



**POTENSI KULIT BUAH KOPI ARABIKA (*Coffea arabica L.*) DALAM
MENINGKATKAN JUMLAH MAKROFAG PASCA PENCABUTAN GIGI
PADA TIKUS WISTAR**

SKRIPSI

Oleh

Nandita Nur Afifa

NIM 161610101114

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS JEMBER

2020



**POTENSI KULIT BUAH KOPI ARABIKA (*Coffea arabica L.*) DALAM
MENINGKATKAN JUMLAH MAKROFAG PASCA PENCABUTAN GIGI
PADA TIKUS WISTAR**

SKRIPSI

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

Oleh

Nandita Nur Afifa

NIM 161610101114

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS JEMBER

2020

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan kepada:

1. Allah SWT, karena berkat rahmat dan hidayah-Nya serta atas izin dan kehendak-Nya saya dapat menyelesaikan tugas akhir ini dengan lancar
2. Kedua orang tua, Ayahanda Henry Noorveriandi, Ibunda Asri Maharani, dan Adik tersayang Adinda Nursyahira atas segala motivasi, nasehat, serta doa yang tercurahkan hingga saat ini
3. Guru-guru dari TK hingga SMA dan Dosen-dosen Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember yang telah memberikan ilmu yang sangat bermanfaat bagi penulis
4. Sahabat-sahabat yang selalu menemani dan membantu penulis dalam menyelesaikan tugas akhir ini
5. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

MOTTO

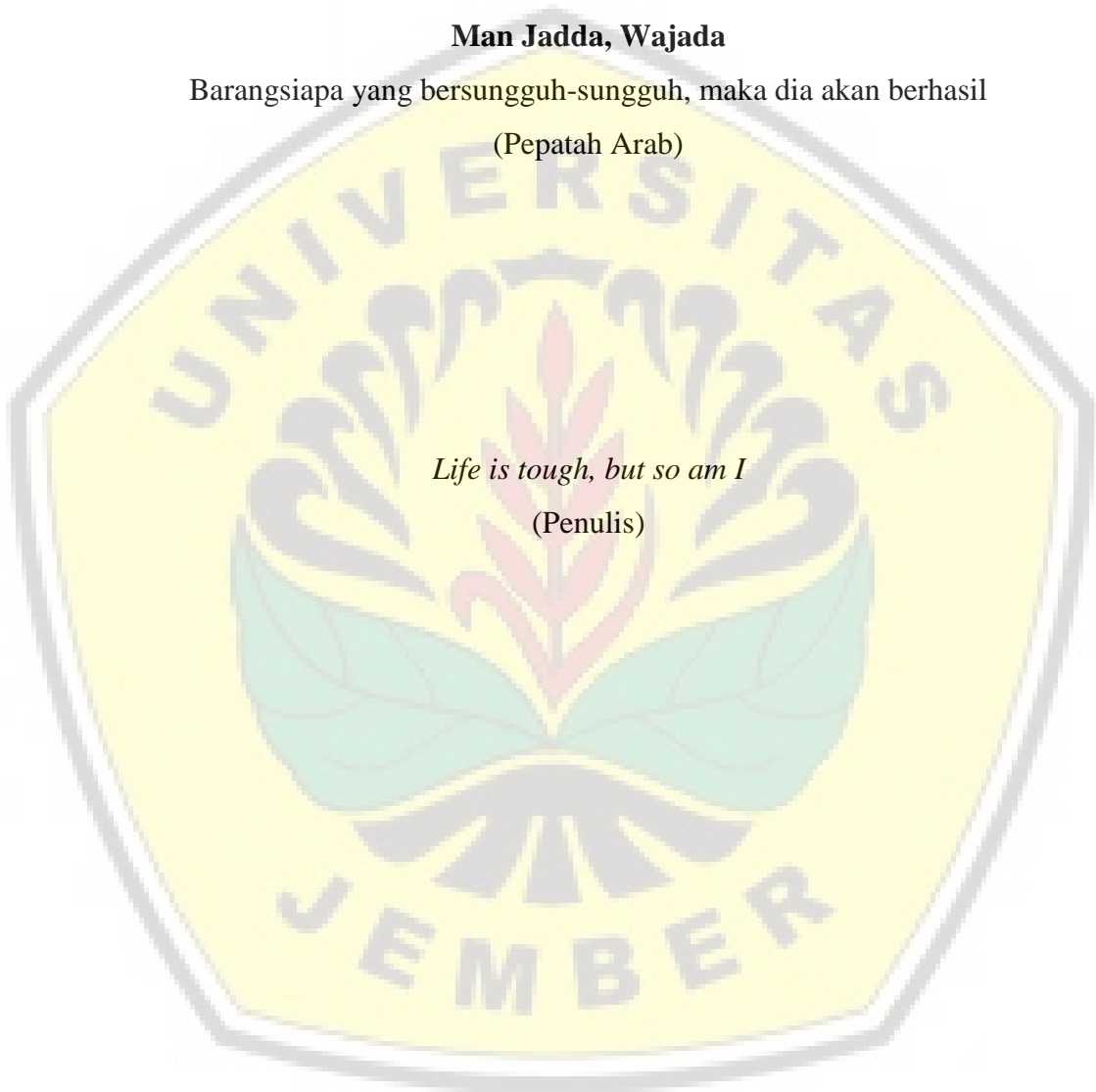
Man Jadda, Wajada

Barangsiapa yang bersungguh-sungguh, maka dia akan berhasil

(Pepatah Arab)

Life is tough, but so am I

(Penulis)



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Nandita Nur Afifa

NIM : 161610101114

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Potensi Kulit Buah Kopi Arabika (*Coffea arabica L.*) dalam Meningkatkan Jumlah Makrofag Pasca Pencabutan Gigi pada Tikus Wistar” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 10 Februari 2020

Yang menyatakan,

Nandita Nur Afifa
161610101114

SKRIPSI

**POTENSI KULIT BUAH KOPI ARABIKA (*Coffea arabica L.*) DALAM
MENINGKATKAN JUMLAH MAKROFAG PASCA PENCABUTAN GIGI
PADA TIKUS WISTAR**



Oleh

Nandita Nur Afifa

NIM 161610101114

Pembimbing :

Dosen Pembimbing Utama : drg. Agus Sumono, M.Kes

Dosen Pembimbing Anggota : Dr. drg. Tecky Indriana, M.Kes

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Potensi Kulit Buah Kopi Arabika (*Coffea arabica L.*) dalam Meningkatkan Jumlah Makrofag Pasca Pencabutan Gigi Pada Tikus Wistar” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada :

hari, tanggal : Senin, 10 Februari 2020

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Penguji Ketua

Penguji Anggota

drg. Rudy Joelijanto, M.Biomed.
NIP. 197207151998021001

Prof. Dr. drg. I Dewa Ayu Ratna D, M.Si.
NIP. 196705021997022001

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping

drg. Agus Sumono, M.Kes.
NIP. 196804012000121001

Dr. drg. Tecky Indriana, M.Kes.
NIP. 196811261997022001

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Jember

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

RINGKASAN

Potensi Kulit Buah Kopi Arabika (*Coffea arabica L.*) dalam Meningkatkan Jumlah Makrofag Pasca Pencabutan Gigi pada Tikus Wistar; Nandita Nur Afifa; 161610101114; 2020; 68 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Pencabutan gigi adalah suatu proses pengeluaran gigi dari tulang alveolar karena pada gigi tersebut sudah tidak dapat dilakukan perawatan lagi. Pencabutan gigi bersifat *irreversible* dan terkadang menimbulkan komplikasi. Pencabutan gigi dapat menyebabkan luka jaringan keras dan jaringan lunak rongga mulut yang kemudian mengalami proses penyembuhan. Penyembuhan luka merupakan suatu proses dinamis yang terdiri dari 4 fase yang terintegrasi, yaitu fase hemostasis, fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase maturasi (*remodeling*). Salah satu sel yang berperan dalam proses penyembuhan luka adalah sel makrofag. Makrofag merupakan salah satu sel pada garis pertahanan pertama sistem imun *innate* terhadap mikroorganisme dan berperan penting untuk mengontrol infeksi bakteri. makrofag juga melepaskan *growth factor* dan sitokin yang kemudian menarik sel-sel yang berperan dalam fase proliferasi ke lokasi luka. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi kulit buah kopi Arabika dalam meningkatkan jumlah sel makrofag pasca pencabutan gigi pada tikus Wistar.

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian yang digunakan adalah *post test only control group design*. Sampel penelitian berjumlah 32 ekor tikus wistar jantan yang dibagi dalam 2 kelompok yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Masing-masing kelompok terdiri dari 16 ekor tikus dan tiap kelompok dibagi menjadi 4 subkelompok yang terdiri dari 4 ekor tikus. Hewan coba dianestesi general dengan injeksi ketamin disekitar paha, kemudian dilakukan pencabutan gigi molar satu bawah kiri dan diberi kulit buah kopi Arabika yang dilarutkan kedalam air secara intragastrik menggunakan sonde lambung sesuai dengan dosis yang telah ditentukan, satu kali sehari selama 1 hari, 3 hari, 5 hari, dan 7 hari. Kemudian hewan

coba didekaputasi dan diambil jaringan rahang bekas pencabutan untuk dilakukan perosesan jaringan. Selanjutnya dilakukan pengamatan dengan menggunakan mikroskop binokuler dengan perbesaran 400X untuk menghitung sel makrofag.

Data hasil penelitian dianalisis menggunakan uji normalitas menggunakan uji *Shapiro-Wilk* dan menunjukkan data berdistribusi normal. Selanjutnya uji homogenitas menggunakan uji *Levene* dengan hasil yang didapat yaitu data bersifat homogen. Hasil data berdistribusi normal dan homogen, maka dilanjutkan menggunakan uji statistik parametrik yaitu uji *One-way ANOVA* dengan tingkat kepercayaan 95%. Kemudian dilanjutkan dengan uji *post hoc Least Significant Difference* dan didapat hasil rata-rata jumlah sel makrofag mengalami peningkatan yang signifikan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan

Hasil penelitian menunjukkan adanya makrofag pada kelompok kontrol K1 dan mengalami peningkatan pada kelompok kontrol K3, akan tetapi mengalami penurunan pada kelompok kontrol K5 dan kelompok kontrol K7. Hal ini sesuai dengan teori bahwa pada saat terjadi luka, sel makrofag akan muncul pada hari ke-1 dan meningkat hingga mengalami puncak pada hari ke-3. Kemudian, pada hari ke-5 terjadi penurunan menunjukkan bahwa proses inflamasi telah banyak berkurang. Sedangkan pada kelompok perlakuan, jumlah sel makrofag mengalami peningkatan yang signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol pada keempat kelompok. Berdasarkan pernyataan tersebut diduga karena adanya kandungan kulit buah kopi Arabika (*Coffea arabica L.*) diantaranya yaitu asam klorogenat, kafein, dan polifenol yang mampu meningkatkan jumlah sel makrofag sehingga dapat mempercepat proses penyembuhan luka pasca pencabutan.

Kesimpulan yang didapatkan dari hasil penelitian adalah pemberian kulit buah kopi Arabika (*Coffea arabica L.*) dapat meningkatkan jumlah sel makrofag pasca pencabutan gigi pada tikus Wistar.

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Potensi Kulit Buah Kopi Arabika (*Coffea arabica L.*) dalam Meningkatkan Jumlah Makrofag Pasca Pencabutan Gigi pada Tikus Wistar”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

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

1. Allah SWT, karena berkat rahmat dan hidayah-Nya serta atas izin dan kehendak-Nya penulis diberi kesehatan jasmani dan rohani, kesabaran, ketabahan, serta kekuatan untuk menyelesaikan skripsi ini;
2. Nenek tercinta, Siswendah Harini yang selalu mendampingi dan membantu dalam hal apapun;
3. Orang tua tercinta, Ayahanda Henry Noorveriandi dan Ibunda Asri Maharani, serta adik tersayang Adinda Nursyahira, yang tidak berhenti memberikan segala macam dukungan, kasih sayang dan doa, serta menjadi sesosok panutan bagi penulis;
4. drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes., Sp.Pros., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
5. drg. Agus Sumono, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Utama dan Dr. drg. Tecky Indriana, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah meluangkan waktu dalam memberikan bimbingan dan motivasi dengan penuh kesabaran layaknya orang tua bagi penulis di Jember sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
6. drg. Rudy Joelijanto, M.Biomed., selaku Dosen Penguji Ketua dan Prof. Dr. drg. I Dewa Ayu Ratna Dewanti, M.Si., selaku Dosen Penguji Anggota yang telah memberikan kritik dan saran demi kesempurnaan skripsi ini.

7. Dr. drg. Didin Erma Indahyani, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan bimbingan dan motivasi dalam perjalanan studi selama penulis menjadi mahasiswa;
8. Bu Wahyu selaku staf Laboratorium Histologi dan Mas Agus selaku staf Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
9. Teman-teman satu proyekan, Diska Fitri Amalia, Ria Inawati dan Dara Kartika yang telah berjuang bersama dan saling memberikan motivasi hingga skripsi ini terselesaikan;
10. Seluruh teman-teman DEXTRA 2016 atas kerja sama dan kekeluargaan yang terjalin diantara kita selama ini;
11. Teman-teman KKN 309 Sucopangepok Adink, Firman, Rida, Rury, Vivi, Orchid, Diah dan Safila yang telah memberikan dukungan dan doa untuk penulis;
12. Teman-teman baik, Raquel Ananda, Dara Kartika dan Annisa Syifa yang selalu membuat tawa dan suka ceria selama proses pengerjaan skripsi ini;
13. Adink Rakhmat yang telah mencurahkan segala macam dukungan serta motivasi kepada penulis dalam menyusun skripsi ini;
14. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu per satu.

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

Jember, 10 Februari 2020

Penulis

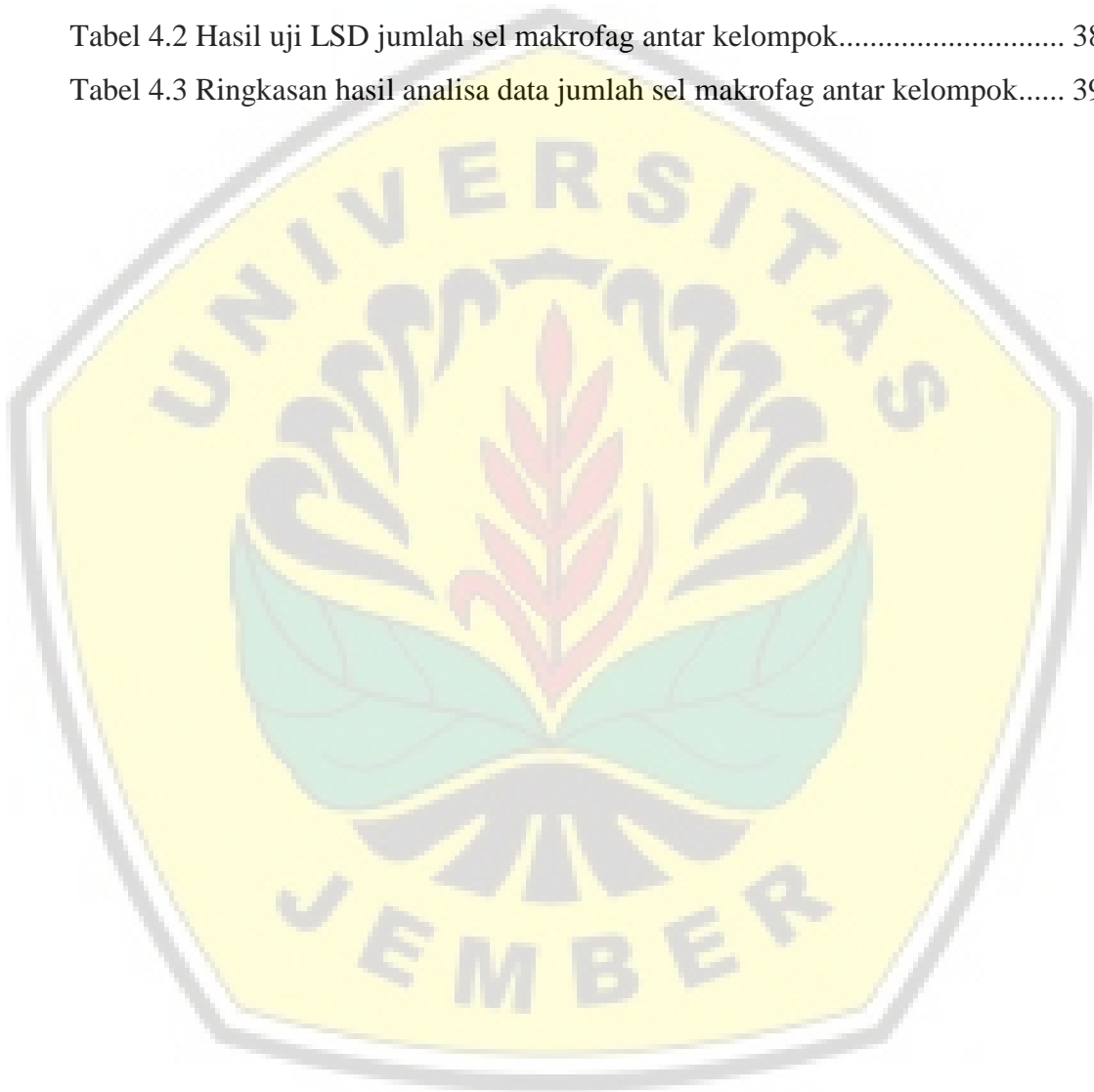
DAFTAR ISI

HALAMAN COVER	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	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Pencabutan Gigi	5
2.1.1 Indikasi dan Kontraindikasi Pencabutan Gigi	6
2.2 Proses Penyembuhan Luka	10
2.2.1 Fase Hemostasis dan Koagulasi	10
2.2.2 Fase Inflamasi	11
2.2.3 Fase Proliferasi	12
2.2.4 Fase Maturasi (Fase Remodeling)	12
2.3 Faktor yang Mempengaruhi Proses Penyembuhan Luka	13
2.4 Sel Makrofag	14
2.5 Kopi Arabika (<i>Coffea arabica L.</i>)	16
2.5.1 Deskripsi Kopi Arabika (<i>Coffea arabica L.</i>)	16
2.5.2 Kandungan Kulit Kopi Arabika (<i>Coffea arabica L.</i>)	17
2.5.3 Manfaat Kandungan Kulit Kopi Arabika (<i>Coffea arabica L.</i>) Terhadap Penyembuhan Luka	18
2.6 Kerangka Konsep Penelitian	21
2.7 Keterangan Kerangka Konsep Penelitian	22
2.8 Hipotesis	22

