



**PERBEDAAN JUMLAH SEL FIBROBLAS PADA PULPA GIGI TIKUS
WISTAR (*Rattus norvegicus*) YANG DIBERI BAHAN *PULP CAPPING*
PASTA BIJI KOPI ROBUSTA DENGAN KALSIMUM HIDROKSIDA**

SKRIPSI

Oleh

Benny Santoso

NIM 111610101076

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS JEMBER

2017



**PERBEDAAN JUMLAH SEL FIBROBLAS PADA PULPA GIGI TIKUS
WISTAR (*Rattus norvegicus*) YANG DIBERI BAHAN *PULP CAPPING*
PASTA BIJI KOPI ROBUSTA DENGAN KALSIMUM HIDROKSIDA**

SKRIPSI

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan studi (S1) di Fakultas Kedokteran Gigi
dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran Gigi

Oleh

Benny Santoso

NIM 111610101076

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

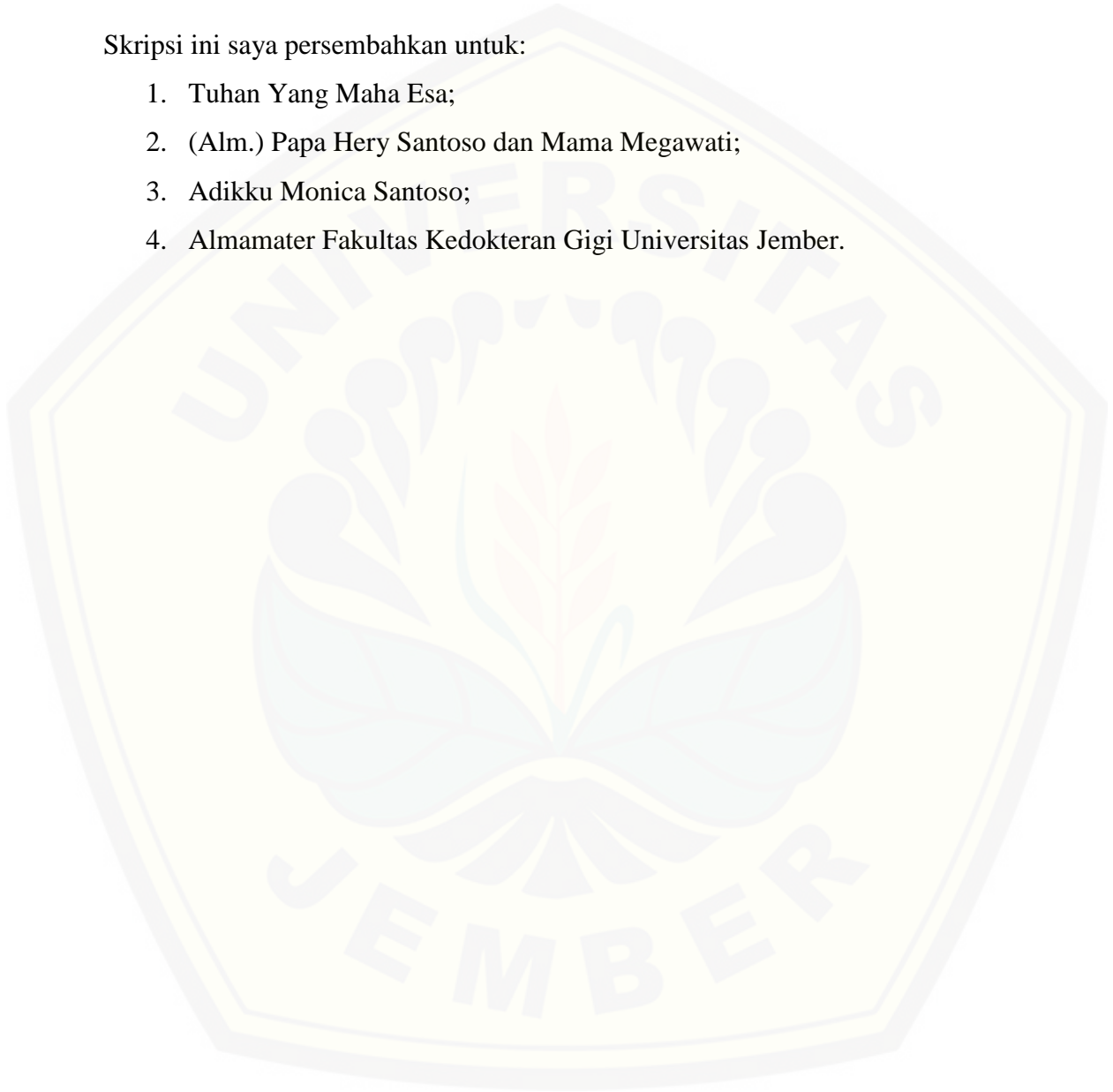
UNIVERSITAS JEMBER

2017

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Tuhan Yang Maha Esa;
2. (Alm.) Papa Hery Santoso dan Mama Megawati;
3. Adikku Monica Santoso;
4. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.



MOTTO

Usaha keras tidak akan mengkhianati.

(Yasushi Akimoto)



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Benny Santoso

NIM : 111610101076

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi saya yang berjudul “Perbedaan Jumlah Sel Fibroblas pada Pulpa Gigi Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Diberi Bahan *Pulp Capping* Pasta Biji Kopi Robusta dengan Kalsium Hidroksida” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, Mei 2017

Yang menyatakan,

Benny Santoso

NIM 11610101076

SKRIPSI

**PERBEDAAN JUMLAH SEL FIBROBLAS PADA PULPA GIGI TIKUS
WISTAR (*Rattus norvegicus*) YANG DIBERI BAHAN *PULP CAPPING*
PASTA BIJI KOPI ROBUSTA DENGAN KALSIMUM HIDROKSIDA**

Oleh

Benny Santoso

NIM 111610101076

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Prof. Dr. drg. IDA Ratna Dewanti, M.Si.

Dosen Pembimbing Pendamping : drg. Zahara Meilawaty, M.Kes.

Skripsi berjudul “Perbedaan Jumlah Fibroblas pada Pulpa Gigi Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Diberi Bahan *Pulp Capping* Pasta Biji Kopi Robusta dengan Kalsium Hidroksida” telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : 8 Mei 2017

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Tim Penguji

Dosen Penguji Ketua

Dosen Penguji Anggota

drg. Nadie Fatimatuazzahro, MD.Sc.

NIP. 198204242008012022

drg. Nuzulul Hikmah, M.Biomed.

NIP. 198107172008012017

Dosen Pembimbing Utama

Dosen Pembimbing Pendamping

Prof. Dr. drg. IDA Ratna Dewanti, M.Si.

NIP. 196705021997022001

drg. Zahara Meilawaty, M.Kes.

NIP. 198005272008122002

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

drg. Rahardyan Parnaadji, M.Kes, Sp. Pros.

NIP. 19690112199601100

RINGKASAN

Perbedaan Jumlah Sel Fibroblas Pada Pulpa Gigi Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Diberi Bahan *Pulp Capping* Pasta Biji Kopi Robusta dengan Kalsium Hidroksida; Benny Santoso, 111610101076; 2017; 79 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Pulp capping adalah perlindungan pulpa yang terbuka dengan tujuan untuk menghilangkan iritasi di jaringan pulpa dan melindungi pulpa sehingga dapat mempertahankan vitalitasnya. Pada perawatan *pulp capping*, akan terjadi proses regenerasi, meliputi aktivitas odontoblas, sel inflamatori, dan fibroblas. Fibroblas memiliki peranan penting pada proses penyembuhan luka. Pada proses regenerasi jaringan pulpa, fibroblas berperan dalam sintesis kolagen tipe I yang akan bersatu dengan jaringan termineralisasi dan membentuk jembatan dentin. Permasalahannya adalah belum ada bahan *pulp capping* yang memiliki efek samping minimal. Penelitian ini menggunakan biji kopi robusta untuk mengurangi efek samping bahan yang ada di pasaran. Salah satu kandungan pada kopi yang bermanfaat adalah polifenol, seperti kafein, *chlorogenic acid* (CGA) dan *caffeic acid* yang bersifat antioksidan. Kandungan ini dipercaya dapat membantu proses penyembuhan luka.

Sampel adalah 48 ekor tikus wistar jantan dengan berat 150-200 gram yang secara acak dibagi menjadi 3 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 16 ekor tikus. Pada kelompok pertama (K0), gigi molar tikus yang telah dibur sampai pulpanya terbuka langsung ditumpat dengan tumpatan sementara tanpa diberi bahan apapun. Pada kelompok kedua (K1), gigi molar tikus diberi kalsium hidroksida kemudian ditumpat dengan tumpatan sementara, sedangkan pada kelompok ketiga (K2), gigi molar tikus diberi pasta biji kopi robusta dengan konsentrasi 75% kemudian ditumpat dengan tumpatan sementara. Empat ekor tikus dari masing-masing kelompok didekapitasi pada hari ke-1, ke-3, ke-7 dan ke-14 untuk

mendapatkan sampel jaringan kemudian dilakukan penghitungan sel fibroblas menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400X.

Data dianalisis menggunakan uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* dan uji homogenitas *Levene* dan didapati bahwa data normal dan homogen, selanjutnya dilakukan uji beda parametrik *Two Way Anova* dan hasilnya menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan antara variabel bahan maupun hari ($p=0,000$). Interaksi kedua variabel (bahan dan hari) juga menunjukkan signifikansi dengan nilai $p=0,002$, selanjutnya data diuji menggunakan uji LSD.

Hasil uji LSD menunjukkan bahwa antar semua kelompok memiliki perbedaan yang signifikan. Perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol (K0) dengan kelompok perlakuan kalsium hidroksida (K1) dimungkinkan terjadi karena kalsium hidroksida dapat mempercepat regenerasi pulpa dengan merangsang *Bone Morphogenic Protein* (BMP) dan TGF- β . TGF- β akan merangsang sel-sel fibroblas untuk berproliferasi dan bermigrasi ke daerah luka sehingga jumlah sel fibroblas meningkat. Hasil uji LSD juga menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol (K0) dengan kelompok perlakuan pasta biji kopi robusta (K2) maupun antara kelompok perlakuan kalsium hidroksida (K1) dengan kelompok perlakuan pasta biji kopi robusta (K2). Rata-rata jumlah sel fibroblas pada kelompok perlakuan pasta biji kopi robusta (K2) lebih tinggi daripada kelompok perlakuan kalsium hidroksida (K1). Ini berarti bahwa pasta kopi robusta memiliki potensi untuk meningkatkan jumlah sel fibroblas, bahkan lebih baik dari kalsium hidroksida. Kandungan *caffeic acid* dan *chlorogenic acid* (CGA) yang dimiliki kopi robusta diduga sangat berperan dalam peningkatan jumlah sel fibroblas ini.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan jumlah fibroblas pada pulpa gigi tikus Wistar yang diberi bahan *pulp capping* pasta biji kopi robusta dengan kalsium hidroksida. Kelompok yang diberi pasta biji kopi robusta jumlah fibroblasnya lebih banyak daripada kelompok tanpa perlakuan dan kelompok yang diberi kalsium hidroksida. Oleh karena itu, pasta biji kopi robusta dapat digunakan sebagai alternatif bahan *pulp capping*.

PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan YME atas segala berkat dan hikmatNya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Perbedaan Jumlah Sel Fibroblas pada Pulpa Gigi Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Diberi Bahan *Pulp Capping* Pasta Biji Kopi Robusta dengan Kalsium Hidroksida”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

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

1. (Alm.) Papa Hery Santoso dan Mama Megawati yang telah memberikan dukungan, doa, kasih sayang, dan semangat untuk menyelesaikan skripsi ini;
2. Adikku, Monica Santoso yang menemani dalam suka dan duka;
3. Prof. Dr. drg. I Dewa Ayu Ratna Dewanti, M.Si., selaku Dosen Pembimbing Utama dan drg. Zahara Meilawaty, M. Kes., selaku Dosen Pembimbing Pendamping, yang telah meluangkan waktu dan pikiran serta memberikan banyak masukan dalam penulisan skripsi ini;
4. drg. Nadie Fatimatuzzahro, MD. Sc., selaku Dosen Penguji Ketua dan drg. Nuzulul Hikmah, M.Biomed., selaku Dosen Penguji Anggota yang telah meluangkan waktu untuk penulisan skripsi ini;
5. drg. Rahardyan Parnaadji, M. Kes, Sp. Pros., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
6. drg. Tantin Ermawati, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan bimbingan dan motivasi selama ini;
7. Viviyona Apriani, yang telah menjadi sumber inspirasi dan memberikan motivasi kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini;
8. Maulana Akbari, Hendra Sumarna, dan Ari Kurniasari, yang telah menjadi *partner* penelitian dan telah banyak membantu dan memberikan motivasi;

9. I Putu Erlangga Wibawa, M. Nizar, teman saya yang telah memberi dukungan dan bantuan selama pengerjaan skripsi ini;
10. Stefanus Christian, Inneke Sutanto, yang telah memberi banyak masukan dan bantuan untuk penulis dari awal pengerjaan skripsi ini;
11. Keluarga besar Agus Setiawanto Rahardjo, yang telah memberi bantuan dan motivasi bagi penulis;
12. Teknisi Laboratorium Biologi Kedokteran dan Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, yang telah membantu proses penelitian;
13. Teman-teman angkatan 2011, atas segala kebersamaannya;
14. Semua pihak yang terlibat baik langsung maupun tidak langsung dalam penyelesaian skripsi ini.

Penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi kita semua.
Amin.

Jember, Mei 2017

Penulis

DAFTAR ISI

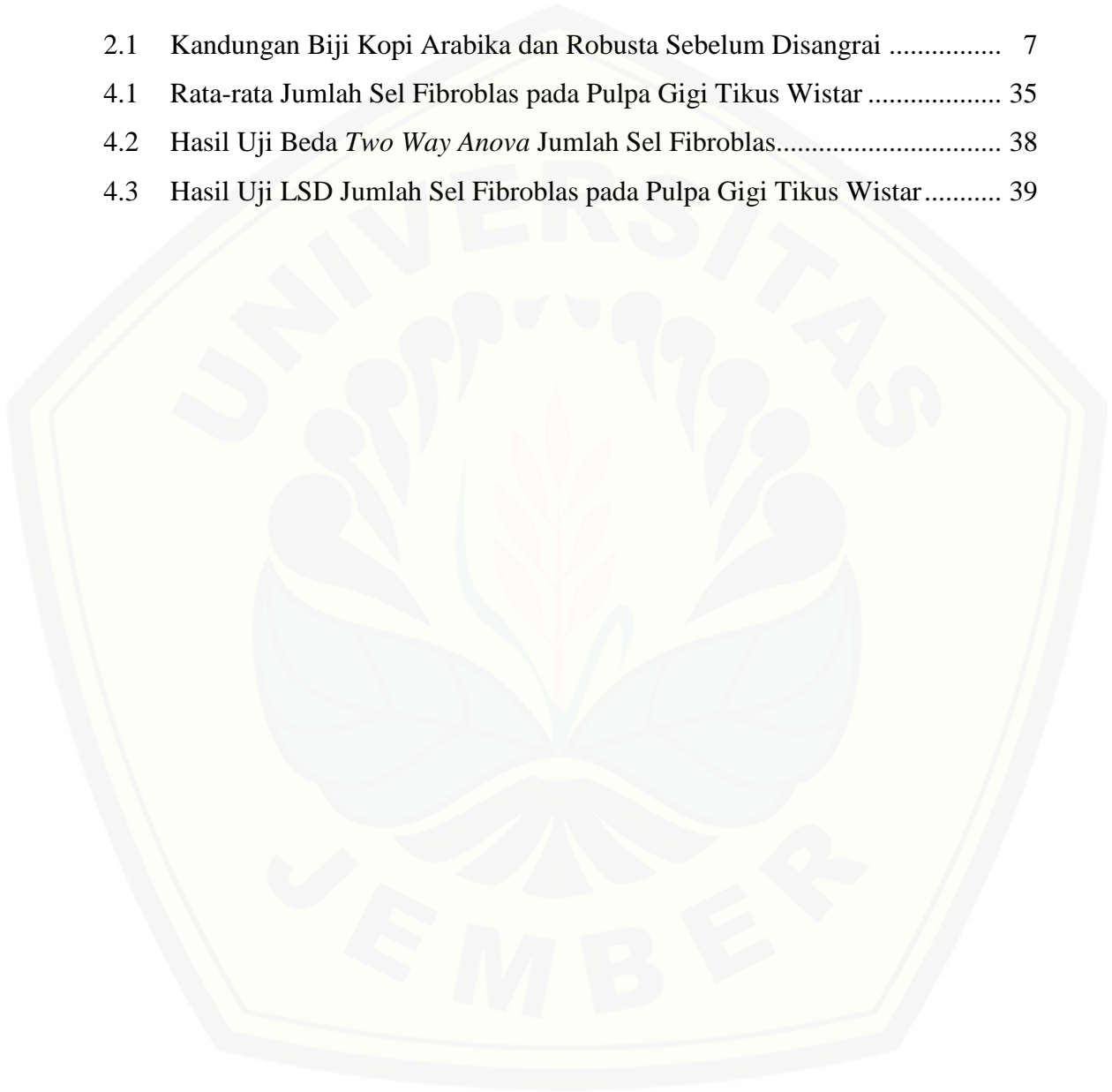
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PENGESAHAN.....	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA.....	ix
DAFTAR ISI.....	xi
BAB 1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Kopi	4
2.1.1 Deskripsi Kopi.....	4
2.1.2 Kopi Robusta	4
2.2 <i>Pulp Capping</i>	9
2.2.1 Definisi	9
2.2.2 Teknik Perawatan <i>Pulp Capping</i>	9
2.2.3 Kalsium Hidroksida.....	10
2.3 Sel Fibroblas.....	11
2.3.1 Morfologi Sel Fibroblas.....	12
2.3.2 Fungsi Sel Fibroblas	14
2.3.3 Peran Fibroblas pada Proses Penyembuhan Luka	14
2.3.4 Peran Fibroblas pada Regenerasi Pulpa.....	15

