



**EFEK PEMBERIAN SEDUHAN KOPI ROBUSTA (*Coffea canephora*)
TERHADAP PENINGKATAN KEPADATAN SABUT KOLAGEN LIGAMEN
PERIODONTAL DAERAH TARIKAN PADA GIGI MARMUT (*Cavia cobaya*)
YANG DIINDUKSI GAYA MEKANIS ORTODONTI**

SKRIPSI

Oleh

**Rizky Putri Agma Wijayanti
NIM 151610101104**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2019**



**EFEK PEMBERIAN SEDUHAN KOPI ROBUSTA (*Coffea canephora*)
TERHADAP PENINGKATAN KEPADATAN SABUT KOLAGEN LIGAMEN
PERIODONTAL DAERAH TARIKAN PADA GIGI MARMUT (*Cavia cobaya*)
YANG DIINDUKSI GAYA MEKANIS ORTODONTI**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk
meraih gelar Sarjana Kedokteran Gigi (S1) pada Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Jember

Oleh

Rizky Putri Agma Wijayanti

NIM 151610101104

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2019**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Orang tua saya tercinta, Mama Mamiek Kristiana dan Papa Agus Sutriyono, yang selalu memberikan dukungan dan doa.
2. Adik saya tercinta Edo Putra Agma Wijaya dan Mas Febrian Rizka Arisona.
3. Guru-guruku sejak taman kanak-kanak sampai dengan perguruan tinggi.
4. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

MOTTO

Janganlah kamu bersikap lemah, dan janganlah pula kamu bersedih hati, padahal kamulah orang-orang yang paling tinggi derajatnya, jika kamu orang-orang yang beriman. (terjemahan Surat Al-Imran: 139)^{*)}

Sesungguhnya bersama kesukaran itu ada keringanan. Karena itu bila kau sudah selesai (mengerjakan yang lain). Dan berharaplah kepada Tuhanmu.

(terjemahan Surat Al Insyirah : 6-3)^{*)}

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

PERNYATAAN

Saya yang bertandatangan di bawah ini :

Nama : Rizky Putri Agma Wijayanti

NIM : 151610101104

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul "**Efek Pemberian Seduhan Kopi Robusta (*Coffea canephora*) terhadap Peningkatan Kepadatan Sabut Kolagen Ligamen Periodontal Daerah Tarikan pada Gigi Marmut (*Cavia cobaya*) yang Diinduksi Gaya Mekanis Ortodonti**" adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada instuisi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 11 April 2019

Yang menyatakan,

Rizky Putri Agma Wijayanti

NIM 151610101104

SKRIPSI

**EFEK PEMBERIAN SEDUHAN KOPI ROBUSTA (*Coffea canephora*)
TERHADAP PENINGKATAN KEPADATAN SABUT KOLAGEN LIGAMEN
PERIODONTAL DAERAH TARIKAN PADA GIGI MARMUT (*Cavia cobaya*)
YANG DIINDUKSI GAYA MEKANIS ORTODONTI**

Oleh

Rizky Putri Agma Wijayanti

NIM 151610101104

Pembimbing

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

Dosen Pembimbing Pendamping : drg. Leliana Sandra Devi A Putri, Sp.Ort

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Efek Pemberian Seduhan Kopi Robusta (*Coffea canephora*) terhadap Peningkatan Kepadatan Sabut Kolagen Ligamen Periodontal Daerah Tarikan pada Gigi Marmut (*Cavia cobaya*) yang Diinduksi Gaya Mekanis Ortodonti” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada :

hari, tanggal : Jumat, 5 April 2019

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Dosen Pengaji Ketua

Dosen Pengaji Anggota

Prof. drg. Dwi Prijatmoko, S.H., Ph.D
NIP. 195808041983031003

drg. Happy Harmono, M.Kes
NIP. 196709011997021001

Dosen Pembimbing Utama

Dosen Pembimbing Pendamping

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

drg. Leliana Sandra Devi A Putri, Sp.Ort
NIP. 197208242001122001

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Jember,

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

RINGKASAN

Efek Pemberian Seduhan Kopi Robusta (*Coffea canephora*) terhadap Peningkatan Kepadatan Sabut Kolagen Ligamen Periodontal Daerah Tarikan pada Gigi Marmut (*Cavia cobaya*) yang Diinduksi Gaya Mekanis Ortodonti; Rizky Putri Agma Wijayanti, 151610101104; 2019 : 85 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Maloklusi merupakan keadaan menyimpang dari oklusi normal yang ditandai dengan ketidaksesuaian antara lengkung geligi dan lengkung rahang. Kondisi ini dipicu oleh berbagai faktor antara lain herediter, rendahnya kesadaran masyarakat terhadap perawatan gigi, kebiasaan buruk dalam masyarakat seperti menghisap jempol dan sebagainya. Pravelensi maloklusi di Indonesia sangat tinggi yaitu sekitar 80% dari total populasi dan diperkirakan akan terus mengalami peningkatan sehingga perlu dilakukan perawatan. Maloklusi dapat dikoreksi dengan penggunaan alat ortodonti. Penggunaan alat ortodonti sebagai perawatan maloklusi biasanya membutuhkan waktu relatif lama sekitar 2 – 3 tahun.

Pada saat gigi menerima gaya mekanis dari alat ortodonti pada periode waktu yang lama, terjadilah respon menyerupai inflamasi yang selanjutnya dapat memicu stress oksidatif sehingga tubuh akan melepaskan ROS (*Reactive Oxygen Spesies*) yang dapat merusak sel dan DNA apabila diproduksi secara berlebihan, oleh sebab itu dibutuhkan antioksidan untuk mencegah terjadinya kerusakan tersebut. Diketahui bahwa biji kopi robusta memiliki aktivitas antioksidan tinggi dibanding kopi arabika dan lainnya, yang diperankan oleh zat aktif polifenol berupa asam klorogenat dan asam asam kafeat.

Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis efek pemberian seduhan kopi robusta terhadap peningkatan kepadatan sabut kolagen ligamen periodontal pada gigi marmut (*Cavia cobaya*) jantan yang diinduksi gaya mekanis ortodonti dengan

membandingkan antara kepadatan sabut kolagen ligamen periodontal marmut (*Cavia cobaya*) yang diberi seduhan kopi robusta dengan kepadatan sabut kolagen ligamen periodontal marmut (*Cavia cobaya*) tanpa pemberian seduhan kopi robusta.. Jenis penelitian adalah *experimental labolatoris* dengan rancangan penelitian *the post test only control group design*. Penelitian ini dilakukan pada bulan Agustus 2018 sampai dengan bulan November 2018. Sejumlah 20 ekor marmut (*Cavia cobaya*) jantan dikelompokan menjadi 4 kelompok, yaitu 2 kelompok kontrol berupa kelompok alat 2 minggu dan kelompok alat 3 minggu, serta 2 kelompok perlakuan berupa kelompok alat dan kopi 2 minggu, dan kelompok alat dan kopi 3 minggu. Dekapitulasi dilakukan pada hari ke 15 dan 22, dilanjutkan dengan pemrosesan jaringan histologi dan pengamatan serta penghitungan kepadatan sabut kolagen ligamen periodontal daerah tarikan.

Kepadatan sabut kolagen adalah gambaran mikroskopik sabut kolagen ligamen periodontal daerah tarikan menggunakan pewarnaan *Trichrome Mallory* dengan perbesaran 400x. Hasil pengamatan kemudian difoto menggunakan kamera *Optilab* dan dianalisis menggunakan *software Adobe Photoshop CS 6.0* untuk melihat jumlah *pixel* sabut kolagen. Jumlah kepadatan sabut kolagen didapat dari rata-rata jumlah *pixel* sabut kolagen dalam 3 lapang pandang. Kemudian hasil dianalisis menggunakan program SPSS.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan terdapat peningkatan signifikan secara statistik kepadatan sabut kolagen pada ligamen periodontal daerah tarikan kelompok perlakuan dengan pemberian seduhan kopi robusta dibandingkan dengan kelompok kontrol tanpa pemberian seduhan kopi robusta sehingga dapat disimpulkan bahwa seduhan kopi robusta dapat meningkatkan kepadatan sabut kolagen ligamen periodontal daerah tarikan pada gigi marmut (*Cavia cobaya*) yang diinduksi gaya mekanis ortodonti dibandingkan tanpa pemberian seduhan kopi robusta.

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT, atas limpahan rahmat, hidayah serta karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi berjudul “Efek Pemberian Seduhan Kopi Robusta (*Coffea canephora*) terhadap Peningkatan Kepadatan Sabut Kolagen Ligamen Periodontal Daerah Tarikan pada 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. Kedua Orang Tua, Mama Mamiek Kristiana dan Papa Agus Sutriyono atas segala doa, kasih sayang, dan dukungan yang selalu diberikan.
2. drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes, Sp. Prost. selaku Dekan, Dr.drg. I Dewa Ayu Susilawati M.Kes selaku Pembantu Dekan I, Dr.drg. Sri Hernawati, M.Kes selaku Pembantu Dekan II, dan drg. Izzata Barid, M. Kes selaku Pembantu Dekan III.
3. Prof. Dr. drg. Herniyati,. M.Kes, dan drg. Leliana Sandra Devi A Putri, Sp.Ort selaku dosen pembimbing skripsi dan proyek, atas bimbingan, pengarahan, waktu serta perhatian yang diberikan dalam penyusunan skripsi ini.
4. Prof. drg. Dwi Prijatmoko, S.H., Ph.D selaku penguji utama, drg. Happy Harmono, M.Kes selaku penguji pendamping serta dosen pembimbing proyek atas saran yang bermanfaat dan bimbingan yang diberikan hingga terselesainya skripsi ini.
5. drg. Hestieyonini Hadnyanawati M.Kes selaku dosen pembimbing akademik, atas perhatian dan motivasi selama ini.
6. Seluruh staf Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember Mbak Wahyu, Mas Agus terimakasih atas bimbingan dan bantuan selama penelitian ini dilakukan.

7. Adik tercinta, Edo Putra Agma Wijaya yang selalu memberikan doa dan semangat untuk menyelesaikan skripsi ini.
8. Nenek tercinta, Sri Musriah dan Endang serta Kakek tercinta, Mulyono dan Alm. Soenardji yang selalu memberikan kasih sayang, doa, dan semangat untuk menyelesaikan skripsi ini.
9. Puh Leny Urianti dan Yohana Nanita Nancy Ardila yang selalu memberikan kasih sayang, doa, dan semangat untuk menyelesaikan skripsi ini.
10. Keluarga besar Moelyono dan Alm. Soenardji atas doa dan dukungannya selama ini.
11. Mas Febrian Rizka Arisona atas doa, motivasi dan semangat yang telah diberikan.
12. *Sister by love*, Nadia Farhatika, Rezza Putri Mahardika, dan Echi Claudia atas segala doa, motivasi, semangat, serta bantuannya selama ini.
13. Sahabat - sahabat sekaligus keluarga kedua di Jember Ari Intan, Haifa, Iftin, Ayus, Ira, Mia, Nabila, Leo, Denta, Bimo, Sakti, Hilmy, Kevin yang selalu ada memberikan doa, bantuan, dan dukungan selama ini.
14. Partner proyek penelitian Ari Intan Prajitno dan Ginanjar Hidayatullah atas kerja sama dan telah menjadi partner yang hebat.
15. Teman - teman KAMI 2015, Keluarga DENTINE, Mas Widy Jatmiko selaku ketua DENTINE 2015 atas segala bantuan dan kerjasamanya selama menuntut ilmu semoga kita semua menjadi dokter gigi yang sukses.
16. Almamater tercinta Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
17. 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, 11 April 2019

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
HALAMAN PEMBIMBING	v
HALAMAN PENGESAHAN.....	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Kopi	6
2.1.1 Definisi Kopi.....	6
2.1.2 Kandungan Kopi	7
2.1.3 Fitokimia Kopi	8
2.1.4 Antioksidan pada Kopi	11
2.2 Ligamen Periodontal dan Tulang Alveolar	12
2.3 Pergerakan Gigi Ortodonti	14

2.3.1 Teori Biomekanika Pergerakan Gigi	14
2.3.2 Tahap – Tahap Pergerakan Gigi	16
2.4 Remodelling Ligamen Periodontal.....	17
2.5 Sabut Kolagen	19
2.5.1 Definisi dan Fungsi Sabut Kolagen	19
2.5.2 Struktur Sabut Kolagen.....	20
2.6 Pengaruh Induksi Gaya Ortodonti terhadap Sabut Kolagen	21
2.7 Efek Kopi terhadap Sel Fibroblas Penghasil Sabut Kolagen	22
2.8 Adobe Photoshop CS 6.0. untuk Menghitung Kepadatan Sabut Kolagen	24
2.9 Kerangka Konsep Penelitian	25
2.10 Hipotesis.....	25
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	26
3.1 Jenis Penelitian.....	26
3.2 Rancangan Penelitian	26
3.3 Tempat dan Waktu Penelitian.....	26
3.4 Populasi dan Sampel Penelitian.....	27
3.4.1 Populasi Penelitian.....	27
3.4.2 Sampel Penelitian	27
3.5 Identifikasi Variabel Penelitian	29
3.5.1 Variabel Bebas	29
3.5.2 Variabel Terikat	29
3.5.3 Variabel Terkendali	29
3.6 Definisi Operasional.....	30
3.6.1 Seduhan Kopi.....	30
3.6.2 Induksi Gaya Mekanis Ortodonti.....	30
3.6.3 Kepadatan Sabut Kolagen Ligamen Periodontal	30
3.7 Bahan dan Alat Penelitian.....	31
3.7.1 Bahan Penelitian	31

3.7.2 Alat Penelitian.....	32
3.8 Konversi Perhitungan Dosis.....	33
3.9 Prosedur Penelitian.....	33
3.9.1 Persiapan <i>Ethical Clearance</i>	33
3.9.2 Persiapan Hewan Coba	34
3.9.3 Pembagian Kelompok Perlakuan	34
3.9.4 Persiapan Seduhan Kopi	34
3.9.5 Persiapan Braket Ortodonti.....	35
3.9.6 Cara Kerja Penelitian	35
3.10 Analisis Data.....	41
3.11 Alur Penelitian	42
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	43
 4.1 Hasil Penelitian.....	43
4.1.1 Gambaran Histologis Daerah Tarikan, Daerah Tekanan, dan Sabut Kolagen pada Ligamen Periodontal	43
4.1.2 Hasil Penghitungan Rata – Rata Kepadatan Sabut Kolagen Ligamen Periodontal pada Daerah Tarikan ...	45
 4.2 Analisis Data.....	46
 4.3 Pembahasan.....	47
BAB 5. PENUTUP.....	51
 5.1 Kesimpulan	51
 5.2 Saran	51
DAFTAR PUSTAKA	52
LAMPIRAN.....	61

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 2.1 Komposisi biji kopi arabika dan robusta.....	8
Tabel 2.2 Perubahan yang terjadi pada pergerakan gigi ortodonti di daerah tekanan dan tarikan	17
Tabel 4.1 Rata – rata kepadatan sabut kolagen ligamen periodontal daerah tarikan pada kelompok kontrol dan perlakuan	45
Tabel 4.2 Hasil uji <i>post hoc</i> LSD	47

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Penampang melintah buah kopi.....	7
Gambar 2.2 Struktur molekul kafein.....	9
Gambar 2.3 Gigi beserta jaringan pendukungnya yang terdiri dari gingiva, sementum ligamen periodontal, dan tulang alveolar	13
Gambar 2.4 Daerah tekanan dan tarikan pada pergerakan gigi ortodonti.....	15
Gambar 2.5 Gambaran sel – sel yang terlibat dalam pergerakan gigi ortodonti.....	19
Gambar 2.6 Gambaran histologis sabut kolagen berwarna biru dengan pewarnaan <i>Trichrome Mallory</i> perbesaran 400x	20
Gambar 2.7 Gambaran skematik gigi, ligamen periodontal dengan sel – selnya serta tulang alveolar	22
Gambar 2.8 Aktivitas keseimbangan antara ROS dan AO	23
Gambar 2.9 Ilustrasi fibroblas penghasil sabut kolagen pada proses perbaikan dan regenerasi	23
Gambar 2.10 Kerangka konsep penelitian	23
Gambar 3.1 <i>Open coil sprigs</i> yang dikompres dari 5 mm menjadi 3 mm	30
Gambar 3.2 Braket ortodonti yang telah di welding pada <i>matrix band</i>	35
Gambar 3.3 Pemasangan braket ortodonti pada gigi insisif kanan dan kiri RB marmut	36
Gambar 3.4 Alur penelitian.....	42
Gambar 4.1 Gambaran histologis potongan transversal gigi insisif marmut	44
Gambar 4.2 Gambaran histologis sabut kolagen ligamen periodontal daerah tarikan gigi insisif marmut pada kelompok kontrol dan perlakuan	44
Gambar 4.3 Diagram rata – rata kepadatan sabut kolagen ligamen periodontal daerah tarikan pada kelompok kontrol dan perlakuan	46
Gambar 4.4 Struktur kimia polifenol	49

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran A. Surat Keterangan <i>Ethical Clearance</i>	61
Lampiran B. Surat Ijin Laboratorium Biomedik.....	62
Lampiran C. Surat Ijin Laboratorium Fisiologi	63
Lampiran D. Penghitungan Konversi Dosis Manusia ke Marmut	64
Lampiran E. Pengukuran Kepadatan Sabut Kolagen.....	65
Lampiran F. Hasil Penghitungan Kepadatan Sabut Kolagen di Daerah Tarikan.....	69
Lampiran G. Analisis Data.....	74
Lampiran H. Gambaran Histologis Sabut Kolagen pada Kontrol dan Perlakuan.....	76
Lampiran I. Gambaran Klinis Gigi Inisisif Marmut pada Kontrol dan Perlakuan.....	80
Lampiran J. Tahap Perlakuan.....	81
Lampiran K. Alat dan Bahan	84

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Maloklusi merupakan keadaan menyimpang dari oklusi normal yang ditandai dengan ketidaksesuaian antara lengkung geligi dan lengkung rahang (Farlex, 2012). Kondisi ini dipicu oleh berbagai faktor antara lain herediter, rendahnya kesadaran masyarakat terhadap perawatan gigi, kebiasaan buruk dalam masyarakat seperti menghisap jempol dan sebagainya. Pravelenyi maloklusi di Indonesia sangat tinggi yaitu sekitar 80% dari total populasi dan diperkirakan akan terus mengalami peningkatan sehingga perlu dilakukan perawatan (Laguhi *et al.*, 2014).

Perawatan maloklusi atau perawatan ortodonti merupakan perawatan yang bertujuan untuk menyesuaikan posisi gigi dengan lengkung rahang yang tepat sehingga dicapai oklusi normal. Perawatan ini biasanya membutuhkan waktu relatif lama sekitar 2 – 3 tahun (Profitt *et al.*, 2007). Berbagai upaya telah dilakukan untuk memperpendek waktu perawatan ortodonti antara lain dengan pembedahan, pemberian hormon paratiroid jangka panjang, dan kortikosteroid dosis tinggi serta penggunaan alat – alat tertentu seperti *Biolux LED Device, Acceledent Machine* (ADA, 2001; Maurya dan Prassanna, 2016; Mayur *et al.*, 2017). Upaya – upaya tersebut memiliki berbagai kelemahan yaitu lebih invasif, efek samping sistemik agen farmakologis yang lebih besar serta harganya mahal sehingga diperlukan upaya lain untuk memperpendek waktu perawatan ortodonti dengan efek samping minimal serta harganya yang lebih terjangkau seperti pemanfaatan tanaman herbal (Mayur *et al.*, 2017).