BAB 3. METODE PENELITIAN	23
3.1 Jenis Penelitian	23
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	23
3.2.1 Tempat Penelitian.....	23
3.2.2 Waktu Penelitian	23
3.3 Variabel Penelitian	23
3.3.1 Variabel Bebas	23
3.3.2 Variabel Terikat	23
3.3.3 Variabel Terkendali.....	23
3.4 Definisi Operasional Penelitian	24
3.4.1 Kulit Kopi Arabika.....	24
3.4.2 Pencabutan Gigi	24
3.4.3 Sel Makrofag.....	24
3.5 Sampel, Besar Sampel, dan Kriteria Sampel Penelitian	24
3.5.1 Sampel.....	24
3.5.2 Besar Sampel.....	24
3.5.3 Kriteria Sampel	25
3.6 Alat dan Bahan	25
3.6.1 Alat.....	25
3.6.2 Bahan.....	26
3.7 Konversi Penghitungan Dosis	26
3.7.1 Dosis Bubuk Kulit Kopi Arabika	26
3.7.2 Dosis Ketamin.....	27
3.8 Prosedur Penelitian	27
3.8.1 Identifikasi Tanaman dan Pembuatan Kode Etik.....	27
3.8.2 Persiapan Hewan Coba	27
3.8.3 Pembuatan Bubuk Kulit Kopi Arabika (<i>Coffea arabika L.</i>)	27
3.8.4 Pengelompokan dan Perlakuan Hewan Coba	28
3.8.5 Tahap Pembuatan Sediaan	29
3.8.6 Tahap Pengamatan dan Perhitungan Jumlah Sel Makrofag.....	32
3.8.7 Analisis Data	32
3.8.8 Alur Penelitian	33
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	34
4.1 Hasil Penelitian	34
4.2 Analisis Data	38
4.3 Pembahasan	39
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	42
5.1 Kesimpulan	42
5.2 Saran	42
DAFTAR PUSTAKA	43

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kandungan kulit kopi arabika	18
Tabel 4.1 Nilai rata-rata (mean) dan standart deviasi (SD)	36
Tabel 4.2 Hasil uji LSD jumlah sel makrofag antar kelompok.....	38
Tabel 4.3 Ringkasan hasil analisa data jumlah sel makrofag antar kelompok.....	39



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Gambaran Histologi Sel Makrofag	16
Gambar 2.2 Struktur buah kopi	17
Gambar 2.3 Struktur Asam Klorogenat	19
Gambar 2.4 Rumus kimia kafein	20
Gambar 4.1 Gambaran histologis soket gigi perbesaran 1000X	34
Gambar 4.2 Gambaran histologis kelompok kontrol hari ke-1 perbesaran 400X.	35
Gambar 4.3 Gambaran histologis kelompok kontrol hari ke-3 perbesaran 400X.	35
Gambar 4.2 Gambaran histologis kelompok kontrol hari ke-5 perbesaran 400X.	36
Gambar 4.2 Gambaran histologis kelompok kontrol hari ke-7 perbesaran 400X.	36
Gambar 4.2 Histogram rata-rata jumlah sel makrofag.....	37
Gambar 4.3 Diagram garis rata-rata jumlah sel makrofag.....	37

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran A. Perhitungan Besar Sampel.....	50
Lampiran B. Tabel Konversi Dosis.....	511
Lampiran C. Dosis Bubuk Kulit Buah Kopi Arabika	522
Lampiran D. Dosis Ketamin	533
Lampiran E. Surat Identifikasi Tanaman	544
Lampiran F. Kode Etik.....	555
Lampiran G. Alat dan Bahan	566
Lampiran H. Gambar Perlakuan Hewan Coba.....	60
Lampiran I. Gambaran Histologi	611
Lampiran J. Hasil Perhitungan Sel Makrofag.....	644
Lampiran K. Analisis Data.....	666

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pencabutan gigi adalah suatu proses pengeluaran gigi dari tulang alveolar karena pada gigi tersebut sudah tidak dapat dilakukan perawatan lagi. Pencabutan gigi bersifat *irreversible* dan terkadang menimbulkan komplikasi. Gigi dicabut karena beberapa alasan, salah satunya adalah karies. Karies gigi merupakan penyakit jaringan gigi yang ditandai dengan kerusakan jaringan, dimulai dari permukaan gigi (*pit, fissure* dan daerah interproximal) meluas ke arah pulpa. Pulpa yang terinfeksi akan menyebabkan terjadinya pulpitis yang lama kelamaan dapat mengakibatkan kematian pulpa karena gangren pulpa. Infeksi dari gangren pulpa akan meluas keluar dari foramen apikal menuju ke arah periapikal menyebabkan lesi di daerah periapikal. Karies yang meluas dan tidak dirawat dapat mengakibatkan hilangnya mahkota gigi sepenuhnya dan menyisakan akar sehingga perlu dilakukan pencabutan gigi (Heiserman, 2006).

Pencabutan gigi dapat menyebabkan luka jaringan keras dan jaringan lunak rongga mulut yang kemudian mengalami proses penyembuhan. Penyembuhan luka merupakan suatu proses dinamis yang terdiri dari 4 fase yang terintegrasi, yaitu fase hemostasis, fase inflamasi, fase proliferasi dan fase maturasi (*remodeling*). Keempat fase ini serta fungsi biofisiologisnya dapat terjadi dalam suatu rangkaian, pada waktu dan durasi yang spesifik serta berlanjut dengan intensitas yang optimal. Pada fase hemostasis terjadi reaksi vasokonstriksi yang bertujuan untuk menghentikan perdarahan pada luka serta pada saat yang bersamaan terjadi reaksi inflamasi untuk membuang jaringan rusak dan mencegah infeksi bakteri. Reaksi inflamasi merupakan respon awal tubuh terhadap stimulus yang berbahaya, dimulai segera setelah terjadinya trauma sampai hari ke-3 pasca trauma. Inflamasi ini terjadi dengan meningkatnya leukosit dalam darah pada jaringan luka sehingga tubuh dapat mempertahankan diri dari berbagai bahaya yang mengganggu keseimbangan dan dapat memperbaiki kerusakan struktur serta gangguan fungsi jaringan. Pada fase inflamasi terjadi infiltrasi neutrofil dan infiltrasi monosit yang kemudian

berdiferensiasi menjadi makrofag (Kumar, et al, 2007). Selanjutnya yaitu fase proliferasi berlangsung mulai hari ke-3 hingga hari ke-14 pasca trauma dan puncaknya pada hari ke-7 yang ditandai dengan pergantian matriks provisional yang didominasi oleh platelet dan makrofag secara bertahap digantikan oleh migrasi sel fibroblas dan deposisi sintesis matriks ekstraselular. Fase terakhir adalah fase maturasi (*remodeling*) yang bertujuan untuk memaksimalkan kekuatan dan integritas struktural jaringan baru pengisi luka, pertumbuhan epitel dan pembentukan jaringan parut (T Velnar, 2009).

Makrofag adalah sel yang berperan penting dalam sistem imunitas tubuh melawan patogen dan membantu proses penyembuhan luka (Haas, 2007). Makrofag berasal dari sel prekursor dari sumsum tulang, dari promonosit yang akan membelah menghasilkan monosit yang beredar dalam darah. Monosit yang telah meninggalkan sirkulasi darah akan mengalami perubahan-perubahan untuk kemudian menetap di jaringan inflamasi sebagai makrofag. Sel monosit dalam darah akan teraktivasi dan menjadi makrofag yang berperan dalam tahap inflamasi penyembuhan luka. Sel makrofag memiliki sifat fagositik yang bertujuan untuk mengeliminasi sel dan matrik yang rusak, netrofil yang penuh dengan patogen, benda asing dan sisa bakteri yang masih tersisa (Christina *et al*, 2016). Peran dari sel makrofag sangat mempengaruhi proses penyembuhan luka. Apabila jumlah sel makrofag kurang, maka proses penyembuhan menjadi terhambat sehingga membutuhkan waktu yang cukup lama. Dengan demikian diperlukan suatu bahan alternatif untuk mengatasi hal tersebut. Obat dengan bahan kimia saat ini mulai diminimalisir karena dapat menimbulkan efek negatif bagi tubuh, sehingga pengobatan dengan tanaman menjadi jalan keluar, salah satunya adalah tanaman kopi (Rajan dan Murray, 2008).

Tanaman kopi memiliki berbagai macam jenis, namun dua spesies kopi yang paling sering dibudidayakan dan memberikan nilai paling ekonomis yaitu *Coffea arabica* yang dikenal sebagai kopi Arabika dan *Coffea canephora* atau kopi Robusta. Kopi Arabika dan Robusta memiliki perbedaan diantaranya iklim ideal untuk tumbuh, aspek fisik, dan komposisi kimia (Farah, 2012). Kandungan polifenol pada kopi Arabika lebih tinggi dibandingkan dengan kopi Robusta

(Mullen *et al.*, 2013). Selain itu, menurut Farhaty (2014), kopi Arabika diduga menghasilkan rasa yang lebih unggul serta aroma yang lebih baik dibandingkan dengan kopi jenis lainnya, sehingga kopi Arabika menjadi kopi yang paling banyak dikonsumsi di seluruh dunia yaitu sekitar 70% (Rahardjo, 2017). Menurut penelitian yang dilakukan Masruri (2019) membuktikan bahwa kandungan kulit buah kopi Arabika yaitu flavonoid dan tanin mampu meningkatkan TGF- β yang dapat menginduksi migrasi sel fibroblas. Kandungan asam klorogenat pada kulit buah kopi Arabika juga berperan dalam merangsang makrofag untuk mengeluarkan *growth factors* sehingga dapat mempercepat proses penyembuhan luka.

Kopi memiliki beberapa bagian yaitu lapisan kulit luar (*exocarp*), lapisan daging (*mesocarp*), lapisan kulit tanduk (*endocarp*), kulit ari, dan biji. Akan tetapi, bagian kulit buah (*exocarp*) kopi selama ini dibuang begitu saja dan menjadi limbah. Limbah tersebut belum dimanfaatkan secara optimal, namun terdapat penelitian menunjukkan bahwa limbah kulit buah kopi dapat dijadikan pakan ternak dan pupuk kompos (Azmi, 2006; Goueva *et al.*, 2009). Kulit buah kopi mengandung banyak zat aktif di dalamnya seperti polifenol, asam klorogenat, dan kafein. Berdasarkan uraian di atas, peneliti tertarik untuk meneliti lebih lanjut mengenai potensi kulit buah kopi Arabika terhadap jumlah sel makrofag pasca pencabutan gigi pada tikus Wistar.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah kulit buah kopi Arabika (*Coffea arabica L.*) berpotensi dalam meningkatkan jumlah sel makrofag pasca pencabutan gigi pada tikus Wistar?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian yang dilakukan adalah sebagai berikut :

1. Tujuan Umum :

Mengetahui potensi kulit buah kopi Arabika (*Coffea arabica L.*) dalam meningkatkan jumlah sel makrofag pasca pencabutan gigi pada tikus Wistar.

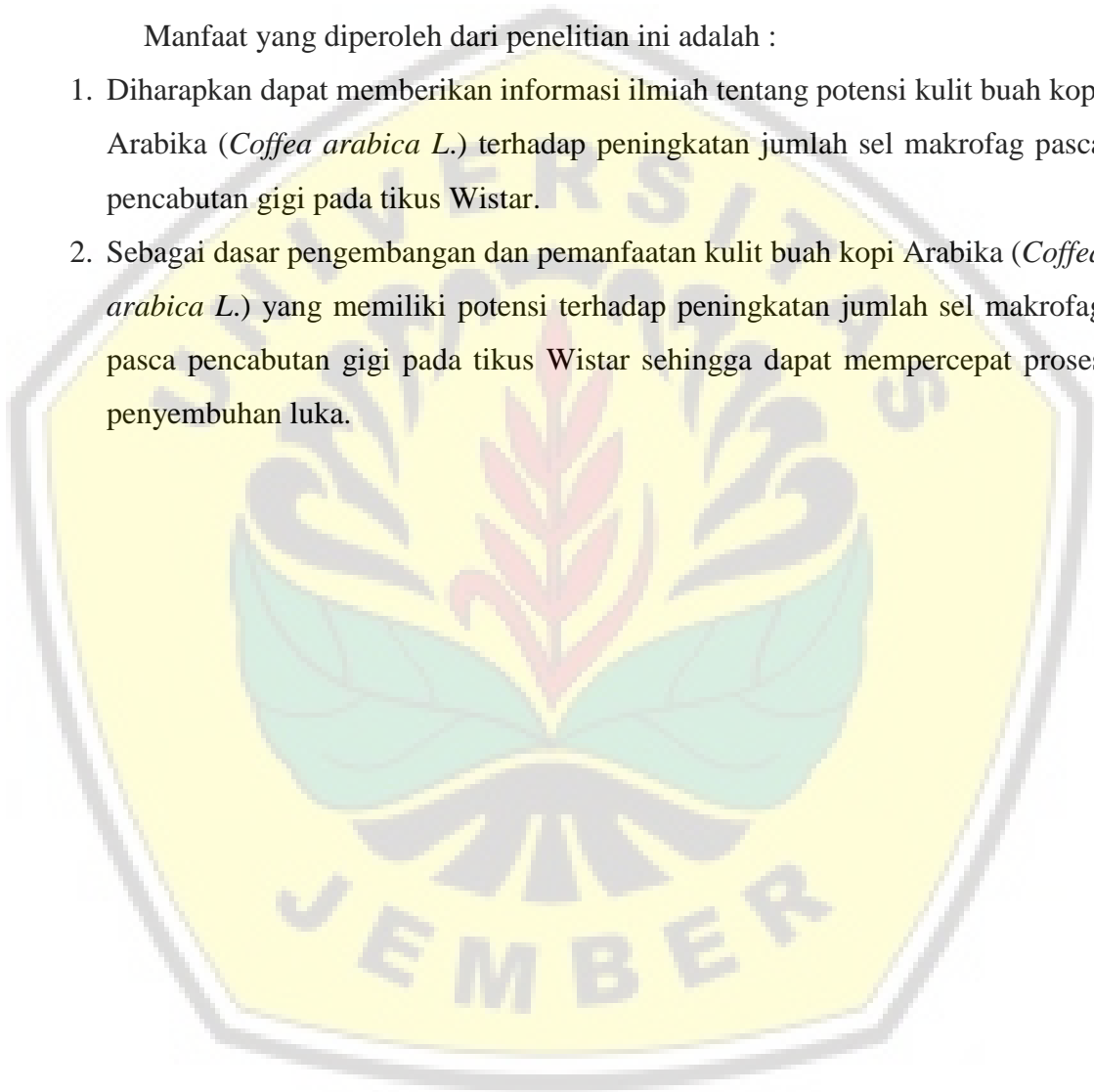
2. Tujuan Khusus :

Mengetahui peningkatan jumlah sel makrofag pasca pencabutan gigi pada tikus Wistar.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diperoleh dari penelitian ini adalah :

1. Diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah tentang potensi kulit buah kopi Arabika (*Coffea arabica L.*) terhadap peningkatan jumlah sel makrofag pasca pencabutan gigi pada tikus Wistar.
2. Sebagai dasar pengembangan dan pemanfaatan kulit buah kopi Arabika (*Coffea arabica L.*) yang memiliki potensi terhadap peningkatan jumlah sel makrofag pasca pencabutan gigi pada tikus Wistar sehingga dapat mempercepat proses penyembuhan luka.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pencabutan Gigi

Pencabutan gigi merupakan tindakan mengeluarkan gigi dari soket tulang alveolar (Rahman *et al*, 2017). Pencabutan gigi termasuk tindakan bedah minor pada bidang kedokteran gigi yang melibatkan jaringan keras dan jaringan lunak pada rongga mulut (Gordon, 2013). Prinsip dari pencabutan gigi yaitu mengeluarkan suatu gigi yang utuh atau sisa akar tanpa menyebabkan rasa sakit dan trauma. Pada tindakan pencabutan gigi harus memerhatikan keadaan lokal maupun keadaan umum penderita dan memastikan penderita dalam keadaan sehat (Chandra, 2014).