2.4	Kerangka Konseptual	17
2.4.1	Kerangka Konsep.....	17
2.4.2	Penjelasan Kerangka Konsep	18
2.5	Hipotesis	19
BAB 3. METODE PENELITIAN		
3.1	Jenis Penelitian	20
3.2	Rancangan Penelitian	20
3.3	Tempat dan Waktu Penelitian	20
3.4	Variabel Penelitian	20
3.4.1	Variabel Bebas.....	20
3.4.2	Variabel Terikat.....	20
3.4.3	Variabel Terkendali	21
3.5	Definisi Operasional.....	21
3.5.1	Pasta Biji Kopi Robusta (<i>Coffea robusta</i>).....	21
3.5.2	Sel Fibroblas	21
3.5.3	Tikus Wistar.....	22
3.6	Sampel Penelitian	22
3.6.1	Kriteria Sampel.....	22
3.6.2	Jumlah Sampel.....	22
3.6.3	Kelompok Sampel	22
3.6.4	Besar Sampel	23
3.7	Alat dan Bahan Penelitian	23
3.7.1	Alat	23
3.7.2	Bahan	24
3.8	Prosedur Penelitian.....	24
3.8.1	<i>Ethical Clearance</i>	24
3.8.2	Pembuatan Ekstrak Biji Kopi Robusta	24
3.8.3	Pembuatan Pasta Biji Kopi Robusta.....	25
3.8.4	Sterilisasi Alat.....	25

3.8.5	Persiapan Hewan Coba	25
3.8.6	Pengelompokan dan Perlakuan Hewan Coba	26
3.8.7	Pengambilan Sampel	27
3.8.8	Tahap Dekalsifikasi Jaringan.....	28
3.8.9	Pembuatan Sediaan Histologi	28
3.8.10	Penghitungan Jumlah Sel Fibroblas	31
3.9	Analisis Statistik.....	32
3.10	Alur Penelitian.....	34
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN		
4.1	Hasil Penelitian.....	35
4.2	Pembahasan	40
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN		
5.1	Kesimpulan.....	43
5.2	Saran	43
DAFTAR PUSTAKA		44
LAMPIRAN.....		48

DAFTAR TABEL

2.1	Kandungan Biji Kopi Arabika dan Robusta Sebelum Disangrai	7
4.1	Rata-rata Jumlah Sel Fibroblas pada Pulpa Gigi Tikus Wistar	35
4.2	Hasil Uji Beda <i>Two Way Anova</i> Jumlah Sel Fibroblas.....	38
4.3	Hasil Uji LSD Jumlah Sel Fibroblas pada Pulpa Gigi Tikus Wistar.....	39

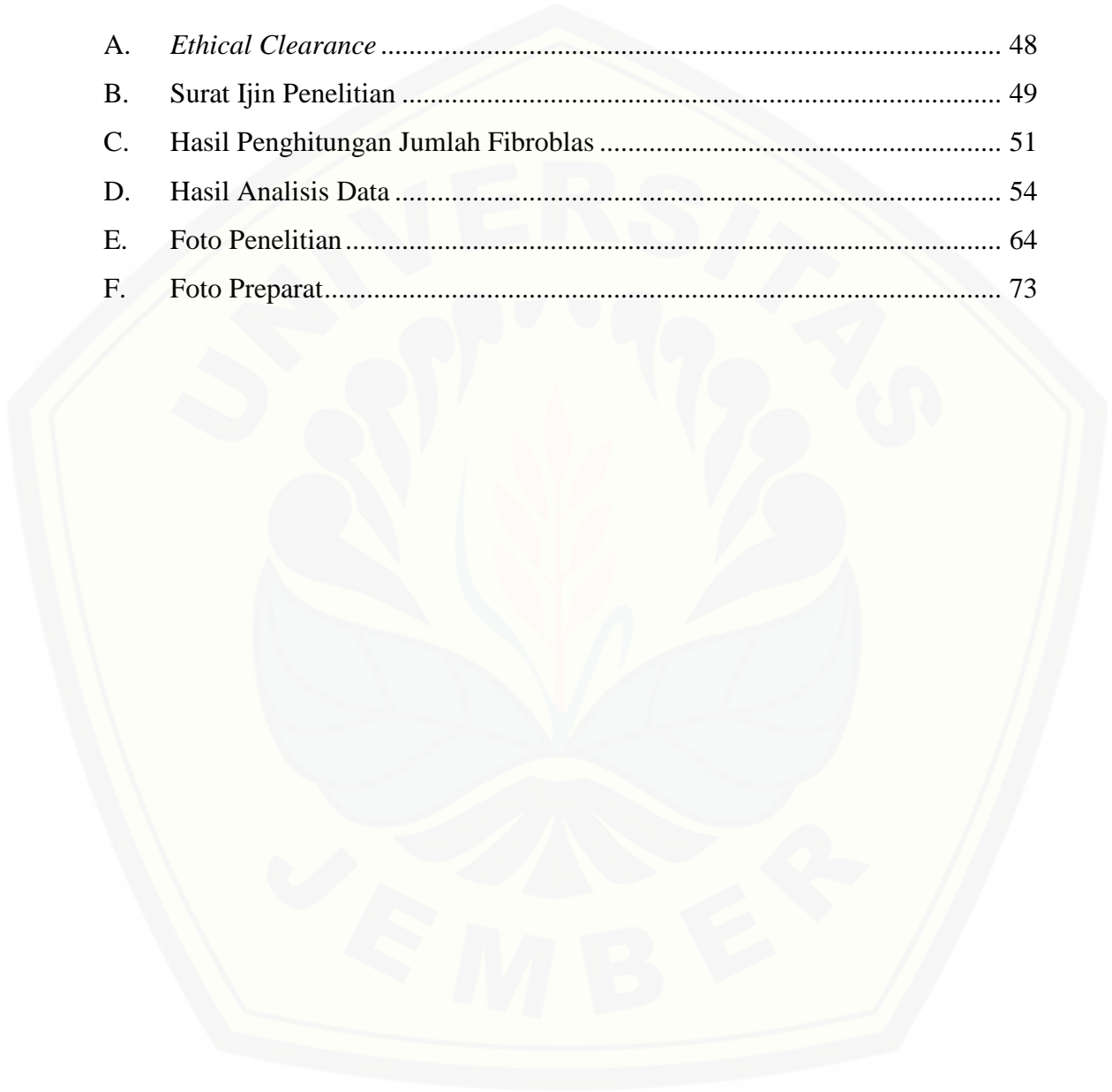


DAFTAR GAMBAR

2.1	Tanaman Kopi Robusta	6
2.2	Biji Kopi Robusta dan Arabika	6
2.3	Teknik <i>Pulp Capping</i>	10
2.4	Struktur Sel Fibroblas	13
2.5	Sel Fibroblas dalam Preparat Pulpa Tikus.....	13
3.1	Posisi Pengamatan pada Tiga Lapang Pandang	32
4.1	Grafik Rata-rata Jumlah Fibroblas pada Setiap Kelompok	36
4.2	Gambaran Histologis Sel Fibroblas	37
4.3	Sel Fibroblas yang Diamati	38

DAFTAR LAMPIRAN

A.	<i>Ethical Clearance</i>	48
B.	Surat Ijin Penelitian	49
C.	Hasil Penghitungan Jumlah Fibroblas	51
D.	Hasil Analisis Data	54
E.	Foto Penelitian	64
F.	Foto Preparat.....	73



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pulp capping adalah perlindungan pulpa yang terbuka dengan tujuan untuk menghilangkan iritasi di jaringan pulpa dan melindungi pulpa sehingga dapat mempertahankan vitalitasnya. Pada perawatan *pulp capping*, akan terjadi proses regenerasi, meliputi aktivitas odontoblas, sel inflamatori, dan fibroblas (Walton, 2008). Fibroblas merupakan salah satu sel penyusun jaringan ikat longgar dalam rongga mulut yang paling khas dan berperan penting dalam perkembangan dan pembentukan struktur jaringan (Purnami, 2003). Fibroblas berperan dalam pembentukan komponen matriks ekstraseluler jaringan ikat, seperti sintesis kolagen, elastin, glikosaminoglikan, proteoglikan, dan glikoprotein multiadhesif. Fibroblas memiliki peranan penting pada proses penyembuhan luka. Pada saat jaringan mengalami luka atau lesi, fibroblas akan segera bermigrasi ke arah luka, berproliferasi, dan memproduksi matriks kolagen dalam jumlah besar yang akan membantu mengisolasi dan memperbaiki jaringan yang rusak (Purnami, 2003).

Bahan yang sering digunakan untuk *pulp capping* adalah kalsium hidroksida, namun studi jangka panjang telah membuktikan bahwa bahan ini memiliki beberapa kekurangan dan efek samping. Bahan ini tidak dapat beradaptasi dengan dentin, tidak dapat merangsang diferensiasi odontoblas secara konsisten, dan sitotoksik pada sel (Escandarizadeh dkk. dalam Silalahi, 2014). Selain itu, adanya ikatan yang lemah antara kalsium hidroksida dan dentin, ketidakstabilan mekanis, dan menyebabkan *tunnel defect* pada pembentukan jembatan dentin yang akan memudahkan masuknya bakteri dan memperlambat proses kesembuhan, serta mengiritasi pulpa karena pH yang tinggi (Torabinejad, 2015).

Di sisi lain, saat ini kopi merupakan minuman favorit dan dikonsumsi oleh sebagian besar masyarakat di seluruh dunia dalam berbagai kesempatan. Kopi juga

merupakan komoditi ekspor yang memiliki nilai ekonomis cukup tinggi di pasaran dunia. Di Indonesia, produksi buah kopi menempati urutan keempat terbesar di dunia setelah Kolumbia, Brazil, dan Vietnam (Simanihuruk dan J. Sirait, 2010). Kopi memiliki kandungan seperti flavonoid, *xanthine*, antioksidan, alkaloid, dan polifenol yang dapat berfungsi sebagai antiinflamasi dan antibakteri. Salah satu kandungan pada kopi yang bermanfaat adalah polifenol, seperti kafein, asam klorogenat (CGA) dan *caffeic acid*. Kandungan ini dipercaya dapat membantu proses penyembuhan luka. Asam klorogenat dan *caffeic acid* memiliki daya antioksidan yang lebih kuat daripada vitamin C dan vitamin E. Kandungan CGA dalam kopi diketahui juga dapat meningkatkan mobilisasi dan kemampuan fagositosis sel-sel makrofag. Sel-sel makrofag ini nantinya akan merangsang ekspresi TGF- β , yang akan merangsang sel-sel fibroblas untuk bermigrasi ke daerah luka (Lelyana dan Kweon dkk., dalam Kenisa dkk., 2012).

Fibroblas berperan dalam regenerasi pulpa dengan mensintesis kolagen tipe I yang akan bersatu dengan jaringan termineralisasi dan membentuk jembatan dentin. Jembatan dentin ini akan menutup seluruh daerah perforasi dan disebut dentin reparatif (Priyambodo, 2005). Dentin reparatif adalah bentuk penyembuhan luka pada pulpa (Nanci, 2003). Pada penelitian terdahulu telah diteliti pengaruh pasta biji kopi robusta dengan konsentrasi 25%, 50%, dan 75% terhadap daya regenerasi pulpa tikus Wistar. Hasil yang didapat adalah pasta biji kopi robusta dengan konsentrasi 75% meningkatkan daya regenerasi pulpa paling tinggi (Dewanti, 2016).

Berdasarkan uraian di atas penulis ingin mengetahui apakah terdapat perbedaan jumlah fibroblas pada pulpa gigi tikus Wistar yang diberi bahan *pulp capping* pasta biji kopi robusta konsentrasi 75% dibandingkan dengan yang diberi kalsium hidroksida dan diharapkan pasta biji kopi robusta dapat menjadi alternatif bahan *pulp capping* yang mudah didapat dan dengan efek samping minimal.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah terdapat perbedaan jumlah fibroblas pada pulpa gigi tikus Wistar yang diberi bahan *pulp capping* pasta biji kopi robusta dengan kalsium hidroksida?

1.3 Tujuan Penelitian

Mengetahui perbedaan jumlah fibroblas pada pulpa gigi tikus Wistar yang diberi bahan *pulp capping* pasta biji kopi robusta dengan kalsium hidroksida.

1.4 Manfaat Penelitian

- 1.4.1 Memberikan informasi mengenai peran biji kopi robusta pada proses penyembuhan (regenerasi) pulpa gigi.
- 1.4.2 Memberikan informasi kepada tenaga medis kedokteran gigi mengenai potensi biji kopi robusta yang digunakan sebagai bahan alternatif *pulp capping*.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kopi

2.1.1 Deskripsi Kopi

Tanaman kopi termasuk dalam golongan famili *rubiaceae* yang mempunyai 500 macam genus dan lebih dari 600 spesies. Jenis tanaman kopi antara lain kopi arabika dan kopi robusta. Kopi dikonsumsi pertama kali pada abad ke-9 di Ethiopia. Saat ini kopi merupakan minuman yang masih difavoritkan dan dikonsumsi oleh sebagian besar masyarakat di seluruh dunia. Kopi dapat digolongkan sebagai minuman *psikostimulant* yang akan menyebabkan orang tetap terjaga, mengurangi kelelahan, dan membuat perasaan lebih bahagia (Bhara, 2009).

2.1.2 Kopi Robusta

2.1.2.1 Klasifikasi Kopi Robusta

Dalam taksonomi tumbuhan, kopi robusta (*Coffea robusta*) diklasifikasikan sebagai berikut:

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

(Tanaman Obat, 2008)

2.1.2.2 Habitat Kopi Robusta

Tanaman kopi robusta tumbuh baik di dataran rendah sampai ketinggian sekitar 1.000 meter di atas permukaan laut, dan di daerah-daerah dengan suhu sekitar 20°C (Ridwansyah, 2003). Selain ketinggian, hujan juga merupakan faktor yang penting bagi pertumbuhan tanaman kopi. Tanaman kopi umumnya tumbuh optimal di daerah dengan curah hujan 2.000-3.000 mm/tahun. Tanaman kopi juga menghendaki tanah yang subur dan kaya bahan organik yang memiliki pH berkisar 4,5-6,5 (Suwanto dan Octavianty, 2010).

2.1.2.3 Deskripsi Botani Kopi Robusta (*Coffea robusta*)

Tanaman kopi mempunyai batang tegak, bercabang, dan tingginya mencapai 12 meter. Kopi mempunyai sistem percabangan yang berbeda dengan tanaman lain. Tanaman ini mempunyai beberapa jenis cabang yang sifat dan fungsinya berbeda. Cabang yang tumbuhnya tegak dan lurus disebut cabang reproduksi. Cabang ini berasal dari tunas reproduksi yang terdapat di setiap ketiak daun pada cabang utama atau cabang primer (Suwanto dan Octavianty, 2010).

Tanaman kopi berbunga setelah berumur dua tahun. Bunga tersusun dalam kelompok, masing-masing terdiri dari 4-6 kuntum bunga. Pada setiap ketiak daun dapat menghasilkan 2-3 kelompok bunga. Bunganya berukuran kecil dengan mahkota berwarna putih. Kelopak bunga berwarna hijau dan memiliki benang sari yang terdiri dari 5-7 tangkai berukuran pendek. Kelopak dan mahkota akan membuka saat bunga sudah dewasa. Kemudian bunga tersebut akan berkembang menjadi buah (Suwanto dan Octavianty, 2010). Tanaman kopi robusta dapat diamati pada gambar 2.1 di bawah ini.



Gambar 2.1 Tanaman kopi robusta (Sumber: www.interkom.it)

Buah muda berwarna hijau, kemudian kulitnya menguning dan menjadi merah tua. Waktu yang diperlukan sejak munculnya bunga sampai buah matang sekitar 6-11 bulan. Buah terdiri dari daging buah dan biji berdiameter kurang lebih 5 mm. Umumnya, buah kopi mengandung dua butir biji, namun ada pula yang berbiji satu atau sama sekali tidak berbiji karena bakal bijinya tidak berkembang sempurna (Gambar 2.2). Lembaga (*endosperm*) merupakan bagian yang dimanfaatkan untuk membuat minuman kopi (Suwarto dan Octavianty, 2010).



Gambar 2.2 Biji kopi robusta dan arabika (Sumber: www.pojokshare.com)

2.1.2.4 Kandungan Kopi Robusta

Biji kopi mengandung berbagai jenis senyawa, seperti aldehida, furfural, keton, alkohol, ester, asam format, asam asetat, trigoneline, asam klorogenik, glikosida, mineral, dan kafein (Widyotomo dan Mulato, 2007).

Tabel 2.1 Kandungan Biji Kopi Arabika dan Robusta Sebelum Disangrai (% bobot)

Komponen	Arabica	Arabica	Robusta	Robusta	Bubuk
	Green	Roasted	Green	Roasted	Kopi Instan
Mineral	3-4.2	3.5-4.5	4-4.5	4.6-5	9-10
Kafein	0.9-1.2	1	1.6-2.4	2	4.5-5.1
Trigoneline	1-1.2	0.5-1	0.6-0.75	0.3-0.6	-
Lemak	12-18	14.5-20	9-13	11-16	1.5-1.6
Total	5.5-8	1.2-2.3	7-10	3.9-4.6	5.2-7.4
Chlorogenic Acid					
Asam Alifatis	1.5-2	1-1.5	1.5-1.2	1-1.5	-
Oligosakarida	6-8	0-3.5	5-7	0-3.5	0.7-5.2
Total	50-55	24-39	37-47	-	6.5
Polisakarida					
Asam Amino	2	0	-	0	0
Protein	11-13	13-15	-	13-15	16-21
Humic Acids	-	16-17	-	16-17	15.02

Sumber: Clarke dan Macrae dalam Ridwansyah (2003)

Senyawa kimia pada biji kopi dibedakan atas senyawa *volatil* dan non *volatil*. 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 nutrisi. Senyawa nutrisi pada biji kopi antara lain karbohidrat, protein, lemak, dan mineral (Ridwansyah, 2003).

Kafein merupakan unsur terpenting pada kopi yang berfungsi sebagai *stimulant*, sedangkan kafeol merupakan faktor yang menentukan rasa (Lanchare, dalam Bhara, 2009). Kafein adalah basa *monocidic* yang lemah dan dapat memisah dengan penguapan serta mudah diuraikan oleh alkalis yang panas. Menurut Sivert dan

Desrosier dalam Widyotomo dan Mulato (2007), kafein adalah senyawa kimia hasil metilasi xanthin dengan bentuk dasar heterosiklis yang memiliki sifat farmakologi.

