



**POTENSI KULIT BUAH KOPI ARABIKA (*Coffea arabica*)  
TERHADAP PENINGKATAN KETEBALAN EPITEL  
SETELAH PENCABUTAN GIGI TIKUS WISTAR**

**SKRIPSI**

Oleh

**Fadhila Zidni Ilma  
NIM 171610101093**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2021**



**POTENSI KULIT BUAH KOPI ARABIKA (*Coffea arabica*)  
TERHADAP PENINGKATAN KETEBALAN EPITEL  
SETELAH PENCABUTAN GIGI TIKUS WISTAR**

**SKRIPSI**

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

Oleh

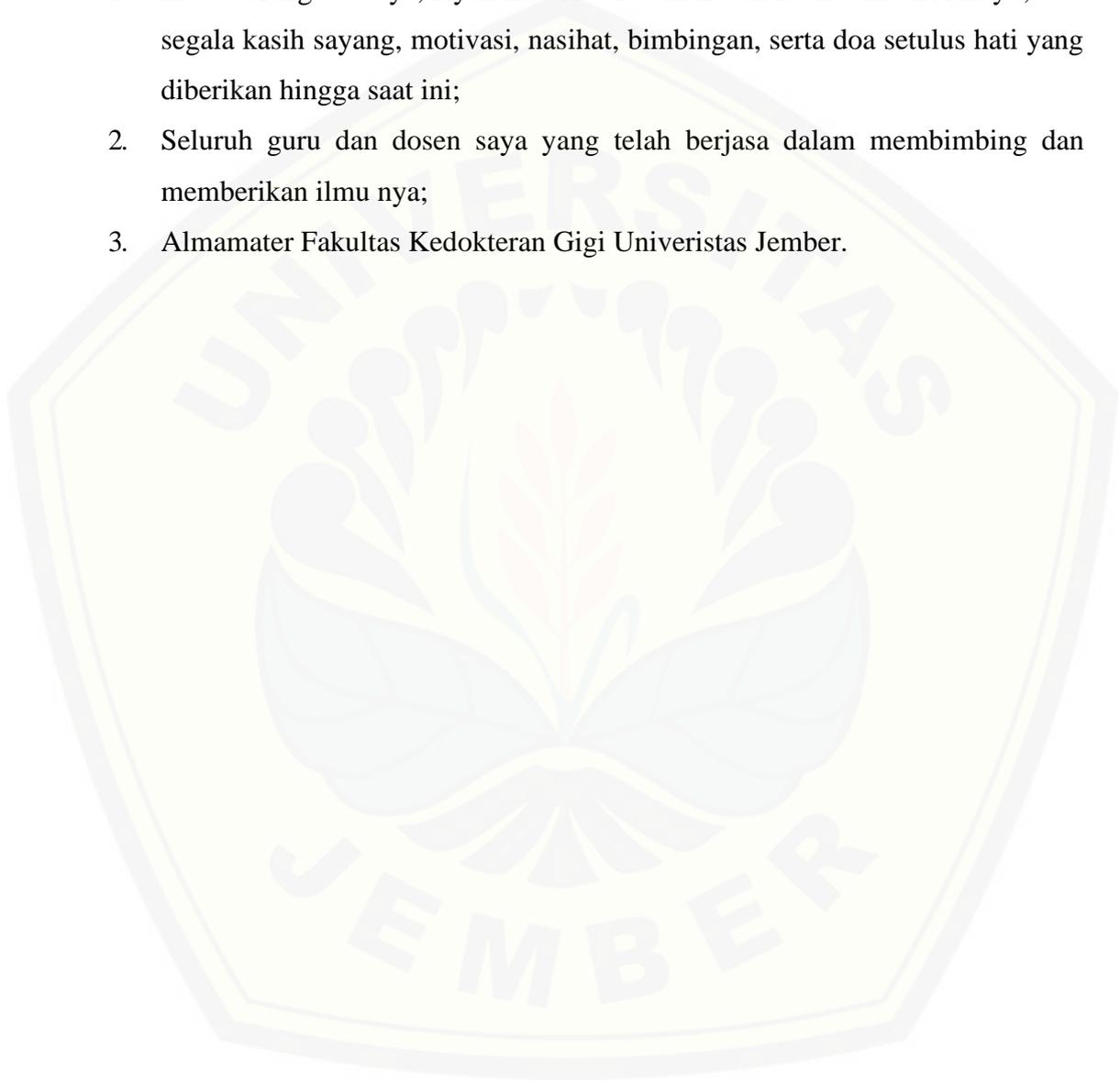
**Fadhila Zidni Ilma**  
**NIM 171610101093**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2021**

## PERSEMBAHAN

Dengan setulus hati skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Kedua orang tua saya, Ayahanda Awaluddin L dan Ibunda Intan Rahayu, atas segala kasih sayang, motivasi, nasihat, bimbingan, serta doa setulus hati yang diberikan hingga saat ini;
2. Seluruh guru dan dosen saya yang telah berjasa dalam membimbing dan memberikan ilmu nya;
3. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Univeristas Jember.



**MOTTO**

*Dum spiro, spero!*

An everlasting reminder,  
that every day I am alive is a day to enjoy Allah's blessings,  
and also a day to always hope & believe.

(Fadhila Zidni Ilma)



**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Fadhila Zidni Ilma

NIM : 171610101093

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Potensi Kulit Buah Kopi Arabika (*Coffea arabica*) terhadap Peningkatan Ketebalan Epitel setelah Pencabutan Gigi Tikus Wistar” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana-pun, dan bukan 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, 27 Januari 2021

Yang menyatakan,

**Fadhila Zidni Ilma**

NIM 171610101093

**SKRIPSI**

**POTENSI KULIT BUAH KOPI ARABIKA (*Coffea arabica*) TERHADAP  
PENINGKATAN KETEBALAN EPITEL SETELAH  
PENCABUTAN GIGI TIKUS WISTAR**

Oleh

**Fadhila Zidni Ilma**

**NIM 171610101093**

**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*) terhadap Peningkatan Ketebalan Epitel setelah Pencabutan Gigi Tikus Wistar” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada:

hari, tanggal : Rabu, 27 Januari 2021

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Penguji Utama

Penguji Anggota

drg. Hengky Bowo Ardhiyanto, MDSc.  
NIP 197905052005011005

Dr. drg. Muhammad Nurul Amin, M.Kes.  
NIP 197702042002121002

Pembimbing Utama

Pembimbing Anggota

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*) terhadap Peningkatan Ketebalan Epitel setelah Pencabutan Gigi Tikus Wistar;** Fadhila Zidni Ilma, 171610101093; 2021; 84 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Di Indonesia, pencabutan gigi merupakan tindakan yang paling sering dilakukan dalam bidang kedokteran gigi. Indikator keberhasilan pencabutan gigi adalah terjadinya proses penyembuhan yang sempurna. Salah satu parameter keberhasilan proses penyembuhan luka adalah pembentukan epitel. Apabila epitelisasi terganggu dan soket tidak tertutup dengan baik, maka luka tidak dapat dikatakan sembuh.

Pemberian obat berbahan alam merupakan salah satu alternatif yang dapat digunakan dalam mempercepat terjadinya epitelisasi dalam proses penyembuhan luka. Berdasarkan penelitian sebelumnya, senyawa dalam kulit buah kopi arabika yang merupakan produk samping utama (limbah) dari proses pengolahan kopi, terbukti berpotensi dalam mempercepat proses penyembuhan luka. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi kulit buah kopi arabika terhadap ketebalan epitel pada proses penyembuhan luka soket setelah pencabutan gigi tikus Wistar.

Penelitian ini menggunakan pendekatan eksperimental laboratoris *in vivo* dengan rancangan penelitian *post test only control group design*. Sampel yang digunakan yaitu 24 ekor tikus Wistar yang terbagi dalam kelompok kontrol (K) dan perlakuan (P). Setiap sampel dilakukan pencabutan pada gigi molar satu rahang bawah kiri. Selanjutnya, pada kelompok kontrol dilakukan sondase dengan larutan *aquadest*, sedangkan pada kelompok perlakuan dilakukan sondase dengan bubuk kulit buah kopi arabika yang dilarutkan dengan air hangat. Sondase dilakukan setiap hari hingga hari ke-3 (K1, P1), ke-5 (K2, P2), dan ke-7 (K3, P3) setelah pencabutan gigi. Selanjutnya, hewan coba didekaputasi 24 jam setelah perlakuan terakhir, dan dilanjutkan dengan pemrosesan jaringan dengan arah pembedahan bukolingual serta pewarnaan jaringan menggunakan *Hematoxylin-Eosin* (HE). Pengamatan

dilakukan dengan bantuan OptiLab yang tersambung dengan mikroskop cahaya perbesaran 100X. Pengukuran ketebalan epitel diukur dari stratum basal hingga stratum korneum menggunakan aplikasi *software Image Raster*. Bagian yang diukur adalah bagian epitel tertebal dan tertipis pada epitel gingiva yang menutupi soket gigi. Pengukuran dilakukan oleh tiga pengamat, kemudian dihitung rerata ketebalan epitel yang terbentuk.

Data pengukuran yang telah didapat, dianalisis menggunakan uji normalitas dengan *Shapiro-Wilk*, serta uji homogenitas dengan *Levene-Test*. Hasilnya, data berdistribusi normal dan homogen. Selanjutnya, dilakukan uji paramterik menggunakan *One-Way ANOVA* dengan tingkat kepercayaan 95% ( $\alpha=0,05$ ), dan menunjukkan hasil yang signifikan. Artinya, terdapat perbedaan rata-rata ketebalan epitel yang bermakna pada semua kelompok. Kemudian, dilakukan uji *post-hoc* menggunakan *Least Significance Difference (LSD)* untuk mengetahui perebedaan bermakna pada tiap-tiap kelompok.

Hasil penelitian menunjukkan adanya peningkatan rerata ketebalan epitel pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Peningkatan ketebalan epitel pada kelompok kontrol menunjukkan adanya proses pembentukan epitel yang terjadi secara fisiologis. Kemudian, pada kelompok perlakuan juga menunjukkan adanya peningkatan ketebalan epitel yang terjadi karena pemberian kulit buah kopi arabika. Apabila dibandingkan, rerata ketebalan epitel pada kelompok perlakuan lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol. Rerata ketebalan epitel pada kelompok kontrol hari ke-5 telah tercapai pada kelompok perlakuan hari ke-3, yang artinya pemberian kulit buah kopi arabika dapat meningkatkan epitelisasi pada tahap awal penyembuhan luka. Kemudian, pada kelompok perlakuan hari ke-5 dan hari ke-7, proses epitelisasi hampir berjalan sempurna karena tidak mengalami peningkatan yang nyata. Penelitian ini berhasil membuktikan bahwa pemberian kulit buah kopi arabika (*Coffea arabica*) berpotensi meningkatkan ketebalan epitel soket setelah pencabutan gigi.

## PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Potensi Kulit Buah Kopi Arabika (*Coffea arabica*) terhadap Peningkatan Ketebalan Epitel setelah Pencabutan Gigi 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 lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

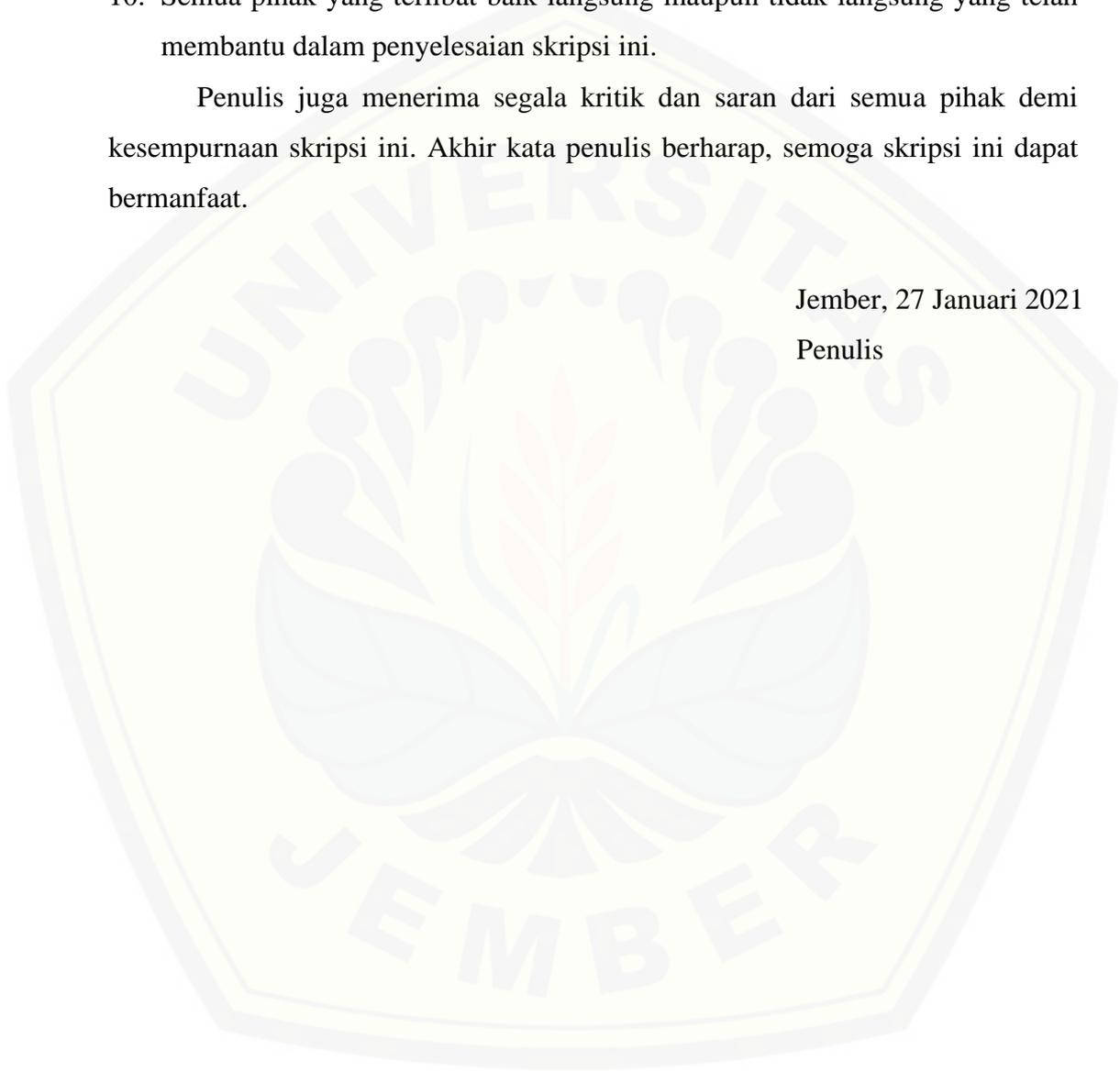
1. Allah SWT, karena berkat kuasa dan kehendak-Nya penulis diberi kekuatan jasmani dan rohani, kesabaran, ketabahan, kelancaran, dan kemudahan;
2. Orang tua tercinta, Ayahanda Awaluddin L dan Ibunda Intan Rahayu, serta ketiga adik ku, Muhammad Ariz Zaki, Najwa Hasna Mufida, dan Akmal Niyaz Hanafi yang tidak pernah berhenti memberikan segala macam dukungan, kasih sayang, doa, dan semangat dalam penyelesaian skripsi ini;
3. 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 sehingga skripsi ini terselesaikan;
4. drg. Hengky Bowo Ardhiyanto, MDSc selaku Dosen Penguji Ketua dan Dr. drg. Muhammad Nurul Amin, M.Kes selaku Dosen Penguji Anggota yang telah memberikan kritik dan saran demi kesempurnaan skripsi ini;
5. Dr. drg. Masniari Novita, M.Kes, Sp.OF(K) selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan bimbingan dan nasihat selama ini;
6. Analis Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Sri Wahyuningsih, A.Md yang telah meluangkan waktu dan membantu penelitian ini sehingga dapat berjalan lancar;
7. Sahabat sekaligus rekan satu penelitian, Kunti Sholihah dan Aisyah Izzatul Muna yang telah membantu dan menemani hingga terselesaikannya skripsi ini;

8. Partner perjuangan, Fahrian Sani Akbar, yang selalu ada untuk membantu, menemani, mendukung dan mendoakan;
9. Teman-teman angkatan 2017 (Dentition) yang tidak dapat disebutkan satu per satu atas segala kebersamaan dan kerja samanya;
10. Semua pihak yang terlibat baik langsung maupun tidak langsung yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini.