Seluruh rencana perawatan pada tindakan pencabutan gigi harus didasari dengan ketelitian dalam memeriksa keadaan umum pasien sebelum melakukan tahap perawatan. Dalam melakukan tindakan pencabutan gigi akan dijumpai beberapa masalah kesehatan yang sama dan terdapat pada masing-masing pasien pencabutan gigi. Hal demikian yang akan menjadi faktor resiko terjadinya komplikasi pencabutan gigi. Beberapa faktor resiko yang biasanya menjadi penyebab komplikasi pencabutan gigi antara lain penyakit sistemik, umur pasien, keadaan akar gigi, dan adanya gangguan pada sendi temporomandibula (Lande R, 2015).

Pengetahuan yang mendalam tentang teknik-teknik pencabutan gigi mutlak diketahui dalam melakukan tindakan pencabutan khususnya dengan jalan pembedahan, agar dapat mencegah atau mengurangi terjadinya komplikasi yang tidak diinginkan. Selain itu, perawatan pasca pencabutan juga merupakan suatu hal yang penting agar prosedur pencabutan gigi yang dilakukan berhasil dengan baik dan sempurna. Tujuan dari ekstraksi gigi harus diambil untuk alasan terapeutik atau kuratif (Heiserman, 2006).

2.1.1 Indikasi dan Kontraindikasi Pencabutan Gigi

2.1.1.1 Indikasi Pencabutan Gigi

Gigi perlu dicabut untuk berbagai alasan, misalnya karena sakit gigi itu sendiri, sakit pada gigi yang mempengaruhi jaringan di sekitarnya, atau letak gigi yang salah. Dibawah ini adalah beberapa contoh indikasi dari pencabutan gigi: (Robinson D. Paul, 2005)

1. Gigi dengan patologis pulpa, baik akut ataupun kronik, yang tidak mungkin dilakukan terapi endodontik harus dicabut.
2. Gigi dengan karies yang besar, baik dengan atau tanpa penyakit pulpa atau periodontal yang sudah tidak dapat dilakukan perawatan restorasi.
3. Gigi dengan kondisi sisa akar. Sisa akar merupakan keadaan hilangnya mahkota gigi oleh karena karies yang telah menghancurkan email gigi sehingga hanya tersisa akar gigi. Sisa akar gigi tidak baik untuk rahang, gusi dan juga kesehatan lainnya. Sisa akar gigi memicu pertumbuhan bakteri yang dapat menyerang jaringan dan pembuluh darah sehingga menyebabkan beberapa penyakit seperti radang gusi, kista, tumor dan lain sebagainya.
4. Penyakit periodontal yang terlalu parah untuk dilakukan perawatan merupakan indikasi pencabutan gigi.
5. Gigi malposisi dan *overeruption*.
6. Gigi impaksi dalam *denture bearing area* harus dicabut sebelum dilakukan pembuatan protesa.
7. Gigi yang mengalami trauma harus dicabut untuk mencegah kehilangan tulang yang lebih besar lagi.
8. Beberapa gigi yang terdapat pada garis fraktur rahang harus dicabut untuk meminimalisasi kemungkinan infeksi, penyembuhan yang tertunda atau tidak menyatunya rahang.
9. Tipe dan desain protesa gigi yang membutuhkan satu atau beberapa gigi yang sehat untuk dilakukan pencabutan sehingga dapat dihasilkan protesa yang diharapkan.
10. Gigi yang akan dilakukan perawatan ortodontik demi kepentingan estetika dan *oral hygiene*.

2.1.1.2 Kontraindikasi Pencabutan Gigi

Pada beberapa keadaan, pencabutan gigi tidak boleh dilakukan atau memerlukan penanganan awal terlebih dahulu sebelum dilakukan pencabutan gigi. Keadaan tersebut disebut sebagai kontraindikasi pencabutan gigi. Kontraindikasi pencabutan gigi dibagi menjadi 2, yaitu sistemik dan lokal.

a. Kontraindikasi sistemik

1. Penyakit medis yang tidak terkontrol dapat diperhatikan sebagai kontraindikasi pencabutan gigi. Seperti hipertensi, *coronary artery disease*, kelainan jantung, anemia parah, leukemia, dan blood dyscrasias, seperti hemofili membutuhkan manajemen medis yang tepat sebelum pencabutan gigi dapat dilakukan.
2. Pasien yang terlalu muda dan terlalu tua membutuhkan perhatian lebih. Umumnya, pasien yang terlalu muda dapat memiliki masalah dalam penggunaan sedasi atau anestesi umum. Sedangkan yang terlalu tua memiliki masalah dalam nutrisi, penyembuhan, dan sikap kooperatif pasien.
3. Penyakit kronik seperti diabetes, nefritis, dan hepatitis dapat menyulitkan pencabutan gigi, karena dapat menghasilkan infeksi jaringan, penyembuhan yang tidak sempurna dan penyakitnya yang semakin memburuk.
4. Neuroses dan psychoses merupakan kontraindikasi yang cenderung menyulitkan perawatan dental.
5. Kehamilan merupakan kondisi fisiologis normal dan tidak diperhatikan sebagai kontraindikasi bagi pencabutan gigi kecuali terdapat beberapa komplikasi. Umumnya kehamilan trimester tengah merupakan waktu yang tepat untuk dilakukan prosedur dental. Akan tetapi setelah dilakukan konsultasi obstetric yang tepat, pencabutan gigi dapat dilakukan pada tahap kehamilan manapun (Lande R, 2015).

b. Kontraindikasi lokal

1. Radang akut. Keradangan akut dengan selulitis, terlebih dahulu keradangannya harus dikontrol untuk mencegah penyebaran yang lebih luas
2. Infeksi akut misalnya perikoronitis akut. Penyakit ini sering terjadi pada saat gigi molar ketiga rahang bawah yang erupsi terlebih dahulu
3. *Malignancy oral*. Adanya penyakit keganasan seperti kanker, tumor, dan lain sebagainya. Hal ini dikhawatirkan proses pencabutan akan menyebabkan pertumbuhan lebih cepat dari keganasan itu. Sehingga luka bekas pencabutan gigi sulit sembuh sehingga keganasannya harus diatasi terlebih dahulu
4. Gigi yang masih dapat dirawat/dipertahankan dengan perawatan konservasi, endodontik dan sebagainya.

2.1.2 Prinsip Pencabutan Gigi

1. Asepsis: bebas dari mikroorganisme patogen, baik dari rongga mulut, operator, alat dan bahan.
2. Atraumatik: prosedur pencabutan gigi yang terencana dan pemilihan teknik pencabutan yang tepat akan mengurangi risiko komplikasi pasca pencabutan gigi.
3. Anestesi: bahan anestesi, metode anestesi, dan pemilihan lokasi anestesi yang tepat.

2.1.3 Komplikasi Pencabutan Gigi

Meskipun tindakan pencabutan telah dilakukan dengan hati-hati, komplikasi pencabutan dapat saja terjadi dan tidak dapat dihindari. Komplikasi pencabutan ini dapat terjadi pada saat pencabutan dan pada periode pasca pencabutan. Komplikasi pencabutan gigi antara lain: (Lander R, 2015)

1. Perdarahan yang berlebihan

Perdarahan berlebihan merupakan komplikasi pasca pencabutan gigi.

Oleh karena itu, anamnesis harus dilakukan secara cermat untuk mengungkap adanya riwayat perdarahan sebelum melakukan pencabutan gigi, dikarenakan kemungkinan adanya gangguan pembekuan darah yang diderita pasien.

2. Rasa sakit

Rasa sakit merupakan perasaan emosional dan sensori yang tidak menyenangkan dan berhubungan dengan kerusakan jaringan yang nyata (Lund, 1999). Rasa sakit dapat diakibatkan trauma jaringan keras karena terkena instrument atau bor yang terlalu panas selama pembuangan tulang. Dengan pencegahan secara teknis melalui irigasi dan menghaluskan tepi tulang tajam dengan *bone file* serta membersihkan soket tulang setelah pencabutan dapat menghilangkan kemungkinan penyebab rasa sakit pasca pencabutan gigi.

3. Fraktur

Fraktur yang dapat terjadi pada saat pencabutan gigi antara lain fraktur mahkota gigi, akar gigi, tulang alveolar, tuber maksilaris, dan mandibular. Fraktur disebabkan oleh karena kesalahan dokter gigi dalam aplikasi tang cabut yang digunakan atau tekanan yang diberikan terlalu besar.

4. Cedera jaringan lunak

Cedera jaringan lunak di rongga mulut meliputi gusi, bibir, lidah, mukosa pipi dan palatum. Cedera jaringan lunak dapat dihindari dengan pemilihan tang secara cermat serta teknik pencabutan gigi yang baik. Bila gusi menempel pada gigi yang akan dicabut dari soketnya, gusi harus dipisahkan secara hati-hati dari gigi dengan menggunakan raspatorium.

5. Cedera saraf

Saraf yang bisa terkena cedera akibat pencabutan gigi antara lain saraf mentalis, saraf alveolaris inferior dan saraf lingualis.

6. Edema

Edema atau pembengkakan pasca pencabutan gigi dapat menghambat penyembuhan luka. Hal ini biasanya disebabkan trauma instrumen tumpul atau retraksi berlebihan dari flap yang tidak baik.

7. *Dry socket* (Alveolar osteitis)

Dry socket merupakan suatu kondisi dimana terdapat kehilangan bekuan

darah dari soket. Secara klinis, *dry socket* merupakan osteitis setempat yang mengenai seluruh atau sebagian tulang yang membatasi soket gigi, yaitu lamina dura (Gowda, 2013).

8. Infeksi

Penyebab terjadinya pembengkakan pasca pencabutan gigi adalah infeksi pada daerah bekas pencabutan karena masuknya mikroorganisme yang patogen.

2.2 Proses Penyembuhan Luka

Proses penyembuhan luka merupakan suatu proses dinamis yang terdiri dari 4 fase yang terintegrasi, yaitu fase hemostasis dan koagulasi, fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase maturasi (*remodeling*). Keempat fase ini serta fungsi biofisiologisnya dapat terjadi dalam suatu rangkaian, pada waktu dan durasi yang spesifik dan berlanjut dengan intensitas yang optimal. Penyembuhan luka merupakan suatu proses yang melibatkan respon seluler dan biokimia baik secara lokal maupun sistemik, serta melibatkan proses dinamis dan kompleks dari koordinasi serial termasuk pendarahan, koagulasi, inisiasi respon inflamasi akut segera setelah trauma, regenerasi, migrasi dan proliferasi jaringan ikat dan sel parenkim, serta sintesis protein matriks ekstraselular dan jaringan ikat serta deposisi kolagen. Sel yang paling berperan dari semua proses ini adalah sel makrofag, yang berfungsi mensekresi sitokin pro-inflamasi dan anti-inflamasi serta *growth factors*, fibroblas dan kemampuannya mensintesis kolagen yang mempengaruhi kekuatan *tensile strength* luka dan mengisi jaringan luka kembali ke bentuk semula, kemudian diikuti oleh sel-sel keratinosit kulit untuk membelah diri dan bermigrasi membentuk reepitelialisasi dan menutupi area luka. Suatu luka dikatakan sembuh secara sempurna jika luka telah kembali ke struktur anatomi jaringan, fungsi jaringan, dan penampakan secara normal dalam periode waktu yang sesuai (Primadona et al, 2019).

2. 2. 1 Fase Hemostasis dan Koagulasi

Pada saat terjadi luka, maka pembuluh darah akan terputus sehingga menyebabkan pendarahan, reaksi tubuh pertama sekali adalah berusaha

menghentikan pendarahan tersebut dengan cara mengaktifkan faktor koagulasi intrinsik dan ekstrinsik yang mengarah ke agregasi trombosit dan formasi clot vasokonstriksi, pengerutan ujung pembuluh darah yang putus dan kemudian terjadi reaksi hemostasis. Reaksi hemostasis terjadi akibat darah yang keluar dari mukosa yang terluka mengalami kontak dengan kolagen dan matriks ekstraseluler, hal ini akan memicu pengeluaran trombosit yang mengekspresi glikoprotein pada membran sel sehingga trombosit tersebut dapat beragregasi menempel satu sama lain dan membentuk massa (*clotting*). Massa ini akan mengisi cekungan luka membentuk matriks provisional sehingga terjadi migrasi sel-sel radang pada fase inflamasi (Landén et al, 2016).

Pada saat yang bersamaan sebagai akibat agregasi trombosit, pembuluh darah akan mengalami vasokonstriksi selama 5 sampai dengan 10 menit, akibatnya akan terjadi hipoksia, peningkatan glikolisis dan penurunan pH yang akan direspon dengan terjadinya vasodilatasi. Lalu akan terjadi migrasi sel leukosit dan trombosit ke jaringan luka.

Selain itu, migrasi sel leukosit dan trombosit juga dipicu oleh aktivasi *associated kinase membrane* yang meningkatkan permeabilitas membran sel terhadap ion Ca^{2+} dan mengaktifasi kolagenase dan elastase yang akan merangsang migrasi sel tersebut ke matriks provisional. Setelah sampai di matriks provisional, sel trombosit mengalami degranulasi, mengeluarkan sitokin-sitokin dan mengaktifkan jalur intrinsik dan ekstrinsik yang menstimulasi sel-sel neutrofil bermigrasi ke matriks provisional dan memulai fase inflamasi (Werner S, 2003).

2. 2. 2 Fase Inflamasi

Fase inflamasi dimulai segera setelah terjadinya trauma sampai hari ke-3 pasca trauma. Tujuan utama fase ini adalah mengeleminasi jaringan yang mati, dan pencegahan kolonisasi maupun infeksi oleh agen mikrobial patogen. Setelah hemostasis tercapai, sel radang akut serta neutrofil akan menginvasi daerah radang serta menghancurkan semua debris dan bakteri. Dengan adanya neutrofil maka dimulai respon peradangan yang ditandai dengan *cardinal symptoms*, yaitu *tumor*, *kalor*, *rubor*, *dolor* dan *functiolaesa*. Neutrofil, limfosit dan makrofag adalah sel yang pertama kali mencapai daerah luka. Fungsi utamanya adalah melawan infeksi

dan membersihkan debris matriks seluler dan benda-benda asing. Leukosit akan melepaskan bermacam-macam faktor untuk menarik sel yang akan memfagosit debris, bakteri, dan jaringan yang rusak, serta pelepasan sitokin yang akan memulai proliferasi jaringan. Leukosit yang terdapat pada luka di dua hari pertama adalah neutrofil, biasanya terdeteksi pada luka dalam 24 jam sampai dengan 36 jam setelah terjadi luka. Leukosit juga berfungsi membuang jaringan mati dan bakteri dengan fagositosis.

Monosit yang berada dalam darah kemudian berdiferensiasi menjadi makrofag masuk ke dalam jaringan luka melalui mediasi *monocyte chemoattractant protein 1* (MCP-1). Makrofag sebagai sel yang sangat penting dalam penyembuhan luka memiliki fungsi fagositosis bakteri. Makrofag mensekresi proteinase untuk mendegradasi matriks ekstraseluler (ECM) dan penting untuk mengeliminasi benda asing, merangsang migrasi sel fibroblas, dan merangsang *growth factors* untuk memicu terjadinya neovaskularisasi (Landén et al., 2016).

2. 2. 3 Fase Proliferasi

Fase proliferasi berlangsung mulai hari ke-3 hingga 14 pasca trauma, ditandai dengan pergantian matriks provisional yang didominasi oleh platelet dan makrofag secara bertahap digantikan oleh migrasi sel fibroblas dan deposisi sintesis matriks ekstraselular. Pada fase proliferasi ditandai dengan adanya jaringan granulasi yang kaya akan jaringan pembuluh darah baru, fibroblas, makrofag, dan kolagen yang membentuk matriks ekstraseluler dan neovaskular yang mengisi celah luka. Tujuan dari fase proliferasi adalah untuk membentuk keseimbangan antara pembentukan jaringan parut dan regenerasi jaringan (Landén et al., 2016).

Pada fase proliferasi terjadi angiogenesis yang disebut juga sebagai neovaskularisasi, yaitu proses pembentukan pembuluh darah baru yang merupakan hal yang penting sekali dalam proses penyembuhan luka.

2. 2. 4 Fase Maturasi (Fase *Remodeling*)

Fase maturasi ini berlangsung mulai hari ke-21 hingga sekitar 1 tahun yang bertujuan untuk memaksimalkan kekuatan dan integritas struktural jaringan baru pengisi luka, pertumbuhan epitel dan pembentukan jaringan parut. Segera setelah

kavitas luka terisi oleh jaringan granulasi dan proses reepitelialisasi usai, fase ini pun segera dimulai. Pada fase ini terjadi kontraksi dari luka dan remodeling kolagen. Kontraksi luka terjadi akibat aktivitas fibroblas yang berdiferensiasi akibat pengaruh sitokin TGF- β menjadi myofibroblas, yakni fibroblas yang mengandung komponen mikrofiliamen aktin intraselular. Myofibroblas akan mengekspresikan α -SMA (*α -Smooth Muscle Action*) yang akan membuat luka berkontraksi. Matriks intraselular akan mengalami maturasi dan fibronektin akan didegradasi (T Velnar, 2009).

Pada fase ini terjadi keseimbangan antara proses sintesis dan degradasi kolagen serta matriks ekstraseluler. Kolagen yang berlebihan didegradasi oleh enzim kolagenase dan kemudian diserap. Sisanya akan mengerut sesuai tegangan yang ada. Hasil akhir dari fase ini berupa jaringan parut.

