



**EFEK PEMBERIAN SEDUHAN KOPI TERHADAP JUMLAH SEL  
FIBROBLAS PADA LIGAMEN PERIODONTAL GIGI TIKUS YANG DI  
INDUKSI GAYA ORTODONTI**

**SKRIPSI**

Oleh

**Ayuk Susilowati**

**121610101019**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI**

**UNIVERSITAS JEMBER**

**2016**



**EFEK PEMBERIAN SEDUHAN KOPI TERHADAP JUMLAH SEL  
FIBROBLAS PADA LIGAMEN PERIODONTAL GIGI TIKUS YANG DI  
INDUKSI GAYA ORTODONTI**

**SKRIPSI**

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

Oleh

**Ayuk Susilowati**

**121610101019**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI**

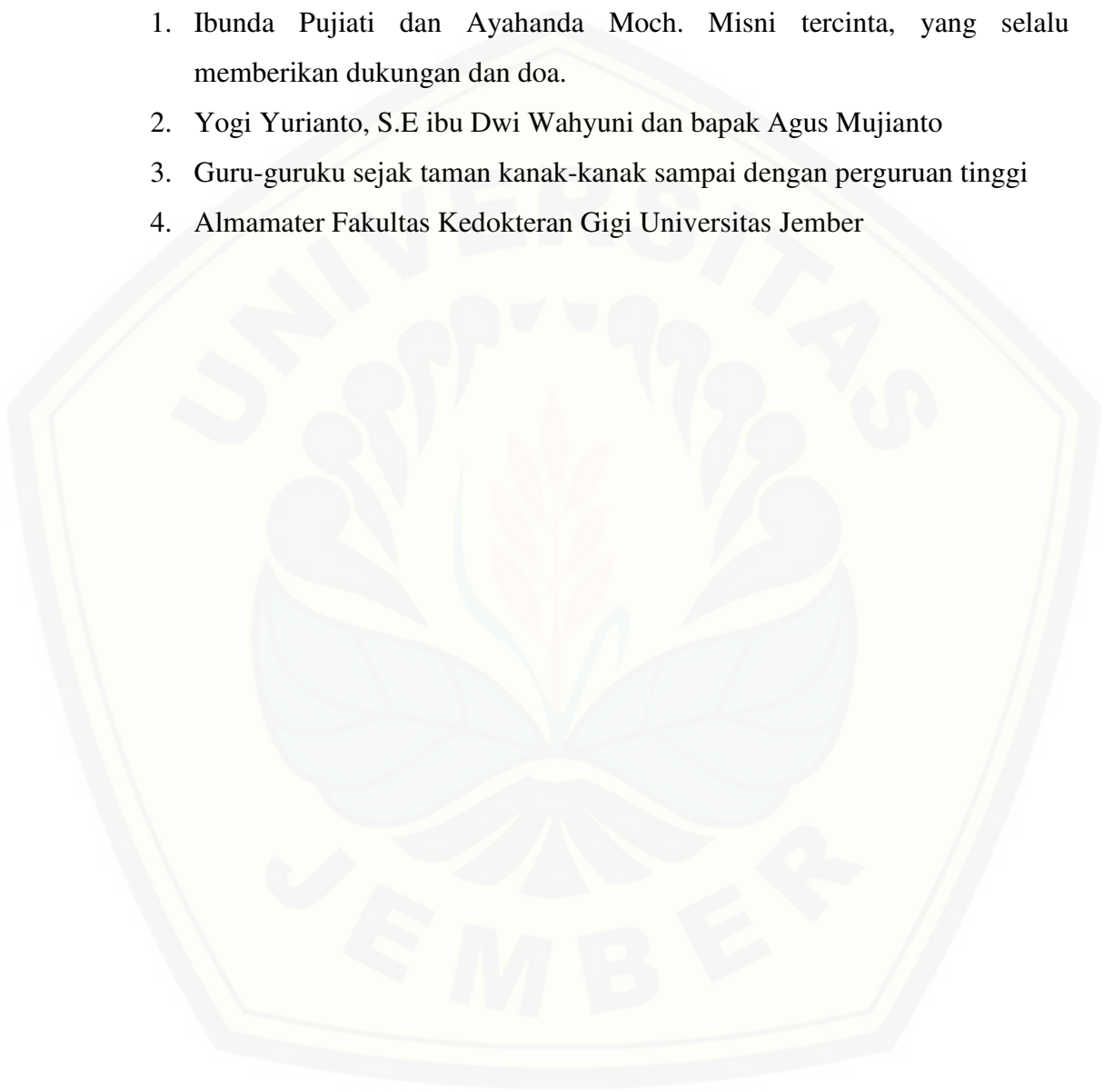
**UNIVERSITAS JEMBER**

**2016**

## PERSEMBAHAN

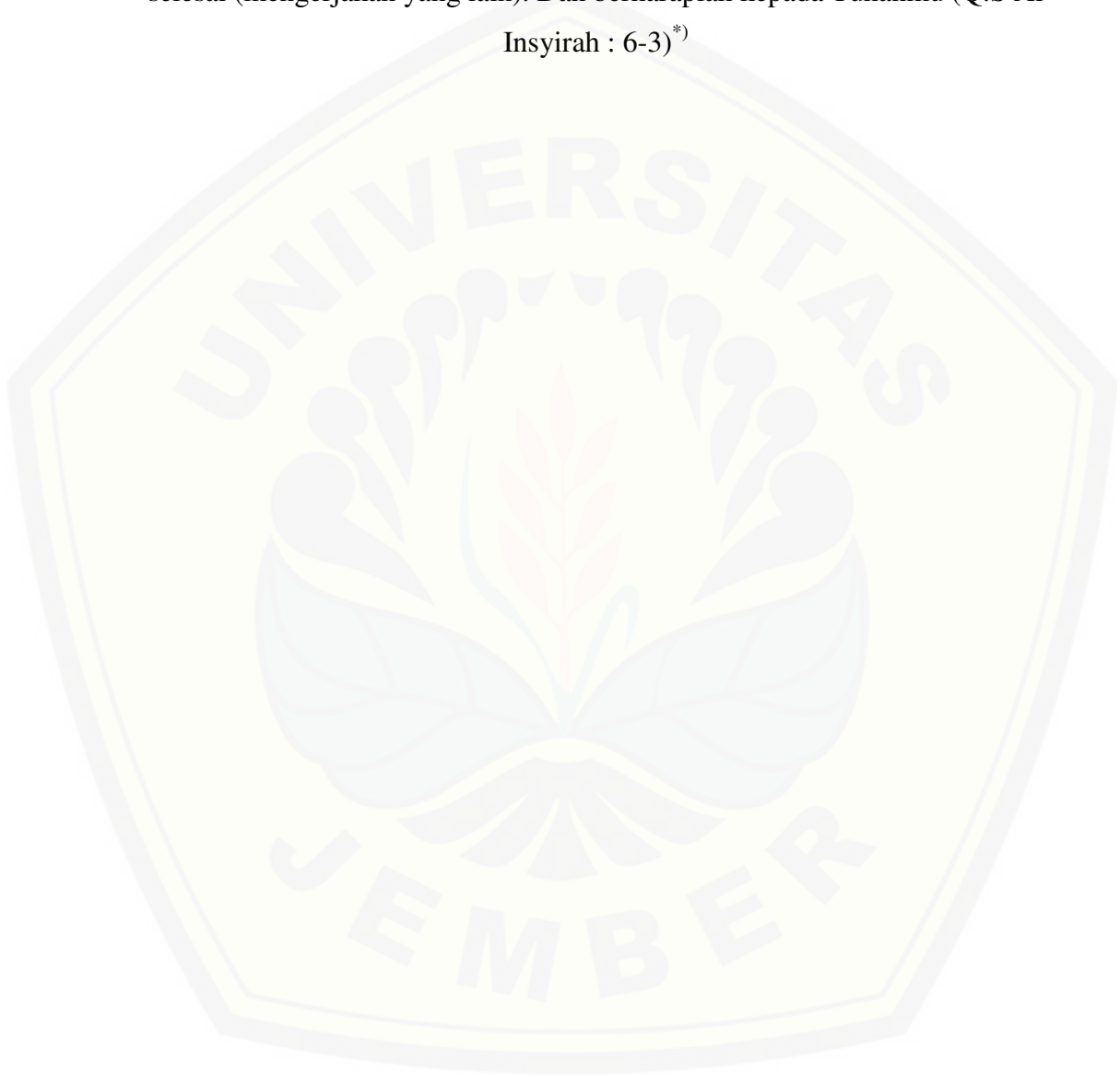
Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ibunda Pujiati dan Ayahanda Moch. Misni tercinta, yang selalu memberikan dukungan dan doa.
2. Yogi Yuriyanto, S.E ibu Dwi Wahyuni dan bapak Agus Mujiyanto
3. Guru-guruku sejak taman kanak-kanak sampai dengan perguruan tinggi
4. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember



### MOTTO

Sesungguhnya bersama kesukaran itu ada keringanan. Karena itu bila kau sudah selesai (mengerjakan yang lain). Dan berharaplah kepada Tuhanmu (Q.S Al Insyirah : 6-3)<sup>\*)</sup>



<sup>\*)</sup> Departemen Agama Republik Indonesia. 2005. Al-Qur'an dan Terjemahnya. Bandung: PT. Syaamil Cipta Media.

**PERNYATAAN**

Saya yang bertandatangan di bawah ini :

Nama : Ayuk Susilowati

NIM : 121610101019

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Efek Pemberian Seduhan Kopi Terhadap Jumlah sel Fibroblas pada Ligamen Periodontal Gigi Tikus yang diinduksi Gaya Ortodonti” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada instansi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, Mei 2016

Yang menyatakan,

Ayuk Susilowati

NIM 121610101019

**SKRIPSI**

**EFEK PEMBERIAN SEDUHAN KOPI TERHADAP JUMLAH SEL  
FIBROBLAS PADA LIGAMEN PERIODONTAL GIGI TIKUS YANG DI  
INDUKSI GAYA ORTODONTI**

Oleh :

**Ayuk Susilowati**

**121610101019**

Pembimbing

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

Dosen Pembimbing Pendamping : drg. Happy Harmono, M. Kes

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul Efek Pemberian Seduhan Kopi terhadap Jumlah Sel Fibroblas pada Ligamen Periodontal Gigi Tikus diinduksi Gaya Ortodonti telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada :

hari : Rabu

tanggal : 25 Mei 2016

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

**Tim Penguji**

**Dosen Penguji Ketua**

**Dosen Penguji Anggota**

drg. Nuzulul Hikmah, M.Biomed

NIP. 198107172008012017

drg. Yenny Yustisia, M.Biotech

NIP.197903252005012000

**Pembimbing**

**Dosen Pembimbing Utama**

**Dosen Pembimbing Pendamping**

Dr. Hj. Herniyati, drg. M. Kes

NIP. 196810201996012001

Drg. Happy Harmono, M.Kes

NIP. 196709011997021001

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi

Universitas Jember

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

NIP. 196901121996011001

## RINGKASAN

**Efek Pemberian Seduhan Kopi Terhadap Jumlah sel Fibroblas pada Ligamen Periodontal Gigi Tikus yang diinduksi Gaya ;** Ayuk Susilowati, 121610101019 ; 2016 : 65 halaman ; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Maloklusi merupakan penyimpangan dari bentuk oklusi normal, yang dapat menyebabkan rusaknya jaringan periodontal, frekuensi karies gigi lebih tinggi, fungsi fonetik terganggu, fungsi pengunyahan terganggu, estetik terganggu dan pada akhirnya menimbulkan kelainan psikologis pada penderita. Maloklusi dapat dikoreksi dengan penggunaan alat ortodonti dengan prinsip pemberian beban berupa gaya ortodonti yang adekuat pada gigi dan jaringan pendukungnya yaitu ligamen periodontal, sementum dan tulang alveolar .

Saat gigi menerima tekanan ortodonti maka akan terjadi respon menyerupai respon inflamasi, sehingga tubuh akan melepaskan ROS (*Reactive Oxygen Spesies*). ROS dapat merusak sel dan DNA apabila diproduksi secara berlebihan, oleh sebab itu dibutuhkan anti inflamasi dan antioksidan yang berperan dalam mencegah terjadinya kerusakan pada sel. Diketahui bahwa biji kopi robusta memiliki kandungan polifenol yang merupakan antioksidan kuat di dalam kopi yang lebih tinggi di banding kopi arabika ataupun tanaman lain.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh seduhan kopi terhadap jumlah sel fibroblas pada ligamen periodontal gigi tikus diinduksi gaya ortodonti. Jenis penelitian adalah experimental laboratoris. Populasi penelitian adalah hewan coba tikus *Sprague Dawley* yang terbagi menjadi 2 kelompok dan setiap kelompok terdiri dari 4 tikus, yaitu kelompok kontrol tanpa pemberian kopi dan kelompok perlakuan dengan pemberian kopi dan diinduksi gaya ortodonti selama 21 hari. Hari ke 22 tikus di korbakan dengan cara inhalasi kemudian dilakukan pemrosesan jaringan. Selanjutnya dilakukan pengamatan serta penghitungan sel fibroblas dibawah mikroskop.



Dalam penelitian ini jumlah total sampel adalah 8, namun hanya di dapatkan 6 sampel daerah tekanan dan 4 sampel daerah tarikan yang dapat teridentifikasi secara jelas, baik gambaran sel dan stuktur jaringannya pada daerah tekanan, sedangkan daerah tarikan banyak yang mengalami kerusakan seperti : jaringan melipat, akar gigi dan ligamen tidak nampak secara utuh, dan jaringan yang rusak. Peneliti menganggap total jumlah sampel 6 tersebut dapat mewakili kriteria sampel yang dipakai dalam penelitian. Menurut Santoso 2011, peneliti tidak dapat dengan mudah menggunakan jumlah hewan yang banyak untuk mendapatkan *power* statistik yang tinggi, jumlah hewan yang di pakai harus dikaji dengan berbagai perhitungan sehingga dapat menggunakan hewan coba yang sedikit tanpa menghilangkan arti penelitian. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan terdapat peningkatan signifikan jumlah sel fibroblas pada ligamen periodontal daerah tekanan kelompok perlakuan dengan pemberian seduhan kopi dibandingkan dengan tikus kontrol tanpa pemberian seduhan kopi.

## PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT, atas limpahan rahmat, hidayah serta karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi berjudul “Efek Pemberian Seduhan Kopi Terhadap Jumlah Sel Fibroblas pada Ligamen Periodontal Gigi Tikus Diinduksi Gaya Ortodonti”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat penyelesaian pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

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

1. Kedua Orang Tua, ibunda Pujiati dan Ayahanda Moch. Misni atas untaian do'a, limpahan kasih sayang, semangat serta dukungan moril yang tiada batas.
2. drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes, Sp. Prost. selaku Dekan, Dr.drg. I Dewa Ayu Susilawati M.Kes selaku Pembantu Dekan I, Dr.drg. Sri Hernawati, M.Kes selaku Pembantu Dekan II, dan drg. Izzata Barid, M. Kes selaku Pembantu Dekan III.
3. Dr. Hj. Herniyati, drg. M.Kes, selaku pembimbing utama, drg. Happy Harmono, M.Kes, selaku dosen pembimbing pendamping, atas bimbingan, pengarahan, waktu serta perhatian yang diberikan dalam penyusunan skripsi ini.
4. drg. Nuzulul Hikmah, M.Biomed selaku penguji utama drg. Yenny Yustisia, M.Biotech selaku penguji pendamping atas saran yang bermanfaat dan bimbingan yang diberikan hingga terselesainya skripsi ini.
5. drg. Masniari Novita M.Kes. selaku dosen pembimbing akademik, atas perhatian dan motivasi selama ini
6. Seluruh staf Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember Mbak Wahyu, Mas Agus serta staf Laboratorium

Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya terimakasih atas bimbingan dan bantuan selama penelitian ini dilakukan.

7. Yogi yurianto, S.E ibu Dwi Wahyuni dan bapak Agus Mujianto atas cinta, kasih sayang semangat dan doa yang telah diberikan.
8. Sahabat sahabat sekaligus keluarga kedua di jember Citra, Della, Leli, Nana, Anin, Tria, Gung is, Rinong dan Fay yang selalu ada dan menyemangati setiap saat.
9. Partner proyek penelitian Dian dan Vira yang terimakasih telah menjadi parter yang hebat.
10. Sahabatku yang kini sudah berbeda kota Cink, Petonk, Cemprink, Zuhrotul Mufidah atas semangat dan doa yang telah diberikan mari sama sama raih satu persatu impian suatu saat nanti kesuksesan akan kita genggam.
11. Teman teman seperjuangan di FKG UJ 2012 SE..!!!, UKM LISMA terimakasih atas segala bantuan dan kerjasamanya selama menuntut ilmu semoga kita semua menjadi dokter gigi dokter gigi yang sukses.
12. Almamater tercinta Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
13. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna, maka penulis menerima semua kritik dan saran yang membangun dari semua pihak untuk melengkapi dan menyempurnakan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak.