Pergerakan gigi pada perawatan ortodonti merupakan proses yang menggabungkan adaptasi fisiologis tulang alveolar dan ligamen periodontal terhadap gaya mekanis yang diberikan pada gigi serta respon biologi terhadap gaya tersebut (Wise dan King, 2008; Meikle, 2006; Davidovitch dan Krishnan, 2009). Induksi gaya mekanis pada gigi akan menimbulkan dua daerah pada ligamen periodontal dan

tulang alveolar yaitu daerah tekanan dan tarikan (Sartika *et al.*, 2013). Pada daerah tekanan, induksi gaya ortodonti menghasilkan deformitas bioplastis dan bioelastis tulang alveolar, menyebabkan gangguan sirkulasi, iskemia, serta terbentuk daerah yang disebut zona hialin. Pada daerah tarikan terjadi penyusutan diameter dan perpanjangan dari sabut kolagen selama proses *remodelling* ligamen periodontal yang memungkinkan bergeraknya gigi (Martinez dan Johnson, 1987). *Remodelling* ligamen periodontal merupakan proses keseimbangan antara aposisi ligamen periodontal di daerah tarikan dan resorbsi ligamen periodontal di daerah tekanan (d'Apuzzo, 2013). Salah satu akibat dari tidak seimbangnya proses ini adalah terjadinya *relaps* yaitu kecenderungan kembali ke bentuk awal maloklusi setelah dikoreksi (Proffit dan Fields, 2007).

Ligamen periodontal terdiri dari sabut utama kolagen yang dikelilingi matriks komponen lain seperti pembuluh darah, pembuluh limfa, dan cairan intertestial (Dorrow, 2002). Pada saat gigi digerakkan secara ortodonti terjadi peningkatan aktivitas sel – sel ligamen periodontal, salah satunya sel fibroblas yang akan memicu bertambahnya sintesis sabut kolagen (Shaw, 2004). Sabut kolagen dalam fungsi normal berperan untuk perbaikan dan regenerasi (Genco, 1992; Ahuja *et al.*, 2012). Sintesis sabut kolagen oleh fibroblas dimulai pada hari ke 3 - 5 dan mencapai puncaknya pada hari ke-5 sampai hari ke-7. Selanjutnya, memasuki fase *remodelling* pada hari ke-14 dan terjadi kontaksi serta maturasi kolagen yang memerlukan waktu 21 hari - 2 tahun bergantung pada kedalaman dan keluasan luka (Robbins *et al.*, 2007; Sabirin *et al.*, 2013; Zuber *et al.*, 2013). Peningkatan sabut kolagen ligamen periodontal merupakan faktor yang penting sebagai jaringan yang mengikat gigi dengan jaringan penyangga sekitarnya dalam hal ini ligamen periodontal berperan dalam proses aposisi di daerah tarikan yaitu mempertahankan posisi gigi agar tidak relaps (Pillon, 1996; Prameswari 2006; Alawiyah, 2012). Susunan yang kompleks dari sabut kolagen memastikan bahwa terlepas dari arah gaya yang diberikan, beberapa bundel sabut selalu berada pada daerah tarikan (Dorrow *et al.*, 2002; McCormack *et al.*, 2014).

Pada saat gigi menerima gaya mekanis dari alat ortodonti pada periode waktu yang lama, terjadilah respon menyerupai inflamasi yang selanjutnya dapat memicu stress oksidatif berkaitan dengan peningkatan ekspresi faktor proinflamasi (Davidovitch dan Krishnan, 2009; Gostner *et al.*, 2013; Padgett *et al.*, 2013). Stres oksidatif merupakan ketidakseimbangan antara produk radikal bebas dengan kemampuan tubuh untuk menetralkasirnya melalui antioksidan alami tubuh (Mandal, 2011). Reactive Oxygen Species (ROS) merupakan faktor utama yang berperan pada kerusakan oksidatif sel dan jaringan dengan merusak peroksidasi rantai ganda asam lemak, protein, dan DNA melalui peningkatan stres oksidatif (Bagchi dan Puri, 1998; Kohen dan Nyska, 2002; Burton dan Jauniaux, 2011). Oleh karena itu, pada pergerakan gigi ortodonti diperlukan antioksidan yang berperan dalam mencegah terjadinya kerusakan pada sel.

Kopi merupakan minuman yang semakin digemari oleh berbagai kalangan masyarakat di dunia, diperkuat dengan data statistik yang menunjukkan tingkat konsumsi kopi di berbagai negara meningkat setiap tahunnya termasuk di Indonesia. Data statistik menunjukkan total konsumsi kopi di Indonesia terus mengalami peningkatan dari tahun 1990 sampai 2017.

Kandungan zat aktif pada biji kopi memiliki berbagai manfaat, salah satunya sebagai antioksidan. Kopi mengandung antioksidan tinggi dibandingkan dengan minuman lain yang sering dikonsumsi seperti teh, anggur merah. Antioksidan pada kopi sebesar 200-500 mg/cangkir, sedangkan teh dan anggur merah 150-400 mg/cangkir (Menshchikova *et al.*, 2008). Kopi robusta merupakan kopi yang memiliki aktivitas antioksidan tinggi di banding kopi arabika dan lainnya (Richelle *et al.*, 2001). Aktivitas antioksidan pada biji kopi robusta disebabkan karena kandungan asam klorogenat dan asam kafeat (Yashin *et al.*, 2013). Antioksidan pada kopi robusta mampu mengubah ROS menjadi produk stabil sehingga dapat melindungi sel dan jaringan dari kerusakan oksidatif (Morishita and Ohnisi, 2000). Pada beberapa penelitian juga disebutkan kandungan asam ferulik pada kopi

memiliki efek anti inflamasi, antioksidan, anti alergi, dan antibakteri (Prior *et al.*, 2003).

Pada saat gigi digerakan secara ortodonti sabut kolagen pada ligamen periodontal harus mengalami *remodelling* terus menerus sehingga dapat beradaptasi dengan perubahan posisi gigi (Apajalahti, 2004). Kandungan antioksidan yang tinggi pada kopi robusta mampu melindungi kerusakan oksidatif oleh ROS saat pengaplikasian gaya ortodonti serta dapat terjadi perbaikan dan regenerasi ligamen periodontal oleh sabut kolagen yang diharapkan mampu meningkatkan *remodelling* ligamen periodontal sehingga dapat memperpendek waktu perawatan ortodonti. Berdasarkan hal tersebut, peneliti tertarik untuk mengetahui efek pemberian seduhan kopi robusta terhadap peningkatan kepadatan sabut kolagen ligamen periodontal pada gigi marmut (*Cavia cobaya*) jantan yang diinduksi gaya mekanis ortodonti.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah efek pemberian seduhan kopi robusta dapat meningkatkan kepadatan sabut kolagen ligamen periodontal daerah tarikan pada gigi marmut (*Cavia cobaya*) jantan yang diinduksi gaya mekanis ortodonti?

1.3 Tujuan Penilitian

Untuk mengetahui efek pemberian seduhan kopi robusta terhadap peningkatan kepadatan sabut kolagen ligamen periodontal pada gigi marmut (*Cavia cobaya*) jantan yang diinduksi gaya mekanis ortodonti dengan membandingkan antara kepadatan sabut kolagen ligamen periodontal marmut (*Cavia cobaya*) yang diberi seduhan kopi robusta dengan kepadatan sabut kolagen ligamen periodontal marmut (*Cavia cobaya*) tanpa pemberian seduhan kopi robusta.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini antara lain:

1. Memberikan informasi tentang efek pemberian seduhan kopi robusta terhadap peningkatan kepadatan sabut kolagen ligamen periodontal pada gigi marmut (*Cavia cobaya*) jantan yang diinduksi gaya mekanis ortodonti.
2. Menjadi alternatif untuk meningkatkan *remodelling* ligamen periodontal sehingga diharapkan mampu memperpendek waktu perawatan ortodonti.
3. Menjadi acuan untuk penelitian selanjutnya.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kopi

2.1.1 Definisi Kopi

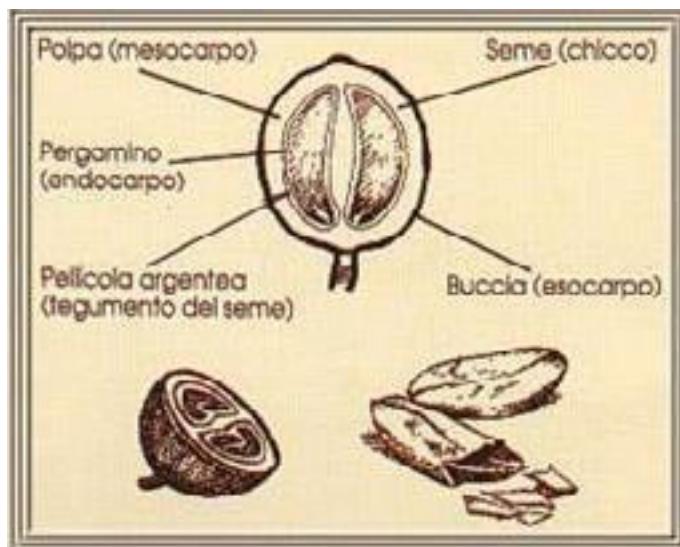
Kopi merupakan minuman stimulan yang didapatkan dari biji yang dipanggang, pada umumnya disebut biji kopi. Saat ini, kopi merupakan minuman yang sangat populer di seluruh dunia (Villanueva *et al.*, 2006) Tanaman kopi termasuk dalam famili *Rubiaceae* dan terdiri atas banyak jenis antara *Coffea arabica*, *Coffea robusta* dan *Coffea liberica*. Negara asal tanaman kopi adalah Abessinia yang tumbuh di dataran tinggi. Dalam taksonomi tumbuhan, kopi Robusta (*Coffea robusta*) diklasifikasikan sebagai berikut (Tanaman Obat, 2008):

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Subkingdom	: <i>Tracheobionta</i>
Super Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Sub Kelas	: <i>Asteridae</i>
Ordo	: <i>Rubiales</i>
Famili	: <i>Rubiaceae</i>
Genus	: <i>Coffea</i>
Spesies	: <i>Coffea robusta Lindl. Ex De Will</i>

Buah kopi terdiri atas lima bagian, seperti terlihat pada Gambar 2.1, yaitu :

- a. Lapisan kulit luar (*excocarp/epicarp*). Disebut juga dengan kulit buah, merupakan bagian terluar dari buah kopi.
- b. 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.

- c. Lapisan kulit tanduk (*endoscarp*). Merupakan lapisan kulit kopi paling keras, tersusun oleh selulosa dan hemiselulosa.
- d. Lapisan kulit ari (*spermoderm*). Merupakan kulit yang tipis dan menempel pada biji kopi.
- e. Keping biji (*endosperm*). Merupakan bagian buah kopi yang diambil manfaatnya untuk diolah menjadi kopi bubuk. Persentase *endosperm* adalah 49,42% dari buah kopi (Goenawan, 2011). Gambar 2.1 adalah penampang melintang dari buah kopi.



Gambar 2.1 Penampang melintang buah kopi (web.ipb.ac.id)

2.1.2 Kandungan Kopi

Kopi adalah sejenis minuman yang berasal dari proses pengolahan dan ekstraksi biji tanaman kopi yang dikeringkan kemudian dihaluskan menjadi bubuk (Webster, 2010). Senyawa kimia pada biji kopi dapat dibedakan atas senyawa volatil dan nonvolatil. Senyawa volatil adalah senyawa yang mudah menguap, terutama jika terjadi kenaikan suhu. Senyawa volatil yang berpengaruh terhadap aroma kopi antara lain golongan aldehid, keton dan alkohol, sedangkan senyawa non volatil yang berpengaruh terhadap mutu kopi antara lain kafein, asam klorogenat dan senyawa - senyawa nutrisi. Senyawa nutrisi pada biji kopi terdiri dari karbohidrat, protein,

lemak, dan mineral. Tabel 2.1 menunjukkan komponen kimia kopi arabika dan robusta.

Tabel 2.1 Komposisi Biji kopi Arabika dan Robusta

Komponen	Kopi Arabika	Kopi Robusta
Mineral	3.0-4.2	4.0-4.5
Kafein	09-1.2	1.6-2.4
Trigonelin	1.0-1.2	0.6 -0.75
Lemak	12.0-18.0	9.0-13.0
Total Asam		
Klorogenat	5.5-8.0	7.0-10.0
Asam Alifatis	1.5-2.0	1.5-1.2
Oligosakarida	6.0-8.0	5.0-7.0
Total		
Polisakarida	50.0-55.0	37.0-47.0
Asam amino	2.0	
Protein	11.0-13.0	
Asam Humat	-	

Sumber : (Clarke dan Macre, 1987)

2.1.3 Fitokimia Kopi

Komponen kimia pada kopi robusta adalah alkaloid, saponin, flavonoid dan polifenol (Balitbangkes, 2000). Berikut adalah penjelasan mengenai masing masing dari komponen tersebut:

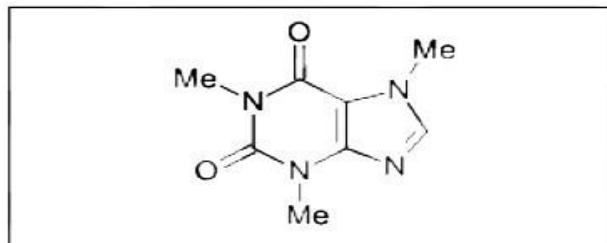
a. Alkaloid

Alkaloid adalah metabolit sekunder terbesar pada tumbuhan. Alkaloid merupakan senyawa yang bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen, biasanya gabungan, sebagian dari bagian sistem siklik. Alkaloid sering beracun bagi manusia dan banyak yang mempunyai kegiatan fisiologi yang menonjol, jadi digunakan secara luas dalam bidang pengobatan. Alkaloid biasanya

tanpa warna, seringkali bersifat optis aktif, kebanyakan berbentuk kristal tetapi hanya sedikit yang berupa cairan (misalnya nikotin) pada suhu kamar. Senyawa penyusun alkaloid yang paling umum adalah asam amino, meskipun sebenarnya biosintesis kebanyakan alkaloid lebih rumit (Harborne, 1996).

b. Kafein

Kafein merupakan unsur terpenting pada kopi yang berfungsi sebagai stimulan, sedangkan kafeol merupakan faktor yang menentukan rasa. Kafein merupakan suatu alkaloid dari *metil xantin* yaitu *1,3,7 trimetil xantin* yang merupakan metabolit sekunder kedua terbanyak dari kopi setelah asam klorogenat (Terlihat pada tabel 2.1). Beberapa sumber kafein selain berbagai varietas kopi, juga terdapat pada daun teh, biji kola, dan biji coklat. Kafein juga tedapat pada makanan harian seperti obat stimulan, penghilang rasa sakit, dan flu (Sudarmi, 1997; Tello *et al.*, 2011). Kafein merupakan derivat purin, tidak mengendap seperti kebanyakan alkaloid dalam uji identifikasi senyawanya. Kafein akan terabsorsi dari saluran gastrointestinal cukup cepat dan 99% akan terabsorsi 45 menit setelah asupan. Kadarnya akan mencapai puncak 15 dan 120 menit setelah asupan dan waktu paruh kafein 2,5-4,5 jam pada manusia (muda dan dewasa). Pada tikus waktu paruh kafein 0,7-1,2 jam (Marks dan Kelly, 1973). Pada penelitian *in vivo* menunjukkan kafein sebagai anti inflamasi pada manusia dan memungkinkan memberikan keuntungan untuk kesehatan jantung (Bonita *et al.*, 2007). Gambar 2.2 yang menunjukkan struktur molekul kafein.



Gambar 2.2 Struktur molekul kafein (O'Neil *et al.*, 2001)

c. Saponin

Saponin adalah jenis *glikosida* yang banyak ditemukan dalam tumbuhan dan memiliki karakteristik berupa buih. Sehingga ketika direaksikan dengan air dan dikocok maka akan terbentuk buih yang dapat bertahan lama. Saponin mudah larut dalam air dan tidak tarut 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 sapotoksin. 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). Saponin triterpenoid tersusun atas inti triterpenoid dengan molekul karbohidrat yang dihidrolisis menghasilkan suatu aglikon yang disebut sapogenin (Hartono, 2009).

d. Flavonoid

Senyawa flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol terbesar yang ditemukan di alam, yang terdiri dari 15 atom karbon, dengan dua cincin benzene (C₆) terikat pada suatu rantai *propane* (C₃) sehingga membentuk susunan C₆-C₃-C₆. Sebagian besar senyawa flavonoid alam ditemukan dalam bentuk glikosida, dengan unit flavonid terikat pada suatu gula. Glikosida adalah kombinasi antara suatu gula dan suatu alkohol yang saling berikatan melalui ikatan glikosida (Lenny, 2006).

e. Senyawa Fenol

Fenol merupakan senyawa dengan gugus - OH yang terikat langsung pada cincin aromatik. Senyawa fenol banyak terdapat di alam dan merupakan intermediet bagi industri untuk berbagai macam produk seperti adhesif dan antiseptik (Siswoyo,

2009). Dalam industri makanan fenol digunakan sebagai zat pewarna, perasa, pemberi aroma dan antioksidan. Berikut adalah beberapa kelas fenol :

- 1) Senyawa fenol sederhana
- 2) Tanin
- 3) Koumarin dan glikosidanya
- 4) Antrakuionon dan glikosidanya
- 5) Naftakuinon
- 6) Flavon dan glikosida flavonoid yang berhubungan
- 7) Antisianidin dan antosianin
- 8) Lignan dan lignin

Biosintesis beberapa senyawa ini melibatkan jalur asam sikimat. Cincin aromatik pada fenol di turunkan oleh kondensasi asetat. Senyawa fenol sederhana sering memiliki gugus alkohol, aldehid dan asam karboksilat, termasuk diantaranya eugenol (fenilpropan fenol), vanilin (aldehid venol) dan berbagai asam fenolat seperti asam salisilat, asam ferulat, dan asam kafeat (Evans dan Trease, 2002).

2.1.4 Antioksidan pada Kopi

Salah satu zat dari kopi yang bermanfaat bagi kesehatan yaitu kandungan antioksidan kopi yang cukup tinggi (Claudia *et al.*, 2008). Antioksidan merupakan pertahanan pertama tubuh kita terhadap kerusakan sel yang di sebabkan oleh radikal bebas. Antioksidan mampu menginaktivasi atau menstabilisasi radikal bebas sebelum radikal bebas menyerang sel. Antioksidan terbagi atas tiga golongan yaitu golongan fenol, golongan amin dan golongan amino-fenol (Ketaren, 1986). Beberapa senyawa antioksidan yang terdapat di dalam kopi di antaranya polifenol, flavonoid, proantisianidin, kumarin, asam klorogenat, trigonelin dan tokoferol (Sani A, 2012). Salah satu contoh antioksidan golongan fenol adalah asam klorogenat. Asam klorogenat merupakan senyawa metabolit sekunder terbesar pada biji kopi. Selain itu asam klorogenat merupakan senyawa ester dari trans asam sinamat dan asam quinat.

Asam klorogenat dan asam kafeat memiliki aktivitas antioksidan yang kuat secara in vitro. Antioksidan yang terdapat di dalam kopi ini merupakan kandungan antioksidan terbanyak yaitu kurang lebih 200-550 mg/ cangkir dengan aktivitas 26% dibandingkan dengan *beta karoten* (0,1%), *alfa tokoferol* (0,3%), vitamin C (8,5%) serta antioksidan lainnya (Daglia *et al.*, 2000; Sofillo *et al.*, 2007; Xu Wen *et al.*, 2004). Asam ini mempunyai titik leleh pada 208°C dan terdapat dalam kopi sebesar 4,5-11,1% (Belitz and Grosch, 1999). Aplikasi topikal asam klorogenat pada luka eksisi tikus wistar menunjukkan tingkat percepatan penyembuhan luka dengan meningkatkan sintesis sabut kolagen (Chen *et al.*, 2013). Selain itu senyawa fenolik lain yang terdapat di dalam kopi yaitu asam kafeat berperan dalam proses penyembuhan luka dengan merangsang sintesa sabut kolagen seperti polimer oleh fibroblas (Song *et al.*, 2008). Peningkatan sabut kolagen dapat menambah kekuatan permukaan luka untuk menghindari kemungkinan luka terbuka kembali (Ismail S, 2002).

