar 2,27 gr.

Penghitungan konversi dosis :

Nilai konstanta konversi dosis dari manusia (70 kg) ke marmut (400 gr) adalah 0,031

$$\begin{aligned}\text{Dosis pada marmut} &= \text{berat seduhan kopi kering} \times 0,031 \\ &= 2,27 \text{ gr} \times 0,031 \\ &= 0,07037 \text{ gr}/400 \text{ gr BB} \\ &\approx 0,07 \text{ gr}/400\text{gr BB}\end{aligned}$$

Jika BB marmut 500 gr, maka :

$$\begin{aligned}\text{Dosis pada marmut} &= \frac{500 \text{ gr}}{400 \text{ gr}} \times 0,07 \text{ gr} \\ &= 0,0875 \text{ gr/hari} \\ &= 87,5 \text{ mg/hari}\end{aligned}$$

Jadi kopi yang diberikan pada satu hewan coba sebanyak 87,5 mg/hari yang kemudian dilarutkan dalam 3 ml aquades steril.

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1 Persiapan *Ethical Clearance*

Keterangan kelaikan etik penelitian diajukan agar peneliti dapat melakukan penelitian dengan serangkaian kegiatan pada hewan coba. Keterangan kelaikan etik penelitian ini dikeluarkan oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, nomor : 1150/H25.1.11/KE/2017.

3.8.2 Persiapan Hewan Coba

Hewan coba dilakukan aklimatisasi selama satu minggu sebelum diberikan perlakuan untuk proses adaptasi dengan tempat tinggal dan makanan. Marmut diberi makanan berupa pakan standart merek turbo serta air minum aquades. Sebelum dilakukan perlakuan tiap marmut ditimbang berat badannya dan diamati kesehatannya meliputi gerakan, berat badan, pola makan dan minum. Berat badan hewan coba ditimbang dengan menggunakan timbangan digital sampai memenuhi 500 gram per ekor. Hal ini bertujuan untuk memperoleh keseragaman dalam melakukan penelitian selain itu marmut dengan berat badan tersebut lebih kuat dan tidak mudah sakit apabila diberikan perlakuan seperti aplikasi gaya ortodonti.

3.8.3 Pembagian Kelompok Perlakuan

Hewan coba yang sudah diadaptasikan akan dikelompokkan menjadi 4 kelompok, yaitu:

- a. Kelompok A (5 ekor) merupakan kelompok kontrol yang diberi induksi gaya mekanis berupa pemasangan *orthodontic brackets* selama 2 minggu.
- b. Kelompok B (5 ekor) merupakan kelompok perlakuan yang diberi induksi gaya mekanis berupa pemasangan *orthodontic brackets* dan seduhan kopi robusta selama 2 minggu.
- c. Kelompok C (5 ekor) merupakan kelompok kontrol yang diberi induksi gaya mekanis berupa pemasangan *orthodontic brackets* selama 3 minggu.
- d. Kelompok D (5 ekor) merupakan kelompok perlakuan yang diberi induksi gaya mekanis berupa pemasangan *orthodontic brackets* dan seduhan kopi robusta selama 3 minggu.

3.8.4 Persiapan Seduhan Kopi

Bahan seduhan kopi diperoleh dari kopi bubuk robusta yang diproduksi oleh PTPN X Jember. Dosis seduhan kopi pada manusia adalah 1 sendok makan kopi bubuk sebesar 10 gram dilarutkan dalam 150 ml air/1 cangkir. Selanjutnya seduhan kopi dibuat menjadi seduhan kopi kering (*Freeze Dried Ekstract*). Tahapan pembuatan (*Freeze Dried Ekstract*) dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Melarutkan 10 gram bubuk kopi dalam 150 ml aquades panas/mendidih,
- b. Mengaduk larutan hingga homogen,
- c. Menyaring larutan dengan kertas saring,
- d. Mengeringkan filtrat dengan menggunakan *freeze dryer*,
- e. Menimbang berat ekstrak kering yang didapatkan dari proses pengeringan dan diperoleh berat sebesar 2,27 g.

3.8.5 Persiapan Alat Ortodonti

Bracket ortodonti untuk hewan coba marmut (*Cavia cobaya*) jantan dibuat dengan *full tehniqe bracket*, yaitu *matrix band* ukuran lebar 2,5 mm dipotong selanjutnya *bracket* diwelding menggunakan *welding machine* di tengah–tengah *matrix band* kemudian dilingkarkan dengan diameter ± 3 mm (sesuai dengan gigi marmut) dan diwelding kembali pada 2 titik (Gambar 3.2).



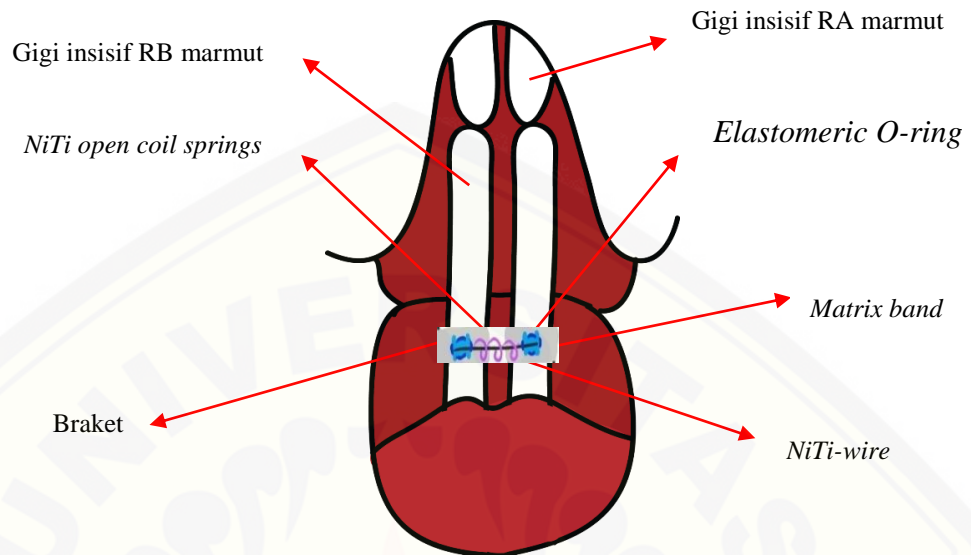
Gambar 3.2 *Bracket* ortodonti yang telah diwelding pada *matrix band*.

3.8.6 Cara Kerja Penelitian

a. Pemasangan Alat Ortodonti

Pemasangan alat ortodonti dilakukan menggunakan anestesi. Marmut diletakkan pada meja untuk melakukan pemasangan *bracket* ortodonti. Sebelumnya insisal gigi antagonis marmut dipotong 2 mm, agar saat oklusi gigi antagonis tidak berkontak dengan *bracket* sehingga *bracket* tidak mudah lepas. *Bracket* ortodonti yang telah diwelding kemudian diinsersikan ke gigi insisif kanan dan kiri RB marmut. Jika telah sesuai, dilakukan fiksasi menggunakan *glass ionomer* tipe I. Selanjutnya, *nickel-titanum (NiTi) wire* diameter 0,016 inch tipe *round* dipotong 1 cm setelah itu dimasukkan ke slot *bracket* dan diligasi pada satu sisi menggunakan *elastomeric O-ring*. Kemudian *nickel-titanum (NiTi) open coil springs* diameter 0,03 inch diinsesikan pada *wire*. Setelah itu dikompres 60% (52,5 gram) diligasi pada sisi satunya. Lalu sisa

wire dipotong selanjutnya sisi distal gigi marmut diberi semen agar tidak melukai jaringan lunak di sekitarnya (Gambar 3.3).



