

# Pengaruh Pemberian Gel Ekstrak BijiKopi Robusta (*Coffea robusta*) Terhadap Ketebalan Epitel Gingiva Model Tikus Periodontitis yang Diinduksi *Porphyromonas gingivalis*

(*The Effect of Robusta Coffee Seed Extract Gel on Gingival Epithelium Density of Periodontitis Rat Model*)

Puspandaru Nur Iman Fadli<sup>1</sup>, Tantin Ermawati<sup>2</sup>, Nuzulul Hikmah<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Mahasiswa Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

<sup>2</sup> Bagian Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

**Korespondensi:** Puspandaru Nur Iman Fadli. Mahasiswa Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Email.: [imanfadli@yahoo.co.id](mailto:imanfadli@yahoo.co.id)

## ABSTRACT

**Background:** Periodontitis is an inflammatory disease affecting tooth supporting tissues. This disease is caused by *Porphyromonas gingivalis* and can extend into deeper tissues involving alveolar bone. Inflammation is a host defense response that can lead to gingival epithelium destruction. Robusta coffee seed contain caffeine and chologenic acid which can act as anti-inflammation and antioxidant agents. **Purpose:** The aim of this research was to analyze the effect of robusta coffee seed extract gel administration on the density of gingival epithelium in *P.gingivalis* induced periodontitis rat models. **Methods:** Thirty-two samples of rats were divided into 8 groups; negative control group (normal), positive control group (periodontitis + placebo gel), 25% treatment group (periodontitis + 25% robusta coffee seed extract gel), 50% treatment group (periodontitis + 50% robusta coffee seed extract gel) in which each of them was further divided into day 1 euthanasia group and day 7 euthanasia group. Each group consisted of 4 samples. After that HE staining was carried out for epithelium density was measured using software imageraster. **Results:** K4 (50% robusta coffee seed extract gel group) has higher mean of epithelium density than those of group 2 and 3. **Conclusion:** The administration of robusta coffee seed extract gel increased the gingival epithelium density of periodontitis rat model.

**Keywords:** Epithelium density, Periodontitis, Robusta Coffee Seed Extract Gel

## Pendahuluan

Periodontitis adalah suatu penyakit peradangan jaringan pendukung gigi yang disebabkan oleh kelompok mikroorganisme tertentu yang mengakibatkan penghancuran progresif ligamentum periodontal dan tulang alveolar dengan pembentukan poket, resesi, atau keduanya.<sup>1</sup> Faktor etiologi utama terjadinya penyakit periodontal adalah mikroorganisme. Mikroorganisme yang dapat menginduksi penyakit periodontitis

salah satunya yakni, *Porphyromonas gingivalis*.<sup>2</sup>

Lapisan membran terluar dari dinding *Porphyromonas gingivalis* memproduksi berbagai faktor virulensi patogenik, seperti lipopolisakarida<sup>3</sup>. Lipopolisakarida akan mengaktifasi sel-sel inflamasi yang dapat melepaskan enzim proteolitik yaitu protease. Peningkatan infiltrasi sel inflamasi akan menyebabkan mekanisme fagositosis terhadap antigen sehingga memicu radikal bebas. Radikal bebas dan enzim protease

tersebut tidak hanya merusak sel yang terpapar alergen, tetapi aktivitas protease yang berlebihan juga dapat merusak sel, protein, dan komponen matriks ekstraseluler pada epitel.<sup>4</sup>

Proses penyembuhan periodontitis pada dasarnya meliputi proses regenerasi jaringan, dan pembentukan perlekatan baru.<sup>5</sup> Fase penyembuhan periodontitis meliputi fase inflamasi, fase proliferasi (angiogenesis, epitelisasi dan fibroplasia) dan fase maturasi.<sup>6</sup> Fase inflamasi (0-3 hari), Fase proliferasi (4-8 hari), Fase Maturasi (8 – 365 hari) meliputi perbaikan yang sedang berlangsung pada jaringan granulasi yang membentuk lapisan epitel yang baru dan meningkatkan tegangan pada luka.<sup>7</sup> Kesembuhan luka ditandai dengan penutupan permukaan luka, dan mempercepat periode epitelisasi.<sup>8</sup>