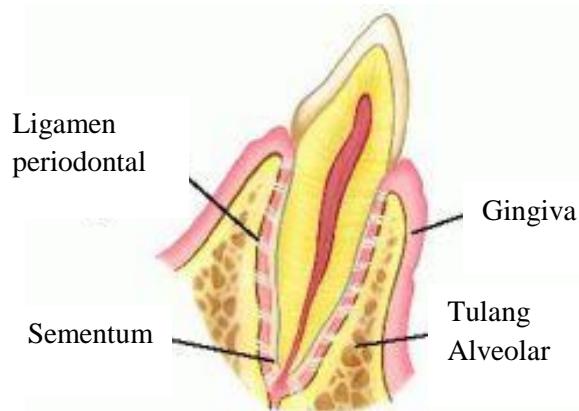
Pembentukan radikal bebas yang ada di dalam tubuh dapat dikendalikan dan dikontrol oleh antioksidan yang alami terdapat di dalam tubuh. Ketika kadar antioksidan yang ada dalam tubuh kita tidak terlalu banyak, kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas dapat berakumulasi dan menimbulkan dampak yang cukup serius terhadap kesehatan. Antioksidan dapat ditemukan dalam berbagai zat seperti vitamin C, vitamin E atau beberapa sumber makanan contohnya kopi (Percival, 1996).

2.2 Ligamen Peridontal, dan Tulang Alveolar

Ligamen periodontal terdiri atas komponen seluler dan komponen interseluler yang mengisi ruang antar sel. Komponen interseluler seperti matriks ekstraseluler, yang secara dominan tersusun atas elemen fibrous, dan substansi dasar. Elemen fibrous mayor terdiri atas sabut kolagen tipe 1 dan tipe 3, yang berfungsi dalam menahan tekanan mekanik dan mempertahankan gigi dalam soketnya (Ahuja *et al.*, 2012). Komponen utama dalam substansi dasar dari ligamen periodontal adalah

proteoglikan dan glikoprotein yang dibutuhkan dalam proses *remodelling* ligamen periodontal karena dapat menambah viskoelastisitas dari ligamen periodontal. Fibroblas merupakan sel yang terpenting dalam ligamen periodontal dan kaya akan alkalin fosfatase dan osteokalsin. Enzim alkalin fosfatase dalam fibroblas berperan untuk metabolisme tulang alveolar dan formasi sementum (Narmada dan Syafei, 2008).

Tulang alveolar adalah bagian dari maxilla dan mandibula yang membentuk dan menyokong soket gigi. Jaringan tulang alveolar terdiri atas 4 sel yaitu osteoprogenitor, osteoblas, osteoklas, dan osteosit. Osteoprogenitor dapat mengalami mitosis dan berkembang menjadi osteoblas. Sel osteoprogenitor akan menjadi lebih aktif pada saat pembentukan, perbaikan atau fraktur tulang. Ada dua jenis sel osteoprogenitor yaitu preosteoblas yang kemudian menjadi osteoblas dan preosteoklas yang menghasilkan osteoklas (Adilah *et al.*, 2010). Tulang alveolar terus menerus mengalami remodeling akibat aktivitas dari osteoklas dan osteoblas (Carison, 2009). Gambar 2.3 menunjukkan gigi dan jaringan pendukungnya.



Gambar 2.3 Gigi beserta jaringan pendukungnya yang terdiri dari gingiva, sementum, ligamen periodontal, dan tulang alveolar (Fiorellini, 2005).

2.3 Pergerakan Gigi Ortodonti

2.3.1 Teori Biomekanika Pergerakan Gigi

Terdapat dua mekanisme yang mempengaruhi pergerakan gigi secara ortodontik yaitu teori elektrisitas biologis (*biologic electricity*) dan teori tekanan - tarikan (*pressure-tension*) yang terjadi pada ligamen periodontal sehingga mempengaruhi aliran darah (Rahardjo, 2009).

- a. Teori elektrisitas biologis (*biologic electricity*) / (*piezoelectric*)

Teori ini berhubungan dengan perubahan metabolisme pada tulang yang dikontrol sinyal elektrik yang terjadi ketika tulang alveolar berubah bentuk karena tekanan yang diakibatkan gaya ortodonti. Tulang adalah masa atau bahan piezoelektrik, yaitu menghasilkan loncatan elektrik permukaan bila terjadi tekanan (Rahardjo, 2012). Ketika alat ortodontis diaktivasi, gaya yang diberikan pada gigi disalurkan ke semua jaringan di sekelilingnya sehingga gigi akan bergerak lebih besar dibandingkan dengan lebar PDL yang menyebabkan terjadinya defleksi pada tulang alveolar (Amin, 2016).

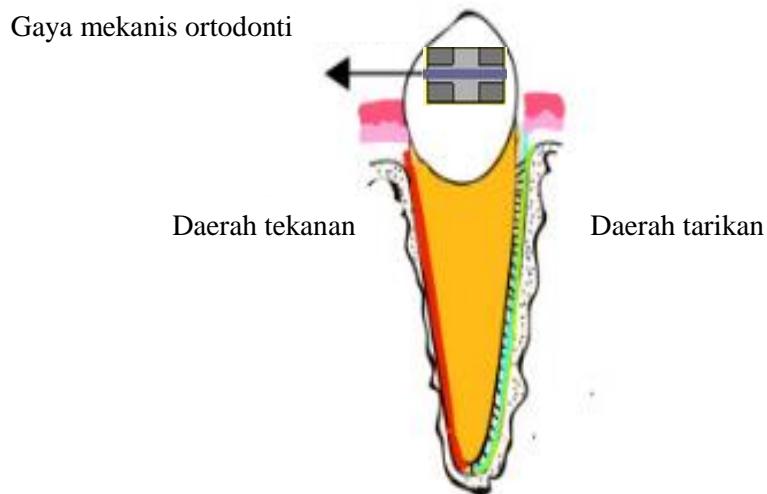
Defleksi pada tulang juga memicu keluarnya potensial elektrik pada permukaan tulang atau piezoelectric yang sering ditemukan pada material kristalin. Deformasi atau perubahan bentuk struktur kristal menghasilkan arus listrik seperti elektron yang berpindah dari molekul kristal yang satu ke molekul kristal yang lain. Bila 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, tapi terdapat juga pada kolagen, hidroksi apatit, batas antara kolagen hidroksiapatit dan mukopolisakarida pada substansi dasar. Pada saat gigi diberi tekanan, tulang alveolar di sekitarnya akan mengalami tekukan. Daerah yang cekung diasosiasikan dengan arus negatif dan menyebabkan deposisi tulang sedangkan daerah yang cembung diasosiasikan dengan arus positif dan menyebabkan resorbsi tulang (Amin, 2016).

b. Teori tekanan - tarikan (*pressure-tension*)

Sandstedt, Oppenheim dan Scwharz menyatakan bahwa jika gigi mendapatkan gaya ortodontia maka akan terjadi daerah tekanan dan regangan. 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). Gambar 2.4 menunjukkan daerah tekanan dan tarikan pada pergerakan gigi ortodonti.



Gambar 2.4 Daerah tekanan dan tarikan pada pergerakan gigi ortodonti (Yina *et al.*, 2018)

2.3.2 Tahap - Tahap Pergerakan Gigi

Pergerakan gigi ortodonti menurut (Burstone, 2000) terdiri dari tiga fase: *Initial phase, Lag phase dan Postlag phase*

a. *Initial phase*

Tahap awal ditandai dengan gerakan yang terjadi 24 jam sampai 48 jam setelah aplikasi pertama kekuatan untuk gigi dan merupakan gerakan awal dari gigi dalam soket tulang. Tingkat ini sebagian besar disebabkan oleh perpindahan gigi di ruang ligamen periodontal. Reaksi seluler dan jaringan dimulai pada fase awal perpindahan gigi, segera setelah aplikasi kekuatan.

b. *Lag phase*

Berlangsung selama 20 sampai 30 hari dan menunjukkan perpindahan gigi yang relatif sedikit bahkan tidak sama sekali. Fase ini ditandai dengan terjadinya hialanisasi ligamen periodontal di daerah tekanan. Tidak ada pergerakan gigi sampai sel membersihkan semua jaringan nekrotik. Pada tahap kedua, daerah tekanan terdistorsi. Gangguan aliran darah karena distorsi ini menyebabkan zona hialinasi semakin berkembang dan adanya perpindahan gigi, yang dapat berlangsung 4-20 hari. Proses komprehensif membutuhkan sel fagosit seperti makrofag, *giant cells bodies*, dan osteoklas dari daerah tidak rusak yang berdekatan dari ligamen periodontal dan rongga alveolar sumsum tulang. Sel-sel ini bertindak menghapus jaringan nekrotik pada area ligamen periodontal dan tulang alveolar yang berdekatan. Di daerah-daerah tarikan, osteoblas mulai memproduksi matriks tulang baru (Osteoid). Osteoblas baru didapat dari populasi *fibroblast-like cells* (pericytes) sekitar kapiler ligamen periodontal. Preosteoblas ini berkembang biak dan bermigrasi ke arah permukaan tulang alveolar. Secara bersamaan, fibroblas ligamen periodontal di daerah tarikan mulai bertambah banyak diikuti dengan meningkatnya sintesis sabut kolagen dan *remodelling* matriks sekitarnya.

c. *Postlag phase*

Postlag phase mengikuti *lag fase*, di mana terlihat peningkatan pergerakan (Krishnan, 2006). Juga dikenal sebagai percepatan dan tahap linier, masing-masing

imulai sekitar 40 hari setelah awal aplikasi kekuatan. Pada sisi tekanan menunjukkan adanya pembentukan sabut kolagen yang tidak teratur. Selain itu juga ditemukan gambaran permukaan tulang yang tidak teratur yang menunjukkan *frontal resobition*. Tabel 2.2 menunjukkan perubahan yang terjadi pada pergerakan gigi ortodonti di daerah tekanan dan tarikan.

Tabel 2.2 Perubahan yang terjadi pada pergerakan gigi ortodonti di daerah tekanan dan tarikan.

	Tekanan	Tarikan
Peningkatan	<ul style="list-style-type: none"> • Cox2 → PGE₂ → RANKL, M-CSF • TNFα • MMPs • eNOS → NO • IL-1β 	<ul style="list-style-type: none"> • IL-10 → OPG • TGFβ • TIMPs • iNOS → NO
Penurunan	OPG	RANKL
<i>Outcome</i>	<ul style="list-style-type: none"> • ↑ Osteoblas • ↑ Resorpsi • ↓ Aposisi 	<ul style="list-style-type: none"> • ↓ Osteoklas • ↓ Resorpsi • ↑ Aposisi

Keterangan:

→: Merangsang

↑ : Peningkatan

↓ : Penurunan

Sumber : (Yina *et al.*, 2018)

2.4 Remodelling Ligamen Periodontal

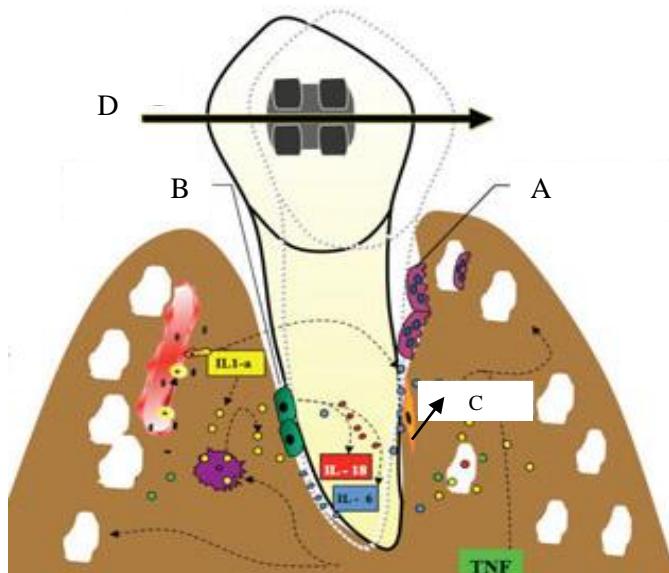
Remodelling ligamen periodontal merupakan proses keseimbangan antara aposisi ligamen periodontal di daerah tarikan dan resorbsi ligamen periodontal di daerah tekanan (d'Apuzzo, 2013). Salah satu akibat dari tidak seimbangnya proses ini adalah terjadinya *relaps* yaitu kecenderungan kembali ke bentuk awal maloklusi setelah dikoreksi (Proffit dan Fields, 2007).

Sel-sel ligamen periodontal berperan dalam proses resorpsi dan aposisi selama proses pergerakan gigi secara fisiologis dalam menyesuaikan terhadap beban oklusal

serta memperbaiki kerusakan. Fibroblas merupakan salah satu sel yang terpenting dalam ligamen periodontal yang akan mensintesis kolagen. Peningkatan sabut kolagen ligamen periodontal merupakan faktor yang penting sebagai jaringan yang mengikat gigi dengan jaringan penyangga sekitarnya dalam hal ini ligamen periodontal berperan dalam proses aposisi di daerah tarikan yaitu mempertahankan posisi gigi agar tidak relaps (Pillon, 1996; Prameswari 2006; Alawiyah, 2012). Susunan yang kompleks dari sabut kolagen memastikan bahwa terlepas dari arah gaya yang diberikan, beberapa bundel sabut selalu berada pada daerah tarikan (Dorow *et al.*, 2002; McCormark *et al.*, 2014).

Aplikasi piranti ortodonti pada gigi dapat menyebabkan perubahan pada gigi dan jaringan pendukungnya termasuk ligamen periodontal. Ligamen periodontal akan mengalami peningkatan proliferasi sel dan mengalami apoptosis. Dalam fase inisial pergerakan gigi ortodonti, banyak reaksi yang hampir sama dengan reaksi inflamasi terjadi pada jaringan periodontal. Salah satunya adalah perubahan vaskular dan migrasi beberapa sel leukosit dari pembuluh darah kapiler ligamen periodontal (Wise dan King, 2008). Ketika tekanan dari piranti ortodonti di berikan, komponen seluler dan komponen fibrous ligamen periodontal memiliki kekuatan untuk membelokkan sebagai respon singkatnya. Ligamen periodontal akan mengalami tekanan dan tarikan sebagai respon aplikasi piranti ortodonti. Daerah ligamen periodontal yang mengalami tekanan searah dengan arah gaya dari piranti ortodonti. Sedangkan daerah ligamen periodontal yang mengalami tarikan berlawanan arah dengan arah gaya piranti ortodonti sehingga mengalami elongasi dan meregang. Kekuatan piranti ortodonti dapat membelokkan matriks ligamen periodontal yang dapat menyebabkan perubahan pada sistem seluler dan konfigurasi sitoskeletal dan pelepasan neuropeptida dari ujung saraf aferen. Dalam level biomolekuler, kekuatan mekanik dari piranti ortodonti dapat menginduksi pelepasan prostaglandin, faktor pertumbuhan dan beberapa sitokin seperti *IL-1*, *IL-6* dan *TNF- α* . Beban yang di berikan pada gigi dan jaringan pendukungnya akhirnya dapat menyebabkan terlepasnya sitokin sebagai respon terhadap proses resorpsi dan aposisi ligamen

periodontal dan tulang alveolar (Narmada dan Syafei, 2008). Gambar 2.5 yang menunjukkan sel – sel yang terlibat pada pergerakan gigi ortodonti .



Gambar 2.5 Gambaran sel – sel yang terlibat pada pergerakan gigi ortodonti.

- Keterangan :
- (A) Osteoklas
 - (B) Osteoblas
 - (C) Fibroblas
 - (D) Gaya mekanis ortodonti (David, 2014)

2.5 Sabut Kolagen

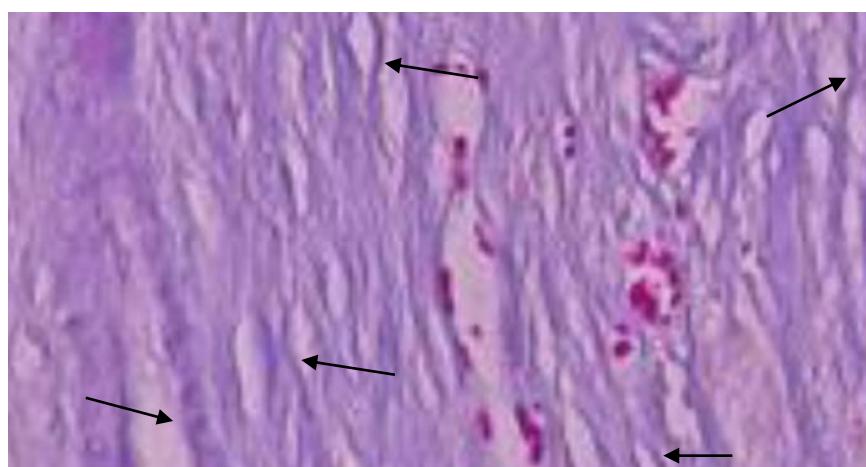
2.5.1 Definisi dan Fungsi Sabut Kolagen

Sabut kolagen (*Fibra collageni*) adalah protein fibrosa tebal kuat yang tidak bercabang dan merupakan protein terbesar dalam tubuh manusia, yaitu sebanyak 30% yang berasal dari berat keringnya (Eroschenko, 2010). Sintesis sabut kolagen oleh fibroblas dimulai relatif awal pada proses penyembuhan yaitu pada hari ke 3 - 5 dan terus berlanjut sampai beberapa minggu tergantung ukuran luka. Sintesis sabut kolagen oleh fibroblas mencapai puncaknya pada hari ke-5 sampai hari ke-7. Selanjutnya, proses penyembuhan luka memasuki fase *remodelling* pada hari ke-14, terjadi kontaksi dan maturasi kolagen yang memerlukan waktu 21 hari-2 tahun bergantung pada kedalaman dan keluasan luka (Robbins *et al.*, 2007; Sabirin *et al.*,

2013; Zuber *et al.*, 2013). Sabut kolagen berfungsi untuk memperkuat dan mendukung jaringan ekstraseluler, tersusun dari asam amino dan hidroksiprolin yang berperan sebagai unsur biokimia jaringan kolagen (Robbins *et al.*, 2007). Sabut kolagen juga merupakan salah satu komponen matriks jaringan penyambung yang juga berperan dalam pertahanan organisme sebagai barrier fisik, yaitu mencegah penyebaran mikroorganisme yang berhasil menembus epitel (Junqueira dan Carneiro, 2007).

2.5.2 Struktur Sabut Kolagen

Serabut sabut kolagen adalah struktur tipis panjang dengan berbagai diameter yang berkisar antara 20-90 nm dan panjangnya dapat mencapai beberapa mikrometer. Serabut ini bergurat melintang dengan periodisitas khas selebar 64 nm. Guratan melintang dari sabut kolagen disebabkan oleh susunan tumpang tindih dari molekul tropokolagen. Sabut kolagen terbentuk dari beberapa asam amino seperti glisin (33,5%), prolin (12%), dan hidroksiprolin (10%) (Junqueira dan Carneiro, 2007). Pada sediaan histologi, sabut kolagen terpulas merah muda dengan eosin, biru dengan *Trichrome Mallory*, dan hijau dengan pulasan *Trichrome Masson* (Fawcett, 2002). Gambar 2.6 menunjukkan gambaran histologis sabut kolagen.