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

Jember, 27 Januari 2021

Penulis



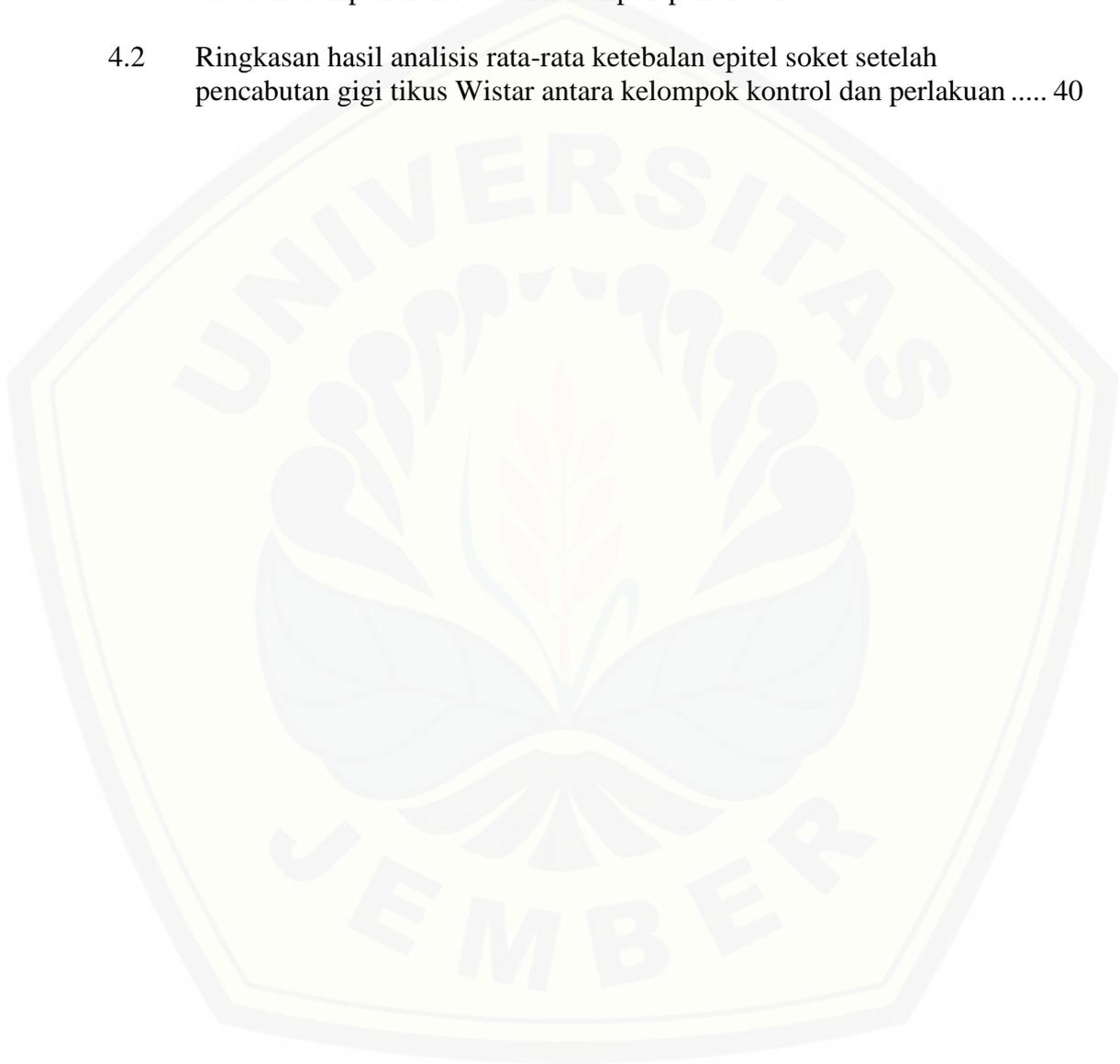
DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN .....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN MOTTO .....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN.....</b>	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PEMBIMBING .....</b>	<b>v</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN.....</b>	<b>vi</b>
<b>RINGKASAN .....</b>	<b>vii</b>
<b>PRAKATA .....</b>	<b>ix</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xv</b>
<b>BAB 1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Latar Belakang.....</b>	<b>1</b>
<b>1.2 Rumusan Masalah .....</b>	<b>3</b>
<b>1.3 Tujuan Penelitian.....</b>	<b>3</b>
<b>1.4 Manfaat Penelitian.....</b>	<b>3</b>
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>4</b>
<b>2.1 Pencabutan Gigi.....</b>	<b>4</b>
<b>2.2 Komplikasi Penyembuhan Luka Setelah Pencabutan Gigi .....</b>	<b>5</b>
<b>2.3 Penyembuhan Luka .....</b>	<b>6</b>
2.3.1 Mekanisme Penyembuhan Luka.....	6
2.3.2 Mekanisme Penyembuhan Luka Setelah Pencabutan Gigi.....	9
<b>2.4 Epitel .....</b>	<b>11</b>
2.4.1 Jaringan Epitel Gingiva .....	11
2.4.2 Mekanisme Re-epitelisasi Soket.....	13
<b>2.5 Kopi Arabika (<i>Coffea arabica</i>).....</b>	<b>16</b>
2.5.1 Taksonomi Kopi Arabika.....	16
2.5.2 Struktur Kopi Arabika .....	17
2.5.3 Keunggulan dan Kandungan Kulit Buah Kopi Arabika .....	18
<b>2.6 Kerangka Konsep.....</b>	<b>22</b>
<b>2.7 Keterangan Kerangka Konsep .....</b>	<b>22</b>
<b>2.8 Hipotesis.....</b>	<b>23</b>
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN.....</b>	<b>24</b>
<b>3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian .....</b>	<b>24</b>
<b>3.2 Tempat dan Waktu Penelitian .....</b>	<b>24</b>
3.2.1 Tempat Penelitian .....	24
3.2.2 Waktu Penelitian.....	24
<b>3.3 Variabel Penelitian.....</b>	<b>24</b>
3.3.1 Variabel Bebas .....	24

3.3.2 Variabel Terikat .....	25
3.3.3 Variabel Terkendali .....	25
<b>3.4 Definisi Operasional Penelitian .....</b>	<b>25</b>
3.4.1 Kulit Buah Kopi Arabika .....	25
3.4.2 Pencabutan Gigi .....	25
3.4.3 Ketebalan Epitel .....	26
<b>3.5 Sampel Penelitian.....</b>	<b>26</b>
3.5.1 Kriteria Sampel Penelitian .....	26
3.5.2 Besar Sampel .....	26
<b>3.6 Alat dan Bahan.....</b>	<b>27</b>
3.6.1 Alat Penelitian.....	27
3.6.2 Bahan Penelitian .....	28
<b>3.7 Konversi Perhitungan Dosis.....</b>	<b>29</b>
3.7.1 Dosis Bubuk Kulit Buah Kopi Arabika .....	29
3.7.2 Dosis Ketamin.....	29
<b>3.8 Prosedur Penelitian.....</b>	<b>30</b>
3.8.1 Identifikasi Tanaman dan <i>Ethical Clearance</i> .....	30
3.8.2 Persiapan Hewan Coba .....	30
3.8.3 Pembuatan Bubuk Kulit Buah Kopi Arabika .....	30
3.8.4 Perlakuan dan Pengelompokan Hewan Coba .....	31
3.8.5 Euthanasia Hewan Coba .....	32
3.8.6 Pembuatan Preparat Jaringan .....	32
3.8.7 Pengecatan Preparat Jaringan .....	34
3.8.8 Pengamatan dan Pengukuran Ketebalan Epitel .....	35
<b>3.9 Analisis Data.....</b>	<b>35</b>
<b>3.10 Alur Penelitian .....</b>	<b>36</b>
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>37</b>
4.1 Hasil Penelitian.....	37
4.2 Analisis Data.....	39
4.3 Pembahasan.....	41
<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>46</b>
5.1 Kesimpulan.....	46
5.2 Saran .....	46
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>47</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>54</b>

**DAFTAR TABEL**

	Halaman
4.1 Rata-rata ketebalan epitel soket setelah pencabutan gigi tikus Wistar antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan .....	38
4.2 Ringkasan hasil analisis rata-rata ketebalan epitel soket setelah pencabutan gigi tikus Wistar antara kelompok kontrol dan perlakuan .....	40



**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
2.1 Fase penyembuhan luka beserta sel-sel yang terlibat.....	7
2.2 Fase inflamasi.....	8
2.3 Fase proliferasi .....	9
2.4 Respon perbaikan jaringan setelah pencabutan gigi .....	10
2.5 Epitel gingiva. Garis putus-putus memisahkan <i>junctional epithelium</i> dari epitel oral (epitel gingiva) .....	12
2.6 Struktur epitel gingiva berkeratin pada manusia.....	13
2.7 Representasi detail kompleks <i>basement membrane zone</i> .....	16
2.8 Struktur buah kopi arabika ( <i>Coffea arabica</i> ) .....	17
2.9 Buah kopi dalam berbagai tahap kematangan (kiri ke kanan) .....	17
2.10 Buah kopi: <i>exocarp</i> , <i>mesocarp</i> , <i>endocarp</i> (kiri ke kanan).....	18
3.1 Pengukuran ketebalan lapisan epitel rongga mulut dari A hingga D; A = stratum basal dan D = stratum korneum.....	26
3.2 Alur penelitian.....	36
4.1 Gambaran histologis soket setelah pencabutan gigi molar satu bawah kiri dengan arah pemotongan bukolingual .....	37
4.2 Gambaran epitel gingiva yang menutupi soket gigi dengan perbesaran 100X .....	38
4.3 Histogram rata-rata ketebalan epitel soket kelompok kontrol dan kelompok perlakuan disertai dengan standar deviasi .....	39

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
3.1 Alat Penelitian .....	54
3.2 Bahan Penelitian.....	56
3.3 Tabel Konversi Dosis <i>Laurence-Bacharach</i> .....	57
3.4 Surat Keterangan Identifikasi Tanaman.....	58
3.5 Surat Keterangan <i>Ethical Clearance</i> .....	59
3.6 Surat Ijin Laboratorium Biomedik.....	60
3.7 Pembuatan Bubuk Kulit Buah Kopi Arabika.....	61
3.8 Perlakuan Hewan Coba.....	62
4.1 Gambaran Histologi Kelompok Kontrol dan Perlakuan .....	63
4.2 Tahapan Pengukuran Ketebalan Epitel Soket Menggunakan <i>Software Image Raster 3.0</i> .....	65
4.3 Hasil Pengukuran Ketebalan Epitel.....	66
4.4 Hasil Analisis Data.....	67

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Pencabutan gigi merupakan tindakan yang paling sering dilakukan dalam bidang kedokteran gigi. Menurut Riskesdas tahun 2018, jumlah tindakan pencabutan gigi lebih tinggi (7,8-8%) dibandingkan dengan pemberian perawatan tumpatan (6,6-6,8%). Pencabutan gigi biasanya dilakukan ketika perawatan konservasi gagal atau tidak diindikasikan. Tindakan pencabutan gigi yang dilakukan dikatakan berhasil apabila disertai proses penyembuhan yang sempurna (Tamara, 2014).

Proses penyembuhan terkadang mengalami masalah yang menyebabkan gagalnya penyembuhan luka. Masalah yang paling umum terjadi adalah *dry socket* (Tarakji dkk, 2015), dengan prosentase kejadian sebesar 35% dari seluruh kasus kegagalan penyembuhan luka setelah pencabutan gigi (Abu Younis dan Abu Hantash, 2011). *Dry socket* terjadi akibat adanya disintegrasi gumpalan darah oleh fibrinolisis (Abu Younis dan Abu Hantash, 2011) sehingga menyebabkan proses penyembuhan luka terganggu. Proses penyembuhan luka perlu diperhatikan untuk menghindari terjadinya *dry socket*.

Proses penyembuhan luka setelah pencabutan gigi terdiri dari beberapa fase, yaitu fase inflamasi, proliferasi, dan remodeling (Nanci, 2018; dan Throne, 2014). Fase proliferasi merupakan salah satu tahapan terpenting dalam proses penyembuhan luka. Pada fase proliferasi, jaringan epitel yang rusak akan mengalami proses re-epitelisasi. Re-epitelisasi adalah tahap di mana terjadi migrasi, mitosis, dan diferensiasi sel epitel. Tahap-tahap ini akan mengembalikan integritas mukosa yang hilang (Apriasari dkk, 2015). Terbentuknya epitel merupakan parameter keberhasilan penyembuhan luka setelah pencabutan gigi (Jati, 2014). Ketika proses epitelisasi tidak terjadi, luka tidak dapat dianggap sembuh (Pastar dkk 2014).

Proses penyembuhan luka dapat dilakukan salah satunya dengan pemberian obat tradisional berbahan alam. Menurut Riskesdas tahun 2018, sebanyak 31,5%

penduduk Indonesia menggunakan pelayanan kesehatan tradisional dalam mengatasi gangguan penyakitnya. Secara nasional, penduduk Jawa Timur adalah daerah yang paling banyak menggunakan ramuan obat (48,3%). Obat tradisional berbahan alam lebih banyak dipilih karena dianggap lebih murah dengan efek samping yang juga dianggap lebih sedikit (Hussana dkk, 2016).

Salah satu bahan alam yang berpengaruh dalam proses penyembuhan luka adalah kulit buah kopi arabika. Penelitian sebelumnya oleh Masruri dkk (2019), menunjukkan bahwa kandungan senyawa dalam kulit buah kopi arabika terbukti berpotensi dalam meningkatkan jumlah sel fibroblas pada luka setelah pencabutan gigi. Fibroblas merupakan sel yang berperan dalam penyembuhan luka karena bertanggung jawab selama proses rekonstruksi jaringan (Throne, 2014). Senyawa dalam kulit buah kopi arabika, sebagian besar tersusun atas flavonoid (Ramirez-Coronel dkk, 2004), tanin terkondensasi (proantosianidin) (Esquivel dan Jiménez, 2011), dan asam klorogenat (Ameca dkk, 2018), yang memiliki efek antiinflamasi, antioksidan dan antibakteri dalam mempercepat proses penyembuhan luka.

Kulit buah kopi arabika merupakan bahan yang mudah didapatkan. Hal ini dikarenakan, produk samping utama (limbah) yang dihasilkan dari pengolahan kopi adalah kulit buah kopi (Torres-Valenzuela dkk, 2019). Setiap 2 ton kopi yang diproduksi dapat diperoleh 1 ton kulit buah kopi (Blenová dkk, 2017). Jenis kulit buah kopi yang banyak didapatkan adalah kulit buah kopi arabika karena kopi ini memenuhi 80% produksi kopi di dunia (Patay dkk, 2016). ICO (*International Coffee Organization*) juga mencatat bahwa jenis kopi yang paling banyak dikonsumsi adalah kopi arabika. Produksi kopi arabika di Indonesia menurut Direktur Jendral Perkebunan adalah sebanyak 147 ribu ton. Jumlah ini terbilang cukup tinggi dan dapat menghasilkan suatu limbah yang akan menyebabkan polusi.

Berdasarkan hal-hal di atas, peneliti ingin menguji potensi kulit buah kopi arabika terhadap peningkatan ketebalan epitel pada proses penyembuhan luka soket setelah pencabutan gigi tikus Wistar.

## 1.2 Rumusan Masalah

Apakah kulit buah kopi arabika berpotensi meningkatkan ketebalan epitel soket setelah pencabutan gigi tikus Wistar?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi kulit buah kopi arabika terhadap peningkatan ketebalan epitel pada proses penyembuhan luka soket setelah pencabutan gigi tikus Wistar.

## 1.4 Manfaat Penelitian

1. Memberikan informasi ilmiah mengenai pengaruh pemberian kulit buah kopi arabika terhadap peningkatan ketebalan epitel soket setelah pencabutan gigi.
2. Memberikan informasi ilmiah mengenai pengaruh pemberian kulit buah kopi arabika dalam mempercepat proses penyembuhan luka setelah pencabutan gigi.
3. Menjadi bahan referensi ilmiah untuk pengembangan riset selanjutnya mengenai penyembuhan luka soket setelah pencabutan gigi.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Pencabutan Gigi

Pencabutan gigi merupakan proses pengeluaran gigi dari tulang alveolar, dimana gigi tersebut sudah tidak dapat dipertahankan lagi (Hasan, 2012). Tindakan pencabutan gigi merupakan tindakan terakhir yang dilakukan apabila tidak ada cara lain untuk mempertahankan gigi di dalam rahang (Sitanaya, 2016). Pencabutan gigi dapat dilakukan apabila perawatan konservasi gagal atau tidak diindikasikan (Howe, 1999).

Pada dasarnya hanya ada dua cara pencabutan gigi. Cara pertama yang sering dilakukan pada kebanyakan kasus, biasanya disebut *forcep extraction* atau pencabutan dengan tang. Metode ini digambarkan sebagai pencabutan *intra-alveolar* (Howe, 1999). Pencabutan *intra-alveolar* adalah pencabutan gigi atau akar gigi dengan menggunakan tang atau *bein* atau kedua alat tersebut. Dalam metode ini, *blade* atau instrumen yaitu tang atau *bein* ditekan masuk ke dalam ligamen periodontal diantara akar gigi dengan dinding tulang alveolar. Bila akar telah berpegang kuat oleh tang, dilakukan gerakan kearah bukolingual atau bukopalatal dengan maksud menggerakkan gigi dari soketnya. Gerakan rotasi kemudain dilakukan setelah dirasakan gigi agak goyang. Tekanan dan gerakan yang dilakukan haruslah merata sehingga fraktur dapat dihindari (Sitanaya, 2016).

Metode pencabutan gigi yang lain adalah dengan mengambil sebagian tulang penyangga gigi (Sitanaya, 2016). Teknik ini sering disebut 'metode bedah', tapi karena semua pencabutan gigi yang dilakukan adalah prosedur bedah, istilah yang lebih akurat dan lebih baik adalah pencabutan *trans-alveolar* (Howe, 1999). Metode ini digunakan pada kasus gigi yang mengalami hipersementosis atau ankilosis, gigi giminasi atau dilaserasi, dan pada sisa akar yang tidak dapat dipegang dengan tang atau dikeluarkan dengan *bein* (Sitanaya, 2016).

## 2.2 Komplikasi Penyembuhan Luka Setelah Pencabutan Gigi

Komplikasi yang paling umum dalam penyembuhan luka pencabutan adalah *alveolar osteitis*, atau yang umumnya dikenal sebagai *dry socket*. Dikatakan demikian karena setelah bekuan darah (*clot*) hilang, soket memiliki penampakan yang kering (*dry*) akibat tulang yang terbuka. Keadaan ini umum terjadi pada wanita, pasien usia 40-45 tahun, individu yang mengonsumsi tembakau, atau paling sering dikaitkan dengan pencabutan (Sivapathasundhara, 2016). Jenis komplikasi pencabutan ini biasanya terkait dengan pencabutan gigi molar tiga yang impaksi dan gigi molar mandibula (Tarakji dkk, 2015). Frekuensi yang dilaporkan tentang terjadinya *dry socket* adalah sebesar 1-4% dari semua kasus pencabutan gigi (Sivapathasundhara, 2016). Penelitian lain menyebutkan, *dry socket* menyumbang sebesar 35% prosentase kegagalan penyembuhan luka setelah pencabutan gigi (Abu Younis dan Abu Hantash, 2011).

*Dry socket* terjadi akibat disintegrasi gumpalan darah oleh fibrinolisis (Abu Younis dan Abu Hantash, 2011). Walaupun etiologi spesifik dari *dry socket* belum dipelajari secara pasti, fibrinolisis adalah salah satu penyebab utama terjadinya disintegrasi gumpalan darah pada *dry socket* (Jallo dkk, 2019). Aktivator fibrinolisis dibebaskan dari tulang alveolar dan jaringan mulut lainnya ketika tulang alveolar mengalami trauma. Aktivitas ini dianggap bertanggung jawab atas kehilangan bekuan darah (*clot*) prematur dan nyeri hebat yang terjadi pada *dry socket*. Lisis atau rusaknya *clot* terjadi oleh dua mekanisme: jalur *plasminogen-dependent* dan jalur *plasminogen-independent*. Plasminogen disintesis dan dilepaskan ke dalam sirkulasi. Setelah itu, berubah menjadi plasmin yang pada gilirannya bertindak pada fibrinogen dan fibrin, menyebabkan rusaknya *clot*. Komplikasi ini biasanya muncul dalam beberapa hari pertama setelah pencabutan, tetapi dapat juga terjadi seminggu atau lebih (7-10 hari) setelah pencabutan. Adanya bakteri anaerob dapat memperparah keadaan *dry socket*. Soket yang terpapar dapat berisi sisa makanan yang memberikan bau busuk (Sivapathasundhara, 2016).

Beberapa peneliti telah menyarankan, komplikasi dalam penyembuhan luka soket dapat secara signifikan dihilangkan atau setidaknya dikurangi insiden dan tingkat keparahannya dengan memasukkan suatu agen dalam soket gigi pada saat

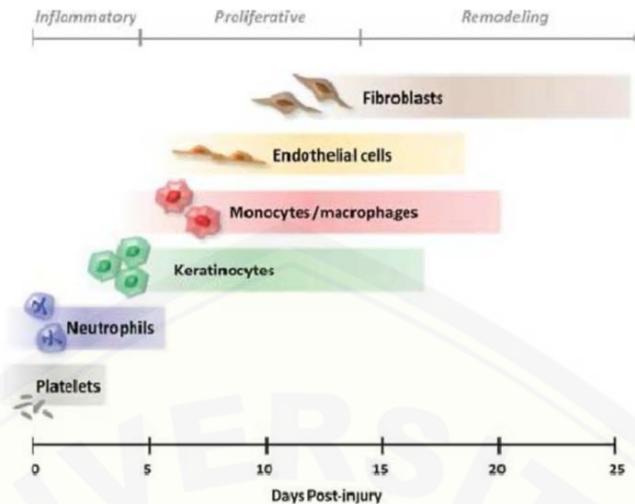
pencabutan. Beberapa agen yang telah digunakan, dianggap mempercepat pembentukan bekuan darah, melindungi soket dari infeksi bakteri dan mempromosikan penyembuhan soket. Berbagai agen yang digunakan dalam studi eksperimental pada hewan dan studi klinis pada manusia umumnya merupakan zat antibakteri (Sivapathasundhara, 2016).