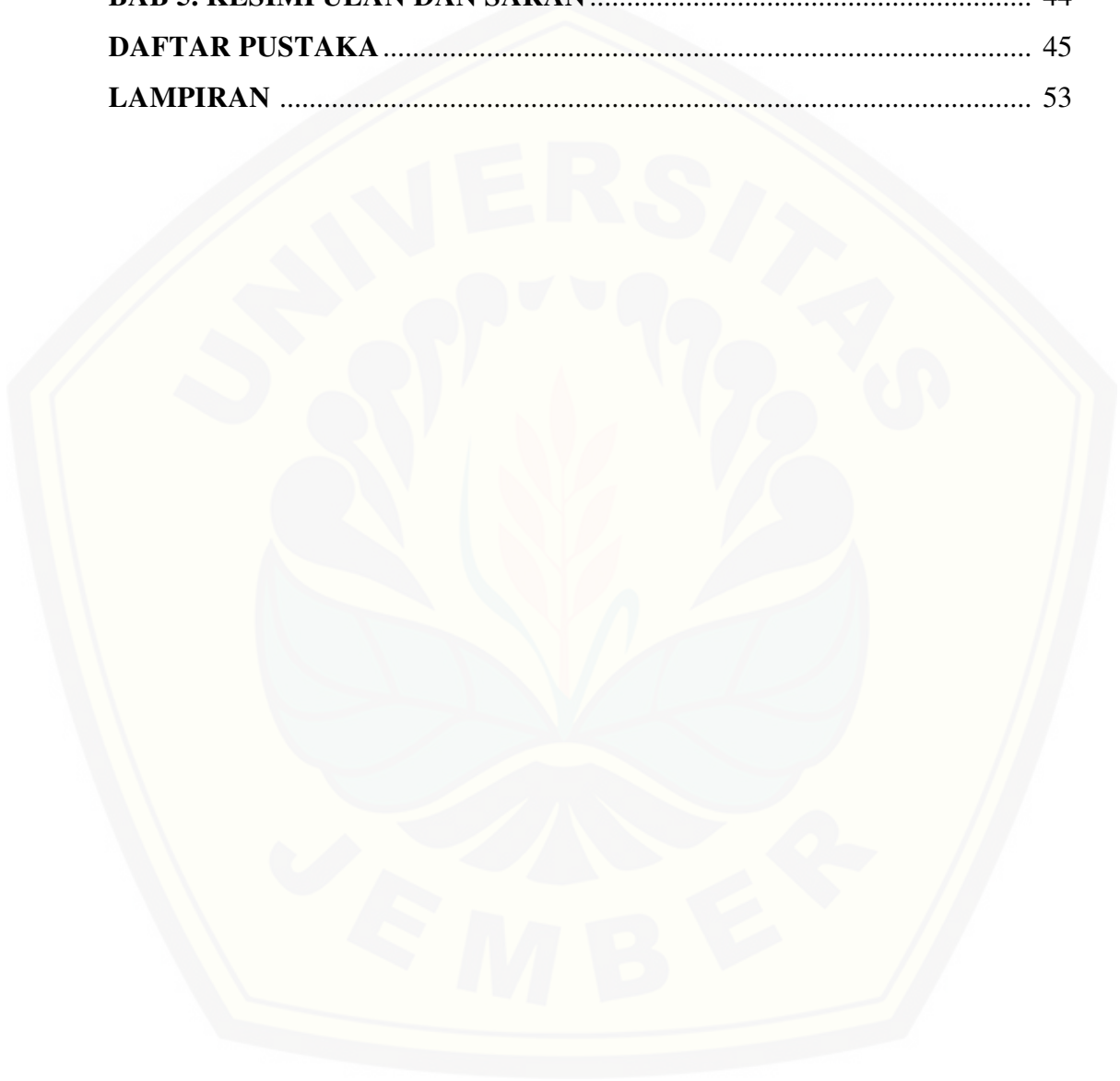
Penulis

**DAFTAR ISI**

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN MOTTO</b> .....	iv
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	v
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vii
<b>RINGKASAN</b> .....	viii
<b>PRAKATA</b> .....	x
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xv
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xvi
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xvii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	1
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	3
<b>1.3 Tujuan Penelitian</b> .....	3
<b>1.4 Manfaat Penelitian</b> .....	4
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	5
<b>2.1 Kopi</b> .....	5
2.1.1 Definisi Kopi .....	5
2.1.2 Kandungan Kopi .....	6
2.1.3 Fitokimia Kopi .....	7
2.1.4 Antioksidan pada kopi .....	10
<b>2.2 Pergerakan Gigi Ortodonti</b> .....	11
2.2.1 Teori Biomekanik Pergerakan Gigi .....	14
2.2.2 Tahap tahap pergerakan Gigi Ortodontik .....	15
<b>2.3 Sel Fibroblas</b> .....	16

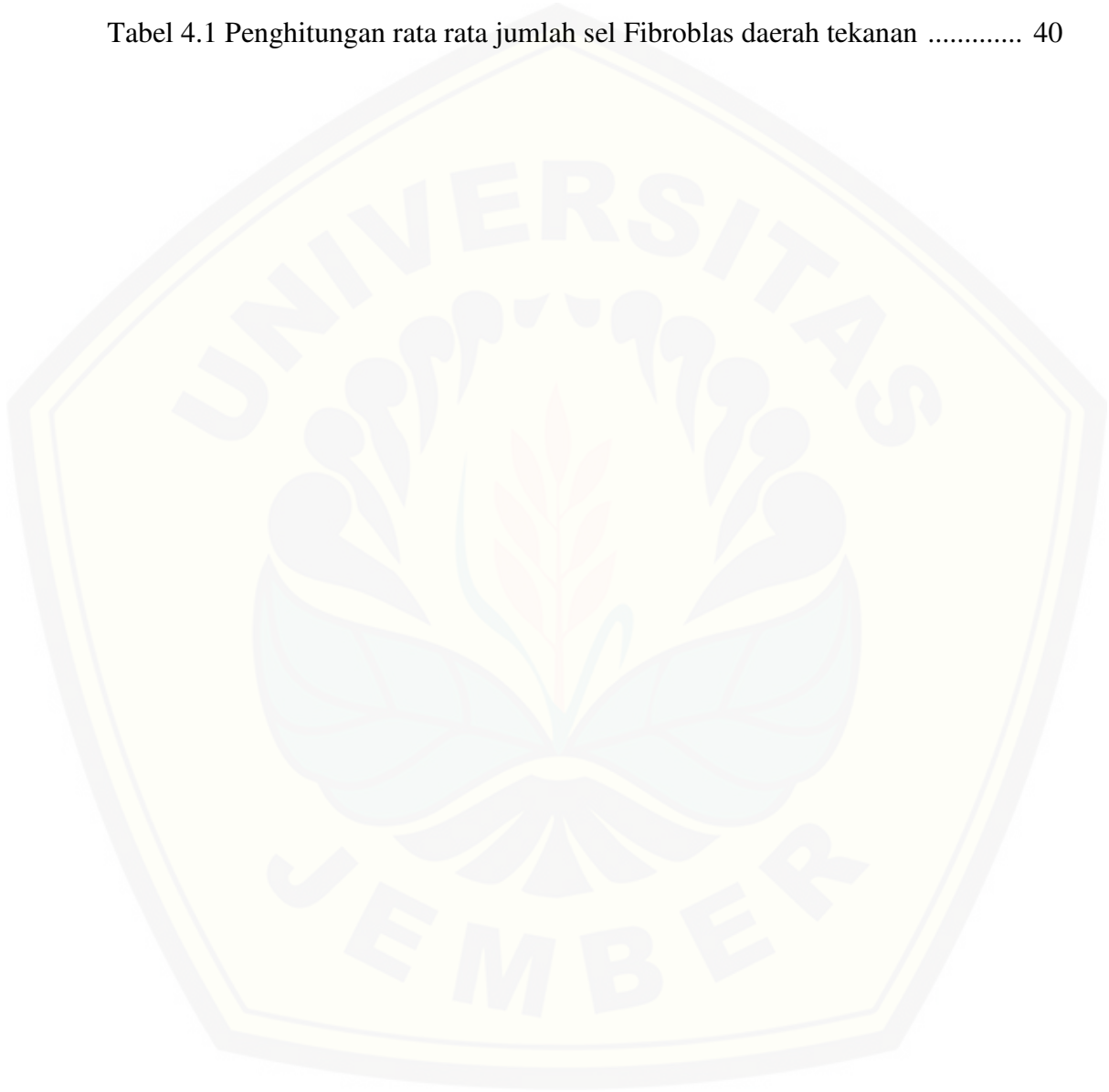
2.3.1 Definisi Sel Fibroblas .....	16
2.3.2 Fungsi Fibroblas .....	17
2.3.3 Struktur Sel Fibroblas .....	18
<b>2.4 Pengaruh Induksi Gaya Ortodontik terhadap sel Fibroblas.....</b>	<b>18</b>
<b>2.5 Efek Kopi Terhadap sel Fibroblas .....</b>	<b>19</b>
<b>2.6 Kerangka Konsep Penelitian .....</b>	<b>22</b>
<b>2.7 Hipotesis .....</b>	<b>23</b>
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN.....</b>	<b>24</b>
<b>3.1 Jenis Penelitian.....</b>	<b>24</b>
<b>3.2 Rancangan Penelitian .....</b>	<b>24</b>
<b>3.3 Tempat dan Waktu penelitian .....</b>	<b>24</b>
3.3.1 Tempat Penelitian .....	24
3.3.2 Waktu Penelitian .....	25
<b>3.4 Populasi dan Sampel Penelitian .....</b>	<b>25</b>
3.4.1 Populasi penelitian.....	25
3.4.2 Sampel Penelitian .....	25
<b>3.5 Identifikasi Variabel Penelitian.....</b>	<b>26</b>
3.5.1 Variabel Bebas .....	26
3.5.2 Variabel Terikat .....	27
3.5.3 Variabel Terkendali .....	27
<b>3.6 Bahan dan Alat Penelitian .....</b>	<b>28</b>
3.6.1 Bahan Penelitian .....	28
3.6.2 Alat Penelitian .....	29
<b>3.7 Prosedur Penelitian .....</b>	<b>30</b>
3.7.1 Persiapan <i>Ethical Clearance</i> .....	30
3.7.2 Persiapan Hewan Coba dan Pembagian Kelompok.....	30
3.7.3 Persiapan Bahan Penelitian.....	30
3.7.4 Pelaksanaan Penelitian.....	30
3.7.5 Pembuatan Sediaan Histologi .....	32
3.7.6 Pengamatan dan Penghitungan Jumlah sel Fibroblas .....	35
<b>3.8 Analisis.....</b>	<b>36</b>

<b>3.9 Alur Penelitian .....</b>	<b>37</b>
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>38</b>
<b>4.1 Hasil dan Analisis .....</b>	<b>38</b>
<b>4.2 Pembahasan .....</b>	<b>41</b>
<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>44</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>45</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>53</b>



**DAFTAR TABEL**

	Halaman
Tabel 2.1 Komposisi Biji Kopi Arabika dan Robusta sebelum disangrai .....	7
Tabel 4.1 Penghitungan rata rata jumlah sel Fibroblas daerah tekanan .....	40



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Penampang melintang buah kopi .....	6
Gambar 2.2 Struktur molekul Kafein .....	8
Gambar 2.3 Aplikasi tekanan ortodontik pada gigi .....	13
Gambar 2.4 Sel Fibroblas.....	16
Gambar 2.5 Perbedaan sel fibroblas aktif dan diam .....	18
Gambar 2.6 Gambaran skematik gigi, ligamen dan sel selnya serta tulang alveolar .....	19
Gambar 2.7 Ilustrasi fibroblas pada proses repair .....	20
Gambar 2.8 Aktivitas keseimbangan antara ROS dan AO .....	21
Gambar 4.1 Gambaran histologis ligamen periodontal tikus <i>Sprague dawley</i> kelompok kontrol dengan pengecatan Hematoksilin Eosin .....	38
Gambar 4.2 Gambaran histologis ligamen periodontal tikus <i>Sprague dawley</i> kelompok perlakuan dengan pengecatan Hematoksilin Eosin.....	39
Gambar 4.3 Gambaran histologis ligamen periodontal tikus <i>Sprague dawley</i> kelompok kontrol dengan pengecatan Hematoksilin Eosin .....	40
Gambar 4.4 Gambaran histologis ligamen periodontal tikus <i>Sprague dawley</i> kelompok perlakuan dengan pengecatan Hematoksilin Eosin .....	41



**DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
Lampiran A. Surat ijin penelitian .....	53
Lampiran B. Keterangan Kelayakan Etik .....	54
Lampiran C. Pembuatan Freeze Dried Ekstract dan konversi penghitungan dosis .....	55
Lampiran D. Penghitungan Konversi Dosis dari Manusia ke Tikus.....	56
Lampiran E. Alat dan Bahan Penelitian .....	57
Lampiran F. Prosedur Penelitian.....	60
Lampiran G. Data Hasil Penelitian .....	61
Lampiran H. Hasil Penghitungan Jumlah Fibroblas .....	63
Lampiran I. Uji Statistika.....	64

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Pergerakan gigi secara ortodonti dihasilkan dari kombinasi reaksi biologis terhadap tekanan biomekanik oleh gaya ortodonti di ligamen periodontal dan tulang alveolar, hal ini menyebabkan *remodelling* pada gigi dan jaringan penyangganya, termasuk pulpa gigi, ligamen periodontal, tulang alveolar dan gingiva. (Takahashi *et al.*, 2003; Krishnan and Davidovitch, 2006). Aplikasi gaya ortodonti dapat mengubah aliran darah dan aktivitas elektrokimia lokal pada ligamen periodontal, hal ini menyebabkan reaksi inflamasi dalam jaringan periodontal yang pada akhirnya dapat memicu proses biologis yang berhubungan dengan *remodelling* tulang (P.J Brooks *et al.*, 2009). Pada studi di awal abad 20, berbagai penelitian yang dilakukan menunjukkan bahwa terdapat aktivitas seluler pada pergerakan gigi ortodonti yang melibatkan sel fibroblas, sel endotel, osteoblas, osteosit dan sel sel endosteal (Davidovitch, 1995).

Gaya ortodontik menginduksi *remodelling* ligamen periodontal dan tulang alveolar. Rygh dan Brudvik, 1995 menjelaskan gambaran histologi dan reaksi histokimia di ligamen periodontal tikus setelah aplikasi gaya ortodontik. Pada sisi tarikan terlihat ligamen periodontal mengalami pelebaran dan terjadi aktivasi dari beberapa seluler yang terjadi bersamaan dengan peningkatan jumlah sel jaringan ikat. Tahap awal ini diikuti oleh deposisi dari osteoid di tepi dinding soket, fibroblas disusun kembali di daerah tarikan. Pada daerah tekanan terdapat penyempitan ruang ligamen periodontal dan resorpsi tulang alveolar. Resorpsi tulang yang terjadi tergantung pada besarnya gaya yang di berikan (Noxon, 2001; Keeling, 1993; King, 1997).

Fibroblas merupakan sel yang paling banyak terdapat pada ligamen periodontal, fibroblas berperan dalam fungsi normal, perbaikan dan regenerasi

(Genco, 1992). Pada *remodelling* ligamen periodontal fibroblas mampu mensintesis dan memfagositosis kolagen dan komponen matrix ekstraseluler (Ten Cate, 1972) juga memproduksi sitokin dengan kapasitas untuk memediasi kerusakan jaringan dan untuk merangsang osteoklas meresorpsi tulang. Ligamen periodontal memegang peranan sangat penting dalam proses pergerakan gigi secara ortodonti karena kemampuannya dalam merespon kekuatan mekanik yang diterima menyebabkan terjadinya *remodelling* tulang alveolar sehingga memungkinkan gigi bergerak (Raharjo, 2009). Pada ligamen periodontal terdapat 2 jenis reseptor yaitu *Ruffini like Endings* and *Freenerve Endings* (Maeda, 1987). Reseptor tersebut berperan dalam mengubah struktur dan fungsi seluler ligamen periodontal dalam merespon beban mekanik, seperti yang diterapkan dalam ortodontik (Nakanishi, 2004).

Pada saat gigi menerima tekanan ortodontik maka akan terjadi respon menyerupai respon inflamasi, sehingga tubuh akan melepaskan ROS (*Reactive Oxygen Spesies*) (Yamasaki *et al.*, 1994). ROS merupakan radikal bebas atau oksidan yang sangat reaktif, dimana sebuah molekul atau atom yang mempunyai satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya. ROS yang bersifat tidak stabil ini berupaya mendapatkan pasangan elektron dari molekul lain (Astuti, 2008). Produksi ROS yang berlebihan dapat menyebabkan terjadinya ketidakseimbangan antara ROS dan sistem antioksidannya yang berujung pada stress oksidatif yang dapat merusak sel dan DNA. Oleh sebab itu, pada pergerakan gigi dibutuhkan anti inflamasi dan antioksidan yang berperan dalam mencegah terjadinya kerusakan pada sel.

Biji kopi robusta, diketahui berpotensi sebagai anti inflamasi dan antioksidan untuk melindungi jaringan dari kerusakan oksidatif yang diakibatkan oleh ROS (Al-Henhena *et al.*, 2011). Hal ini disebabkan kopi robusta memiliki kandungan *polifenol* yang mejadi antioksidan kuat yang lebih tinggi di banding kopi arabika ataupun tanaman lain dan *caffeic acid* sebagai anti inflamasi, selain itu biji kopi robusta juga mengandung *alkaloid, kafein, saponin dan flavonoid* (Johnston, 2003; Balitbangkes, 2000).