2.1.2.5 Manfaat Kopi Robusta

Kopi merupakan minuman yang disenangi semua kalangan. Minum kopi di pagi hari sudah menjadi kebiasaan banyak orang. Selain sebagai minuman, kopi juga digunakan dalam industri makanan, misalnya makanan ringan dan permen, sebagai penambah rasa (Bhara, 2009). Kopi juga dapat berfungsi sebagai *stimulant*, merangsang pernapasan, membantu asimilasi dan pencernaan makanan, menurunkan sirkulasi darah di otak, sebagai obat diare, serta pencegah muntah pasca operasi (Suwarto dan Octaviany, 2010).

Sejumlah penelitian menyebutkan bahwa secara *in vitro* kopi robusta memiliki aktivitas antimikroba terhadap *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, dan *Candida albicans* (Murtafiah, 2012). Kenisa dkk. (2012) juga menyebutkan kopi robusta dapat meningkatkan proses penyembuhan luka *full thickness* pada kulit tikus *Cavia cabaya*. Hendro Sudjono Yuwono dalam Artho (2015) telah melakukan penelitian dan menyimpulkan bahwa kopi dapat digunakan untuk mengatasi berbagai jenis luka, mulai dari luka gores benda tajam, luka bakar, sampai luka koreng yang sudah terinfeksi.

Salah satu kandungan pada kopi yang bermanfaat adalah polifenol, seperti kafein, asam klorogenat (CGA) dan *caffeic acid*. Kandungan polifenol pada kopi robusta lebih tinggi dibanding kopi arabika. Kandungan ini dipercaya dapat membantu proses penyembuhan luka. Asam klorogenat dan *caffeic acid* memiliki daya antioksidan yang lebih kuat daripada vitamin C dan vitamin E (Lelyana dan Kweon dkk., dalam Kenisa dkk., 2012).

Kandungan kafein memberi efek antibakteri bagi gigi, sehingga dapat mencegah karies. Kafein juga dapat mengurangi resiko diabetes, mencegah penyakit saraf, menghambat penurunan fungsi kognitif otak, serta sebagai penambah stamina (Harmandini, 2009).

2.2 *Pulp Capping*

2.2.1 Definisi

Pulp capping adalah suatu tindakan terhadap pulpa vital dengan cara memberikan selapis tipis material proteksi pada pulpa yang hampir terbuka. Obat yang digunakan adalah kalsium hidroksida yang berkhasiat merangsang odontoblas untuk membentuk dentin sekunder. Perawatan pulp capping dengan kalsium hidroksida memperlihatkan persentase keberhasilan sebanyak 75% (Nurhayati, 2014).

2.2.2 Teknik Perawatan *Pulp Capping*

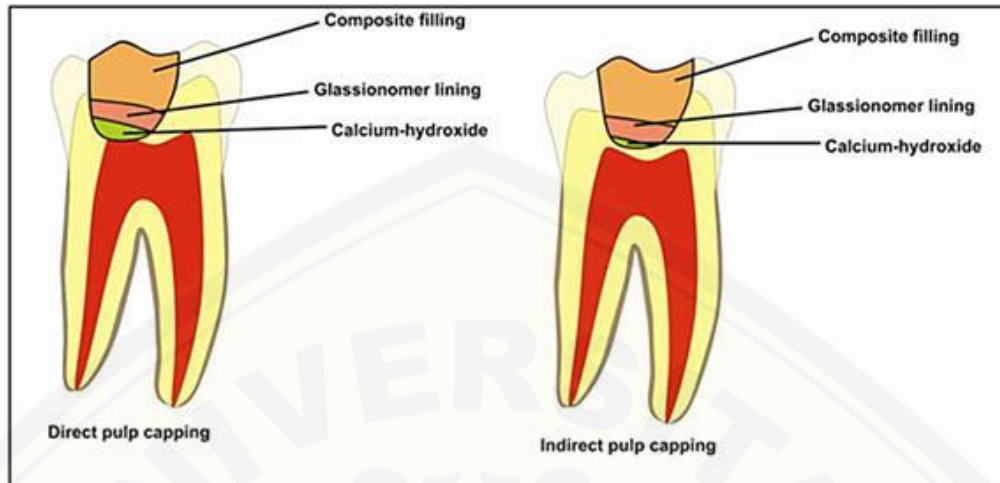
Perawatan *pulp capping* dapat dilakukan dengan dua cara, sebagai berikut:

2.2.2.1 *Indirect Pulp Capping*

Perawatan ini diindikasikan untuk gigi sulung vital dengan lesi karies yang luas dan hampir mendekati pulpa, tanpa ada gejala degenerasi pulpa atau penyakit periapikal. Tujuan utama perawatan indirect pulp capping adalah mempertahankan vitalitas pulpa dengan cara: menghentikan proses karies; meningkatkan sklerosis dentin (mengurangi permeabilitas dentin); merangsang pembentukan dentin reparatif, dan remineralisasi dentin yang terkena karies. Bahan yang umum digunakan adalah kalsium hidroksida dan *zinc oxide eugenol*. Pemberian kalsium hidroksida yang langsung mengenai pulpa pada gigi sulung dapat merangsang odontoblas membentuk dentin reparatif, tetapi bila penggunaannya berlebih dapat menyebabkan resorpsi interna. (Nurhayati, 2014).

2.2.2.2 *Direct Pulp Capping*

Perawatan ini dilakukan pada gigi yang pulpanya terbuka secara mekanis tanpa kontaminasi bakteri dan tidak boleh dilakukan pada perforasi pulpa gigi sulung karena karies. Gigi harus asimtomatik dan situs eksposur harus tepat dengan diameter dan bebas dari kontaminasi oral. Kalsium hidroksida ditempatkan di atas daerah eksposur untuk merangsang pembentukan dentin untuk menjaga vitalitas pulpa (Nurhayati, 2014) (Gambar 2.3).



Gambar 2.3 Teknik *pulp capping* (Sumber: www.tankonyvtar.hu)

2.2.3 Kalsium Hidroksida

Kalsium hidroksida ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) pertama kali dipakai dalam perawatan endodontik pada perawatan gigi non vital. Pemakaian kalsium hidroksida pada perawatan kaping pulpa dan apeksifikasi serta apeksogenesis telah diketahui, tetapi dalam perawatan endodontik modern saat ini pemakaian kalsium hidroksida menjadi lebih luas dan sering dipakai sebagai *dressing* perawatan saluran akar antar kunjungan yang tidak hanya terbatas pada gigi non vital, tetapi juga gigi vital, terutama pada gigi dengan lesi periapikal. Peranan kalsium hidroksida dalam perawatan endodontik adalah mampu membunuh mikroorganisme, merangsang pembentukan jaringan keras, dan melarutkan jaringan (Yanti dalam Winata, 2012).

Konsentrasi ion hidroksil yang tinggi dalam kalsium hidroksida dapat membunuh mikroorganisme dalam saluran akar yang tidak terjangkau oleh instrumentasi dan irigasi. Hal ini disebabkan karena ion hidroksil dapat mendenaturasi protein dan menghidrolisis lemak lipopolisakarida (LPS) seperti pirogenitas, toksisitas, aktivasi makrofag dan komplamen, sehingga dinding sel rusak dan mengakibatkan kematian bakteri (Yanti dalam Winata, 2012). Kalsium hidroksida juga memiliki sifat bakterisid karena sifat alkalinya, dengan pH 11-13. Dengan kondisi peningkatan ion OH^- , menjadikan kemungkinan bakteri untuk hidup

rendah sekali, sedangkan ion Ca^{2+} dari kalsium hidroksida dipercaya memiliki khasiat dalam membentuk jembatan dentin dan memelihara vitalitas pulpa (Hazrina, 2007).

Sediaan kalsium hidroksida terdiri dari dua kemasan, yang satu berisi $\text{Ca}(\text{OH})_2$ sedangkan kemasan lainnya berisi salisilat. Pengerasan yang terjadi sangat cepat. Karena konsistensinya yang kurang begitu kuat, sisa bahan dapat dibersihkan dengan ekskavator. Bahan ini tidak boleh berhubungan langsung dengan saliva karena akan cepat larut (Ford dalam Winata, 2012).

Kalsium hidroksida walaupun sampai saat ini masih menjadi bahan pilihan, tetapi studi jangka panjang telah membuktikan bahwa bahan ini tidak dapat diandalkan. Bahan ini tidak dapat beradaptasi dengan dentin, tidak dapat merangsang diferensiasi odontoblas secara konsisten, sitotoksik pada sel, dan pH yang tinggi menyebabkan kalsium hidroksida mudah larut, yang mengakibatkan *defect tunnel* (Escandarizadeh dkk. dalam Silalahi, 2014).

2.3 Sel Fibroblas

Fibroblas (*L. Fibra*, serat: Yunani. *Blastos*, benih: Latin) adalah sel yang menghasilkan serat dan substansi dasar amorf jaringan ikat biasa. Sel ini merupakan salah satu sel penyusun jaringan ikat longgar dalam rongga mulut yang paling khas dan berperan penting dalam perkembangan dan pembentukan struktur jaringan (Leeson dkk., 1996; Purnami, 2003).

Fibroblas memiliki dua tahap aktivitas, yaitu aktif dan inaktif. Sel fibroblas aktif pada keadaan normal yaitu dalam proses remodeling atau dalam proses perbaikan dan penyembuhan jaringan yang cedera, sedangkan sel fibroblas inaktif disebut fibrosit berada pada jaringan sehat/normal (Junqueira dan Carneiro, 2007).

Sel fibroblas paling banyak ditemui pada jaringan ikat dan akan berproliferasi serta lebih aktif mensintesis komponen matriks sebagai respon terhadap adanya cedera (Junqueira dan Carneiro, 2007). Fibroblas merupakan sel yang paling banyak

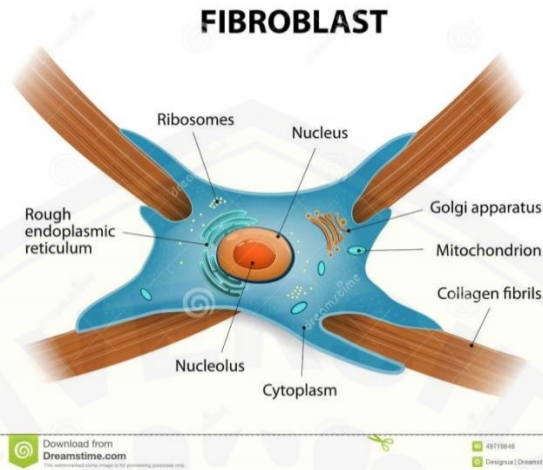
ditemukan di dalam pulpa, dapat berasal dari sel mesenkim pulpa yang tidak berkembang atau dari bagian fibroblas yang ada. Fibroblas berada di seluruh bagian pulpa tetapi cenderung berkonsentrasi pada daerah kaya sel, terutama di bagian koronal (Teohardi, 2015).

2.3.1 Morfologi Sel Fibroblas

Fibroblas aktif berbentuk sel besar, gepeng, bercabang-cabang berbentuk gelondong atau fusiform. Fibroblas memiliki inti lonjong atau bulat memanjang dengan kromatin halus dan anak inti yang nyata. Fibroblas memiliki gambaran inti yang lebih pucat dari jaringan ikat yang direntangkan serta terlihat mengkerut dan terpulas gelap pada sajian irisan. Sitoplasma fibroblas lebih banyak dan tampak mirip dengan serabut kolagen di sekitarnya. Sitoplasmanya bersifat basofilik, banyak mengandung retikulum endoplasma kasar dan kompleks golgi yang berkembang baik. Pada kebanyakan sajian histologi, batas sel tidak nyata dan ciri inti merupakan pedoman untuk pengenalannya (Di Fiore, 1992; Leeson dkk., 1996; Junqueira dan Carneiro, 2007).

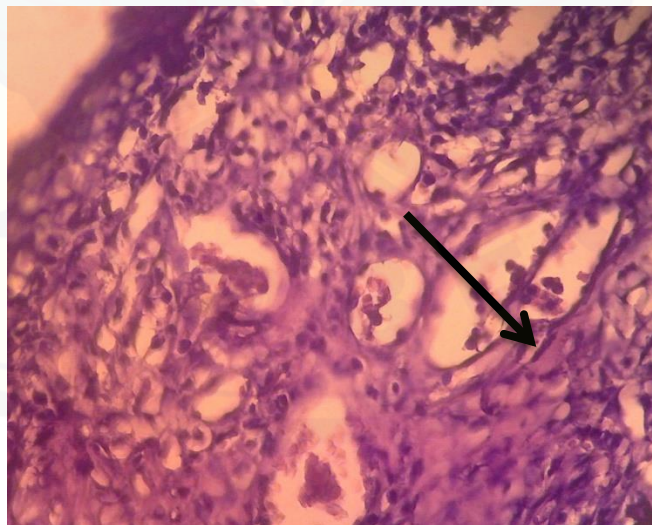
Fibroblas inaktif atau fibrosit merupakan sel yang lebih kecil daripada fibroblas aktif dan cenderung berbentuk kumaran. Fibrosit memiliki gambaran pipih, cabang-cabangnya sedikit, inti lebih kecil, gelap, dan panjang, serta sitoplasmanya sedikit. Sitoplasmanya bersifat asidofilik, mengandung sedikit retikulum endoplasma kasar (Leeson dkk., 1996; Junqueira dan Carneiro, 2007).

Pengamatan dengan mikroskop elektron, dapat dilihat inti fibroblas yang berbentuk bulat panjang mengandung satu atau dua nukleolus dan sedikit kromatin dengan selubung inti, sepasang sentriol dan kompleks golgi kecil berada dekat inti, mitokondria terutama ditemukan pada sitoplasma perinuklear, tetapi dapat sedikit memanjang ke arah *tapering cell process*. Pada fibrosit, retikulum endoplasma kasar terlihat lebih sedikit. Sedangkan bila retikulum endoplasma, mitokondria dan *secretory vesicles* tampak banyak, menunjukkan bahwa fibroblas sedang aktif berfungsi (Purnami, 2003) (Gambar 2.4).



Gambar 2.4 Struktur sel fibroblas (Sumber: www.dreamstime.com)

Menurut Fawcet (2002), sel fibroblas tersebar sepanjang berkas serat kolagen dan tampak pada sediaan sebagai sel fusiform dengan ujung-ujung meruncing. Dalam situasi lain, sel-sel mungkin terlihat sebagai sel-sel stelata gepeng dengan beberapa cabang langsing. Inti panjangnya selalu jelas, namun garis bentuk selnya sukar dilihat (Gambar 2.5).



Gambar 2.5 Sel fibroblas (ditunjukkan oleh anak panah) yang diamati dalam preparat jaringan pulpa gigi tikus dengan perbesaran 1000X dan pewarnaan HE (Sumber: Dewanti, 2016)

2.3.2 Fungsi Sel Fibroblas

Fibroblas adalah sel yang paling banyak terdapat dalam jaringan ikat, berfungsi menghasilkan serat dan substansi inter seluler aktif amorf. Fibroblas menghasilkan serat-serat kolagen, retikulum, elastin, glikosaminoglikan dan glikoprotein dari matriks seluler. Fibroblas juga terlibat dalam produksi faktor pertumbuhan yang mempengaruhi pertumbuhan dan diferensiasi sel. Pada orang dewasa, fibroblas dalam jaringan ikat jarang membelah, tetapi mitosis akan tampak jika diperlukan tambahan fibroblas, misalnya ketika jaringan ikat cedera (Junqueira dan Carneiro, 2007).

Pada pulpa, fibroblas berfungsi membuat substansi dasar dan serabut kolagen, yang merupakan matriks pulpa. Matriks protein yang dihasilkan terlibat dalam proses penyembuhan luka dan perbaikan jaringan epitel. Selain mensintesis, fibroblas juga mempertahankan matriks jaringan ikat yang secara konstan berubah. Fibroblas juga terlibat dalam degradasi kolagen dan deposisi jaringan yang mengalami kalsifikasi. Selain itu, fibroblas juga membuat dentikel dan dapat berkembang untuk menggantikan odontoblas yang lisis, dengan membentuk dentin reparatif (Teohardi, 2015).

2.3.3 Peran Fibroblas pada Proses Penyembuhan Luka

Pada saat jaringan mengalami jejas yang menimbulkan terbentuknya lesi, maka proses penyembuhan lesi tersebut merupakan fenomena kompleks dan melibatkan beberapa proses. Penyembuhan luka sebagai salah satu prototip dari proses perbaikan jaringan merupakan proses yang dinamis, secara singkat meliputi inflamasi, diikuti oleh proses fibrosis atau fibroplasia, lalu *remodeling* jaringan dan pembentukan jaringan parut (Yuwono dkk., 2001).

Menurut Purnami (2003), proses fibrosis dan pembentukan jaringan parut merupakan proses perbaikan yang melibatkan jaringan ikat yang memiliki empat komponen, yaitu: a. Pembentukan pembuluh darah baru (angiogenesis); b. Migrasi dan proliferasi fibroblas; c. Deposisi *extracellular matrix* (ECM); d. Maturasi dan

organisasi jaringan fibrous (*remodeling*). Pada keseluruhan proses tersebut, fibroblas memiliki peranan penting pada proses fibrosis yang melibatkan dua dari empat komponen di atas, yaitu migrasi dan proliferasi fibroblas serta deposisi ECM oleh fibroblas. Pada proses inflamasi terjadi perubahan vaskuler yang mempengaruhi besar, jumlah, dan permeabilitas pembuluh darah dan perubahan seluler yang menyebabkan kemotaksis ke daerah jejas. Setelah inflamasi berkurang, dilanjutkan proses fibrosis tahap awal, yaitu migrasi dan proliferasi fibroblas di daerah jejas yang dipacu oleh TGF- β (*transforming growth factor*), yaitu faktor pertumbuhan yang dihasilkan oleh jaringan granulasi selama proses inflamasi. Tahap selanjutnya adalah terjadi penurunan proliferasi sel fibroblas menjadi lebih progresif dalam mensintesis kolagen dan fibronektin sehingga meningkatkan jumlah matriks ekstraseluler yang berkurang selama inflamasi. Pembentukan serabut kolagen pada daerah jejas merupakan hal yang penting untuk meningkatkan kekuatan penyembuhan luka. Proses akhir dari penyembuhan luka adalah pembentukan jaringan parut. Jaringan parut adalah jaringan granulasi yang berbentuk spindel, kolagen, fragmen dari jaringan elastik dan berbagai komponen matriks ekstraseluler. Jadi pada saat jaringan mengalami luka atau lesi, fibroblas akan segera bermigrasi ke arah luka, berproliferasi, dan memproduksi matriks kolagen dalam jumlah besar yang akan membantu mengisolasi dan memperbaiki jaringan yang rusak (Purnami, 2003).