Epitelisasi merupakan salah satu parameter keberhasilan penyembuhan luka yang dilihat dari peningkatan ketebalan epitel. Epitelisasi ini sangat penting terkait dengan fungsi epitel yang membentuk barier pertama antara tubuh dan lingkungan.<sup>9</sup> Epitelisasi dapat dipercepat dengan bantuan obat-obatan dari tanaman herbal, seperti tanaman mengkudu, singkong, belimbing wuluh, kopi dan tanaman lain yang mengandung senyawa aktif seperti *saponin, flavonoid dan polyphenols*.<sup>7</sup>

Kopi (*Coffea. Sp.*) merupakan komoditas perkebunan yang paling akrab dengan masyarakat, mulai dari kalangan ekonomi atas sampai bawah.<sup>10</sup> Salah satu kabupaten penghasil kopi terbaik di Indonesia yakni kabupaten Jember, Jawa Timur. Kabupaten Jember telah memiliki Pusat Penelitian Kopi dan Kakao, sehingga kopi yang dihasilkan dapat dijamin kualitasnya.<sup>11</sup>

Biji kopi robusta (*C. robusta*) mengandung senyawa aktif, yakni polifenol, alkaloid, dan saponin. Senyawa Polifenol (asam klorogenat) dalam biji kopi robusta (*C. robusta*) memiliki efek sebagai antiinflamasi dan antioksidan, senyawa alkaloid (kafein) memiliki efek sebagai antioksidan sehingga mampu melindungi tubuh dari efek radikal bebas, dan senyawa saponin dapat merangsang proliferasi sel epitel. Oleh karena itu, biji kopi robusta (*C. robusta*) diharapkan dapat digunakan untuk mempercepat regenerasi epitel penyembuhan luka.<sup>12</sup>

Periodontitis selama ini sering disembuhkan dengan menggunakan obat dalam sediaan gel. Penggunaan dalam bentuk gel dapat mempermudah dalam pengaplikasian ke dalam poket periodontal penderita, menurunkan efek samping, selain itu dapat menambah daya *bioavailability*.<sup>13</sup> Oleh karena itu sediaan biji kopi robusta (*C. robusta*) dibuat dalam bentuk gel agar mudah dalam meningkatkan penyerapan kandungan aktif biji kopi pada jaringan yang mengalami periodontitis.

Berdasarkan uraian diatas, peneliti ingin mengetahui pengaruh pemberian gel ekstrak biji kopi robusta terhadap ketebalan epitel gingiva model tikus periodontitis.

### Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratories pada tikus wistar jantan menggunakan *the post test only control group design*. Penelitian dilakukan di laboratorium Biomedik FKG UNEJ, laboratorium Farmasetika Farmasi Fakultas Farmasi UNEJ dan UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi menggunakan subyek sebanyak 32 ekor tikus wistar jantan. Subyek

diadaptasi selama 1 minggu diberi makanan standar (*ad libitum*) dan minum setiap hari. Selanjutnya subyek dibagi menjadi 8 kelompok, yang dieutanasia pada hari ke-1 dan ke-7 dengan 4 subyek pada masing-masing kelompok. Penelitian ini dilakukan setelah mendapat persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gajah Mada.

#### **Tahap Persiapan dan Pembagian Hewan Coba**

Hewan coba yang sudah dibagi menjadi 8 kelompok yaitu kelompok K1.1, K1.2 kontrol negatif adalah kelompok yang tidak mengalami periodontitis dan tidak diberi gel ekstrak biji kopi robusta di eutanasia pada hari ke-1 dan ke-7, kelompok K2.1, K2.2 kontrol positif adalah kelompok yang mengalami periodontitis yang diberi gel plasebo (gel murni) dieutanasia pada hari ke-1 dan ke-7. Kelompok 3.1, K3.2 perlakuan 25% adalah kelompok yang mengalami periodontitis dan diberi gel ekstrak biji kopi robusta 25% sehari dua kali selama 1 hari lalu dieutanasia dan 7 hari lalu dieutanasia. Kelompok K4.1, K4.2 perlakuan 50% adalah kelompok yang mengalami periodontitis dan diberi gel ekstrak biji kopi robusta 50% sehari dua kali selama 1 hari dan 7 hari lalu dieutanasia.