Pada saat proses pergerakan gigi ortodontik fibril kolagen pada ligamen periodontal harus terus menerus mengalami *remodelling* agar dapat beradaptasi dengan perubahan posisi gigi (Apajalahti, 2004), sampai saat ini belum ada penelitian yang secara spesifik meneliti tentang efek pemberian seduhan kopi terhadap jumlah sel fibroblas pada ligamen periodontal selama perawatan ortodonti. Kandungan antioksidan tinggi yang terdapat di dalam kopi diharapkan mampu melindungi kerusakan oksidatif oleh ROS saat gaya ortodontik di aplikasikan dan terjadi perbaikan dan regenerasi ligamen periodontal oleh sel fibroblas untuk beradaptasi dengan perubahan posisi gigi. Oleh karena itu peneliti tertarik untuk mengetahui efek pemberian seduhan kopi terhadap jumlah sel fibroblas pada ligamen periodontal gigi tikus diinduksi gaya ortodonti.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Apakah pemberian seduhan kopi dapat meningkatkan jumlah fibroblas pada ligamen periodontal gigi tikus yang diinduksi gaya ortodonti?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

### **1.3.1 Tujuan Umum**

Untuk mengetahui peningkatan sel fibroblas pada ligamen periodontal yang diinduksi gaya ortodonti.

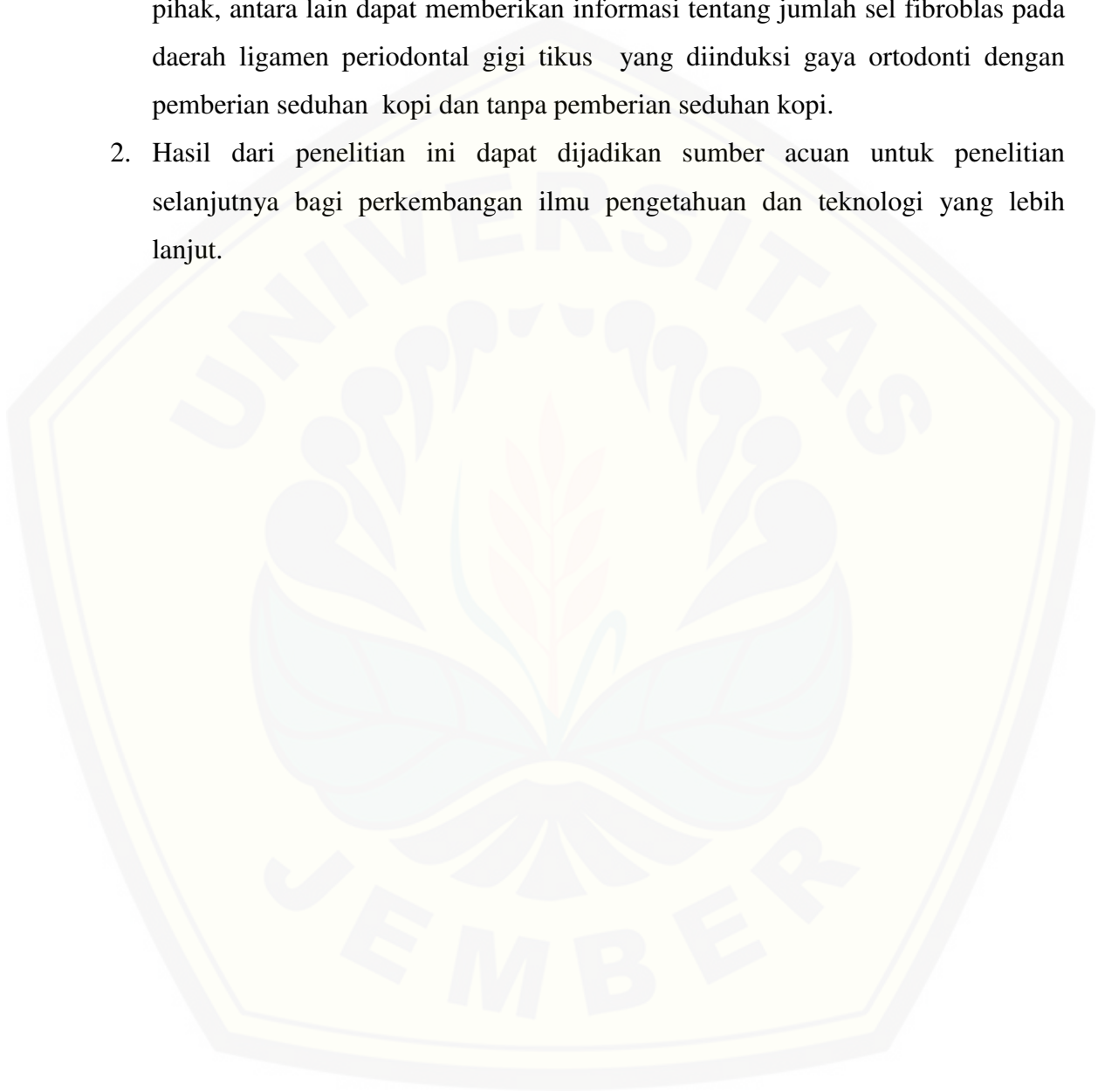
### **1.3.2 Tujuan Khusus**

Tujuan Khusus dari penelitian ini adalah:

- 1) Menghitung jumlah sel fibroblas daerah tekanan dan tarikan ligamen periodontal tikus kelompok kontrol di induksi gaya ortodonti
- 2) Menghitung jumlah sel fibroblas daerah tekanan dan tarikan ligamen periodontal tikus kelompok perlakuan yang diberi seduhan kopi dan di induksi gaya ortodonti

#### **1.4 Manfaat Penelitian**

1. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat praktis kepada berbagai pihak, antara lain dapat memberikan informasi tentang jumlah sel fibroblas pada daerah ligamen periodontal gigi tikus yang diinduksi gaya ortodonti dengan pemberian seduhan kopi dan tanpa pemberian seduhan kopi.
2. Hasil dari penelitian ini dapat dijadikan sumber acuan untuk penelitian selanjutnya bagi perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi yang lebih lanjut.



## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Kopi

#### 2.1.1 Definisi Kopi

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

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

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

1. Lapisan kulit luar (*exocarp/epicarp*). Disebut juga dengan kulit buah, merupakan bagian terluar dari buah kopi.
2. Lapisan daging (*mesocarp*). Disebut juga dengan daging buah, merupakan bagian yang berasa agak manis, dan mempunyai kandungan air yang cukup

tinggi. Persentase gabungan antara *epicarp* dan *mesocarp* adalah sebesar 40,17% dari buah kopi.

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



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

### 2.1.2 Kandungan Kopi

Kopi adalah sejenis minuman yang berasal dari proses pengolahan dan ekstraksi biji tanaman kopi yang dikeringkan kemudian dihaluskan menjadi bubuk (Webster, 2010). Senyawa kimia pada biji kopi dapat dibedakan atas senyawa volatil dan nonvolatil. Senyawa volatil adalah senyawa yang mudah menguap, terutama jika terjadi kenaikan suhu. Senyawa volatil yang berpengaruh terhadap aroma kopi antara

lain golongan aldehid, keton dan alkohol, sedangkan senyawa non volatil yang berpengaruh terhadap mutu kopi antara lain kafein, *chlorogenic acid* dan senyawa-senyawa nutrisi. Senyawa nutrisi pada biji kopi terdiri dari karbohidrat, protein, lemak, dan mineral. Tabel 2.1 menunjukkan komponen kimia kopi arabika dan robusta yang disangrai dan tidak disangrai.

Tabel 2.1 Komposisi Biji kopi Arabika dan Robusta sebelum disangrai (% bobot kering)

Komponen	Kopi Arabika Hijau	Kopi Arabika Sangrai	Kopi Robusta Hijau	Kopi Robusta Sangrai
Mineral	3.0-4.2	3.5-4.5	4.0-4.5	3.0-4.2
Kafein	09-1.2	1.0	1.6-2.4	2.0
Trigonelin	1.0-1.2	0.5 -1.0	0.6 -0.75	0.3 -0.6
Lemak	12.0-18.0	14.5-20.0	9.0-13.0	11.0-16.0
Total Asam				
Klorogenat	5.5-8.0	1.2-2.3	7.0-10.0	3.9-4.6
Asam Alifatis	1.5-2.0	1.0-1.5	1.5-1.2	1.0-1.5
Oligosakarida	6.0-8.0	0-3.5	5.0-7.0	0-3.5
Total				
Polisakarida	50.0-55.0	24.0-39.0	37.0-47.0	-
Asam amino	2.0	0		0
Protein	11.0-13.0	13.0-15.0		13.0-15.0
Asam Humat	-	16.0-17.0		16.0-17.0

Sumber : (Clarke dan Macre, 1987)

### 2.1.3 Fitokimia Kopi

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

#### A. Alkaloid

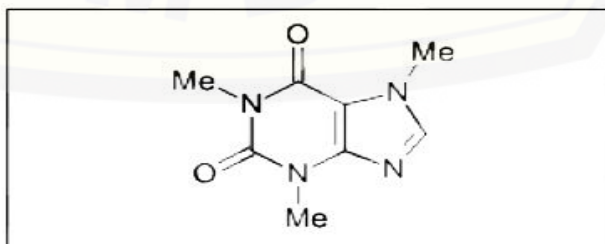
Alkaloid adalah metabolit sekunder terbesar pada tumbuhan. Alkaloid merupakan senyawa yang bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen, biasanya gabungan, sebagian dari bagian sistem siklik. Alkaloid sering



beracun bagi manusia dan banyak yang mempunyai kegiatan fisiologi yang menonjol, jadi digunakan secara luas dalam bidang pengobatan. Alkaloid biasanya tanpa warna, seringkali bersifat optis aktif, kebanyakan berbentuk kristal tetapi hanya sedikit yang berupa cairan (misalnya nikotin) pada suhu kamar. Senyawa penyusun alkaloid yang paling umum adalah asam amino, meskipun sebenarnya biosintesis kebanyakan alkaloid lebih rumit (Harborne, 1996).

## B. Kafein

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



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

### C. Saponin

Saponin adalah jenis *glikosida* yang banyak ditemukan dalam tumbuhan dan memiliki karakteristik berupa buih. Sehingga ketika direaksikan dengan air dan dikocok maka akan terbentuk buih yang dapat bertahan lama. Saponin mudah larut dalam air dan tidak tarut dalam eter, memiliki rasa pahit menusuk dan menyebabkan bersin serta iritasi pada selaput lendir. Saponin merupakan racun yang dapat menghancurkan butir darah atau hemolisis pada darah selain itu bersifat racun bagi hewan berdarah dingin dan banyak diantaranya digunakan sebagai racun ikan. Saponin yang bersifat keras atau racun biasa disebut sebagai sapotoksin. Saponin diklasifikasikan menjadi 2 yaitu: saponin steroid dan saponin triterpenoid. Saponin steroid tersusun atas inti steroid (C 27) dengan molekul karbohidrat jika dihidrolisis menghasilkan suatu aglikon yang dikenai sebagai saraponin. Tipe saponin ini memiliki efek antijamur (Prihatman, 2001). Saponin triterpenoid tersusun atas inti triterpenoid dengan molekul karbohidrat yang dihidrolisis menghasilkan suatu aglikon yang disebut sapogenin (Hartono, 2009).

### D. Flavonoid

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

### E. Senyawa Fenol

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

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

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

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

#### 2.1.4 Antioksidan pada Kopi

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

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

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

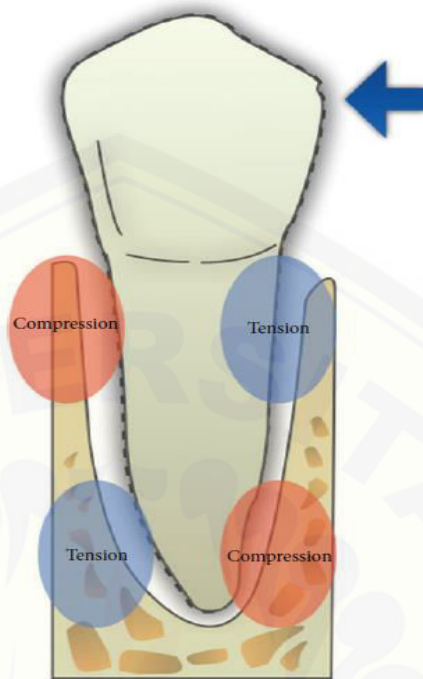
## 2.2 Pergerakan Gigi Ortodonti

Pergerakan gigi dapat terjadi secara fisiologis dan patologis, dan kedua jenis pergerakan ini tidak diharapkan karena dengan adanya pergerakan tersebut dapat merubah keadaan gigi dan struktur jaringan pendukungnya, misalnya pada gigi yang terdapat diantara daerah diastema maka gigi tersebut akan bergerak ke daerah yang kosong. Pergerakan gigi secara fisiologis dapat terjadi pada gigi-geligi dalam masa perkembangan yaitu bergerak ke mesial, distal, dan anterior, sebagai contoh pergerakan ke depan (anterior) dari gigi-geligi disebut migrasi mesial fisiologis.

Pergerakan gigi fisiologis ini diperkirakan dapat berlangsung sepanjang hidup apabila ada kesempatan gigi-geligi untuk bergerak. Pergerakan gigi patologis adalah berpindahnya posisi gigi akibat terganggunya keseimbangan antara faktor-faktor yang memelihara posisi gigi yang fisiologis oleh penyakit periodontal, misalnya mobilitas gigi yang menyebabkan posisi gigi berpindah dari posisi yang sebenarnya dan susunan gigi menjadi tidak teratur serta terjadinya maloklusi (Balajhi, 2004; Foster, 1997).

Pergerakan gigi secara ortodontik dihasilkan dari kombinasi reaksi biologis terhadap tekanan biomekanik oleh gaya ortodonti di *periodontal ligament* dan tulang alveolar. Pergerakan gigi disebabkan oleh aplikasi tekanan ortodonti yang ditandai oleh terjadinya perubahan pada gigi dan jaringan periodontal. Keberhasilan perawatan ortodontik dipengaruhi oleh berbagai faktor termasuk kesehatan jaringan periodontal, kebersihan mulut dan tekanan ortodonti. Pergerakan gigi secara ortodonti merupakan hasil dari reaksi biologis terhadap stres biomekanik yang dihasilkan tekanan ortodonti dalam PDL dan tulang alveolar. PDL terutama terdiri dari kolagen tipe I dan III yang menghubungkan tulang alveolar dengan akar gigi, yang akan memberikan stabilitas mekanik dinamis terhadap gigi (Takahashi *et al*, 2003).

*Periodontal ligament* (PDL) memegang peranan sangat penting dalam proses pergerakan gigi secara ortodonti karena kemampuannya dalam merespons kekuatan mekanik yang diterima menyebabkan terjadinya *remodelling* tulang alveolar sehingga memungkinkan gigi bergerak. Apabila suatu tekanan diberikan pada gigi maka PDL yang mengalami tarikan akan terjadi aposisi tulang dan di daerah tekanan akan terjadi resorpsi tulang. PDL terdiri atas matriks ekstraseluler yang terutama terdiri atas serat kolagen dengan bahan dasar proteoglikans dan glukoprotein serta serat oksitalin (Rahardjo, 2009). Sel fibroblas bertanggung jawab terhadap perubahan matriks ekstraseluler dan mempunyai aktivitas metabolik yang tinggi. Osteoblas terletak pada permukaan tulang dan bertanggung jawab terhadap proses pembentukan matriks organik tulang yang kemudian mengalami mineralisasi menjadi tulang. Gambar 2.3 merupakan gambaran aplikasi tekanan ortodonti pada gigi.



Gambar 2.3 Daerah tekanan dan tarikan pada ligamen periodontal dengan aplikasi gaya ortodontik ( Fabrizia d'Apuzzo *et al.*, 2013)

Aplikasi gaya ortodonti merangsang terjadinya respon inflamasi aseptik (Ren and Vissink, 2008). Inflamasi adalah respon *local host* terhadap jejas, umumnya berupa invasi mikroorganisme, tapi juga terhadap rangsang kimia dan rangsang fisik (Radunovic, 1999). Selama perawatan ortodonti, tekanan menghasilkan distorsi pada matriks ekstraselular PDL sehingga terjadi perubahan pada bentuk sel dan konfigurasi sitoskeletal dan menghasilkan *piezoelectric* singkat dan mengarah pada aktivasi selular dengan merubah polaritas membran dan aktivitas *canal ion*. Perubahan pada jaringan periodontal ini juga menyebabkan pelepasan neuropeptida dari ujung saraf aferen. Beberapa bersifat vasoaktif sehingga menyebabkan vasodilatasi dan migrasi leukosit ke rongga ekstravaskular. Sel-sel migratori ini mensintesa dan mensekresikan berbagai macam sitokin dan *growth factor*. Kemudian kapiler melebar berlebihan dan terjadi kerusakan jaringan. Kejadian-kejadian ini mengarah pada sintesis dan sekresi komponen matriks ekstra seluler, enzim degradasi jaringan, asam-asam dan faktor-faktor lokal, yang menyebabkan proliferasi selular dan

diferensiasi, juga terjadinya penyembuhan luka dan *remodelling* jaringan ( Tsatala, 2002).