### **2.3 Penyembuhan Luka**

Penyembuhan merupakan suatu proses penggantian jaringan yang mati atau rusak dengan jaringan baru dan sehat oleh tubuh dengan cara regenerasi. Penyembuhan luka merupakan suatu proses yang kompleks karena berbagai kegiatan bio-seluler dan bio-kimia yang terjadi secara berkesinambungan. Penggabungan respon vaskuler, aktivitas seluler dan terbentuknya bahan kimiawi sebagai substansi mediator di daerah luka merupakan komponen yang saling terkait pada proses penyembuhan luka (Meilawaty, 2012).

#### **2.3.1 Mekanisme Penyembuhan Luka**

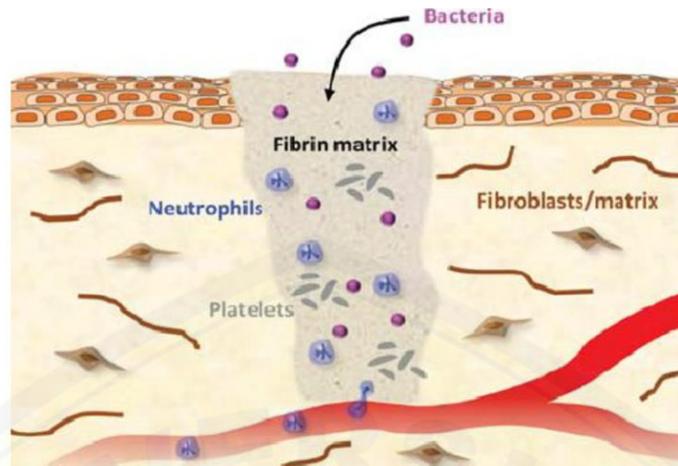
Respon penyembuhan luka terjadi dalam tiga fase yang tumpang tindih tetapi berbeda secara biologis. Tiga fase ini yaitu fase inflamasi, fase proliferasi dan fase remodeling. Pada tiap fase memiliki sel-sel khas yang terlibat (Gambar 2.1). Setelah cedera awal, terjadi fase inflamasi, tujuannya adalah untuk menghilangkan jaringan yang rusak dan mencegah infeksi yang invasif. Selanjutnya, fase proliferasi di mana keseimbangan antara pembentukan bekas luka dan regenerasi jaringan terjadi. Terakhir adalah fase remodeling, tujuan utamanya adalah memaksimalkan kekuatan dan integritas struktural luka (Throne, 2014). Luka dinyatakan sembuh apabila permukaannya bersatu kembali dan didapatkan kekuatan jaringan seperti pada kondisi normal (Miloru, 2004).



Gambar 2.1 Fase penyembuhan luka beserta sel-sel yang terlibat (Throne, 2014)

### 1. Fase Inflamasi

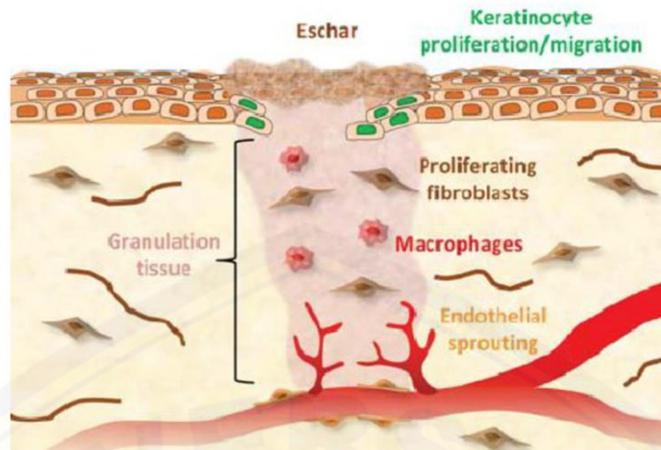
Fase inflamasi dari penyembuhan luka dimulai segera setelah luka terjadi dan berfungsi untuk mencapai hemostasis, mengangkat jaringan yang rusak, dan mencegah infeksi invasif oleh mikroba patogen terutama bakteri. Dalam mencapai hemostasis, komponen jaringan yang terluka bertindak untuk mencegah perdarahan yang sedang berlangsung. Selama proses ini, trombosit (*platelets*) mengalami degranulasi untuk melepaskan faktor pertumbuhan seperti *platelet-derived growth factor* (PDGF) dan *transforming growth factor*  $\beta$  (TGF- $\beta$ ). Akhir dari proses ini menghasilkan perubahan fibrinogen menjadi fibrin. Selanjutnya, selama 2 hari pertama, terdapat infiltrasi neutrofil ke dalam matriks fibrin yang mengisi rongga luka. Peran utama sel ini adalah untuk mengangkat jaringan mati dengan fagositosis dan mencegah infeksi. Neutrofil juga melepaskan berbagai macam protease untuk mendegradasi ECM (*extraceluller matrix*) yang tersisa untuk mempersiapkan penyembuhan (Thorne, 2014). Sel-sel ini mencapai konsentrasi maksimum sekitar 24 jam dan memiliki rentang hidup yang pendek di lokasi luka sebelum mereka mati. Makrofag dan leukosit mononuklear lainnya memasuki luka setelah 24 jam (Nanci, 2018). Monosit/makrofag muncul pada 48-72 jam setelah luka mengikuti neutrofil. Hari ke-3 setelah luka, sel-sel tersebut adalah tipe sel yang dominan dalam luka penyembuhan. Limfosit adalah sel terakhir yang memasuki daerah luka dan masuk antara hari 5 dan 7 setelah luka (Throne, 2014).



Gambar 2.2 Fase inflamasi (Throne, 2014)

## 2. Fase Proliferasi

Fase proliferasi penyembuhan luka terjadi dari hari ke-4 hingga hari ke-2. Pada fase ini, terjadi proses pembentukan luka (epitelisasi) (Throne, 2014; dan Rupina dkk, 2016). Epitelisasi adalah tahapan perbaikan luka dimana terjadi migrasi keratinosit, proliferasi keratinosit, dan diferensiasi neoepitel menjadi epitel berlapis-lapis (Rupina, 2016). Selama fase ini keratinosit bermigrasi untuk memperbaiki kontinuitas epitel. Keratinosit yang berdekatan dengan daerah luka mengubah fenotip mereka dalam beberapa jam setelah kerusakan jaringan. Keratinosit kemudian berpindah melalui interaksi dengan protein ECM (seperti fibronectin, vitronectin, dan kolagen tipe I) menggunakan mediator integrin spesifik. Selain itu, pada fase ini jaringan granulasi mulai mengisi daerah luka. Jaringan granulasi muncul pada luka sekitar hari ke-4 setelah terjadi kerusakan. Jaringan granulasi sebagian besar terdiri dari tiga jenis sel yang memainkan peran penting, yaitu fibroblas, makrofag, dan sel endotel. Fibroblas menghasilkan ECM yang mengisi daerah luka dan menyediakan struktur untuk migrasi keratinosit. Makrofag terus menghasilkan faktor-faktor pertumbuhan seperti PDGF dan TGF- $\beta$ 1 yang menginduksi fibroblast untuk berkembang biak, bermigrasi, dan menyimpan ECM, serta merangsang sel-sel endotel. Sel-sel endotel adalah komponen penting dari jaringan granulasi yang berfungsi membentuk pembuluh darah baru melalui angiogenesis (Throne, 2014).



Gambar 2.3 Fase proliferasi (Throne, 2014)

### 3. Fase Remodeling

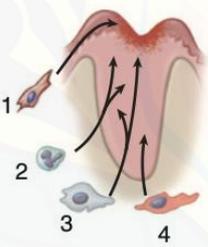
Fase remodeling pada manusia diperkirakan berlangsung dari 21 hari hingga 1 tahun dan fase ini merupakan komponen terbesar dari penyembuhan luka. Setelah luka telah diisi dengan jaringan granulasi dan setelah migrasi keratinosit telah selesai dalam proses epitelisasi, proses remodeling luka terjadi. Remodeling pada manusia ditandai dengan proses kontraksi luka dan pembentukan kolagen. Kolagen tipe III pada awalnya diproduksi oleh fibroblas selama fase proliferasi, tetapi selama beberapa minggu hingga bulan ke depan akan digantikan oleh kolagen tipe I (Throne, 2014).

#### 2.3.2 Mekanisme Penyembuhan Luka Setelah Pencabutan Gigi

Salah satu luka mulut yang paling umum adalah luka soket setelah pencabutan gigi (Larjava, 2012). Luka akibat pencabutan gigi berbeda dari luka insisi atau luka mukosa karena kehilangan jaringan lunak yang banyak. Meski begitu, dalam proses perbaikan jaringan memiliki mekanisme dasar yang sama (Nanci, 2018). Luka soket gigi secara fisiologis mengalami proses penyembuhan yang terdiri atas penyembuhan jaringan lunak (ligamentum periodontal, gingiva) dan penyembuhan jaringan keras (tulang alveolar) (Ningsih, 2019; dan Larjava, 2012).

Penyembuhan luka dalam soket mengikuti prinsip-prinsip yang sama dengan penyembuhan jaringan lunak kecuali jika melibatkan penyembuhan tulang,

yaitu (1) pembekuan darah, (2) epitelisasi, (3) pembentukan jaringan granulasi dan (4) pembentukan tulang (Gambar 2.4). Beberapa menit setelah pencabutan gigi, gumpalan darah terbentuk pada soket (Larjava, 2012). Jaringan yang mengalami kerusakan diisi oleh *blood clot*/gumpalan darah (respons hemostatik). Terkadang bekuan darah bisa lepas; ketika ini terjadi, infeksi dapat mengintervensi dan menyebabkan *dry socket* (Nanci, 2018).

Respon perbaikan setelah pencabutan gigi	
Respon hemostatik: 	Soket dipenuhi dengan <i>clot</i>
Respon epitelial:	1. Proliferasi dan migrasi sel untuk epitelisasi soket
Respon inflamatori:	2. Respon <i>polymorph</i>
	3. Respon makrofag
	4. Sel dengan potensi osteogenik menginvasi <i>clot</i> dari sumsum tulang yang berdekatan
Fase proliferasi dan sintesis:	Osteoblas baru berdiferensiasi dan berproliferasi, serta membentuk tulang baru untuk mengisi daerah pencabutan
	

Gambar 2.4 Respon perbaikan jaringan setelah pencabutan gigi (Nanci, 2018)

Selanjutnya, epitelisasi dimulai pada luka jaringan lunak (Larjava, 2012). Sel-sel epitel yang berbatasan dengan soket mulai berkembang biak dan bermigrasi melintasi gumpalan darah. Di dalam gumpalan darah, respon inflamasi terjadi, melibatkan neutrofil dan kemudian makrofag (Nanci, 2018). Netrofil sebagian besar digantikan oleh makrofag yang berfungsi untuk membersihkan tepi luka dari sel-sel yang rusak serta pecahan fibrin (Meilawaty, 2012). Fase proliferasi dimulai

pada hari ke-3 sesudah terjadinya jejas, ditandai dengan terbentuknya jaringan granulasi (Budi dkk, 2017). Jaringan granulasi terbentuk dan dalam seminggu telah menggantikan gumpalan darah (Larjava, 2012). Setelah  $\pm 10$  hari soket terepitelisasi (Nanci, 2018). Tahap selanjutnya berbeda dari penyembuhan pada jaringan lunak (Larjava, 2012). Fase proliferasi dan sintesis yang terjadi berbeda karena sel-sel yang menginvasi bekuan darah bukan fibroblas tetapi sel-sel dari sumsum tulang yang berdekatan yang memiliki potensi osteogenik (Nanci, 2018). Sel-sel osteogenik dari bagian bawah dan dinding soket diinduksi untuk bermigrasi ke jaringan granulasi. Sel-sel tersebut berdiferensiasi dan memulai pengendapan tulang. Sel punca mesenkim yang direkrut secara lokal bersama dengan sel yang berasal dari sumsum tulang, diinduksi untuk diferensiasi osteogenik oleh sitokin dan faktor pertumbuhan yang dilepaskan secara lokal oleh trombosit dan sel-sel inflamasi serta sel-sel tulang. Selain itu, luka merangsang aktivitas osteoklastik dan remodeling pada dinding soket, yang mana merupakan proses melepaskan faktor pertumbuhan dan sitokin seperti TGF- $\beta 1$  dan sum-sum tulang yang disimpan dalam matriks tulang (Larjava, 2012).

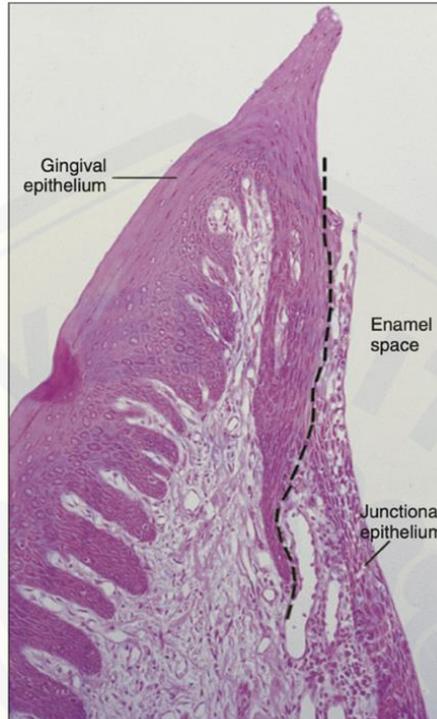
Pembentukan tulang dimulai sekitar 10 hari setelah pencabutan gigi; pada 10 hingga 12 minggu daerah pencabutan tidak dapat lagi dibedakan (Nanci, 2018). Sebagian besar soket diisi dengan tulang dalam waktu 8 minggu setelah pencabutan. Namun, remodeling tulang terus berlanjut, seringkali selama 6 bulan atau lebih, tergantung dari variasi individu (Larjava, 2012).

## 2.4 Epitel

### 2.4.1 Jaringan Epitel Gingiva

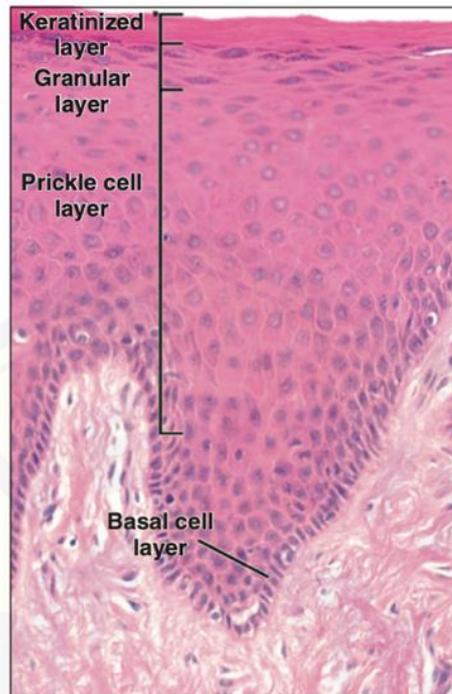
Mukosa rongga mulut secara umum tersusun dari epitel (tipe *stratified squamous*/epitel pipih berlapis) dan jaringan ikat yang dipisahkan oleh *basement membrane*. Mukosa rongga mulut diklasifikasikan berdasarkan kriteria fungsional menjadi tiga jenis yaitu: 1) *Masticatory mucosa* (gingiva dan palatum durum); 2) *Lining mucosa* (bibir, pipi, mukosa alveolar, dasar mulut dan palatum mole); serta 3) *Specialized mucosa* (dorsum lidah dan *taste bud*) (Kumar, 2015). Jaringan epitel gingiva (Gambar 2.5) termasuk jenis *masticatory mucosa*. Mukosa ini terikat erat

oleh lamina propria ke tulang di bawahnya, dan epitel yang menutupi berkeratin agar mampu menahan tekanan selama pengunyahan (Nanci, 2018).



Gambar 2.5 Epitel gingiva. Garis putus-putus memisahkan *junctional epithelium* dari epitel oral (epitel gingiva) (Nanci, 2018)

Epitel berkeratin tersusun dari empat lapisan atau strata yaitu stratum basal, spinosum, granulosum dan superfisial (Gambar 2.6) (Kumar, 2015). Lapisan basal atau stratum basal adalah lapisan sel berbentuk kuboid atau kolumnar yang berdekatan dengan lamina basal. Di atas lapisan basal terdapat beberapa baris sel elips atau bola yang lebih besar yang dikenal sebagai lapisan sel *prickle* atau stratum spinosum. Lapisan sel basal dan *prickle* merupakan setengah hingga dua pertiga dari ketebalan epitel. Lapisan berikutnya terdiri dari sel-sel besar pipih yang mengandung butiran-butiran kecil yang terwarnai dengan pewarna asam seperti *hematoxylin* (bersifat basofilik). Lapisan ini adalah lapisan granular, atau stratum granulosum, dan butirannya disebut butiran keratohyalin. Lapisan superfisial terdiri dari sel-sel datar (skuamosa) yang terwarnai merah muda cerah dengan pewarna histologis eosin (tampak eosinofilik). Sel-sel ini tidak mengandung inti apa pun. Lapisan ini disebut juga sebagai lapisan keratin atau stratum korneum. Nama-nama lain yang kadang digunakan adalah lapisan *cornified* dan *horny layer* (Nanci, 2018).



Gambar 2.6 Struktur epitel gingiva berkeratin pada manusia (Nanci, 2018)

#### 2.4.2 Mekanisme Re-epitelisasi Soket

Epitelisasi merupakan salah satu parameter keberhasilan penyembuhan luka (Jati, 2014). Ketika proses epitelisasi tidak terjadi, luka tidak dapat dianggap sembuh (Pastar dkk 2014). Re-epitelisasi berperan dalam mengembalikan integritas jaringan ketika terjadi luka pencabutan gigi (Garrant, 2003). Semakin cepat re-epitelisasi semakin cepat luka ditutup sehingga penyembuhan luka juga menjadi cepat (Apriasari dkk, 2015).

Ketika cedera terjadi, akan terjadi kehilangan atau kerusakan jaringan epitel secara terus menerus. Jaringan epitel yang rusak akan mengalami proses re-epitelisasi yang merupakan proses perbaikan sel epitel sehingga luka tertutup. Re-epitelisasi adalah tahap di mana terjadi migrasi, mitosis, dan diferensiasi sel epitel. Tahap-tahap ini akan mengembalikan integritas mukosa yang hilang (Apriasari dkk, 2015).

Segera setelah luka terjadi, keratinosit epitel menjadi aktif melalui paparan dari (1) molekul *pro-migratory matrix* dalam lokasi luka, (2) faktor pertumbuhan dan sitokin yang dilepaskan oleh sel-sel inflamasi, serta dari gumpalan darah dan matriks ekstraseluler disekitarnya, dan (3) medan listrik yang dihasilkan luka.