Gambar 3.3 Pemasangan braket ortodonti pada insisif kanan dan kiri RB marmut

b. Pemberian Seduhan Kopi

Seduhan kopi kering bubuk yang telah disiapkan sesuai penghitungan dosis, diletakkan pada tabung spitton yang telah diberi label nomor sampel hewan coba, berat badan hewan coba, dan dosis. Satu persatu seduhan kopi kering bubuk dilarutkan dengan 3 ml aquades dan diaduk rata. Selanjutnya diberikan kepada kelompok marmut perlakuan dengan cara sondase pada lambung marmut supaya penyerapan kopi dalam tubuh lebih optimal. Sondase seduhan kopi pada marmut dilakukan setiap hari pada sore hari selama 14 dan 21 hari tanpa pembiusan.

c. Pengambilan Jaringan Penelitian

Hewan coba dari semua kelompok dieuthanasia pada hari ke 15 untuk kelompok A dan C, dan pada hari ke 22 untuk kelompok B dan D dengan cara dibius dengan menggunakan ketamin dengan dosis 45 mg/kgBB marmut (Mannes, 2005). Pengambilan jaringan dilakukan dengan menggunakan *knable* tang dan *scalpel* pada bagian anterior rahang atas. Jaringan yang diambil untuk penelitian harus segar artinya, jaringan diambil secepat mungkin setelah hewan coba dieuthanasia (Muntiha, 2001).

d. Pembuatan Preparat Jaringan

1. Perendaman Jaringan dengan Larutan Buffered Neutral Formalin (BNF) 10%

Jaringan yang sudah terambil, dilakukan fiksasi dengan menggunakan larutan BNF 10% untuk mengawetkan jaringan agar terhindar dari pencernaan jaringan oleh enzim-enzim (otolisis) atau bakteri dan untuk melindungi struktur fisik sel dan mempertahankan morfologi sel seperti semula. Bahan pengawet yang digunakan adalah larutan formalin 10% (Muntiha, 2001). Fiksasi jaringan dilakukan selama minimal 24 jam (Santoso, 2006).

2. Perendaman dalam Larutan Dekalsifikasi

Setelah jaringan direndam dalam larutan BNF 10%, selanjutnya dilakukan proses dekalsifikasi dengan tujuan untuk menghilangkan garam-garam kalsium dari jaringan tulang sehingga tulang menjadi lunak, dan memudahkan proses pemotongan. Dekalsifikasi hanya bisa dilakukan apabila jaringan difiksasi dengan sempurna. Dekalsifikasi dilakukan dengan memakai larutan asam formiat 10% selama 7 hari. Setelah proses dekalsifikasi selesai ditandai bahwa jaringan sudah lunak dan siap untuk proses selanjutnya yaitu proses pembuatan preparat. Jaringan dibersihkan pada air mengalir selama 1,5 jam dengan tujuan untuk menghilangkan larutan dekalsifikasi yang tersisa (Muntiha, 2001).

3. Proses Pembuatan Preparat Histologi

Setelah proses dekalsifikasi dilakukan, maka dilakukan pemrosesan jaringan yang berfungsi untuk mempersiapkan jaringan sebelum dilakukan penyayatan dengan menggunakan mikrotom. Tahapan pemrosesan jaringan adalah sebagai berikut :

3.1 Dehidrasi

Dehidrasi merupakan proses penarikan air dari dalam jaringan dengan menggunakan alkohol konsentrasi rendah ke tinggi/bertingkat (Syafriadi, 2008). Tahapan dehidrasi dilakukan dengan memasukkan jaringan ke dalam larutan alkohol 70% selama 2 jam, alkohol 80% selama 2 jam,

alkohol 95% selama 2 jam, selanjutnya jaringan dimasukkan ke dalam 3 wadah berisi alkohol 96% masing-masing selama 2 jam (Anondo, 2015).

3.2 *Clearing*

Clearing merupakan proses penjernihan jaringan menggunakan bahan-bahan *clearing* yaitu *xylol* (Syafriadi, 2008). Tahapan *clearing* dilakukan dengan memasukkan jaringan ke dalam *xylol* yang berisi dalam 3 wadah masing masing selama 1 jam, 1 jam dan 2 jam (Anondo, 2015).

3.3 Impregnasi

Impregnasi merupakan proses infiltrasi bahan *embedding* ke dalam jaringan (Syafriadi, 2008). Caranya yaitu jaringan dibungkus dengan kertas saring yang sudah diberi label untuk menghindari kekeliruan identitas sampel. Kemudian dimasukkan ke dalam bahan *embedding* yaitu *paraffin solid* 60°C selama 2 jam dan dilakukan pengulangan sebanyak 2 kali (Anondo, 2015).

3.4 *Embedding*

Embedding merupakan proses penanaman jaringan ke dalam suatu bahan *embedding*. Tahapan *embedding* dilakukan dengan cara menyiapkan *base mould* dan kaset pada suhu 60°C, tekan kran *paraffin* dispenser pada *base mould* sampai volumenya cukup, masukkan spesimen jaringan ke dasar *base mould* dengan menggunakan pinset, letakkan kaset diatas *base mould* yang sudah terisi spesimen jaringan, letakkan *base mould* yang sudah terisi pada *cold plate*, tunggu 2-4 menit dan *base mould* akan berbunyi “klik” kemudian letakkan kaset dengan *base mould* dan blok *paraffin* siap untuk dilakukan penyayatan (Anondo, 2015).

3.5 Pemotongan Jaringan dengan Mikrotom

Blok *paraffin* yang sudah mengandung spesimen jaringan, kemudian dipotong dengan menggunakan mikrotom dengan ketebalan 5 µm. Potongan tersebut diletakkan secara hati-hati di atas permukaan air dalam *waterbath* bersuhu 46°C, pada kesempatan ini, bentuk irisan dirapikan kemudian diletakkan di atas objek *glass* yang telah diolesi *meyer egg albumin*. Objek *glass* disusun di dalam rak dan dimasukkan

pada inkubator bersuhu 47°C sampai siap untuk diwarnai (Anondo, 2015).

3.6 Pengecatan *Haematoksin Eosin* (HE)

Proses pengecatan sediaan jaringan menggunakan *Hematoxylin eosin* dengan urutan seperti berikut (Tabel 3.1).

Tabel 3.1 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

(Sumber: Tim Patologi Anatomi FKG UNEJ, 2007).