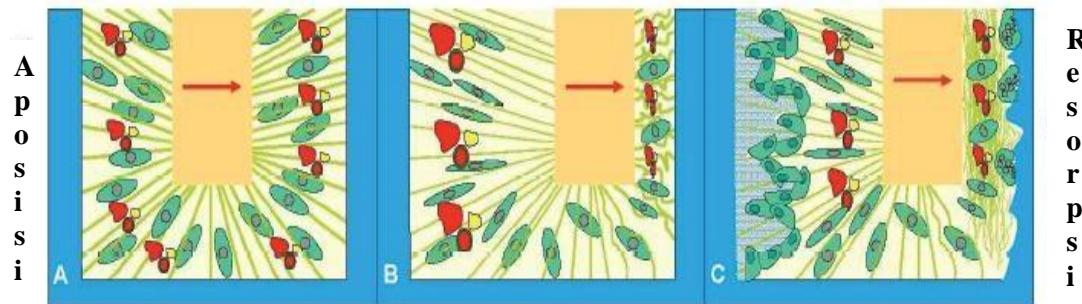


Gambar 2.6 Gambaran histologis sabut kolagen berwarna biru (tanda panah) dengan pewarnaan *Trichrome Mallory* perbesaran 400x (Prihandana, 2014).

2.6 Pengaruh Induksi Gaya Ortodonti Terhadap Sabut Kolagen

Induksi gaya mekanis pada gigi akan menimbulkan dua daerah pada ligamen periodontal yaitu daerah tekanan dan tarikan (Sartika *et al.*, 2013). Pada daerah tekanan, induksi gaya ortodonti menghasilkan deformitas bioplastis dan bioelastis tulang alveolar, menyebabkan gangguan sirkulasi, iskemia, dan kematian sel; atau daerah disebut zona hialin. Pada daerah tarikan terjadi penyusutan diameter dan perpanjangan dari sabut kolagen selama proses *remodelling* ligamen periodontal yang memungkinkan bergeraknya gigi (Martinez dan Johnson, 1987).

Aktivitas sel – sel terutama sel fibroblas, osteoblas, osteoklas, dan sel prekusor osteosit mengalami peningkatan saat gigi digerakkan secara ortodonti (Shaw, 2004). Peningkatan aktivitas sel fibroblas yang merupakan sel terbanyak pada ligamen periodontal akan memicu bertambahnya sintesis sabut kolagen ligamen periodontal yang dalam fungsi normal berperan untuk perbaikan dan regenerasi (Genco, 1992; Ahuja *et al.*, 2012). Peningkatan sabut kolagen ligamen periodontal merupakan faktor yang penting sebagai jaringan yang mengikat gigi dengan jaringan penyangga sekitarnya dalam hal ini ligamen periodontal berperan mempertahankan posisi gigi terhadap tekanan yang diterima (Pillon, 1996; Prameswari 2006). Perawatan ortodonti menginduksi perpindahan gigi serta mengatur stabilitas posisi gigi bergantung pada *remodelling* dari tulang alveolar dan sabut ligamen periodontal (Prameswari, 2006, Raharjo, 2009). *Turnover* sabut kolagen yang tinggi menunjukkan adanya proses penyembuhan luka dan aktivitas sel biologis yang mendasari terapi ortodonti (Storey, 1973; Ten Cate *et al.*, 1976; Ahuja *et al.*, 2012). Gambar 2.7 menunjukkan gambaran skematis sel firbrolas penghasil sabut kolagen di area tekanan dan tarikan ligamen periodontal.



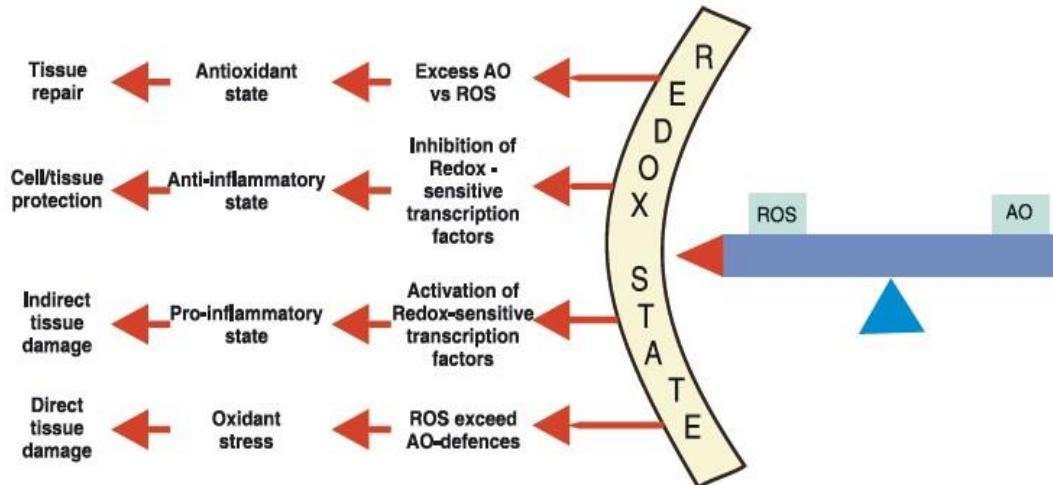
Gambar 2.7 Gambaran skematik gigi, ligamen periodontal dengan sel - selnya serta tulang alveolar. (A) tanda panah menunjukkan arah gaya ortodontik. (B) Pada daerah tarikan sel fibroblas terlihat tertarik sehingga nampak gambaran sel yang memanjang, diameter sabut kolagen yang menyempit dan memanjang, sedangkan fibroblas di daerah tekanan tertekan sehingga nampak sel dengan gambaran lebih kecil. (C) Setelah beberapa waktu gaya ortodontik di aplikasikan osteoblas membentuk formasi tulang baru pada sisi tarikan dan osteoklas meresobsi tulang pada sisi tekanan. (Sumber : Henneman *et al.*, 2008)

2.7 Efek Kopi Terhadap Sel Fibroblas Penghasil Sabut Kolagen

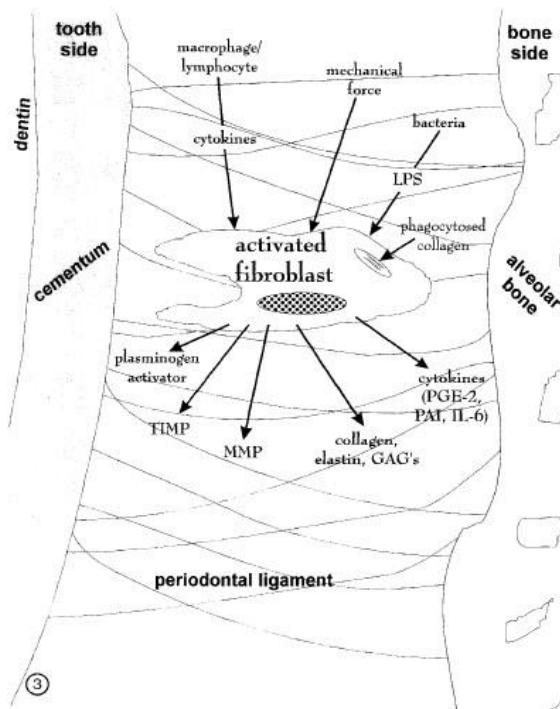
Biji kopi robusta mengandung banyak antioksidan polifenol, seperti asam klorogenat, asam kafeat, *ferulic*, dan *n-coumaric*. Senyawa polifenol utama di dalam kopi robusta adalah asam klorogenat dan asam kafeat. Jumlah asam klorogenat mencapai 90% dari total fenol yang terdapat dalam kopi (Mursu *et al.*, 2005).

Kandungan antioksidan kuat di dalam kopi robusta dapat merubah produk ROS yang dilepaskan saat aplikasi gaya ortodontik menjadi produk yang stabil dengan cara menghambat faktor transkripsi redoks sehingga sel maupun jaringan akan terlindungi dari kerusakan oksidatif selain itu akan terjadi perbaikan ligamen periodontal oleh sabut kolagen melalui aktivasi sel fibroblas yang dirangsang oleh makrofag, limfosit, kekuatan mekanik, dan bakteri untuk mengeluarkan plasminogen activator, inhibitor jaringan metalloproteinase (TIMP), matriks metalloproteinase (MMP), sitokin [prostaglandin E-2 (PGE-2), plasminogen activator inhibitor (PAI), interleukin-6 (IL-6)]. Fibroblas yang diinduksi untuk mensekresikan protein matriks dapat menghasilkan sabut kolagen, elastin, dan glycosaminoglycans (GAG'S) (P. Lekic and C.A.G.Mcculloch, 1996; Iain L and

John B, 2007). Aktivitas keseimbangan antioksidan terhadap ROS dan perbaikan ligamen periodontal oleh sabut kolagen ditunjukkan pada gambar 2.8 dan 2.9



Gambar 2.8 Aktifitas keseimbangan antara *Reactive Oksigen Spesies* (ROS) dan antioksidan (AO) (Iain L and John B, 2007).



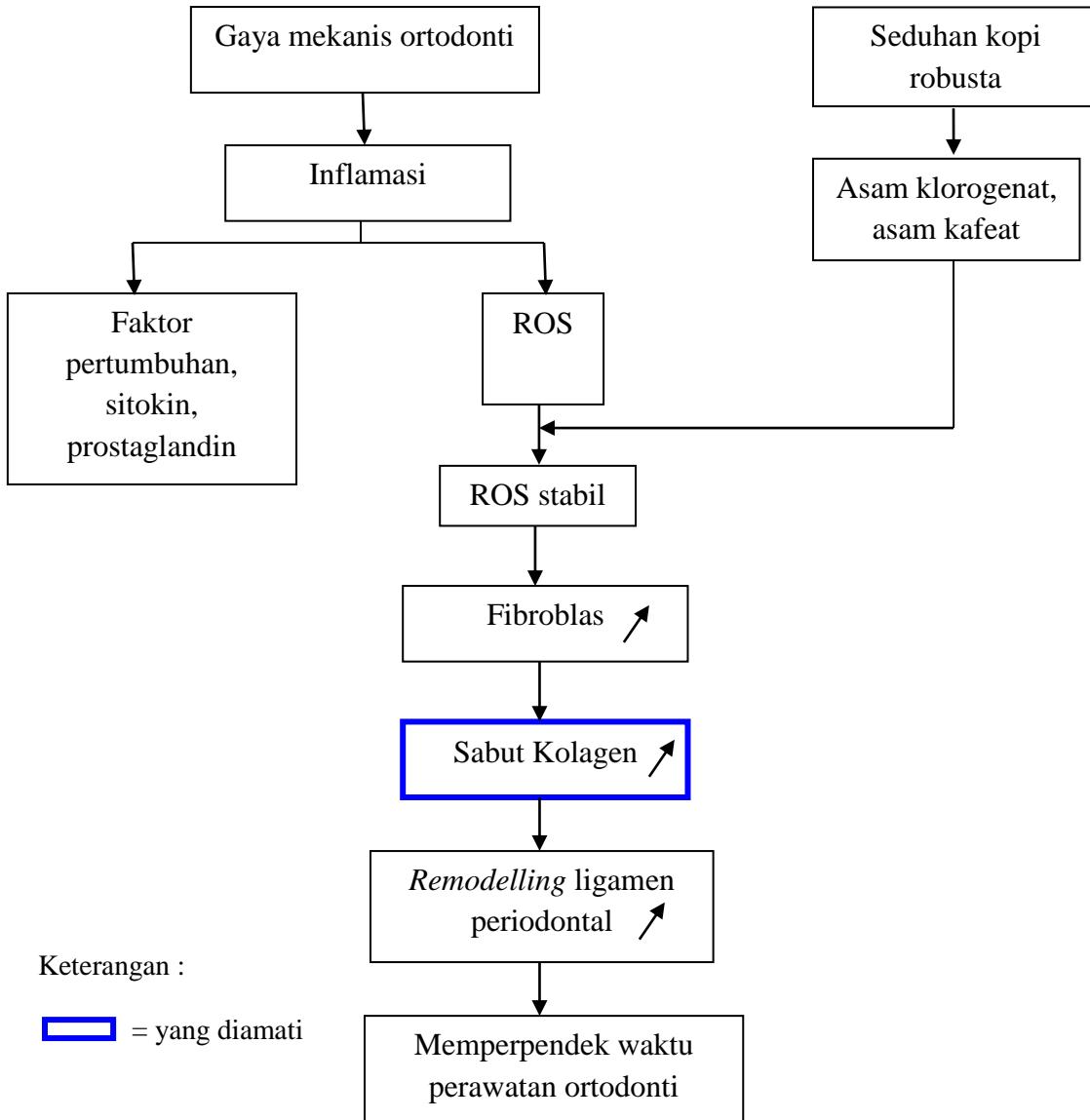
Gambar 2.9 Ilustrasi fibroblas penghasil sabut kolagen pada proses perbaikan dan regenerasi ligamen periodontal.

Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa asam klorogenat dapat meningkatkan ekspresi TGF- β yang secara bersamaan juga terjadi peningkatan produksi sabut kolagen dan proliferasi sel fibroblas pada hari ke 6-15 (Wei-Cheng *et al.*, 2013) serta aplikasi topikal asam kafeat yang terdapat dalam kopi dapat meningkatkan produksi sabut kolagen dan proliferasi sel fibroblas pada hari ke 10 dan 15 dibandingkan dengan kelompok kontrol (Lamme *et al.*, 2000).

2.8 Adobe Photoshop CS 6.0. untuk Menghitung Kepadatan Sabut Kolagen

Aplikasi *Adobe Photoshop CS 6.0.* digunakan untuk mengukur kepadatan sabut kolagen yang terbentuk dengan cara membedakan serapan warna *RGB* (*Red, Green, Blue*). Warna serapan untuk sabut kolagen adalah warna biru. Kepadatan sabut kolagen yang diteliti dapat dilihat dari nilai *mean* warna biru yang menggambarkan jumlah piksel, resolusi, dan intensitas warna biru tersebut (Aulia 2014).

2.9 Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 2.10 Kerangka konsep penelitian.

2.10 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah seduhan kopi robusta dapat meningkatkan kepadatan sabut kolagen ligamen periodontal daerah tarikan pada gigi marmut (*Cavia cobaya*) yang diinduksi gaya mekanis ortodonti dibandingkan tanpa pemberian seduhan kopi robusta.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimental laboratoris yaitu penelitian yang mencari hubungan sebab akibat dengan memanipulasi atau mengintervensi variabel dalam satu atau lebih kelompok dan mengendalikan faktor yang dapat memengaruhi hubungan sebab akibat kemudian membandingkannya dengan kelompok kontrol yang tidak dilakukan perlakuan atau dimanipulasi (Notoatmojo, 2002).

3.2 Rancangan Penelitian

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).

3.3 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 perbuatan preparat histologi, pemeriksaan, dan pembacaan preparat jaringan.

3.4 Populasi dan Sampel Penelitian

3.4.1 Populasi Penelitian

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

3.4.2 Sampel Penelitian

a. Kriteria Sampel Penelitian

Pemilihan sampel penelitian dengan 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, Ekslusi 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 ekslusi adalah marmut yang mati selama penelitian.

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 5 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.

3.5 Identifikasi Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah seduhan kopi robusta.

3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kepadatan sabut kolagen ligamen periodontal daerah tarikan.

3.5.3 Variabel Terkendali

Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah:

- a. Jenis makanan hewan coba
- b. Berat badan hewan coba
- c. Kriteria hewan coba
- d. Alat ortodonti dan cara pemasangan
- e. Prosedur penelitian
- f. Dosis kopi

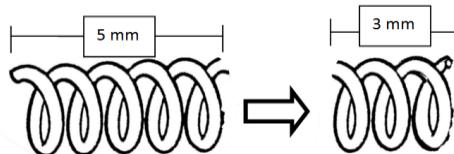
3.6 Definisi Operasional

3.6.1 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.

3.6.2 Induksi Gaya Mekanis Ortodonti

Pemberian gaya mekanis pada gigi insisivus kanan dan insisivus kiri RB marmut yang diperoleh dari pemasangan alat ortodonti dengan kekuatan 52,5 gram = 0,0525 N yang didapatkan dengan cara mengompres *open coil springs* dari 5 mm menjadi 3 mm atau sebesar 60% (Bourke *et al.*, 2010).



Gambar 3.1 *Open coil springs* yang dikompres dari 5 mm menjadi 3 mm

3.6.3 Kepadatan Sabut Kolagen Ligamen Periodontal

Kepadatan sabut kolagen merupakan gambaran mikroskopik sabut kolagen dengan warna biru yang terlihat pada sediaan ligamen periodontal marmut pasca induksi gaya mekanis ortodonti dengan pewarnaan *Trichrome Mallory* perbesaran 400x. Hasil pengamatan 3 lapang pandang masing - masing difoto menggunakan kamera *Optilab* dan dianalisis menggunakan *software Adobe Photoshop CS 6.0* untuk melihat kepadatan sabut kolagen dengan satuan piksel. Aplikasi *Adobe Photoshop CS 6.0* digunakan untuk mengukur kepadatan sabut kolagen yang terbentuk dengan cara membedakan serapan warna *RGB (Red, Green, Blue)*. Warna serapan untuk sabut kolagen adalah warna biru. Kepadatan sabut kolagen yang diteliti dapat dilihat dari nilai mean warna biru yang menggambarkan jumlah piksel, resolusi, dan intensitas warna biru tersebut. Selanjutnya hasil dianalisis menggunakan program SPSS.

3.7 Bahan dan Alat Penelitian

3.7.1 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% (*Ultrudent, Germany*)
- g. Alkohol 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 100% (*Kimia Farma, Indonesia*)
- h. Xylol (*Millipore, Germany*)
- i. Meyer egg albumin (*Medsupplypartners, USA*)
- j. Paraffin solid (*Histoplast, USA*)
- k. Trychome Mallory (*Millipore, Germany*)
- 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. Aquadest steril (*Aqua Bidest Steril, Indonesia*)
- r. Glass Ionomer type IX (*Fuji, Japan*)
- s. Braket (*Ortho-technology, USA*)
- t. Matrix band (*Ortho-technology, USA*)
- u. Elastomeric O-ring (*Ortho-technology, USA*)
- v. Nickel-titanium open coil springs, diameter 0,03 inch (*Ortho-technology, USA*)
- w. Wire tipe nickel-titanium, round dengan diameter 0,016 inch (*Ortho-technology, USA*)

3.7.2 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. *Welding machine (Dental room)*
- d. Tabung spittoon (*Lion Star, Indonesia*)
- 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. *Base mould (Vision, Indonesia)*
- r. *Cold plate (Lytron, USA)*
- s. *Slide warmer (Tissue-tek, Japan)*
- t. Mikroskop Binokuler (*Olympus photo slide BX51 with Cam DP71 12 mpx*)
- u. Kamera Optilab® (*Adition advance plus*,
- v. Oven (*Memmert, Germany*)
- w. *Object glass dan Deck glass (Sail Brand, China)*
- x. Sarung tangan dan masker (*Sensi Gloves, Indonesia*)

3.8 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 Extract* 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 :

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

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

3.9 Prosedur Penelitian

3.9.1 Persiapan *Ethical Clearance*

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

3.9.2 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.

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

3.9.4 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.

3.9.5 Persiapan Braket Ortodonti

Braket ortodonti untuk hewan coba marmut (*Cavia cobaya*) jantan dibuat dengan *full technique bracket*, yaitu *matrix band* dengan lebar 2,5 mm dipotong selanjutnya braket diwelding menggunakan *welding machine* di tengah – tengah *matrix band* kemudian dilingkarkan dengan diameter \pm 3mm (sesuai dengan gigi marmut) dan diwelding kembali pada 2 titik.