Keratinosit dari lapisan basal melekat melalui hemidesmosom. Di dalam epitel, keratinosit membentuk lapisan rapat dengan menghubungkan dirinya ke sel-sel tetangga dengan adhesi sel-sel khusus, yaitu desmosom, *adherens junction* dan *gap junction* (Larjava, 2012).

Setelah aktif, keratinosit melepaskan kontak antara hemidesmosom dengan membran dasar (Larjava, 2012). Hemidesmosom yang menghubungkan membran basal ke lapisan basal keratinosit perlu dilepas untuk memungkinkan migrasi (Pastar dkk, 2014). Keratinosit secara normal baru mulai bergerak ke area luka kira-kira 24-48 jam pasca terjadinya luka yaitu setelah terjadi degradasi hemidesmosom dan membran basalis pada tepi luka (Tsuchiya dkk, 1996). Koneksi desmosom lateral antara tepi luka keratinosit juga menurun. Meskipun demikian, beberapa koneksi sel-sel desmosom diperlukan untuk epitelisasi yang optimal. Komunikasi sel antar keratinosit yang berdekatan dengan luka melalui *gap junction* juga berkurang melalui peningkatan fosforilasi connexin43, protein struktural utama dari epithelial *gap junction*. Penurunan connexin43, ditepi luka menjadi prasyarat untuk mobilisasi keratinosit selama penyembuhan luka (Larjava, 2012).

Morfologi keratinosit berubah dari keratinosit basal yang terpolarisasi menjadi rata dan memanjang saat diasumsikan sebagai fenotip migrasi (Larjava, 2012). Sel epitel di sekeliling area luka berubah fenotipnya dari bersifat stasioner menjadi migratori karena terpapar *provisional extracellular matrix* (Tsuchiya dkk, 1996). Faktor penting yang berperan dalam tahap ini adalah keberadaan fibrin, kolagen dan fibronektin yang merupakan sinyal bagi sel epitel untuk melakukan pembelahan dan migrasi (Ningsih dkk, 2019). Berbagai regulator seperti faktor pertumbuhan dan sitokin, integrin, keratin, *matrix metalloproteinases* (MMPs), kemokin, dan makromolekul ekstraseluler memodulasi terjadinya migrasi keratinosit (Pastar dkk, 2014).

Selapis epithelium akan menutupi luka dalam 48 jam dimulai dengan mitosis sel basal. Epitel sel basal lepas dari dasarnya, pindah menutupi dasar luka dan tempatnya diisi hasil mitosis sel lain. Proses migrasi epitel hanya berjalan ke permukaan yang rata atau lebih rendah, yaitu proliferasi epitel meluncur keluar dari tepi luka dengan gerakan amoeboid yang khas dengan menggunakan pita-pita fibrin

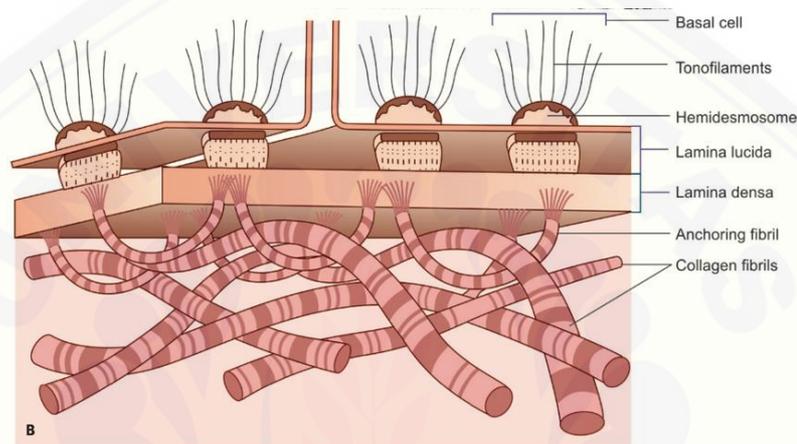
dan komponen matriks ekstra sel seperti fibronektin sebagai pemandu jalur dan perjalanannya (Meilawaty, 2012). Migrasi sel epitel akan berhenti jika sel epitel tersebut sudah berkontak dengan sel epitel lainnya dalam segala arah (*contact inhibition*) (Ningsih dkk, 2019) dan membran basal telah terbentuk (Velnar dkk, 2009).

Setelah migrasi, keratinosit basal yang berdekatan dengan bagian epitel yang bermigrasi mulai berproliferasi 48-72 jam setelah perlukaan (Larjava, 2012). Menurut Singer dan Clark (1999), dua hari setelah perlukaan, keratinosit mulai aktif berproliferasi yang distimulasi oleh pelepasan *epidermal growth factor* (EGF), *transforming growth factor- $\alpha$*  (TGF- $\alpha$ ), dan *keratinocyte growth factor* (KGF). Saat terbentuk membran basal baru, maka fenotip keratinosit akan kembali pada fenotip *stationary* dan mulai aktif berproliferasi. Proliferasi maksimal keratinosit terjadi 48-72 jam setelah perlukaan (Deodhar dan Rana, 1997). Keratinosit mulai berproliferasi untuk memastikan pasokan sel yang cukup dalam membungkus luka. Pengaturan proliferasi keratinosit tergantung pada ketersediaan faktor pertumbuhan, derajat diferensiasi sel, dan perlekatan sel pada substrat. Hanya keratinosit basal yang memiliki kemampuan berproliferasi, sedangkan keratinosit yang berdiferensiasi akhir di lapisan suprabasal kehilangan kemampuannya (Pastar, 2014).

TGF- $\beta$  bertindak sebagai regulator penting dalam mengembalikan keratinosit teraktivasi menjadi fenotip sel basal dengan menginduksi penanda spesifik sel basal K5 dan K14 dan mengurangi proliferasi. Ekspresinya saat terjadi luka telah terbukti menginduksi pembentukan jaringan granulasi dan diferensiasi miofibroblas yang memfasilitasi kontraksi matriks kolagen dan penutupan luka (Pastar dkk, 2014). Kolagen tipe III diekspresikan maksimal oleh fibroblas antara hari ke-5 dan ke-7, setelah itu akan terjadi perubahan fenotip fibroblas menjadi miofibroblas (Rupina dkk, 2016). Pada hari ke-7 sampai ke-9 epitelisasi dan *basement membrane zone* (BMZ) sudah terbentuk (Rupina dkk, 2016).

BMZ adalah zona dengan lebar 1 hingga 4  $\mu$ m dan relatif bebas sel. Secara ultrastruktural, membran basal disebut sebagai basal lamina (Gambar 2.7). Lamina terdiri dari zona bening (*lamina lucida*) tepat di bawah sel epitel dan zona gelap

(*lamina densa*) di luar lamina lucida berdekatan dengan jaringan ikat. *Lamina densa* mengandung kolagen tipe IV yang dilapisi dengan heparin sulfat. *Lamina lucida* juga mengandung kolagen tipe IV dan telah terbukti mengandung laminin dan antigen pemfigoid bulosa. Laminin dan kolagen tipe IV meningkatkan pertumbuhan sel epitel. BMZ mempromosikan terjadinya diferensiasi. Mereka juga mempromosikan regenerasi dan pertumbuhan saraf perifer, dan cenderung mencegah metastasis (Kumar, 2015).



Gambar 2.7 Representasi detail kompleks *basement membrane zone* (Kumar, 2015)

## 2.5 Kopi Arabika (*Coffea arabica*)

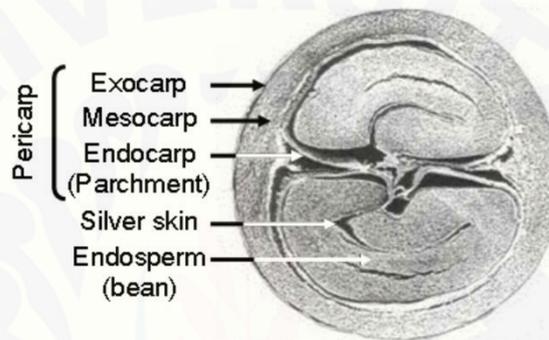
### 2.5.1 Taksonomi Kopi Arabika

Nama ilmiah *Coffea arabica* dicetuskan oleh seorang botanis bernama Linnaeus karena mengira kopi ini berasal dari Arab. Berikut sistematika tanaman kopi arabika berdasarkan klasifikasi secara botani:

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Ordo	: <i>Gentianacea</i>
Famili	: <i>Rubiaceae</i>
Genus	: <i>Coffea</i>
Spesies	: <i>Coffea arabica</i> (Rahardjo, 2012).

### 2.5.2 Struktur Kopi Arabika

Kopi memiliki buah yang sering disebut sebagai *berry* atau *cherry coffee* karena wujudnya mirip dengan buah cheri (Pérez-Sariñana dan Saldaña-Trinidad, 2017; Esquivel dan Jiménez, 2011). Struktur buah kopi arabika (Gambar 2.8) terdiri dari dua bagian, *pericarp* dan biji buah kopi. *Pericarp* merupakan susunan tiga lapisan terluar dari buah kopi yaitu *exocarp*, *mesocarp*, dan *endocarp*. Sementara biji buah kopi arabika terdiri dari dua bagian yaitu *perisperm* (*silver skin*) dan *endosperm* (De Castro dan Marraccini, 2006; Pérez-Sariñana dan Saldaña-Trinidad, 2017).



Gambar 2.8 Struktur buah kopi arabika (*Coffea arabica*) (De Castro dan Marraccini, 2006)

Berikut adalah penjelasan komponen buah kopi arabika menurut Torz dan Macatonia (2016) serta Pérez-Sariñana dan Saldaña-Trinidad (2017):

1. Lapisan kulit luar (*exocarp*): kulit ini adalah lapisan terluar dari buah kopi. Kulit buah kopi berwarna hijau saat belum matang kemudian berubah menjadi merah jika buah telah matang dan siap dipanen (Gambar 2.9). Rasa dari kulit buah kopi ini biasanya pahit. Kulit buah kopi memiliki permukaan yang tebal sebagai perlindungan dari serangan hama, serangga, dan penyakit yang biasanya menyerang tanaman kopi.



Gambar 2.9 Buah kopi dalam berbagai tahap kematangan (kiri ke kanan) (Torz dan Macatonia, 2016)

2. Daging buah kopi (*mesocarp*): istilah daging buah (*pulp*) terkadang hanya merujuk pada bagian *mesocarp*. Namun, istilah ini dapat mengacu pada kombinasi dari bagian *exocarp* dan *mesocarp*. Lapisan ini memiliki rasa sangat manis dan teksturnya menyerupai buah anggur. Bagian ini biasanya berfungsi sebagai penyubur pada buah yang berkembang sebelum matang. Lapisan *mesocarp* dapat juga disebut sebagai getah dan melekat pada kulit bagian dalam.
3. Lapisan kulit tanduk/ *parchment* (*endocarp*): merupakan lapisan keras yang melindungi biji kopi secara menyeluruh pada kedua buah biji kopi. Lapisan *parchment* ini berfungsi sebagai ‘payung’ yang melindungi biji kopi dari sinar matahari langsung.



Gambar 2.10 Buah kopi: *exocarp*, *mesocarp*, *endocarp* (kiri ke kanan) (Pérez-Sariñana dan Saldaña-Trinidad, 2017)

4. Lapisan kulit ari/*silverskin* (*perisperm*): lapisan paling tipis dan paling dekat letaknya dengan biji kopi. Lapisan ini biasanya hancur pada saat proses sangrai karena tipis dan tidak tahan pada suhu tinggi.
5. Biji kopi (*endosperm*): bagian paling inti dari kopi. Setiap buah kopi arabika mengandung dua biji berbentuk setengah lingkaran.

### 2.5.3 Keunggulan dan Kandungan Kulit Buah Kopi Arabika

Menurut *International Coffee Organization* (ICO), sebanyak 58% dari seluruh jenis kopi yang ditanam di dunia adalah kopi arabika (Pérez-Sariñana dan Saldaña-Trinidad, 2017). Kopi arabika memenuhi 80% produksi kopi di dunia (Patay dkk, 2016). Kopi ini merupakan spesies kopi pertama yang masih dibudidayakan manusia hingga saat ini. Kopi arabika tumbuh dengan baik pada ketinggian 700-1700 mdpl. Namun, lahan pertanaman kopi yang tersedia di

Indonesia sebagian besar berada di ketinggian 700-900 mdpl. Hal ini yang mungkin menyebabkan sekitar 95% jenis kopi di Indonesia adalah kopi robusta (Anggara dan Marini, 2011). Kopi robusta dapat ditanam dengan mudah pada ketinggian 200-800 mdpl (Martauli, 2018). Pada tahun 2012, Ditjen Perkebunan mencatat perkebunan kopi di Indonesia seluas 1 juta ha berupa kopi robusta dan 300 ribu ha berupa kopi arabika, dengan total produksi kopi robusta 601 ribu ton dan kopi arabika 147 ribu ton (Kemenperin, 2013).

Kopi arabika merupakan jenis kopi tradisional yang paling enak rasanya (Martauli, 2018). Keunggulan dari kopi arabika yaitu, bijinya berukuran besar, beraroma harum menyerupai perpaduan aroma bunga dan buah, serta cita rasanya jauh lebih lembut (*mild*) dari kopi robusta (Anggara dan Marini, 2011). Pérez-Sariñana dan Saldaña-Trinidad (2017) juga menyatakan bahwa kopi arabika dianggap memiliki kualitas yang jauh lebih tinggi karena kualitas intrinsiknya yaitu kualitas organoleptik yang lebih aromatik. Hal ini disebabkan oleh berbagai senyawa kimia dalam kopi arabika yang memberikan kualitas sensorik dan rangsangan terbaik pada sistem saraf (Torres-Valenzuela dkk, 2019).

Pada proses pengolahan kopi dilakukan melalui beberapa tahap, mulai dari pengupasan kulit buah kopi sampai menjadi produk akhir berupa kopi bubuk (Ariadi, 2015). Industri kopi menghasilkan sekitar 2 miliar ton limbah pertanian yang dapat menyebabkan polusi. Daging buah kopi, lapisan kulit ari, kulit buah kopi, dan ampas kopi merupakan produk samping yang paling umum dari pengolahan kopi. Kulit buah kopi merupakan produk samping utama yang menyumbang 29% dari keseluruhan buah kopi (Torres-Valenzuela dkk, 2019). Setiap 2 ton kopi yang diproduksi dapat diperoleh 1 ton *coffee pulp*. *Coffe pulp* terdiri dari *exocarp* (kulit luar) dan juga *mesocarp* (bagian berdaging) (Blenová dkk, 2017).

Penelitian Torres-Valenzuela dkk (2019) menjelaskan produk samping dari *coffee pulp* (*exocarp* dan *mesocarp*) mengandung sejumlah besar kafein dan komponen lain. Komponen kimia yang dilaporkan antara lain polifenol (1.5–2.9%), protein (4–13.3%), lignin (17.5–19.3%), lipid (1.7–2.5%), tanin (1.8–9%), karbohidrat (44–89%), asam klorogenat (1.6%), dan kafein (1.2–1.5%) (Torres-

Valenzuela dkk, 2019). Perlu diketahui bahwa kulit buah kopi dan buah kopi memiliki komposisi yang mirip (Esquivel dan Jiménez, 2011).

### 1. Polifenol

Secara umum, menurut Robbins dkk (2006) senyawa fenolik terdiri dari *simple phenolics* dan polifenol. Ramirez-Coronel dkk (2004) melaporkan total konsentrasi senyawa fenolik yang berasal dari kulit buah kopi arabika segar adalah sebesar 37,9 g/kg. Senyawa fenolik yang diidentifikasi terdiri dari empat kelompok yaitu *flavan-3-ol*, *hydroxycinnamic acid*, flavonol, dan antosianidin. *Flavan-3-ol* dan *hydroxycinnamic acid* mengandung lebih dari 97,3% total senyawa polifenol yang teridentifikasi. Flavonol dan antosianidin dapat dianggap sebagai kelas minor dalam kulit buah kopi, masing-masing mewakili 1,6% dan 1,1% dari total konsentrasi polifenol. Selain itu, telah diketahui bahwa kulit buah kopi arabika mengandung polifenol yang tersusun sebagian besar atas flavonoid (Ramirez-Coronel dkk, 2004). Flavonoid merupakan salah satu kelas terbesar senyawa polifenol alami (Ambiga dkk, 2007).

### 2. Tanin

Tanin dibagi menjadi dua kelompok besar, yaitu tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis. Tanin terkondensasi, dikenal juga sebagai proantosianidin. Proantosianidin menyumbang 1 hingga 2,7% dari kulit buah kopi yang segar (Augur dkk, 2006). Tanin terkondensasi (proantosianidin) merupakan unsur penting dari kulit buah kopi segar (Esquivel dan Jiménez, 2011).

Tanin telah terbukti menguntungkan dalam bidang obat-obatan dan kesehatan. Tanin terhidrolisis telah terbukti dapat menginduksi apoptosis sel kanker dan menghambat proliferasi sel kanker. Sementara, tanin terkondensasi efektif sebagai antioksidan dan beberapa tanin terkondensasi lainnya seperti katekin dapat mengurangi kadar kolesterol pada tikus (Augur dkk, 2006).

Duangjai dkk (2016) dalam penelitiannya menyatakan bahwa kulit buah kopi arabika memiliki aktivitas antibakteri. Kefektifannya pada bakteri Gram positif maupun negatif dipengaruhi oleh struktur selubung bakteri dan senyawa aktif dari kulit buah kopi arabika. Biasanya, senyawa hidrofobik (fenol, tanin) sulit untuk menyerap membran luar bakteri Gram negatif yang terdiri dari fosfolipid.

Penelitian ini menunjukkan bahwa bakteri Gram positif lebih rentan terhadap kulit buah kopi arabika dari pada bakteri Gram negatif. Kandungan asam klorogenat dan kafein pada kulit buah kopi arabika juga berperan terhadap aktivitas antimikroba.