3.9 Pengamatan dan Penghitungan Jumlah Sel Limfosit

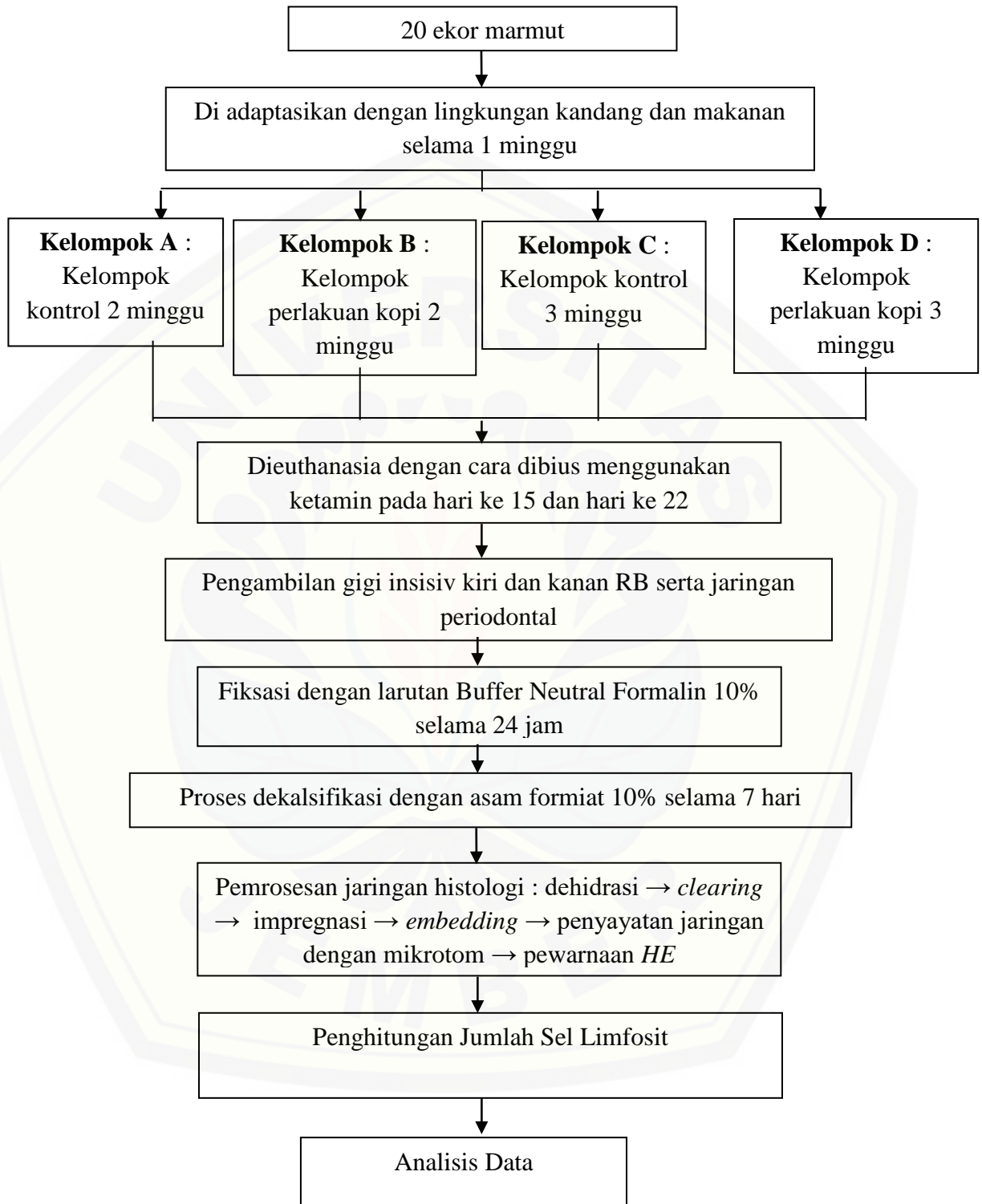
Pengamatan sediaan dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya binokuler dengan perbesaran 40 kali untuk menentukan daerah tarikan, kemudian untuk melakukan perhitungan sel limfosit dilakukan perbesaran 400 kali. Pengamatan dilakukan pada 5 lapang pandang, yaitu daerah tarikan dihitung mulai puncak tulang alveolar kearah apikal oleh tiga pengamat.

Terdapat 5 hasil perhitungan sel limfosit pada setiap preparat yang kemudian diambil rata-ratanya. Rata-rata jumlah sel limfosit satu pengamat kemudian dijumlahkan dengan rata-rata sel limfosit pengamat kedua dan pengamat ketiga, yang kemudian dibagi tiga untuk mendapatkan rata-rata akhir dari sel limfosit (Pusparani, 2016).

3.10 Analisis Data

Data yang diperoleh dari penelitian di atas, dilakukan analisis menggunakan *software* SPSS. Data dianalisis terlebih dahulu dengan uji normalitas menggunakan uji *Saphiro-Wilk* untuk menentukan apakah distribusi kelompok sampel adalah normal, kemudian dilanjutkan dengan uji homogenitas untuk menguji variasi populasi menggunakan uji *Levene-Test*. Apabila data yang didapatkan normal dan homogen maka dilanjutkan dengan uji statistik parametrik, yaitu uji *One-way Anova*. Kemudian dilanjutkan dengan uji *post hoc Least Significant Difference* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok. Tetapi apabila data tidak terdistribusi normal, maka dilanjutkan dengan uji non-parametrik *Kruskal-Wallis*. Kemudian dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui perbedaan bermakna pada tiap kelompok. Perbedaan kelompok bermakna jika nilai ($p < 0,05$) (Notoatmojo, 2002)

3.11 Alur Penelitian



BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa pemberian seduhan kopi robusta selama 2 minggu dapat meningkatkan jumlah sel limfosit pada daerah tarikan ligamen periodontal gigi marmut (*Cavia cobaya*) jantan yang diinduksi gaya mekanis ortodonti dibandingkan tanpa pemberian seduhan kopi robusta.

5.2 Saran

- 5.2.1 Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang jumlah sel limfosit dengan waktu pengambilan jaringan pada hari ke-7 oleh karena puncak poliferasi sel limfosit terjadi pada hari tersebut.
- 5.2.2 Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang sel-sel inflamasi lainnya dalam pergerakan gigi ortodonti.

DAFTAR PUSTAKA

- Amin, M. N., dan N. Permatasari. 2016. Aspek biologis pergerakan gigi secara ortodonsi. *Stomatognatic (J. K. G Unej)*. 13 No.(1): 22-27.
- Andrade Jr, dan Ildeu. 2012. Inflammation and tooth movement: the role of cytokines, chemokines, and growth factor. *Seminars in Orthodontics*. 18(4): 257-269.
- Anondo, I.K. 2015. Teknik Praktis untuk Jaringan Sel. Bali: CV Dharma Sandi.
- Arikunto, Suharsimi. 2010. *Prosedur Penelitian Suatu Pendekatan Praktik*. Edisi Revisi IV. Jakarta: PT. Rineka Cipta.
- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. 2000. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan & Kesejahteraan Sosial RI.
- Bajpai, R. N. 1989. *Human Histology*. New Delhi. Jaypee Brothers. *Histologi Dasar Edisi 4*. Alih bahasa dr Jan Tambayong. Jakarta: Binarupa Aksara.
- Bin, H. S., Jeong J. H., dan Choi U. K. 2013. Chlorogenic acid promotes osteoblastogenesis in human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells. *J.Food Sci Biotechnol*. 22: 107-112.
- Bourke, A., Daskalogiannakis, J., Tompson, B., and Watson, P. 2010. Force characteristics of nickel-titanium open-coil springs. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics* 138(2): 1-7.
- Buckwalter, J. 2008. *Orthopaedic Basic Science Biology and Biomechanics of the Musculoskeletal System, American Academy of Orthopaedic Surgeon 2nd edition*. Amerika: American Academy Orthopedic Surgeons.
- Budirahardjo, R. Potensi Imunomodulator Biji Kopi Robusta Terhadap Karies Gigi. *FKG UNEJ*.
- Carelsen, M.H., Halvorsen, B.L., Holte, K., Bøhn, S.K., Dragland, S., Sampson, L., Willey, C., Senoo, H., Umezono, Y., Sanada, C., Barikmo, I., Berhe, N., Willett, W.C., Phillips, K.M., Jacobs, D.R., dan Blomhoff, R. 2010. The total antioxidant content of more than 3100 foods, beverages, spices, herbs, and supplements used worldwide. *Nutrition Journal*. 9(3): 1-11.
- Clarke, R dan Macrae, R. 1987. *Coffe Technology*. London and New York: Elsevier Applied Science.
- D'Apuzzo, dan Fabrizia. 2013. Biomarkers of periodontal tissue remodeling during orthodontic tooth movement in mice and men: overview and clinical relevance. *The Scientific World Journal*.