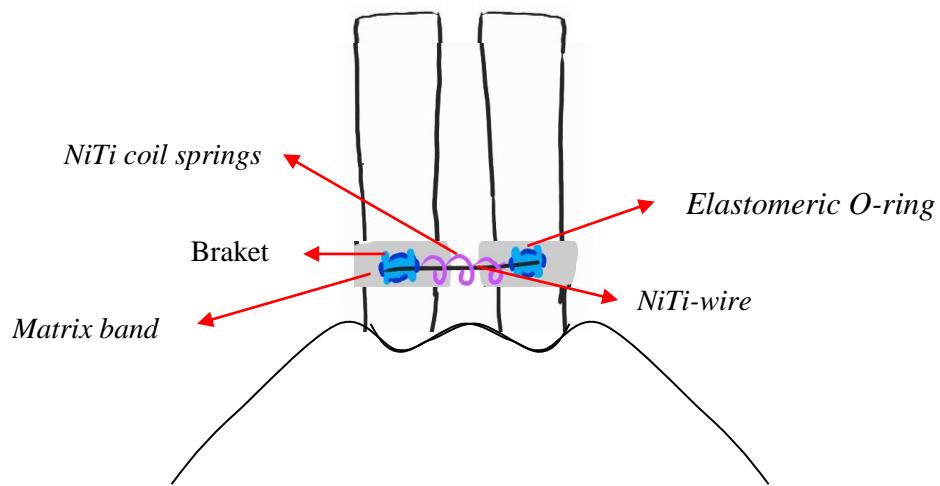
Gambar 3.2 Braket ortodonti yang telah diwelding pada *matrix band*.

3.9.6 Cara Kerja Penelitian

1. Pemasangan Braket Ortodonti

Pemasangan braket ortodonti dilakukan menggunakan anestesi. Marmut diletakkan pada meja untuk melakukan pemasangan braket ortodonti.

Sebelumnya insisal gigi antagonis marmut dipotong 2 mm agar saat oklusi gigi antagonis tidak berkontak dengan braket sehingga braket tidak mudah lepas. Braket ortodonti yang telah di welding 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 dimasukan ke slot braket 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 lainya. Selanjutnya sisa *wire* dipotong dan sisi distal gigi insisif kanan dan kiri RB marmut diberi semen agar tidak melukai jaringan lunak di sekitarnya.



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

2. 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.

3. 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).

4. Pembuatan Preparat Jaringan

a. 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).

b. 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).

c. 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 :

1) Dehidrasi

Dehidrasi merupakan 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).

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) 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).

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).

5) Pemotongan Jaringan dengan Mikrotom

Blok *paraffin* yang sudah mengandung spesimen jaringan, kemudian dipotong dengan menggunakan mikrotom dengan ketebalan 5 μm . Potongan transversal diperoleh dengan pemotongan dari arah koronal menuju apikal gigi insisivus marmut. 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* dimasukkan pada *slide warmer* bersuhu 47°C sampai siap untuk diwarnai (Anondo, 2015).

6) Pewarnaan *Tricrhome Mallory*

Sediaan dilakukan deparafiniasi dengan menggunakan larutan *clearing* yaitu sediaan dimasukkan ke dalam *xylol* dalam 3 wadah masing-masing selama 3 menit. Kemudian dilakukan rehidrasi yaitu sediaan dimasukkan ke dalam alkohol bertingkat (100%, 90%, 70%)

masing-masing selama 3 menit dan kemudian dicuci dengan air mengalir. *Object glass* direndam ke dalam larutan *Mallory 1* yang berisi *acid fuchsine* 0,5 gram dan *aquades* 100 cc selama 3 menit kemudian dicuci dengan air mengalir. *Object glass* kemudian direndam ke dalam larutan *Mallory 2* yang berisi *Phosphomolibdic acid* 1 gram dan *aquades* 100 cc selama 5 menit kemudian dicuci dengan air mengalir. *Object glass* kemudian direndam ke dalam larutan *Mallory 3* yang berisi *aniline blue* 0,5 gram, *orange G* 2,0 gram, *oxalic acid* 1,0 gram dan *aquades* 100 cc selama 2 menit kemudian dicuci dengan air mengalir. Irisan jaringan dilakukan dehidrasi dengan alkohol bertingkat 70%, 95%, dan 100%, selanjutnya dikeringkan. Proses *clearing* pada jaringan dengan cara direndam dalam *xylol*, tiga kali dalam wadah yang berbeda masing-masing selama 3 menit. Proses *mounting* menggunakan *Canada balsam* dan ditutup dengan gelas penutup (Ardhiyanto, 2007).

5. Pengamatan dan Penghitungan Kepadatan Sabut Kolagen

Pengamatan preparat histologis dilakukan dengan mikroskop binokuler oleh tiga pengamat. Pertama-tama menentukan daerah tarikan ligamen periodontal menggunakan perbesaran 40x, selanjutnya menentukan daerah yang diamati pada daerah 3 lapangan pandang menggunakan perbesaran 400x, yaitu dimulai dari puncak alveol daerah tarikan kemudian ke arah apikal sampai diperoleh 3 lapang pandang. Hasil pengamatan kemudian difoto menggunakan kamera *Optilab*. Untuk menghitung kepadatan sabut kolagen pada sediaan foto preparat, diamati dengan *Adobe Photoshop CS 6.0*. Aplikasi *Adobe Photoshop CS 6.0* digunakan untuk mengukur kepadatan sabut kolagen yang terbentuk dengan cara membedakan serapan warna *RGB (Red, Green, Blue)*. Warna serapan untuk sabut kolagen adalah warna biru. Kepadatan sabut kolagen yang diteliti dapat dilihat dari nilai *mean* warna biru yang menggambarkan jumlah piksel, resolusi, dan

intensitas warna biru tersebut. Setelah setiap 3 lapang pandang dari setiap foto dihitung kepadatan sabut kolagennya, kemudian dihitung nilai rata-rata dari setiap kelompok. Selanjutnya hasil perhitungan dari masing – masing pengamat juga dihitung nilai rata – rata untuk meminimalkan terjadinya bias (Aulia, 2014). Perhitungan dilakukan dengan tujuan membandingkan gambaran histologis sabut kolagen antara kelompok kontrol dan perlakuan. Gambaran pada kelompok kontrol digunakan sebagai indikator menentukan ada tidaknya peningkatan kepadatan sabut kolagen.

6. Tahap Penggunaan *Software Adobe Photoshop CS 6.0*

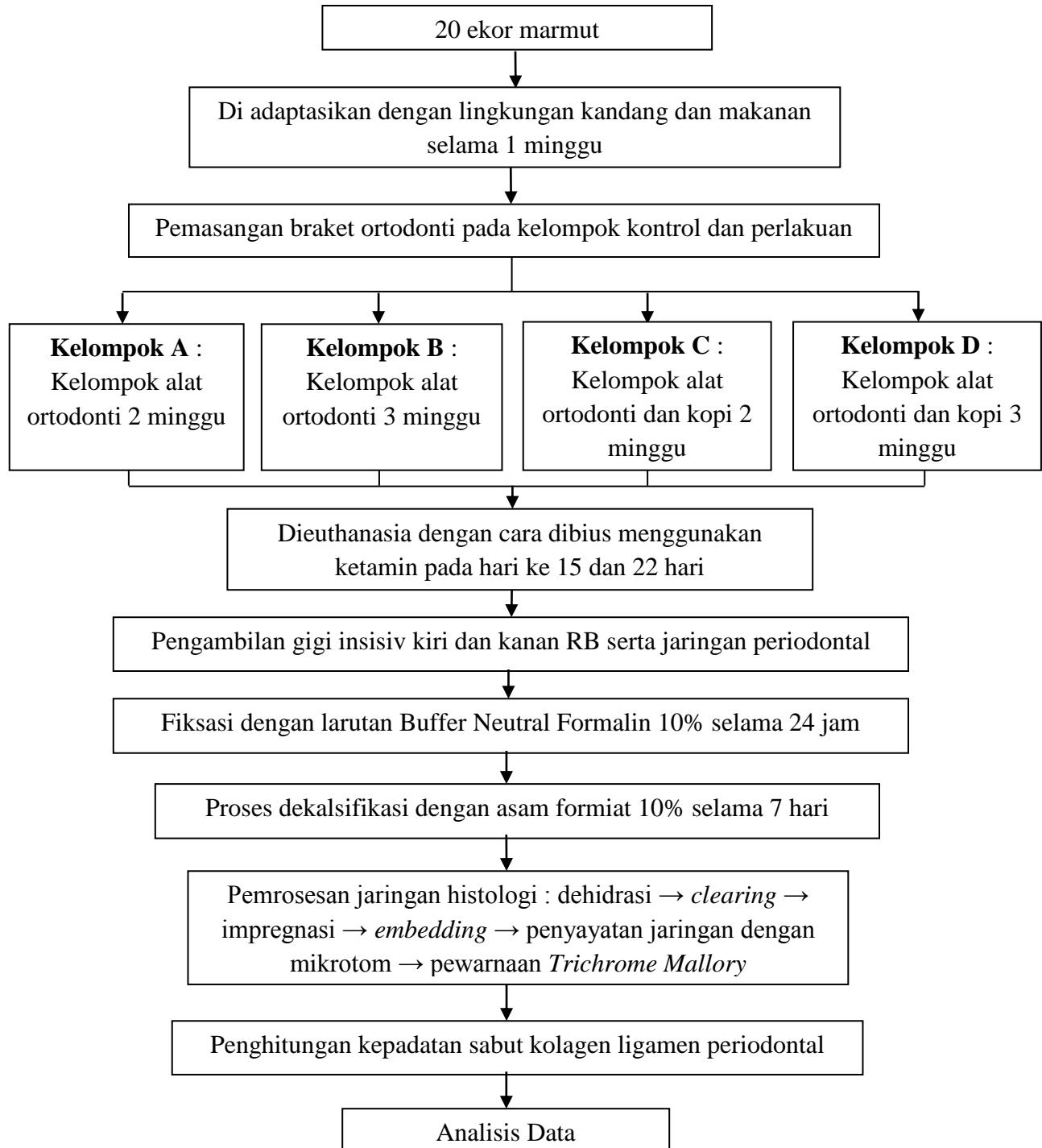
Tahap pengukuran kepadatan sabut kolagen menggunakan *software Adobe Photoshop CS 6.0* adalah sebagai berikut (Lampiran E):

- a. Preparat difoto dengan kamera *Optilab* dengan perbesaran 400x. Foto-foto tersebut kemudian disimpan.
- b. Membuka program *Adobe Photoshop CS 6.0*.
- c. Buka file foto yang sudah disimpan.
- d. Klik menu *image*, pilih submenu histogram.
- e. Klik *channel Blue*, maka nilai *mean* akan tampak. Nilai *mean* ini merupakan piksel, resolusi, dan intensitas yang menandakan kepadatan sabut kolagen (warna biru) (Aini, 2014).

3.10 Analisis Data

Data hasil penelitian ini akan diuji normalitasnya menggunakan uji *Shapiro Wilk* dan diuji homogenitasnya dengan uji *Levene* dengan nilai signifikansi 95% ($p>0,05$). Jika data berdistribusi normal dan homogen maka dapat dilanjutkan uji statistik parametrik yaitu uji *One-way Anova* yang merupakan uji parametrik lebih dari 2 sampel bebas untuk menganalisa rata – rata hasil penelitian. Apabila hasilnya bermakna dilanjutkan dengan uji beda lanjut (*pos hoc test*) yaitu *Least Significant Difference* (LSD) untuk mengetahui lebih lanjut perbedaan antar kelompok perlakuan, jika hasilnya tidak bermakna dilakukan uji statistik non-parametrik yaitu *Kruskal-Wallis* (Notoatmojo, 2002).

3.11 Alur Penelitian



Gambar 3.4 Kerangka konsep penelitian.

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa pemberian seduhan kopi robusta dapat meningkatkan kepadatan sabut kolagen ligamen periodontal daerah tarikan pada gigi marmut (*Cavia cobaya*) jantan yang diinduksi gaya mekanis ortodonti. Semakin lama waktu perlakuan semakin besar peningkatan kepadatan sabut kolagen.

5.2 Saran

- 5.2.1 Perlu dilakukan peningkatan ketelitian dalam proses pembuatan jaringan histologi agar tidak terjadi kesalahan selama pemrosesan jaringan.
- 5.2.2 Perlu dilakukan evaluasi dalam menghitung kepadatan sabut kolagen ligamen periodontal di daerah tarikan menggunakan metode lain.
- 5.2.3 Perlu dilakukan pemberian induksi gaya mekanis ortodonti dan dosis kopi yang bervariatif untuk mengetahui pengaruhnya masing – masing terhadap kepadatan sabut kolagen.

Daftar Pustaka

- Ahuja, V. Dhakray, M. Mittal, P. Khanna, B. Yadav, dan M. Jain. 2012. Role of Collagen in PDL-A Review. *Internet Journal of Microbiology*. 10(1): 112-115.
- Aini, S.Q. 2014. Pengaruh Salep Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis) terhadap Pembentukan Jaringan Granulasi pada Luka Bakar Tikus *Sprague dawley*. Skripsi. Jakarta: FKIK UIN Syarif Hidayatullah.
- Allyson, B., D. John, T. Bryan, dan W. Philip. 2010. Force Characteristics of Nickel-Titanium Open-Coil Springs. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*. 5(2): 23-25.
- Al-Henhena, A.A., A. Mahmood, A.B. Al-magrami, A.N. Syuhada, M.D. Zahra, M.S. Summaya, A. Suzi, dan I. Salmah. 2011. Histological Study of Wound Healing Potential by Ethanol Leaf Extract of Strobilanthes Crispus in Rats. *Journal Medical Plants Research*. 5(16): 3660–3666.
- American Dental Association. 2001. The Future of Dentistry, pg. 81. http://www.ada.org/prof/resources/topics/futuredent/future_chap05_06.pdf. [Diakses pada 2 Agustus 2018].
- Amin, N., P. Muhammad, dan K. Nur. 2016. Aspek Biologis Pergerakan Gigi secara Ortodonti. *Journal Stomatognatic (Jurnal Kedokteran Gigi Unej)*. 13(1): 22-27.
- Andrade, J.I., S.R.A. Taddei, dan P.E.A. Souza. 2012. Inflammation and Tooth Movement: The Role of Cytokines, Chemokines, and Growth Factors. *Seminar in Orthodontics*. 18(4): 257-269.
- Anondo, I.K. 2015. *Teknik Praktis untuk Jaringan Sel*. Bali: CV Dharma Sandi.
- Apajalahti, S.P. 2004. Apical Root Resorbtion After Orthodontic Treatment. *European Journal of Orthodontics*. 2(1): 12-17.
- Ardhiyanto, H.B. 2007. Proses Penyembuhan Luka Post Ekstraksi Gigi. *Journal Stomatognati*. 4(2): 60-65.
- Arikunto dan Suharsimi. 2010. *Prosedur Penelitian Suatu Pendekatan Praktik*. Ed. Revisi IV. Jakarta: PT. Rineka Cipta.

- Aulia, A.F. 2014. Pengaruh Pemberian Salep Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis) terhadap Pembentukan Jaringan Granulasi pada Luka Bakar Tikus Sprague dawley. *Skripsi*. Jakarta: FKIK UIN Syarif Hidayatullah.
- Baek, K.H., K.W. Oh, W.Y. Lee, S.S. Lee, M.K. Kim, dan H.S. Kwon. 2010. Association of Oxidative Stress with Postmenopausal Osteoporosis and Effects of Hydrogen Peroxide on Osteoclast Formation in Human Bone Marrow Cell Cultures. *Calcif Tissue Internat.* 87(3): 226-35.
- Bagchi, K. dan S. Puri. 1998. Free Radicals and Antioxidant in Health and Diseases. *Mediterranean Health Journal*. 4(2): 350-362.
- Belitz, H.D. dan W. Grosch. 1999. *Food Chemistry*. 2nd Ed. Berlin: Springer.
- Bonita, J.S., M. Mandarono, D. Sutha, dan J. Vinson. 2007. Review : Coffee and Cardiovascular Disease : In vitro, cellular, animal, and human studies. *Pharmacological Research*. 55(3): 187-198.
- Burstone, C.J., dan M.R. Marcotte. 2000. *Problem Solving in Orthodontics*. Chicago: Goal Oriented Treatment Strategy.
- Burton, G.J. dan J. Eric. 2011. Oxidative Stress. *Journal of Clinical Obstetrics and Gynaecology*. 5(3): 116-123.
- Caiado, F., C. Real, T. Carvalho, dan S. Dias. 2011. Notch Pathway Modulation on Bone Marrow Derived Vascular Precursor Cells Regulates Their Angiogenic and Wound Healing Potential. *Fibrogenesis & Tissue Repair 2011*. 3(11): 37-52.
- Chen, W.C., S.S. Liou, T.F. Tzeng, S.L. Lee, dan I.M. Liu. 2013. The Effect of Topical Application of Chlorogenic Acid on Exiccion Wound Healing in Rats . Departement of Bioengineering, Tatung University, Taipei City, Taiwan. *Planta Medira*. 79(8): 616-621.
- Claudia, A., E.F. Graciela, dan F. Rosana. 2008. Total Polyphenol Content and Antioxidant Capacity of Commercially Available Tea (Camellia Sintesis) in Argentina. *Journal of Agricurtural and Food Chemistry*. 12(3): 9225-9229.
- Daglia, M., M. Rachi, A. Papetti, C. Lanni, S. Govoni, dan G. Gazzani. 2000. In Vitro and Ex-Vivo Antihydroxyl Radical Activity of Green and Roasted Coffee. *Journal Agriculture Food Chemistry*. 48(5): 54-58.

- Daniel, W. 2005. *Biostatistica Foundation for Analysis in The Health Science 6th Ed.* Canada: John Wiley and Sons. Inc.
- David Alpan. 2014. *Accelerating Treatment of Orthodontic.*
- Dorrow, C., N. Kristin, dan E. H. Dutra. 2002. Experiments to Determine the Material Properties of Periodontal Ligament. *Journal Orofacial.* 5(2): 10-18.
- D'Apuzzo, F., S. Cappablanca, D. Clavarella, A. Monsurro, A.S. Biavati, dan L. Perillo. 2013. Biomarkers of periodontal tissue remodelling during orthodontic tooth movement in mice and men: overview and clinical relevance. *The Scientific World Journal.* 4(1): 342-353.
- Eroschenko, L., dan P. Victor. 2010. *Atlas Histologi Diflore.* Ed. 11. Jakarta: EGC.
- Evans, W.B. dan L. Trease. 2002. *Caffeine in Pharmacognosy.* Ed. 15. New York: WB Sounders.
- Fachraniah, E., D. Kurniasih, dan T. Novilasi. 2012. Ekstraksi Antioksidan dari Daun Kari. *Journal of Science Technology.* 10(21): 35-44.
- Farlex. 2012. Definition of Malocclusion. *Farlex Partner Medical Dictionary.* [Diakses pada 8 Agustus 2018].
- Fawcett, D.W. 2002. *Buku Ajar Histologi.* Ed. 12. Jakarta: EGC
- Fiorellini, J.P. 2005. The tooth-supporting structures. In: Newman MG, Takei HH, Carranza FA, editors. *Carranza's clinical periodontology.* 10th Ed. Philadelphia: WB Saunder Co.
- Genco, R.J. 1992. Host Responses in Periodontal Diseases: Current Concepts. *Journal of Periodontology.* 3(2): 12-18.
- Goenawan. 2011. Komposisi Kopi. <http://goenawanb.com/agriculture/komposisi-kopi>. [Diakses pada 8 Agustus 2018].
- Gostner, L., K. Becker, D. Fuchs, dan R. Sucher. 2013. Redox Regulation of the Immune Response. *Redox Report.* 18(1): 88–94.
- Harborne, J.B. 1996. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan.* ITB: Bandung.