Fase maturasi merupakan fase terlama dari proses penyembuhan luka. Pada umumnya *tensile strength* pada kulit dan fascia tidak akan pernah mencapai 100%, namun hanya sekitar 80% dari normal, karena serat-serat kolagen hanya bisa pulih sebanyak 80% dari kekuatan serat kolagen normal sebelum terjadinya luka. Kekuatan akhir yang dicapai tergantung pada lokasi terjadinya luka dan durasi lama perbaikan jaringan yang terjadi (T Velnar, 2009).

2.3 Faktor yang Mempengaruhi Proses Penyembuhan Luka

Proses penyembuhan luka terdiri dari empat fase yaitu fase hemostasis, inflamasi, proliferasi, dan maturasi. Ada banyak faktor yang dapat mempengaruhi penyembuhan luka yang mengganggu fase dalam proses ini, sehingga menyebabkan perbaikan jaringan yang tidak tepat atau terganggu. Faktor-faktor yang mempengaruhi proses penyembuhan antara lain (Guo, 2010):

a. Umur

Proses penyembuhan luka pada orang muda lebih cepat dibandingkan pada orang tua.

b. Penggunaan pil kontrasepsi

Jika seorang wanita mengkonsumsi pil kontrasepsi dan dia melakukan pencabutan gigi maka kemungkinan terjadinya *dry socket* akan meningkat

akibat tingginya level estrogen. *Dry socket* akan memperlambat proses penyembuhan luka.

c. Merokok

Merokok memperlambat proses penyembuhan luka pasca pencabutan gigi. Produk-produk toksik yang dihasilkan oleh rokok dapat menurunkan suplai darah pada area luka sehingga menyebabkan iskemi jaringan.

d. Infeksi bakteri

Pada kasus dimana terjadi infeksi, proses penyembuhan luka akan terhambat dan memerlukan waktu yang lebih lama untuk dapat kembali normal. Hal ini disebabkan karena bakteri dan endotoksinya dapat menyebabkan pemanjangan peningkatan sitokin pro-inflamasi, interleukin-1 (IL-1) dan TNF- α , sehingga memperpanjang fase inflamasi.

e. Kebersihan rongga mulut

Setelah dilakukan pencabutan gigi, area disekitar soket yang luka harus terjaga kebersihannya. Jika ada makanan yang terselip di sekitar soket tersebut maka dapat menjadi tempat berkembangnya bakteri patogen sehingga dapat memperpanjang waktu penyembuhan luka.

f. Obat-obatan

Beberapa obat-obatan seperti kortikosteroid dan obat-obat immunosupresif lainnya dapat memperlambat proses penyembuhan luka.

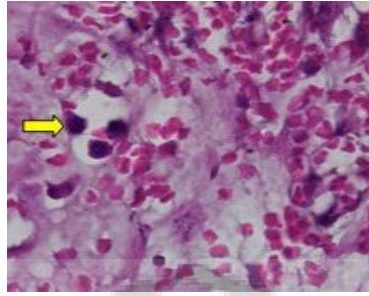
2.4 Sel Makrofag

Makrofag merupakan salah satu dari tiga tipe sel fagosit pada sistem imun dan terdistribusi secara luas pada jaringan tubuh. Sel ini memegang peranan penting pada imunitas *innate* dan *adaptive* serta diketahui sebagai bentuk *mature* dari monosit. Monosit beredar dalam sirkulasi darah dan berdiferensiasi menuju jaringan menjadi makrofag. Sel makrofag tersebut akan menetap di jaringan. Makrofag diketahui lebih aktif dalam melakukan fagositosis dibandingkan monosit dan lebih banyak memiliki granula dengan kandungan enzim hidrolitik (Abbas, 2013). Makrofag merupakan salah satu sel pada garis pertahanan pertama sistem imun *innate* dan *adaptive* terhadap mikroorganisme dan berperan penting

untuk mengontrol infeksi bakteri (Samaranayake, 2012).

Makrofag diproduksi di sumsum tulang belakang dari sel induk mieloid yang mengalami proliferasi dan dilepaskan ke dalam darah sesudah atau satu periode melalui fase monoblas-fase premonosit-fase monosit. Monosit adalah sel radang kronis yang bentuk inti selnya masuk dalam mononuklear. Jenis sel agranulosit ini berjumlah sekitar 3-8% dari seluruh leukosit. Sel ini merupakan sel yang terbesar di antara sel leukosit karena diameternya sekitar 12-15 μ m. Bentuk inti dapat berbentuk oval, seperti tapal kuda atau tampak seakan-akan terlipat-lipat. Butir-butir khromatinnya lebih halus dan tersebar rata dibandingkan butir khromatin limfosit. Pada sediaan biasa sulit menemukan nukleolus. Sitoplasma monosit tampak berwarna biru abu-abu. Dalam jaringan monosit berubah menjadi sel makrofag atau sel-sel lain yang diklasifikasikan sebagai sel fagositik (Subowo, 2009).

Makrofag tersebar secara luas dalam tubuh manusia. Makrofag berperan dalam proses peradangan sebagai reaksi tubuh terhadap benda asing atau mikroba. Peran makrofag tidak hanya terbatas pada fagositosis benda-benda asing yang masuk ke dalam tubuh. Namun makrofag juga melepaskan *growth factors* dan sitokin yang kemudian menarik sel-sel yang berperan dalam fase proliferasi ke lokasi luka. *Growth factors* tersebut meliputi *Transforming Growth Factor- β* (TGF- β), *Tumor Necrosis Factor- α* (TNF- α), *Platelet Derived Growth Factor* (PDGF), *Interleukin-1* (IL-1), *Insulin-like Growth Factor-1* (IGF-1), *Epidermal Growth Factor* (EGF) dan *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) yang menjadi kunci pada proses fibrosis dan angiogenesis. Fibrosis penting agar jaringan dapat pulih dan bertahan terhadap lingkungan luar tubuh. Angiogenesis juga penting karena tanpa adanya pembuluh darah baru nutrisi tidak dapat diperoleh oleh jaringan sehingga jaringan akan mengalami kematian. Makrofag merupakan unsur sel yang penting pada pembentukan jaringan granulasi. Makrofag menginduksi proliferasi fibroblas dan produksi matriks ekstraseluler dan mengalami puncak pada hari ke-3. Penurunan jumlah makrofag pada hari ke-5 menunjukkan bahwa proses inflamasi telah banyak berkurang, dan luka akan diisi oleh proliferasi jaringan (Rouby H, 2010).



Gambar 2.1 Gambaran Histologi Sel Makrofag (Budi *et al*, 2017)

2.5 Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.)

2.5.1 Deskripsi Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.)

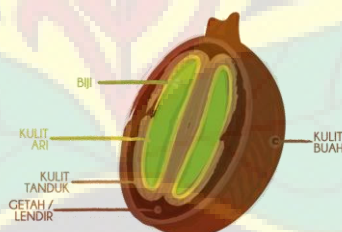
Kopi arabika (*Coffea arabica* L.) berasal dari hutan pegunungan di Etiopia, Afrika. Di habitat asalnya, tanaman ini tumbuh di bawah kanopi hutan tropis yang rimbun dan merupakan jenis tanaman berkeping dua (dikotil) yang memiliki akar tunggang. Kopi arabika banyak ditumbuh di dataran dengan ketinggian di atas 500 meter dpl. Kopi arabika akan tumbuh maksimal bila ditanam di ketinggian 1000-2000 meter dpl. Dengan curah hujan berkisar 1200-2000 mm per tahun. Suhu lingkungan paling cocok untuk tanaman ini berkisar 15-24° C. Tanaman ini tidak tahan pada temperatur yang mendekati beku dibawah 4° C. Berikut sistematika kopi arabika :

Kingdom	: <i>Plantae</i> (Tumbuhan)
Subkingdom	: <i>Tracheobionta</i> (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: <i>Spermatophyta</i> (Menghasilkan biji)
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i> (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i> (berkeping dua / dikotil)
Sub Kelas	: <i>Asteridae</i>
Ordo	: <i>Rubiales</i>
Famili	: <i>Rubiaceae</i> (suku kopi-kopian)
Genus	: <i>Coffea</i>
Spesies	: <i>Coffea arabica</i> L

Untuk berbunga dan menghasilkan buah, tanaman kopi arabika membutuhkan periode kering selama 4-5 bulan dalam setahun. Biasanya pohon arabika akan berbunga di akhir musim hujan. Bila bunga yang baru mekar tertimpa

hujan yang deras akan menyebabkan kegagalan berbuah. Tanaman ini menyukai tanah yang kaya dengan kandungan bahan organik. Material organik tersebut digunakan tanaman untuk sumber nutrisi dan menjaga kelembaban. Tingkat keasaman atau pH tanah yang diinginkan kopi arabika berkisar 5,5-6 (Anshori, 2014).

Kopi Arabika berbentuk semak tegak atau pohon kecil yang memiliki tinggi 5 m sampai 6 m dan memiliki diameter 7 cm saat tingginya setinggi dada orang dewasa. Kopi Arabika dikenal oleh dua jenis cabang, yaitu orthogeotropic yang tumbuh secara vertikal dan plagiogeotropic cabang yang memiliki sudut orientasi yang berbeda dalam kaitannya dengan batang utama. Selain itu, kopi Arabika memiliki warna kulit abu-abu, tipis, dan menjadi pecah-pecah dan kasar ketika tua (Hiwot, 2011). Kopi arabika adalah kopi yang paling baik mutu cita rasanya dibanding jenis kopi yang lain, tanda-tandanya adalah biji picak dan daun hijau tua dan berombak-ombak, sehingga kopi arabika merupakan jenis kopi yang paling banyak dikonsumsi oleh masyarakat seluruh dunia (Botanical, 2010).



Gambar 2.2 Struktur buah kopi (Muchtadi, 2010)

2.5.2 Kandungan Kulit Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.)

Kulit adalah bagian terluar dari buah kopi (eksokarp). Kulit kopi selama ini dibuang begitu saja dan menjadi sampah yang berserakan. Limbah tersebut belum dimanfaatkan secara optimal. Menurut Etika (2007), limbah kulit kopi dapat dijadikan pakan ternak. Kulit buah kopi mengandung banyak zat aktif di dalamnya seperti polifenol, asam klorogenat, dan kafein. Kandungan kulit buah kopi Arabika adalah sebagai berikut :

	(Murthy and Naidu, 2012b)	(Murthy and Naidu, 2012b)	(Franca and Oliveira, 2009)	(Pandey et al., 2000)
Asam klorogenat	2.5±0.6	-	-	-
Tanin	-	5.0±2.0	5.0	4.5
Kafein	-	1.0±0.5	1.0	1.31
Total polifenol	1.22±0.5	-	-	-

Tabel 2.1 Kandungan kulit kopi arabika dalam 100g

2.5.3 Manfaat Kandungan Kulit Buah Kopi Arabika (*Coffea arabica L.*) Terhadap Penyembuhan Luka

Kandungan yang terdapat pada kulit buah kopi Arabika dapat memberikan manfaat terhadap penyembuhan luka, antara lain:

a. Polifenol

Kulit kopi arabika mengandung banyak senyawa salah satunya adalah polifenol. Polifenol adalah antioksidan yang paling melimpah yang dapat kita temukan pada buah-buahan, sayuran, sereal, zaitun, kacang kering, coklat dan minuman, seperti teh, kopi, dan anggur. Sebagai antioksidan, polifenol dapat melindungi sel terhadap kerusakan oksidatif. Menurut Archivio *et al* (2007), kelompok utama polifenol adalah flavonoid, asam fenolik, fenolik alkohol, stilbenes dan lignan.

Flavonoid merupakan salah satu golongan terbesar dari polifenol dengan struktur difenilpropan ($C_6C_3C_6$), terdiri dari dua cincin aromatik yang dihubungkan dengan 3 atom karbon yang termasuk lingkaran heterosiklik. Flavonoid dapat mempercepat proses penyembuhan luka pasca pencabutan gigi dengan cara menghambat kerja asam arakhidonat melalui jalur lipooksigenase dan siklooksigenase yang diikuti dengan terhambatnya produksi prostaglandin, tromboksan, dan leukotrien sebagai mediator peradangan sehingga dapat mempercepat proses radang ke tahap proliferasi dan proses penyembuhan menjadi lebih cepat (Archivio *et al.*, 2007).

Kandungan flavonoid juga diketahui berperan sebagai imunomodulator. Pada penelitian bahan alam lain yang mengandung flavonoid memiliki kemampuan dalam memperbaiki sistem imun. Sebuah penelitian mengenai fungsi imunitas seluler yang dilakukan secara *in vivo* pada mencit membuktikan bahwa senyawa

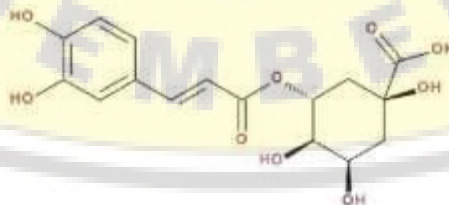
flavonoid dapat memacu proliferasi limfosit, meningkatkan jumlah sel T dan meningkatkan aktivitas IL-2. Flavonoid berpotensi bekerja terhadap limfokin yang dihasilkan oleh sel T sehingga akan merangsang sel-sel fagosit termasuk monosit untuk melakukan respon fagositosis (Budirahardjo *et al*, 2016).

Flavonoid dapat membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Nuria, 2009). Senyawa ini akan mengganggu metabolisme energi dengan cara yang mirip dengan menghambat sistem respirasi, karena dibutuhkan energi yang cukup untuk penyerapan aktif berbagai metabolit dan untuk biosintesis makromolekul.

b. Asam klorogenat

Asam klorogenat adalah suatu senyawa yang termasuk kedalam komponen fenolik, mempunyai sifat yang larut dalam air dan terbentuk dari esterifikasi asam quinic dan asam transcinnamic tertentu seperti asam kafein, asam ferulic, dan asam p-coumaric. Subgrup utama dari isomer asam klorogenat pada kopi adalah asam caffeoylquinic (CQA), asam feruloylquinic (FQA), asam dicaffeoylquinic (diCQA) dan asam p-couma-roylquinic (p-CQA) pada jumlah yang lebih kecil (Farah *et al.*, 2006).

Asam klorogenat pada biji kopi terdiri dari 9 isomer utama diantaranya 3 isomer dari CQA (3-, 4- dan 5-CQAs), 3 isomer dari CQAs (3,4-, 3,5- dan 4,5-diCQAs) dan tiga dari FQAs (3-, 4-, dan 5-FQA).



Gambar 2.3 Struktur Asam Klorogenat (Susan *et al*, 2015)

Secangkir kopi mengandung berkisar 70-350 mg asam klorogenat. Asam klorogenat memiliki efek antioksidan yang dapat melawan ROS (*Reaktif Oksidatif Spesies*) sehingga dapat mempertahankan struktur normal sel dan fungsinya. Penelitian sebelumnya yaitu uji aktifitas antioksidan asam klorogenat mendapatkan

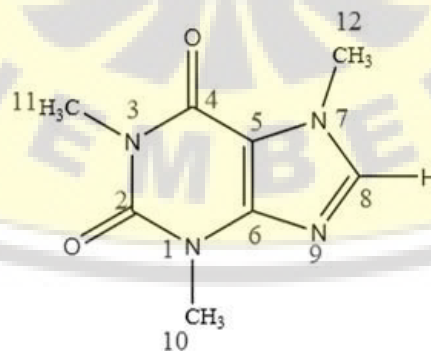
hasil asam klorogenat cukup baik dalam menanggulangi radikal bebas (fe^{3+}) (Zong *et al.*, 2014).

c. Kafein

Kafein yang memiliki rumus kimia $C_8H_{10}N_4O_2$, (gambar 2.4) merupakan salah satu senyawa alkaloid yang sangat penting yang terdapat di dalam biji kopi dan dimanfaatkan dalam bentuk obat maupun dalam bentuk makanan atau minuman sehari-hari yang bisa didapatkan dengan mudah (Widyotomo, 2014).