2.3.4 Peran Fibroblas pada Regenerasi Pulpa

Perbedaan proses penyembuhan antara kulit dan gigi, pada gigi tidak terjadi respon epitel, tetapi respon jaringan ikat, yang melibatkan PMN, makrofag, dan fibroblas. Pada gigi juga terjadi mineralisasi untuk membentuk dentin reparatif. Dentin reparatif adalah bentuk penyembuhan luka pada pulpa (Nanci, 2003). Istilah dentin reparatif berhubungan dengan pembentukan dentin baru setelah terjadi jejas yang menyebabkan odontoblas rusak dan mati. Terjadi kalsifikasi (dentin) yang dibentuk oleh sel baru yang berdiferensiasi membentuk *odontoblast like cell*. Sel baru

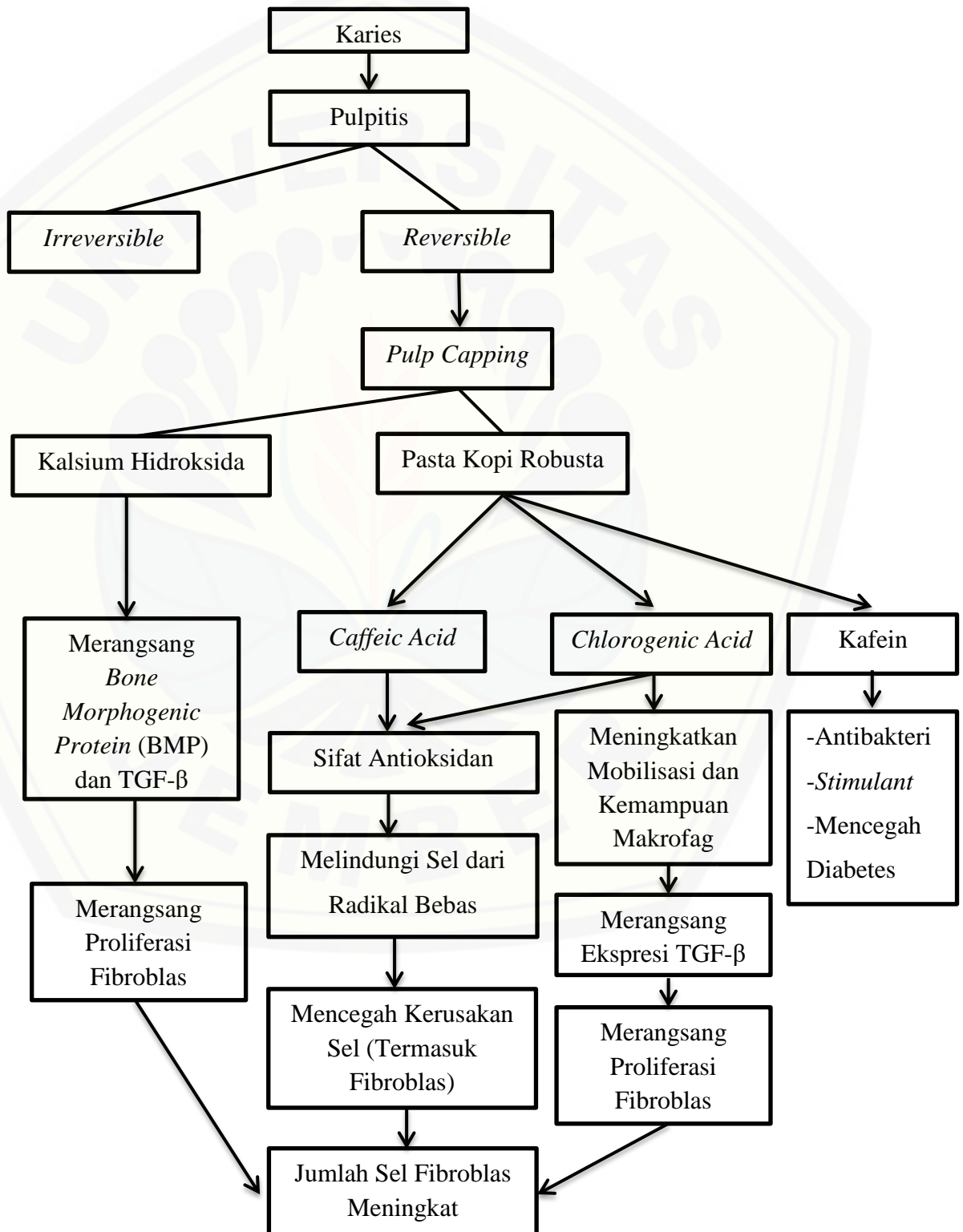
ini sangat mirip dengan odontoblas juga memproduksi kolagen tipe 1 dan dentin sialoprotein yang merupakan protein spesifik dentin (Tziafas dkk., 2000).

Proses regenerasi pulpa oleh fibroblas dimulai dari perubahan fibrosit menjadi fibroblas muda. Bersamaan dengan proliferasi fibroblas juga terjadi proliferasi pembuluh darah dan pembuluh limfe. Proliferasi kapiler dimulai dengan proliferasi sel endotel kapiler. Sel endotel juga bercabang-cabang, kemudian akan bersatu membentuk anyaman sel endotel. Kelompok endotel mula-mula padat tetapi lama kelamaan terbentuk suatu rongga sehingga menjadi kapiler baru. Demikian juga saluran limfe akan berproliferasi dengan cara yang sama seperti kapiler (Sudiono dalam Prijambodo, 2005).

Matriks dentin yang mengalami jejas melepaskan TGF- β 1 yang memicu aktivitas sel pulpa melalui proses transduksi sinyal. TGF- β 1 meningkatkan aktivitas sel pulpa yang berada di fase G0 memasuki fase G1 pada siklus sel dan mengalami transkripsi, translasi, selanjutnya mengalami fase mitosis, membelah dan berkembang biak dengan membentuk fibroblas muda atau *stellate fibroblast*. Sel pulpa yang terdiri dari sel progenitor dan fibroblas mengalami diferensiasi membentuk odontoblastoid mengganti odontoblas yang rusak. Aktivitas fosfatase alkali meningkat pada proses pelepasan mineral dari sel untuk memulai proses mineralisasi. Sintesis kolagen tipe I terus meningkat bersamaan dengan berkurangnya pembuluh darah kapiler. Jaringan yang termineralisasi akan berinteraksi dengan kolagen tipe I membentuk rangkaian sampai menutup perforasi. Rangkaian tersebut membentuk suatu jembatan dentin yang akan menutup seluruh daerah perforasi dan disebut dentin reparatif (Prijambodo, 2005).

2.4 Kerangka Konseptual

2.4.1 Kerangka Konsep



2.4.2 Penjelasan Kerangka Konsep

Karies merupakan penyakit infeksi dari proses demineralisasi progresif pada jaringan keras gigi. Proses demineralisasi dimulai dari permukaan terluar gigi karena pembentukan asam organik hasil fermentasi bakteri. Perkembangan karies tergantung pada hubungan permukaan gigi dengan diet karbohidrat serta bakteri tertentu yang berlangsung secara simultan. Salah satu perawatan karies adalah *pulp capping*. *Pulp capping* adalah suatu prosedur perawatan pulpa gigi menggunakan *dental material* yang diletakkan di atas pulpa yang mengalami cedera untuk merangsang terbentuknya dentin reparatif. Indikasi perawatan *pulp capping* dilakukan pada gigi dengan diagnosa *pulpitis reversible*.

Pulp capping selama ini biasanya menggunakan bahan kalsium hidroksida. Kalsium hidroksida dapat mempercepat regenerasi pulpa dengan merangsang *Bone Morphogenic Protein* (BMP) dan TGF- β . TGF- β akan merangsang sel-sel fibroblas untuk bermigrasi ke daerah luka, dan mempercepat terjadinya penyembuhan.

Pada penelitian ini, dilakukan perbandingan menggunakan bahan pasta kopi robusta. Pasta kopi robusta ini memiliki beberapa kandungan bermanfaat. Salah satu kandungan pada kopi yang bermanfaat adalah polifenol, seperti kafein, asam klorogenat (CGA) dan *caffeic acid*. Kafein memiliki sifat antibakteri, dapat berfungsi sebagai *stimulant*, mengurangi resiko diabetes, mencegah penyakit saraf, dan dapat menghambat penurunan fungsi kognitif otak. Asam klorogenat (CGA) dan *caffeic acid* memiliki sifat antioksidan. Pada proses penyembuhan luka, terdiri dari beberapa fase, seperti fase inflamasi, proliferasi, dan maturasi. Pada proses inflamasi, sasarannya adalah menghentikan pendarahan, dan membersihkan area luka dari benda asing, sel-sel mati dan bakteri. Sel-sel PMN bermigrasi pada area luka untuk melakukan fagositosis. Namun, proses ini juga memproduksi radikal bebas, yang dihasilkan oleh PMN itu sendiri dan infeksi mikroba. Jika jumlah radikal bebas terlalu tinggi, maka dapat merusak sel. Di sini CGA dan *caffeic acid* berperan sebagai

antioksidan untuk menetralkan radikal bebas tersebut menjadi stabil dan melindungi sel dari kerusakan.

Proses penyembuhan selanjutnya adalah fase proliferasi, termasuk di dalamnya proliferasi fibroblas, sintesis kolagen, angiogenesis, pembentukan jaringan granulasi, dan epitelisasi. Tahap awal yang penting dalam fase ini adalah peningkatan sirkulasi darah untuk menyediakan oksigen dan nutrisi yang dibutuhkan untuk penyembuhan. Proses regenerasi pembuluh darah (angiogenesis) dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya adalah TGF- β . Kandungan CGA dalam kopi diketahui juga dapat meningkatkan mobilisasi dan kemampuan fagositosis sel-sel makrofag. Sel-sel makrofag ini nantinya akan merangsang ekspresi TGF- β , yang akan merangsang sel-sel fibroblas untuk bermigrasi ke daerah luka, dan mempercepat terjadinya penyembuhan.

2.5 Hipotesis

Hipotesis penelitian ini adalah jumlah sel fibroblas pada pulpa gigi tikus Wistar yang diberi bahan *pulp capping* pasta biji kopi robusta lebih tinggi dibandingkan dengan yang diberi kalsium hidroksida.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris *in vivo*. Penelitian eksperimental laboratoris merupakan suatu penelitian yang ditujukan untuk mencari hubungan sebab akibat dengan memberikan intervensi atau memanipulasi variabel satu atau lebih kelompok dan mengendalikan faktor yang dapat mempengaruhi hubungan sebab akibat kemudian dilakukan perbandingan dengan kelompok kontrol yang tidak dimanipulasi atau diintervensi aktif (Notoatmodjo, 2005). Dilakukan secara langsung pada gigi molar rahang bawah kiri tikus wistar jantan.

3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan acak lengkap dengan *Post test-Only Control Design* (Sugiyono, 2010).

3.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di laboratorium Biomedik Bagian Biologi Kedokteran dan Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada bulan November 2016 sampai dengan Maret 2017.

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah pasta biji kopi robusta (*Coffea robusta*) dengan konsentrasi 75% serta waktu dekapitasi (hari ke-1,3,7,14).

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah jumlah sel fibroblas.

3.4.3 Variabel Terkendali

Variabel terkendali pada penelitian ini adalah:

- a. Lingkungan hidup tikus wistar.
- b. Jenis kelamin, usia dan berat badan tikus wistar.
- c. Pemeliharaan tikus wistar.
- d. Makanan dan minuman tikus wistar.
- e. Prosedur pembuatan pasta biji kopi robusta (*Coffea robusta*).
- f. Cara preparasi gigi molar tikus wistar.
- g. Cara pengaplikasian kaping pulpa.
- h. Cara pengambilan preparat jaringan.
- i. Cara penghitungan sel fibroblas.

3.5 Definisi Operasional

3.5.1 Pasta Biji Kopi Robusta (*Coffea robusta*)

Pasta biji kopi robusta merupakan sediaan semi padat dari ekstrak biji kopi robusta (*Coffea robusta*) yang dicampur dengan bahan pasta (plasebo). Biji kopi yang akan digunakan adalah biji kopi Rolas produksi PTP XII daerah Jember, Jawa Timur, kemudian diekstrak dan akan dibuat menjadi pasta di Fakultas Farmasi Universitas Jember dengan konsentrasi 75%.

3.5.2 Sel Fibroblas

Sel fibroblas adalah sel yang berbentuk bulat lonjong dengan sitoplasma berwarna kemerahan dan intinya berbentuk lonjong berwarna ungu tua, terletak di preparat jaringan pulpa gigi tikus Wistar yang diberi pewarnaan HE dengan perbesaran 400X. Sel fibroblas diamati pada 3 lapang pandang berbeda, dengan pola huruf V, yaitu pada bagian kiri, tengah, dan kanan ruang pulpa.

3.5.3 Tikus Wistar

Tikus wistar (*Rattus norvegicus*) merupakan mamalia yang biasa digunakan untuk keperluan penelitian eksperimental dan dapat mewakili mamalia (Susilawati, 2000). Dalam penelitian ini, tikus wistar (*Rattus norvegicus*) jantan akan digunakan sebagai obyek penelitian. Tikus akan diambil jaringan regio gigi molarnya setelah diberikan perlakuan, untuk melihat jumlah sel fibroblas.

3.6 Sampel Penelitian

Sampel pada penelitian ini adalah tikus wistar (*Rattus norvegicus*) jantan.

3.6.1 Kriteria Sampel

- a. Jenis kelamin jantan dengan starin atau galur wistar.
- b. Berat badan 150-200 gram.
- c. Usia 2-3 bulan.
- d. Keadaan umum tikus baik setelah diadaptasikan selama 7 hari.

3.6.2 Jumlah Sampel

Jumlah sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah 48 ekor tikus wistar jantan, yang dibagi menjadi 3 kelompok secara acak dengan jumlah tiap kelompok adalah 16 ekor tikus dan tiap kelompok dibagi lagi menjadi 4 sub-kelompok dengan jumlah 4 ekor tikus tiap sub-kelompok.

3.6.3 Kelompok Sampel

Sampel penelitian dibagi menjadi 3 kelompok yang mendapat perlakuan berbeda, sebagai berikut:

1. Kelompok K0
Kelompok yang dibuat lubang pada giginya, tidak diberi obat, langsung ditumpat menggunakan tumpatan sementara.
2. Kelompok K1
Kelompok yang dibuat lubang pada giginya, diberi bahan kaping pulpa $Ca(OH)_2$ dan ditumpat dengan tumpatan sementara.

3. Kelompok K2

Kelompok yang dibuat lubang pada giginya, diberi bahan kaping pulpa pasta biji kopi robusta 75% dan ditumpat dengan tumpatan sementara.

3.6.4 Besar Sampel

Daniel (2005) menyatakan cara penghitungan besar sampel yang digunakan dalam penelitian eksperimental laboratoris adalah berdasarkan rumus sebagai berikut:

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

Keterangan:

n = besar sampel minimum

σ = standar deviasi (SD) sampel

D = kesalahan yang masih ditoleransi, diasumsikan $d = \sigma$

Z = konstanta pada tingkat kesalahan tertentu, jika $\alpha = 0.05$, maka nilai Z adalah 1.96

P = keterpercayaan penelitian (95%)

Oleh karena itu, perhitungannya menjadi:

$$n = (1.96)^2$$

$$n = 3.84 \approx 4$$

Jadi, jumlah sampel minimum yang harus digunakan adalah 4 sampel untuk masing-masing kelompok. Jumlah sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah 48 ekor tikus wistar jantan, yang dibagi menjadi 3 kelompok secara acak dengan jumlah tiap kelompok terdiri dari 16 ekor tikus dan tiap kelompok dibagi lagi menjadi 4 sub-kelompok dengan jumlah 4 ekor tikus tiap sub-kelompok.

3.7 Alat dan Bahan Penelitian

3.7.1 Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain: Kandang tikus; timbangan hewan coba; tempat makan dan minum tikus; *dental chair* khusus tikus;

cotton pellet; sonde; *glass plate*; spatula semen; ekskavator; *plastis filling instrument*; gunting; pinset; gelas ukur; scalpel dan blade; mikroskop binokuler (Olympus, USA); sarung tangan; masker; *cement stopper*; bur bulat nomor 010; *autoclave*; mikrotom; *object glass*; *deck glass*; wadah cetak blok paraffin; *waterbath*; dan kompor listrik.

3.7.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain: pasta biji kopi robusta dengan konsentrasi 75%; kalsium hidroksida; bahan tumpatan sementara merk dagang Orafil; tikus wistar jantan; makanan untuk tikus wistar jenis konsentrat (Feedmill Malindo, Gresik); *eter chloride*; alkohol 70%, 80%, 95%, 100%; aquades steril; air; formalin 10%; *paraffin*; *xylol*; *ethanol*; *meyer egg albumin*; bahan plasebo; *haematoxylin*; *eosin*; dan gliserin.

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1 Ethical Clearance

Prosedur penelitian yang berkaitan dengan perlakuan terhadap hewan coba telah disetujui oleh Unit Etika dan Advokasi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada melalui keterangan *ethical clearance* nomor 00715/KKEP/FGK-UGM/EC/2016.

3.8.2 Pembuatan Ekstrak Biji Kopi Robusta

Ekstrak biji kopi robusta dibuat di Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember, dengan cara memblender biji kopi robusta kering hingga menjadi serpihan kecil, selanjutnya ditumbuk sampai halus dan ditimbang sebanyak 300 gram menggunakan neraca timbang kemudian dimaserasi dalam larutan etanol 97% sebanyak 1200 ml selama 24 jam dengan menggunakan *shaker bath*. Setelah itu disaring menggunakan pompa vakum. Bahan selanjutnya dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* sehingga didapatkan ekstrak pekat dengan konsentrasi 100% (Darmayasa dalam Yaqin, 2015).

3.8.3 Pembuatan Pasta Biji Kopi Robusta

Pasta biji kopi robusta dibuat di Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember. Bahan yang digunakan untuk membuat pasta biji kopi robusta adalah ekstrak biji kopi robusta dengan konsentrasi 100% yang sebelumnya telah dibuat dan plasebo (bahan pasta). Plasebo terdiri dari:

- a. *Magnesium carbonat*
- b. *Calcium carbonat*
- c. Gliserin
- d. TEA (*Triethanolamine*)
- e. Propilen glikol
- f. *Aquadest ad*

Cara pembuatan pasta biji kopi robusta adalah sebagai berikut:

- a. Ekstrak biji kopi robusta ditimbang untuk mendapatkan berat 75 gram.
- b. Mencampurkan semua bahan hingga didapatkan berat 100 gram. Untuk mendapatkan pasta biji kopi robusta konsentrasi 75% adalah dengan mencampur 75 gram ekstrak biji kopi robusta dengan 25 gram plasebo.