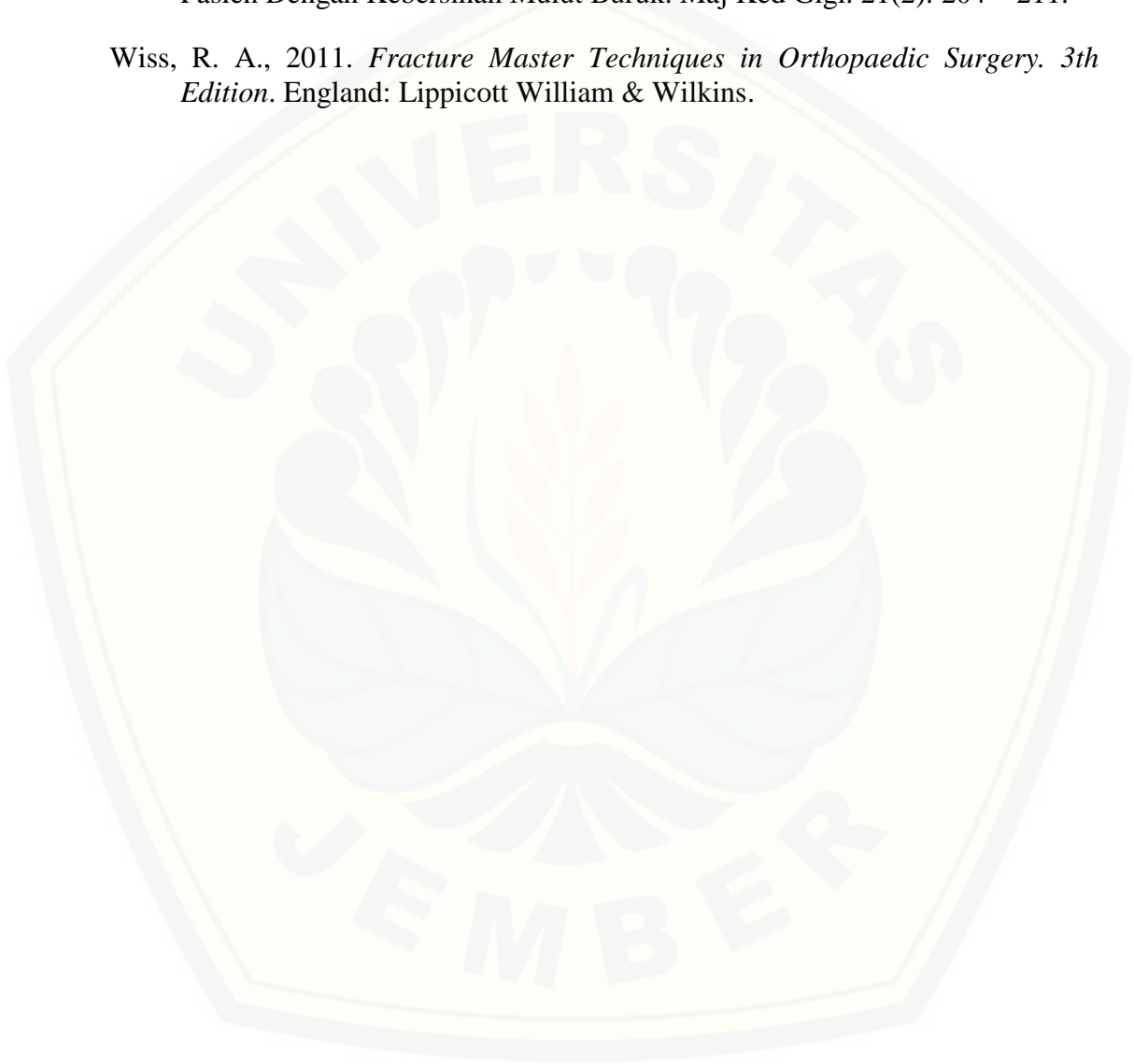
- Daly, J W. 2007. Caffeine analogs: Biomedical Impact. *Cell. Mol. Sci.*, 64(16): 2153-2169
- Daniel, W. 2005. *Biostatistica Foundation for Analysis in The Health Science 6th edition*. Canada : John Wiley and Sons Inc.
- Fatimatuzzahro, N. 2013. Respon inflamasi pulpa gigi tikus Sprague Dawley setelah aplikasi bahan etsa ethylene diamine tetraacetic acid 19% dan asam fosfat 37%. *Dent. J. (Maj. Ked. Gigi)*. 46(4): 190-195.
- Fawcet, Don W. 2002. *A Textbook of Histology*. London: Taylor & Francis Ltd. *Buku Ajar Histologi*. Edisi 12. Alih bahasa Jan Tambayong. Jakarta: EGC.
- Ferrazzano, Amato, Ingenito, Natale, and Pollio. 2011. Plant Polyphenols and Their Anti-Cariogenic Properties: a Review. *J. Mol.* 16(3): 1486-1507
- Geahlen R. L., Koonchanok N.M, dan McLaughlin J. L. 1989. Inhibition of proteintyrosine kinase activity by flavonoids and related compounds. *J Nat Prod.* 52:982– 986.
- Graber, T. M., dan Swain B. F. 2017. *Orthodontic Current Principles and Techniques Sixth Edition*. St.Louis: The C.V. Mosby Company.
- Guyton, A. C. Dan Hall, J. E. 2008. *Text Book of Medical Physiology* 11th ed. Philadelphia (PA): Elsevier, Inc. Terjemahan Setiawan, I *et al. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi Kesebelas. Jakarta: EGC.
- Harahap, M. R. 2017. Identifikasi daging buah kopi robusta (*Coffea robusta*) berasal dari provinsi Aceh. *Journal of Islamic Science and Technology*. 3(2).
- Harborne, J. B. 1987. *Phytochemical Methods A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*. New York: Chapman and Hall. *Metode fitokimia: penuntun cara modern menganalisis tumbuhan, Edisi 2*. Penerjemah: Dr. Kosasih Padmawinata & Dr. Iwang Soediro. Penyunting: Dra. Sofia Mansoor. Bandung: ITB.
- Herniyati. 2016. Effects of robusta coffee (*Coffea canephora*) brewing on levels of RANKL and TGF- β 1 in orthodontic tooth movement. *Dental Journal (Majalah Kedokteran Gigi)*. 49(3): 143–147.
- Ibad, M. F. 2008. Sistem Kekebalan. www.farieh.wordpress.com [Diakses pada : 20 September 2018].
- International Coffee Organization (ICO). 2015. *ICO Annual Review 2013-2014*. International Coffee Organization: London.