#### **Pembuatan Gel Ekstrak Biji Kopi Robusta**

Pembuatan Gel ekstrak biji kopi robusta diawali dengan memblender biji kopi robusta (*C.robusta*) kering hingga menjadi serpihan kecil dan halus, selanjutnya bubuk kopi ditimbang sebanyak 300 gram dan dilakukan maserasi dalam larutan etanol 97% selama 48 jam. Setelah itu subyek didiamkan selama 6 jam, kemudian diaduk agar homogen. Setelah itu subyek disaring menggunakan kertas saring

dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak pekat 100%. Proses selanjutnya yaitu pembuatan basis gel dimulai dengan CMC 3 gram dikembangkan dalam 0,3 liter air panas dengan suhu 70 °C dalam mortar selama 15 menit hingga mengembang. Selanjutnya diaduk sampai terbentuk sediaan berwarna jernih. Selanjutnya, tambahkan 5 gram gliserin ke dalam sediaan lalu diaduk hingga homogen dan terbentuk massa gel. Ekstrak biji kopi robusta dicampurkan dengan propilen glikol diaduk secara merata, setelah itu dicampurkan ke basis gel dan diaduk hingga homogen. Sediaan gel ekstrak biji kopi robusta yang diperoleh 25% dan 50% yang digunakan pada penelitian ini.

#### **Pembuatan Suspensi**

##### ***Porphyromonas gingivalis***

Pembuatan suspensi *P. gingivalis* dengan cara 2 ml larutan BHI-B steril dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 1 ose *P. gingivalis*. Lalu dihomogenkan di atas sentrifuge, setelah itu tabung reaksi tersebut dimasukkan ke dalam desicator agar suasana anaerob kemudian diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam dengan suhu 37 °C. Pertumbuhan *P. gingivalis* ditandai dengan adanya kekeruhan pada media. Setelah itu dilakukan pengenceran dengan menambah aquadest steril, dihomogenkan dengan sentrifuge dan diukur konsentrasi dengan  $2 \times 10^9$ CFU/ml sesuai standar Mc Farland 0,5 dengan absorbansi 0,05 dan panjang gelombang 560nm dengan menggunakan spektrofotometer.<sup>14</sup>

#### **Pembuatan Model Tikus Periodontitis**

Model tikus periodontitis adalah tikus wistar jantan yang diinduksi dengan *P. gingivalis* pada gingiva bagian palatal dan bukal gigi molar pertama kanan atas

dengan dosis masing - masing bagian 0,05 ml dan diberikan 3 hari sekali selama 2 minggu menggunakan *tuberculine syringe* dengan ukuran jarum 30 *gauge*.<sup>14</sup> Sehingga di dapatkan model tikus periodontitis pada hari ke-14, dengan ciri-ciri kerusakan epitel sulkular dan terlihat resorpsi tulang alveolar inflamasi dan terkadang disertai pembengkakan ekstraoral pada sisi mata sebelah kanan.

#### **Aplikasi Topikal Gel Ekstrak Biji Kopi Robusta**

Setelah diperoleh model tikus periodontitis, selanjutnya dilakukan aplikasi topikal gel ekstrak biji kopi robusta dengan konsentrasi 25% (kelompok 3), konsentrasi 50% (kelompok 4), dan gel plasebo (kelompok 2). Gel tersebut diaplikasikan pada sulkus molar satu kanan atas bagian bukal dan palatal menggunakan sonde dengan dosis 0,05 ml. Aplikasi topikal gel dilakukan dua kali dalam sehari selama 7 hari.<sup>14</sup>

#### **Eutanasia Subyek**

Sebanyak 4 ekor tikus wistar dalam setiap kelompok kontrol negatif, kontrol positif, dan kelompok perlakuan dilakukan eutanasia pada hari ke-1 dan ke-7 setelah 2 minggu induksi *P. gingivallis* dan pemberian topikal gel ekstrak biji kopi robusta (*C. robusta*). Dilakukan pengambilan jaringan gingiva pada bagian kanan rahang atas dari gigi molar pertama sampai molar ketiga. Setelah itu subyek dimasukkan ke dalam *buffer formalin* selama 24 jam agar jaringan yang akan diamati tidak rusak.