- Hartono. 2009. Saponin. <http://farmasi.dikti.net/saponin>. [Diakses pada 8 Agustus 2018].
- Henneman, S. dan J.C. Maltha. 2008. Microbiology of Tooth Movement. *European Journal of Orthodontic*. 30(2): 299-306.
- Herniyati, B.N., Ida, dan Soetjipto. 2016. Effects of Robusta coffee (*Coffea canephora*) Brewing on Levels of RANKL and TGF- β 1 in Orthodontic Tooth Movement. *Dental Journal*. 49(3): 143–147.
- <http://web.ipb.ac.id/~usmanahmad/Pengolahankopi.html> [Diakses pada 20 Agustus 2018].
- Iain L.C., I. Chapple, dan J.B. Matthews. 2007. The Role of Reactive Oxygen and Antioxidant Species in Periodontal Tissue Destruction. *Periodontology 2000*. 43(1): 160-232.
- Ismai, S. 2002. Luka dan Perawatannya. <http://images.mailmkes.multiply.multiplycontent.com>. [Diakses pada 30 Agustus 2018].
- Johnston, K.L., M.N. Chifford, dan L.M. Morgan. 2003. Coffe Acutely Modifies Gastrointestinal Hormon Secretion and Glucose Tolerance in Human : Glycemic Effect of Chlorogenic Acid and Caffeine. *America Journal Clinical Nutrition*. 79(4): 728-733.
- Junqueira, L.C. dan J. Carneiro. 2007. *Basic Histology*. Ed 10. Jakarta: EGC.
- Kenisa, Y.P, Istiati, dan Wisnu. 2012. Effect of Robusta Coffee Beans Ointment on Full Thickness Wound Healing. *Dental Journal*. 45(1): 232-240.
- Ketaren, S. 1986, *Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Kohen, R. dan L. Nyska. 2002. Oxidation of Biological Systems. *Journal of Toxicol Pathology*. 2(1): 90-95.
- Kontas-Askar, T., M.E. Altug, M. Karapehlivan, E. Atakisi, dan A.A., Hismiogullari. 2009. Is CAPE a Therapeutic Agent for Wound Healing?. *Journal of Animal and Veterinary Advances*. 8(1): 129–133.

- Krishnan, V. dan Z. Davidovitch. 2006. Cellular, Molecular and Tissue Level Reaction to Orthodontics Force. *American Journal of Orthodontic and Dentofacial Orthopedics*. 129(4): 469-474.
- Laguhi, V.A., P.S. Anindita, dan P.N. Gunawan. 2014. Gambaran Maloklusi dengan Menggunakan HMAR pada Pasien di Rumah Sakit Gigi dan Mulut Universitas Sam Ratulangi Manado. *Jurnal Elektronik-GiGi*. 2(2): 1-7.
- Lamme, E.N., R.T.J. Leeuwen, K. Brandsma, J.V. Marle, dan E. Middelkoop. 2000. Higher Numbers of Autologous Fibroblast in Artificial Dermal Substitute Improve Tissue Regeneration and Modulate Scar Tissue Formation. *Journal Pathology*. 190(2): 595-603.
- Lenny, S. 2006. Senyawa Flavonoida, Fenil Propanoida dan Alkaloida. *Karya Ilmiah*. Medan : Universitas Sumatera Utara.
- Mandal, S., S. Yadav, and R.K. Nema. 2009. Antioxidant. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 11(1): 102-108.
- Marks dan Kelly. 1973. *Consumtion and Metabolism Of Caffeine*.
- Maurya, R.K. dan M.P. Prassanna. 2016. Changing Face of Orthodontics Treatment-from Braces to Brace-Less. *Journal of Dentistry Defence Section*. 11(1): 21-27.
- Mayur, S., Rajkumar, Harsh, Harpreet, dan A. Kunal. 2017. Accelerated Orthodontics: A Paradigm Shift. *Indian Journal of Orthodontics and Dentofacial Research*. 3(2): 64-68.
- McCormack, S.W., W. Ulrich, P.J. Watson, M.J. Fagan, dan F. Groning. 2014. The Biomechanical Function of Periodontal Ligament Fibers in Orthodontics Tooth Movement. *Research Article*. 8(2): 22-28.
- Meikle, C.M. 2006. The Tissue, Cellular, and Molecular Regulation of Orthodontic Tooth Movement: 100 years after Carl Sandstedt. *European Journal of Orthodontics*. 28(3): 221-40.
- Menshchikova, E.B., N.K. Zenkov, V.Z. Lankin, I.A. Bondar, dan V.A. Trufakin. 2008. *Oxidative Stress: Pathological Conditions and Diseases*. Novosibirsk, Russia: ARTA.

- Morishita, H. dan Ohnishi M. 2001. Absorption, Metabolism, and Biological Activities of Chlorogenic Acids and Related Compounds. *Studies in Natural Products Chemistry*. 2(5): 932-933.
- Mursu, J.S., T. Voutilainen, G. Nurmi, J.K. Alfthan, J. Virtanen, R. Kaikkonen, dan J.K. Salonen. 2005. The Effects of Coffee Consumption on Lipid Peroxidation And Plasma Total Homocysteine Concentration a Clinical Trial. *Journal Free Radical Biology & Medicine*. 3(8): 527-534.
- Muntiha, M. 2001. Teknik Pembuatan Histopatologi dari Jaringan Hewan dengan Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (HE). *Temu Teknis Fungsional Non Peneliti*.
- Narmada, I. B., dan A. Syafei. 2008. The Role of Mechanical Force in Molecular and Cellular During Orthodontic Tooth Movement. *Indonesian Journal of Dentistry*. 15(3): 226-231.
- Nicoli, M.C., M. Annese, Manzocco, dan C.R.L. Leirici. 1997. Antioxidant Properties of Coffee Brew in Relation to The Roasting Degree. *Journal of Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*. 2(1): 292-297
- Notoatmojo, S. 2002. *Metodologi Penelitian*. (Edisi Revisi). Jakarta: PT. Rineka Pustaka.
- O'Neil, M.J., S.A. Smith, P.E. Heckelman, J.R. Obenchain, J.A.R. Gallipeau, M.A. D'Arecca, dan S. Budavari. 2001. *The Merck Index on Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biological*. 13th ed. Whitehouse Station, NJ: Merck.
- Padgett, K.A. Broniowska, P.A. Hansen, J.A. Corbett, dan H.M. Tse. 2013. The Role of Reactive Oxygen Species and Proinflammatory Cytokines in Type 1 Diabetes Pathogenesis. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 128(1): 16–35.
- Pillon, J., M. Anne, dan M. Juap. 1996. Magnitude of Orthodontic Force and Rate of Bodily Tooth Movement. *An Experimental Study*. Nijmegen: Radboud University Nijmegen.
- Prameswari, N. 2005. Peningkatan Jumlah Sabut Kolagen Ligamen Periodontal, Ketebalan *Inserting Periodontal Ligament Fibre Bundles*, dan Presementum pada Daerah Tekanan Sementum Gigi Akibat Pemakaian Piranti Ortodonti Cekat. *Thesis*. Surabaya: Universitas Airlangga.

- Prihandana, I.G.M. 2014. Efek Ekstrak Teh Hijau (*Camellia sinensis*) terhadap Pembentukan Serabut Kolagen pada Soket Gigi Tikus Wistar Pasca Pencabutan. *Skripsi*. Jember: Universitas Jember.
- Prihatman, K. 2001. *Saponin untuk Pebasmi Hama Udang*. Bandung: Penelitian Perkebunan Gambung.
- Prijatmoko, D. 2014. *Biomekanik Pergerakan Gigi*. Jakarta: CV Sagung Seto.
- Prior, R.L., H. Hoang, L. Gu, X. Wu, M. Bacchiocca, L. Howard, M.H. Woodill, D. Huang, dan R. Jacob. 2003. Assays for Hydrophilic and Lipophilic Antioxidant Capacity (Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORACFL)) of Plasma and Other Biological and Food Samples. *Journal of Agriculture Food Chemical*. 5(1): 3273–3279.
- Profitt, W.R, H.W. Field, dan D.M Safer. 2007. *Contemporary orthodontics. 4th ed.* Toronto: CV Mosby Coperation.
- Putri, Annisa, Narmada, B. Ida, Hamid, dan Thalca. 2013. Efek Pemberian Ekstrak Aloevera terhadap Jumlah Osteoblas Tulang Alveolar *Cavia cobaya* pada Pergerakan Gigi Ortodonti. *Orthodontic Dental Journal*. 4(1): 21-26.
- P. Lekic dan C.A.G McCulloch. 1996. *Periodontal Ligament Cell Populations: The Central Role of Fibroblast in Creating a Unique Tissue*. Canada : Faculty of Dentistry, University of Toronto.
- Rahardjo, P. 2009. *Ortodonti Dasar*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Rahardjo, P. 2012. *Ortodonti Dasar Edisi 2*. Surabaya: Airlangga University
- Richelle, M., I. Tavazzi, dan E. Offord. 2001. Comparison of the Antioxidant of Commonly Consumed Polyphenole Beverages (Coffee, Cocoa, and Tea) Prepared per Cup Serving. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49(7): 3438-3444.
- Robbins, S.L., R.S. Cotran, dan V. Kumar. 2007. *Buku Ajar Patologi*. 7 Ed. Jakarta: EGC.
- Sabirin, I.P.R., A.M. Maskoen, dan B.S. Hernowo. 2013. Peran Ekstrak Etanol Topikal Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) pada Penyembuhan Luka Ditinjau dari Imunoekspresso CD34 dan Kolagen pada Tikus Galur Wistar. *MKB*. 45(4): 226-233.

- Sani, A. 2012. Manfaat Kopi untuk Kesehatan. <http://dokterherbal.com/manfaat-kopi-untuk-kesehatan.html>. [Diakses pada 2 September 2018].
- Santoso, H.B. 2006. Struktur Mikroskopis Kartilago Epifisis Tibia Fetus Mencit (*Mus musculus L.*) dari Induk dengan Perlakuan Kafein. *Berkas Penelitian Hayati*. 12: 69-74.
- Santoso, E. 2011. *Buku Ajar Etik Penelitian Kesehatan*. Malang: Brawijaya University Press.
- Sartika, Notaricia, Narmada, B. Ida, S. Jamsudin, dan Jusuf. 2013. Efek Ekstrak Propolis terhadap Jumlah Osteoblas Tulang Alveolar Cavia cobaya pada Pergerakan Gigi Ortodonti. *Orthodontic Dental Journal*. 4(1): 5-9.
- Shaw, A.M., G.T. Sameshima, dan H.V. Vu. 2004. Mechanical Stress Generated by Orthodontic force On Apical Root Cementum: A Finite Element Model. *Orthodontic and Cranio Research*. 7(2): 11-20.
- Siswoyo, R. 2009. *Kimia Organik*. Jakarta : EGC.
- Song, H.S., T.W. Park, U.D. Sohn, Y.K. Shin, B.C. Choi, C.J. Kim, dan S.S. Sim. 2008. The Effect of Caffeic Acid in Wound Healing in Skin-Incised Mice. *Korean Journal of Physiologi and Pharmacology*. 12(3): 343-347
- Sudarmi. 1997. *Kafein dalam Pandangan Farmasi*. Medan: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Sumatera Utara.
- Syafriadi, M. 2008. *Petunjuk Praktikum Patologi Anatomi, Degenerasi dan Radang*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Tanaman Obat. 2008. *Kopi* (Coffea robusta L). <http://tanamanobat.org/496/kopi-coffea-robusta-1/> . [Diakses pada 19 Agustus 2018].
- Tello, J., M. Viguera, dan L. Calvo. 2011. Extraction Of Caffeine from Robusta Coffee (Coffea Canephora Vr. Robusta) Hus Ka Using Supercritical Carbon Dioxide. *The Journal of Supertical Fhids*. 59(2): 53-60.
- Usman dan P.S. Akbar. 2008. *Metodologi Penelitian Sosial*. Jakarta : Bumi Aksara.
- Van, S.A., J.V. Sloten, L. Geris. A Mechanobiological Model on Orthodontic Tooth Movement. 2013. *Journal Biomechanical Model Mechanobiology*. 12(1): 244-265.

- Villanueva, M. Cristina, Cantor, P. Kenneth, D.K. Will, Jaakola, J.K. Jouni, Courdier, Sylvaine, Lynch, F. Charles, Porru, Stefano, Kogenivas, dan Manolis. 2006. Total and Spesific Fluid Consumtion as Determinants of Bladder Cancer Risk. *International Journal of Cancer*. 118(8): 2040-2047.
- Warren, A. dan S. Roozegar. 2004. Regenerative Periodontal Therapies, Review. Departement of Periodontology Institute of Odontology. Karolinska Institute Stockholm.
- Webster, M. 2010. *Coffee Definition*. [Diakses pada 15 Agustus 2018].
- Wei-cheng, C., S.S. Liou, T.F. Tzeng, S.L. Lee, I.M. Liu. 2013. Effect of Topical Application of Chlorogenic Acid on Excision Wound Healing in Rats. *Planta Medica*. 79(2): 616-621.
- Winarsi, W. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Wise, G.E., dan G.J. King. 2008. Mechanisms of tooth eruption and orthodontic tooth movement. *Journal of Dentofacial Research*. 87(8): 414-434.
- Yina, L., A. Laura, H. Shannyn, dan K. Ching-Chang. 2018. Orthodontic Tooth Movement: The Biology and Clinical Implications. *Kaohsiung Journal of Medical Sciences*. 3(4): 207-214.
- Yashin, A., Y. Yashin, J.Y. Wang, dan B.S. Nemzer. 2013. Antioxidant and Antiradical Activity of Coffee. *Journal of Antioxidants*. 11(2): 230-245.
- Zuber, M., V. Rajesh, K. Anusha, C.R. Reddy, dan A. Tirupathi. 2013. Wound Healing Activity of Ethanolic Extract of *Allium sativum* on Alloxan Induced Diabetic Rats Family. *International Journal of Science Inventions Today*. 41(5): 218-220.

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 APPROVAL

Nomor : 1150 /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 2010.
Ketua Komisi Etik Penelitian

dr. Rini Riyanti, Sp.PK

Lampiran B. Surat Ijin Laboratorium Biomedik


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

Nomor Perihal	: 4332/UN25.8.TL/2018 : Ijin Penelitian	09 NOV 2018
------------------	--	-------------

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	:	Rizky Putri Agma Wijayanti
2 NIM	:	151610101104
3 Semester/Tahun	:	2017/2018
4 Fakultas	:	Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
5 Alamat	:	Jl. Danau Toba 7 no.222 A
6 Judul Penelitian	:	Efek Pemberian Seduhan Kopi Robusta (<i>Coffea canephora</i>) terhadap Peningkatan Kepadatan Sabut Kolagen Ligamen Periodontal Daerah Tarikan pada Gigi Marmut (<i>Cavia cobaya</i>) Jantan yang Diinduksi Gaya Mekanis Ortodonti
7 Lokasi Penelitian	:	Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
8 Data/alat yang dipinjam	:	Alat Prosesing Jaringan, Mikroskop
9 Waktu	:	Agustus 2018 s/d Selesai
10 Tujuan Penelitian	:	Untuk efek pemberian seduhan kop i robusta (<i>Coffea canephora</i>) terhadap peningkatan kepadatan sabut kolagen ligamen periodontal daerah tarikan pada gigi marmut (<i>Cavia cobaya</i>) jantan yang diinduksi gaya mekanis ortodonti
11 Dosen Pembimbing	:	1. Dr. drg. Hj. Herniyati, M.Kes 2. drg. Leliana Sandra Devi A Putri, Sp.Ort.

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih



an. Dekan
 Wakil Dekan I,
Dr. drg. IDA Susilawati, M.Kes
 NIP. 196109031986022001

Lampiran C. Surat Ijin Laboratorium Fisiologi


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

Nomor	: A391/UN25.8.TL/2018	09 NOV 2018
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	:	Rizky Putri Agma Wijayanti
2	NIM	:	151610101104
3	Semester/Tahun	:	2017/2018
4	Fakultas	:	Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
5	Alamat	:	Jl. Danau Toba 7 no.222 A
6	Judul Penelitian	:	Efek Pemberian Seduhan Kopi Robusta (<i>Coffea canephora</i>) terhadap Peningkatan Kepadatan Sabut Kolagen Ligamen Periodontal Daerah Tarikan pada Gigi Marmut (<i>Cavia cobaya</i>) Jantan yang Diinduksi Gaya Mekanis Ortodonti
7	Lokasi Penelitian	:	Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
8	Data/alat yang dipinjam	:	Kandang Marmut, Timbangan
9	Waktu	:	Agustus 2018 s/d Selesai
10	Tujuan Penelitian	:	Untuk efek pemberian seduhan kopi robusta (<i>Coffea canephora</i>) terhadap peningkatan kepadatan sabut kolagen ligamen periodontal daerah tarikan pada gigi marmut (<i>Cavia cobaya</i>) jantan yang diinduksi gaya mekanis ortodonti
11	Dosen Pembimbing	:	1. Dr. drg. Hj. Herniyati, M.Kes 2. drg. Leliana Sandra Devi A Putri, Sp.Ort.