- Iskandar, P. 2010. Peran prostaglandin pada pergerakan gigi ortodontik. *Dentofasial*. 9(2): 91-100.
- Isola, G., A. Isola, G. Matarese, G. Cordasco, L. Perillo, dan L. R. Isola. 2016. Mechanobiology of the tooth movement during the orthodontic treatment: a literature review. *Minerva Stomatologica*. 65(5): 299-327.
- Iswari, H. 2012. Relaps dan pencegahannya dalam ortodonti. *WIDYA*. 29(319): 53-58.
- Izquierdo, M., dan D.A. Cantrell. 1993. Protein tyrosine kinases couple the interleukin-2 receptor to p21ras. *European Journal of Immunology*. 23(1): 131-135.
- Junqueira, L. C., J. Carneiro, dan R. O. Kelley. 2007. *Basic Histology Fifth edition*. California: Sage Publication. Terjemahan oleh J. Tambayang. 2008. *Histologi Dasar*. Edisi ke-5. Jakarta: EGC.
- Kadapi, M. 2015. Aktivitas Antioksidan Kopi Biji Rambutan Non Kafein dengan Variasi Perbandingan Komposisi Beras Hitam yang Berbeda. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Surakarta: Universitas Muhammadiyah.
- Katzung, B. G. 2007. *Basic and Clinical Pharmacology, 10th ed*. New York: McGrawHill Medical.
- Kementrian Pertanian. 2016. *Outlook Kopi Komoditas Pertanian Subsektor Perkebunan*. Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian Sekretariat Jenderal Kementerian Pertanian.
- Kenisa, 2012. Effect of robusta coffee beans ointment on full thickness wound healing. *Dent. J. (Maj. Ked. Gigi)*. 45(1): 52-57
- Kustantini, D. 2014. *Beberapa Hal yang Mempengaruhi Viabilitas Benih (Biji) Kopi (Coffea sp)*. Surabaya: Balai Besar Perbenihan dan Proteksi Tanaman Perkebunan.
- Leeson. 1996. *Buku Ajar Histologi*. Jakarta: EGC.
- Lenny, Sovia. 2006. *Senyawa Flavonoida, Fenilpropanoida dan Alkaloida*. Departemen Kimia. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. USU Repository.
- Liu, Y., T. Zhang, C. Zhang, S.S Jin, R.L Yang, X.D. Wang, N. Jiang, Y.H Gan, X.X. Kou, dan Y.H. Zhou. 2017. Aspirin blocks orthodontic relapse via inhibition of CD4+ T lymphocytes. *Journal of Dental Research*. 1-9.

- Melo, A. C. E. O., Carneiro L.O. T., Pontes LF, Cecim RL, Mattos JNR, Normando D. 2013. Factors related to orthodontic treatment time in adult patients. *Dental Press J Orthod.* 18(5): 59-63.
- Muntiha, M. 2001. *Teknik Pembuatan Histopatologi dari Jaringan Hewan dengan Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (HE)*. Temu Teknis Fungsional Non Peneliti.
- Notoatmojo, S. 2002. *Metodologi Penelitian*. Edisi Revisi. Jakarta: PT. Rineka Pustaka.
- Nugroho, Y. A. 2012. Efek pemberian kombinasi buah sirih (*Piper betle* L) fruit, daun miyana (*Plectranthus scutellarioides* (L.) R. BR.) leaf, madu dan kuning telur terhadap peningkatan aktivitas dan kapasitas fagositosis sel makrofag. *Media Litbang Kesehatan.* 22(1): 1-5.
- O'Neil, M.J., Smith, SA., Heckelman, P.E., Obenchain, J.R., Jr., Gallipeau, J.A.R., D'Arecca, M.A., & Budavari, S. (2001). *The Merck Index an Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biological.* 13th edition. Whitehouse Station, NJ: Merck
- Parlinaningrum, D., Widyarti, S., Rifa'I, M. 2014. Pengaruh pemberian ekstrak etanol *annona muricata* Linn. terhadap peningkatan jumlah B220 pada *mus musculus*. *Jurnal Biotropika* 2(5): 265-277.
- Pellegrini, N., Serafini, M., Colombi, M., Del Rio, D., Salvatore, S., Bianchi, M., & Brighenti, B. 2003. Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oil consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. *Journal of Nutrition.* 133(12): 2812-2819.
- Ponte, Stefano. 2002. The 'Latte Revolution'? Rekopition, Markets and Consumption in the Global Coffee Chain. *World Development.* Vol. 30, No. 7, halaman 1099-1122.
- Prihatman K. 2001. Saponin untuk pembasmi hama udang. Kantor Deputi Menegristek Bidang Pendayagunaan dan Pemasyarakatan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi. Bandung.
- Pusparani, T F. 2016. Efek Kafein Terhadap Jumlah Sel Osteoblas pada Tulang Alveolar Daerah Tarikan Gigi Marmut (*Cavia cobaya*) Jantan yang di Induksi Gaya Mekanis Ortodonti. *Skripsi.* Jember: Universitas Jember
- Putri, A., I. B. Narmada, T. Hamid. 2013. Efek pemberian ekstrak aloe vera terhadap Jumlah osteoblas tulang alveolar *Cavia cobaya* pada pergerakan gigi ortodonti. *Ortho Dent J.* 4(1): 21-26.
- Rahardjo, P. 2012. *Ortodonti Dasar Edisi 2*. Surabaya: Airlangga University.

- Rahardjo, P. 2012. *Panduan Budidaya dan Pengolahan Kopi Arabika dan Robusta*. Jakarta.
- Robbins, S. R. S., V. D. Kumar. 2007. *Basic Patology*. Elsevier. *Buku Ajar Patologi*. Edisi 7. Jakarta : EGC.
- Sabir, A. 2003. Pemanfaatan flavonoid di bidang kedokteran gigi. *Majalah Kedokteran Gigi*. Dental Journal FKG Universitas Airlangga. 36(2): 81-87
- Santoso, H. B. 2006. Struktur mikroskopis kartilago epifisialis tibia fetus mencit (*Mus musculus L.*) dari induk dengan perlakuan kafein. *Bek. Penel. Hayat*. 12: 69-74.
- Septianus, WS. 2011. Komposisi Kimia Biji Kopi. ws_septianus@yahoo.com. [Diakses tanggal 25 Mei 2019].
- Sherwood, Lauralee. 2001. *Human Physiology: From cells to systems*. Pacific Grove, Calif: Brooks/Cole. *Fisiologi Manusia Dari Sel Ke Sistem Edisi 2*. Jakarta: EGC.
- Souza RA, Oliveira AF, Pinheiro SMS, Cardoso JP, Magnani MBBA. Expectations of orthodontic treatment in adults: The conduct in orthodontist patient relationship. *Dental Press J Orthod*. 18(2): 88-94.
- Spelman K., Burns J., Nichols D., Winters N., Ottersberg S., dan Tenborg M. 2006. Modulation of Cytokine Expression by Traditional Medicines : A Review of Herbal Immunomodulator. *Alternative Medicine Review*. 11(2): 128-150.
- Syafriadi, M. 2008. *Petunjuk Praktikum Patologi Anatomi, Degenerasi dan Radang*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Syakir, M. 2010. *Budi Daya dan Pasca Panen Kopi*. Bogor: IAARD Press.
- Tello, J., Viguera, M., & Calvo, L. 2011. Extraction of caffeine from robusta coffee (*coffea canephora vr. robusta*) hus ks using supercritical carbon dioxide. *The Journal of Supercritical Fluids*. 59: 53-60.
- Theml, H., Diem, H., Haferlach, T. 2004. *Color Atlas of Hematology Practical Microscopic and Clinical Diagnosis*. New York. Thieme Stuttgart
- Tim Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. 2007. *Petunjuk Pratikum Patologi Anatomi Degenerasi dan Inflamasi*. Jember: Fakultas kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Usman dan P.S. Akbar. 2008. *Metodologi Penelitian Sosial*. Jakarta : Bumi Aksara

- Utari, T. R., dan Soehardono. 2007. Pergerakan gigi dan remodelling tulang maksila regio anterior di akhir perawatan ortodontik teknik begg maloklusi angle klas I dengan insisivus maksila protusif : penelitian deskriptif bbservasional. *Mutiara Medika*. 7(2) :57-60.
- Wahyuningsih, Sri *et al.* 2014. Perawatan Maloklusi Angle Klas I Dengan Gigi Depan Crowding Berat Dan Cross Bite Menggunakan Teknik Begg Pada Pasien Dengan Kebersihan Mulut Buruk. *Maj Ked Gigi*. 21(2): 204 – 211.
- Wiss, R. A., 2011. *Fracture Master Techniques in Orthopaedic Surgery*. 3th Edition. England: Lippicott William & Wilkins.