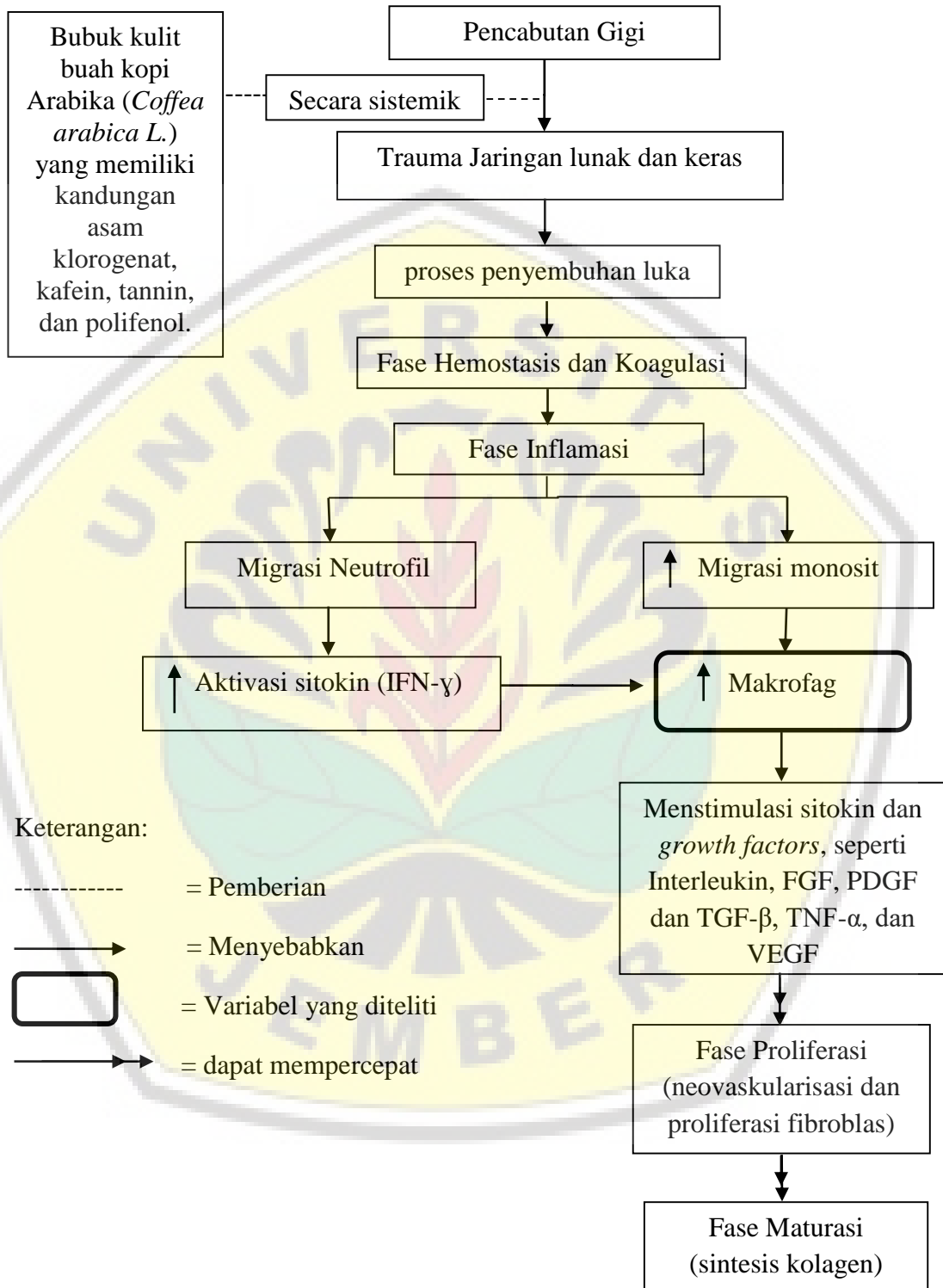
Kafein dapat meningkatkan regulasi reseptor adenosine A2A yang akan meningkatkan peran anti inflamasi adenosine pada cedera jaringan. Aktivasi reseptor adenosine A2B akan memicu peningkatan kadar cAMP dimana dapat terjadi penurunan inflamasi akut yang akan mencegah kerusakan jaringan tahap lanjut dan memperbaiki kerusakan jaringan. Secara menyeluruh, penggunaan caffeine akan meningkatkan regulasi reseptor adenosine A2B dimana akan meningkatkan peran reseptor anti inflamasi saat teraktivasi melalui adenosine ekstraselular (Martinez, 2009).

Kafein juga memiliki peranan penting dalam proses penyembuhan luka dengan meningkatkan jumlah makrofag serta menghasilkan peningkatan regulasi *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) secara sinergis. VEGF adalah faktor pro-angiogenik yang potensial dimana penelitian menunjukkan VEGF memiliki kontribusi 50% dalam aktivitas angiogenesis pada luka (Silverberg *et al.*, 2012).



Gambar 2.4 Rumus kimia kafein (Asep *et al.*, 2011)

2.6 Kerangka Konsep Penelitian



2.7 Keterangan Kerangka Konsep Penelitian

Pencabutan gigi dapat menyebabkan trauma pada jaringan lunak maupun keras pada rongga mulut sehingga membentuk soket gigi. Tubuh akan memberikan respon berupa proses penyembuhan luka yang terdiri dari 4 fase yaitu fase hemostasis, fase inflamasi, fase proliferasi dan fase maturasi. Kulit buah kopi Arabika (*Coffea arabica L.*) yang didalamnya terdapat berbagai kandungan yaitu asam klorogenat, tannin, kafein, dan polifenol diberikan pada hewan coba secara intragastrik. Kulit buah kopi Arabika (*Coffea arabica L.*) dapat mempengaruhi proses penyembuhan luka yang dimulai dari fase inflamasi. Pada fase inflamasi terjadi migrasi neutrofil dan migrasi monosit kedalam jaringan yang berubah menjadi makrofag. Makrofag akan menstimulasi terlepasnya berbagai macam sitokin dan *growth factors*, seperti IL-1, IL-2, FGF, PDGF dan TGF- β , TNF- α , dan VEGF yang akan mempercepat terjadinya fase proliferasi. Pada fase proliferasi terjadi angiogenesis yang disebut juga sebagai neovaskularisasi yaitu proses pembentukan pembuluh darah baru, merupakan hal yang penting sekali dalam terjadinya penyembuhan luka.

2.8 Hipotesis

Pemberian kulit buah kopi Arabika (*Coffea arabica L.*) dapat meningkatkan jumlah makrofag pasca pencabutan gigi pada tikus Wistar.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris. Rancangan penelitian yang digunakan adalah *post test only control group design* (Notoatmodjo, 2010).

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di beberapa tempat yaitu :

1. Politeknik Negeri Jember untuk identifikasi tumbuhan.
2. Laboratorium Rekayasa Proses Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember untuk pembuatan bubuk kopi.
3. Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember untuk perlakuan terhadap hewan coba.
4. Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember untuk pembuatan preparat dan pengamatan jaringan

3.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus-September 2019.

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Kulit buah kopi arabika (*Coffea arabica L.*).

3.3.2 Variabel Terikat

Jumlah sel makrofag pada soket gigi pasca pencabutan

3.3.3 Variabel Terkendali

- a. Kriteria hewan coba
- b. Berat badan tikus
- c. Usia tikus
- d. Jenis kelamin tikus

- e. Makanan dan minuman tikus
- f. Cara pemberian dan waktu pemberian bubuk kulit buah kopi
- g. Dosis bubuk kulit buah kopi yang diberikan
- h. Cara perhitungan sel makrofag.

3.4 Definisi Operasional Penelitian

3.4.1 Kulit Buah Kopi Arabika

Kopi Arabika didapatkan dari Kawasan Ijen Bondowoso dengan tanda kulit buah kopi sudah berwarna merah. Kulit kopi dikeringkan kemudian diselep dan diayak menggunakan ayakan 100 mesh untuk memperoleh ukuran yang homogen.

3.4.2 Pencabutan Gigi

Pencabutan gigi dilakukan pada gigi molar satu rahang bawah kiri tikus Wistar jantan yang dilakukan dengan metode pencabutan sederhana menggunakan ekskavator dan sonde setengah lingkaran. Sebelum dilakukan pencabutan, dilakukan anastesi dengan ketamin. Proses pencabutan gigi dilakukan dengan hati-hati serta arah dan gerakan yang tidak menimbulkan trauma berlebihan dan gigi tercabut dengan sempurna.

3.4.3 Sel Makrofag

Sel makrofag memiliki bentuk yang ameboid (tidak tetap), serta memiliki inti sel yang relatif besar, oval, menyerupai tapal kuda, atau seperti ginjal. Pengamatan sel makrofag dilakukan pada 3 lapang pandang soket gigi pasca pencabutan secara histologi dengan menggunakan optillab yang sudah terhubung dengan mikroskop binokuler dengan perbesaran 400X.

3.5 Sampel, Besar Sampel, dan Kriteria Sampel Penelitian

3.5.1 Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus Wistar dengan jenis kelamin jantan.

3.5.2 Besar Sampel

Besarnya sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah berdasarkan rumus Daniel (2005) :

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

Keterangan :

n : besar sampel minimal

σ : standart deviasi sample

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

Z : konstanta pada tingkat kesalahan tertentu, jika $\alpha=0.05$ maka $Z=1,96$

Berdasarkan perhitungan rumus di atas, maka besar sampel minimal adalah 4 ekor tikus. Total sampel adalah 32 ekor yang dibagi dalam 2 kelompok yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Masing-masing kelompok 16 ekor tikus. Tiap kelompok dibagi menjadi 4 subkelompok yang terdiri dari 4 ekor tikus.

3.5.3 Kriteria Sampel

Kriteria sampel dalam penelitian ini adalah :

- a. Tikus Wistar berjenis kelamin jantan
- b. Berusia 2-3 bulan
- c. Berat badan 200 gram-250 gram
- d. Tikus dalam keadaan sehat

3.6 Alat dan Bahan

3.6.1 Alat

- a. Timbangan
- b. Blender
- c. Kandang tikus
- d. Tempat makan dan minum tikus
- e. Sarung tangan/*handscone*
- f. Masker
- g. *Disposable syringe*
- h. Pinset
- i. Sonde setengah lingkaran
- j. Ekskavator kecil
- k. Arteri clam kecil

- l. Papan bedah
- m. Gunting bedah
- n. *Object glass*
- o. *Deck glass*
- p. Mikroskop Binokuler
- q. Kamera Optilab
- r. Rak pengecatan

3.6.2 Bahan

- a. Makanan tikus
- b. Aquadest
- c. Bubuk kulit kopi arabika
- d. Tikus wistar jantan
- e. Ketalar
- f. *Eter Chloride*
- g. Minyak emersi
- h. Paraffin
- i. Alkohol 70%, 80%, 95%, dan 100%
- j. Formalin 10%
- k. Asam fomiati 10%
- l. Gliserin
- m. *Meyer egg albumin*
- n. Cat haematoxilin-Eosin
- o. *Xylol*

3.7 Konversi Penghitungan Dosis

3.7.1 Dosis Bubuk Kulit Kopi Arabika

Kebutuhan kopi manusia per sekali minum adalah 6,5 gram/70 kg BB. Jadi untuk dosis yang diperlukan adalah

$$\begin{aligned}\text{Dosis bubuk kopi} &= 6,5 \text{ g}/70 \text{ kg BB} \\ &= 6500 \times 0,018 / 200 \text{ gr BB tikus} \\ &= 117 \text{ mg} / 200 \text{ gr BB tikus}\end{aligned}$$

3.7.2 Dosis Ketamin

Menurut Kusumawati (2004), dosis anestesi ketamin yang digunakan pada tikus yaitu 20 – 40 mg/ kg berat badan. (Lampiran D)

$$\begin{aligned}\text{Dosis yang digunakan} &= 20 - 40 \text{ mg/kg BB} \\ &= 20 - 40 \text{ mg} \times 200\text{g}/1000 \\ &= 20 - 40 \text{ mg} \times 0,2 \text{ kg} \\ &= 4 - 8 \text{ mg}\end{aligned}$$

Ketamin yang digunakan dalam penelitian ini memiliki konsentrasi 100 mg/ 1 ml. Dosis ketamin yang dibutuhkan adalah :

$$\begin{aligned}\frac{100 \text{ mg}}{\text{ml}} &= \frac{4 - 8 \text{ mg}}{\text{X}} \\ \text{X} &= \frac{4 - 8}{100} \\ &= 0,04 - 0,08 \text{ ml}\end{aligned}$$

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1 Identifikasi Tanaman dan Pembuatan Kode Etik

Identifikasi tanaman dilakukan di Laboratorium Tanaman Politeknik Negeri Jember untuk menentukan klasifikasi dari tanaman. Sedangkan pembuatan kode etik dengan nomor 781/UN25.8/KEPK/DL/2019 dilakukan di Komisi Etik Penelitian di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

3.8.2 Persiapan Hewan Coba

Hewan coba berupa tikus diadaptasikan terlebih dahulu selama 7 hari dalam kandang tertutup di Laboratorium Biomedik bagian Fisiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Tikus diberi makanan standar dan air minum setiap hari. Adaptasi ini dilakukan untuk memperoleh keseragaman sebelum dilakukan penelitian untuk mengontrol hewan coba.

3.8.3 Pembuatan Bubuk Kulit Buah Kopi Arabika (*Coffea arabica L.*)

Kulit buah kopi didapatkan dari petani di Kawasan Ijen Bondowoso. Kemudian, dikeringkan dengan cara diangin-anginkan sampai kering selama

kurang lebih seminggu. Setelah itu dihaluskan menggunakan selep dan diayak menggunakan ayakan 100 mesh untuk memperoleh ukuran yang homogen.

3.8.4 Pengelompokan dan Perlakuan Hewan Coba

Hewan coba tikus wistar jantan sebanyak 32 ekor dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu :

1. Kelompok 1 (kelompok kontrol) yang terdiri dari 16 ekor tikus wistar jantan yang dibagi menjadi 4 sub kelompok, masing-masing terdiri dari 4 ekor tikus. Pada hari pertama tikus wistar dianestesi general dengan injeksi ketamin disekitar paha, kemudian dilakukan pencabutan gigi molar satu bawah kiri dan diberi larutan saline, satu kali sehari selama 1 hari untuk sub kelompok K1, 3 hari untuk sub kelompok K3, 5 hari pada sub kelompok K5, dan 7 hari pada sub kelompok K7 secara intragastrik menggunakan sonde lambung.

Sub kelompok K1 : Pada hari ke 2, 4 ekor hewan coba dikorbankan, kemudian dianestesi menggunakan ketamin lalu diambil rahang bawahnya dan dilanjutkan pembuatan sediaan jaringan.

Sub kelompok K3 : Pada hari ke 4, 4 ekor hewan coba dikorbankan, kemudian dianestesi menggunakan ketamin lalu diambil rahang bawahnya dan dilanjutkan pembuatan sediaan jaringan.

Sub kelompok K5 : Pada hari ke 6, 4 ekor hewan coba dikorbankan, kemudian dianestesi menggunakan ketamin lalu diambil rahang bawahnya dan dilanjutkan pembuatan sediaan jaringan.

Sub kelompok K7 : Pada hari ke 8, 4 ekor hewan coba dikorbankan, kemudian dianestesi menggunakan ketamin lalu diambil rahang bawahnya dan dilanjutkan pembuatan sediaan jaringan.

2. Kelompok 2 (kelompok perlakuan) yang terdiri dari 16 ekor tikus wistar jantan yang dibagi menjadi 4 sub kelompok, masing-masing terdiri dari 4 ekor tikus. Pada hari pertama tikus wistar dianestesi general dengan injeksi ketamin

disekitar paha, kemudian dilakukan pencabutan gigi molar satu bawah kiri dan diberi bubuk kopi arabika sesuai dengan dosis yang telah ditentukan, satu kali sehari selama 1 hari untuk sub kelompok P1, 3 hari untuk sub kelompok P3, 5 hari pada sub kelompok P5, dan 7 hari pada sub kelompok P7 secara intragastrik menggunakan sonde lambung.

Sub kelompok P1 : Pada hari ke 2, 4 ekor hewan coba dikorbankan, kemudian dianestesi menggunakan ketamin lalu diambil rahang bawahnya dan dilanjutkan pembuatan sediaan jaringan.

Sub kelompok P3 : Pada hari ke 4, 4 ekor hewan coba dikorbankan, kemudian dianestesi menggunakan ketamin lalu diambil rahang bawahnya dan dilanjutkan pembuatan sediaan jaringan.

Sub kelompok P5 : Pada hari ke 6, 4 ekor hewan coba dikorbankan, kemudian dianestesi menggunakan ketamin lalu diambil rahang bawahnya dan dilanjutkan pembuatan sediaan jaringan.

Sub kelompok P7 : Pada hari ke 8, 4 ekor hewan coba dikorbankan, kemudian dianestesi menggunakan ketamin lalu diambil rahang bawahnya dan dilanjutkan pembuatan sediaan jaringan.

3.8.5 Tahap Pembuatan Sediaan

Menurut Syafriadi *et al* (2007), tahapan dalam pembuatan sediaan adalah sebagai berikut:

1. Pengambilan sampel sediaan

Pemotongan rahang bawah tikus dari mesial molar pertama sampai molar ketiga. Kemudian, difiksasi dengan menggunakan larutan formalin 10% selama 12-18 jam. Tujuan dari fiksasi adalah untuk mencegah terjadinya autolisis, mempertahankan morfologi, dan mencegah pertumbuhan jamur dan bakteri.

2. Dekalsifikasi

Tujuan dekalsifikasi adalah untuk melepaskan bahan anorganik dalam tulang tanpa merusak protein yang ada. Dekalsifikasi dilakukan dengan menggunakan larutan asam formiat 10% selama 7 hari.

3. Pemrosesan Jaringan

Fungsi dari pemrosesan jaringan adalah untuk mempersiapkan jaringan sebelum dilakukan penyayatan dengan mikrotom. Berikut tahapan pemrosesan jaringan :

a. Dehidrasi

Merupakan penarikan air dari dalam jaringan dengan menggunakan alkohol dengan konsentrasi rendah ke tinggi. Dehidrasi dimulai dengan alkohol 70% selama 15 menit, 80% selama 1 jam, 95% selama 2 jam, dan 100% selama 3 jam.

b. *Clearing*

Clearing merupakan proses penjernihan jaringan dengan menggunakan bahan *xylol* sebanyak 3 kali masing-masing selama 1 jam, 2 jam, 2 jam.

c. Impregnasi

Impregnasi merupakan proses infiltrasi bahan *embedding* dalam jaringan menggunakan paraffin cair bersuhu 56-60 derajat Celsius sebanyak 3 kali masing-masing 2 jam.

d. *Embedding*

Embedding merupakan proses penanaman jaringan ke dalam suatu bahan *embedding* yaitu paraffin. Tahapan *embedding* antara lain :

1. Mempersiapkan alat cetak blok paraffin (*base mould*). Alat cetak tersebut terbuat dari logam berbentuk siku-siku disusun di atas permukaan kaca. Alat cetak diolesi gliserin untuk mempermudah pemisahan alat cetak dengan blok paraffin.
2. Paraffin cair dituangkan ke dalam *base mould*, kemudian masukkan jaringan yang telah diimpregnasi menggunakan pinset sehingga didapatkan penampang jaringan dengan arah pemotong secara koronal.