3.8.4 Sterilisasi Alat

Semua alat penelitian yang terbuat dari logam dicuci bersih kemudian disterilkan dalam *autoclave* selama 15 menit pada suhu 120° C. Sedangkan alat yang terbuat dari plastik disterilkan menggunakan alkohol.

3.8.5 Persiapan Hewan Coba

1. Sampel tikus wistar diadaptasikan sebelumnya terhadap lingkungan kandang selama 1 minggu dan diberi makan standart konsentrat (Feedmill, Malindo, Gresik-Indonesia) dan air minum setiap hari secara *ad libitum*.
2. Berat badan tiap sampel tikus ditimbang.

3.8.6 Pengelompokan dan Perlakuan Hewan Coba

Sebanyak 48 ekor tikus wistar jantan secara acak dibagi menjadi 3 kelompok dan diberi perlakuan sebagai berikut:

- a. Kelompok pertama (K0) merupakan kelompok yang tidak diberi bahan kaping pulpa. Terdiri dari 16 ekor tikus wistar jantan yang dilubangi pada gigi molar 1 rahang bawah kirinya sampai atap pulpanya terbuka. Dimulai pada oklusal gigi menggunakan bur bulat dengan arah tegak lurus sumbu gigi sedalam 0.5-1 mm atau sampai terbukanya atap pulpa yang ditandai dengan adanya warna kemerahan. Kavitas dibersihkan dari sisa serbuk dentin dengan ekskavator dan diirigasi dengan akuades steril, selanjutnya dikeringkan dengan kapas kering. Kavitas yang telah kering langsung ditutup menggunakan tumpatan sementara (Orafil).
- b. Kelompok kedua (K1) merupakan kelompok yang diberi bahan kaping pulpa kalsium hidroksida. Terdiri dari 16 ekor tikus wistar jantan yang dilubangi pada gigi molar 1 rahang bawah kirinya sampai atap pulpanya terbuka. Dimulai pada oklusal gigi menggunakan bur bulat dengan arah tegak lurus sumbu gigi sedalam 0.5-1 mm atau sampai terbukanya atap pulpa yang ditandai dengan adanya warna kemerahan. Kavitas dibersihkan dari sisa serbuk dentin dengan ekskavator dan diirigasi dengan akuades steril, selanjutnya dikeringkan dengan kapas kering. Kavitas yang telah kering diberi bahan kalsium hidroksida, kemudian ditutup menggunakan tumpatan sementara (Orafil).
- c. Kelompok ketiga (K2) merupakan kelompok yang diberi bahan kaping pulpa pasta biji kopi robusta 75%. Terdiri dari 16 ekor tikus wistar jantan yang dilubangi pada gigi molar 1 rahang bawah kirinya sampai atap pulpanya terbuka. Dimulai pada oklusal gigi menggunakan bur bulat dengan arah tegak lurus sumbu gigi sedalam 0.5-1 mm atau sampai terbukanya atap pulpa yang ditandai dengan adanya warna kemerahan.

Kavitas dibersihkan dari sisa serbuk dentin dengan ekskavator dan diirigasi dengan akuades steril, selanjutnya dikeringkan dengan kapas kering. Kavitas yang telah kering diberi bahan kaping pulpa pasta biji kopi robusta dengan konsentrasi 75%, kemudian ditutup menggunakan tumpatan sementara (Orafil).

3.8.7 Pengambilan Sampel

Selanjutnya semua kelompok dibagi dibagi lagi masing-masing menjadi 4 sub-kelompok dengan tiap sub-kelompok terdiri dari 4 ekor tikus dan diberi perlakuan sebagai berikut:

1. Sub-kelompok pertama

Pada hari ke-1, sebanyak 4 ekor tikus dikorbankan dengan cara inhalasi menggunakan *overdosis eter*, kemudian dilakukan pengambilan sampel dengan cara mengambil gigi dan jaringan regio molar rahang bawah kiri tikus.

2. Sub-kelompok kedua

Pada hari ke-3, sebanyak 4 ekor tikus dikorbankan dengan cara inhalasi menggunakan *overdosis eter*, kemudian dilakukan pengambilan sampel dengan cara mengambil gigi dan jaringan regio molar rahang bawah kiri tikus.

3. Sub-kelompok ketiga

Pada hari ke-7, sebanyak 4 ekor tikus dikorbankan dengan cara inhalasi menggunakan *overdosis eter*, kemudian dilakukan pengambilan sampel dengan cara mengambil gigi dan jaringan regio molar rahang bawah kiri tikus.

4. Sub-kelompok keempat

Pada hari ke-14, sebanyak 4 ekor tikus dikorbankan dengan cara inhalasi menggunakan *overdosis eter*, kemudian dilakukan

pengambilan sampel dengan cara mengambil gigi dan jaringan regio molar rahang bawah kiri tikus.

Tikus dikorbankan pada hari ke-1 karena reaksi radang dimulai pada hari ke-1. Pada hari ke-1 terjadi peningkatan sel jaringan ikat. Kemudian tikus dikorbankan pada hari ke-3, karena pada hari ke-3 merupakan tahap proliferasi berbagai proses penyembuhan kulit yang saling menumpuk, seperti angiogenesis, epitelisasi dan pembentukan jaringan granulasi serta kontraksi dan fibroplasia. Selain itu pada hari ke-3 juga merupakan awal terjadinya pembentukan granulasi di mana sel yang aktif adalah makrofag, fibroblas, dan sel endotel. Sejumlah fibroblas muda terlokalisasi pada daerah jejas. Sintesis kolagen oleh fibroblas juga dimulai. Sintesis kolagen oleh fibroblas akan mencapai puncaknya pada hari ke-7. Sedangkan pada hari ke-14 dimulai proses *remodeling* penyembuhan luka (Guyton dalam Kusumastuti, 2014).

Semua sampel jaringan yang telah diambil selanjutnya difiksasi menggunakan formalin 10% selama minimal 24 jam untuk mencegah terjadinya autolisis, mempertahankan morfologi, dan mencegah pertumbuhan jamur dan bakteri. Setelah difiksasi jaringan dicuci dengan air mengalir (Syafriadi dkk., 2007).

3.8.8 Tahap Dekalsifikasi Jaringan

Dekalsifikasi bertujuan untuk melepaskan bahan anorganik dalam tulang tanpa merusak protein yang ada. Dekalsifikasi dilakukan dengan memakai larutan *formic acid* 10% selama 7 hari (Syafriadi dkk., 2007).

3.8.9 Pembuatan Sediaan Histologi

Setelah melalui tahap dekalsifikasi, selanjutnya merupakan tahap pembuatan sediaan histologi. Tahapan ini terdiri dari proses dehidrasi, *clearing*, impregnasi, *embedding*, penyayatan, dan pengecatan preparat jaringan.

1) Dehidrasi

Dehidrasi merupakan penarikan air dari dalam jaringan menggunakan alkohol konsentrasi rendah ke tinggi (bertingkat). Tahapan dehidrasi antara lain:

- a) Alkohol 70% : 15 menit
- b) Alkohol 80% : 1 jam
- c) Alkohol 95% I : 2 jam
- d) Alkohol 95% II : 1 jam
- e) Alkohol 100% I : 1 jam
- f) Alkohol 100% II : 1 jam
- g) Alkohol 100% III : 1 jam

(Syafriadi dkk., 2007).

2) *Clearing*

Clearing merupakan proses penjernihan jaringan menggunakan bahan-bahan *clearing*, antara lain: *xylol*, *toluen*, atau *benzen*. Tahapan *clearing* antara lain:

- a) *Xylol* I : 1 jam
- b) *Xylol* II : 2 jam
- c) *Xylol* III : 2 jam

(Syafriadi dkk., 2007).

3) Impregnasi

Impregnasi merupakan proses infiltrasi bahan *embedding* ke dalam jaringan pada suhu 56-60°C. Jaringan dibungkus dengan kertas saring, kemudian dimasukkan ke dalam bahan *embedding*, yaitu *parrafin* dengan suhu 56-60°C. Tahapan impregnasi adalah sebagai berikut:

- a) *Parrafin* 56-60°C I : 2 jam
- b) *Parrafin* 56-60° C II : 2 jam
- c) *Parrafin* 56-60° C III : 2 jam

(Syafriadi dkk., 2007).

4) *Embedding*

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

- a) Mempersiapkan alat cetak blok *paraffin (base mould)*. Alat diletakkan di atas permukaan yang rata. Alat dan alas diolesi gliserin untuk mempermudah pemisahan alat cetak dan kaca dengan blok *paraffin* yang sudah beku.
- b) Menuangkan *paraffin* cair ke dalam alat cetak blok, kemudian masukkan jaringan yang telah diimpregnasi lalu tunggu sampai beberapa menit hingga *paraffin* beku.
- c) Blok *paraffin* siap dipotong setelah dilepas dari alat cetakan.

(Syafriadi dkk., 2007).

5) *Penyayatan*

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

- a) Pisau mikrotom dibersihkan dengan kasa atau kertas saring yang dibasahi dengan *xylol*.
- b) Mengatur ketebalan sayatan mikrotom antara 4-5 μm .
- c) Mengambil sayatan yang telah diperoleh dengan kuas lalu letakkan di atas permukaan air *waterbath* dengan temperatur tetap 40° C hingga sayatan mekar.
- d) Mengambil sayatan yang sudah mekar dengan *object glass* yang diolesi *meyer egg albumin*, lalu dikeringkan dengan suhu 30-35° C minimal 12 jam.

(Syafriadi dkk., 2007).

6) Pengecatan preparat jaringan

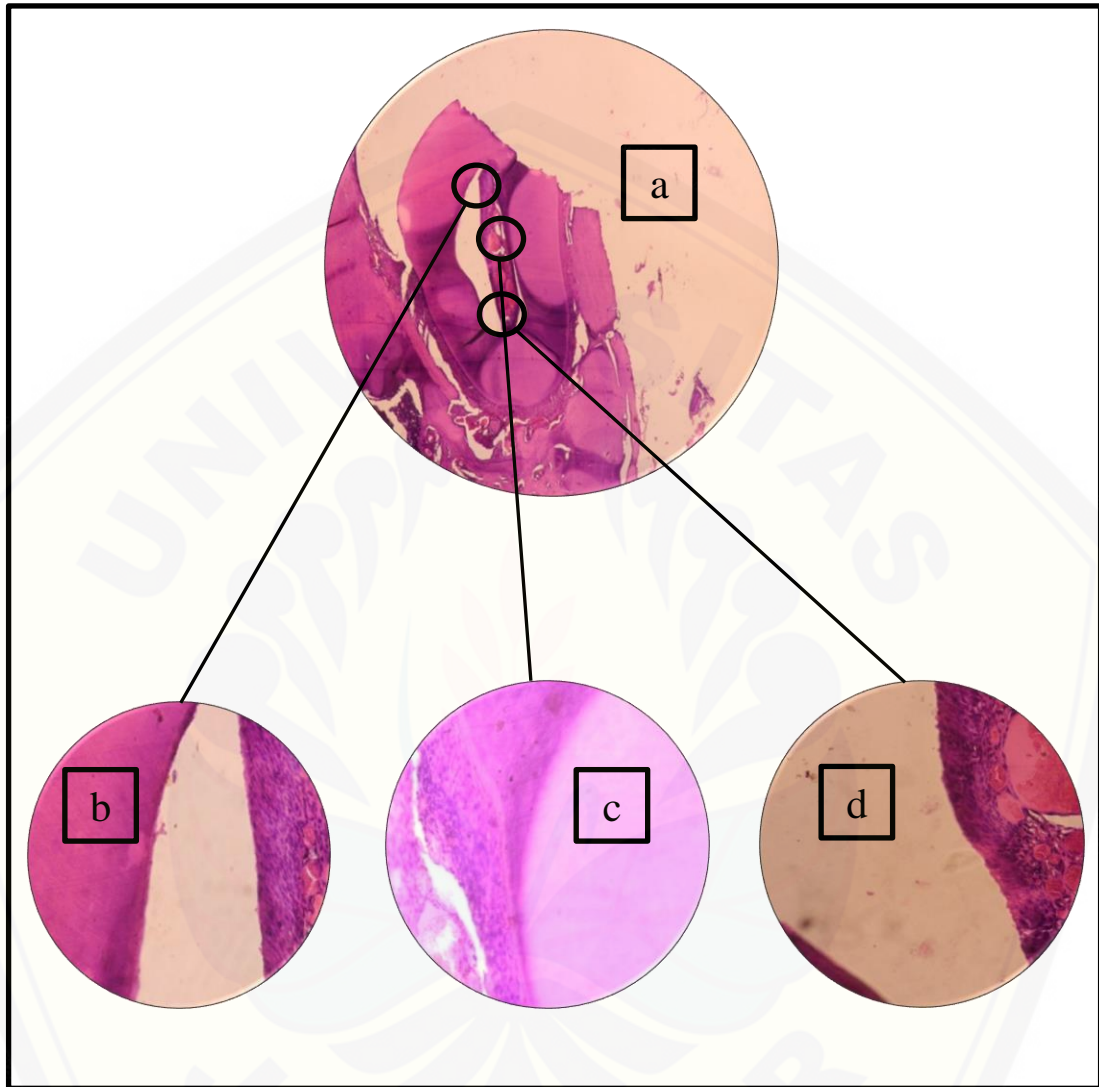
Untuk melihat jumlah sel fibroblas digunakan pengecatan HE. Metode pengecatan HE antara lain:

- a) Preparat dimasukkan ke dalam *xylol* selama 3 menit lalu diulangi dengan memasukkan kembali ke dalam *xylol* pada wadah berbeda selama 3 menit.
- b) Hidrasi dengan larutan alkohol absolut dua kali dan alkohol 95% dua kali masing-masing selama 3 menit pada wadah yang berbeda.
- c) Preparat dibilas dengan air mengalir selama 10 menit, mula-mula dengan aliran lambat kemudian lebih kuat dengan tujuan untuk menghilangkan semua kelebihan alkohol.
- d) Preparat diwarnai dengan cat *mayer's haematoksin* selama 45 detik.
- e) Bilas dengan air mengalir selama 20 menit.
- f) Preparat direndam eosin selama 5 menit.
- g) Dehidrasi kembali dengan konsentrasi meningkat 95% dan 100% absolut masing-masing dua kali selama 2 menit pada wadah yang berbeda.
- h) Setelah itu preparat dimasukkan ke dalam *xylol* tiga kali masing-masing 3 menit pada wadah yang berbeda.
- i) *Mounting* menggunakan cairan *entellan* lalu ditutup dengan *deck glass*.

(Syafriadi dkk., 2007).

3.8.10 Penghitungan Jumlah Sel Fibroblas

Sel fibroblas diamati menggunakan mikroskop binokuler dengan perbesaran 400X. Penghitungan sel fibroblas dilakukan pada 3 lapang pandang yang berbeda, dengan pola huruf V, yaitu pada bagian kiri atas, tengah bawah, dan kanan atas pada daerah pulpa seperti dapat dilihat pada gambar 3.1. Jumlah sel fibroblas tiap sampel ditentukan dari rata-rata ketiga lapang pandang yang berbeda. Penghitungan dilakukan oleh tiga orang pengamat yang berbeda.



Gambar 3.1 Gambaran letak pengamatan sel fibroblas pada jaringan pulpa gigi tikus Wistar dengan pewarnaan HE pada tiga lapang pandang. a) Preparat dengan perbesaran 40X, b) Lapang pandang pertama dengan perbesaran 400X, c) Lapang pandang kedua dengan perbesaran 400X, d) Lapang pandang ketiga dengan perbesaran 400X

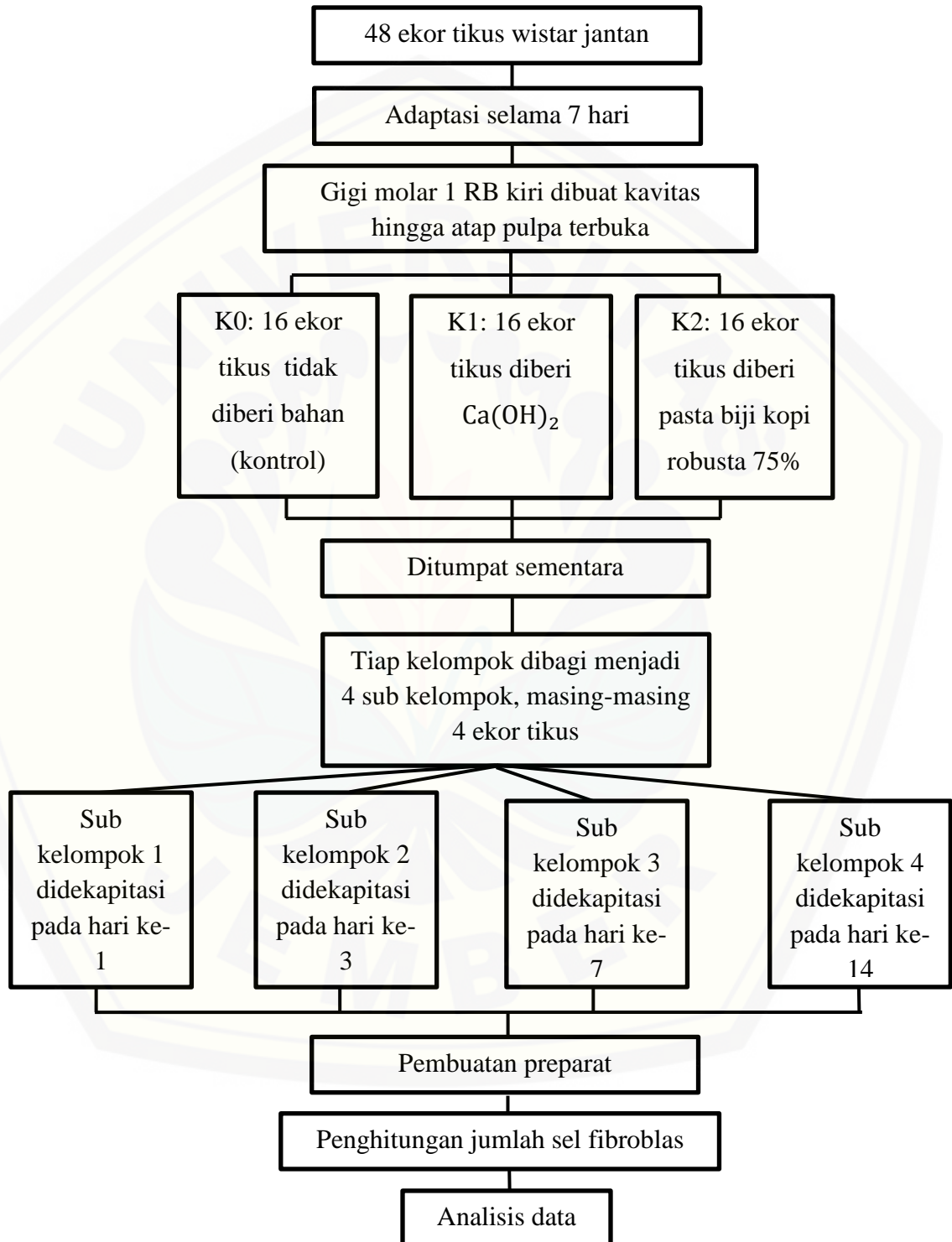
3.9 Analisis Statistik

Pada penelitian ini menggunakan analisis uji *Kolmogorov-Smirnov* untuk mengetahui normalitas distribusi kelompok sampel, kemudian dilanjutkan dengan

Levene's Test untuk menguji homogenitas variasi populasi. Data yang diperoleh terdistribusi normal dan homogen, analisis dilanjutkan dengan uji parametrik *Two Way Anova* dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$). Setelah itu dilanjutkan uji *LSD (Least Significant Difference)* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok (Hanafiah, 2008).