### 2.2.1 Teori Biomekanika Pergerakan Gigi

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

#### 1. Teori *Piezoelectric*

*Piezoelectric* adalah suatu fenomena yang terlihat pada material organik yang berkrystal dimana deformasi struktur kristal akan menghasilkan suatu aliran listrik karena adanya perpindahan electron pada kristal kristal tersebut. Sinyal piezoelectricitas dihasilkan oleh perlengkungan tulang alveolar selama proses pengunyahan yang normal, dan mungkin sangat penting dalam mempertahankan tulang disekitar gigi. Bila matriks jaringan mengalami distorsi karena pemberian tekanan, polaritas negatif dan positif akan terjadi pada permukaan tulang. Aliran negatif akan mengaktifkan osteoblas sedangkan osteoklas akan memberikan respons pada aliran positif (Priyatmoko, 2014). Teori ini menggunakan tulang sebagai bahan atau masa, oleh sebab itu proses *piezoelectric* menjembatani *remodeling* tulang yang disebabkan oleh gaya ortodonti karena tulang mempunyai efek *piezoelectric* yang besar (Rahardjo, 2009).

#### 2. Teori tekanan-tarikan (*pressure-tension*)

Adanya tekanan dan tarikan pada ligamen periodontal menyebabkan perubahan aliran darah serta lama kelamaan menyebabkan gigi bergeser. Aliran darah dan Oksigen berkurang pada daerah ligamen periodontal yang tertekan sedangkan pada daerah tarikan pasokan darah tetap atau bertambah ( Rahardjo, 2009). Proporsi relatif metabolit yang lain juga akan berubah dan perubahan kimia ini akan merangsang terjadinya perubahan seluler yang akan menyebabkan proses resorpsi dan reposisi

pada daerah ligament periodontal secara sistematis, sehingga gigi berpindah dari tempatnya (Priyatmoko, 2014).

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

1. *Initial phase*

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

2. *Lag phase*

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

3. *Postlag phase*

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

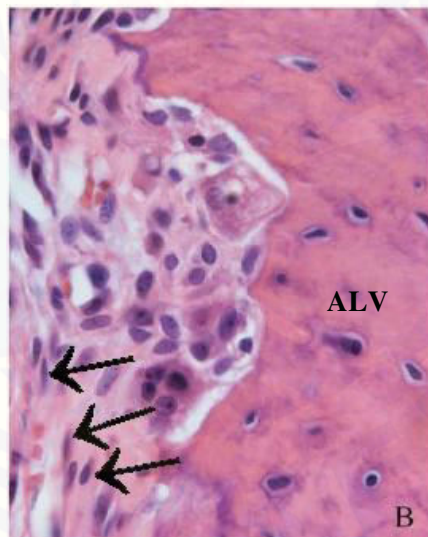


dimulai sekitar 40 hari setelah awal aplikasi kekuatan. Pada sisi tekanan menunjukkan adanya pembentukan serat kolagen yang tidak teratur. Selain itu juga ditemukan gambaran permukaan tulang yang tidak teratur yang menunjukkan frontal resorption.

## 2.3 Sel fibroblas

### 2.3.1 Definisi

Fibroblas adalah salah satu elemen seluler dalam ligamen periodontal dan merupakan jenis sel yang mensintesis matriks ekstraseluler dan kolagen, sehingga keutuhan jaringan dapat dipertahankan (Tomizuka *et al.*, 2007). Ciri-cirinya inti berbentuk lonjong yang mengandung sedikit kromatin, inti mengecil dan runcing, sitoplasma cerah dan homogen dan membran plasma tidak jelas (Nanci dan Bosshard, 2000). Gambar 2.4 menunjukkan sel fibroblas dengan pengecatan Hematoxilin Eosin.



Gambar 2.4 Foto mikroskopik fibroblas (anak panah), tulang alveolar (ALV), Ligamen periodontal tikus *Sprague Dawley* dengan pengecatan Hematoxilin Eosin perbesaran 400X (Camilla *et al.* , 2009)

### 2.3.2 Fungsi Fibroblas

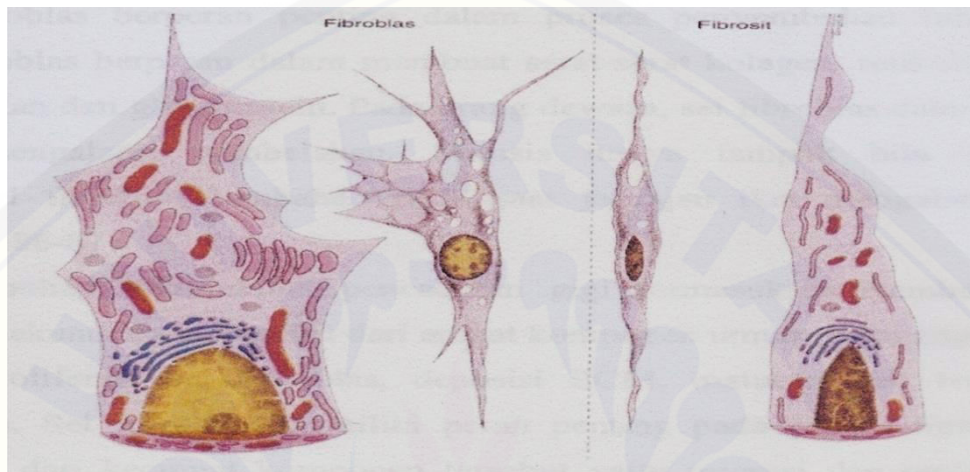
Fibroblas berfungsi mempertahankan integritas struktur jaringan ikat dengan memproduksi matriks ekstraseluler (Falanga, 2004). Menurut Grossman 1995, Fungsi fibroblas adalah pembuatan substansi dasar dan serabut kolagen, yang merupakan matriks pulpa. Selain itu, fibroblas juga berperan dalam degradasi kolagen dan deposisi jaringan yang mengapur, dapat membuat dentikel dan dapat berkembang menggantikan odontoblas yang mati dengan cara membentuk dentin reparatif. Fungsi fibroblas yang lainnya adalah berdiferensiasi untuk mensintesis dan mensekresikan matriks ekstraseluler. Sintesis dan sekresi fibroblas mencakup kolagen, fibronektin, glikoprotein dan proteoglikan. Fibroblas memiliki banyak mikrofilamen aktin serta mikrotubul. Seperti jaringan ikat yang lain, fibroblas juga merupakan derivasi dari sel sel yang berasal dari mesenchim (Priyatmoko, 2014).

### 2.3.3 Struktur Sel Fibroblas

Fibroblas memiliki sitoplasma dengan inti sel berbentuk elips dengan satu sampai dua anak inti sel (Falanga, 2004). Menurut Fawcet, 2002 sel fibroblas tersebar sepanjang berkas serat kolagen dan tampak pada sediaan sebagai sel *fusiform* dengan ujung-ujung meruncing. Pada kondisi yang berbeda, sel-sel terlihat sebagai sel-sel stelata gepeng dengan beberapa cabang langsing. Inti panjangnya selalu jelas, namun garis bentuk selnya sukar dilihat.

Sel fibroblas memiliki dua jenis yaitu fibroblas muda dan fibroblas dewasa. Sel dengan aktivitas sintetik yang besar secara morfologi berbeda dengan sel fibroblas tenang yang tersebar dalam matriks yang telah dibuatnya. Sel fibroblas dewasa memiliki banyak sitoplasma yang bercabang-cabang tidak teratur. Intinya lonjong, besar dan pucat dengan kromatin halus dan anak inti yang jelas. Sel fibroblas yang muda atau biasa yang disebut dengan sel fibrosit, selnya lebih kecil dari pada sel fibroblas yang aktif. Sel fibrosit cenderung berbentuk gelondong dengan lebih sedikit cabang-cabang dari pada sel fibroblas. Sel tersebut memiliki inti yang panjang, lebih gelap, lebih kecil dan sitoplasmanya bersifat asidofilik serta mengandung sedikit

retikulum endoplasma kasar. Bila cukup dirangsang, sel fibrosit bisa berubah menjadi sel fibroblas dan aktivitas sintetiknya diaktifkan kembali (Mescher, 2010). Gambar 2.5 menunjukkan perbedaan sel fibroblas aktif dengan sel fibroblas diam.



(a) Sel fibroblas aktif

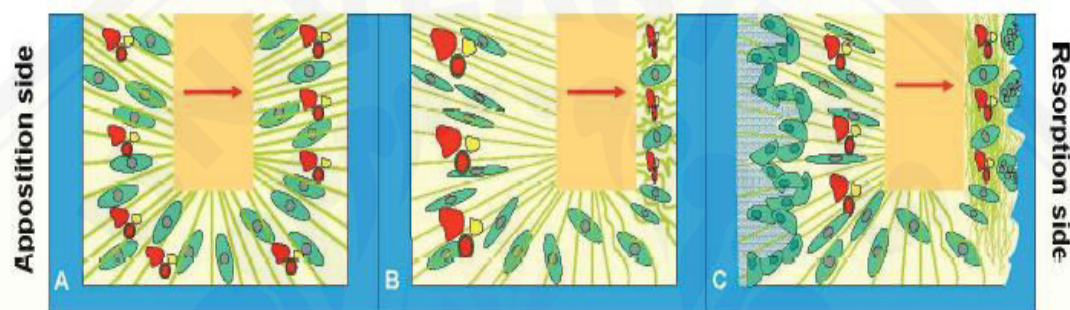
(b) Sel fibroblas diam

Gambar 2.5 Perbedaan sel fibroblas aktif dan diam (Sumber: Junquera, 2007)

#### 2.4 Pengaruh Induksi Gaya Ortodonti Terhadap Sel Fibroblas

Ketika suatu gaya ortodonti diaplikasikan pada gigi, maka hal tersebut mengakibatkan pembentukan daerah tekanan dan tarikan di sekeliling gigi. Permukaan tulang yang menerima tekanan terjadi resorpsi tulang, sementara tulang yang menerima tarikan terjadi aposisi. Perubahan histologi yang terjadi selama aplikasi gaya ortodontik menunjukkan gambaran yang beragam tergantung pada kekuatan dan durasi yang diberikan. Aplikasi gaya ortodonti dapat menimbulkan hialinisasi, menyebabkan nekrosis pada sel sel dalam ligamen periodontal, dan resorpsi tulang. Sehingga terjadi kerusakan pada susunan serat periodontal (Von *et al.*, 2004). Banyak dijumpai fragmen sel, terjadi degradasi matriks diantara kolagen yang utuh dan inti sel piknotik (Bonafc-Oliveira *et al.*, 2003).

Perubahan yang terjadi di daerah tekanan ligamen periodontal ditandai dengan adanya edema, kerusakan bertahap pada pembuluh darah yang diikuti oleh kebocoran konstituen ke dalam ruang ekstrasvaskuler. Pada sel fibroblas nampak adanya pembengkakan pada retikulum endoplasma, adanya pembentukan vakuola, sel fibroblas pecah dan kehilangan sitoplasma (Krishnan and Davidovitch, 2006). Gambar 2.6 menunjukkan gambaran skematik sel fibroblas di area tekanan dan tarikan ligamen periodontal.

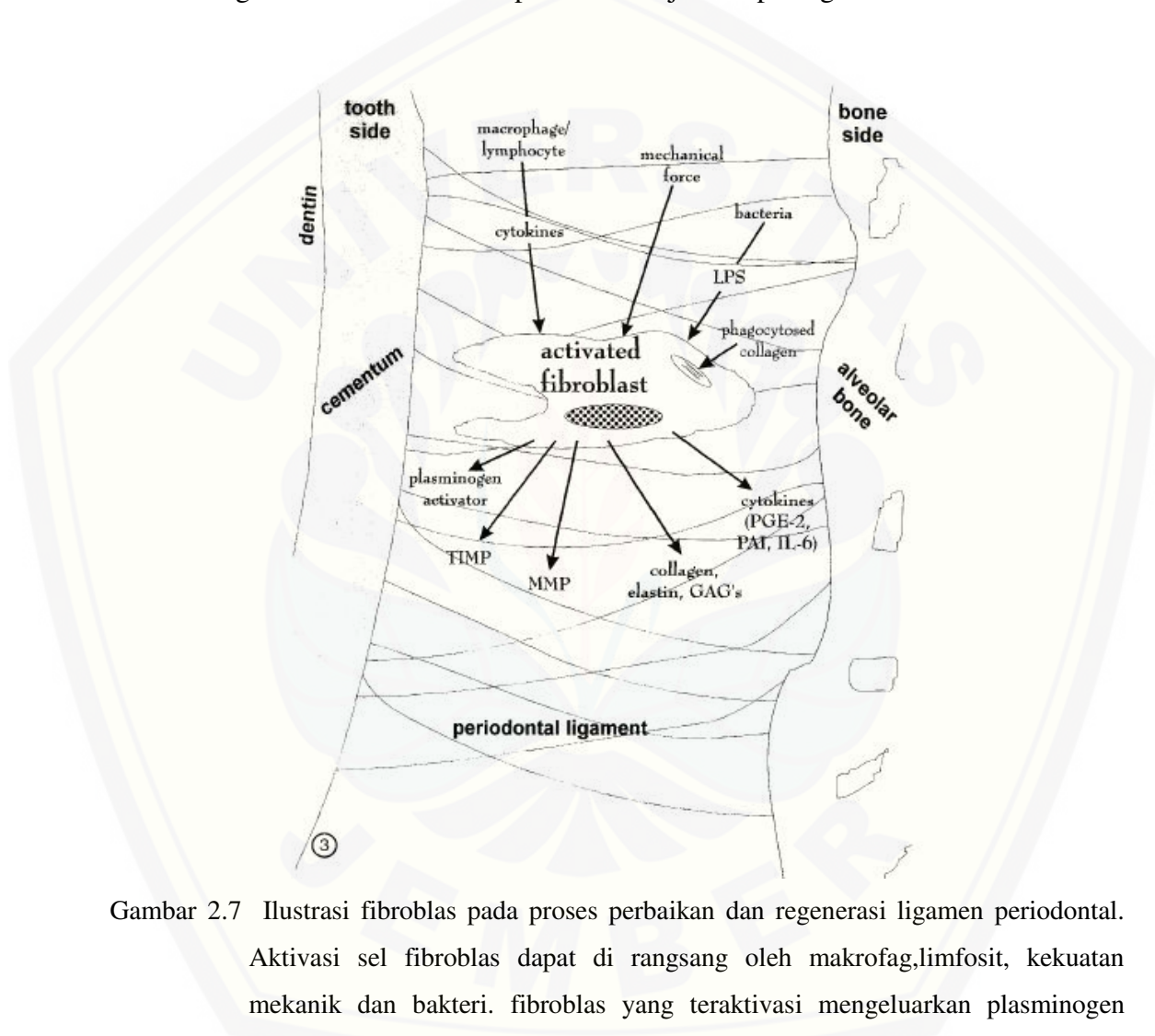


Gambar 2.6 Gambaran skematik gigi, ligamen periodontal dengan sel selnya serta tulang alveolar. (A) tanda panah menunjukkan arah gaya ortodontik. (B) Pada daerah tarikan sel fibroblas terlihat tertarik sehingga nampak gambaran sel yang memanjang, sedangkan fibroblas di daerah tekanan tertekan sehingga nampak sel dengan gambaran lebih kecil. (C) Setelah beberapa waktu gaya ortodontik di aplikasikan osteoblas membentuk formasi tulang baru pada sisi tarikan dan osteoklas meresobsi tulang pada sisi tekanan. (Sumber : Henneman *et al.*, 2008)

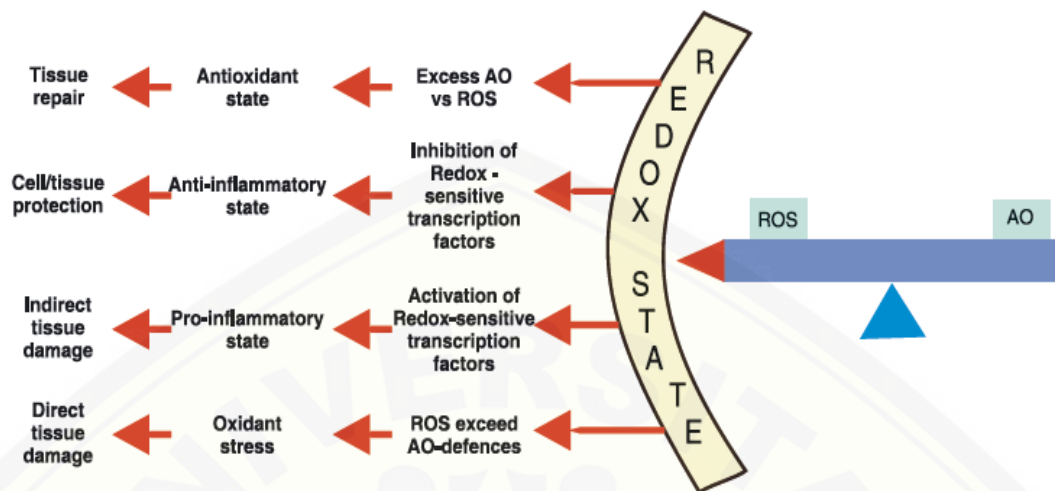
## 2.5 Efek Kopi Terhadap Sel Fibroblas

Biji kopi hijau mengandung banyak antioksidan polifenol, seperti *chlorogenic acid*, *caffeic acid*, *ferulic*, dan *n-coumaric*. Biji kopi yang di panggang secara signifikan berubah komposisi polifenolnya karena terjadi reaksi kimia antara asam amino dan gula. Pada kopi yang di panggang terbentuk pigmen coklat (melanoidins) yang menjadi antioksidan kuat dalam kopi (Nicoli *et al.*, 1997). Kandungan antioksidan kuat di dalam kopi dapat merubah produk ROS yang dilepaskan saat

aplikasi gaya ortodontik menjadi produk yang stabil sehingga terjadi perbaikan dalam ligamen periodontal oleh fibroblas (P. Lekic and C.A.G.Mcculloch, 1996; Iain L and John B, 2007). Perbaikan ligamen periodontal oleh fibroblas dan aktivitas keseimbangan antioksidan terhadap ROS di tunjukkan pada gambar 2.7 dan 2.8