3. Paraffin blok siap dipotong setelah dilepas dari alat cetakan.

e. Penyayatan

1. Penyayatan menggunakan mikrotom, dibersihkan terlebih dahulu pisau mikrotom dengan kasa atau kertas saring yang dibasahi dengan *xylol* arah tegak lurus.

2. Mengatur ketebalan sayatan mikrotom setebal 5 μm .

3. Mengambil sayatan yang telah diperoleh dengan kuas lalu letakkan di atas permukaan air *waterbath* dengan temperature tetap 56-58 derajat Celsius hingga sayatan mekar.

4. Mengambil sayatan yang sudah mekar dengan *object glass* yang diolesi dengan *meyer egg albumin*, dikeringkan dengan suhu 30-35 derajat Celsius minimal selama 12 jam.

f. Pewarnaan Preparat Jaringan

Tahap pewarnaan menggunakan *Haematoksin-Eosin* sebagai berikut:

1. Preparat dimasukkan ke dalam *xylol* selama 2-3 menit lalu diulangi dengan memasukkan kembali ke dalam wadah yang berbeda selama 2-3 menit.

2. Rehidrasi dengan larutan alkohol absolut 2 kali alkohol 95% 2 kali masing-masing 2-3 menit dengan wadah yang berbeda.

3. Preparat dibilas dengan air mengalir selama 10-15 menit, mula-mula dengan aliran yang lambat kemudian lebih kuat dengan tujuan menghilangkan kelebihan alkohol.

4. Preparat diwarnai dengan cat *Mayer's Haematoksin* selama 10 menit.

5. Bilas dengan air mengalir selama 20 menit.

6. Preparat direndam *eosin* selama selama 15 detik sampai 2 menit.

7. Dehidrasi kembali dengan konsentrasi meningkat 95% dan absolute masing-masing 2-3 menit sebanyak 2 kali dengan wadah yang berbeda.

8. Preparat dimasukkan ke dalam *xylol* tiga kali masing-masing 3 menit dengan wadah yang berbeda.
9. *Mounting* menggunakan cairan *entellan* lalu ditutup *deck glass*. (Masruri, 2019).

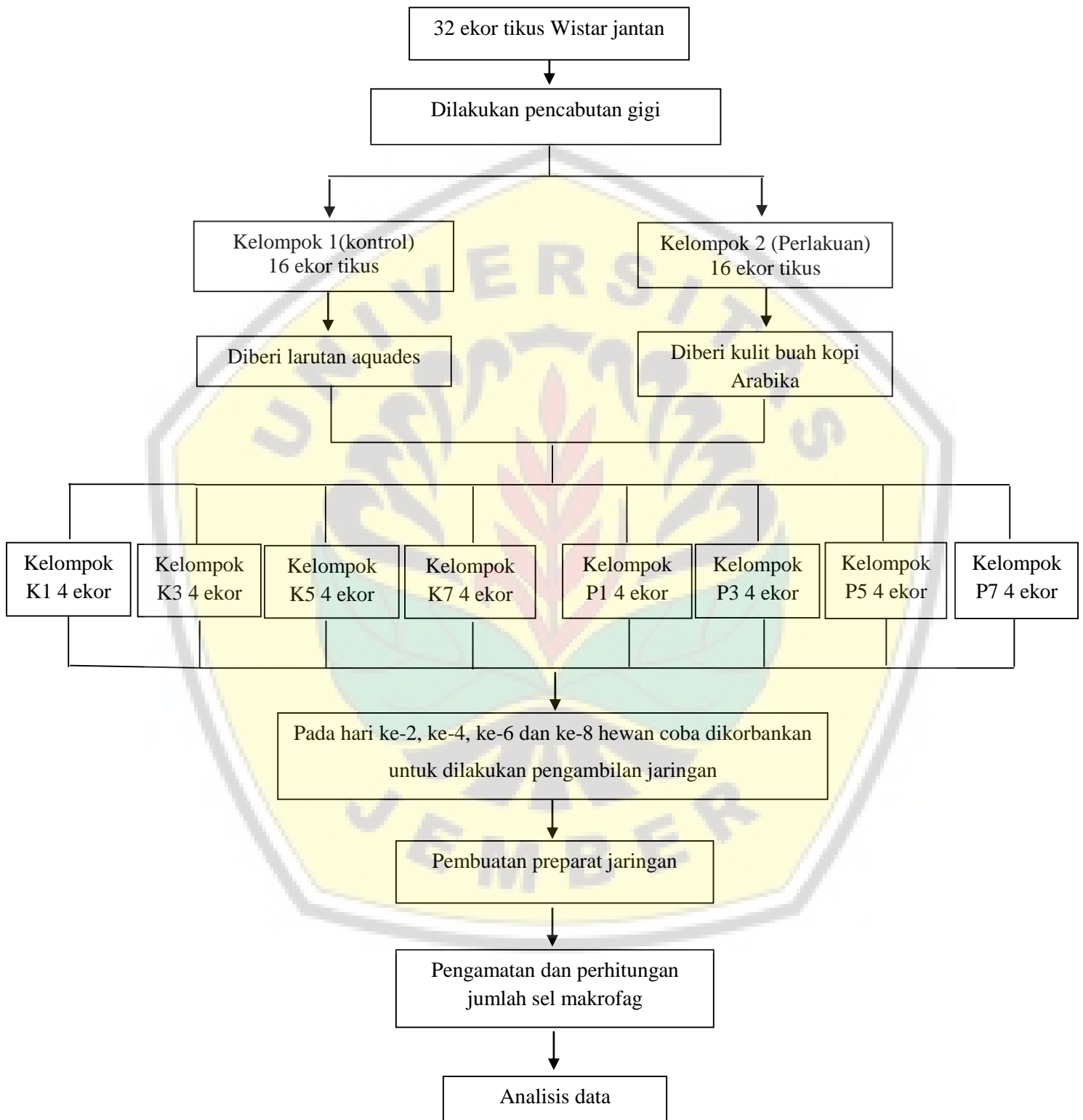
3.8.6 Tahap Pengamatan dan Perhitungan Jumlah Sel Makrofag

Pengamatan dan perhitungan jumlah sel makrofag menggunakan *optilab* yang sudah terhubung dengan mikroskop binokuler dengan perbesaran 400X. Pengamatan dan perhitungan pada tiga lapang pandang pada 1/3 apikal, 2/3 apikal dan 1/3 koronal soket gigi pasca pencabutan. Pengamatan dan perhitungan dilakukan oleh 3 pengamat. Kemudian, hasil perhitungan dilakukan tabulasi dan diambil rata-ratanya.

3.8.7 Analisis Data

Dilakukan uji normalitas menggunakan uji *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas menggunakan uji *Levene* dengan nilai signifikan 95% ($p \geq 0.05$). Jika data berdistribusi normal dan homogen, dilanjutkan menggunakan uji statistik parametrik, yaitu uji *One-way ANOVA* dengan tingkat kepercayaan 95%. Kemudian dilanjutkan dengan uji *post hoc Least Significant Difference* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok secara signifikan.

3.8.8 Alur Penelitian



BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat disimpulkan bahwa pemberian kulit buah kopi arabika (*Coffea arabica L.*) dapat meningkatkan jumlah sel makrofag pasca pencabutan gigi pada tikus Wistar.

5.2 Saran

Saran-saran yang peneliti berikan adalah sebagai berikut.

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai kulit buah kopi Arabika yang diberikan secara topikal pada soket pasca pencabutan gigi.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pemberian kulit buah kopi Arabika dengan dosis yang berbeda pada hewan coba.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai parameter inflamasi yang lain setelah pemberian kulit buah kopi Arabika pasca pencabutan gigi pada hewan coba.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas AK, Lichtman AH, Phillai S. 2013. Cellular and molecular immunology. 7th ed. Philadelphia: Elsevier. H. 50-5.
- Anshori, M.F., 2014. Analisis Keragaman Morfologi Koleksi Tanaman Kopi Arabika dan Robusta Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar Sukabumi. Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor.
- Archivio M, Filesi C, Di Benedetto R, Gargiulo R, Giovannini C, Masella R, 2007. *Polyphenols, Dietary Sources and Bioavailability*. Istituto Superiore di Santa: Rome.
- Azmi, Gunawan. 2006. *Hasil-hasil Penelitian Sistem Integrasi Ternak-Tanaman Prosiding Lokakarya Hasil Pengkajian Teknologi Pertanian, Balai Besar Pengkajian dan Pengembangan Teknologi Pertanian, Balitbang Pertanian Bekerja Sama dengan Universitas Bengkulu, Halaman 91-95.*
- Barrientos S., Olievera S., Golinko MS., Brem H., Tomic Canie M. 2008. Growth Factors and Cytokines in Wound Healing. *J Wound Repair and Regeneration*;16: 585-601.
- Budi, H.S., Soesilowati, P. and Imanina, Z. 2017. Gambaran histopatologi penyembuhan luka pencabutan gigi pada makrofag dan neovaskular dengan pemberian getah batang pisang ambon. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*, 3(3), pp.3-9.
- Budirahardjo, R., Ayu Ratna Dewanti, I.D. and Endah Lestari, P., 2016. Potensi Imunomodulator Biji Kopi Robusta Terhadap Karies Gigi.
- Chandra HM. 2014. Buku Petunjuk Praktis Pencabutan Gigi (1st ed). Makassar: Sagung Seto.

- Christina, B.B.H., Fransisca, C., Kristin, K. and Sudiono, J., 2016, April. Peran Monosit (Makrofag) pada Proses Angiogenesis dan Fibrosis. In *PROSIDING SEMINAR NASIONAL CENDEKIAWAN*
- Daniel, W. 2005. *Biostatic: A Foundation for Analysis in the Health Sciences. Eight Edition*. Georgia Wiley.
- Darlina, D., 2015. Respon Sitokin Pada Kultur Sel Limfosit Sebagai Uji Penting Dalam Pengembangan Vaksin Malaria Iradiasi. *Bulletin ALARA*, 17(1), pp.1-7.
- Deshmane, S.L., Kremlev, S., Amini, S. and Sawaya, B.E., 2009. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1): an overview. *Journal of interferon & cytokine research*, 29(6), pp.313-326.
- Etika, YV. 2007. Pengaruh Pemberian Kompos Kulit Kopi, Kotoran Ayam Dan Kombinasinya Terhadap Ketersediaan Unsur N, P, Dan K Pada Inceptisol. Universitas Brawijaya, Malang.
- Farah, Adriana. 2012. *Coffee : Emerging Health Effects and Disease Prevention, First Edition*. John Willey & Sons, Inc and Institute of Food Technologists (USA) : WileyBlackwell Publising Ltd.
- Farah, Adriana., Tomas De P., Daniel P. M. 2006. Chlorogenic Acids and Lactones in Regular and Water-Decaffeinated Arabica Coffees. *J. Agric. Food Chem.* 54(2) : 374-381
- Farhaty, N. and Muchtaridi, M., 2016. Tinjauan Kimia dan Aspek Farmakologi Senyawa Asam Klorogenat pada Biji Kopi. *Farmaka*, 14(1), pp.214-227.
- Franca, A.S., Oliveira L.S., 2009. *Agricultural Wastes, Agriculture Issues and Policies*. Nova Publishers, New York.
- Gordon PW. 2013. *Buku Ajar Praktis Bedah Mulut (4th ed)*. Jakarta: EGC. p. 36-44, 93-100.

- Goueva, B.M. *et al.* 2009. Feasibility of ethanol production from coffee husks. *Biotechnology letters*, 31, 1315-1319.
- Gowda, G.G., Viswanath, D., Kumar, M. and Umashanker, D., 2013. Dry socket (alveolar osteitis): Incidence, pathogenesis, prevention and management. *J Indian Acad Oral Med Radiol*, 25(3), pp.196-199.
- Guo, S.A. and DiPietro, L.A., 2010. Factors affecting wound healing. *Journal of dental research*, 89(3), pp.219-229.
- Haas A. 2007. The phagosome: compartment with a license to kill. *Traffic*. 8:311-30.
- Heiserman, David. 2006. Oral and Maxillofacial Pathology.
- Hiwot, H. 2011. Growth and Physiological Response of Two *Coffea Arabika L.* Population under High and Low Irradiance. Thesis. Addis Ababa University.
- Kumar V, Cotran R, Robbins SL. 2007. Buku ajar patologi. 7th ed. Philadelphia: WB Saunders Co. p. 41–3, 55–60.
- Kusumawati, D. 2004. *Bersahabat dengan Hewan Coba*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Landén, N. X., Li, D., & Ståhle, M. 2016. Transition from inflammation to proliferation: a critical step during wound healing. *Cellular and Molecular Life Sci.*
- Lande, R., Kepel, B.J. and Siagian, K.V., 2015. Gambaran faktor risiko dan komplikasi pencabutan gigi di RSGM PSPDG-FK UNSRAT. *e-GIGI*, 3(2).
- Laurence, L.B., Keith, L.P., Donald, K.B., and Iaint, OB., 2008. Goodman and Gilman's, *Manual of Pharmacology and Therapeutics*, The Mc Graw-Hill Company, Amerika.
- Leibovich SJ, Chen J, Einfeld P, Elson G, Rosania A. 2002. Synergistic up-regulation of vascular endothelial growth factor expression in murine

- macrophages by adenosine A2A receptor agonist and endotoxin. *Am J of Pathol*;160:2231 - 44.
- Martinez FO, Helming L, Gordon S. 2009. Alternative activation of macrophages: an immunologic functional perspective. *Annu Rev Immunol*.
- Masruri, Ahmad. 2019. Potensi bubuk kulit kopi arabika (*Coffea arabica L.*) berpotensi meningkatkan jumlah sel fibroblas pasca pencabutan gigi pada tikus Wistar jantan. Fakultas Kedokteran Gigi. Universitas Jember.
- Muchtadi, Tien R. 2010. Ilmu Pengetahuan Pangan. Bandung. AlfaBeta.
- Mullen, W., Nemzer, B., Stalmach, A., Aii, S., Combet, E., 2013. Polyphenolic and Hydroxycinnamate Contents of Whole Coffee Fruits from China, India, and Mexico. *J. Agric. Food Chem.* 61, 5298-5309.
- Murray, Robert K. Daryl K. Granner; Victor W. Rodwell. 2009. Biokimia Harper Ed.27. Jakarta. EGC:152-94.
- Murthy, P.S., Naidu, M.M., 2012. Sustainable Management of Coffee Industry by Products and Value Addition-A review. *Resour. Conserv. Recycl.* 66, 45.
- Murthy, P.S., Naidu, M.M., 2012. Recovery of Phenolic Antioxidants and Functional Compounds from Coffee Industry By-Products. *Food Bioprocess Technol.* 5, 897-903.
- Notoatmodjo, S. 2010. Metodologi Penelitian Kesehatan. Jakarta : Rineka Cipta.
- Noviantari, L. M. 2009. Perbedaan Kekerasan Gigi Insisivus Tikus Wistar yang Mengonsumsi dan yang Tidak Mengonsumsi Susu Kedelai Lokal. Skripsi. Jember : Universitas Jember.
- Nuria, M.C., A. Fazaitun., dan Sumantri. 2009. Uji Antibakteri Ekstrak Daun Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas L.*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Esterichia coli* ATCC 25922, dan *Salmonella typhy* ATCC 1408. *Jurnal Ilmu-ilmu Pertanian.* 5: 26-37.

- Pandey, A., Soccol, C.R., Nigam, P., Brand, D., mohan, R., Roussos, S., 2000. Biotechnological Potential of Coffee Pulp and Coffee Husk for Bioproses. *Biochem. Eng. J.* 6, 153-162.
- Prabowo, W.H. 2019. Efek Caffeine Terhadap Jumlah Sel Inflamasi pada Penyembuhan Luka Skin Graft pada Tikus Sprague Dawley. *MEDIA KESEHATAN MASYARAKAT INDONESIA*, 18(2), pp.7-13.
- Primadina, N., Basori, A. and Perdanakusuma, D.S. 2019. Proses Penyembuhan Luka Ditinjau dari Aspek Mekanisme Seluler dan Molekuler. *Qanun Medika-Medical Journal Faculty of Medicine Muhammadiyah Surabaya*, 3(1), pp.31-43.
- Rahardjo, Pudji. 2017. *Berkebun Kopi*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Rahman, K.M., Amir, D. and Noer, M. 2017. Efek Pencabutan Gigi terhadap Peningkatan Tekanan Darah pada Pasien Hipertensi. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 6(1), pp.61-64.
- Rajan, V. dan Murray, R. 2008. The duplicitous nature of inflammation in wound repair. *Wound practice and research*, 16(3), pp.122-1229.
- Robinson D. Paul. 2005. *Tooth Extraction*. Wright, Oxford Aucland Boston Johannes Burg Melbourne New Delhi. pp: 2.
- Rouby H Dalia. 2010. Association of Macrophages With Angiogenesis in Oral Verrucous and Squamous Cell Carcinomas. *Journal Oral Pathology Med*, vol 39: 559-564.
- Samaranayake L. 2012. *Essential microbiology for dentistry*. 4rd ed. Hongkong: Elsevier. H. 100-15.
- Susan, Hall., Ben D., Shailendra A., Andrew K., Devinder A., Catherine M *et all*. 2015. A Review of the Bioactivity of Coffee, Caffeine and Key Coffee Constituens on Inflammatory Responses Linked to Depression. *Food Research International*.76 :626-636.