3.10 Alur Penelitian



BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan jumlah fibroblas pada pulpa gigi tikus Wistar yang diberi bahan *pulp capping* pasta biji kopi robusta dengan kalsium hidroksida. Kelompok yang diberi pasta biji kopi robusta jumlah fibroblasnya lebih banyak daripada kelompok tanpa perlakuan dan kelompok yang diberi kalsium hidroksida. Oleh karena itu, pasta biji kopi robusta dapat digunakan sebagai alternatif bahan *pulp capping*.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, peneliti dapat memberikan saran sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang efek pasta kopi robusta terhadap parameter untuk proses penyembuhan, misalnya sel radang (limfosit, makrofag, PMN) dan sitokin (proinflamatori maupun antiinflamatori).
2. Perlu dilakukan penelitian tentang efek lain yang dimiliki pasta kopi robusta, seperti efek antibakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Artho Lilian N. 2015. Efek Serbuk Kopi Robusta terhadap Penyembuhan Luka Insisi pada Kelinci. *Jurnal e-Biomedik*.
- Bhara LAM, 2009. *Pengaruh Pemberian Kopi Dosis Bertingkat Per Oral 30 Hari terhadap Gambaran Histologi Hepar Tikus Wistar*. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Daniel W. 2005. *Biostatic a Foundation for Analysis in the Health Sciences Eighth Edition*. Georgia: Willey.
- Dewanti R. 2016. Robusta Coffe Beans Decrease of Inflammation in Dental Caries. *1st International Conference on Medicine and Health Sciences*.
- Di Fiore MSH. 1992. *Atlas Histologi Manusia Edisi 6*. Alih bahasa oleh H. Moh. Martoprawiro, dkk. Jakarta: EGC.
- Fawcett DW. 2002. *Buku Ajar Histologi*. Alih bahasa oleh Jan Tambayong. Jakarta: EGC.
- Graham Sarah JL, dkk. 2014. *BMP Signalling Regulates the Pre-implantation Development of Extra Embryonic Cell Lineages in the Mouse Embryo*.
- Guyton AC, Hall JE. 2006. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Edisi 11*. Jakarta: EGC.
- Hanafiah KA. 2008. *Rancangan Percobaan Aplikatif Edisi 1*. Jakarta: PT. Raja Grafindo Persada.
- Harmandini F. 2009. *Manfaat Kopi untuk Mencegah Berbagai Macam Penyakit*. Diakses dari Female Kompas (Serial Online). <http://female.kompas.com/read/2009/07/27/11533750/Manfaat.Kopi.untuk.Mencegah.Berbagai.Penyakit> pada tanggal 25 Mei 2016.
- Harty FJ, R Ongston. 1993. *Kamus Kedokteran Gigi*. Alih bahasa oleh Sumawinata D. Jakarta: EGC.
- Hazrina M. 2007. *Perawatan Fraktur Kelas III Ellys dan Davey pada Anak dengan Pulp Capping Direct*. Sumatera Utara: Universitas Sumatera Utara.
- Junqueira CL, Carneiro J. 2007. *Histologi Dasar Teks dan Atlas Ed. 10*. Alih bahasa oleh Jan Tambayong. Jakarta: EGC.

- Kenisa Putri Yorinta, dkk. 2012. Effect of Robusta Coffe Beans Ointment on Full Thicknes Wound Healing. *Dental Journal*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Kusumastuti Endah, dkk. 2014. Ekspresi COX-2 dan Jumlah Neutrofil Fase Inflamasi pada Proses Penyembuhan Luka Setelah Pemberian Sistemik Ekstrak Etanolik Rosela (*Hibiscus Sabdariffa*) Studi in vivo pada Tikus Wistar. *Maj Ked Gi* 21(1): 13-19.
- Leeson CR, dkk. 1996. *Buku Ajar Histologi Edisi 5*. Alih bahasa oleh Jan Tambayong, dkk. Jakarta: EGC.
- Murtafiah A. 2012. *Daya Hambat Ekstrak Biji Kopi Robusta terhadap Streptococcus mutans*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Nanci A. 2003. *Repair and Regeneration of Oral Tissue. In Ten's Cates Oral Histology: Development, Structure and Function. 6th Edition*. St. Louis: Mosby.
- Nariwati U. 2008. *Teknik-teknik Analisis Multivariate untuk Riset Ekonomi*. Yogyakarta: Penerbit Graha Ilmu.
- Nurhayati. 2014. Bakteri Dominan di Dalam Saluran Akar Gigi Nekrosis. *Jurnal Kedokteran Gigi Dentofasial*, 13.
- Notoadmojo S. 2005. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: PT Rineka Cipta.
- Ojeh Nkemcho. 2014. The Effects of Caffeine on Wound Healing. *International Wound Journal*.
- Prijambodo, Sri Kunarti. 2005. *Stimulasi Aktivitas Fibroblas Pulpa dengan Pemberian TGF- β 1 sebagai Bahan Perawatan Direct Pulp Capping*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Purnami TDR. 2003. Pengaruh Klorheksidin terhadap Fibroblas pada Proses Penyembuhan Luka Mukosa Rongga Mulut. *Dent. J of Mahasaraswati*, 1(3): 73-77.
- Ridwansyah. 2003. *Pengolahan Kopi*. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Silalahi PFS. 2014. *Efek Penambahan Kitosan Molekul Tinggi Nanopartikel pada Abu Sekam Padi Nanopartikel terhadap Viabilitas Sel Pulpa (In Vitro)*. Medan: Universitas Sumatera Utara.

- Simanihuruk K, Sirait J. 2010. *Silase Kulit Buah Kopi Sebagai Pakan Dasar pada Kambing Boerka sedang Tumbuh*. Sumatera Utara.
- Sugiyono. 2010. *Metode Penelitian Kuantitatif Kualitatif & RND*. Bandung: Alfabeta.
- Susilawati, Purwanto. 2000. *Hubungan Struktur Aktivitas Obat Analgetika*.
- Suwarto, Octavianty Y. 2010. *Budi Daya 12 Tanaman Perkebunan Unggulan*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Syafriadi Mei, dkk. 2007. *Petunjuk Praktikum Patologi Anatomi: Degenerasi dan Radang*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Tanaman Obat. 2008. *Kopi (Coffea robusta L)*. Diakses dari <http://tanamanobat.org/496/kopi-coffea-robusta-1/> pada tanggal 17 Mei 2016.
- Torabinejad M, Richard EW. 2015. *Endodontics principle and practice 5 th ed*. India : Elviesier Inc.
- Teohardi Eldora. 2015. *Efek Antiinflamasi Ekstrak Jahe Merah (Zingiber officinale roscoe) pada Gigi Kelinci (Oryctolagus cuniculus) dengan Pulpitis Reversibel (Penelitian In Vivo)*. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Tziafas D, Smith AJ, Lesot H. 2000. Designing New Treatment Strategies in Vital Pulp Therapy. *J Dent* 28.
- Walton RE, Torabinejad M. 2008. *Prinsip dan Praktek Ilmu Endodonsi*. Alih bahasa oleh Narlan, Winiati, Bambang N. Jakarta: EGC.
- Widyotomo S, Sri M. 2007. Kafein: Senyawa Penting pada Biji Kopi. *Warta Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia* Vol. 23 No. 1 Hal. 44-50.
- Winata Yudha Ari. 2012. *Daya Hambat 3 MIX MP dan Kalsium Hidroksida terhadap Bakteri Streptococcus Species (Penelitian Laboratoris)*. Jember: Universitas Jember.
- Yaqin Nurmilawaty. 2015. *Pengaruh Ekstrak Kopi Robusta (Coffea robusta) sebagai Penghambat Pertumbuhan Staphylococcus aureus*. Kediri: Universitas Nusantara PGRI.

Yuwono B, Syafriadi M, Purwanto. 2001. *Buku Ajar Bedah Mulut II*. Jember: Universitas Jember.



Lampiran A. *Ethical Clearance*



KETERANGAN KELAIKAN ETIK PENELITIAN
("ETHICAL CLEARANCE")

No.00715/KKEP/FGK-UGM/EC/2016

Setelah Tim Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada mempelajari dengan seksama rancangan penelitian yang diusulkan:

Judul : **EFEK BIJI KOPI ROBUSTA SEBAGAI BAHAN PULP CAPPING TERHADAP JUMLAH SEL FIBROBLAS**

Peneliti Utama : Benny Santoso

Penanggung Jawab Medis : Prof. Dr. drg. I Dewa Ayu Ratna Dewanti, M.Si

Unit/Lembaga : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Lokasi Penelitian : 1. Laboratorium Histologi FKG Universitas Jember
2. Laboratorium Farmakologi FKG Universitas Jember


Waktu Penelitian : Agustus 2016 – Selesai

Maka dengan ini menyatakan bahwa penelitian tersebut telah memenuhi syarat atau laik etik.

Yogyakarta, 19 Juli 2016

Wakil Dekan Bidang Akademik dan Kemahasiswaan

drg. Diani Nari Ratih, M.Kes., Sp. KG, Ph.D.

Ketua Komisi Etik Penelitian FKG UGM

drg. Suryono, S.H, Ph.D

Lampiran B. Surat Ijin Penelitian



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

Jl. Kalimantan No. 37 Jember ☎(0331) 333536, Fak. 331991

Nomor : ~~6871~~ /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 : Benny Santoso
2. NIM : 111610101076
3. Tahun Akademik : 2015/2016
4. Fakultas : Kedokteran Gigi Universitas Jember
5. Alamat : Jl. Urip Sumoharjo 130 Tanggul Jember
6. Judul Penelitian : Efek Biji Kopi Robusta Sebagai Bahan Pulp Capping Terhadap Jumlah Sel Fibroblas
7. Lokasi Penelitian : Lab. Farmakologi FKG Universitas Jember
8. Data/alat yang dipinjam : Rat dental chair
9. Waktu : Agustus 2016 s/d Selesai
9. Tujuan Penelitian : Untuk Mengetahui Efek Biji Kopi Robusta Sebagai Bahan Pulp Capping Terhadap Jumlah Sel Fibroblas
10. Dosen Pembimbing : 1. Prof. Dr. drg. IDA Ratna Dewanti, MSi
2. drg. Zahara Meilawaty, M.Kes

Demikian atas perkenan dan kerjasama yang baik disampaikan terima kasih.

Jember, 14 JUN 2016
an Dekan
Dekan I



IDA Susilawati, M.Kes

NH. 1961090319860220014



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

Nomor : 0871 /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 : Benny Santoso
2. NIM : 111610101076
3. Tahun Akademik : 2015/2016
4. Fakultas : Kedokteran Gigi Universitas Jember
5. Alamat : Jl. Urip Sumoharjo 130 Tanggul Jember
6. Judul Penelitian : Efek Biji Kopi Robusta Sebagai Bahan Pulp Capping Terhadap Jumlah Sel Fibroblas
7. Lokasi Penelitian : Lab. Histologi FKG Universitas Jember
8. Data/alat yang dipinjam : Mikroskop
9. Waktu : Agustus 2016 s/d Selesai
9. Tujuan Penelitian : Untuk Mengetahui Efek Biji Kopi Robusta Sebagai Bahan Pulp Capping Terhadap Jumlah Sel Fibroblas
10. Dosen Pembimbing : 1. Prof. Dr. drg. IDA Ratna Dewanti, MSi
2. drg. Zahara Meilawaty, M.Kes

Demikian atas perkenan dan kerjasama yang baik disampaikan terima kasih.

Jember, 14 JUN 2016

Prof. Dekan
Dekan I



IDA Susilawati, M.Kes

NIP. 196109031986022001

Lampiran D. Hasil Analisis Data

D.1 Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Rerata
N		48
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	35,6505
	Std. Deviation	4,33015
Most Extreme Differences	Absolute	,205
	Positive	,205
	Negative	-,100
Kolmogorov-Smirnov Z		1,319
Asymp. Sig. (2-tailed)		,062

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

D.2 Uji Homogenitas

Levene's Test of Equality of Error Variances[§]

Dependent Variable: Rerata

F	df1	df2	Sig.
1,726	11	36	,107

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept+Bahan+Hari+Bahan * Hari

D.3 Uji *Two Way Anova*

Anova Univariat

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
Bahan	0	K0	16
	1	K1	16
	2	K2	16
Hari	1	H1	12
	3	H3	12
	7	H7	12
	14	H14	12

Descriptive Statistics

Dependent Variable: Rerata

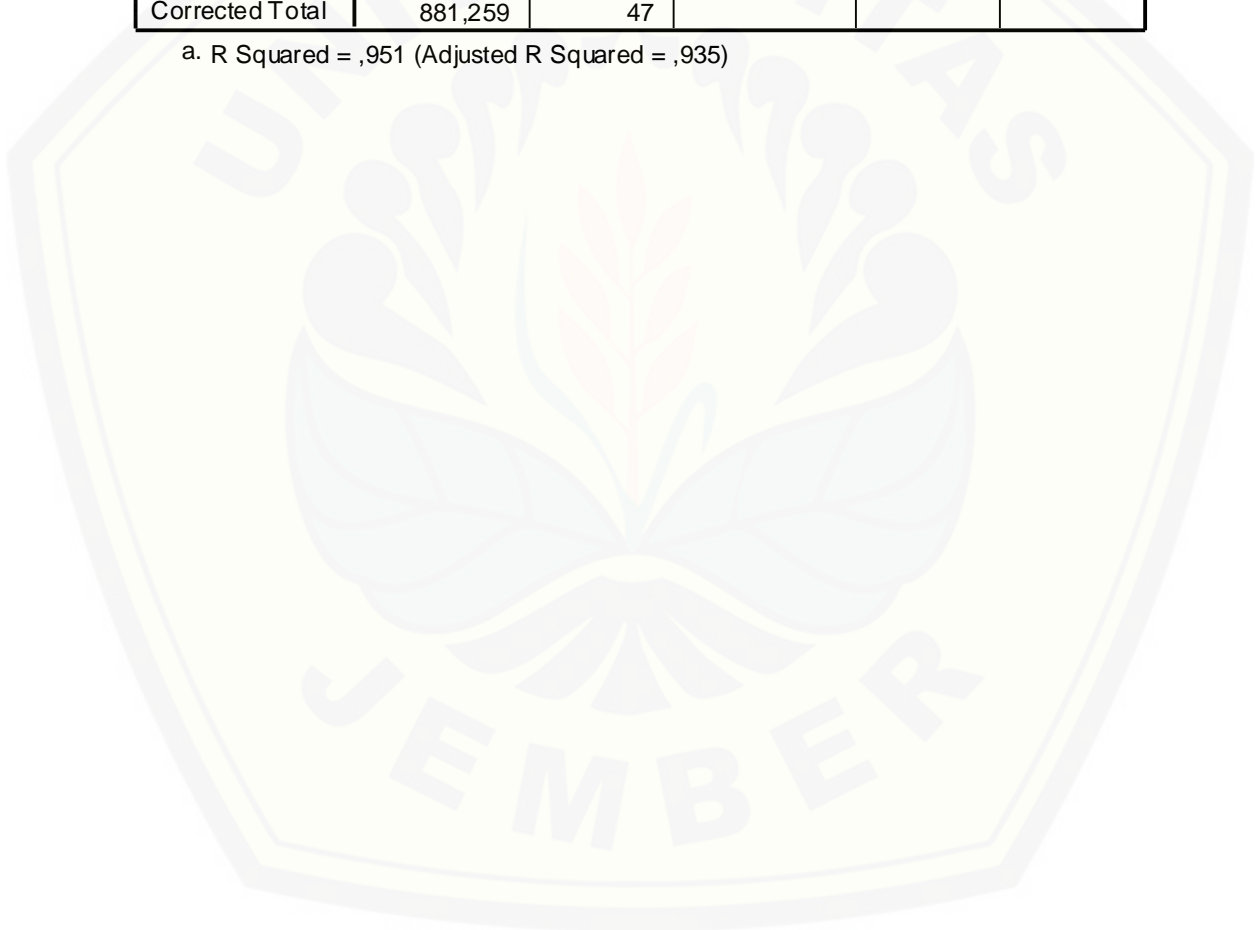
Bahan	Hari	Mean	Std. Deviation	N
K0	H1	30,5833	,37816	4
	H3	32,0556	,46702	4
	H7	33,1667	,23130	4
	H14	37,8333	,73423	4
	Total	33,4097	2,83619	16
K1	H1	32,5833	,36712	4
	H3	34,1389	,73353	4
	H7	34,1944	,61111	4
	H14	43,5556	1,37885	4
	Total	36,1181	4,55013	16
K2	H1	33,0556	,29397	4
	H3	36,0000	1,74271	4
	H7	36,2500	2,08142	4
	H14	44,3889	1,78356	4
	Total	37,4236	4,58917	16
Total	H1	32,0741	1,16277	12
	H3	34,0648	1,96630	12
	H7	34,5370	1,75799	12
	H14	41,9259	3,28563	12
	Total	35,6505	4,33015	48

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Rerata

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	837,645 ^a	11	76,150	62,855	,000
Intercept	61005,864	1	61005,864	50355,417	,000
Bahan	134,138	2	67,069	55,360	,000
Hari	671,112	3	223,704	184,650	,000
Bahan * Hari	32,395	6	5,399	4,457	,002
Error	43,614	36	1,212		
Total	61887,123	48			
Corrected Total	881,259	47			

a. R Squared = ,951 (Adjusted R Squared = ,935)



D.4 Uji Least Significant Difference (LSD)

1. Bahan

Estimates

Dependent Variable: Rerata

Bahan	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
K0	33,410	,275	32,852	33,968
K1	36,118	,275	35,560	36,676
K2	37,424	,275	36,866	37,982

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Rerata

LSD

(I) Bahan	(J) Bahan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K0	K1	-2,708*	,389	,000	-3,498	-1,919
	K2	-4,014*	,389	,000	-4,803	-3,225
K1	K0	2,708*	,389	,000	1,919	3,498
	K2	-1,306*	,389	,002	-2,095	-,516
K2	K0	4,014*	,389	,000	3,225	4,803
	K1	1,306*	,389	,002	,516	2,095

Based on observed means.