#### **Tahap Histologis**

Subyek yang telah difiksasi ke dalam *buffer formalin* selama 24 jam kemudian didekalsifikasi

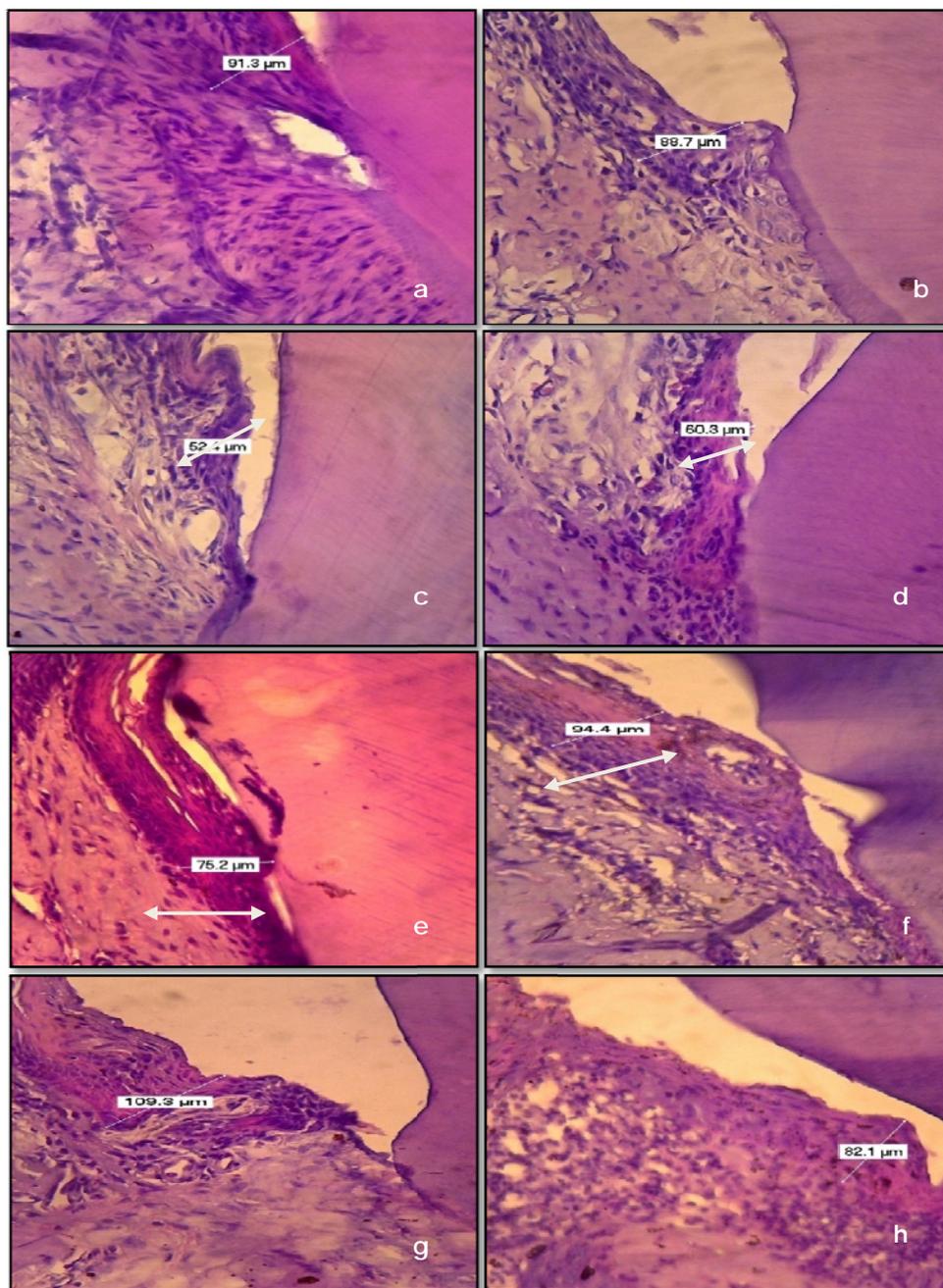
menggunakan asam format 10% selama 10 hari supaya subyek lebih lunak. Subyek yang telah lunak kemudian dilakukan prosedur histologijaringan meliputi proses dehidrasi, *clearing*, *impregnasi*, *embedding*, dan pemotongan jaringan menggunakan mikrotom dengan ketebalan 5 mikron secara melintang. Selanjutnya dilakukan pewarnaan subyek menggunakan HE.