- Silverberg J, Patel M, Brody N, Jagdeo J. 2012. Caffeine protects human skin fibroblast from acute reactive oxygen species – induced necrosis. *Journal Drugs Dermatology*.
- Subowo. 2009. *Histologi Umum*. Jakarta: CV Sagung Seto
- Sulistiani, R.P. and Rahayuningsih, H.M., 2015. *Pengaruh Ekstrak Lompong Mentah (Colocasia esculenta L Schoot) terhadap Aktivitas Fagositosis dan Kadar NO (Nitrit Oksida) Mencit Balb/C Sebelum dan Sesudah Terinfeksi Listeria monocytogenes* (Doctoral dissertation, Diponegoro University).
- Susan, Hall., Ben D., Shailendra A., Andrew K., Devinder A., Catherine M *et all*. 2015. A Review of the Bioactivity of Coffee, Caffeine and Key Coffee Constituents on Inflammatory Responses Linked to Depression. *Food Research International*.76 :626-636.
- Syafriadi M, Kusumawardani B, Setyorini D, dan Joelijanto R. 2007. *Petunjuk Praktikum Patologi Anatomi: Degenerasi dan Rahang*. Tidak diterbitkan. Buku Petunjuk Praktikum. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- T Velnar, T Bailey, V Smrkolj. 2009. The Wound Healing Process : an Overview of Cellular and Molecular Mechanism, *The J of International Medical Research*, p.1528-42.
- Ukhrowi U. 2011. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Umbi Bidara Upas (Merremia mammosa) terhadap Fagositosis Makrofag dan Produksi Nitrit Oksida (NO) Makrofag Studi pada Mencit Balb/C yang Diinfeksi Salmonella Typhimurium*.(Tesis). Universitas Diponegoro.
- Werner S, G. R. 2003. Regulation of wound healing by growth factor and cytokines. *Physiol Rev* 83, 835-870.
- Widyotomo, S. dan Sri, M. 2014. *Ekstraksi Kafein Dari Dalam Biji Kopi*.

Zong,-Xi Sun., Song L., Zhi-quan Z., Rui-qiang S. 2014. Protective Effect of Chlorogenic Acid Against Carbon Tetrachlorida-Induced Acute Liver damage in Rats. Chinese Herbal Medicine. 6(1): 36-41



Lampiran A. Perhitungan Besar Sampel

Besar sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah berdasarkan rumus sebagai berikut (Daniel, 2005)

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

Keterangan :

n = besar sampel tiap kelompok

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

σ = Standar deviasi sampel

d = Kesalahan yang dapat ditoleransi

Pada penelitian ini nilai σ diasumsikan sama dengan nilai d ($\sigma = d$), hal ini dikarenakan bahwa nilai σ^2 jarang sekali diketahui. Maka hasil perhitungan besar sampel adalah sebagai berikut:

$$n = \frac{(1,96)^2 \cdot \sigma^2}{d^2}$$

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

$$n = 3,84 = 4$$

Lampiran B. Tabel Konversi Dosis

Tabel 3.1 Tabel Konversi Dosis (Laurence, 2008)

Dicari Diketa Hui	Men cit 20 g	Tikus 200 g	Marmut 400 g	Kelin ci 1,5 kg	Kucing 1,5 kg	Kera 4 kg	Anjing 12 kg	Manu sia 70 kg
Mencit 20 g	1,0	7,0	12,23	27,80	29,7	64,10	124,20	387,9
Tikus 200 g	0,14	1,0	1,74	3,9	4,20	9,20	17,80	56,0
Marmu 400 g	0,08	0,57	1,0	2,25	2,40	5,20	10,20	31,50
Kelinci 1,5 kg	0,04	0,25	0,44	1,0	1,08	2,40	4,50	14,20
Kucing 1,5 kg	0,03	0,23	0,41	0,92	1,0	2,20	4,10	13,0
Kera 4 kg	0,01 6	0,11	0,19	0,42	0,43	0,1	1,9	6,1
Anjing 12 kg	0,00 8	0,06	0,10	0,22	1,24	0,52	1,0	3,10
Manusia 70 kg	0,00 26	0,018	0,031	0,07	0,076	0,16	0,32	1,0

Lampiran C. Dosis Bubuk Kulit Buah Kopi Arabika

Kebutuhan kopi manusia per hari adalah 6,5 gram/70 kg BB. Jadi untuk dosis yang diperlukan adalah

$$\begin{aligned}\text{Dosis bubuk kopi} &= 6,5 \text{ g}/70 \text{ kg BB} \\ &= 6500 \times 0,018 / 200 \text{ gr BB tikus} \\ &= 117 \text{ mg} / 200 \text{ gr BB tikus}\end{aligned}$$



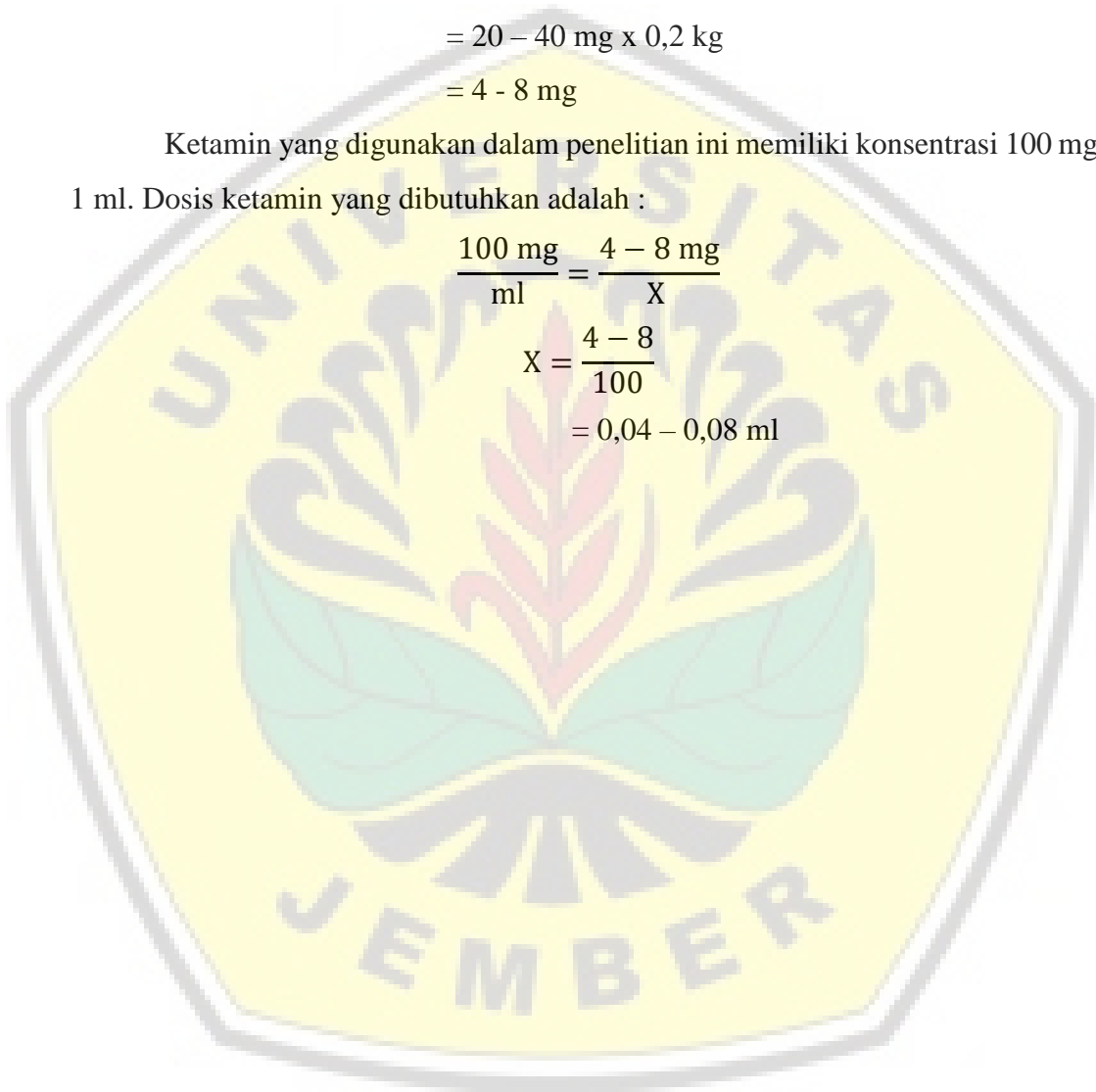
Lampiran D. Dosis Ketamin

Menurut Kusumawati (2004), dosis anestesi ketamin yang digunakan pada tikus yaitu 20 – 40 mg/ kg berat badan.

$$\begin{aligned}\text{Dosis yang digunakan} &= 20 - 40 \text{ mg/kg BB} \\ &= 20 - 40 \text{ mg} \times 200\text{g}/1000 \\ &= 20 - 40 \text{ mg} \times 0,2 \text{ kg} \\ &= 4 - 8 \text{ mg}\end{aligned}$$

Ketamin yang digunakan dalam penelitian ini memiliki konsentrasi 100 mg/ 1 ml. Dosis ketamin yang dibutuhkan adalah :

$$\begin{aligned}\frac{100 \text{ mg}}{\text{ml}} &= \frac{4 - 8 \text{ mg}}{X} \\ X &= \frac{4 - 8}{100} \\ &= 0,04 - 0,08 \text{ ml}\end{aligned}$$



Lampiran E. Surat Identifikasi Tanaman

Kode Dokumen : FR-AUK-064
Revisi : 0

KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
POLITEKNIK NEGERI JEMBER
LABORATORIUM TANAMAN

Jalan Mastrip Kotak Pos 164 Jember - 68101 Telp. (0331) 333532 - 333534 Fax. (0331) 333531
 E-mail : Polije@polije.ac.id Web Site : <http://www.Polije.ac.id>

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TANAMAN

No: 42/PL17.3.1.02/LL/2019

Menindaklanjuti surat dari Wakil Dekan I Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember No: 6866/UN25.8.TL/2019 perihal Permohonan Identifikasi Tanaman dan berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirimkan ke Laboratorium Tanaman, Jurusan Produksi Pertanian, Politeknik Negeri Jember oleh:

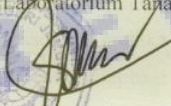
Nama : Nandita Nur Afifa
 NIM : 161610101114
 Jur/Fak/PT : Fakultas Kedokteran Gigi/ Universitas Jember

maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut di bawah ini (terlampir) adalah:
Kingdom: Plantae; Devisio: Spermatophyta; Sub Devisio: Magnoliophyta; Kelas: Magnoliopsida; Sub Kelas: Asteridae; Ordo: Rubiales; Famili: Rubiaceae; Genus: Coffea; Spesies: Coffea arabica, L

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Jember, 8 Nopember 2019

Ka. Laboratorium Tanaman

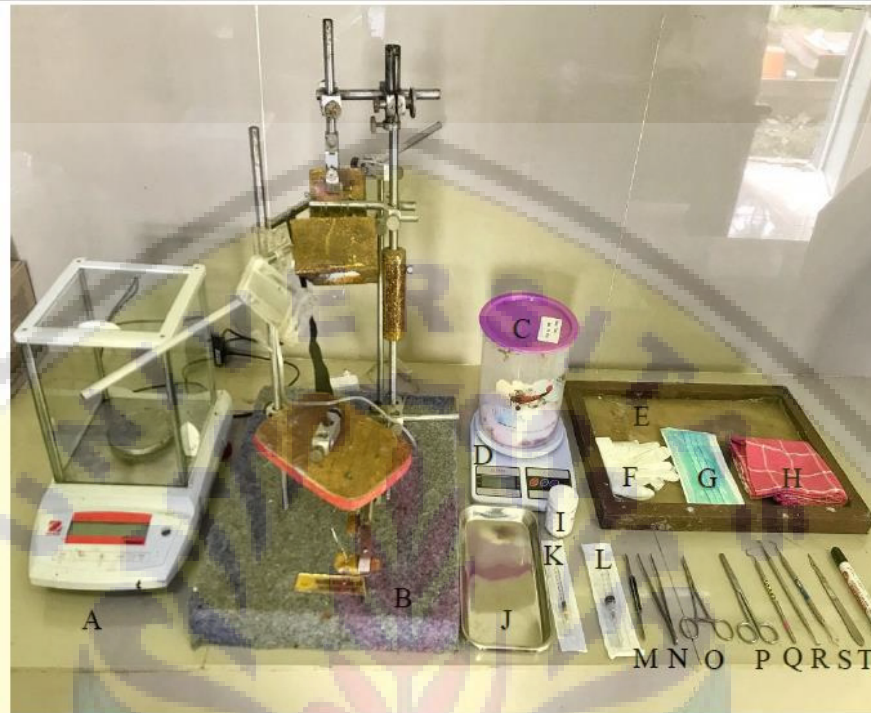

 Ir. Lilik Vlastuti, MP
 NIP. 195808201987032001

Lampiran F. Kode Etik

	KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN (KEPK) FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI UNIVERSITAS JEMBER <i>(THE ETHICAL COMMITTEE OF MEDICAL RESEARCH</i> <i>FACULTY OF DENTISTRY UNIVERSITAS JEMBER)</i>
ETHIC COMMITTEE APPROVAL	
No.781/UN25.8/KEPK/DL/2019	
Title of research protocol :	"The Potential of Arabic Coffee Skin (Coffea arabica L) on Improving the Number of Macrophages After Tooth Extraction in Male Wistar Rats"
Document Approved :	Research Protocol
Pincipal investigator :	Nandita Nur Afifa
Member of research :	-
Responsible Physician :	Nandita Nur Afifa
Date of approval :	Oktober 2019- Selesai
Place of research :	1. Lab. Farmakologi Ruang Hewan FKG UNEJ 2. Lab. Histologi FKG UNEJ
<p>The Research Ethic Committee Faculty of Dentistry Universitas Jember States That the above protocol meets the ethical principle outlined and therefore can be carried out.</p>	
Jember, December 27 th 2019	
 Dean of Faculty of Dentistry Universitas Jember (drg. R. Rahardyan P. M. Kes, Sp. Pros.)	 Chairperson of Research Ethics Committee Faculty of Dentistry Universitas Jember (Prof. Dr. drg. I Dewa Ayu Ratna Dewanti, M.Si.)

Lampiran G. Alat dan Bahan

Lampiran G.1 Alat



Keterangan :

- | | |
|-----------------------------------|-----------------------------|
| A. Neraca digital | M. Pisau malam |
| B. Dental rat chair | N. Pinset |
| C. Tabung plastik | O. Arteri clam |
| D. Timbangan digital | P. Gunting bedah |
| E. Papan bedah | Q. Sonde setengah lingkaran |
| F. <i>Handscoon</i> | R. Eskavator kecil |
| G. Masker | S. Eskavator besar |
| H. Kain lap | T. Blade dan scalpel |
| I. <i>Cotton roll</i> | U. Spidol |
| J. Baki stainless steel | |
| K. <i>Disossible syringe</i> 1 ml | |
| L. <i>Disossible syringe</i> 5 ml | |



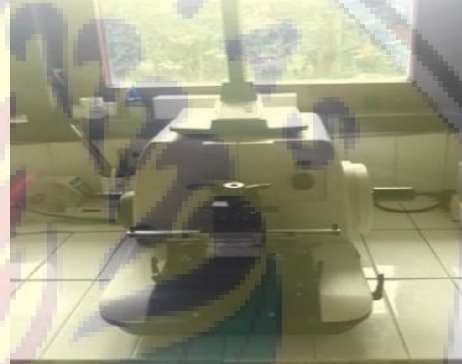
Tissue-Tek



slider warmer



Mikroskop



Mikrotom



Blender



Optilab



water



Filling



Oven



Ayakan

Lampiran G.2 Bahan

Keterangan :

- | | |
|-----------------|------------------|
| 1. Xylol | 7. Entelan |
| 2. Ethanol | 8. Eosin |
| 3. Alkohol 96% | 9. Hemaktosilin |
| 4. Aquades | 10. Object glass |
| 5. Alkohol 70% | 11. Deck glass |
| 6. Asam formiat | |