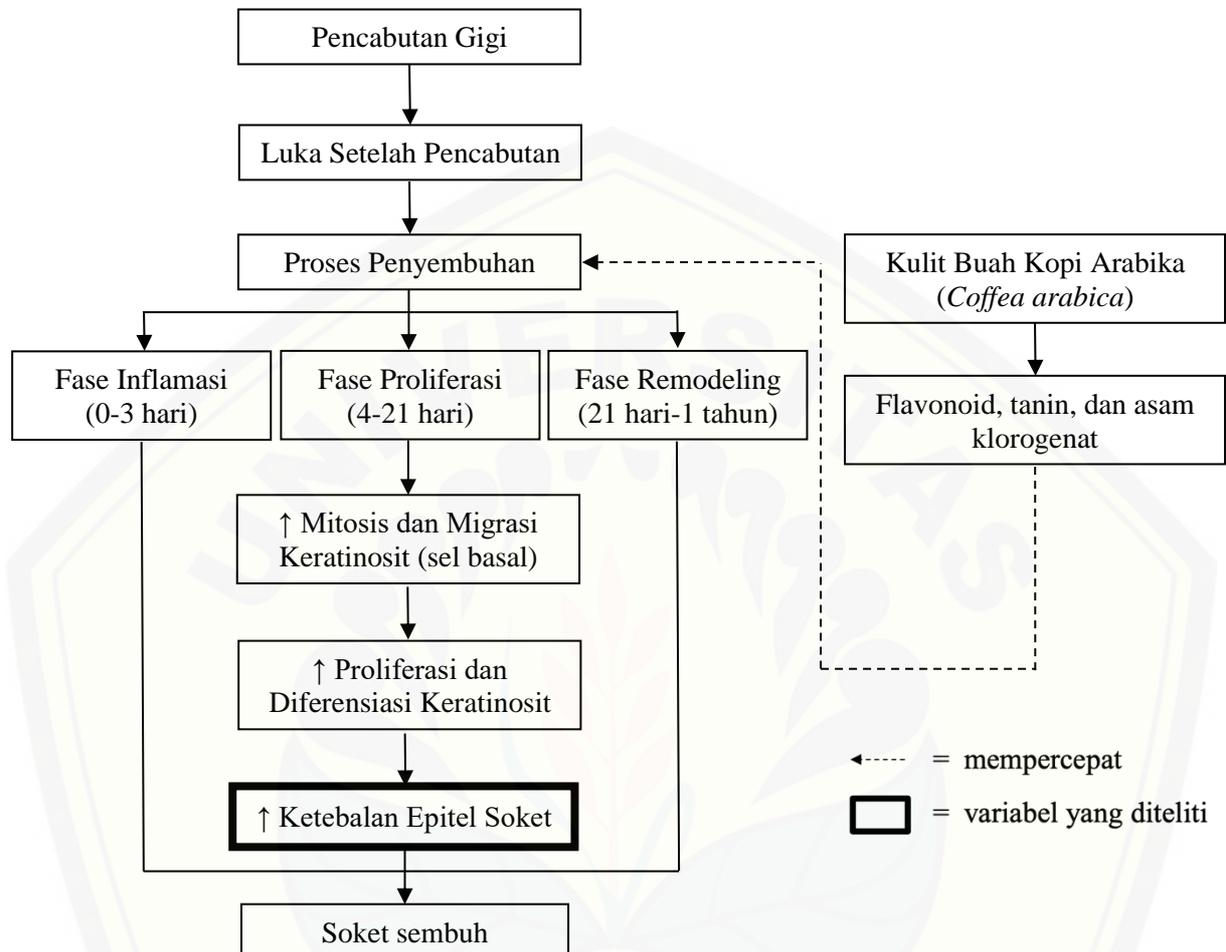
### 3. Asam klorogenat

Terdapat delapan jenis asam fenolik yang diidentifikasi dalam kulit buah kopi arabika. Tiga jenis yang paling banyak proporsinya yaitu asam ferulic, asam caffeic dan asam klorogenat (Ameca dkk, 2018). Asam klorogenat merupakan jenis molekul dari kelompok *hydroxycinnamic acid* (Augur dkk, 2006) yang terdapat pada tanaman dan dapat dikonsumsi serta memiliki banyak manfaat dalam bidang kesehatan. Asam klorogenat memiliki aktivitas antioksidan yang kuat, penghambat peroksidasi lipid, efek antikanker, aktivitas antiinflamasi, penghambat  $\alpha$ -amilase dan  $\alpha$ -glukosidase terkait dengan diabetes tipe 2 dan sifat anti-obesitas, serta memiliki sifat antimikroba. Karena efek menguntungkan dari komponen bioaktif ini, asam klorogenat banyak dikembangkan di bidang makanan dan farmasi (Torres-Valenzuela dkk, 2019).

### 4. Kafein

Kandungan kafein sangat berkaitan dengan kualitas minuman kopi karena berkontribusi terhadap kepahitannya (Esquivel dan Jiménez, 2011). Kafein adalah zat bioaktif yang memiliki beragam manfaat kesehatan, antara lain mengurangi risiko yang lebih rendah terhadap penyakit Parkinson dan Alzheimer serta dapat merangsang oksidasi lemak dan pengeluaran energi sehingga dapat mengurangi berat badan. Sebesar 64% kafein yang dikonsumsi berasal dari kopi (Torres-Valenzuela dkk, 2019). Kandungan kafein pada kulit buah kopi dua sampai sepuluh kali lebih rendah daripada biji kopi, hal ini juga tergantung pada tahap perkembangan buah dan genotipe nya (Esquivel dan Jiménez, 2011).

## 2.6 Kerangka Konsep



## 2.7 Keterangan Kerangka Konsep

Proses pencabutan gigi akan menimbulkan luka pada jaringan periodontal yang memicu respon inflamasi sehingga terjadi proses penyembuhan. Kulit buah kopi arabika mengandung flavonoid, tanin, dan asam klorogenat yang dapat mempercepat proses penyembuhan soket. Proses penyembuhan soket gigi dapat dikelompokkan menjadi tiga fase yaitu, fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase remodeling. Fase inflamasi dimulai segera setelah luka terjadi dan berfungsi untuk mencapai hemostasis, mengangkat jaringan yang rusak, dan mencegah infeksi invasif oleh mikroba patogen (Throne, 2014). Setelah melalui fase inflamasi, proses penyembuhan dilanjutkan dengan fase proliferasi yang terjadi dari hari ke-4 hingga hari ke-21 setelah pencabutan. Selama fase ini, keratinosit bermigrasi untuk

memperbaiki kontinuitas epitel (Throne, 2014). Selanjutnya, keratinosit mulai berproliferasi dan berdiferensiasi untuk membungkus luka (Pastar, 2014). Epitelisasi ini merupakan salah satu parameter keberhasilan penyembuhan luka (Jati, 2014). Apabila proses epitelisasi meningkat, maka ketebalan epitel juga akan meningkat sehingga soket dapat sembuh. Selanjutnya, masuk dalam fase terakhir yaitu remodeling. Fase ini diperkirakan berlangsung dari hari ke-21 hingga 1 tahun (Throne, 2014). Setelah melalui ketiga fase tersebut dengan baik, luka soket dapat dikatakan sembuh. Luka dinyatakan sembuh apabila permukaannya bersatu kembali dan didapatkan kekuatan jaringan seperti pada kondisi normal (Milor, 2004).

## 2.8 Hipotesis

Kulit buah kopi arabika (*Coffea arabica*) dapat meningkatkan ketebalan epitel soket pada proses penyembuhan luka setelah pencabutan gigi tikus Wistar.

## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris *in vivo*, yaitu penelitian laboratoris menggunakan hewan coba. Rancangan penelitian yang digunakan adalah *post test only control group design* yaitu dengan melakukan pengukuran setelah perlakuan diberikan, kemudian hasilnya dibandingkan dengan kelompok kontrol (Notoadmojo, 2010).

### 3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

#### 3.2.1 Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di beberapa tempat yaitu:

- a. Laboratorium Tanaman Jurusan Produksi Pertanian Politeknik Negeri Jember untuk identifikasi tanaman.
- b. Laboratorium Rekayasa Proses Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember untuk pembuatan bubuk kulit buah kopi.
- c. Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember untuk perlakuan terhadap hewan coba.
- d. Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember untuk pembuatan preparat dan pengamatan jaringan.

#### 3.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus – November 2020.

### 3.3 Variabel Penelitian

#### 3.3.1 Variabel Bebas

Bubuk kulit buah kopi arabika (*Coffea arabica*).

### 3.3.2 Variabel Terikat

Ketebalan epitel pada soket setelah pencabutan gigi tikus Wistar dalam sediaan preparat.

### 3.3.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah kriteria hewan coba (berat badan, usia, dan jenis kelamin), tempat dan cara pemeliharaan hewan coba, cara pemberian dan waktu pemberian bubuk kulit buah kopi arabika, dosis pemberian bubuk kulit buah kopi arabika, teknik pencabutan gigi pada tikus Wistar, cara pembuatan sediaan jaringan, pengecatan sediaan, serta cara pengukuran ketebalan epitel.

## 3.4 Definisi Operasional Penelitian

### 3.4.1 Kulit Buah Kopi Arabika

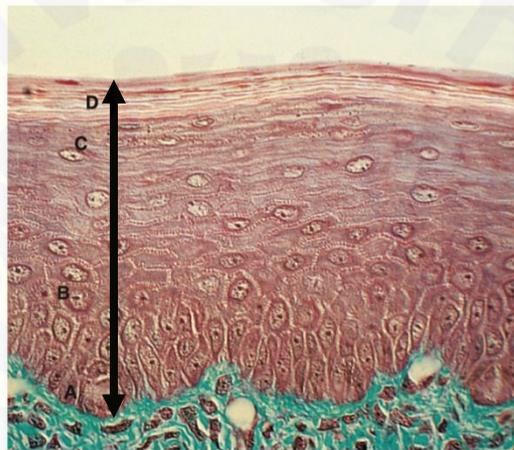
Kulit buah kopi arabika didapatkan dari limbah panen kopi di kawasan Ijen, Kecamatan Sempol, Kabupaten Bondowoso, Jawa Timur. Kopi yang dipanen memiliki tanda bahwa kulit buah kopi sudah berwarna merah. Sebelumnya, kulit buah kopi arabika telah diidentifikasi di Laboratorium Tanaman Jurusan Produksi Pertanian Politeknik Negeri Jember. Kulit buah kopi arabika dibuat dalam sediaan bubuk dengan cara diselep dan diayak menggunakan ayakan 100 mesh agar diperoleh ukuran yang homogen

### 3.4.2 Pencabutan Gigi

Pencabutan gigi adalah pencabutan pada gigi molar satu rahang bawah kiri tikus Wistar jantan yang dilakukan dengan menggunakan metode pencabutan sederhana, yaitu menggunakan ekskavator dan sonde setengah lingkaran. Pencabutan gigi dilakukan hati-hati dengan arah dan gerakan yang tidak menimbulkan trauma berlebihan dan gigi tercabut dengan sempurna. Sebelum pencabutan, dilakukan anestesi dengan ketamin dosis 0,04-0,08 ml/200 gr BB tikus.

### 3.4.3 Ketebalan Epitel

Ketebalan epitel merupakan salah satu tahapan perbaikan luka, yaitu re-epitelisasi, yang diukur dari stratum basal hingga stratum korneum (Gambar 3.1) pada daerah gingiva yang menutupi soket gigi. Pengamatan dilakukan pada preparat yang diberi pewarnaan *Hematoxylin-Eosin* (HE) dengan perbesaran 100X menggunakan OptiLab yang tersambung dengan mikroskop cahaya. Bagian yang diukur adalah bagian epitel tertebal dan tertipis pada epitel gingiva yang menutupi soket gigi. Penghitungan ketebalan epitel dilakukan dengan menggunakan aplikasi *software Image Raster*.



Gambar 3.1 Pengukuran ketebalan lapisan epitel rongga mulut dari A hingga D; A = stratum basal dan D = stratum korneum (Berkovitz dkk, 2018)

## 3.5 Sampel Penelitian

### 3.5.1 Kriteria Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) dengan kriteria sebagai berikut: tikus berjenis kelamin jantan, berat badan 200-250 gram, berusia 2-3 bulan, dan keadaan umum tikus Wistar baik, tidak cacat fisik.

### 3.5.2 Besar Sampel

Besar sampel pada penelitian ini ditentukan 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

$\sigma$  = Standar deviasi sampel

d = Kesalahan yang dapat ditoleransi, diasumsikan  $d = \sigma$

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

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

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

$$n = 3,84 \approx 4$$

Jadi, jumlah sampel minimum yang harus digunakan adalah 4 sampel untuk masing-masing kelompok.

### 3.6 Alat dan Bahan

#### 3.6.1 Alat Penelitian (Lampiran 3.1)

##### A. Alat untuk membuat bubuk kulit buah kopi arabika

- a. Tampah
- b. Oven (Memmeret<sup>®</sup>, tipe 300, Jerman)
- c. Mesin penggiling dengan ayakan 100 mesh (FTP, UNEJ, Indonesia)
- d. Timbangan *digital* (Electronic Balance, BS 600 H, USA)
- e. Wadah untuk menyimpan bubuk kulit buah kopi arabika (Tupperware<sup>®</sup>)

##### B. Alat untuk perlakuan hewan coba

- a. Kandang tikus, terbuat dari kayu berukuran 30x30 cm
- b. Tempat makan dan minum tikus (Lion Star<sup>®</sup>)
- c. Timbangan untuk menimbang tikus (neraca Ohaus<sup>®</sup>)
- d. Papan bedah
- e. Gunting (Gunindo<sup>®</sup>, Indonesia)

- f. *Disposable syringe tuberculin* 1 ml (OneMed<sup>®</sup>, Indonesia)
- g. Sonde setengah lingkaran (Dentica<sup>®</sup> *stainless steel*)
- h. Ekskavator kecil
- i. Arteri *clamp* kecil (Yamaco<sup>®</sup> *stainless steel*)
- j. Pinset anatomis (Dentica<sup>®</sup> *stainless steel*)
- k. Sonde lambung untuk pemberian peroral
- l. Toples plastik kedap udara

C. Alat untuk pengamatan ketebalan epitel

- a. *Object glass* (Slides<sup>®</sup>)
- b. *Deck glass* (Menzel-Glaser<sup>®</sup>)
- c. Alat cetak blok paraffin (*base mould*)
- d. Mikrotom (Leica<sup>®</sup>, Jerman)
- e. Kuas kecil
- f. *Waterbath* (Memmeret<sup>®</sup>, Jerman)
- g. *Slide warmer* (Sakura<sup>®</sup>, Jepang)
- h. *Embedding kaset*/blok kayu
- i. *Staining jar* (Sakura<sup>®</sup>, Jepang)
- j. *Histological basket* (Sakura<sup>®</sup>, Jepang)
- f. Rak pengecatan
- g. Mikroskop cahaya (Olympus<sup>®</sup> photo slide BX51 with Cam DP71 12mpx, Jepang)
- h. OptiLab dan *software Image Raster* (Miconos<sup>®</sup>)

3.6.2 Bahan Penelitian (Lampiran 3.2)

A. Bahan untuk membuat kulit buah kopi arabika

- a. Bubuk kulit buah kopi arabika

B. Bahan untuk perlakuan hewan coba

- a. Tikus Wistar
- b. Makanan standart konsentrat tikus Wistar (Turbo 512)
- c. *Aquadest*
- d. Larutan ketalar 1000mg/10ml (KTM 100<sup>®</sup>)

e. *Cotton roll* dan kapas steril

f. *Eter chloride*

C. Bahan untuk pengamatan ketebalan epitel

a. Formalin 10%

b. Asam fomiati 10%

c. Alkohol 70%, 80%, 95% dan 100%

d. *Xylol*

e. Paraffin TD

f. Gliserin

g. *Meyer egg albumin*

h. Cat *Hematoxylin-Eosin* (HE)

### 3.7 Konversi Perhitungan Dosis

#### 3.7.1 Dosis Bubuk Kulit Buah Kopi Arabika

Kebutuhan kopi manusia persekali minum adalah 6,5 gram/70 kg BB manusia (Masruri dkk, 2019). Menurut tabel konversi dosis *Laurence-Bacharach*, konversi dosis dari setiap 70 kg BB manusia untuk setiap 200 gr BB tikus adalah sebesar 0,018 (Lampiran 3.3). Maka, besar dosis bubuk kulit buah kopi arabika yang diperlukan adalah:

$$\begin{aligned} \text{Dosis bubuk kukit buah kopi arabika} &= 6,5 \text{ gram}/70 \text{ kg BB manusia} \\ &= 6,5 \text{ gram} \times 0,018/200 \text{ gr BB tikus} \\ &= 0,117 \text{ gram}/200 \text{ gr BB tikus} \end{aligned}$$

#### 3.7.2 Dosis Ketamin

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

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

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

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

### 3.8 Prosedur Penelitian

#### 3.8.1 Identifikasi Tanaman dan *Ethical Clearance*

Identifikasi tanaman untuk menentukan klasifikasi dari kulit buah kopi arabika (*Coffea arabica*) dilakukan di Laboratorium Tanaman Fakultas Pertanian Politeknik Negeri Jember (Lampiran 3.4). Sementara itu, pembuatan kode etik (*ethical clearance*) dilakukan di Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember (Lampiran 3.5).

#### 3.8.2 Persiapan Hewan Coba

Hewan coba diadaptasikan selama 7 hari dalam kandang tertutup di Laboratorium Biomedik bagian Fisiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember (Lampiran 3.6). Tikus diberi pakan standart konsentrat (Turbo 512) dan minum (*aquadest*) secara *ad libitum*. Setelah itu, tikus dilakukan penimbangan setiap 2 hari sekali untuk mengontrol berat badannya. Adaptasi pada hewan coba dilakukan untuk mendapatkan keseragaman dan mengontrol hewan coba sebelum dilakukan penelitian.

#### 3.8.3 Pembuatan Bubuk Kulit Buah Kopi Arabika

Kulit buah kopi arabika didapatkan dari petani di kawasan Ijen Bondowoso dalam keadaan basah. Sebanyak 2,5 kilogram kulit buah kopi arabika dicuci bersih dan ditiriskan. Setelah itu, kulit buah kopi arabika diangin-anginkan hingga kering pada tempat yang teduh dengan suhu kamar selama seminggu. Selanjutnya, kulit buah kopi yang telah mengering dioven pada suhu 44°C selama 2 jam hingga benar-benar kering. Kulit buah kopi yang telah kering, diselep menggunakan mesin

penggiling dengan ayakan 100 mesh agar diperoleh ukuran yang homogen hingga menjadi bubuk halus (Lampiran 3.7) (Utami, 2019).

#### 3.8.4 Perlakuan dan Pengelompokan Hewan Coba

Tikus yang telah diadaptasikan selama satu minggu, selanjutnya dilakukan prosedur pencabutan gigi (Lampiran 3.8), yaitu:

- a. Tikus dianastesi general dengan injeksi ketamin sesuai dosis yang telah ditentukan secara intramuskular pada kaki tikus.
- b. Setelah anastesi bereaksi, ditandai dengan kondisi tikus yang lemas, tikus diletakkan pada *rat dental chair*.
- c. Selanjutnya, pencabutan dilakukan dengan memisahkan gigi tikus dengan jaringan sekitarnya menggunakan sonde setengah lingkaran. Setelah gigi terlepas dari perlekatan, gigi tikus diungkit menggunakan ekskavator atau sonde setengah lingkaran (sebagai pengganti *bein*) dan diambil dari soket menggunakan *arteri clamp* (sebagai pengganti *forcep*).

Setelah dilakukan pencabutan gigi, sebanyak 24 ekor tikus dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu:

- a. Kelompok 1 (K), merupakan kelompok kontrol yang terdiri dari 12 ekor tikus. Kelompok kontrol dibagi menjadi 3 sub kelompok (K1, K2, dan K3) yang masing-masing terdiri dari 4 ekor tikus. Setiap tikus, diberi *aquadest* sebanyak 2 ml/hari. Pada sub kelompok K1 diberi *aquadest* selama 3 hari, K2 selama 5 hari, dan K3 selama 7 hari secara intragastrik menggunakan sonde lambung.

Sub kelompok K1 : Setelah sondase selama 3 hari, pada hari ke-4, 4 hewan coba didekaputasi, kemudian diambil rahang bawah kirinya dan dibuat sediaan jaringan.