#### **Tahap Perhitungan Ketebalan Epitel Gingiva**

Data penelitian diperoleh dari pengamatan sediaan histologis dari tiap kelompok. Pengamatan sediaan histologi menggunakan mikroskop cahaya (Olympus) dengan bantuan OptiLab dengan perbesaran 400x. Pemeriksaan ketebalan epitel ini dilakukan dengan cara melakukan pengukuran tebal epitel dari stratum basalis hingga stratum korneum menggunakan *software image raster* dan tempat pengukuran pada 4 potongan di 5 lapang pandang terpilih kemudian hasilnya dijumlah dan dirata-rata.

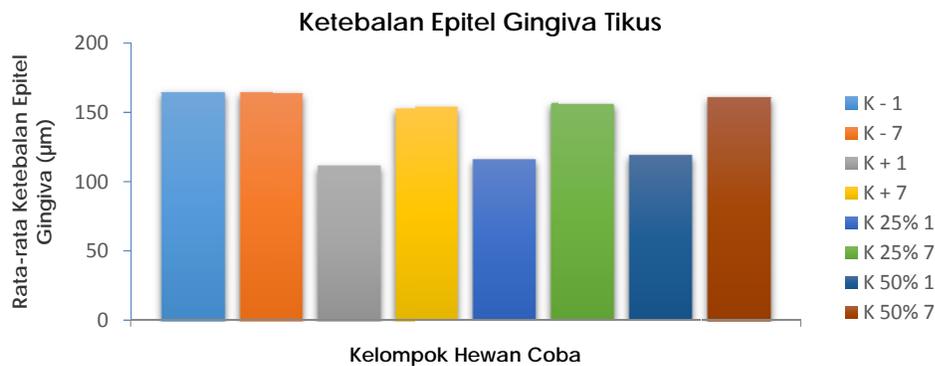
#### **Hasil Penelitian**

Gambaran histologis jaringan epitel gingiva tikus ditunjukkan pada gambar 1, sedangkan rata-rata ketebalan jaringan epitel gingiva tikus ditunjukkan pada gambar 2. Data yang diperoleh dilakukan uji normalitas menggunakan Shapiro-wilk dan uji homogenitas menggunakan uji Levene dengan  $p > 0,05$ . Hasil menunjukkan data terdistribusi normal dan homogen. Hasil uji one way anova menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna antar setiap kelompok.



**Gambar 4. Gambaran histologis ketebalan jaringan epitel gingiva tikus (panah putih) dengan pewarnaan H-E perbersaran 400x.**

a) Kelompok kontrol negatif yang dieutanasia pada hari ke-1 (K - 1), b) Kelompok kontrol negatif yang dieutanasia pada hari ke-7 (K - 7), c) Kelompok kontrol positif yang dieutanasia pada hari ke-1 (K + 1), d) Kelompok kontrol positif yang dieutanasia pada hari ke-7 (K + 7), e) Kelompok perlakuan gel ekstrak biji kopi robusta 25% yang dieutanasia pada hari ke-1 (K25% 1), f) Kelompok perlakuan gel ekstrak biji kopi robusta 25% yang dieutanasia pada hari ke-7 (K25% 7), g) Kelompok perlakuan gel ekstrak biji kopi robusta 50% yang dieutanasia pada hari ke-1 (K50% 1), h) Kelompok perlakuan gel ekstrak biji kopi robusta 50% yang dieutanasia pada hari ke-7 (K50% 7).



**Gambar 2. Histogram Rerata Ketebalan Epitel Gingiva Tikus pada Setiap Kelompok**

### Pembahasan

Penelitian ini mempelajari tentang pengaruh pemberian gel ekstrak biji kopi robusta (*C. robusta*) terhadap ketebalan epitel gingiva pada model tikus periodontitis yang diinduksi *P. gingivalis*. Hasil penelitian sesuai dengan hipotesis penelitian yang menyebutkan bahwa adanya peningkatan ketebalan epitel gingivasetelah pemberian gel ekstrak biji kopi robusta (*C. robusta*) pada model tikus periodontitis.