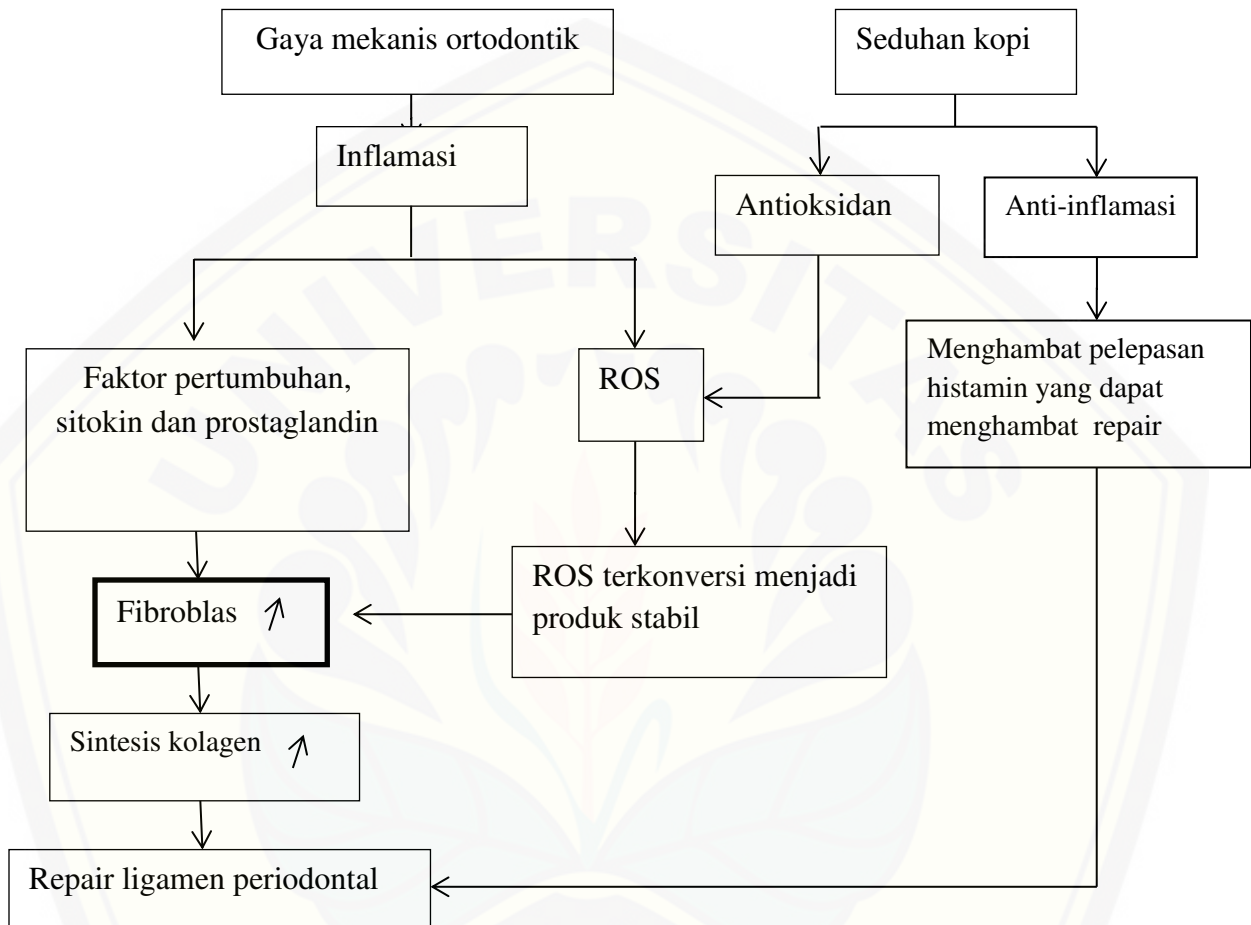
Gambar 2.7 Ilustrasi fibroblas pada proses perbaikan dan regenerasi ligamen periodontal. Aktivasi sel fibroblas dapat di rangsang oleh makrofag, limfosit, kekuatan mekanik dan bakteri. fibroblas yang teraktivasi mengeluarkan plasminogen activator, inhibitor jaringan metalloproteinase (TIMP), matriks metalloproteinase (MMP), sitokin [prostaglandin E-2 (PGE-2), plasminogen activator inhibitor (PAI), interleukin-6 (IL-6)]. Fibroblast yang diinduksi untuk mensekresikan protein matriks dapat menghasilkan kolagen, elastin, dan glycosaminoglycans (GAG'S) (P. Lekic and C.A.G.Mcculloch, 1996).



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

Senyawa polifenol utama didalam kopi adalah *chlorogenic acid* dan *cafeic acid*. Jumlah *chlorogenic acid* mencapai 90% dari total fenol yang terdapat dalam kopi (Mursu *et al.*, 2005). *Chlorogenic acid* dapat meningkatkan ekspresi dari TGF- $\beta$  yang secara bersamaan juga terjadi peningkatan produksi kolagen dan proliferasi sel fibroblas pada hari ke 6-15 (Wei-Cheng *et al.*, 2013). Aplikasi topikal *cafeic acid* yang terdapat dalam kopi dapat meningkatkan produksi kolagen dan proliferasi sel fibroblas pada hari ke 10 dan 15 dibandingkan dengan kelompok kontrol (Lamme *et al.*, 2000).

## 2.6 Kerangka Konsep Penelitian



Adanya gaya mekanis ortodontik akan memicu terjadinya respon yang menyerupai respon inflamasi. Pada saat terjadi inflamasi tubuh akan mengaktifasi beberapa mediator kimia seperti faktor pertumbuhan, sitokin, prostaglandin dan melepaskan ROS (Reactive Oxygen Spesies). ROS (Reactive Oxygen Spesies) dilepaskan sebagai respon perbaikan jaringan pada saat terjadi inflamasi. Aktivasi dari beberapa mediator kimia, faktor pertumbuhan, sitokin dan prostaglandin dapat mengaktifasi sel fibroblas yang ada pada jaringan periodontal. Hal tersebut memicu mobilisasi dan penambahan sel fibroblas untuk perbaikan jaringan. Namun, adanya pelepasan ROS yang telalu berlebihan pada saat respon perbaikan jaringan dapat

menyebabkan kerusakan sel dan DNA. Kandungan alami antioksidan kuat yang ada pada ekstrak biji kopi dapat mengkonversi ROS (Reactive Oxygen Species) menjadi produk yang stabil sehingga jumlah fibroblas dan sintesa kolagen mengalami peningkatan. Selain itu, kandungan anti-inflamasi dari seduhan kopi dapat menghambat pelepasan histamin yang dilepaskan saat proses inflamasi terjadi yang dapat menghamat repair jaringan. Konsumsi seduhan kopi yang mengandung antioksidan kuat dapat meningkatkan jumlah fibroblas dan sintesa kolagen sehingga terjadi repair di ligamen periodontal

### **2.7 Hipotesis**

Hipotesis dari penelitian ini adalah seduhan kopi dapat meningkatkan jumlah sel fibroblas pada ligamen periodontal gigi tikus yang diinduksi gaya ortodonti.



## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimental laboratoris. Penelitian eksperimental laboratoris adalah suatu penelitian yang ditujukan untuk mencari hubungan sebab akibat dengan memanipulasi atau memberikan intervensi variabel satu atau lebih kelompok dan mengendalikan faktor yang dapat mempengaruhi hubungan sebab akibat kemudian membandingkan dengan kelompok kontrol yang tidak diintervensi aktif atau dimanipulasi (Notoatmojo, 2002).

### 3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *The Post Test Only Control Group Design*, yaitu rancangan penelitian yang memungkinkan peneliti mengukur pengaruh perlakuan (intervensi) pada kelompok eksperimen dengan cara membandingkan dengan kelompok kontrol (Notoatmojo, 2002).

### 3.3 Tempat dan Waktu Penelitian

#### 3.3.1 Tempat penelitian

- a. Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, untuk keseluruhan proses perlakuan hewan coba dan pengambilan jaringan penelitian.
- b. Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dan RSUD Dr. Soetomo Surabaya untuk proses pembuatan preparat jaringan.
- c. Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, untuk proses pemeriksaan dan penghitungan preparat jaringan.

### 3.3.2 Waktu penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari 2015 – November 2015.

## 3.4 Populasi dan Sampel Penelitian

### 3.4.1 Populasi Penelitian

Populasi dalam suatu penelitian merupakan kumpulan individu atau obyek yang menggambarkan sifat sifat umum. Dalam penelitian ini populasi penelitiannya adalah hewan coba tikus *Sprague Dawley*.

### 3.4.2 Sampel Penelitian

#### A) Kriteria Sampel Penelitian

Pemilihan sampel penelitian dengan menggunakan *Purposive Sampling* atau *Judgmental Sampling*, merupakan cara penarikan sample yang dilakukan memilih subjek berdasarkan kriteria spesifik yang ditetapkan peneliti (Arikunto, 2010). Berikut ini adalah kriteria sampel penelitian menurut Xin dkk 2012:

1. Tikus *Sprague Dawley* jantan
2. Berat tikus  $\geq 250$  gram
3. Umur tikus 3 bulan
4. Tikus dalam keadaan sehat

#### B) Kriteria Inklusi, Eksklusi dan *Drop out*

##### 1) Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi adalah jenis tikus yang digunakan dalam penelitian tikus *Sprague Dawley*, jenis kelamin jantan, berat badan  $\geq 250$  gram, umur 3 bulan, dan tikus dalam keadaan sehat.

##### 2) Kriteria Eksklusi

Kriteria eksklusi adalah tikus yang mati selama penelitian.

3) *Drop out*

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

## C) Besar Sampel Penelitian

Besar sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah berdasarkan (Daniel, 2005), yaitu:

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

Keterangan :

n : besar sample tiap kelompok

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

$\sigma$  : standar deviasi sampel

d : kesalahan yang masih dapat di toleransi

Dengan asumsi bahwa kesalahan yang masih dapat diterima ( $\sigma$ ) sama besar dengan (d) maka :

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

$$n \geq (1,96^2)$$

$$n \geq 3,84$$

$$n \geq 4$$

Berdasarkan rumus di atas, jumlah sampel yang harus digunakan adalah 4 sampel untuk masing-masing kelompok. Pada penelitian ini menggunakan 8 ekor tikus sebagai sampel yang terbagi secara acak dalam 2 kelompok yang masing-masing terdiri dari 4 ekor.

### 3.5 Identifikasi Variabel Penelitian

#### 3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah seduhan kopi.

##### a. Definisi Operasional

Seduhan kopi merupakan hasil pelarutan bubuk kopi kering dari kopi robusta (Freeze Dried Ekstract) dengan aquadest 2 ml.

b. Metode

Seduhan kopi kering bubuk dari biji kopi robusta dilarutkan dengan 2 ml aquades, lalu diaduk rata dan diberikan kepada hewan coba perlakuan dengan menggunakan sondase lambung. Waktu pemberian seduhan kopi kering bubuk ini adalah setiap hari selama 21 hari.

### 3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah jumlah sel fibroblas.

a. Definisi operasional

Jumlah sel fibroblas adalah banyaknya sel yang berbentuk lonjong, bulat dan bervariasi dengan inti berwarna ungu dan sitoplasma merah muda, berada pada daerah tekanan dan tarikan ligamen periodontal gigi tikus di induksi gaya ortodontik dengan pemberian seduhan kopi dan tanpa pemberian seduhan kopi.

b. Metode Analisis

Sel fibroblas yang terdapat pada ligamen periodontal gigi tikus di induksi gaya ortodontik dengan pemberian seduhan kopi dan tanpa pemberian seduhan kopi pada daerah tekanan dan tarikan yang tampak secara histologis dengan mikroskop perbesaran 400x

### 3.5.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah:

- a. Jenis makanan hewan coba
- b. Kriteria hewan coba
  1. Jenis kelamin hewan coba
  2. Berat badan hewan coba
  3. Umur hewan coba
- c. Alat Ortodonsi dan cara pemasangan

- d. Prosedur penelitian
- e. kekuatan Ni-Ti *close coil spring* 10g/cm<sup>2</sup>

### 3.6 Bahan dan Alat Penelitian

#### 3.6.1 Bahan Penelitian

- a. Hewan coba yaitu tikus jantan *Sprague Dawley*
- b. Seduhan kopi kering bubuk dari biji kopi robusta
- c. *Eter Cloroform* dan *Ketamine*
- d. Aquades steril
- e. Formalin 10%
- f. EDTA 10%
- g. Alkohol 30%,50%,70%,80%,96%,100%
- h. *Xylol*
- i. Gelatin 5%
- j. *Embedding parafin*
- k. Hematoxylin eosin
- l. *Entellan*
- m. Spiritus
- n. Kapas steril
- o. Label untuk penamaan preparat
- p. Kertas saring
- q. Makanan pelet jenis turbo dan minuman standart hewan coba
- r. Glass ionomer fuji IX
- s. Betandine
- t. Masker dan Handscoon

### 3.6.2 Alat Penelitian

- a. Kandang pemeliharaan hewan coba ukuran P = ±34 cm; L= ±26,5 cm; T= ±12 cm
- b. Tempat makan dan minuman hewan coba
- c. *Ni-Ti Close coil spring* p: 6 mm, d: 0,012 inch dengan merk *Orto Tech*, Amerika United State
- d. *Disposable srynge* dengan merk Terumo Srynge
- e. Sonde bengkok
- f. Gelas ukur
- g. Erlenmeyer
- h. *Beaker glass*
- i. *Blade* dan *scalpel*
- j. Gunting bedah
- k. Pinset
- l. Botol spitton untuk tempat dekalsifikasi jaringan
- m. Cetakan parafin
- n. Mikrotom Leica RM 2135
- o. *Waterbath* Memert, Jepang
- p. *Hot plate*
- q. Oven Memert, Jepang
- r. Kuas kecil
- s. Mikroskop cahaya merk Olympus CX21
- t. Blok holder mikrotom
- u. *Object glass* merk Citoplus Cina dan *cover glass*
- v. Bur *low speed*
- w. Sonde lambung

### 3.7 Prosedur Penelitian

#### 3.7.1 Persiapan *Ethical Clearance*

Sebelum penelitian dimulai, dilakukan pengajuan pembuatan *Ethical Clearance* ke Komisi Etik Penelitian Kesehatan, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.

#### 3.7.2 Persiapan Hewan Coba dan Pembagian Kelompok

Penelitian ini dilakukan pada hewan coba tikus *Sprague Dawley* dengan kriteria yang sudah ditentukan. Hewan coba diadaptasikan selama satu minggu dengan lingkungan kandang dan makanan sebelum diberikan perlakuan. Setelah itu dilakukan penimbangan berat badan hewan coba menggunakan timbangan digital sampai memenuhi syarat berat minimal hewan coba yaitu  $\geq 250$  gram per ekor. Selanjutnya hewan coba di bagi menjadi 2 kelompok, setiap kelompok terdiri dari 4 ekor hewan coba tikus *Sprague Dawley* yang dipilih secara acak, yaitu:

- a. Kelompok I (4 ekor) merupakan kelompok kontrol yang di induksi gaya berupa pemasangan *Ni-Ti close coil spring* dan sondase aquades selama 3 minggu
- b. Kelompok II (4 ekor) merupakan kelompok perlakuan yang diberi induksi gaya berupa pemasangan *Ni-Ti close coil spring* dan sondase kopi selama 3 minggu.

#### 3.7.3 Persiapan Bahan Penelitian

Bahan penelitian yang digunakan untuk hewan coba kelompok II yaitu seduhan kopi. Dalam penelitian ini, seduhan kopi diperoleh dalam bentuk jadi, sudah berupa seduhan kopi kering bubuk dari biji kopi robusta.