Sub kelompok K2 : Setelah sondase selama 5 hari, pada hari ke-6, 4 hewan coba didekaputasi, kemudian diambil rahang bawah kirinya dan dibuat sediaan jaringan.

Sub kelompok K3 : Setelah sondase selama 7 hari, pada hari ke-8, 4 hewan coba didekaputasi, kemudian diambil rahang bawah kirinya dan dibuat sediaan jaringan.

- b. Kelompok 2 (P), merupakan kelompok perlakuan yang terdiri dari 12 ekor tikus. Kelompok perlakuan dibagi menjadi 3 sub kelompok (P1, P2, dan P3) yang masing-masing terdiri dari 4 ekor tikus. Setiap tikus diberi bubuk kulit buah kopi arabika sesuai dengan dosis yang telah ditentukan. Selanjutnya, bubuk kulit buah kopi arabika yang telah ditentukan dosis nya (0,117 gr/ 200 gr BB tikus) dilarutkan dalam 3,6 ml air hangat, agar tidak merusak kandungan senyawa yang ada. Menurut Harjanti dkk (2011), hampir semua senyawa fenol mengalami kerusakan akibat suhu pemanasan di atas 85<sup>0</sup>C dengan lama pemanasan lebih dari 5 menit. Pemberian perlakuan dilakukan setiap hari, pada sub kelompok P1 selama 3 hari, P2 selama 5 hari, dan P3 selama 7 hari secara intragastrik menggunakan sonde lambung.

Sub kelompok P1 : Setelah sondase selama 3 hari, pada hari ke-4, 4 hewan coba didekaputasi, kemudian diambil rahang bawah kirinya dan dibuat sediaan jaringan.

Sub kelompok P2 : Setelah sondase selama 5 hari, pada hari ke-6, 4 hewan coba didekaputasi, kemudian diambil rahang bawah kirinya dan dibuat sediaan jaringan.

Sub kelompok P3 : Setelah sondase selama 7 hari, pada hari ke-8, 4 hewan coba didekaputasi, kemudian diambil rahang bawah kirinya dan dibuat sediaan jaringan.

### 3.8.5 Euthanasia Hewan Coba

Hewan coba dieuthanasia 24 jam setelah perlakuan terakhir menggunakan metode overdosis inhalasi eter. Tikus dimasukkan ke dalam toples kaca yang di dalamnya terdapat kapas yang dibasahi larutan eter dan ditutup rapat untuk beberapa saat hingga tikus mati.

### 3.8.6 Pembuatan Preparat Jaringan

Tahapan pemrosesan jaringan menurut Syafriadi (2007) adalah sebagai berikut:

- a. Pengambilan sampel sediaan

Pemotongan rahang bawah tikus dilakukan dari bagian mesial molar pertama sampai molar ketiga. Pembuatan preparat jaringan diambil dengan arah pemotongan bukolingual. Kemudian, jaringan difiksasi dengan menggunakan larutan formalin 10% selama minimal 12-18 jam untuk mencegah terjadinya autolisis, mempertahankan morfologi, dan mencegah pertumbuhan jamur dan bakteri. Setelah difiksasi jaringan dicuci dengan air mengalir.

b. Dekalsifikasi

Dekalsifikasi dengan tujuan untuk melepaskan bahan anorganik dalam tulang tanpa merusak protein yang ada. Dekalsifikasi dilakukan dengan memakai larutan asam formiat 10% selama 7 hari.

c. Pemrosesan jaringan

1) Dehidrasi

Dehidrasi merupakan penarikan air dari dalam jaringan yang telah dimasukkan dalam *embedding cassette* dengan menggunakan alkohol konsentrasi rendah ke tinggi. Tujuan dehidrasi adalah untuk mengubah fase air menjadi minyak. Dehidrasi dimulai dengan alkohol 70% selama 15 menit, 80% selama 1 jam, 95% selama 2 jam, dan 100% selama 3 jam.

2) *Clearing*

*Clearing* merupakan proses penjernihan jaringan. Bahan-bahan yang dapat digunakan antara lain: xylol, toluene, dan benzen. Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember menggunakan xylol. Bahan ini digunakan selama 3 kali masing-masing selama 1 jam, 2 jam, 2 jam.

3) Impregnasi

Impregnasi merupakan proses infiltrasi bahan *embedding* ke dalam jaringan pada suhu 56-60°C. Caranya, jaringan dibungkus dengan kertas saring kemudian dimasukkan ke dalam bahan *embedding* (paraffin TD 56-60°C) sebanyak 3 kali masing-masing 2 jam.

4) *Embedding*

*Embedding* merupakan proses penanaman jaringan dengan arah

transversal ke dalam suatu bahan *embedding* yaitu paraffin. Tahapan *embedding* ini antara lain:

- a) Mempersiapkan alat cetak blok paraffin (*base mould*). Alat cetak tersebut terbuat dari logam berbentuk siku-siku yang disusun di atas permukaan kaca yang rata. Kemudian, alat cetak diolesi gliserin untuk mempermudah pemisahan alat cetak dan kaca dengan blok paraffin.
- b) Menuangkan paraffin cair ke dalam *base mould*, kemudian memasukkan jaringan yang telah diimpregnasi menggunakan pinset. Selanjutnya, ditunggu beberapa menit sampai paraffin beku.
- c) Paraffin blok siap dipotong setelah dilepas dari alat cetakan.

#### 5) Penyayatan

Penyayatan blok paraffin dengan menggunakan mikrotom. Sebelum penyayatan jaringan, alat yang perlu dipersiapkan antara lain *object glass* yang diolesi dengan *meyer egg albumin*. Tahapan penyayatan jaringan antara lain:

- a) Penyayatan menggunakan mikrotom, sebelumnya pisau mikrotom dibersihkan dengan kasa atau kertas saring yang dibasahi dengan xylol arah tegak lurus.
- b) Mengatur ketebalan sayatan mikrotom setebal 5  $\mu\text{m}$ .
- c) Mengambil sayatan yang telah diperoleh dengan kuas, lalu diletakkan di atas permukaan air *waterbath* dengan temperatur tetap 56°C- 58°C hingga sayatan mekar.
- d) Mengambil sayatan yang sudah mekar dengan *object glass* yang diolesi dengan *meyer egg albumin*, kemudian dikeringkan dengan suhu 30°C- 35°C minimal selama 12 jam.

#### 3.8.7 Pengecatan Preparat Jaringan

Teknik pengecatan yang dilakukan adalah sesuai dengan standar rutin dari Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember (Lampiran 3.6). Metode pengecatan preparat jaringan antara lain:

- a. Preparat dimasukkan ke dalam xylol selama 3 menit lalu diulangi dengan memasukkan kembali ke dalam xylol pada wadah yang berbeda selama 3 menit.
- b. Rehidrasi dengan larutan alkohol 100% dua kali, dan dengan larutan alkohol 95% dua kali, masing-masing selama 3 menit dengan wadah yang berbeda.
- c. Preparat dibilas dengan air mengalir selama 10-15 menit, mula-mula dengan aliran lambat kemudian lebih kuat dengan tujuan untuk menghilangkan semua kelebihan alkohol.
- d. Preparat diwarnai dengan cat Hematoxylin Mayer's selama 10 menit.
- e. Bilas dengan air mengalir selama 20 menit.
- f. Preparat direndam eosin selama 15 detik sampai 2 menit.
- g. Dehidrasi kembali dengan konsentrasi meningkat 95% dan 100% masing-masing dua kali selama 2-3 menit dengan wadah yang berbeda.
- h. Setelah itu, preparat dimasukkan ke dalam xylol tiga kali masing-masing 3 menit dengan wadah yang berbeda.
- i. *Mounting* menggunakan cairan Entellan lalu ditutup *deck glass*.

#### 3.8.8 Pengamatan dan Pengukuran Ketebalan Epitel

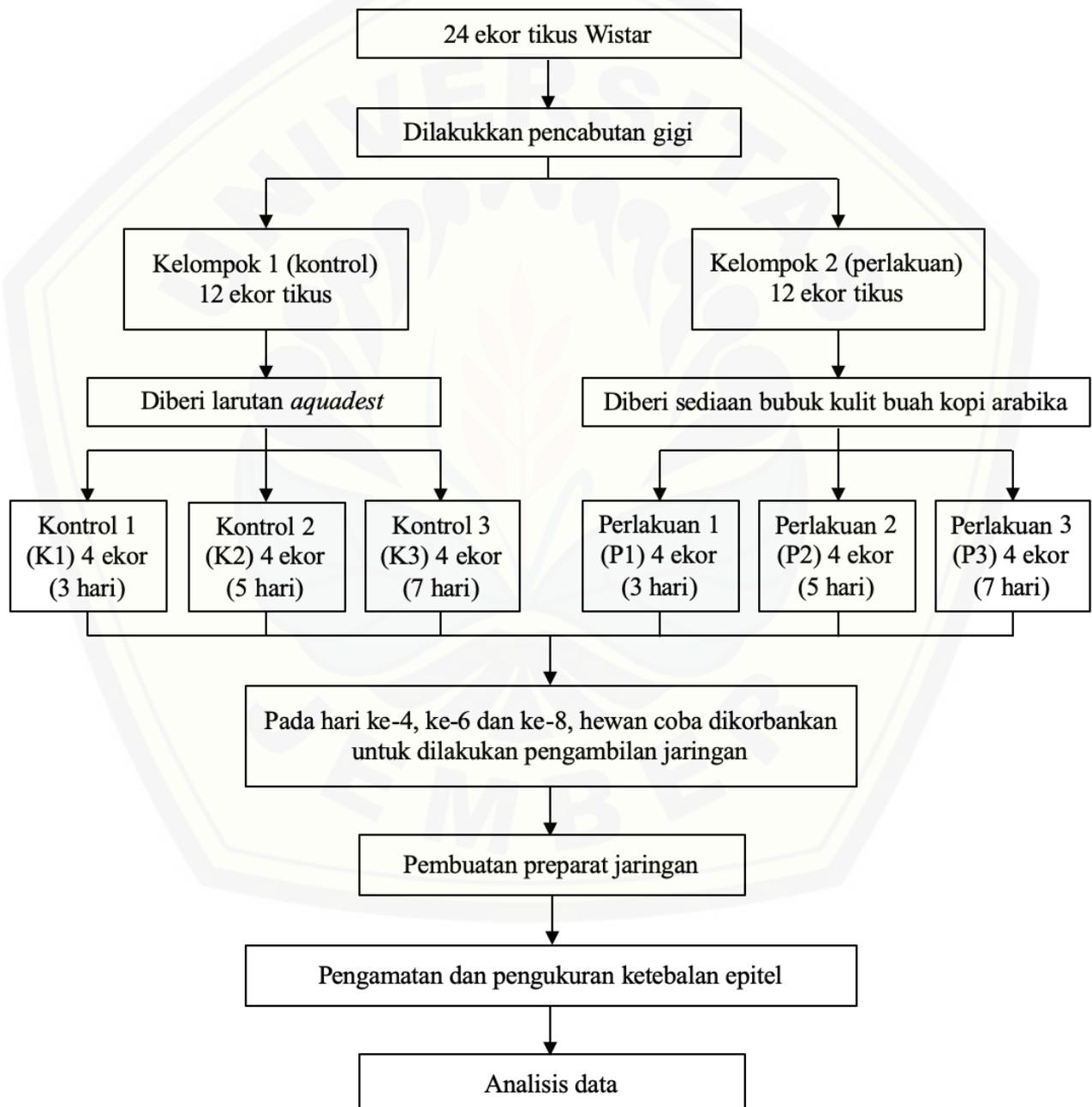
Pengamatan dilakukan dengan bantuan OptiLab yang tersambung dengan mikroskop cahaya perbesaran 100X. Pengukuran ketebalan epitel diukur dari stratum basal hingga stratum korneum menggunakan *software Image Raster*. Bagian yang diukur adalah bagian epitel tertebal dan tertipis pada epitel gingiva yang menutupi soket gigi. Pengukuran dilakukan oleh tiga pengamat, kemudian dihitung rerata ketebalan epitel yang terbentuk.

### 3.9 Analisis Data

Data yang diperoleh dilakukan uji normalitas dengan test *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas dengan *Levene Test*. Apabila data yang diperoleh adalah data yang normal dan homogen maka analisis data menggunakan uji parametrik *One Way ANOVA* dengan tingkat kepercayaan 95% ( $\alpha=0,05$ ). Setelah itu, dilanjutkan uji LSD (*Least Significant Difference*) untuk mengetahui perbedaan antar kelompok.

Namun, apabila data yang diperoleh berupa data yang tidak normal dan tidak homogen maka analisis data menggunakan uji non parametrik, yaitu *Kruskal-Wallis*. Selanjutnya, dilakukan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui kelompok yang memiliki perbedaan makna.

### 3.10 Alur Penelitian



Gambar 3.2 Alur penelitian

## BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa pemberian kulit buah kopi arabika (*Coffea arabica*) berpotensi meningkatkan ketebalan epitel dalam proses penyembuhan luka soket setelah pencabutan gigi tikus Wistar.

### 5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, saran yang dapat diberikan penulis adalah sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai zat aktif kulit buah kopi arabika yang berpotensi meningkatkan ketebalan epitel dalam mempercepat proses penyembuhan luka.
2. Perlu dilakukan penelitian yang lebih spesifik terhadap kadar pemberian bubuk kulit buah kopi arabika yang diberikan pada penelitian ini. Kadar pemberian bubuk kulit buah kopi arabika dalam penelitian ini, didasarkan pada kebutuhan kopi (biji kopi) persekali minum, bukan kebutuhan kulit buah kopi persekali minum.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai kulit buah kopi arabika sebagai bahan dalam pembuatan obat herbal setelah pencabutan gigi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abu Younis, M.H., dan R.O. Abu Hantash. 2011. Dry socket: frequency, clinical picture, and risk factors in a Palestinian dental teaching center. *The Open Journal*. 5: 7-12.
- Agarwal, P.K., A. Singh, K. Gaurav, S. Goel, H.D. Khanna, dan R.K. Goel. 2009. Evaluation of wound healing activity of extracts of plantain banana (*M. sapientum var. parasidiaca*) in rats. *Indian J Exp Biol*. 47: 322-40.
- Ambiga, S., R. Narayana, G. Durga, D. Sukumar, dan S. Madhavan. 2007. Evaluation of wound healing activity of flavonoids from *Ipomoea carnea Jacq*. *Ancient Science of Life*. 26(3): 45-51.
- Ameca, G.M., M.E.O. Cerrilla, P.Z. Córdoba, A.D. Cruz, M.S. Hernández, dan J.H. Haro. 2018. Chemical composition and antioxidant capacity of coffee pulp. *Ciência e Agrotecnologia*. 42(3): 307-313.
- Anggara, A., dan S. Marini. 2011. *Kopi Si Hitam Menguntungkan Budidaya dan Pemasaran*. Yogyakarta: Cahya Atma Pustaka.
- Apriasari, M.L., A. Endariantari, dan I.K. Oktaviyanti. 2015. The effect of 25% mauli bananan stem extract gel to increase the epithel thickness of wound healing process in oral mucosa. *Dental Journal*. 48(3): 150-153.
- Ariadi, H.P. 2013. Ekstraksi senyawa antioksidan kulit buah kopi: kajian jenis kopi dan lama maserasi. *Skripsi*. Jember: Universitas Jember.
- Augur, C., G. Gutierrez-Sanchez, A. Ramirez-Coronel, M. Contreras-Dominguez, I. Perraud-Gaime, dan S. Roussos. 2006. Analysis of antiphysiological components of coffee pulp. *Current Topics in Bioprocesses in Food Industries*. 1: 391-402.
- Berkovitz, B.K.B., G.R. Holland, dan B.J. Moxham. 2018. *Oral Anatomy, Histology, and Embryology*. 5<sup>th</sup> ed. China: Elseiver.

- Blenová, L., M. Sirotiak, A. Bartošová, dan M. Soldán. 2017. Review: utilization of waste from coffee production. *Slovak University of Technology in Bratislava*. 25(40): 91-101.
- Budi, H.S., P. Soesilowati, dan Z. Imania. 2017. Gambaran histopatologi penyembuhan luka pencabutan gigi pada makrofag dan neovaskular dengan pemberian getah batang pisang ambon. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*. 3(3): 121-127.
- Daniel, W.W. 2005. *Biostatistic: A Foundation for Analysis in the Health Sciences*. 8<sup>th</sup> ed. Georgia: Wiley.
- Deodhar, A.K., dan R.E. Rana. 1997. Surgical physiology of wound healing. *J Postgrad Med*. 43: 52-6.
- De Castro, R.D., dan P. Marraccini. 2006. Cytology, biochemistry and molecular changes during coffee fruit development. *Braz J. Plant Physiol*. 18(1): 175-199.
- Duangjai, A., N. Suphrom, J. Wungrath, A. Ontawong, N. Nuengchamnon, dan A. Yosboonruang. 2016. Comparison of antioxidant, antimicrobial activity and chemical profiles of three coffee (*Coffea arabica L.*) pulp aqueous extracts. *Integr Med Res*. 5(4): 324-331.
- Esquivel, P., dan V.M. Jiménez. 2011. Functional properties of coffee and coffee by-product. *Food Research International*. 46: 488-495.
- Garrant, P.R. 2003. *Oral Cells and Tissues*. London: Quintessence Pub.
- Harjanti, R.S., E. Purwanti, dan Sarto. 2003. Zat warna kunyit (*kurkumin*) sebagai indikator titrasi asam basa. *Prosiding Semnas Teknik Kimia Indonesia*.
- Hasan, M.H. 2012. *Prosedur Dasar Pencabutan Gigi*. Makassar: Kretakupa.
- Howe, L.G. 1999. *The Extraction of Teeth*. 2<sup>nd</sup> ed. Terjemahan oleh: J.A. Budiman dan L. Yuwono. *Pencabutan Gigi Geligi*. Jakarta: EGC.

- Hussaana, A., H. Sarosa, U.D. Indrayani, C. Chodidjah, B. Widiyanto, dan D. Pertiwi. 2016. Formula jamu antihipertensi and captopril are equally effective in patients with hypertension. *Universa Medicina*. 35(2): 81-88.
- Jallo, L., H. Fadhul, M. Al Moosa, J. Al Romaihi, M. Nofal, R. Khalil, A.E. Obaid, dan S.R. Shetty. 2019. Incident of alveolar osteitis in diabetic patients attending university hospital. *Italian Journal of Dental Medicine*. 4(3):40-46.
- Jati, G. 2014. Pengaruh Aplikasi Gel Ekstrak Membran Kulit Telur Ayam 10% Terhadap Ketebalan Epitel pada Proses Penyembuhan Luka Gingiva (Kajian pada *Rattus norwegicus*). *Skripsi*. Yogyakarta: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2019. Laporan Nasional RISKESDAS 2018. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Kemenperin. 2013. Produksi Kopi Nusantara Ketiga Terbesar di Dunia. <https://kemenperin.go.id/artikel/6611/Produksi-Kopi-Nusantara-Ketiga-Terbesar-Di-Dunia>. [Diakses pada 28 Maret 2020].
- Kumar, G.S. 2015. *Orban's Oral Histology and Embryology*. 14<sup>th</sup> ed. India: Elseiver.
- Kusumawati, D. 2004. *Bersahabat dengan Hewan Coba*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Larjava, H. 2012. *Oral Wound Healing Cell Biology and Clinical Management*. Oxford: Wiley Blackwell.
- Laurence, L.B., L.P. Keith, K.B. Donald, dan O.B. Iaint. 2008, Goodman and Gilman's, *Manual of Pharmacologyc and Therapeutics*, The Mc Graw Hill: Company Amerika.
- Li, K., Y. Diaho, H. Zhang, S. Wang, Z. Zhang, dan B. Yu. 2011. Tanin extracts from immature fruits of *Terminalia chebula* Fructus Retz. promote cutaneous wound helaing in rats. *Biomed Central Complement and Alternative Medicine*. 11:86.