LAMPIRAN

Lampiran A. Surat keterangan *ethical clearance*

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 : 1.150 /H25.1.11/KE/2017

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 SELULER DAN MOLEKULER PROSES REMODELING TULANG ALVEOLAR DAN LIGAMEN PERIODONTAL PADA PERGERAKAN GIGI ORTODONTI SETELAH PEMBERIAN EKSTRAK KOPI ROBUSTA

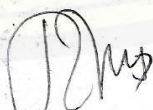
Nama Peneliti Utama : Dr. drg. Herniyati, M,Kes.
Name of the principal investigator

NIDN : 0006095915

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
Name of institution

Dan telah menyetujui protokol tersebut diatas.
And approved the above mentioned proposal.

Jember, 24 Agustus 2012 .
Ketua Komisi Etik Penelitian


dr. Rini Riyanti, Sp.PK

Lampiran B. Surat ijin penelitian


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


Nomor : /073/UN25.8.TL/2019
 Perihal : Ijin Penelitian

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	: Ginanjar Hidayatullah
2	NIM	: 151610101078
3	Semester/Tahun	: 2017/2018
4	Fakultas	: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
5	Alamat	: Jl. Baturaden Raya No. 63B, Tegalgede, Sumbersari, Kabupaten Jember, Jawa Timur
6	Judul Penelitian	: Efek Seduhan Kopi Robusta (Coffea Robusta) Terhadap Jumlah Sel Limfosit Pada Daerah Tarikan Gigi Marmut (Cavia Cobaya) Jantan Yang Diinduksi Gaya Mekanis Ortodonti
7	Lokasi Penelitian	: Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
8	Data/alat yg di pinjam	: -
9	Waktu	: Agustus 2018 s/d Selesai
10	Tujuan Penelitian	
11	Dosen Pembimbing	: 1. Dr. drg. Hj. Herniyati, M.Kes 2. drg. Leliana Sandra Deviate P, Sp.Ort

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih


 Dr. drg. ID Susilawati, M.Kes
 NIP. 96109031986022001

Lampiran C. Penghitungan konversi dosis manusia ke marmut

TABEL KONVERSI PERHITUNGAN DOSIS
(LAURENCE & BACHARACH, 1964)

	Mencit 20 gr	Tikus 200 gr	Marmot 400 gr	Kelinci 1,5 kg	Kucing 2 kg	Kera 4 kg	Anjing 12 kg	Manusia 70 kg
Mencit 20 gr	1.0	7.0	12.25	27.8	29.7	64.1	124.2	387.9
Tikus 200 gr	0.14	1.0	1.74	3.9	4.2	9.2	17.8	56.0
Marmot 400 gr	0.08	0.57	1.0	2.25	2.4	5.2	10.2	31.5
Kelinci 1,5 kg	0.04	0.25	0.44	1.0	1.08	2.4	4.5	14.2
Kucing 2 kg	0.03	0.23	0.41	0.92	1.0	2.2	4.1	13.0
Kera 4 kg	0.016	0.11	0.19	0.42	0.45	1.0	1.9	6.1
Anjing 12 kg	0.008	0.06	0.1	0.22	0.24	0.52	1.0	3.1
Manusi a 70 kg	0.0026	0.018	0.031	0.07	0.076	0.16	0.32	1.0

Lampiran D. Hasil penghitungan jumlah sel limfosit pada daerah tarikan ligamen periodotal gigi marmut

Kelompok	Pengamat 1					Pengamat 2					Pengamat 3					Rata-Rata	Rata-Rata Total
	lap 1	lap 2	lap 3	lap 4	lap 5	lap 1	lap 2	lap 3	lap 4	lap 5	lap 1	lap 2	lap 3	lap 4	lap 5		
A	1	0	0	1	1	0	1	0	1	1	1	0	0	1	1	0,6	0,75
	1	0	1	1	2	1	0	1	1	0	1	0	1	1	2	0,866667	
	0	1	0	2	1	0	1	0	2	1	0	1	1	0	2	0,8	
	0	1	1	2	0	0	1	1	0	2	0	1	1	0	1	0,733333	
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
B	2	1	0	1	2	2	3	0	3	2	3	2	0	1	2	1,6	1,45333333
	1	0	2	1	3	1	0	2	3	2	1	1	1	3	2	1,533333	
	1	0	2	1	3	1	0	1	2	2	1	1	0	2	3	1,333333	
	2	2	0	1	3	2	2	0	3	2	2	2	0	2	1	1,6	
	1	0	1	1	2	1	0	0	2	3	1	0	1	3	2	1,2	
C	1	1	1	2	2	1	1	0	0	1	1	1	0	2	1	1	1,26666667
	1	1	1	2	0	1	1	1	0	1	1	1	1	2	0	0,933333	
	2	1	1	2	0	3	1	1	2	0	2	1	1	0	3	1,333333	
	2	1	1	0	3	1	1	1	2	3	2	1	1	3	2	1,6	
	1	2	0	2	1	1	2	1	0	3	1	2	1	2	3	1,466667	
D	0	0	1	2	2	0	0	2	1	3	0	0	1	3	2	1,133333	1,54666667
	2	2	2	2	2	2	2	3	1	3	2	2	2	3	4	2,266667	
	2	0	1	2	2	2	1	1	2	3	2	1	1	3	1	1,6	
	0	1	3	2	1	0	1	3	2	2	0	1	3	3	1	1,533333	
	0	1	2	1	1	0	1	2	3	1	0	1	2	2	1	1,2	

Lampiran E. Analisis data

1. Uji Normalitas *Shapiro-wilk*

Tests of Normality

	Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Jumlah Limfosit	Kontrol 2 Minggu	,190	4	.	,962	4	,792
	Kopi 2 Minggu	,299	5	,165	,830	5	,139
	Kontrol 3 Minggu	,222	5	,200 [*]	,902	5	,419
	Kopi 3 Minggu	,239	5	,200 [*]	,905	5	,437

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

2. Uji Homogenitas *Levene*

Test of Homogeneity of Variances

Jumlah Limfosit

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,430	3	15	,273

3. Uji *One-way Anova*

ANOVA

Jumlah Limfosit

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,329	3	,110	7,851	,002
Within Groups	,210	15	,014		
Total	,539	18			