#### 3.7.4 Pelaksanaan Penelitian

##### A. Pemasangan *Ni-Ti close coil spring*

- Hewan coba yang akan dilakukan pemasangan *Ni-Ti close coil spring* terlebih dahulu dilakukan pembiusan. Hal ini dilakukan untuk mempermudah pemasangan. pembiusan menggunakan ketamine dengan dosis 0,2 ml/grBB secara intramuscular
- Setelah dilakukan pembiusan, hewan coba diletakkan pada papan dan diikat keempat kaki beserta kepala hewan coba menggunakan kawat yang sudah tersedia pada papan hewan coba. Dengan begitu tikus berada dalam posisi terlentang, sehingga pemasangan lebih mudah
- Selanjutnya mulut hewan coba dibuka dengan menggunakan alat bantu pisau malam kecil dan pinset dan dijaga agar mulut hewan coba terbuka selama pemasangan
- Gigi tikus dikeringkan menggunakan *cotton roll* kemudian dilakukan pemasangan *Ni-Ti close coil spring* dengan cara mengaitkan ligatur pada gigi molar 1 rahang atas kanan kemudian *Ni-Ti close coil spring* di gerakkan ke arah mesial sampai *Tension Gauge* menunjukkan  $10\text{g/cm}^2$  lalu ligatur dikaitkan ke gigi insisiv sebagai penjangkaran. Pada gigi insisiv dibuat teraan pada sisi mesial dan distalnya menggunakan mata bur *wheel low speed* agar ligatur yang dikaitkan tetap berada dalam posisinya.
- Setelah *Ni-Ti close coil spring* terpasang dengan baik dilakukan pemeriksaan simpul ligatur pada gigi molar 1 dan gigi insisiv. Pastikan agar simpul rapi dan kuat agar tidak melukai mukosa selama perlakuan diberikan.
- Selanjutnya dilakukan pembersihan darah (jika ada) dan saliva tikus menggunakan *cotton roll*. Jika ada mukosa yang terluka segera di beri betadine untuk mencegah infeksi yang lebih lanjut
- Dilakukan aplikasi *Glass ionomer* pada simpul ligatur untuk menambah retensi piranti yang dipasangkan.
- Setelah *Glass Ionomer* setting mulut hewan coba ditutup, kaki dan kepala hewan coba dilepaskan dari ikatan, lalu hewan coba dikembalikan ke kandang



## B. Konversi Perhitungan Dosis Seduhan Kopi

Bahan seduhan kopi diperoleh dari kopi bubuk robusta yang diproduksi oleh PTPN X Jember. Dosis seduhan kopi pada manusia adalah 1 sendok makan kopi bubuk sebesar 10 gram dilarutkan dengan 150 ml air/ 1 cangkir. Selanjutnya seduhan kopi dibuat menjadi seduhan kopi kering atau *Freeze Dried Ekstract* didapatkan berat sebesar 2,27g. Penghitungan konversi dosis :

Tikus dengan berat badan 200gr dikalikan dengan faktor konversi dosis manusia ke tikus sebesar 0,018 =  $0,018 \times 2,27\text{gr} = 0,04\text{gr} = 40\text{mg}$ . Dengan demikian jika satu ekor tikus memiliki berat badan 300gr maka  $40\text{mg} \times \frac{300}{200} = \frac{60\text{ mg}}{300\text{ grBB}}$  atau  $\frac{20\text{ mg}}{100\text{ grBB}}$ . (Lampiran C).

## C. Pemberian seduhan kopi

Seduhan kopi kering bubuk yang telah disiapkan sesuai penghitungan dosis, diletakkan pada tabung spitton yang telah diberi label nomor sampel hewan coba, berat badan hewan coba, dan dosis. Satu persatu seduhan kopi kering bubuk dilarutkan dengan 2 ml aquades dan diaduk rata. Selanjutnya diberikan kepada hewan coba kelompok perlakuan menggunakan sondase lambung.

### 3.7.5. Pembuatan Sediaan Histologi

#### A. Pengambilan Jaringan Penelitian

Pengambilan jaringan dilakukan pada hari ke 22, setelah hewan coba di eutanasia.

Berikut tahapan pengambilan jaringan pada hewan coba :

- Hewan coba dieutanasia dengan cara inhalasi.
- Hewan coba yang sudah mati diambil dan dipindahkan ke papan hewan coba untuk dilakukan pengambilan jaringan. Hewan coba diletakkan dalam keadaan terlentang terikat keempat kaki dan kepalanya.
- Sudut mulut hewan coba dibuka menggunakan gunting bedah. Hal ini dilakukan untuk memperluas lapang pandang peneliti dalam mengambil jaringan.

- Selanjutnya dilakukan pemotongan bagian rahang tikus regio molar atas kanan sampai dengan molar tiga atas kanan. *Ni-Ti close coil spring* dibiarkan terpasang.
- Hasil potongan jaringan tersebut kemudian dimasukkan kedalam botol spitton yang sudah di isi dengan larutan formalin 10% dan terpasang label sesuai nomor sampel hewan coba, serta keterangan kontrol atau perlakuan. Potongan jaringan harus terendam semua oleh formalin minimal 24 jam agar terfiksasi
- Setelah jaringan terfiksasi dilakukan pencucian dengan air mengalir selama 1,5 jam untuk menghilangkan sisa sisa bahan fiksasi

#### B. Perendaman dalam Larutan Dekalsifikasi

Melakukan perendaman jaringan dalam larutan dekalsifikasi EDTA 10% selama 1,5 bulan. Proses ini bertujuan agar garam-garam kalsium dari jaringan tulang dapat dihilangkan sehingga dapat membuat tulang menjadi lunak, dan memudahkan proses pemotongan. Larutan dekalsifikasi ini sebaiknya diganti setiap hari agar memperoleh hasil yang baik

#### C. Setelah proses dekalsifikasi jaringan selesai, jaringan di cuci secara hati hati menggunakan air mengalir. Hal ini bertujuan untuk menghilangkan sisa sisa bahan dekalsifikasi.

#### D. Pemrosesan Jaringan

##### a. Dehidrasi jaringan

Dehidrasi jaringan ini bertujuan mengeluarkan kandungan air yang terkandung didalam jaringan. Proses dehidrasi jaringan menggunakan alkohol dengan konsentrasi bertingkat (30%, 50%, 70%, 80%, 96% dan absolut) masing-masing 60 menit.

##### b. *Clearing*

*Clearing* merupakan proses penjernihan jaringan. Proses ini menggunakan *xylol* sebanyak 2kali yang masing-masing selama 60 menit

c. Impregnasi

Kemudian dilakukan infiltrasi dengan parafin lunak selama 60 menit pada suhu 48°C, dengan cara jaringan dibungkus menggunakan kertas saring yang sudah diberi label, hal ini untuk menghindari terjadinya kekeliruan identitas pada sampel.

d. *Embedding*

Proses *embedding* merupakan penanaman jaringan dalam paraffin ke dalam suatu bahan *embedding*, yaitu parafin dengan titik didih (56°-60°C). Berikut proses penanaman *embedding* jaringan dalam parafin yaitu :

- Persiapkan alat cetak blok parafin, kemudian letakkan alat cetak di tempat yang permukaannya rata.
- Tuangkan parafin cair dengan titik didih 56°-60°C ke dalam alat cetak blok, kemudian masukkan jaringan yang telah diimpregnasi ke dalamnya. Alat cetak sudah diberi label yang sesuai dengan masing masing jaringan, agar jaringan mudah diidentifikasi, lalu didiamkan selama sehari agar parafin benar benar beku.

E. Setelah beku parafin ditempelkan dengan holder, dan dilakukan pemotongan menggunakan *rotary microtom*.

Sebelumnya pisau mikrotom dibersihkan dengan kasa yang telah dibasahi dengan *xyol*. Pisau mikrotom diatur dengan ketebalan potongan setebal 4-6µm. Pemotongan jaringan dilakukan dengan arah potong secara transversal, potongan jaringan yang diperlukan adalah potongan jaringan yang terdapat bentukan mahkota dan akar yang utuh serta tidak ada bagian akar yang hilang pada gigi molar 1, molar 2, dan molar 3. Jaringan yang telah memenuhi kriteria tersebut, diambil dengan kuas, kemudian diletakkan di atas permukaan air *waterbath* dengan temperatur 56°-58°C hingga potongan jaringan mekar. Potongan yang telah mekar diambil dengan *object glass*, kemudian dikeringkan di atas *hot plate* dengan suhu sekitar 30°-35°C, minimal selama 12 jam.

#### F. Pengecatan Haematoksilin Eosin (HE)

##### a. Proses Deparafinisasi

- Gelas obyek hasil *parafin block* direndam dalam xilol 2 kali masing-masing selama 5 menit.
- Setelah itu dilakukan rehidrasi menggunakan alkohol berseri (absolut, 96%, 80%, 70%, 50% dan 30%) masing-masing selama 5 menit.
- Kemudian dibilas dalam dH<sub>2</sub>O selama 5 menit.

##### b. Proses Pewarnaan Haematoxilin Eosin

- *Slide* dicuci dengan PBS pH 7,4 selama 5 menit.
- Kemudian diwarnai dengan haematoxilin selama 10 menit.
- Setelah itu, direndam dalam tap water selama 10 menit.
- Kemudian dibilas dengan dH<sub>2</sub>O.
- Dilakukan dehidrasi dengan alkohol berseri 30% dan 50% masing-masing selama 5 menit.
- Kemudian diwarnai dengan larutan Eosin selama 3 menit.
- Setelah itu dibilas dengan alkohol 30%.
- Dicuci dengan dH<sub>2</sub>O selama 5 menit dan dikering anginkan.
- Kemudian dilakukan mounting dengan entelan dan tutup dengan *cover glass*.

#### 3.7.6 Pengamatan dan Penghitungan Jumlah Sel Fibroblas

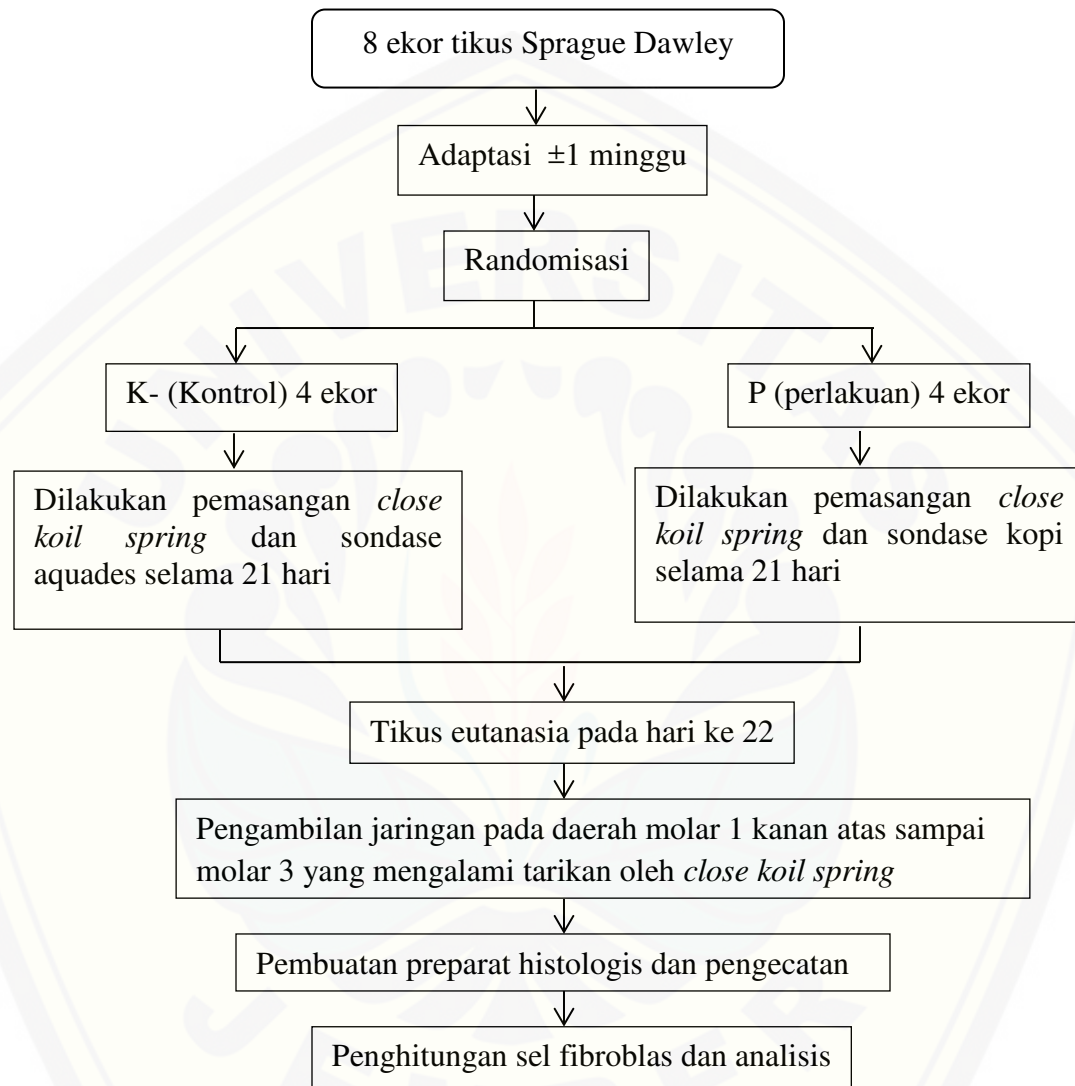
Seluruh pengamatan sediaan histologis dilakukan dengan menggunakan optilab dan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x. Perhitungan jumlah fibroblas dengan cara melihat 3 lapang pandang terpilih, yaitu dimulai dari ligamen periodontal daerah *alveolar crest* ke arah apikal gigi sebanyak 3 lapang pandang. Sel fibroblas yang dihitung adalah sel yang berbentuk lonjong, bulat dan bervariasi dengan inti berwarna ungu dan sitoplasma merah muda, berada pada daerah tekanan dan tarikan ligamen periodontal gigi tikus di induksi gaya ortodontik dengan pemberian seduhan kopi dan tanpa pemberian seduhan kopi.

Untuk penghitungan sel fibroblas, setiap preparat masing-masing diamati oleh 3 orang pengamat dan dihitung jumlah fibroblas pada ligamen periodontal sesuai dengan lapang pandang terpilih yang telah ditentukan. Masing masing pengamat menghitung daerah lapang pandang terpilih, kemudian hasil ketiga lapang pandang setiap pengamat dijumlahkan sesuai daerah lapang pandangnya, contoh : lapang pandang 1 ligamen periodontal daerah *alveolar crest* hasil penghitung A + lapang pandang 1 ligamen periodontal daerah *alveolar crest* hasil penghitung B + lapang pandang 1 ligamen periodontal daerah *alveolar crest* hasil penghitung C = hasil fibroblas lapang pandang 1 daerah *alveolar crest*). Setelah masing masing lapang pandang dijumlahkan sesuai daerah lapang pandangnya, hasil yang diperoleh dari masing masing daerah lapang pandang dijumlahkan dan dirata rata. Sehingga mendapatkan jumlah sel fibroblas yang valid.

### 3.8 Analisis

Data hasil penghitungan jumlah sel fibroblas dianalisa dengan uji normalitas yaitu uji *Kolmogorov-Smirnov* dan dilanjutkan uji homogenitas menggunakan uji *Levene's Test* dengan nilai signifikansi 95% ( $p \geq 0,05$ ). Jika data berdistribusi normal dan homogen maka dapat dilanjutkan uji statistik parametrik yaitu uji *Independent Sample T test* untuk menguji hipotesis dengan cara membandingkan 2 subyek dengan nilai signifikansi 95% ( $p < 0,05$ ). Namun, jika data yang diperoleh tidak berdistribusi normal dan atau tidak homogen, maka dilakukan uji statistik non-parametrik yaitu *Kruskal-Wallis* (Notoatmojo, 2002).

### 3.9 Alur Penelitian



## BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat ditarik kesimpulan bahwa pemberian seduhan kopi dapat meningkatkan jumlah sel fibroblas pada ligamen periodontal di daerah tekanan.

### 5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan yaitu perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan variasi dosis pemberian seduhan kopi terhadap tikus agar didapatkan dosis yang paling efektif, perlu adanya evaluasi pertumbuhan sel fibroblas dari minggu ke minggu sehingga di dapatkan data yang menunjukkan tingkat pertumbuhan fibroblas secara bertahap, perlu ditambahkan jumlah sampel pada tiap tiap kelompok untukantisipasi sampel *drop out* dan kesalahan proses histologi, dan peningkatan ketelitian dalam proses jaringan histologi agar tidak terjadi kesalahan selama pemrosesan jaringan.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Al-Henhena AA, Mahmood A, Al-magrami AB, Nor Syuhada AA, Zahra MD, Summaya, MS, Suzi, Salmah I. 2011. Histological Study Of Wound Healing Potential By Ethanol Leaf Extract Of *Strobilanthes Crispus* In Rats. *J Med Plants Research*. Vol. 5(16) P: 6
- Amin, M.N. 2008. Aspek Seluler Pergerakan Gigi. *Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Jember*. Vol. 6 (1) P: 9-16.
- Apajalahti S, Peltola JS. 2007. Apical Root Resorbtion After Ortodontic Treatment A Restrospective Study. *Eur J Of Orthod*. Vol. 29 P : 12-408
- Arikunto, Suharsimi. 2010. *Prosedur Penelitian Suatu Pendekatan Praktik*. Edisi Revisi IV. Jakarta: PT. Rineka Cipta.
- Astuti, S.2008. Isovlafon kedelai dan potensinya sebagai penangkap radikal bebas. *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian*. Vol.13(2)
- Badan dan Pengembangan Kesehatan.(2000). *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan & Kesejahteraan Sosial RI, P: 75.
- Belitz, H.D. dan W. Grosch, 1999. *Food Chemistry*. 2nd Ed, Springer, Berlin.
- Bhalajhi,S.I., 2004, *Orthodontics The Art and Science*, 3rd ed., Arya (Medi) Publishing House, New Delhi, P: 63-77, 187-192.
- Bocalto-Bellemin A.L, Elkaim R, Abehsera A, Fouster J.L, Hikel Y, Tenenbaum H. 2000. Expression of mRNAs encoding for  $\alpha$  and  $\beta$  integrin subunits.MMPs and TIMPs in strethced human periodontal ligament and gingival fibroblast. *Journal of Dental Research*. Vol.79 P:1712-1716
- Bonafe-Oliveira L.Faltin RM, Arana-Chaves VE. 2003. Ultrastructural and Histochemical Examination of Alveolar Bone at The Pressure Area of Rat Molar Submitted to Continous Orthodontic Force, *Eur J Oral Sci*, Vol.111, P: 410-416
- Bonita, J.S., Mandarano M, Sutha, D., & Vinson, J. 2007. Review :*Coffee and Cardiovascular Disease : In vitro, cellular, animal, and human studies*. *Pharmacological Research*, Vol.55 (3), P :187-198.
- Burstone, C.J., Marcotte, M.R., 2000, *Problem Solving in Orthodontics, GoalOriented Treatment Strategy*, Chicago, P: 24.