Hasil penelitian menunjukkan rerata ketebalan epitel gingiva, diperoleh hasil rerata ketebalan epitel yang paling tebal dari semua kelompok yakni pada kelompok kontrol negatif yang dieutanasia pada hari ke-1 (K1.1). Pada kelompok K1.1 tidak dilakukan intervensi berupa induksi *P. gingivalis*, sehingga ketebalan epitel gingiva dari lapisan epitel basalis hingga lapisan epitel korneum masih dalam keadaan normal. Hal ini berbeda dengan kelompok kontrol positif yang dieutanasia pada hari ke-1 (K2.1) yang memiliki rerata ketebalan epitel gingiva paling tipis dari semua kelompok karena pada kelompok ini dilakukan intervensi berupa induksi *P. gingivalis*. Penelitian sebelumnya mengatakan

bahwa *P. gingivalis* merupakan salah satu bakteri penyebab periodontitis sehingga aktivitas respon inflamasinya dapat menyebabkan kerusakan komponen matriks ekstraseluler pada epitel yang mengakibatkan kerusakan epitel.<sup>2,4</sup>

Data hasil penelitian rerata ketebalan epitel pada semua kelompok perlakuan dan kelompok kontrol positif menunjukkan bahwa K2.1 memiliki rerata ketebalan epitel yang paling tipis dan kelompok perlakuan yang diberi gel ekstrak biji kopi robusta 50% yang dieutanasia pada hari ke-7 (K4.2) memiliki rerata ketebalan epitel paling tebal. Hasil tersebut sesuai dengan manfaat dari biji kopi robusta memiliki senyawa aktif asam klorogenat, kafein dan saponin<sup>12</sup>. Berdasarkan penelitian sebelumnya mengatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak suatu tanaman maka akan semakin tinggi pula senyawa aktif yang dikandung.<sup>15</sup>

Data hasil uji beda menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna antar setiap kelompok. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian sebelumnya bahwa biji kopi robusta memiliki senyawa aktif yang dapat

membantu mempercepat proses penyembuhan luka. Karena biji kopi robusta memiliki kandungan asam klorogenat dua kali lebih banyak dibanding kopi arabika dan terbanyak dibanding dengan tumbuhan yang lain yang berfungsi sebagai antiinflamasi sekaligus antioksidan yang baik.<sup>16</sup>

Aktivitas antiinflamasi asam klorogenat, yaitu mengurangi efek histamin, bradikinin, dan lekotrien, serta yang pada akhirnya dapat mengurangi efek peningkatan permeabilitas kapiler selama fase inflamasi sehingga dapat mencegah keluarnya makromolekul dari mikrosirkulasi dan mengurangi pembengkakan (edema). Senyawa ini juga mampu mengurangi aktivitas sistem komplemen. Telah diketahui bahwa faktor yang terpenting dalam menjamin berlangsungnya penyembuhan suatu luka adalah masalah pencegahan terjadinya kontaminasi bakteri dan infeksi. Artinya, suatu luka dapat sembuh kembali selain dengan daya tahan (kemampuan) tubuhnya sendiri, dapat juga dengan bantuan antibakteri yang diberikan secara topikal. Pencegahan infeksi pada luka merupakan prasyarat yang penting agar dapat terjadinya proliferasi normal dari sel-sel jaringan untuk menutup luka.<sup>16</sup>

Asam klorogenat dan kafein memiliki kandungan antioksidan yang lebih baik dari pada vitamin C.<sup>17</sup> Antioksidan merupakan zat yang dapat menetralkan radikal bebas sehingga dapat melindungi sistem biologi tubuh dari efek merugikan yang timbul dari proses atau pun reaksi yang menyebabkan oksidasi yang berlebihan.<sup>18</sup> Aktivitas antioksidan dari asam klorogenat dan kafein adalah dengan menghambat aktivitas radikal bebas yang berlangsung selama proses inflamasi. Pada proses inflamasi terjadi peningkatan infiltrasi sel

inflamasi akan menyebabkan mekanisme fagositosis terhadap antigen sehingga memicu radikal bebas. Radikal bebas dan enzim protease yang diaktivasi oleh sel-sel inflamasi tidak hanya merusak sel yang terpapar alergen, tetapi aktivitas protease yang berlebihan juga dapat merusak sel, protein, dan komponen matriks ekstraseluler pada epitel.<sup>4</sup>