4. Uji LSD (Least Significance Difference)

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Jumlah Limfosit

LSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol 2 Minggu	Kopi 2 Minggu	-,3220 [*]	,07928	,001	-,4910	-,1530
	Kontrol 3 Minggu	-,2440 [*]	,07928	,008	-,4130	-,0750
	Kopi 3 Minggu	-,3540 [*]	,07928	,000	-,5230	-,1850
Kopi 2 Minggu	Kontrol 2 Minggu	,3220 [*]	,07928	,001	,1530	,4910
	Kontrol 3 Minggu	,0780	,07475	,313	-,0813	,2373
	Kopi 3 Minggu	-,0320	,07475	,675	-,1913	,1273
Kontrol 3 Minggu	Kontrol 2 Minggu	,2440 [*]	,07928	,008	,0750	,4130
	Kopi 2 Minggu	-,0780	,07475	,313	-,2373	,0813
	Kopi 3 Minggu	-,1100	,07475	,162	-,2693	,0493
Kopi 3 Minggu	Kontrol 2 Minggu	,3540 [*]	,07928	,000	,1850	,5230
	Kopi 2 Minggu	,0320	,07475	,675	-,1273	,1913
	Kontrol 3 Minggu	,1100	,07475	,162	-,0493	,2693

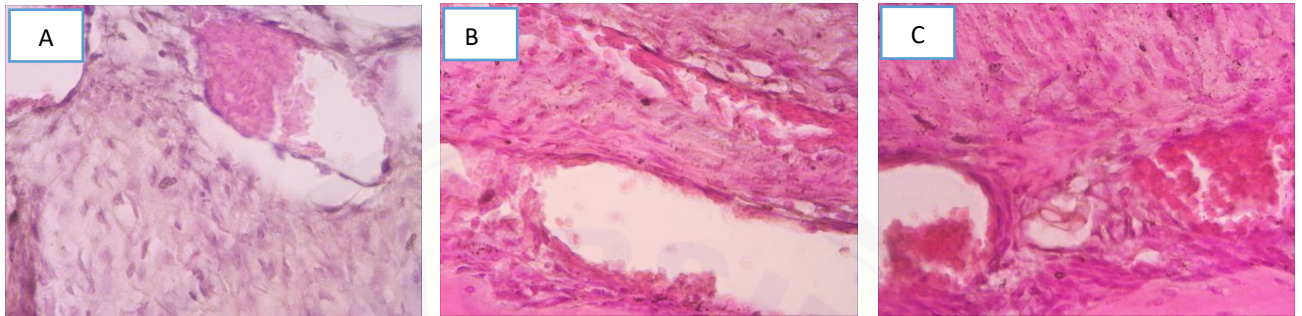
Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,014.

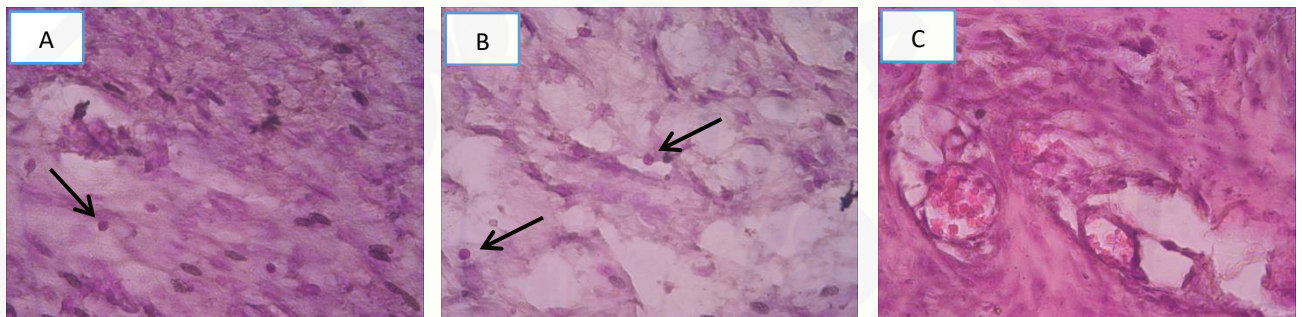
*. The mean difference is significant at the 0,05 level.

Lampiran F. Gambaran histologis sel limfosit pada daerah tarikan ligamen periodontal

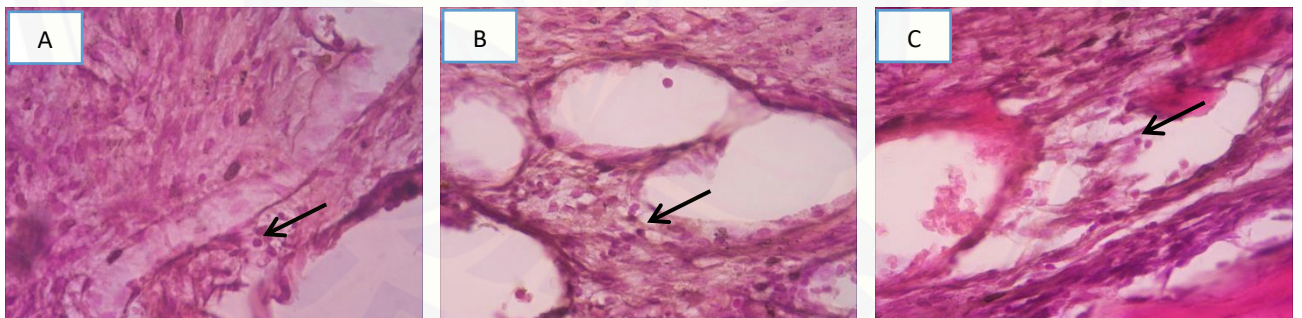
A. Kelompok Kontrol 2 Minggu



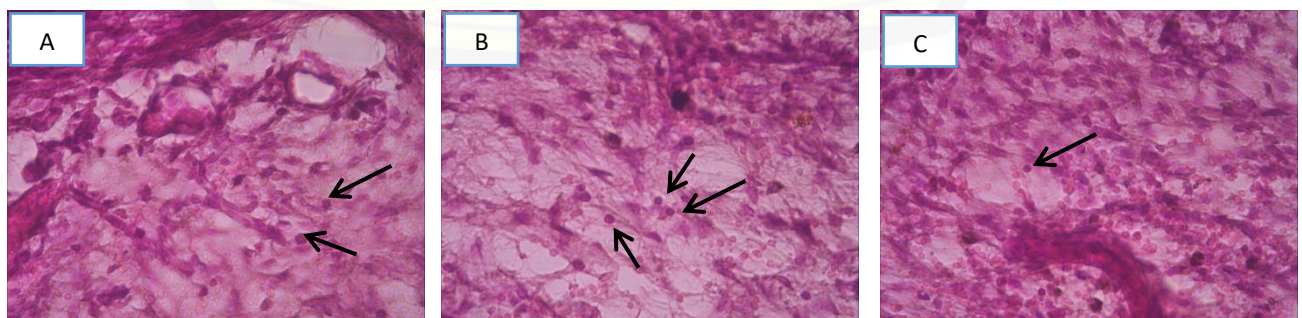
B. Kelompok Perlakuan Kopi 2 Minggu



C. Kelompok Kontrol 3 Minggu



D. Kelompok Perlakuan Kopi 3 Minggu



Lampiran G. Gambaran klinis gigi insisif marmut



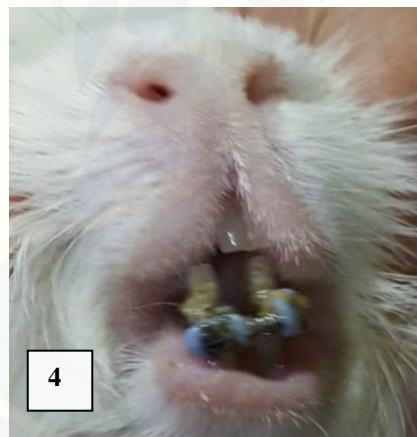
Kelompok kontrol 2 minggu.
Jarak antar gigi insisif = 2,55 mm