- Caido F, Cavaltho T, Silva F, Caistro c, Clode N, Dye JF,Dias S. 2011. The role of fibrin E on the modulation of endothelial progenitors adhesion, differentiation and angiogenic growth factor production and the promotion of wound healing. *Biomaterials* .Vol.32. P: 7096-7105
- Camilla da Siveria Massaro, Renata B.C,Milton S.C, M.F Martins-Orthizconsolaro, Alberto C. 2009. Analysis of the dentin-pulp complex in teeth submitted to orthodontic movement in rats. *J Appl Oral Sci*. Vol.17. P:35-42
- Chen WC, Liou SS, Tzeng TF, Lee SL, Liu IM.2013. *The effect of topical application of chlorogenic acid on excision wound healing in rats* : Departement of Bioengineering, Tatung University, Taipei City, Taiwan. *Planta Medira*,79(8) P: 616-621.
- Clark RJ and Macrae R, 1987.Coffee Technology, *Elsevier Applied Science*, London and New York. Vol.2
- Claudia Anesini, Graciela E.Ferraro, Rosana Fillip. 2008.Total Polyphenol Content And Antioxidant Capacity Of Commercially Available Tea (Camellia Sintesis) In Argentina.*Jurnal of Agricutrural and Food Chemistry*. P: 9225-9229.
- Couborne MT, DiBiase AT. *Handbook of Orthodontics*. 2010. China : Elsevier, 2. P :1,7-9,125,136,150-2,154,157-8,163-172,190,192,195-7.
- Daglia M, Rachi M, Papetti A, Lanni C, Govoni S, Gazzani G. 2000. In Vitro and Ex-Vivo Antihydroxyl Radical Activity of Green and Roasted Coffee.*J Agric Food Chem*. Vol.48 (5), P: 54
- Daniel, W. 2005.*Biostatistics a Foundation for Analysis in the Health Science 5<sup>th</sup> edition*. Canada: John Wiley and Sons, Inc.
- Davidovitch Z. 1995. “Cell biology associated with orthodontic tooth movement” in: Bekorvitz BB., Moxham BJ, Newman HN, Editors. *The Periodontal Ligament in Healt and Disease*. St.Louis: Mosby
- Evans, W.B., & Trease. 2002. *Caffeine in Pharmacognosy*. Edisi 15. New York: WB Saunders,P :126,388,389
- Fabrizia d’Apuzo, Salvatore C, Domenico C, Angela M, A Silvestrini-Biavati, and Letizia P. 2013. Biomarkers of periodontal tissue remodelling during orthodontic tooth movement in mice and men: Overview and Clinical Relevance. *The Scientific Wourd Journal*. P: 2
- Falanga. 2004. *Wound Healing Process*. [Serial on line].[http://www.womancyclits.com/article\\_specific.php/articleID=49.\[17 Desember 2015\]](http://www.womancyclits.com/article_specific.php/articleID=49.[17 Desember 2015]).

- Fawcett. 2002. *Buku Ajar Histology*. Edisi 12. Terjemahan Jan Tambayong. Jakarta: EGC
- Foster T.D. *Buku Ajar Ortodonti*. Edisi 3. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC, 1997, P : 83-168
- Garrant PR. 1976. Collagen resorption by fibroblasts. *J Periodontol*. Vol.47. P: 90
- Genco, RJ. 1992. Host responses in periodontal diseases: Current concepts. *J.Periodontol*, Vol. 63. P: 338-355
- Goenawan. 2011. *Komposisi Kopi*. [Serial on line] <http://goenawanb.com/agriculture/komposisi-kopi>. [8 November 2015].
- Gouthamchandra K, Mahmood R, Manjunatha H. 2010. Free radical scavenging, antioxidant enzymes and wound healing activities of leaves extract from *clerodendrum infortunatum* L *Environ Toxicol Pharmacol*. Vol. 30 P:11-18
- Grossman, L. 1995. *Ilmu Endodontik Dalam Praktek*. Alih bahasa.Rafiah.Abiyono. Edisi ke-11. Jakarta: EGC.
- Harborne, J.B.1996. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*.Penerbit.ITB. Bandung.
- Hartono. 2009. *Saponin*. [Serial on line]. <http://farmasi.dikti.net/saponin/>. [16 Desember 2015].
- Henneman S.Hoff JWVD. Maltha JC, 2008.Microbiology of Tooth Movement, *Eus J orthod*. Vol.30.P: 299-306.
- Houston W.J.B. *Orthodontics Walther*.Edisi 4.Jakarta : Hipokrates, 1990, P : 8-45  
<http://web.ipb.ac.id/~usmanahmad/Pengolahankopi.html> [27 Oktober 2015]
- Iain L.C, Chapple, John B. Matthews.2007. The role of reactive oxygen and antioxidant species in periodontal tissue destruction. *Periodontology*. Vol.43. P:160-232
- Isaacson KG, Muir JD, Reed RT, 2006. Removable Orthodontics Appliances, India: *Elsevier*, P: 1-8.
- Ismail S. *Luka dan perawatannya*. 2002. [Serial on line].[images.mailmkes.multiply.multiplycontent.com](http://images.mailmkes.multiply.multiplycontent.com). [21 November, 2015].
- Jiang F, Zhang Y, Dusting GJ. 2011. "NADPH oxidase-mediated redox signaling": *Dalam Roles in cellular stress response, stress tolerance, and tissue repair*. *Pharmacol Rev*. Vol. 63 P: 218-242

- Johnston K.L, Chifford M.N, Morgan L.M. 2003. Coffee Acutely Modifies Gastrointestinal Hormone Secretion and Glucose Tolerance in Human : *Glycemic Effect of Chlorogenic Acid and Caffeine*. *Am J Clin Nutr* . Vol. 79 (4) P : 33,728
- Junqueira, L. 2007. *Persiapan Jaringan Untuk Pemeriksaan Mikroskopik Histology Dasar Teks dan Atlas*. Edisi 10. Jakarta : EGC.
- Keeling SD, King GJ, McCoy EA, Valdez M. 1993. Serum and Alveolar bone phosphatase change reflect bone turnover during orthodontic tooth movement. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. Vol.6. P: 103-320
- Kenisha, Yorista Putri., Istiati., J, Wisau Setyari. 2012. Effect of Robusta coffee beans ointment on full thickness wound healing. *Dental Journal* Vol. 45(1) P:52-56
- Ketaren, S. , 1986, *Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan*, Jakarta : Universitas Indonesia.
- King GJ, Latta L, Ruttenberg AO, Keeling SD. 1997. Alveolar bone turnover and tooth movement in mae rats after removal of orthodontic appliance. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. Vol. 75. P: 111-266
- Kontas-Askar T, Altug ME, Karapehlivan M, Atakusi E, Hismiogullari A.A. 2009. Is CAPE a therapeutic agent for wound healing?. *J Animal and Veterinary Advances*. Vol. 8(1) P: 33,129
- Krishnan V, Davidovitch Z. 2006. Cellular, molecular and tissue-level reactions to orthodontic force. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. P: 129-469
- Lamme EN, Van Leeuwen RTJ, Brandsma K, Van Marle J, Middelkoop E. 2000. Higher Numbers of Autologous Fibroblast in Artificial Dermal Substitute Improve Tissue Regeneration and Modulate Scar Tissue Formation. *J Pathol*. Vol.190, P : 595-603
- Lenny, S. 2006. "Senyawa Flavonoida, Fenil Propanoida dan Alkaloida". Tidak diterbitkan. Karya Ilmiah. Medan. Universitas Sumatera Utara.
- Maeda T, Iwanga T, Fujita T, Takahashi Y, Kobuyashi S. 1987. Distribution of nerve fibers immunoreactive to neurofilament protein in rat molars and periodontium. *Cell Tissue Res*. P: 13-23
- Marks & Kelly. 1973. *Consumption and Metabolism Of Caffeine*.
- Masella RS, Meister M. 2006. Current concepts in the biology of orthodontic tooth movement: 100 years after Carl Sandstedt. *Europe an Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthpedics*. Vol.129 P: 458-468


- Meikle M C 2006 The tissue, cellular, and molecular regulation of orthodontic tooth movement : 100 years after Carl Sandstedt. *European Journal of Orthodontics*. Vol.28 P : 221- 240
- Mescher, A. 2010. *Junqueira's Basic Histology Text & Atlas*. 12th Edition. The McGraw Hill Companies Inc.
- Morishita H, Ohnishi M. 2001. Absorption, metabolism, and biological activities of chlorogenic acid and related compounds, studies in natural products chemistry. P: 932
- Mursu, J., S. Voutilainen, T. Nurmi, G. Alfthan, J. K. Virtanen, J. Kaikkonen, R. Salonen and J. K. Salonen. 2005. The Effects of Coffee Consumption on Lipid Peroxidation and Plasma Total Homocysteine Concentration: A Clinical Trial. *Free Radical Biology & Medicine* 38, P : 527-534
- Nakanishi H, Seki Y, Kohno T, Muramoto T, Toda K, Soma K. 2004. Change in response properties of periodontal mechanoreceptors after experimental orthodontic tooth movement in rats. *Angle Orthod*. Vol.9, P:73-93
- Nanci, A and Boshard, D. 2000. Ligament periodontal Tissues Health and Disease. *Periodontology*. Vol.40. P: 11-28
- Nanda R. 2005. *Biomechanics and Esthetics Strategies in Clinical Orthodontics*. Missouri. Elsevier Saunders
- Nicoli, M.C, Annese M, Manzocco, Li Leirici, C.R. 1997. Antioxidant Properties of coffee brew in relation to the roasting degree. *Lebensm. Wiss. Technol* P: 292-297
- Notoatmojo, S. 2002. *Metodologi Penelitian*. (Edisi Revisi). Jakarta: PT. Rineka Pustaka.
- Noxon SJ, King GJ, Gu G, Huang G. 2001. Osteoclast clearance from periodontal tissues during orthodontic tooth movement. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* , Vol.120. P:76-466
- O'Neil M.J., Smith, S.A., Heckelman, P.E., Obenchain, J.R., Jr., Gallipeau, J.A.R., D'Arecca, M.A., & Budavari, S. 2001. *The Merck Index on Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals*. 13th edition. Whitehouse Station, NJ: Merck.
- P. Lekic, C.A.G McCulloch. 1996. Periodontal ligament cell populations: the central role of fibroblast in creating a unique tissue. Faculty of Dentistry, University of Toronto, Canada.

- P.J. Brooks, D.Nilforoushan, M.F Manolson, C.A.Simmons, and S.G.Gong.2009. Molecellar markers of early orthodontic tooth movement, *Angle Orthodontist*, Vol.79 (6). P: 1108-1113
- Pecival, Marks. 1996. *Clinical Nutrition Insight*. Advanced Nutrition Publications, Inc.
- Prihatman, K. 2001. *Saponin untuk Pebasmi Hama Udang*. Penelitian Perkebunan Gambung. Bandung
- Prijatmoko, D. 2014. *Biomekanik Pergerakan Gigi*. Jakarta : CV Sagung Seto.
- Radunovic VV.1999. Neural Modulation of Inflammatory Reactions in Dental Tissues Incident to Orthodontic Movement.A review of the literature.*European journal of Orthodontics*.21. P: 47-237
- Rahardjo, Pambudi. 2009. *Ortodonti Dasar*. Surabaya : Airlangga University Press.
- Ren Y, Vissink A. 2008. Cytokines in Crevicular Fluid and Orthodontic Tooth Movement.*Eur J Oral Sci* .Vol.116 P:89-97
- Rygh P, Bowling K, Hovlandsdal L, Williams S. 1986. Actifation of the vascular system: a main mediator of periodontal fiber remodelling in orthodontic tooth movement. *American Journal of Orthodontic*. Vol.86. P: 453-468
- Rygh P, Brudvik P.1995 “The histological responses of the periodontal ligament to horizontal orthodontic loads”. In: Bekovitz BB, Moxham BJ, Newman HN, editors. *The periodontal Ligament in Healt and Disease*. St. Louis: Mosby
- Sani A. 2012. Manfaat Kopi untuk Kesehatan.[Serial on line].<http://dokter-herbal.com/manfaat-kopi-untuk-kesehatan.html>. [6 Desember 2015]
- Santoso E. 2011. *Buku Ajar Etik Penelitan Kesehatan*. Malang. Universitas Brawijaya Press.
- Sarver DM, Proffit WR, Ackerman JL. “Diagnosis and Treatment Planning in Orthodontics”.In Graber TM, Vanarsdall RL.*Orthodontics current.Principles and Techniques*. 3rd ed., Missouri : Mosby, 2000. P : 4,7,17-9.
- Siswoyo, R.2009. *Kimia Organik*. Erlangga. Jakarta.
- Sofillo R.D, Hadey M. 2007. Nonmutagenic Antioxidant with Potensial Antimicrobial Activity.*J Food Sci*. Vol. 65 (5).P : 907

- Song HS, Park TW, Sohn UD, Shin YK, Choi BC, Kim CJ, Sim SS. 2008. The effect of caffeic acid in wound healing in skin-incised mice. *Korean J Physiol Pharmacol*. Vol.12 P: 343-347
- Sudarmi. 1997. *Kafein Dalam Pandangan Farmasi*. Medan : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Sumatera Utara.
- Takahashi, I;Nishimura, M;Onodera, K;Bae, J W et al.2003.Expression of MMP-8 and MMP-13 genes in the periodontal ligament during tooth movement in rats.*Journal of Dental Research*. Vol. 82 (8) P : 646
- Tanaman Obat. 2008. *Kopi* (Coffea robusta L). [Serial Online]. <http://tanamanobat.org/496/kopi-coffee-robusta-l/> [27 Septemberr 2015]
- Tello, J., Viguera, M & Calvo, L . 2011.Extraction Of Caffeine From Robusta Coffee (Coffea Canephora Vr. Robusta) Hus Ka Using Supercritical Carbon Dioxide.*The Journal of Supercritical Fluids*. Vol.59 P: 53-60.
- Ten Cate, A.R.1972. Morphological studies fibrocytes in connective tissue undergoing rapid remodelling. *J.Anat*, Vol.112. P: 401-414
- Tomizuka R.,Shimizu Y.,Kanetaka H.,Suzuki A.,Urayama S.,Kikuchi M.,Igarashi K. 2007. Histological evaluation of the effects of initially light and gradually increasing force on orthodontic tooth movement. *Angle Orthodontist*, Vol 77, P: 4
- Tsatala SK, Kaklamanos E,Tsalikis L.2002. Effects of orthodontic treatment on gingival crevicular fluid flow rate and composition: Clinical implication and application. *Int J Adult Orthod orthogntic surg*.Vol.17(3). P:191-205
- Villanueva, Cristina M, Cantor, Keneth P, King Will D, Jaakola, Jouni J.K, Courdier, Sylvaine, Lynch, Charles F, Porru, Stefano, Kogenivas, Manolis.2006. Total and spesific fuid consumption as determinants of bladder cancer risk.*International Journal of Cancer*.Vol.118(8) P: 2040-2047
- Von Bohl M.Maltha JC, Von den Hoff JW, Kuijpers-Jagtman AM, 2004. Focal Hyalination during experimental tooth movement in beagle dogs, *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, Vol.125(5), P: 615-623
- Warrenngton A, Roozegar S. 2004. Regenerative Periodontal Therapies, Review. Departement of Periodontology Institute of Odontology.Karolinska Institute Stockholm.
- Webster M. 2010. Coffee Definition.

- Xin Lv., Li, Q., Wu S., Sun J., Zhang M., Chen Y J., 2012. Psychological Stress Alters the Ultrastructure and Increase IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  in Mandibular Condilar Cartilage. *Brazilian J. Of Med. Bio. Res.* Vol. 45. P: 968-967
- Xu Wen, Makiko Takenaka, Masatsune Murata, Seiiichi Homa. 2004. *Antioxidative activity of a Zinc-Chelating Substance in Coffee.* Vol.68 (11) P:2313-2318.
- Yamasaki T, Li L, Lau BHS.1994. Garlic compounds protect vascular endothelial cells from hydrogen peroxide-induced oxidant injury. *Phytother Res.* Vol.8, P: 408-412
- Yao Meng,Xianglong Han, Lan Huang, Ding Baing, Hongyou Yu, Yan He, Yan Jing.2010. Orthodontic Mechanical Tension Effects on the Myofibroblast Expression of Alpha-Smooth Muscle Actin, *Angle Orthontist*, Vol. 80 (5)

## LAMPIRAN A. Surat ijin Penelitian


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

---

Nomor : 1105 /UN25.8.TL/2016  
 Perihal : Ijin Penelitian


Kepada Yth.  
 Ka. Bag. BIOMEDIK FKG Universitas Jember  
 di  
Jember

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

1. Nama : Ayuk Susilawati
2. NIM : 121610101019
3. Tahun Akademik : 2015/2016
4. Fakultas : Kedokteran Gigi Universitas Jember
5. Alamat : Jl. Kalisetail No. 86 Sempu Banyuwangi
6. Judul Penelitian : Efek Pemberian Seduhan Kopi Terhadap Jumlah Sel Fibroblas Pada Ligamen Peridontal Yang Di Induksi Gaya Ortodonti
7. Lokasi Penelitian : Lab. Histologi FKG Universitas Jember
8. Data/alat yang dipinjam : Mikroskop, timbangan digital
9. Waktu : Februari 2015 s/d Nopember 2015
10. Tujuan Penelitian : Untuk Mengetahui Efek Pemberian Seduhan Kopi Terhadap Jumlah Sel Fibroblas Pada Ligamen Peridontal Yang Di Induksi Gaya Ortodonti
11. Dosen Pembimbing : 1. drg. Hj. Herniyati M.Kes  
2. drg. Happy Harmono, M.Kes

Demikian atas perkenan dan kerjasama yang baik disampaikan terima kasih.