- Mursu, J., S. Vautilainen, T. Nurmi, G. Alfthan, J.K. Virtanen, T.H. Rissanen, P. Happonen, K. Nyysönen, J. Kaikkonen, R. Salonen, dan J.K. Salonen. 2005. The effect of coffee consumption on lipid peroxidation and plasma total homocysteine concentrations: a clinical trial. *Free Radical Biology & Medicine*. 38: 527-534.
- Martauli, E.D. 2018. Analisis produksi kopi Indonesia. *Journal of Agribusiness Science*. 1(2): 112-120.
- Masruri, A., A. Sumono, dan T. Indriana. 2019. Arabica coffee (*Coffea arabica*) fruit skin potential towards the increase of fibroblast cells amount within socket post tooth extraction of male wistar mouse. *Health Notions*. 3(6): 273-278.
- Meilawaty, Z. 2016. Pemberian ekstrak metanolik getah biduri (*Caltropis gigantea*) terhadap ketebalan epitel gingiva tikus wistar. *Stomatognathic (J.K.G Unej)*. 9(2): 73-76.
- Miloro, M. 2004. *Peterson's Principles of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2<sup>nd</sup> ed. St. Louis: Mosby.
- Nanci, A. 2018. *Ten Cate's Oral Histology, Development, Structure and Function*. 9<sup>th</sup> ed. St. Louis: Mosby Elsevier.
- Ningsih, J.R., T. Haniastuti, dan J. Handajani. 2019. Re-epitelisasi luka soket pasca pencabutan gigi setelah pemberian gel getah pisang raja (*Musa sapientum L*) kajian histologis pada marmut (*Cavia cobaya*). *Jurnal Ilmu Kedokteran Gigi (JKGI)*. 2(1): 1-6.
- Notoatmodjo, S. 2010. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Edisi Revisi. Jakarta: Rineksa Cipta.
- Pastar, I., O. Stojadinovic, N.C. Yin, H. Ramirez, A.G. Nusbaum, A. Sawaya, S.B. Patel, L. Khalid, R.R. Isseroff, dan M. Tomic-canic. 2014. Epithelization in wound healing: a comprehensive review. *Advances in Wound Care*. 3(7): 445-464.

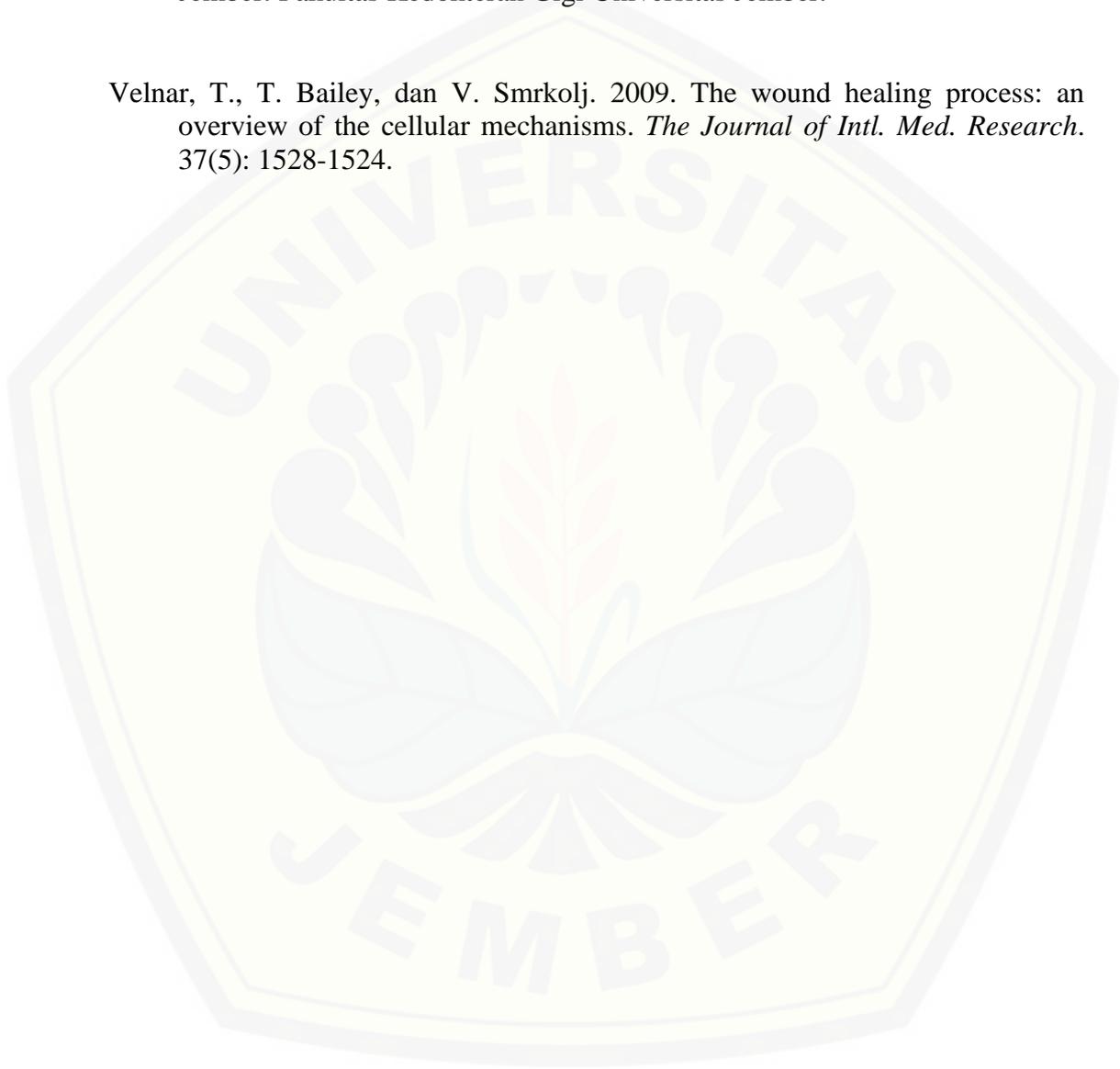
- Patay, E.B., N. Sali, N. Koszegi, R. Csepregi, V.L. Balázs, T.S. Németh, T. Németh, dan N. Papp. 2016. Antioxidant potential, tannin and polyphenol contents of seed and pericarp of three *Coffea species*. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 9(4): 366–371.
- Pérez-Sariñana, B.Y, dan S. Saldaña-Trinidad. 2017. *The question of kafein: chemistry and biotransformation of coffee by-product to biofuel*. Mexico: In Tech Open.
- Puspitawati, R. 2013. Struktur makroskopik dan mikroskopik jaringan lunak rongga mulut. *Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Indonesia*. 10: 462-467.
- Rahardjo, P. 2012. *Panduan Budi Daya dan Pengolahan Kopi Arabika dan Robusta*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Rahayu, Y.C., B. Yuwono, dan A. Wandasari. 2020. The effectiveness of proanthocyanidins cacao pods (*Theobroma cacao l*) on increasing socket epithelial thickness post toothextraction in wistar rats. *Journal of Dentomaxillofacial Science*. 5(1): 12-16.
- Ramirez-Coronel, M.A., N. Marnet, V.S.K. Kolli, S. Roussos, S. Guyot, dan C. Augur. 2004. Characterization and estimation of proanthocyanidins and other phenolics in coffee pulp (*Coffea arabica*) by thiolysis-high-performance liquid chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52(5): 1344-1349.
- Robbins, R.J., C. Kwik-Urbe, J.F. Hammerstone, dan H.H. Schmitz. 2006. Analysis of flavanols in foods: what methods are requires to enable meaningful health recommendations?. *J Cardiovasc Pharmacol*. 47(2): 110-118.
- Rupina, W., H.F. Trianto, dan I. Fitrianingrum. 2016. Efek salep ekstrak etanol 70% daun karamunting terhadap re-epitelisasi luka insisi kulit tikus wistar. *E-Journal Kedokteran Indonesia (eJKI)*. 4(1): 26-30.
- Singer, A.J., dan C.A.F. Clark. 1999. Cutaneous wound healing. *The New England Journal of Medicine*. 341(10): 738-746.

- Sitanaya, R.I. 2016. *Exodontia (Dasar-Dasar Ilmu Pencabutan Gigi)*. Yogyakarta: Deepublish.
- Sivapathasundharam, B. 2016. *Shafer's Textbook of Oral Pathology*. 8<sup>th</sup> ed. India: Elsevier.
- Smith, N. 1974. A Comparative Histological and Radiographic Study of Extraction Socket Healing in the Rat. *Australian Dental Journal*. 250-254.
- Syafriadi, M. 2007. Petunjuk Praktikum Patologi Anatomi: Degenerasi dan Radang. Tidak diterbitkan. *Disertasi*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Tamara, A.H.J., Y.S. Rochmah, dan R. Mujayanto. 2014. Pengaruh aplikasi *virgin coconut oil* terhadap peningkatan jumlah fibroblas pada luka pasca pencabutan gigi pada *Rattus novergicus*. *Odonto Dental*. 1(2): 29-34.
- Tarakji, B., L.A. Saleh, A. Umair, S.N. Azzeghaiby, dan S. Hanouneh. 2015. Systemic review of dry socket: aetiology, treatment, and prevention. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 9(4): 10-13.
- Thakur, R., N. Jain, R. Pathak, dan S.S. Shandu. 2011. Practice in wound healing studies of plants. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 26: 1-15.
- Throne, C.H. 2014. *Grabb and Smith's Plastic Surgery*. 7<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Torres-Valenzuela, L.S, J.A. Serna-Jiménez, dan K. Martinez. 2019. *Coffee by-products: nowadays and perspectives*. Spain: In Tech Open.
- Torz, J., dan S. Macatonia. 2016. *Real Fresh Coffee: How to Source, Roast, Grind and Brew the Perfect Cup*. London: Pavilion.
- Tsuchiya, H., M. Sato, T. Miyazaki, S. Fujiwara, S. Tanigaki, M. Ohyama, T. Tanaka, dan S. Linurna. 1996. Comparative study on the antibacterial activity

of photochemical flavanones against methicilin resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Ethnopharmacol.* 50: 27-30.

Utami, Y.M. 2019. Potensi antibakteri bubuk kulit buah kopi arabika (*Coffea arabica*) kering (*freeze dried*) terhadap *Porphyromonas gingivalis*. *Skripsi*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Velnar, T., T. Bailey, dan V. Smrkolj. 2009. The wound healing process: an overview of the cellular mechanisms. *The Journal of Intl. Med. Research.* 37(5): 1528-1524.



## LAMPIRAN

## Lampiran 3.1 Alat Penelitian



Keterangan :

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



*Slide warmer*



*Waterbath*



*OptiLab*



*Tissue-Tek*



*Mikrotom*



*Mikroskop*



*Filling cabinet*



*Oven*



*Ayakan*

**Lampiran 3.2 Bahan Penelitian**

Keterangan:

1. Paraffin Pastilles
2. Asam formiat
3. Entellan
4. Alkohol 80%
5. Alkohol 100%
6. Alkohol 95%
7. Alkohol 70%
8. Xylol
9. *Object glass* dan *deck glass*
10. Mayer's Hematoxylin
11. Eosin

**Lampiran 3.3 Tabel Konversi Dosis *Laurence-Bacharach***

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

Sumber: Laurence (2008).

**Lampiran 3.4 Surat Keterangan Identifikasi Tanaman**

Kode Dokumen : FR-AUK-064  
Revisi : 0



**KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN  
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](mailto:Polije@polije.ac.id) Web Site : <http://www.Polije.ac.id>

**SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TANAMAN**

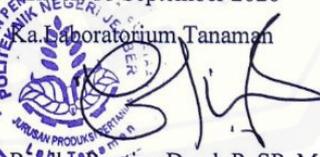
No: 26/PL17.3.1.02/LL/2020

Menindaklanjuti surat dari Wakil Dekan I Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember No: 2086/UN25.8/SP/2020 perihal Permohonan Identifikasi Tanaman dan berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirimkan ke Laboratorium Tanaman, Jurusan Produksi Pertanian, Politeknik Negeri Jember oleh:

Nama : Fadhila Zidni Ilma  
NIM : 171610101093  
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, 11 September 2020  
K. a. Laboratorium Tanaman  
  
Rindha Rentina Darah P, SP.,M.Si  
NIP. 198705012019032019

Lampiran 3.5 Surat Keterangan *Ethical Clearance*

	<p>KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN (KEPK)          FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI UNIVERSITAS JEMBER          (THE ETHICAL COMMITTEE OF MEDICAL RESEARCH          FACULTY OF DENTISTRY UNIVERSITAS JEMBER)</p>
	<p><b>ETHIC COMMITTEE APPROVAL</b>  <u>No.988/UN25.8/KEPK/DL/2020</u></p>
<p>Title of research protocol : "Potential of Arabica Coffee Fruit Skin (coffee arabica) on Increased Epithel Thicke after Tooth Extraction of Wistar Rats"</p>	
Document Approved	: Fadhila Zidni Ilma
Pincipal investigator	: Research Protocol
Member of research	: -
Responsible Physician	: Fadhila Zidni Ilma
Date of approval	: September 2020-Selesai
Place of research	: 1. Laboratorium Tanaman Jurusan Produksi Pertanian Politeknik Negeri Jember 2. Laboratorium Rekayasa Proses Hasil Pertanian FTP UNEJ 3. Laboratorium Fisiologi FKG UNEJ 4. Laboratorium 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>	
<p style="text-align: right;">Jember, August 29<sup>th</sup> 2020</p>	
 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. Dewa Ayu Ratna Dewanti, M.Si.)

## Lampiran 3.6 Surat Ijin Laboratorium Biomedik



KEMENTERIAN PENDIDIKAN, DAN KEBUDAYAAN  
**UNIVERSITAS JEMBER**  
**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI**  
 Jalan Kalimantan 37, Kampus Tegal Boto Kotak Pos 159  
 Jember 68121 Telepon (0331) 333536, 331743 Faksimili (0331)  
 331991

Nomor : 2087/UN25.8/SP/2020  
 Perihal : Ijin Penelitian

31 AUG 2020

Kepada Yth  
 Ketua Bagian Biomedik  
 FKG Universitas Jember  
 Di  
 Jember

Dalam rangka penelitian maka, dengan hormat kami mohon bantuan dan kesediaannya untuk memberikan Ijin Penelitian bagi Mahasiswa kami :

- |    |                          |  |
|----|--------------------------|--|
| 1  | Nama                     | : Fadhila Zidni Ilma   |
| 2  | NIM                      | : 171610101093   |
| 3  | Semester/Tahun Akademik  | : VII/ 2020/2021   |
| 4  | Fakultas                 | : Kedokteran Gigi  |
| 5  | Alamat                   | : Jl. Kalimantan No. 37 Kampus Tegal Boto Jember   |
| 6  | Judul Penelitian         | : Potensi Kulit Buah Kopi Arabika ( <i>Coffea arabica</i> ) terhadap Peningkatan Ketebalan Epitel setelah Pencabutan Gigi Tikus Wistar           |
| 7  | Lokasi Penelitian        | : Laboratorium Fisiologi dan Laboratorium Histologi, bagian Biomedik FKG Universitas Jember  |
| 8  | Data/ alat yang dipinjam | : Mikroskop, OptiLab, Mikrotom, Slide warmer, Waterbath, Timbangan, Rat dental chair   |
| 9  | Waktu                    | : September 2020 s/d selesai   |
| 10 | Tujuan Penelitian        | : Mengukur dan mengetahui ketebalan epitel setelah pencabutan gigi tikus Wistar setelah diberi kulit buah kopi arabika ( <i>Coffea arabica</i> ) |
| 11 | Dosen Pembimbing         | : 1. drg. Agus Sumono, M.Kes<br>2. Dr. drg. Tecky Indriana, M.Kes  |

Demikian atas perkenan dan kerjasama yang baik disampaikan terimakasih



an. Dekan  
 Wakil Dekan I,  
**Dr. drg. Masniari Novita, M.Kes., Sp. OF(K)**  
 NIP.196811251999032001