Kelompok perlakuan 2 minggu.
Jarak antar gigi insisif = 3,75 mm



Kelompok kontrol 3 minggu.
Jarak antar gigi insisif = 2,75 mm



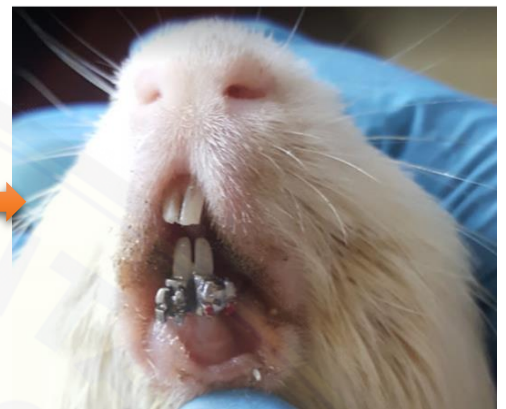
Kelompok perlakuan 3 minggu.
Jarak antar gigi insisif = 4,25 mm

Lampiran H. Tahapan pemasangan alat ortodonti

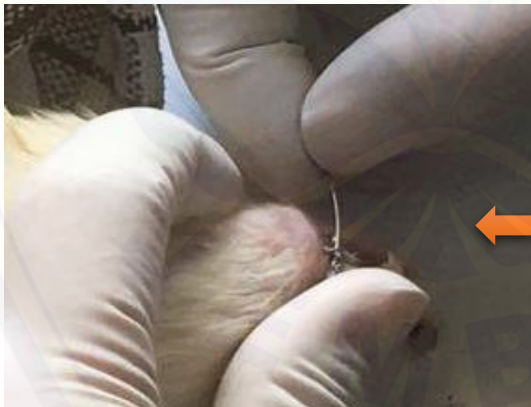
1. Insisal gigi antagonis marmut dipotong 2 mm



2. Inseri braket ortodonti pada insisif kanan dan kiri RB marmut



4. NiTi wire round 0,016 inch dimasukkan ke slot braket



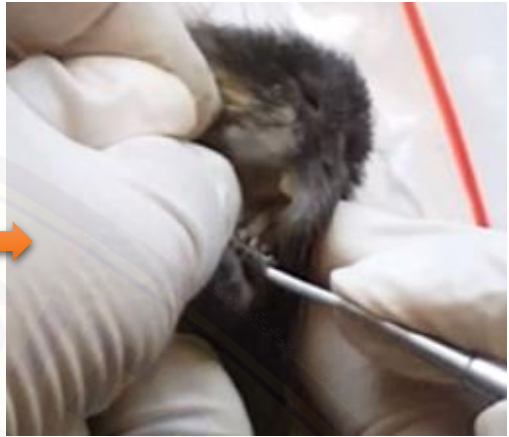
3. Fiksasi dengan glass ionomer tipe 1



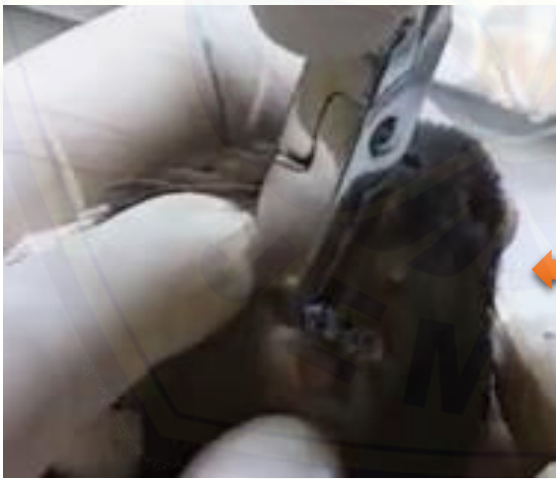
5. Insesrsi NiTi open coil springs 0,03 inch pada wire dan ligasi pada satu sisi dengan *elastomeric O-ring*



6. Kompres NiTi open coil springs 60% (52,5 gram)



8. Pemotongan sisa wire



7. Ligasi pada sisi lainnya dengan *elastomeric O-ring*



9. Pemberian semen pada insisif kanan dan kiri RB marmut agar tidak melukai jaringan lunak disekitarnya

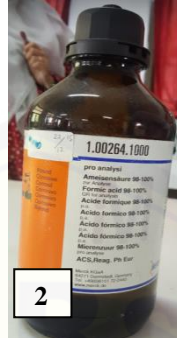


Lampiran K. Bahan dan Alat Penelitian

A. Bahan Penelitian



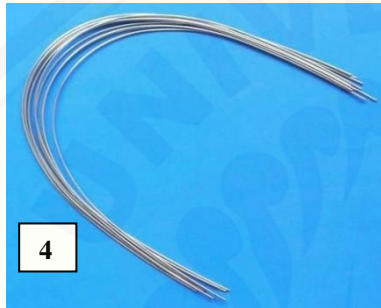
1



2



3



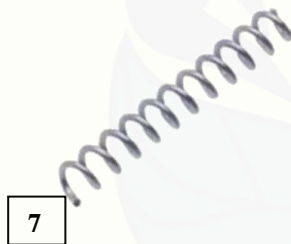
4



5



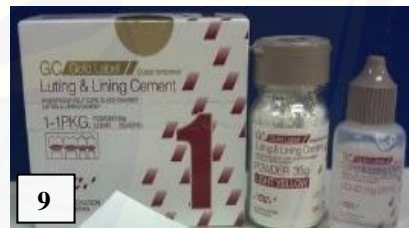
6



7



8

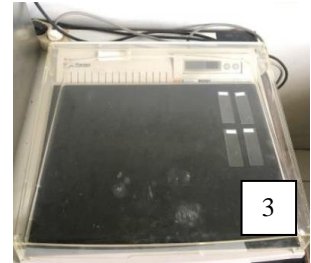
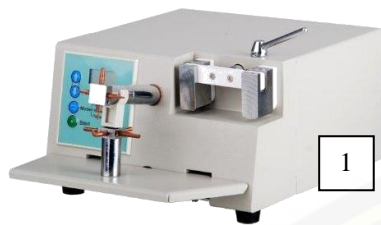


9

Keterangan :

- | | |
|---|---|
| 1. Hewan coba marmut (<i>Cavia cobaya</i>) jantan | 6. <i>Elastomeric O-ring</i> |
| 2. Asam formiat 10% | 7. <i>NiTi open coil springs</i> , diameter 0,03 inch |
| 3. <i>Hemamatosilin Eosin (HE)</i> | 8. Braket ortodonti |
| 4. <i>NiTi wire round</i> , diameter 0,016 inch | 9. <i>Glass ionomer type 1</i> |
| 5. <i>Matrix band</i> | |

B. Alat Penelitian



Keterangan :

- | | |
|---------------------------|------------------------|
| 1. <i>Welding machine</i> | 6. Inkubator |
| 2. <i>Waterbath</i> | 7. Mikroskop binokuler |
| 3. <i>Slide warmer</i> | 8. Kamera optilab |
| 4. Mikrotom | 9. Alat Clearing |
| 5. <i>Filling cabinet</i> | |