Senyawa saponin dalam biji kopi robusta (*C. robusta*) dapat mengaktivasi dan mensintesis TGF- $\beta$ 1 dan memodifikasi ekspresi reseptor TGF- $\beta$  di fibroblast. TGF- $\beta$  merupakan sebagai faktor pertumbuhan sebagai faktor pertumbuhan fibroblas, mempercepat penyembuhan luka dan dapat memediasi proses epitelisasi. TGF- $\beta$  dapat menstimulasi dan meningkatkan migrasi keratinosit untuk memproduksi fibronektin. Fibronektin memiliki sifat adhesif sehingga dapat mempermudah keratinosit untuk bermigrasi sepanjang fibrin. Keratinosit yang bermigrasi dan membelah diri untuk melapisi gingiva atau kulit yang telah kehilangan ketebalan.<sup>19</sup>

Kelompok Gel Ekstrak Biji Kopi Robusta 50% tidak berbeda bermakna dengan kelompok kontrol negatif, keadaan ini dikarenakan pada kelompok 50% memiliki ketebalan epitel yang mendekati normal. Ketebalan epitel yang diperoleh tersebut merupakan pengaruh dari pemberian gel ekstrak biji kopi robusta yang membantu dalam mempercepat proses epitelisasi pada kelompok yang mengalami periodontitis. Semakin tinggi tingkat konsentrasi gel ekstrak biji kopi robusta maka semakin tinggi pula kandungan asam klorogenat, kafein dan saponin.<sup>20</sup>

Pada kontrol positif dan kelompok perlakuan gel ekstrak biji kopi robusta 25% menunjukkan hasil yang tidak berbeda bermakna. Hasil

tersebut dikarenakan kandungan senyawa aktif yang terdapat di dalam biji kopi robusta konsentrasi rendah (25%) kurang dapat menunjukkan hasil yang lebih baik. Sehingga menyebabkan asam klorogenat, kafein dan saponin yang dapat membantu mempercepat proses epitelisasi kurang bekerja secara optimal. Hasil ini sesuai dengan penelitian sebelumnya bahwa konsentrasi ekstrak biji kopi robusta yang rendah mengandung asam klorogenat, kafein dan saponin yang rendah pula, akibatnya keadaan tersebut dapat mempengaruhi fungsi senyawa tersebut berupa kurang optimalnya fungsi biologis dari senyawa aktif tersebut<sup>20</sup>. Pada penelitian ini gel ekstrak biji kopi robusta 25% kurang berpengaruh terhadap ketebalan epitel gingiva model tikus periodontitis.

### Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian diduga bahwa kandungan Gel ekstrak biji kopi robusta (*C. robusta*) dapat membantu mempercepat ketebalan epitel gingiva pada model tikus periodontitis yang diinduksi *P. Gingivalis* terutama pada konsentrasi 50%. Perlu penelitian lebih lanjut tentang berbagai gel ekstrak biji kopi robusta (*C. robusta*) terhadap indikator inflamasi lainnya dan lama hari pengamatan ketebalan epitel, serta penelitian lebih spesifik tentang kandungan yang ada dalam biji kopi robusta (*C. robusta*) terhadap model tikus periodontitis.

### DaftarPustaka

1. Elisabetta C, Cristina D, Alessandra P, Guiseppe M. Can a chronic dental infection be considered a cause of cardiovascular disease? A Review of the literature.