Jember, 28 MAR 2016  
 an Dekan  
 Dekan I

  
 drg. DA Susilawati, M.Kes  
 NIP. 196109031986022001



## LAMPIRAN B. Keterangan Kelaikan Etik



**KOMISI KELAIKAN ETIK PENELITIAN KESEHATAN (KKEPK)  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI UNIVERSITAS AIRLANGGA**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK  
("ETHICAL CLEARANCE")**

Nomor : 18/KKEPK.FKG/II/2015

Komisi Kelaikan Etik Penelitian Kesehatan (KKEPK) Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga, telah mengkaji secara seksama rancangan penelitian yang diusulkan, maka dengan ini menyatakan bahwa penelitian berjudul ;

**" RASIO RANKL-OPG, PROFIL VEGF, TGF- $\beta$  1, AKTIVITAS BALP, DAN JUMLAH BONE ISLAND  
PADA JARINGAN PERIODONTAL YANG DIINDUKSI GAYA MEKANIS ORTODONTI  
SETELAH PEMBERIAN SEDUHAN KOPI "**

Peneliti Utama : **Herniyati, drg.,M.Kes**  
Unit / Lembaga/ Tempat Penelitian : - Lab. Biomedik Kedokteran Gigi,  
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.  
- Lab. Biokimia FK Universitas Brawijaya Malang.

**DINYATAKAN LAIK ETIK**

Surabaya, 16 Pebruari 2015  
Ketua,



**Prof. Dr. M. Rubianto, drg., MS., Sp. Perio (K)**  
NIP. 195009081978021001

LAMPIRAN C. Pembuatan *Freeze Dried Ekstract* dan konversi penghitungan dosis

## 1. Seduhan Kopi

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

Tahapan pembuatan (*Freeze Dried Ekstract*) dalam penelitian ini adalah sebagai berikut ;

- a. Ditimbang 10 gram bubuk kopi,
- b. Dilarutkan dalam 150 ml aquades panas/mendidih,
- c. Diaduk hingga homogen,
- d. Disaring dengan kertas saring,
- e. Filtrat dikeringkan dengan menggunakan *freeze dryer*,
- f. Didapatkan ekstrak kering,
- g. Ditimbang beratnya, didapatkan berat sebesar 2,27 g.

Penghitungan konversi dosis kopi :

1. Tikus dengan berat badan 200 g maka dikalikan dengan faktor konversi sebesar  $0,018 = 0,018 \times 2,27 \text{ g} = 0,04 \text{ g} = 40 \text{ mg}$ .
2. 1 ekor tikus dengan berat badan 300 g diberikan  $40 \text{ mg} \times 300/200 = 60 \text{ mg}/300 \text{g BB}$  atau  $= 20 \text{ mg}/100 \text{ g BB}$ .
3. Seduhan kopi kering dilarutkan dalam 2 ml dan diberikan ke hewan tikus melalui sondase pada lambung.

## LAMPIRAN D. Penghitungan Konversi Dosis Manusia ke Tikus

TABEL KONVERSI PERHITUNGAN DOSIS  
(LAURENCE & BACHARACH, 1964)

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

LAMPIRAN E. Alat dan Bahan Penelitian

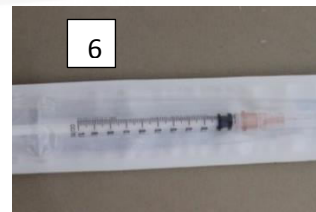
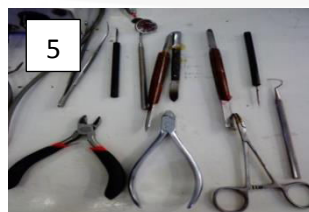
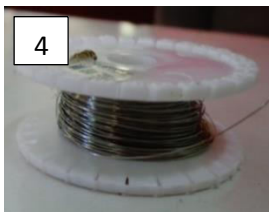
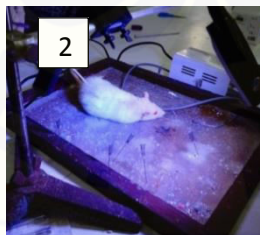
A. Alat pemeliharaan hewan coba



Keterangan:

1. Kandang pemeliharaan hewan coba
2. Tempat makan dan minum hewan coba
3. Timbangan digital dengan merk Pecision Balance

B. Alat perlakuan hewan coba



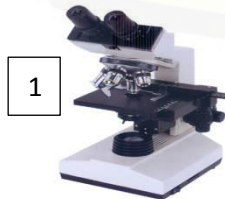
Keterangan :

1. Papan fiksasi
2. Mikromotor dan lampu penerangan
3. Koil spring 6 mm dengan merk Orto Tech
4. Wire
5. Alat bedah dan pemasangan koil spring wire meliputi :
  - Gunting bedah
  - Pinset anatomi
  - Jarum
  - Tang potong
  - Tang adam
  - Sonde bengkok
  - Kaca mulut no 3
  - Pisau malam
6. Disposable sringe
- C. Alat pemrosesan jaringan dan pengecatan



Keterangan :

1. Mikrotom
  2. Waterbath
  3. Kuas kecil
- D. Alat Pengamatan



Keterangan :

1. Mikroskop cahaya
2. Optilab

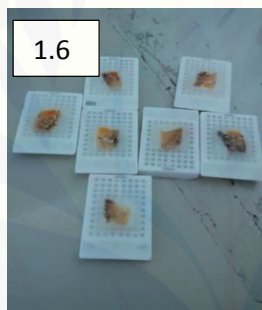
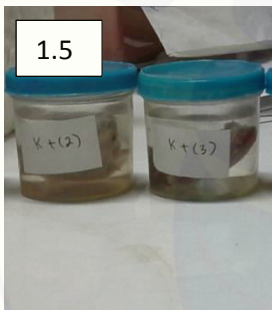
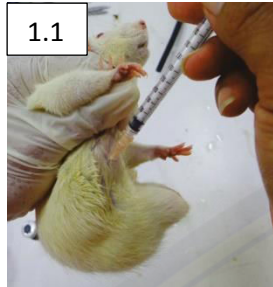
E. Bahan Penelitian



Keterangan:

1. Tikus jantan *Sprague Dawley*
2. Seduhan kopi kering bubuk (Freeze Dried Extract)
3. Ketamine
4. Chloroform
5. Alkohol
6. Entellan
7. Spiritus
8. *Xylool*
9. EDTA 10%
10. *Embedding parafin*
11. *Glass ionomer*

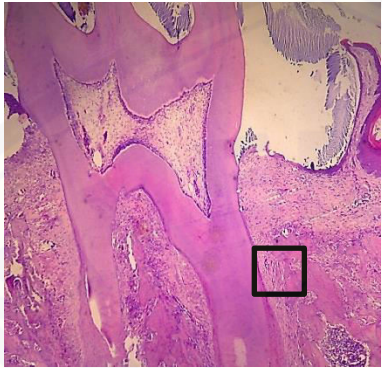
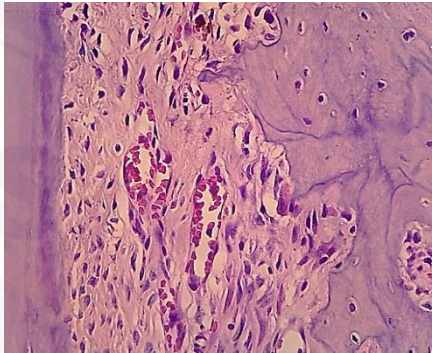
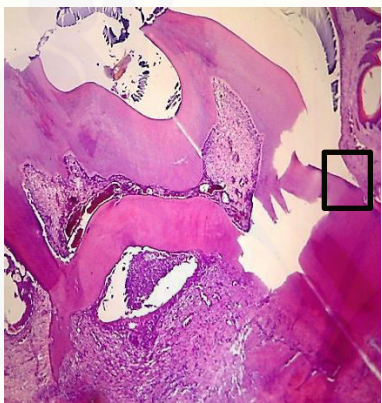
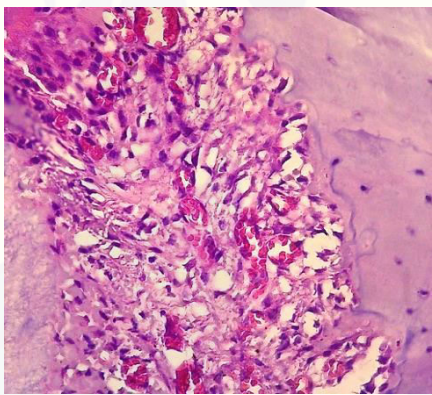
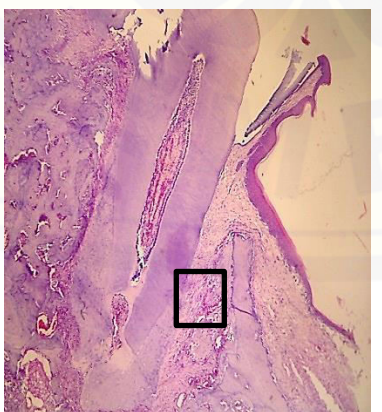
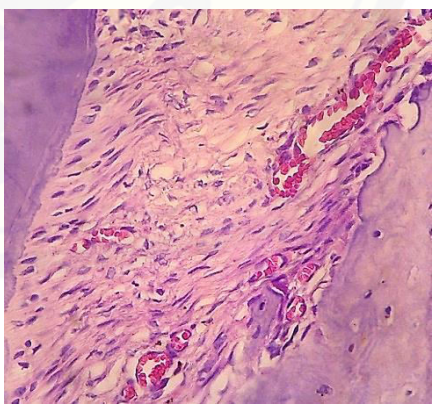
LAMPIRAN F. Prosedur Penelitian



- 1.1 Anestesi sebelum pemasangan koil spring wire
- 1.2 Pemasangan koil spring wire
- 1.3 Sondase kopi
- 1.4 Proses inhalasi
- 1.5 Dekalsifikasi jaringan
- 1.6 Blok jaringan

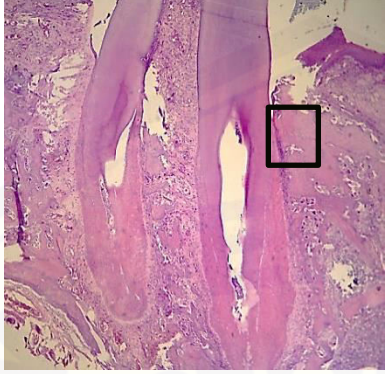
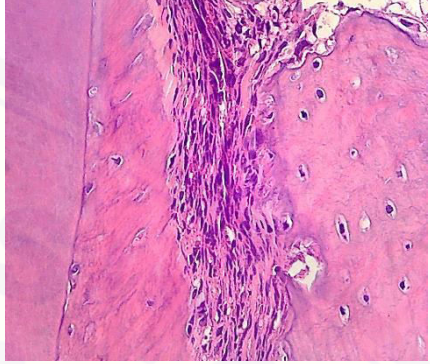

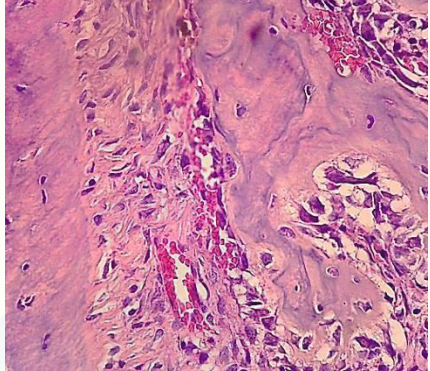
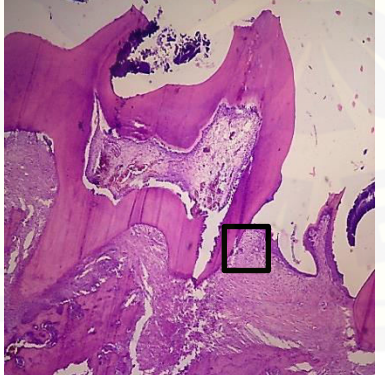
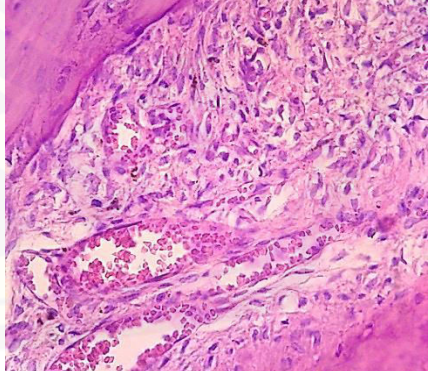
LAMPIRAN G. Data Hasil Penelitian

1.1 Preparat kopi

Preparat	Perbesaran 40X	Perbesaran 400X
P2		
P5		
P8		



1.2 Preparat Kontrol

Preparat	Perbesaran 40X	Perbesaran 400X
K-2		
K-3		
K-8		

## LAMPIRAN H. Hasil Penghitungan Jumlah Fibroblas

		Tekanan	Tarikan	Pengamat 1	Pengamat 2	Pengamat 3	Rata-Rata
No Preparat	Lapang pandang 1	√		126	111	120	119
perlakuan kopi	Lapang pandang 2	√		123	124	123	123,3333
(P2)	Lapang pandang 3	√		119	117	116	117,3333
Rata- Rata keseluruhan							119,8889
		Tekanan	Tarikan	Pengamat 1	Pengamat 2	Pengamat 3	Rata-Rata
No Preparat	Lapang pandang 1	√		130	129	123	127,3333
perlakuan kopi	Lapang pandang 2	√		123	118	108	116,3333
(p5)	Lapang pandang 3	√		121	130	135	128,6667
Rata- Rata keseluruhan							124,1111
		Tekanan	Tarikan	Pengamat 1	Pengamat 2	Pengamat 3	Rata-Rata
No Preparat	Lapang pandang 1	√		145	139	150	144,6667
perlakuan kopi	Lapang pandang 2	√		150	152	150	150,6667
(p8)	Lapang pandang 3	√		143	140	145	142,6667
Rata- Rata keseluruhan							146
		Tekanan	Tarikan	Pengamat 1	Pengamat 2	Pengamat 3	Rata-Rata
No preparat	Lapang pandang 1	√		100	87	90	92,33333
kontrol	Lapang pandang 2	√		103	92	111	102
(k-2)	Lapang pandang 3	√		97	95	90	94
Rata- Rata keseluruhan							96,11111
		Tekanan	Tarikan	Pengamat 1	Pengamat 2	Pengamat 3	Rata-Rata
No preparat	Lapang pandang 1	√		87	92	85	88
kontrol	Lapang pandang 2	√		71	79	80	76,66667
(k-3)	Lapang pandang 3	√		85	83	81	83
Rata- Rata keseluruhan							82,55556
		Tekanan	Tarikan	Pengamat 1	Pengamat 2	Pengamat 3	Rata-Rata
No preparat	Lapang pandang 1	√		97	96	100	97,66667
kontrol	Lapang pandang 2	√		112	102	97	103,6667
(k-8)	Lapang pandang 3	√		96	97	100	97,66667
Rata- Rata keseluruhan							99,66667

Penanggung Jawab

Pemeriksa

Pengamat

drg. Happy Harmono, M.Kes

Sri Wahyuningsih, S.Pd

Ayuk Susilowati

NIP 196709011997021001

NIP 1976012119999032009

NIM 121610101019

LAMPIRAN I. Uji statistik

**Uji Normalitas Kolmogorov-Smirnov**

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		Kontrol	Perlakuan
N		3	3
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	92,7778	130,0000
	Std. Deviation	9,02944	14,01630
Most Extreme Differences	Absolute	,311	,329
	Positive	,223	,329
	Negative	-,311	-,235
Kolmogorov-Smirnov Z		,538	,571
Asymp. Sig. (2-tailed)		,934	,901

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

**Uji Homogenitas Levene Statistic**

**Descriptives**

Rerata

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol	3	92,778	9,029	5,213	70,347	115,208	82,56	99,67
Perlakuan	3	130,000	14,016	8,092	95,182	164,818	119,89	146,00
Total	6	111,389	22,953	9,371	87,301	135,477	82,56	146,00

**Test of Homogeneity of Variances**

Rerata

Levene Statistic	df 1	df 2	Sig.
1,182	1	4	,338

**T-Test antara Kontrol dan Perlakuan**

**Group Statistics**

	Kelompok	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Rerata	Kontrol	3	92,7778	9,02944	5,21315
	Perlakuan	3	130,0000	14,01630	8,09232

**Independent Samples Test**

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means		
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)
Rerata	Equal variances assumed	1,182	,338	-3,867	4	,018
	Equal variances not assumed			-3,867	3,416	,024

**Independent Samples Test**

		t-test for Equality of Means			
		Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
				Lower	Upper
Rerata	Equal variances assumed	-37,222	9,626	-63,949	-10,496
	Equal variances not assumed	-37,222	9,626	-65,850	-8,594

**Histogram**