*. The mean difference is significant at the ,05 level.

2. Hari

Estimates

Dependent Variable: Rerata

Hari	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
H1	32,074	,318	31,430	32,718
H3	34,065	,318	33,420	34,709
H7	34,537	,318	33,893	35,181
H14	41,926	,318	41,282	42,570

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Rerata

LSD

(I) Hari	(J) Hari	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
H1	H3	-1,991*	,449	,000	-2,902	-1,079
	H7	-2,463*	,449	,000	-3,374	-1,552
	H14	-9,852*	,449	,000	-10,763	-8,941
H3	H1	1,991*	,449	,000	1,079	2,902
	H7	-,472	,449	,300	-1,384	,439
	H14	-7,861*	,449	,000	-8,772	-6,950
H7	H1	2,463*	,449	,000	1,552	3,374
	H3	,472	,449	,300	-,439	1,384
	H14	-7,389*	,449	,000	-8,300	-6,478
H14	H1	9,852*	,449	,000	8,941	10,763
	H3	7,861*	,449	,000	6,950	8,772
	H7	7,389*	,449	,000	6,478	8,300

Based on observed means.

*. The mean difference is significant at the ,05 level.

3. Kombinasi Bahan dan Hari

Descriptives

Rerata

	N	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
				Lower Bound	Upper Bound
K0 H1	4	30,583	,189	29,982	31,185
K0 H3	4	32,056	,234	31,312	32,799
K0 H7	4	33,167	,116	32,799	33,535
K0 H14	4	37,833	,367	36,665	39,002
K1 H1	4	32,583	,184	31,999	33,167
K1 H3	4	34,139	,367	32,972	35,306
K1 H7	4	34,194	,306	33,222	35,167
K1 H14	4	43,556	,689	41,361	45,750
K2 H1	4	33,056	,147	32,588	33,523
K2 H3	4	36,000	,871	33,227	38,773
K2 H7	4	36,250	1,041	32,938	39,562
K2 H14	4	44,389	,892	41,551	47,227
Total	48	35,650	,625	34,393	36,908

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Rerata

LSD

(I) Kombinasi	(J) Kombinasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K0 H1	K0 H3	-1,472	,778	,067	-3,051	,106
	K0 H7	-2,583 *	,778	,002	-4,162	-1,005
	K0 H14	-7,250 *	,778	,000	-8,828	-5,672
	K1 H1	-2,000 *	,778	,014	-3,578	-,422
	K1 H3	-3,556 *	,778	,000	-5,134	-1,977
	K1 H7	-3,611 *	,778	,000	-5,190	-2,033
	K1 H14	-12,972 *	,778	,000	-14,551	-11,394
	K2 H1	-2,472 *	,778	,003	-4,051	-,894
	K2 H3	-5,417 *	,778	,000	-6,995	-3,838
	K2 H7	-5,667 *	,778	,000	-7,245	-4,088

(I) Kombinasi	(J) Kombinasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
	K2 H14	-13,806 *	,778	,000	-15,384	-12,227
K0 H3	K0 H1	1,472	,778	,067	-,106	3,051
	K0 H7	-1,111	,778	,162	-2,690	,467
	K0 H14	-5,778 *	,778	,000	-7,356	-4,199
	K1 H1	-,528	,778	,502	-2,106	1,051
	K1 H3	-2,083 *	,778	,011	-3,662	-,505
	K1 H7	-2,139 *	,778	,009	-3,717	-,560
	K1 H14	-11,500 *	,778	,000	-13,078	-9,922
	K2 H1	-1,000	,778	,207	-2,578	,578
	K2 H3	-3,944 *	,778	,000	-5,523	-2,366
	K2 H7	-4,194 *	,778	,000	-5,773	-2,616
	K2 H14	-12,333 *	,778	,000	-13,912	-10,755
K0 H7	K0 H1	2,583 *	,778	,002	1,005	4,162
	K0 H3	1,111	,778	,162	-,467	2,690
	K0 H14	-4,667 *	,778	,000	-6,245	-3,088
	K1 H1	,583	,778	,458	-,995	2,162
	K1 H3	-,972	,778	,220	-2,551	,606
	K1 H7	-1,028	,778	,195	-2,606	,551
	K1 H14	-10,389 *	,778	,000	-11,967	-8,810
	K2 H1	,111	,778	,887	-1,467	1,690
	K2 H3	-2,833 *	,778	,001	-4,412	-1,255
	K2 H7	-3,083 *	,778	,000	-4,662	-1,505
	K2 H14	-11,222 *	,778	,000	-12,801	-9,644
K0 H14	K0 H1	7,250 *	,778	,000	5,672	8,828
	K0 H3	5,778 *	,778	,000	4,199	7,356
	K0 H7	4,667 *	,778	,000	3,088	6,245
	K1 H1	5,250 *	,778	,000	3,672	6,828
	K1 H3	3,694 *	,778	,000	2,116	5,273
	K1 H7	3,639 *	,778	,000	2,060	5,217
	K1 H14	-5,722 *	,778	,000	-7,301	-4,144
	K2 H1	4,778 *	,778	,000	3,199	6,356
	K2 H3	1,833 *	,778	,024	,255	3,412
	K2 H7	1,583 *	,778	,049	,005	3,162

(I) Kombinasi	(J) Kombinasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
	K2 H14	-6,556 *	,778	,000	-8,134	-4,977
K1 H1	K0 H1	2,000 *	,778	,014	,422	3,578
	K0 H3	,528	,778	,502	-1,051	2,106
	K0 H7	-,583	,778	,458	-2,162	,995
	K0 H14	-5,250 *	,778	,000	-6,828	-3,672
	K1 H3	-1,556	,778	,053	-3,134	,023
	K1 H7	-1,611 *	,778	,046	-3,190	-,033
	K1 H14	-10,972 *	,778	,000	-12,551	-9,394
	K2 H1	-,472	,778	,548	-2,051	1,106
	K2 H3	-3,417 *	,778	,000	-4,995	-1,838
	K2 H7	-3,667 *	,778	,000	-5,245	-2,088
	K2 H14	-11,806 *	,778	,000	-13,384	-10,227
K1 H3	K0 H1	3,556 *	,778	,000	1,977	5,134
	K0 H3	2,083 *	,778	,011	,505	3,662
	K0 H7	,972	,778	,220	-,606	2,551
	K0 H14	-3,694 *	,778	,000	-5,273	-2,116
	K1 H1	1,556	,778	,053	-,023	3,134
	K1 H7	-,056	,778	,943	-1,634	1,523
	K1 H14	-9,417 *	,778	,000	-10,995	-7,838
	K2 H1	1,083	,778	,172	-,495	2,662
	K2 H3	-1,861 *	,778	,022	-3,440	-,283
	K2 H7	-2,111 *	,778	,010	-3,690	-,533
	K2 H14	-10,250 *	,778	,000	-11,828	-8,672
K1 H7	K0 H1	3,611 *	,778	,000	2,033	5,190
	K0 H3	2,139 *	,778	,009	,560	3,717
	K0 H7	1,028	,778	,195	-,551	2,606
	K0 H14	-3,639 *	,778	,000	-5,217	-2,060
	K1 H1	1,611 *	,778	,046	,033	3,190
	K1 H3	,056	,778	,943	-1,523	1,634
	K1 H14	-9,361 *	,778	,000	-10,940	-7,783
	K2 H1	1,139	,778	,152	-,440	2,717
	K2 H3	-1,806 *	,778	,026	-3,384	-,227
	K2 H7	-2,056 *	,778	,012	-3,634	-,477

(I) Kombinasi	(J) Kombinasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
	K2 H14	-10,194 *	,778	,000	-11,773	-8,616
K1 H14	K0 H1	12,972 *	,778	,000	11,394	14,551
	K0 H3	11,500 *	,778	,000	9,922	13,078
	K0 H7	10,389 *	,778	,000	8,810	11,967
	K0 H14	5,722 *	,778	,000	4,144	7,301
	K1 H1	10,972 *	,778	,000	9,394	12,551
	K1 H3	9,417 *	,778	,000	7,838	10,995
	K1 H7	9,361 *	,778	,000	7,783	10,940
	K2 H1	10,500 *	,778	,000	8,922	12,078
	K2 H3	7,556 *	,778	,000	5,977	9,134
	K2 H7	7,306 *	,778	,000	5,727	8,884
	K2 H14	-,833	,778	,291	-2,412	,745
K2 H1	K0 H1	2,472 *	,778	,003	,894	4,051
	K0 H3	1,000	,778	,207	-,578	2,578
	K0 H7	-,111	,778	,887	-1,690	1,467
	K0 H14	-4,778 *	,778	,000	-6,356	-3,199
	K1 H1	,472	,778	,548	-1,106	2,051
	K1 H3	-1,083	,778	,172	-2,662	,495
	K1 H7	-1,139	,778	,152	-2,717	,440
	K1 H14	-10,500 *	,778	,000	-12,078	-8,922
	K2 H3	-2,944 *	,778	,001	-4,523	-1,366
	K2 H7	-3,194 *	,778	,000	-4,773	-1,616
	K2 H14	-11,333 *	,778	,000	-12,912	-9,755
K2 H3	K0 H1	5,417 *	,778	,000	3,838	6,995
	K0 H3	3,944 *	,778	,000	2,366	5,523
	K0 H7	2,833 *	,778	,001	1,255	4,412
	K0 H14	-1,833 *	,778	,024	-3,412	-,255
	K1 H1	3,417 *	,778	,000	1,838	4,995
	K1 H3	1,861 *	,778	,022	,283	3,440
	K1 H7	1,806 *	,778	,026	,227	3,384
	K1 H14	-7,556 *	,778	,000	-9,134	-5,977
	K2 H1	2,944 *	,778	,001	1,366	4,523
	K2 H7	-,250	,778	,750	-1,828	1,328

(I) Kombinasi	(J) Kombinasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
	K2 H14	-8,389 *	,778	,000	-9,967	-6,810
K2 H7	K0 H1	5,667 *	,778	,000	4,088	7,245
	K0 H3	4,194 *	,778	,000	2,616	5,773
	K0 H7	3,083 *	,778	,000	1,505	4,662
	K0 H14	-1,583 *	,778	,049	-3,162	-,005
	K1 H1	3,667 *	,778	,000	2,088	5,245
	K1 H3	2,111 *	,778	,010	,533	3,690
	K1 H7	2,056 *	,778	,012	,477	3,634
	K1 H14	-7,306 *	,778	,000	-8,884	-5,727
	K2 H1	3,194 *	,778	,000	1,616	4,773
	K2 H3	,250	,778	,750	-1,328	1,828
	K2 H14	-8,139 *	,778	,000	-9,717	-6,560
K2 H14	K0 H1	13,806 *	,778	,000	12,227	15,384
	K0 H3	12,333 *	,778	,000	10,755	13,912
	K0 H7	11,222 *	,778	,000	9,644	12,801
	K0 H14	6,556 *	,778	,000	4,977	8,134
	K1 H1	11,806 *	,778	,000	10,227	13,384
	K1 H3	10,250 *	,778	,000	8,672	11,828
	K1 H7	10,194 *	,778	,000	8,616	11,773
	K1 H14	,833	,778	,291	-,745	2,412
	K2 H1	11,333 *	,778	,000	9,755	12,912
	K2 H3	8,389 *	,778	,000	6,810	9,967
	K2 H7	8,139 *	,778	,000	6,560	9,717

* The mean difference is significant at the .05 level.

Lampiran E. Foto Penelitian

E1. Prosedur Pembuatan Ekstrak dan Pasta Biji Kopi Robusta



Gambar 1.1 Alat dan bahan pembuatan ekstrak dan pasta biji kopi robusta

1. *Magnesium carbonat*
2. *Calcium carbonat*
3. *Propilen glikol*
4. *Triethanolamine (TEA)*
5. *Aquades*
6. *Gliserin*
7. Ekstrak biji kopi robusta 100%
8. Mortir dan *stamper*
9. Gelas ukur
10. Labu erlenmeyer
11. Pipet
12. Cawan setangkep



Gambar 1.2 Ekstrak Biji Kopi Robusta 100%



Gambar 1.3 Pembuatan pasta biji kopi robusta

E.2 Prosedur Perlakuan Hewan Coba



Gambar 2.1 Pemeliharaan hewan coba

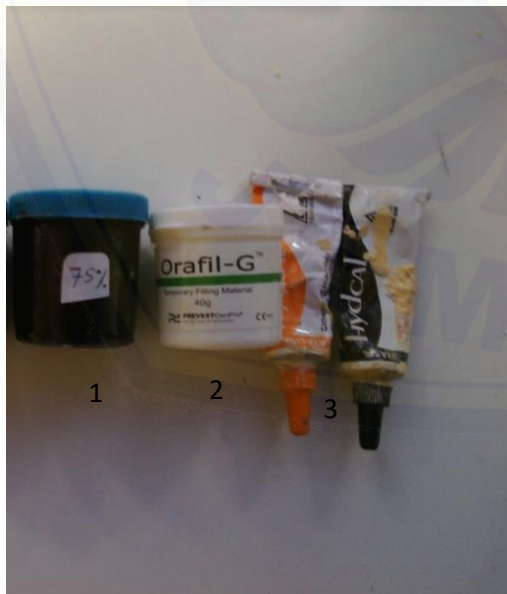


Gambar 2.2 Rat Dental Chair



Gambar 2.3 Alat *pulp capping* gigi tikus

1. Bur bulat nomor 010
2. Pinset
3. *Plastis filling instrument*
4. Ekskavator
5. Spatula semen
6. Sonde
7. *Cement stopper*
8. *Cotton pellet*



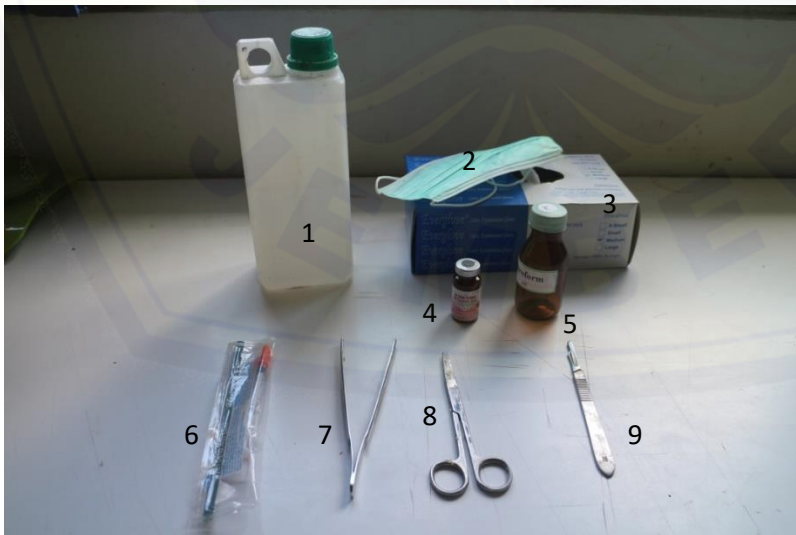
Gambar 2.4 Bahan *pulp capping* dan tumpatan sementara

Keterangan:

1. Pasta biji kopi robusta 75%
2. Bahan tumpatan sementara merk Orafil
3. Kalsium hidroksida



Gambar 2.5 Prosedur *pulp capping* pada gigi tikus



Gambar 2.6 Alat dan bahan dekapitasi tikus

Keterangan:

1. Alkohol 10%
2. Masker
3. *Handscoon*
4. Ketamin
5. *Eter chloride*
6. *Disposable syringe*
7. Pinset
8. Gunting
9. Scalpel



Gambar 2.7 Prosedur dekapitasi tikus

E.3 Prosedur Pembuatan Sediaan Histologi



Gambar 3.1 Alat dan bahan pembuatan sediaan histologi

Keterangan:

1. *Formic acid*
2. *Alkohol 70%*
3. *Alkohol 80%*
4. *Alkohol 90%*
5. *Alkohol 100%*
6. *Xylol*
7. *Microscope slide*
8. *Deck glass*
9. *Paraffin*
10. *Haematoxylin*
11. *Eosin*
12. *Entellan*