Lampiran H. Gambar Perlakuan Hewan Coba



Adaptasi hewan coba



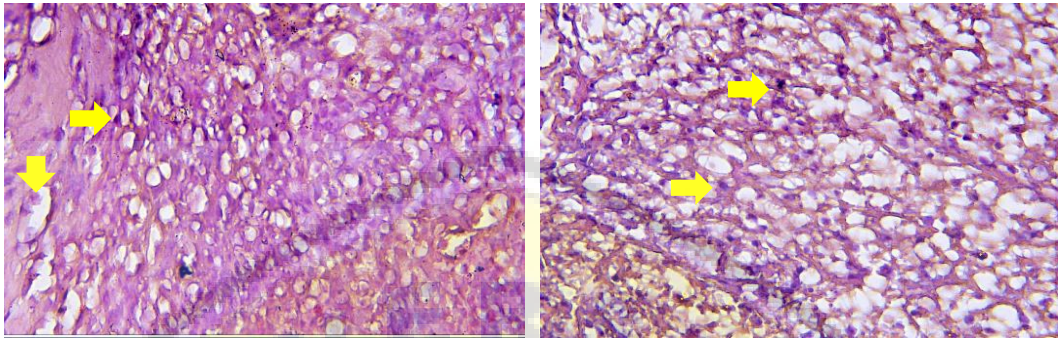
Injeksi Ketamin



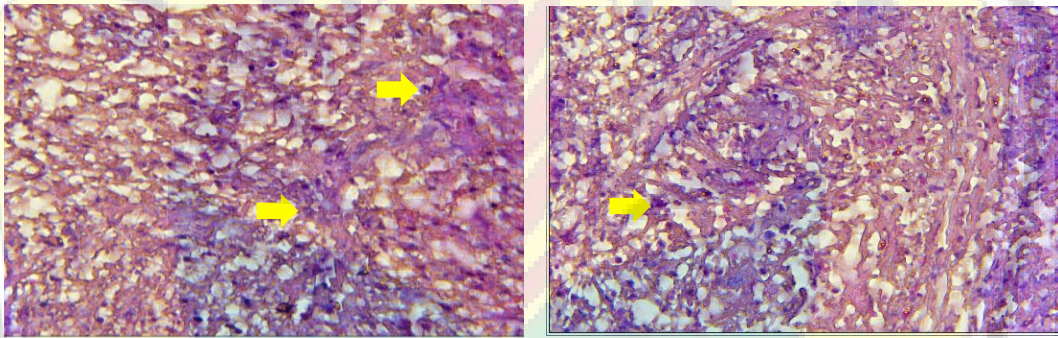
Pencabutan Gigi Tikus



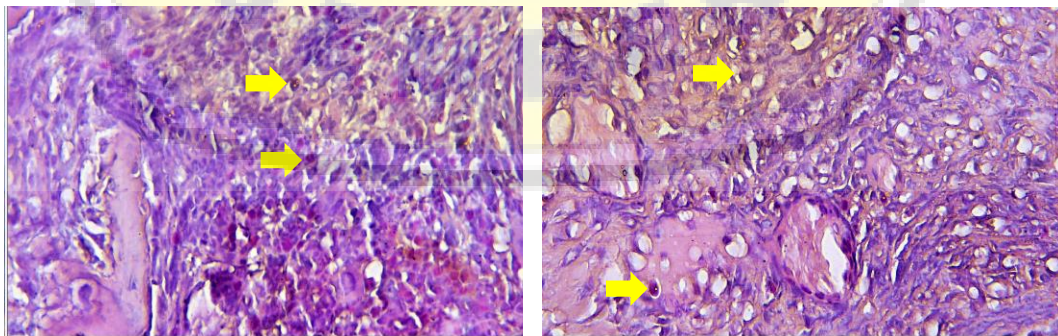
Pemberian bahan secara Sondase

Lampiran I. Gambaran Histologi**Kontrol hari ke-1**

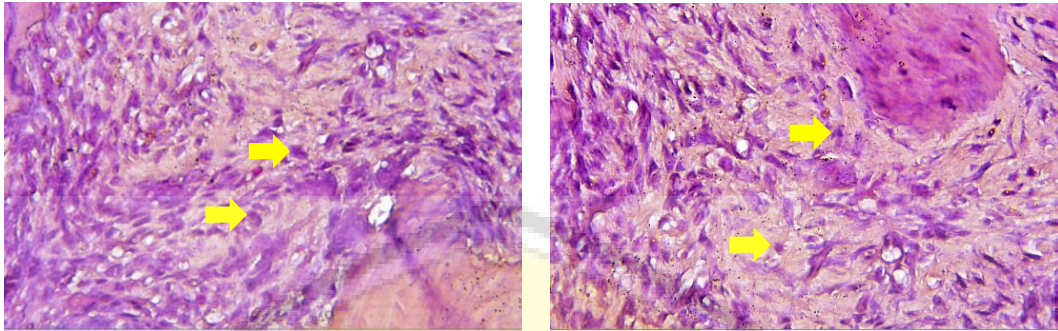
Gambaran histologi dari kelompok kontrol hari ke-1 dengan perbesaran 400X serta gambaran makrofag yang ditunjuk oleh panah berwarna kuning.

Kontrol hari ke-3

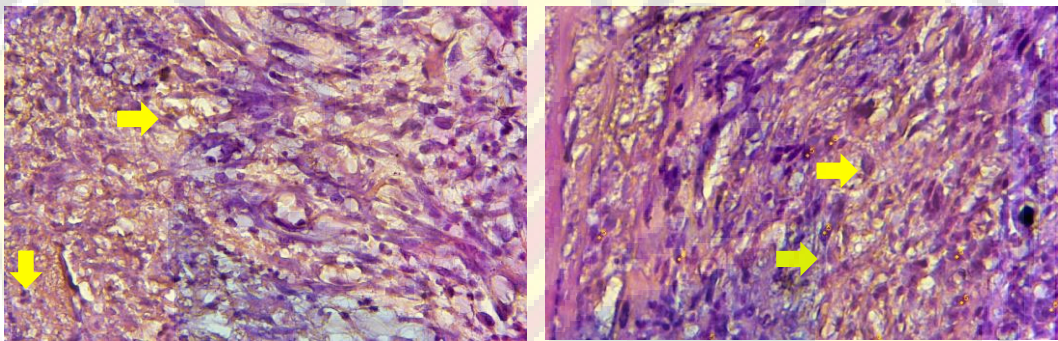
Gambaran histologi dari kelompok kontrol hari ke-3 dengan perbesaran 400X serta gambaran makrofag yang ditunjuk oleh panah berwarna kuning.

Kontrol hari ke-5

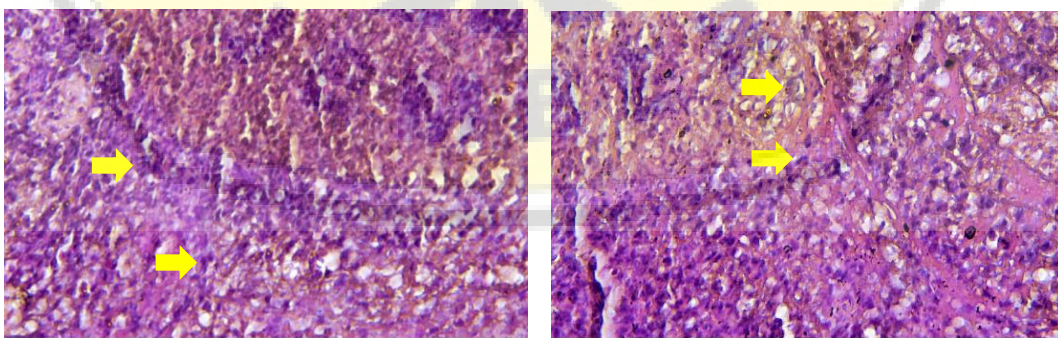
Gambaran histologi dari kelompok kontrol hari ke-5 dengan perbesaran 400X serta gambaran makrofag yang ditunjuk oleh panah berwarna kuning.

Kontrol hari ke-7

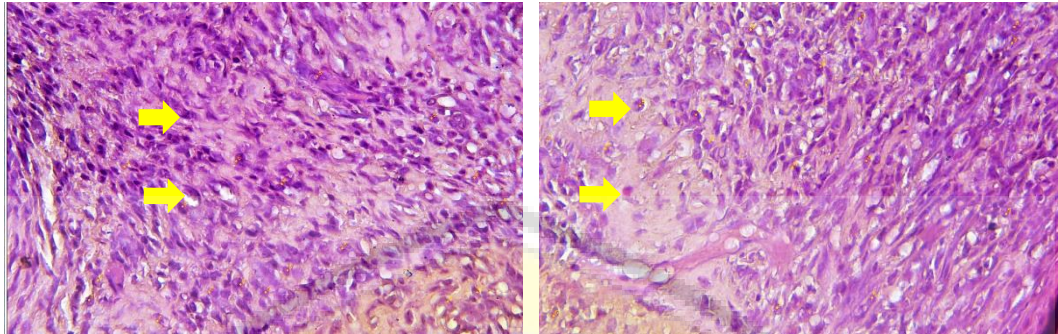
Gambaran histologi dari kelompok kontrol hari ke-7 dengan perbesaran 400X serta gambaran makrofag yang ditunjuk oleh panah berwarna kuning.

Perlakuan hari ke-1

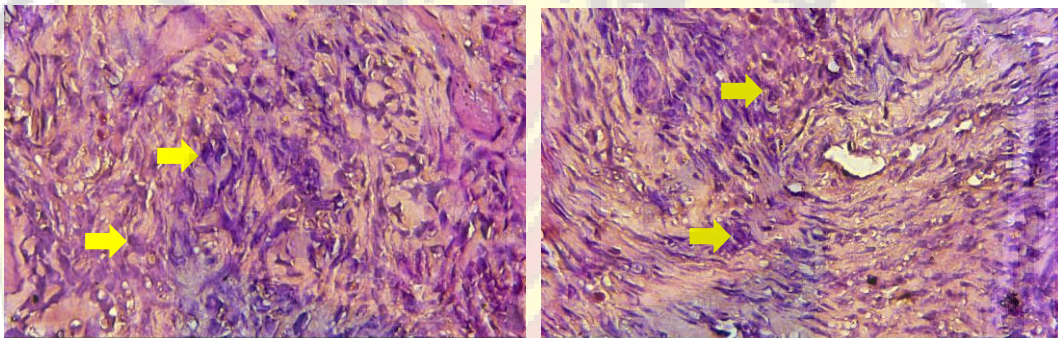
Gambaran histologi dari kelompok perlakuan hari ke-1 dengan perbesaran 400X serta gambaran makrofag yang ditunjuk oleh panah berwarna kuning.

Perlakuan hari ke-3

Gambaran histologi dari kelompok perlakuan hari ke-3 dengan perbesaran 400X serta gambaran makrofag yang ditunjuk oleh panah berwarna kuning.

Perlakuan hari ke-5

Gambaran histologi dari kelompok perlakuan hari ke-5 dengan perbesaran 400X serta gambaran makrofag yang ditunjuk oleh panah berwarna kuning.

Perlakuan hari ke-7

Gambaran histologi dari kelompok perlakuan hari ke-7 dengan perbesaran 400X serta gambaran makrofag yang ditunjuk oleh panah berwarna kuning.

Lampiran J. Hasil Perhitungan Sel Makrofag

SAMPEL	Lapang Pandang 1			Lapang Pandang 2			Lapang Pandang 3			RATA-RATA	Rata-Rata Tiap Kelompok
	Pengamat			Pengamat			Pengamat				
	1	2	3	1	2	3	1	2	3		
Kontrol H-1 (I)	2	1	0	3	2	1	2	0	1	1,33	2,42
Kontrol H-1 (II)	5	3	4	7	3	4	3	2	2	3,67	
Kontrol H-1 (III)	2	1	0	3	1	1	5	1	2	1,78	
Kontrol H-1 (IV)	3	2	1	4	4	3	4	2	3	2,89	
Kontrol H-3 (I)	18	15	17	8	6	5	8	4	4	9,44	7,14
Kontrol H-3 (II)	3	3	2	13	9	9	13	7	8	7,44	
Kontrol H-3 (III)	6	8	7	5	4	7	7	8	7	6,56	
Kontrol H-3 (IV)	2	5	7	6	6	7	2	6	5	5,11	
Kontrol H-5 (I)	5	5	4	5	3	2	6	5	5	4,44	4,72
Kontrol H-5 (II)	8	5	7	6	4	4	9	5	8	6,22	
Kontrol H-5 (III)	7	3	2	7	4	2	5	6	6	4,67	
Kontrol H-5 (IV)	5	6	7	0	4	4	0	2	4	3,56	
Kontrol H-7 (I)	4	4	4	5	2	3	0	1	1	2,67	2,97
Kontrol H-7 (II)	8	2	2	10	2	2	8	2	4	4,44	
Kontrol H-7 (III)	4	5	3	0	2	2	0	2	3	2,33	
Kontrol H-7 (IV)	5	1	2	5	2	1	4	1	1	2,44	
Perlakuan H-1 (I)	13	5	8	10	7	6	12	5	5	7,89	7,75
Perlakuan H-1 (II)	12	5	4	10	5	5	11	2	3	6,33	
Perlakuan H-1 (III)	15	8	8	13	9	10	12	5	4	9,33	
Perlakuan H-1 (IV)	14	6	6	11	4	6	13	3	4	7,44	
Perlakuan H-3 (I)	14	7	9	17	11	13	15	12	10	12,00	12,25
Perlakuan H-3 (II)	16	15	11	15	12	13	12	10	7	12,33	
Perlakuan H-3 (III)	20	13	12	18	8	9	21	10	9	13,33	
Perlakuan H-3 (IV)	15	11	10	10	9	9	15	13	10	11,33	
Perlakuan H-5 (I)	13	6	4	10	7	7	15	6	5	8,11	8,11
Perlakuan H-5 (II)	15	7	5	16	6	4	10	5	7	8,33	

Perlakuan H-5 (III)	9	3	6	7	4	6	12	9	10	7,33	
Perlakuan H-5 (IV)	15	6	5	17	8	10	10	3	4	8,67	
Perlakuan H-7 (I)	5	3	4	8	5	3	9	8	9	6,00	4,72
Perlakuan H-7 (II)	5	2	1	7	2	0	6	1	2	2,89	
Perlakuan H-7 (III)	0	3	4	0	2	4	19	13	9	6,00	
Perlakuan H-7 (IV)	7	5	6	9	3	4	0	1	1	4,00	



Lampiran K. Analisis Data**Tests of Normality**

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
K1	.151	4	.	.993	4	.972
K3	.250	4	.	.945	4	.683
K5	.283	4	.	.863	4	.272
K7	.283	4	.	.863	4	.272
P1	.151	4	.	.993	4	.972
P3	.250	4	.	.945	4	.683
P5	.250	4	.	.945	4	.683
P7	.298	4	.	.849	4	.224

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Makrofa g	Based on Mean	.711	7	24	.664
	Based on Median	.659	7	24	.704
	Based on Median and with adjusted df	.659	7	14.533	.703
	Based on trimmed mean	.710	7	24	.664

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	275.969	7	39.424	27.626	.000
Within Groups	34.250	24	1.427		
Total	310.219	31			

Multiple Comparisons

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K1	K3	-4.500*	.845	.000	-6.24	-2.76
	K5	-2.250*	.845	.014	-3.99	-.51
	K7	-.250	.845	.770	-1.99	1.49
	P1	-5.000*	.845	.000	-6.74	-3.26
	P3	-9.500*	.845	.000	-11.24	-7.76
	P5	-5.500*	.845	.000	-7.24	-3.76
	P7	-2.250*	.845	.014	-3.99	-.51
K3	K1	4.500*	.845	.000	2.76	6.24
	K5	2.250*	.845	.014	.51	3.99
	K7	4.250*	.845	.000	2.51	5.99
	P1	-.500	.845	.559	-2.24	1.24
	P3	-5.000*	.845	.000	-6.74	-3.26
	P5	-1.000	.845	.248	-2.74	.74
	P7	2.250*	.845	.014	.51	3.99
K5	K1	2.250*	.845	.014	.51	3.99
	K3	-2.250*	.845	.014	-3.99	-.51
	K7	2.000*	.845	.026	.26	3.74
	P1	-2.750*	.845	.003	-4.49	-1.01
	P3	-7.250*	.845	.000	-8.99	-5.51
	P5	-3.250*	.845	.001	-4.99	-1.51
	P7	.000	.845	1.000	-1.74	1.74
K7	K1	.250	.845	.770	-1.49	1.99
	K3	-4.250*	.845	.000	-5.99	-2.51
	K5	-2.000*	.845	.026	-3.74	-.26
	P1	-4.750*	.845	.000	-6.49	-3.01
	P3	-9.250*	.845	.000	-10.99	-7.51
	P5	-5.250*	.845	.000	-6.99	-3.51
	P7	-2.000*	.845	.026	-3.74	-.26
P1	K1	5.000*	.845	.000	3.26	6.74
	K3	.500	.845	.559	-1.24	2.24
	K5	2.750*	.845	.003	1.01	4.49
	K7	4.750*	.845	.000	3.01	6.49
	P3	-4.500*	.845	.000	-6.24	-2.76
	P5	-.500	.845	.559	-2.24	1.24

	P7	2.750*	.845	.003	1.01	4.49
P3	K1	9.500*	.845	.000	7.76	11.24
	K3	5.000*	.845	.000	3.26	6.74
	K5	7.250*	.845	.000	5.51	8.99
	K7	9.250*	.845	.000	7.51	10.99
	P1	4.500*	.845	.000	2.76	6.24
	P5	4.000*	.845	.000	2.26	5.74
	P7	7.250*	.845	.000	5.51	8.99
P5	K1	5.500*	.845	.000	3.76	7.24
	K3	1.000	.845	.248	-.74	2.74
	K5	3.250*	.845	.001	1.51	4.99
	K7	5.250*	.845	.000	3.51	6.99
	P1	.500	.845	.559	-1.24	2.24
	P3	-4.000*	.845	.000	-5.74	-2.26
	P7	3.250*	.845	.001	1.51	4.99
P7	K1	2.250*	.845	.014	.51	3.99
	K3	-2.250*	.845	.014	-3.99	-.51
	K5	.000	.845	1.000	-1.74	1.74
	K7	2.000*	.845	.026	.26	3.74
	P1	-2.750*	.845	.003	-4.49	-1.01
	P3	-7.250*	.845	.000	-8.99	-5.51
	P5	-3.250*	.845	.001	-4.99	-1.51

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