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih



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

Lampiran D. Penghitungan Konversi Dosis Manusia ke Marmut

TABEL KONVERSI PERHITUNGAN DOSIS

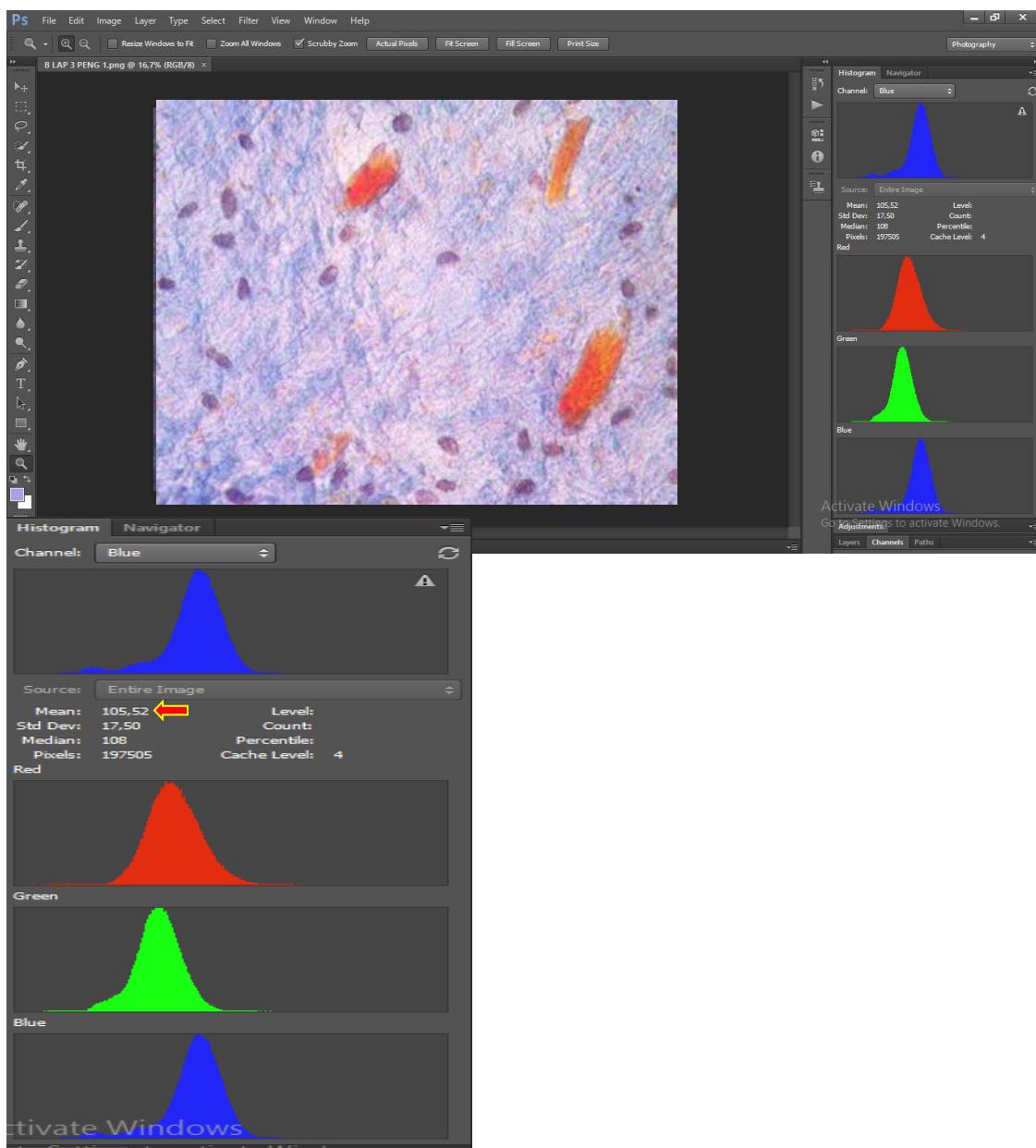
(LAURENCE & BACHARACH, 1964)

	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

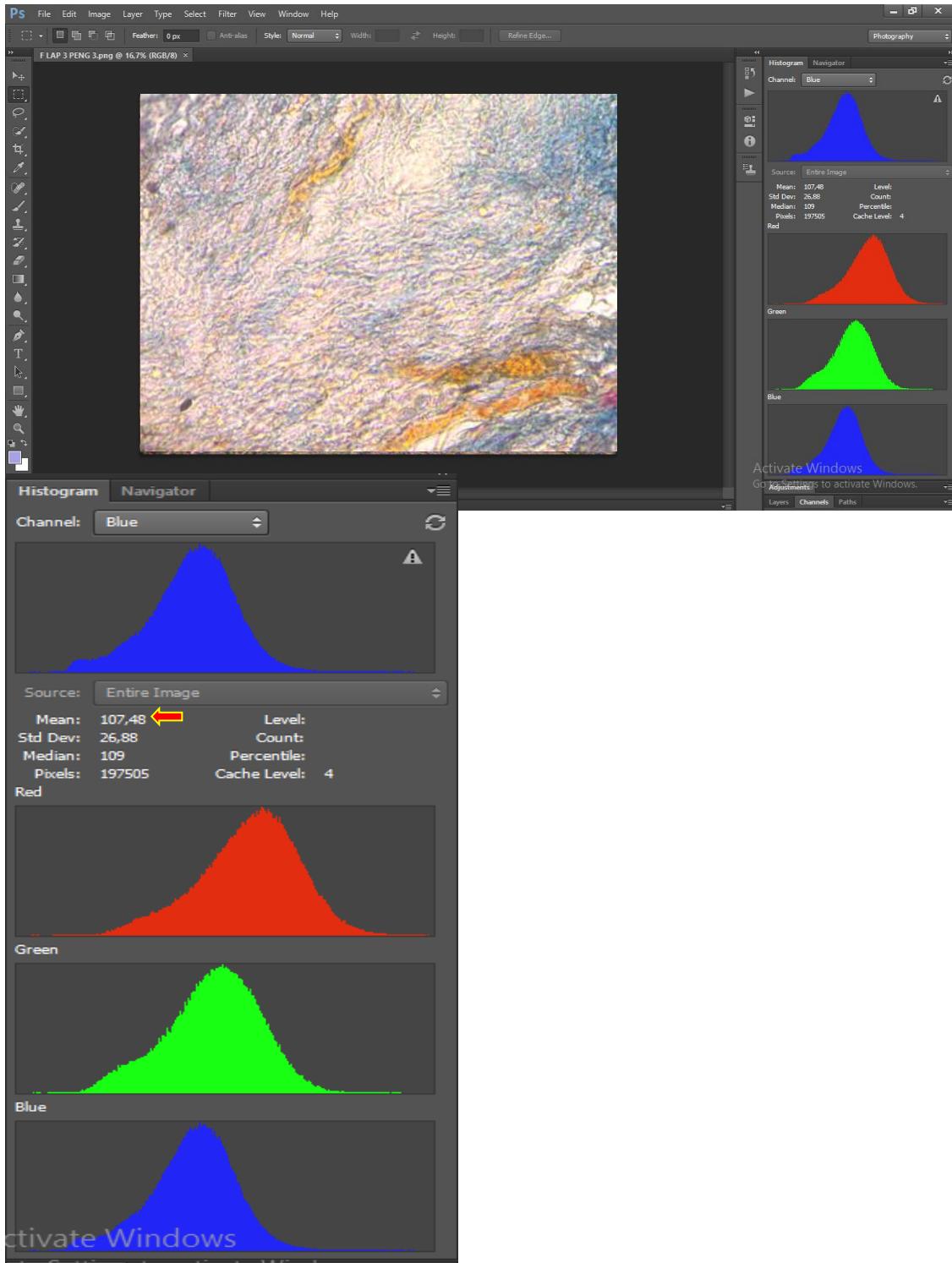
Lampiran E. Pengukuran Kepadatan Sabut Kolagen

Tahap pertama adalah membuka gambaran histologis sabut kolagen yang sebelumnya telah difoto menggunakan optilab pada aplikasi *Adobe Photoshop CS 6.0*. Selanjutnya dalam panel *Histogram* memilih *channel Blue* untuk melihat data histogram berupa *mean*. Tanda panah merupakan nilai *mean* yang menunjukkan kepadatan sabut kolagen dalam satuan piksel.

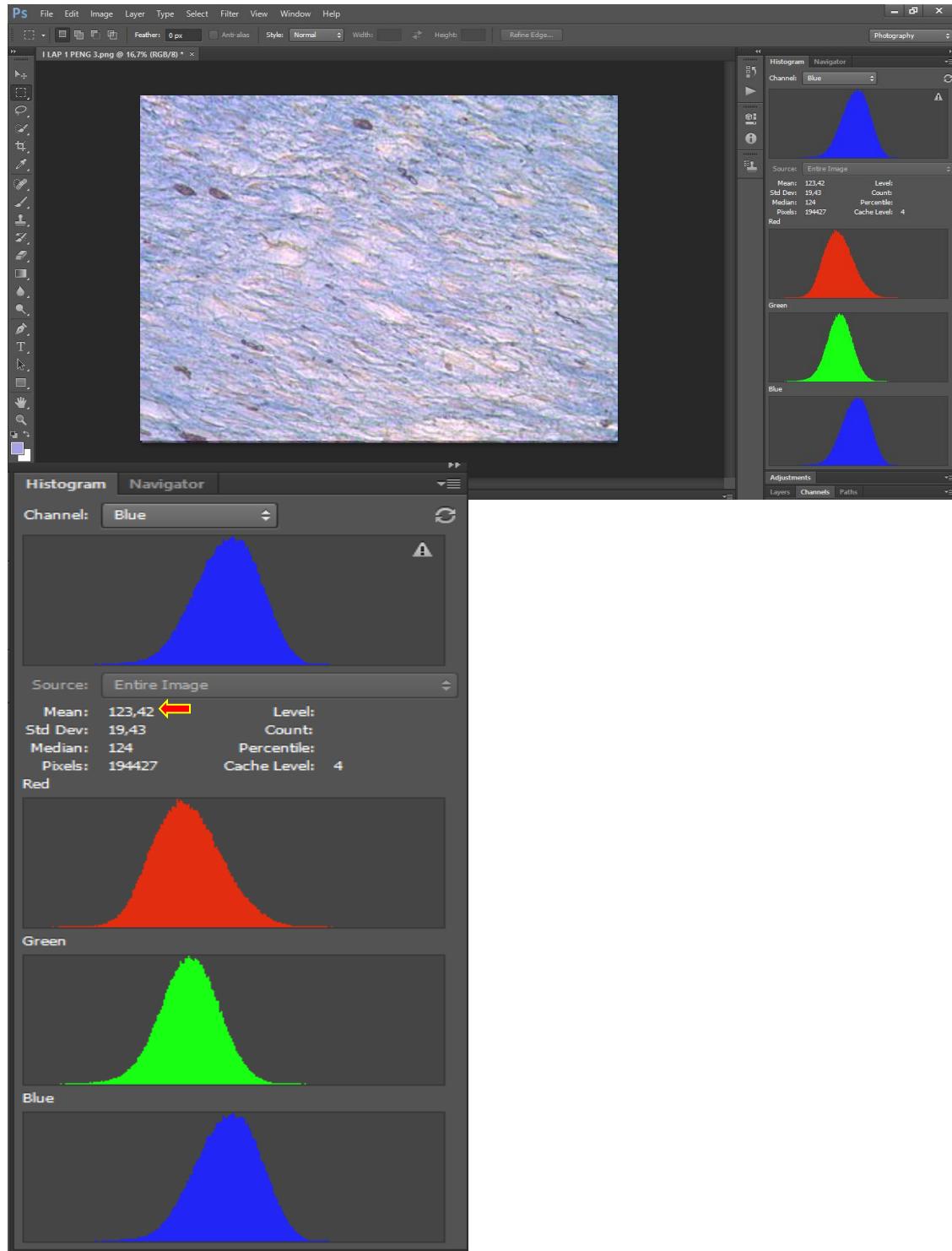
A. Kontrol 2 Minggu



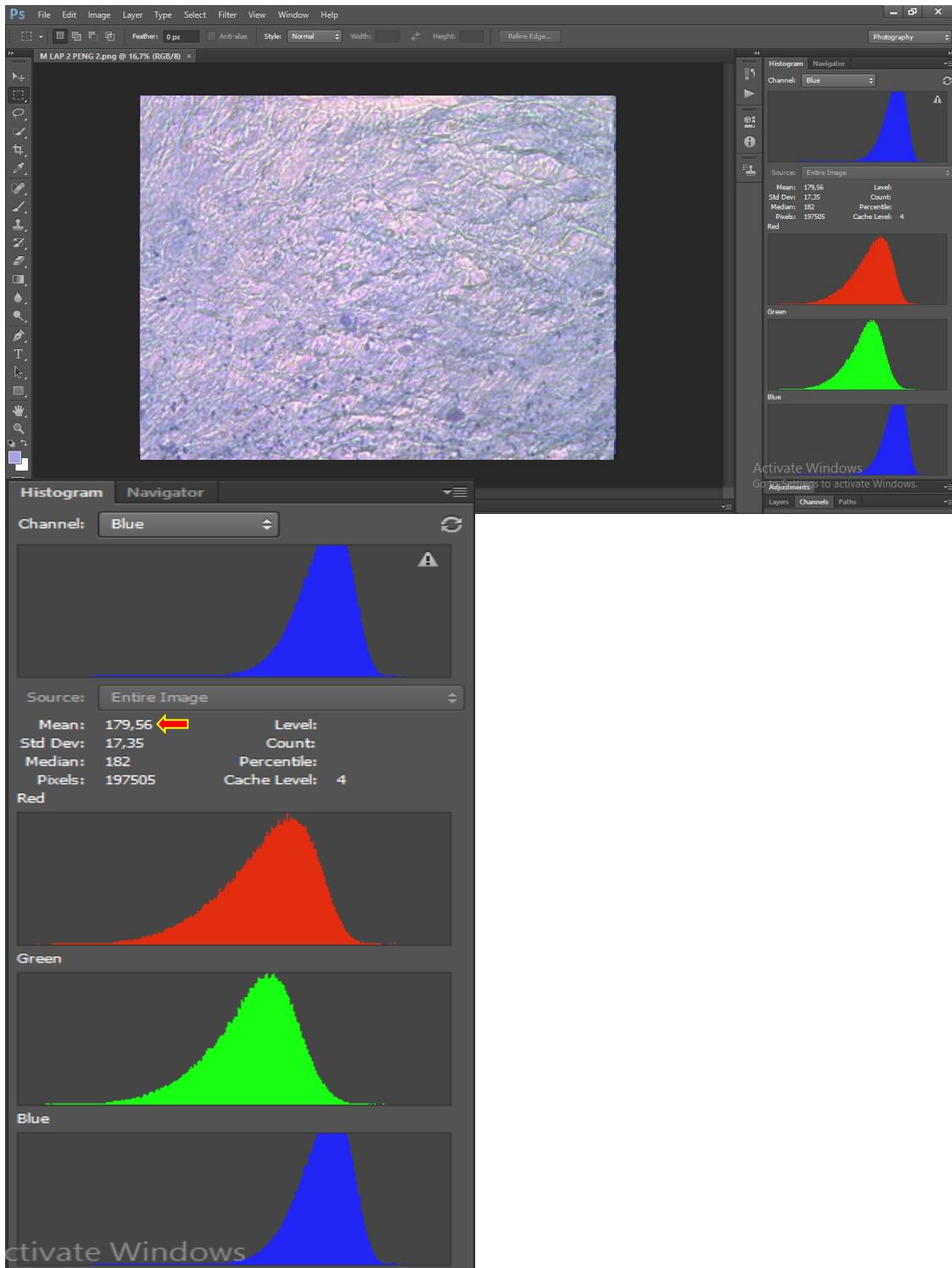
B. Kontrol 3 Minggu



C. Perlakuan Kopi 2 Minggu



D. Perlakuan Kopi 3 Minggu



Lampiran F. Hasil Penghitungan Kepadatan Sabut Kolagen di Daerah Tarikan
Kelompok A (Kontrol 2 Minggu)

Marmut		Pengamat 1	Pengamat 2	Pengamat 3	Rata-Rata
A1	Lapang pandang 1	102,18	101,81	99,02	101,00
	Lapang pandang 2	101,78	101,85	102,53	102,05
	Lapang pandang 3	94,23	93,43	92,65	93,44
	Rata – rata keseluruhan				
		Pengamat 1	Pengamat 2	Pengamat 3	Rata-Rata
A2	Lapang pandang 1	102,51	102,12	102,50	102,38
	Lapang pandang 2	101,21	100,72	100,11	100,68
	Lapang pandang 3	101,65	101,66	101,76	101,69
	Rata – rata keseluruhan				
		Pengamat 1	Pengamat 2	Pengamat 3	Rata-Rata
A3	Lapang pandang 1	102,19	101,92	102,15	102,09
	Lapang pandang 2	107,22	107,39	107,53	107,38
	Lapang pandang 3	105,52	105,40	104,85	105,26
	Rata – rata keseluruhan				
		Pengamat 1	Pengamat 2	Pengamat 3	Rata-Rata
A4	Lapang pandang 1	94,80	94,90	94,87	94,86
	Lapang pandang 2	109,19	109,22	109,32	109,24
	Lapang pandang 3	102,15	102,27	102,33	102,25
	Rata – rata keseluruhan				

Kelompok B (Kontrol 3 Minggu)

Marmut		Pengamat 1	Pengamat 2	Pengamat 3	Rata-Rata
B1	Lapang pandang 1	94,93	94,94	95,12	94,10
	Lapang pandang 2	102,19	101,62	101,47	101,76
	Lapang pandang 3	98,57	97,15	96,71	97,48
	Rata – rata keseluruhan				
		Pengamat 1	Pengamat 2	Pengamat 3	Rata-Rata
B2	Lapang pandang 1	102,08	102,16	102,16	102,13
	Lapang pandang 2	104,13	104,19	104,43	104,25
	Lapang pandang 3	103,22	102,40	103,38	103,00
	Rata – rata keseluruhan				
		Pengamat 1	Pengamat 2	Pengamat 3	Rata-Rata
B3	Lapang pandang 1	107,70	107,79	107,76	107,75
	Lapang pandang 2	98,46	98,18	98,64	98,43
	Lapang pandang 3	107,46	107,33	107,48	107,42
	Rata – rata keseluruhan				
		Pengamat 1	Pengamat 2	Pengamat 3	Rata-Rata
B4	Lapang pandang 1	108,03	107,94	108,02	107,10
	Lapang pandang 2	98,86	99,43	99,39	99,27
	Lapang pandang 3	103,55	104,18	103,64	103,79
	Rata – rata keseluruhan				
					103,39

		Pengamat 1	Pengamat 2	Pengamat 3	Rata-Rata
B5	Lapang pandang 1	118,23	118,22	118,36	118,27
	Lapang pandang 2	107,09	107,31	107,45	107,28
	Lapang pandang 3	119,12	119,10	120,01	119,41
	Rata – rata keseluruhan				114,99

Kelompok C (Perlakuan Kopi 2 Minggu)

Marmut		Pengamat 1	Pengamat 2	Pengamat 3	Rata-Rata
C1	Lapang pandang 1	123,18	123,22	123,42	123,27
	Lapang pandang 2	123,22	123,45	123,56	123,41
	Lapang pandang 3	122,56	122,62	122,98	122,72
	Rata – rata keseluruhan				123,13
		Pengamat 1	Pengamat 2	Pengamat 3	Rata-Rata
C2	Lapang pandang 1	128,17	128,81	129,00	128,66
	Lapang pandang 2	150,75	150,93	151,01	150,10
	Lapang pandang 3	121,00	121,22	121,05	121,09
	Rata – rata keseluruhan				133,28
		Pengamat 1	Pengamat 2	Pengamat 3	Rata-Rata
C3	Lapang pandang 1	135,27	135,03	135,42	135,24
	Lapang pandang 2	137,37	137,05	135,31	136,58
	Lapang pandang 3	134,13	134,62	134,04	134,26

	Rata – rata keseluruhan				135,36
		Pengamat 1	Pengamat 2	Pengamat 3	Rata-Rata
C4	Lapang pandang 1	139,66	139,74	139,91	139,77
	Lapang pandang 2	144,55	144,86	144,94	144,78
	Lapang pandang 3	141,39	141,60	141,47	141,49
	Rata – rata keseluruhan				142,01
		Pengamat 1	Pengamat 2	Pengamat 3	Rata-Rata
C5	Lapang pandang 1	133,26	133,42	133,63	133,44
	Lapang pandang 2	121,03	121,01	121,04	121,03
	Lapang pandang 3	140,65	140,68	140,77	140,70
	Rata – rata keseluruhan				131,72

Kelompok D (Perlakuan Kopi 3 Minggu)

Marmut		Pengamat 1	Pengamat 2	Pengamat 3	Rata-Rata
D1	Lapang pandang 1	176,56	179,47	179,56	178,53
	Lapang pandang 2	179,23	179,56	179,15	179,31
	Lapang pandang 3	180,99	180,80	180,82	180,87
	Rata – rata keseluruhan				
		Pengamat 1	Pengamat 2	Pengamat 3	Rata-Rata
D2	Lapang pandang 1	183,00	183,18	183,11	183,10
	Lapang pandang 2	182,40	182,02	182,13	182,18
	Lapang pandang 3	183,08	183,13	183,26	183,16
	Rata – rata keseluruhan				
		Pengamat 1	Pengamat 2	Pengamat 3	Rata-Rata
D3	Lapang pandang 1	193,93	194,00	194,19	194,04
	Lapang pandang 2	193,31	193,48	193,50	193,43
	Lapang pandang 3	192,48	192,52	192,57	192,52
	Rata – rata keseluruhan				
		Pengamat 1	Pengamat 2	Pengamat 3	Rata-Rata
D4	Lapang pandang 1	180,19	180,86	180,95	180,67
	Lapang pandang 2	177,57	176,99	178,92	177,83
	Lapang pandang 3	182,37	182,77	182,88	182,67
	Rata – rata keseluruhan				
					180,39