**Lampiran 3.7 Pembuatan Bubuk Kulit Buah Kopi Arabika**



Kulit Buah Kopi Arabika



Pengeringan Kulit Kopi Arabika



Pengayakan



Bubuk Kulit Buah Kopi Arabika

**Lampiran 3.8 Perlakuan Hewan Coba**



Adaptasi hewan coba



Injeksi ketamin



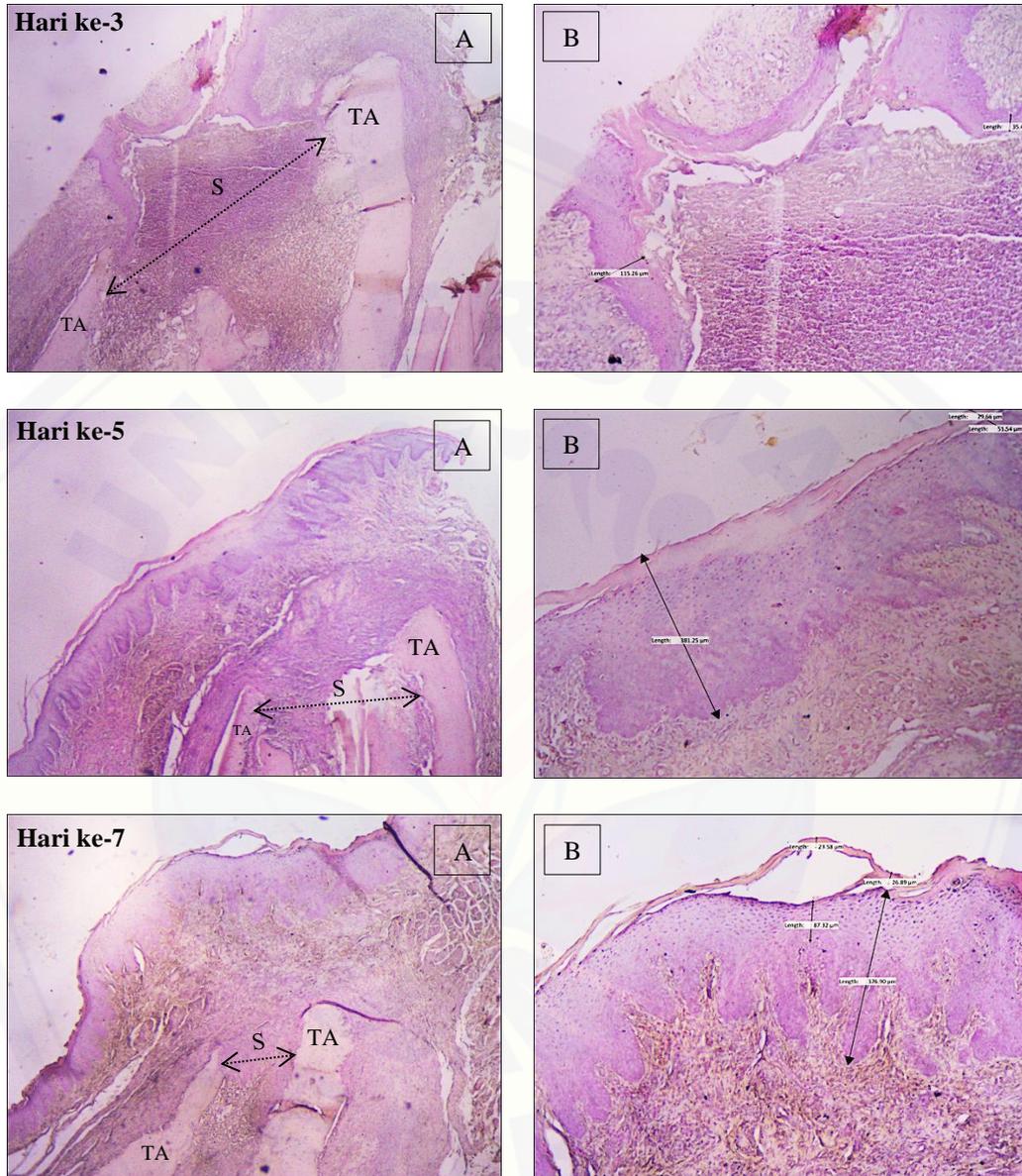
Pencabutan gigi tikus



Pemberian bahan secara sondase

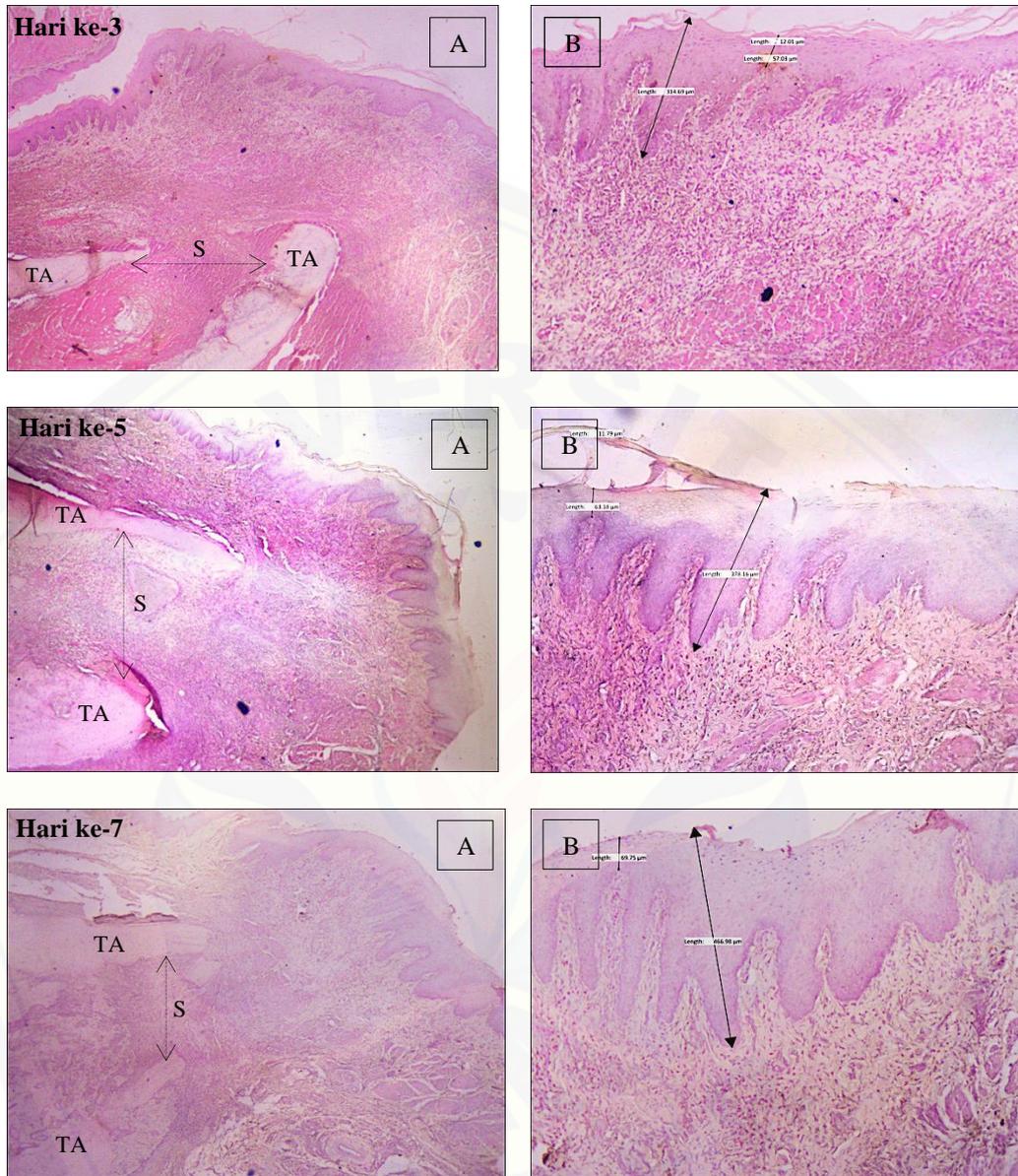
## Lampiran 4.1 Gambaran Histologi Kelompok Kontrol dan Perlakuan

## A. Kelompok Kontrol



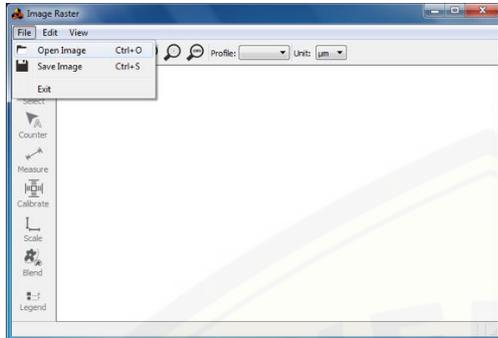
Gambaran histologis soket setelah pencabutan gigi tikus Wistar pada hari ke-3, ke-5, dan ke-7 dengan arah pemotongan bukolingual. A) Preparat kontrol dengan perbesaran 40X (TA = Tulang alveolar, S = Soket); B) Hasil pengukuran ketebalan epitel gingiva yang menutupi soket gigi dengan perbesaran 100X pada bagian tertebal dan tertipis menggunakan *software Image Raster*.

B. Kelompok Perlakuan

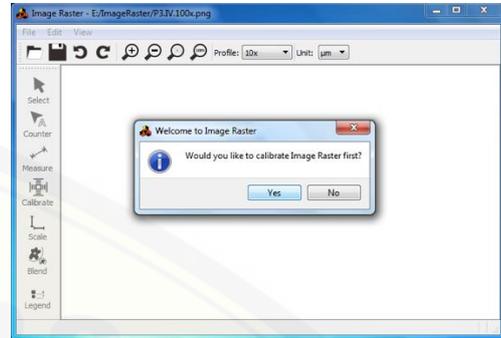


Gambaran histologis soket setelah pencabutan gigi tikus Wistar pada hari ke-3, ke-5, dan ke-7 dengan arah pemotongan bukolingual. A) Preparat perlakuan dengan perbesaran 40X (TA = Tulang alveolar, S = Soket); B) Hasil pengukuran ketebalan epitel gingiva yang menutupi soket gigi dengan perbesaran 100X pada bagian tertebal dan tertipis menggunakan *software Image Raster*.

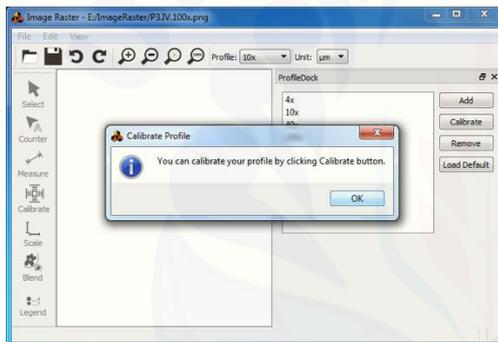
### Lampiran 4.2 Tahapan Pengukuran Ketebalan Epitel Soket Menggunakan Software Image Raster 3.0



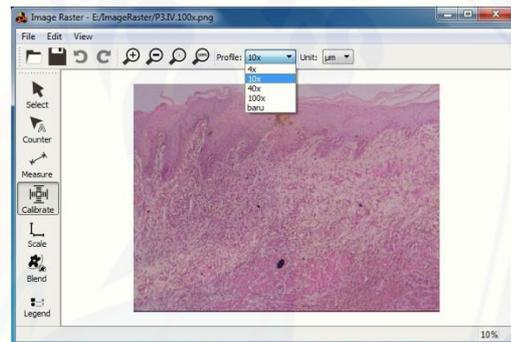
a) Membuka *software Image Raster*, klik “File” dan “Open Image” pada Menu Bar.



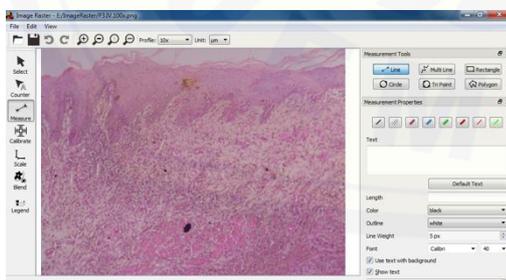
b) Pilih foto yang akan digunakan dan selanjutnya klik “Yes” untuk melakukan kalibrasi.



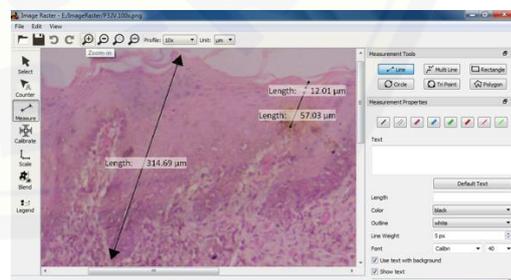
c) Klik “Ok” dan mulai lakukan kalibrasi pengukuran sesuai dengan perbesaran mikroskop yang digunakan.



d) Apabila gambar yang digunakan berasal dari perbesaran 100x, maka ubah “Profile” pada Tool Bar menjadi 10x.



e) Atur “Units” atau satuan pengukuran pada Tool Bar dalam  $\mu\text{m}$ . Selanjutnya, klik “Measure” pada Tool Box dan lakukan pengukuran.



f) Agar mempermudah, klik “Zoom in” pada Tool Bar;  
g) Setelah pengukuran, didapatkan ukuran epitel tertebal dan tertipis yang diukur dari stratum basalis hingga startum korneum.

## Lampiran 4.3 Hasil Pengukuran Ketebalan Epitel

## A. Kelompok Kontrol

Sampel		Epitel Tertebal ( $\mu\text{m}$ )			Epitel Tertipis ( $\mu\text{m}$ )			Jumlah	Rata-Rata	Rerata Kelompok
		P1	P2	P3	P1	P2	P3			
Hari ke-3	I	115.26	119.77	122.68	35.41	38.32	36.01	467.46	77.91	123.83
	II	199.86	188.80	200.63	53.77	51.26	51.54	745.86	124.31	
	III	236.94	241.13	250.16	64.96	65.53	61.80	920.52	153.42	
	IV	227.13	230.16	225.16	51.70	51.56	52.32	838.03	139.67	
Hari ke-5	I	381.25	378.09	379.17	81.20	82.47	82.85	923.01	230.75	183.53
	II	297.62	289.22	303.83	71.36	76.32	67.84	1106.19	184.37	
	III	249.20	245.52	246.67	97.93	96.10	96.70	1032.12	172.02	
	IV	232.59	233.79	230.15	61.13	63.59	60.67	881.92	146.99	
Hari ke-7	I	360.20	361.01	354.70	57.09	61.60	54.82	1249.42	208.24	237.37
	II	366.84	373.94	372.47	53.60	43.65	55.78	1266.28	211.05	
	III	415.26	411.12	417.56	123.65	151.02	123.24	1641.85	273.64	
	IV	403.79	404.30	413.36	110.90	103.64	103.33	1539.32	256.55	

## B. Kelompok Perlakuan

Sampel		Epitel Tertebal ( $\mu\text{m}$ )			Epitel Tertipis ( $\mu\text{m}$ )			Jumlah	Rata-Rata	Rerata Kelompok
		P1	P2	P3	P1	P2	P3			
Hari ke-3	I	256.01	241.00	254.73	35.47	34.08	31.08	852.37	142.06	181.66
	II	357.74	357.15	356.61	76.33	77.48	74.99	1300.03	216.67	
	III	265.74	264.64	258.27	82.29	84.25	80.16	1035.36	172.56	
	IV	314.69	326.37	320.91	69.04	73.28	67.87	1172.16	195.36	
Hari ke-5	I	343.91	349.67	351.21	74.06	77.45	73.19	1269.49	211.58	254.30
	II	378.16	374.29	377.84	75.17	79.72	84.66	1369.84	228.31	
	III	462.26	462.78	456.58	72.06	70.25	78.62	1602.55	267.09	
	IV	511.42	511.62	520.16	107.41	106.64	104.18	1861.43	310.24	
Hari ke-7	I	424.59	429.46	429.72	112.02	107.90	113.42	1617.11	269.52	262.37
	II	532.06	532.08	534.58	118.57	117.89	130.79	1965.97	327.66	
	III	302.76	297.91	303.36	73.52	75.10	70.32	1122.97	187.16	
	IV	466.98	446.11	469.21	69.75	68.97	69.73	1590.75	265.13	

\*Keterangan: P1 = Pengamat pertama; P2 = Pengamat kedua; dan P3 = Pengamat ketiga.

## Lampiran 4.4 Hasil Analisis Data

### A. Deskripsi Rata-Rata dan Standar Deviasi

Descriptives								
Ketebalan Epitel								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol Hari ke-3	4	123.8275	32.83976	16.41988	71.5721	176.0829	77.91	153.42
Kontrol Hari ke-5	4	183.5325	35.10976	17.55488	127.6650	239.4000	146.99	230.75
Kontrol Hari ke-7	4	237.3700	32.78559	16.39279	185.2008	289.5392	208.24	273.64
Perlakuan Hari ke-3	4	181.6625	31.96018	15.98009	130.8067	232.5183	142.06	216.67
Perlakuan Hari ke-5	4	254.3050	43.94446	21.97223	184.3796	324.2304	211.58	310.24
Perlakuan Hari ke-7	4	262.3675	57.67168	28.83584	170.5990	354.1360	187.16	327.66
Total	24	207.1775	61.26822	12.50632	181.3062	233.0488	77.91	327.66

### B. Hasil Uji Normalitas *Shapiro-Wilk*

Tests of Normality							
Kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk			
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.	
Ketebalan Epitel	Kontrol Hari ke-3	.256	4	.	.916	4	.517
	Kontrol Hari ke-5	.240	4	.	.961	4	.786
	Kontrol Hari ke-7	.289	4	.	.855	4	.244
	Perlakuan Hari ke-3	.166	4	.	.990	4	.956
	Perlakuan Hari ke-5	.223	4	.	.952	4	.727
	Perlakuan Hari ke-7	.269	4	.	.949	4	.708

a. Lilliefors Significance Correction

### C. Hasil Uji Homogenitas *Levene*

Test of Homogeneity of Variances					
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Ketebalan Epitel	Based on Mean	.306	5	18	.903
	Based on Median	.239	5	18	.940
	Based on Median and with adjusted df	.239	5	9.944	.936
	Based on trimmed mean	.297	5	18	.908

### D. Hasil Uji Parametrik *One-Way ANOVA*

ANOVA					
Ketebalan Epitel					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	57343.393	5	11468.679	7.120	.001
Within Groups	28993.895	18	1610.772		
Total	86337.288	23			

E. Hasil Uji *Post-Hoc* LSD (*Least Significant Difference*)

**Post Hoc Tests**

**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: Ketebalan Epitel  
LSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol Hari ke-3	Kontrol Hari ke-5	-59.70500*	28.37932	.050	-119.3277	-.0823
	Kontrol Hari ke-7	-113.5425*	28.37932	.001	-173.1652	-53.9198
	Perlakuan Hari ke-3	-57.83500	28.37932	.057	-117.4577	1.7877
	Perlakuan Hari ke-5	-130.4775*	28.37932	.000	-190.1002	-70.8548
	Perlakuan Hari ke-7	-138.5400*	28.37932	.000	-198.1627	-78.9173
Kontrol Hari ke-5	Kontrol Hari ke-3	59.70500*	28.37932	.050	.0823	119.3277
	Kontrol Hari ke-7	-53.83750	28.37932	.074	-113.4602	5.7852
	Perlakuan Hari ke-3	1.87000	28.37932	.948	-57.7527	61.4927
	Perlakuan Hari ke-5	-70.77250*	28.37932	.023	-130.3952	-11.1498
	Perlakuan Hari ke-7	-78.83500*	28.37932	.012	-138.4577	-19.2123
Kontrol Hari ke-7	Kontrol Hari ke-3	113.54250*	28.37932	.001	53.9198	173.1652
	Kontrol Hari ke-5	53.83750	28.37932	.074	-5.7852	113.4602
	Perlakuan Hari ke-3	55.70750	28.37932	.065	-3.9152	115.3302
	Perlakuan Hari ke-5	-16.93500	28.37932	.558	-76.5577	42.6877
	Perlakuan Hari ke-7	-24.99750	28.37932	.390	-84.6202	34.6252
Perlakuan Hari ke-3	Kontrol Hari ke-3	57.83500	28.37932	.057	-1.7877	117.4577
	Kontrol Hari ke-5	-1.87000	28.37932	.948	-61.4927	57.7527
	Kontrol Hari ke-7	-55.70750	28.37932	.065	-115.3302	3.9152
	Perlakuan Hari ke-5	-72.64250*	28.37932	.020	-132.2652	-13.0198
	Perlakuan Hari ke-7	-80.70500*	28.37932	.011	-140.3277	-21.0823
Perlakuan Hari ke-5	Kontrol Hari ke-3	130.47750*	28.37932	.000	70.8548	190.1002
	Kontrol Hari ke-5	70.77250*	28.37932	.023	11.1498	130.3952
	Kontrol Hari ke-7	16.93500	28.37932	.558	-42.6877	76.5577
	Perlakuan Hari ke-3	72.64250*	28.37932	.020	13.0198	132.2652
	Perlakuan Hari ke-7	-8.06250	28.37932	.780	-67.6852	51.5602
Perlakuan Hari ke-7	Kontrol Hari ke-3	138.54000*	28.37932	.000	78.9173	198.1627
	Kontrol Hari ke-5	78.83500*	28.37932	.012	19.2123	138.4577
	Kontrol Hari ke-7	24.99750	28.37932	.390	-34.6252	84.6202
	Perlakuan Hari ke-3	80.70500*	28.37932	.011	21.0823	140.3277
	Perlakuan Hari ke-5	8.06250	28.37932	.780	-51.5602	67.6852

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