1. *International Journal of Cardiology* 2010; 30; 7
2. Newman Michael. *The Gingiva in Carranza's Clinical Periodontology 10<sup>th</sup>Ed.* Philadelphia: W. B. Saunders Co. 2006.
3. Bostanci N, Kai B, Georgios NB, Thomas T, Joseph A, Michael AC. Role of Porphyromonas gingivalis gingipains in multi-species biofilm formation. *BMC Microbiology* 2014; 14: 258.
4. Wang, Ohura. Porphyromonas gingivalis Lipopolysaccharide Signaling in Gingival Fibroblasts CD14 and Toll-like Receptor. *Journal Critical Reviews in Oral Biology & Medicine* 2002;13: 132.
5. Syafril Y. *Regenerasi Jaringan Periodontium Setelah Perawatan Periodontal.* Jakarta: Temprint. 1996.
6. Ambiyani W. Pemberian Salep Ekstrak Daun Mengkudu (*Morinda Citrifolia L*) Meningkatkan Proses Regenerasi Jaringan Luka Pada Tikus Putih Galur Wistar (*Rattus Norvegicus*) Jantan. Tesis. Program Pasca Sarjana Fakultas Kedokteran Universitas Udayana. Denpasar. 2013.
7. Perdanakusuma DS. Anatomi Fisiologi Kulit Dan Penyembuhan Luka. *Proceeding from caring to curing, before you use gauze.* Surabaya: Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. 2007.
8. Nayak BS, Vinutha B, Greetha B, dan Sudha B. Experimental Evaluation of Pentaslancoelata for Wound Healing Activity in Rats. *Fithotherapy* 2006; 76: 671-675.
9. Jati Gilang. Pengaruh Aplikasi Gel Ekstrak Membran Kulit Telur Ayam 10% Terhadap Ketebalan Epitel pada Proses Penyembuhan Luka Gingiva (Kajian pada *Rattus norvegicus*).

- Skripsi. program sarjana Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gajah Mada. Yogyakarta. 2014.
10. Sukohar Asep. Isolasi Dan Karakterisasi Senyawa Sitotoksik Kafein Dan Asam Klorogenat Dari Biji Kopi Robusta Lampung. *Jurnal Medika Planta* 2011; 1: 4.
  11. Syakir M. Budi Daya dan Pasca Panen Kopi. Bogor : IAARD Press. 2010.
  12. Ciptaningsih Erna. Uji Aktivitas Antioksidan dan Karakteristik pada Kopi Luwak Arabika dan Pengaruhnya terhadap Tekanan Darah Tikus Normal dan Tikus Hipertensi. Tesis. Program Doktor Fakultas Farmasi Universitas Indonesia. Jakarta. 2012.
  13. Yellanki SK, Singh J, dan Manfi FV. Formulation, Characterization and Evaluation of Metronidazole Gel for Local Treatment of Periodontitis. *International Journal of Pharma and Bio Sciences* 2010; 1(2): 1-8.
  14. Ermawati Tantin. Potensi Gel EkstrakBijiKopi Robusta (*C. robusta*) Terhadap Ekspresi TNF- $\alpha$  Pada Tikus Periodontitis Yang Diinduksi *Porphyromonas gingivalis*. Laporan Penelitian Dosen Pemula. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. 2015.
  15. Indraswari Recita. Efek Konsentrasi Ekstrak Buah Adas (*Foeniculum Vulgare* Mill.) Topikal Pada Epitelisasi Penyembuhan Luka Gingiva Labial Tikus Sprague Dawley In Vivo. Skripsi. Program sarjana Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Sultan Agung. Semarang. 2011.
  16. Yuwono Hendro Sudjono. Penggunaan Serbuk Kopi Robusta untuk Mengobati Luka. Laporan kasus. Fakultas Kedokteran Universitas Padjajaran. Bandung. 2012.
  17. Kenisa Yorinta Putri. The Effect of Robusta Coffee Beans Ointment on Full thickness Wound healing. *Dental Journal* 2015; 45: 52-57.
  18. Kadapi Muamar. Aktivitas Antioksidan Kopi Biji Rambutan Non Kafein dengan Variasi Perbandingan Komposisi Beras Hitam yang Berbeda (Publikasi). Skripsi. Program Sarjana Program Studi Pendidikan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta. 2015.
  19. Falanga V. Mechanism of Cutaneous Wound Repair. Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine. Six Edition. New York: Graw Hill. 2003.
  20. Chamidah S. Daya Antibakteri Ekstrak Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Terhadap Pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*. Skripsi. Program sarjana Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Jember. 2012.