Lampiran G. Analisis Data

Uji Normalitas *Shapiro-wilk*

	Sampel	Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
Kepadatan	Kontrol 2 minggu	.997	3	.895
	Kopi 2 minggu	.970	5	.876
	Kontrol 3 minggu	.878	5	.300
	Kopi 3 minggu	.803	4	.107

a. Lilliefors Significance Correction

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

Uji Homogenitas *Levene*

Test of Homogeneity of Variances

Kepadatan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.311	3	13	.817

Uji One-way Anova

ANOVA

Kepadatan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	17272.062	3	5757.354	154.815	.000
Within Groups	483.452	13	37.189		
Total	17755.514	16			

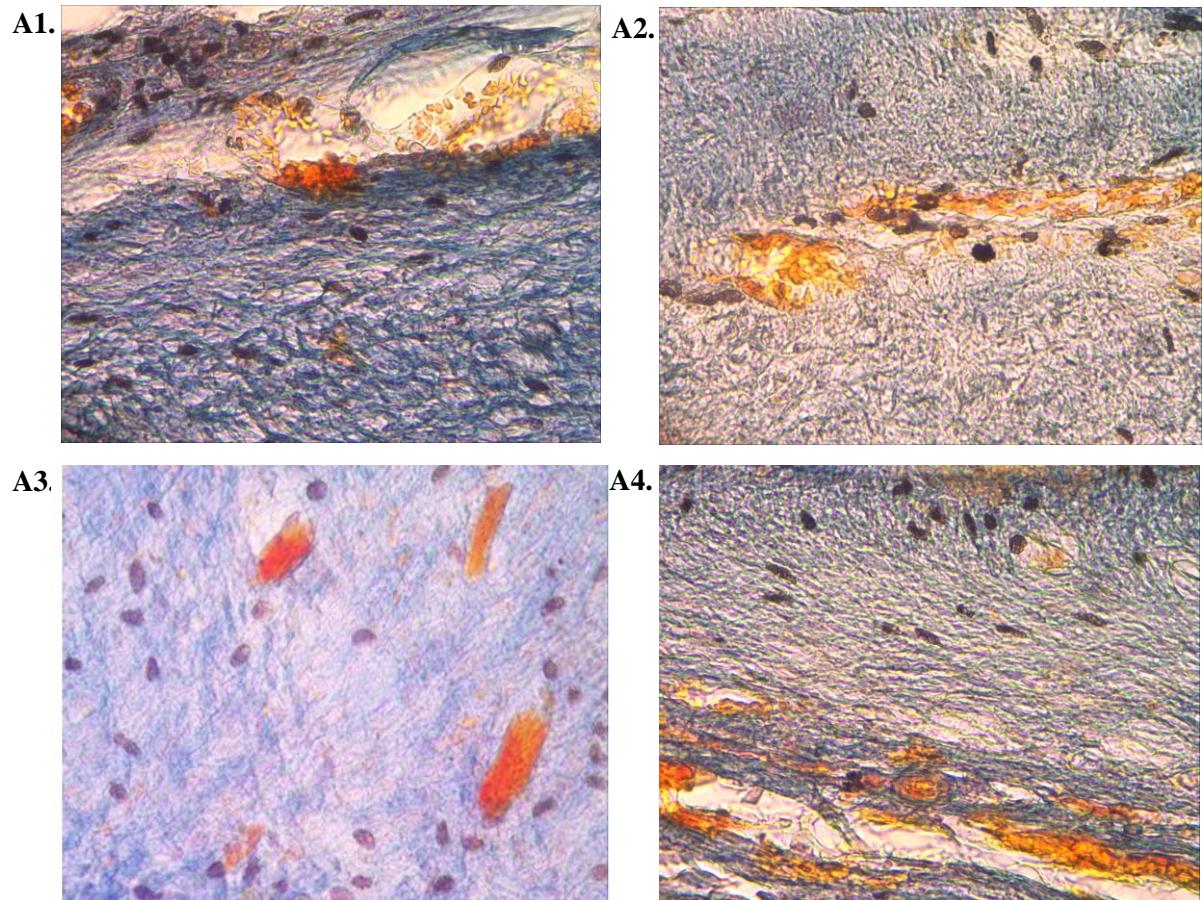
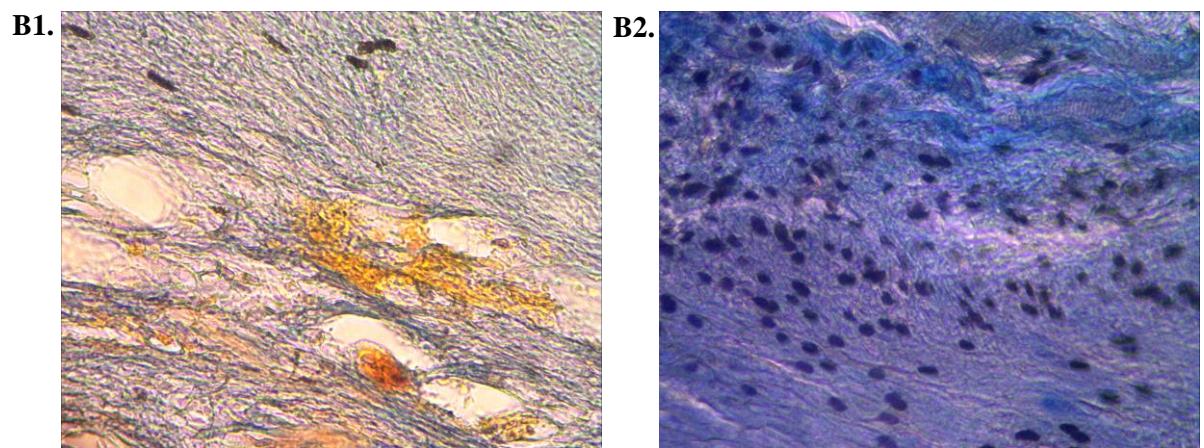
Uji LSD (Least Significance Difference)

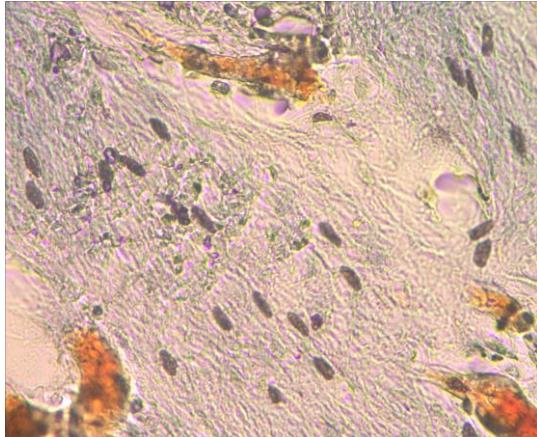
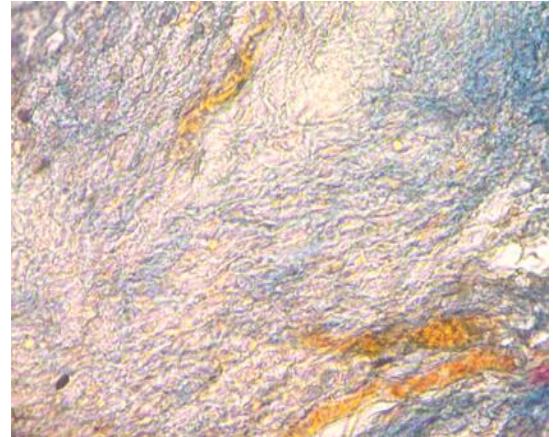
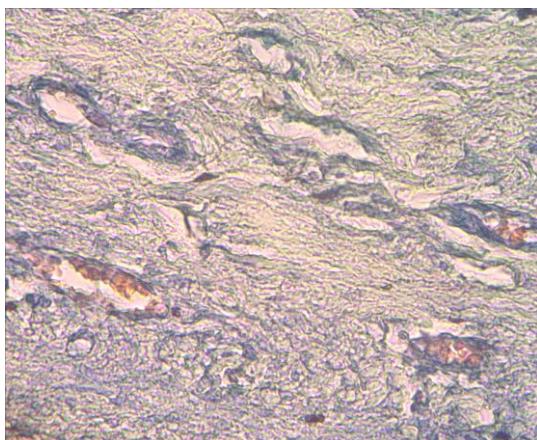
Multiple Comparisons

Kepadatan
LSD

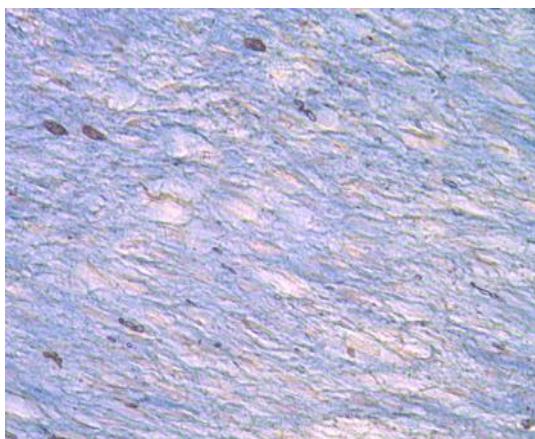
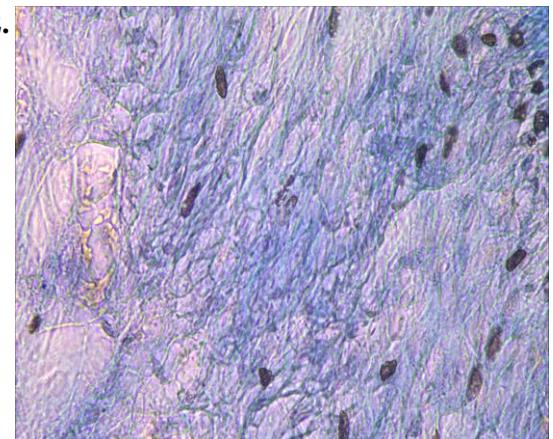
(I) Sampel	(J) Sampel	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol 2 minggu	Kopi 2 minggu	-31.32667*	4.45353	.000	-40.9479	-21.7054
	Kontrol 3 minggu	-2.99067	4.45353	.514	-12.6119	6.6306
	Kopi 3 minggu	-82.25167*	4.65761	.000	-92.3138	-72.1895
Kopi 2 minggu	Kontrol 2 minggu	31.32667*	4.45353	.000	21.7054	40.9479
	Kontrol 3 minggu	28.33600*	3.85687	.000	20.0037	36.6683
	Kopi 3 minggu	-50.92500*	4.09083	.000	-59.7627	-42.0873
Kontrol 3 minggu	Kontrol 2 minggu	2.99067	4.45353	.514	-6.6306	12.6119
	Kopi 2 minggu	-28.33600*	3.85687	.000	-36.6683	-20.0037
	Kopi 3 minggu	-79.26100*	4.09083	.000	-88.0987	-70.4233
Kopi 3 minggu	Kontrol 2 minggu	82.25167*	4.65761	.000	72.1895	92.3138
	Kopi 2 minggu	50.92500*	4.09083	.000	42.0873	59.7627
	Kontrol 3 minggu	79.26100*	4.09083	.000	70.4233	88.0987

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

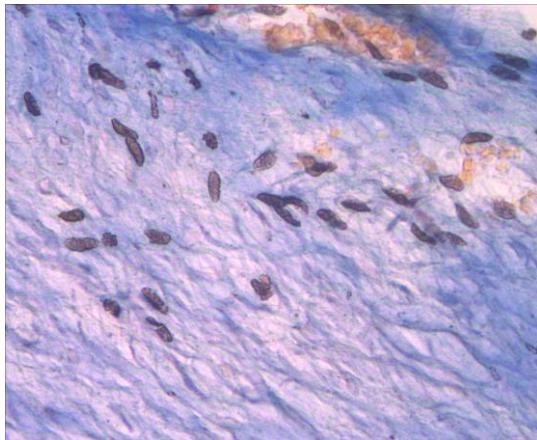
Lampiran H. Gambaran Histologis Sabut Kolagen**A. Kelompok Kontrol 2 Minggu****B. Kelompok Kontrol 3 Minggu**

B3.**B4.****B5.**

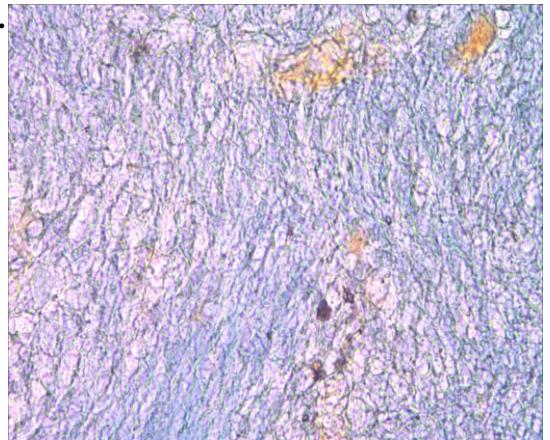
C. Kelompok Perlakuan Kopi 2 Minggu

C1.**C2.**

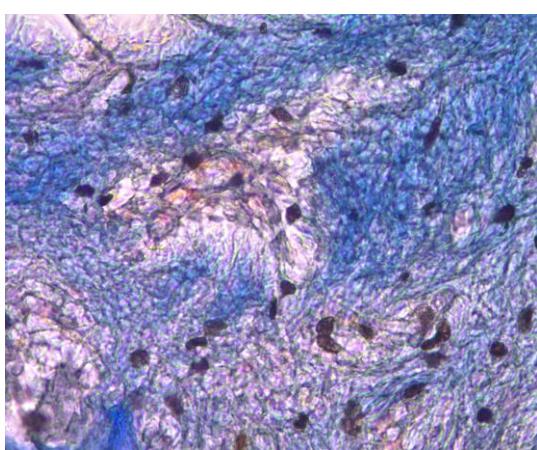
C3.



C4.

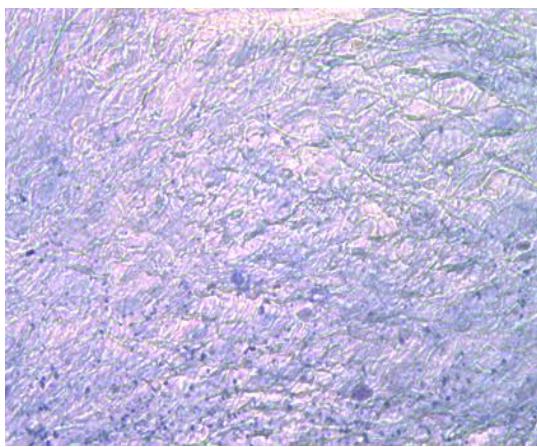


C5.

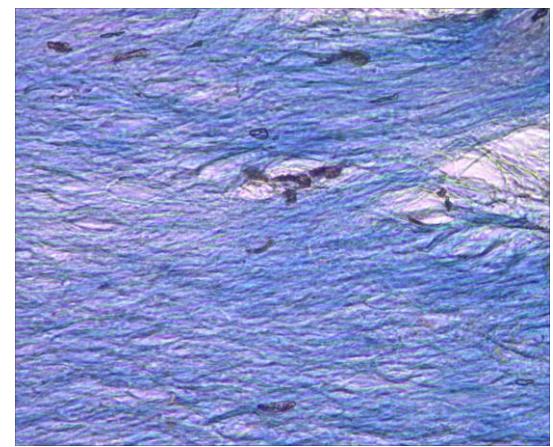


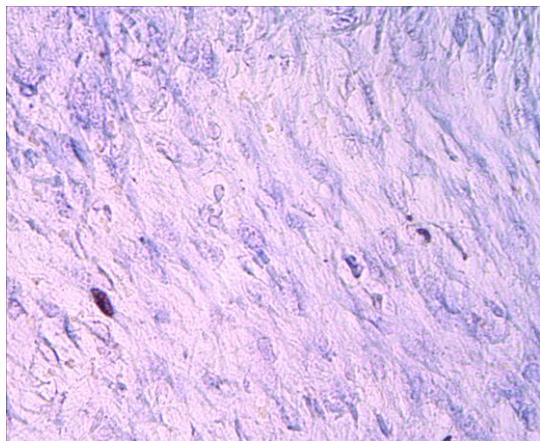
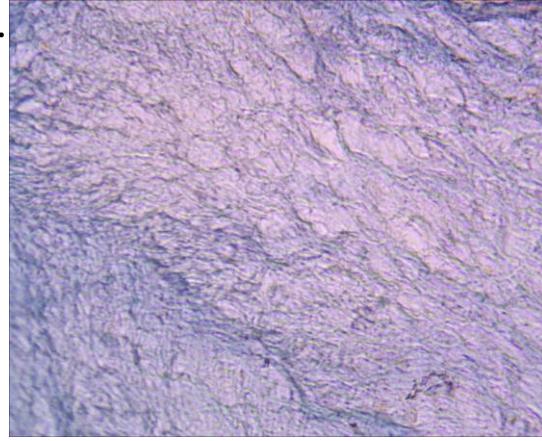
D. Kelompok Perlakuan Kopi 3 Minggu

D1.



D2.



D3.**D4.**

Lampiran I. 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



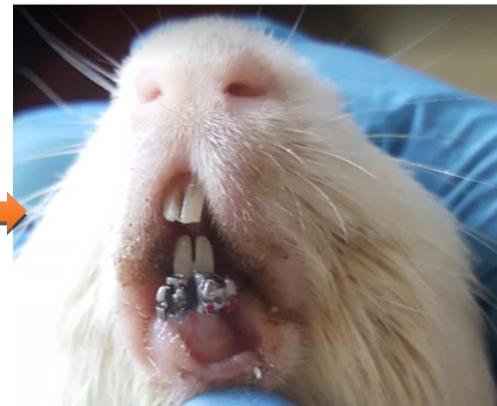
Kelompok perlakuan 3 minggu.
Jarak antar gigi insisif = 4,25 mm

Lampiran J. Tahapan Pemasangan Alat Ortodonti

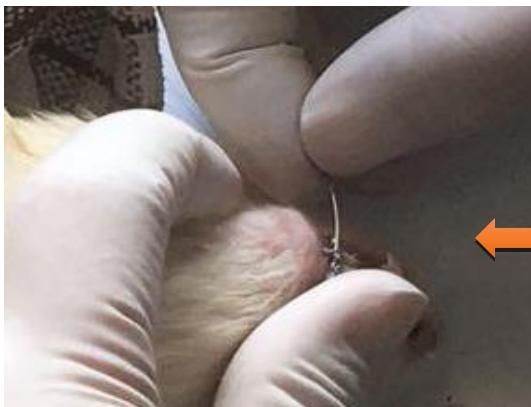
1. Inisisal gigi antagonis
marmut dipotong 2 mm



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



4. NiTi wire round 0,016 inch
dimasukan 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

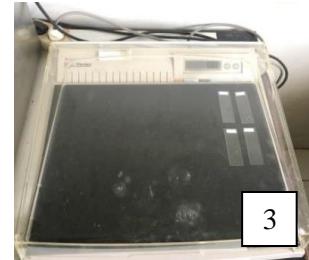
A. Bahan Penelitian



Keterangan :

1. Hewan coba marmut (*Cavia cobaya*) jantan
2. Asam formiat 10%
3. *Trychrome Mallory* 1, 2, 3 (dari kiri ke kanan)
4. *NiTi wire round*, diameter 0,016 inch
5. *Matrix band*
6. *Elastomeric O-ring*
7. *NiTi open coil springs*, diameter 0,03 inch
8. Braket ortodonti
9. *Glass ionomer type 1*

B. Alat Penelitian



Keterangan :

- | | |
|--------------------|-----------------------|
| 1. Welding machine | 6. Filling cabinet |
| 2. Waterbath | 7. Oven mermmet |
| 3. Slide warmer | 8. Mikroskop binokuer |
| 4. Mikrotom | 9. Kamera optilab |
| 5. Matrix band | |