Gambar 3.2 Mikrotom



Gambar 3.3 Waterbath



Gambar 3.4 Slide warmer



Gambar 3.5 Kompor listrik



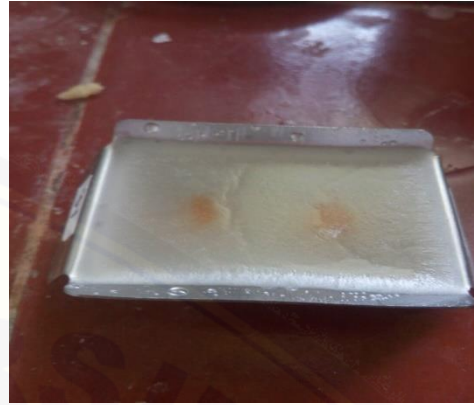
Gambar 3.6 Oven



Gambar 3.7 Mikroskop binokuler



Gambar 3.8 Tahap impregnasi



Gambar 3.9 Tahap *embedding*

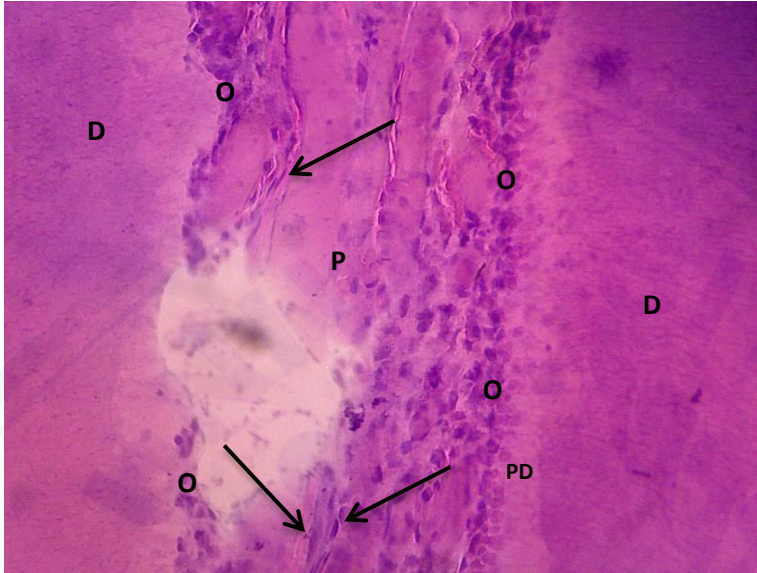


Gambar 3.10 Tahap pemotongan

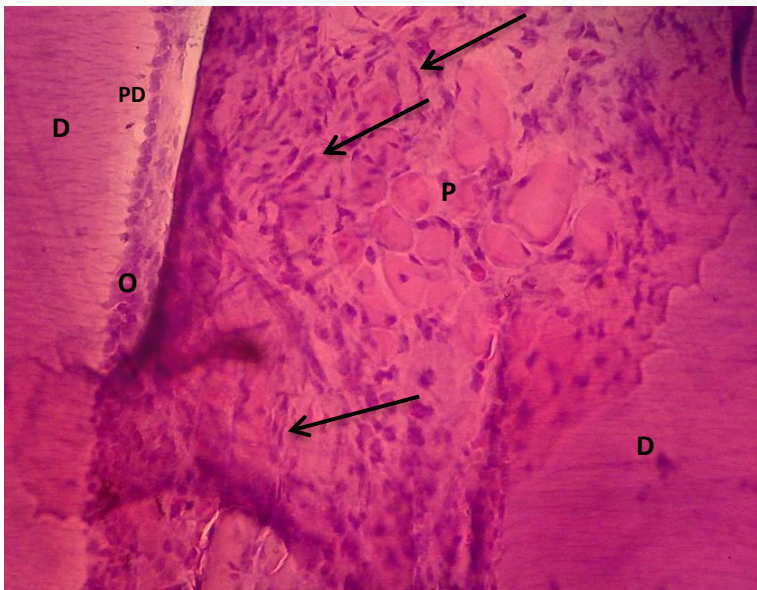


Gambar 3.11 Tahap pewarnaan HE

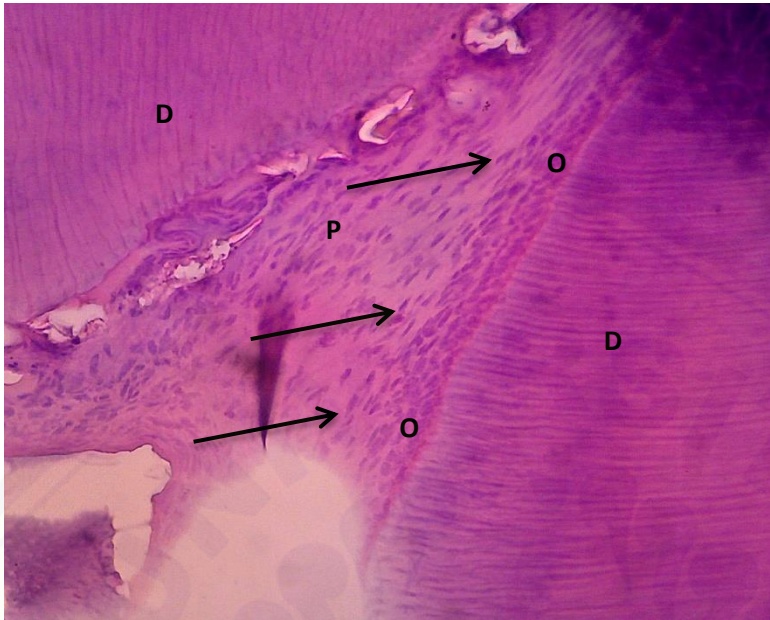
Lampiran F. Foto Preparat



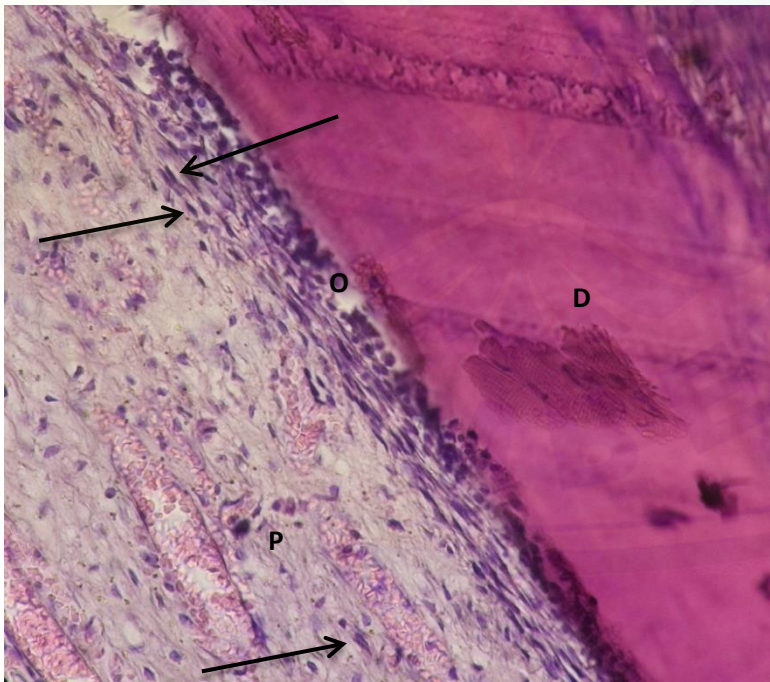
Sel fibroblas (ditunjukkan anak panah) pada preparat pulpa gigi tikus Wistar kelompok kontrol (K0) hari ke-1 dengan pewarnaan *Haematoxylin-Eosin* pada perbesaran 400X



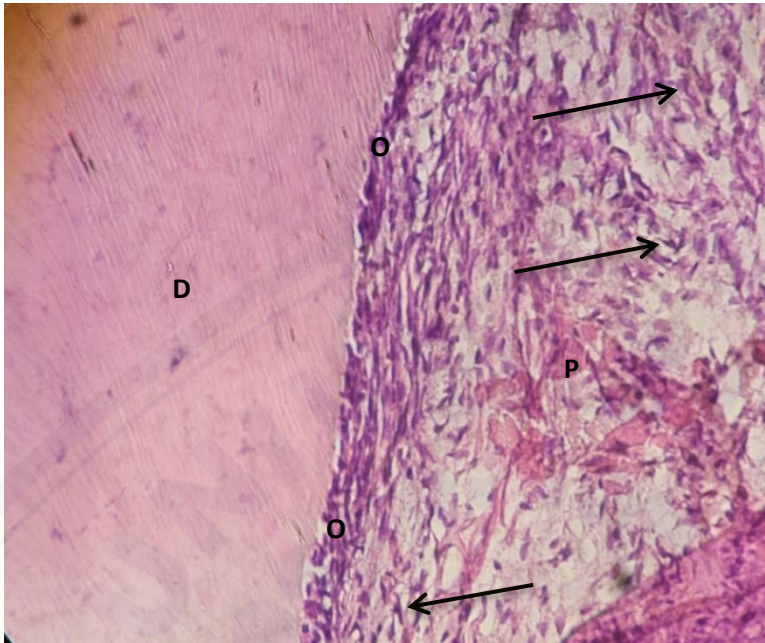
Sel fibroblas (ditunjukkan anak panah) pada preparat pulpa gigi tikus Wistar kelompok kontrol (K0) hari ke-3 dengan pewarnaan *Haematoxylin-Eosin* pada perbesaran 400X



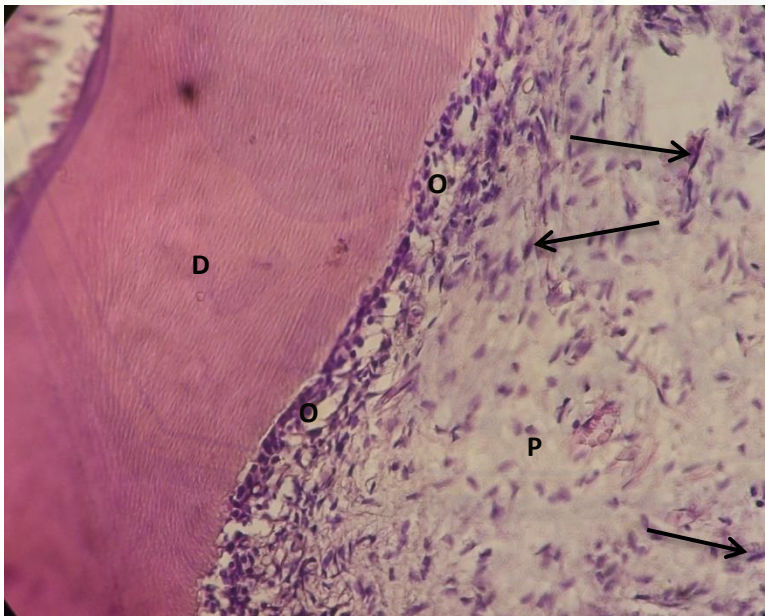
Sel fibroblas (ditunjukkan anak panah) pada preparat pulpa gigi tikus Wistar kelompok kontrol (K0) hari ke-7 dengan pewarnaan *Haematoxylin-Eosin* pada perbesaran 400X



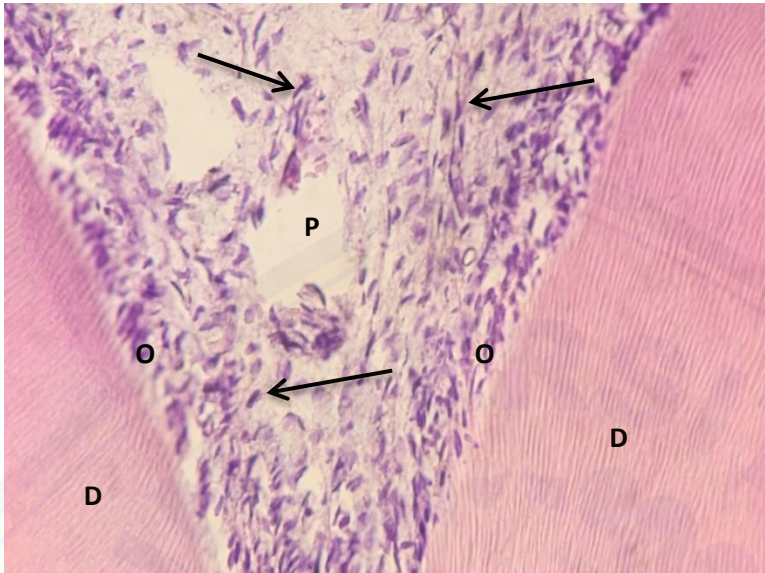
Sel fibroblas (ditunjukkan anak panah) pada preparat pulpa gigi tikus Wistar kelompok kontrol (K0) hari ke-14 dengan pewarnaan *Haematoxylin-Eosin* pada perbesaran 400X



Sel fibroblas (ditunjukkan anak panah) pada preparat pulpa gigi tikus Wistar kelompok yang diberi kalsium hidroksida (K1) hari ke-1 dengan pewarnaan *Haematoxylin-Eosin* pada perbesaran 400X



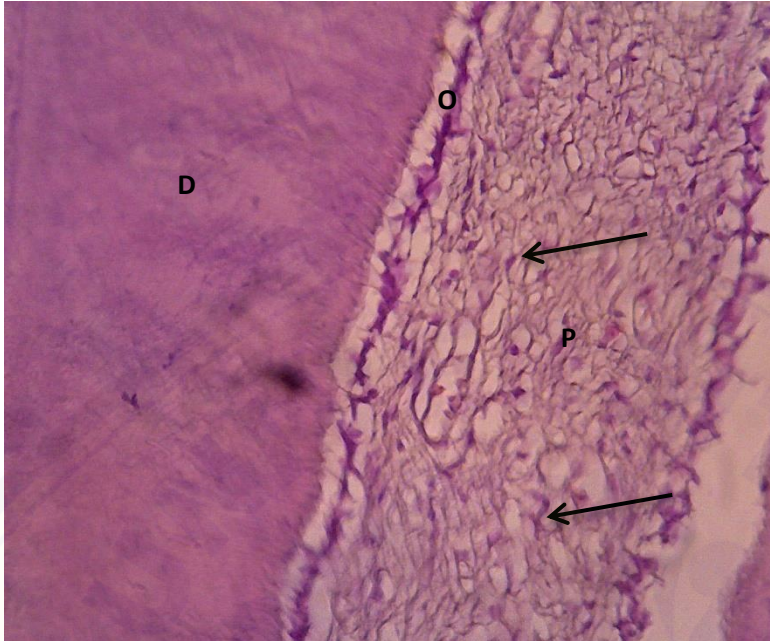
Sel fibroblas (ditunjukkan anak panah) pada preparat pulpa gigi tikus Wistar kelompok yang diberi kalsium hidroksida (K1) hari ke-3 dengan pewarnaan *Haematoxylin-Eosin* pada perbesaran 400X



Sel fibroblas (ditunjukkan anak panah) pada preparat pulpa gigi tikus Wistar kelompok yang diberi kalsium hidroksida (K1) hari ke-7 dengan pewarnaan *Haematoxylin-Eosin* pada perbesaran 400X



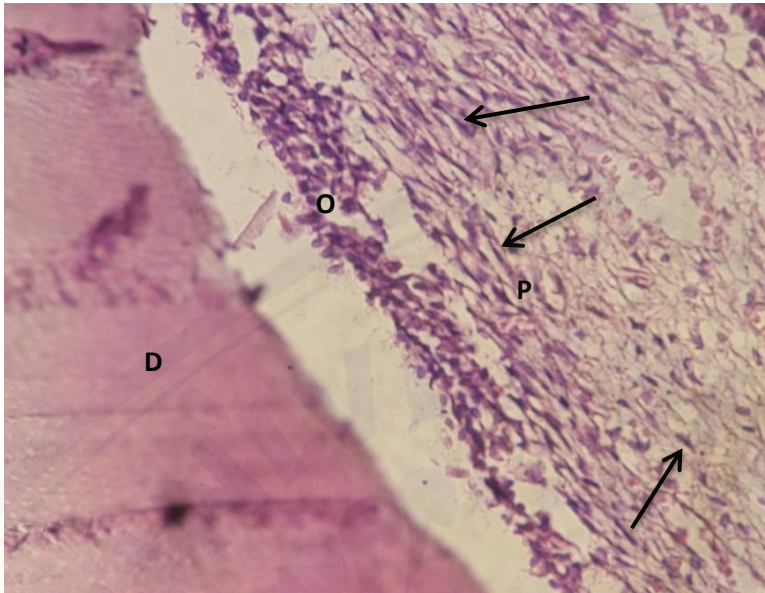
Sel fibroblas (ditunjukkan anak panah) pada preparat pulpa gigi tikus Wistar kelompok yang diberi kalsium hidroksida (K1) hari ke-14 dengan pewarnaan *Haematoxylin-Eosin* pada perbesaran 400X



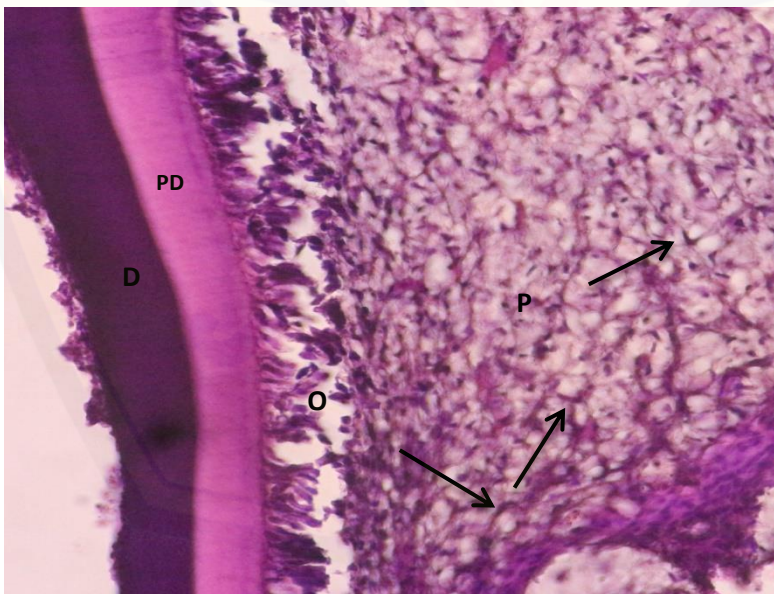
Sel fibroblas (ditunjukkan anak panah) pada preparat pulpa gigi tikus Wistar kelompok yang diberi pasta biji kopi robusta (K2) hari ke-1 dengan pewarnaan *Haematoxylin-Eosin* pada perbesaran 400X



Sel fibroblas (ditunjukkan anak panah) pada preparat pulpa gigi tikus Wistar kelompok yang diberi pasta biji kopi robusta (K2) hari ke-3 dengan pewarnaan *Haematoxylin-Eosin* pada perbesaran 400X



Sel fibroblas (ditunjukkan anak panah) pada preparat pulpa gigi tikus Wistar kelompok yang diberi pasta biji kopi robusta (K2) hari ke-7 dengan pewarnaan *Haematoxylin-Eosin* pada perbesaran 400X



Sel fibroblas (ditunjukkan anak panah) pada preparat pulpa gigi tikus Wistar kelompok yang diberi pasta biji kopi robusta (K2) hari ke-14 dengan pewarnaan *Haematoxylin-Eosin* pada perbesaran 400X

Keterangan:

D : Dentin

P : Pulpa

O : Lapisan sel odontoblas

PD : Lapisan preentin

