



**EFEKTIVITAS PASTA BIJI KOPI ROBUSTA (*Coffea robusta*) SEBAGAI
BAHAN *DIRECT PULP CAPPING* TERHADAP JUMLAH
SEL MAKROFAG dan SEL LIMFOSIT PULPA GIGI**

SKRIPSI

Oleh

Ari Kurniasari

NIM 131610101038

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS JEMBER

2017



**EFEKTIVITAS PASTA BIJI KOPI ROBUSTA (*Coffea robusta*) SEBAGAI
BAHAN *DIRECT PULP CAPPING* TERHADAP JUMLAH
SEL MAKROFAG dan SEL LIMFOSIT PULPA GIGI**

SKRIPSI

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan program studi pendidikan dokter gigi (S1) dan mencapai gelar sarjana Kedokteran Gigi

Oleh

ARI KURNIASARI

NIM 131610101038

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS JEMBER

2017

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Bangsaku, bangsa **Indonesia**.
2. Ayah Eksi Soemargono, Mama Mila Kumala dan Mbak Asmahani, S.E tercinta, terimakasih atas doa, semangat, kesabaran, kasih sayang dan perhatian yang tidak pernah ada habisnya selama ini.
3. Guru-guruku dan teman-temanku.
4. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

MOTTO

Hakuna Matata^{*)}

“Gantungkan cita-cita mu setinggi langit! Bermimpilah setinggi langit. Jika engkau jatuh, engkau akan jatuh di antara bintang-bintang.”

(Ir. Soekarno)



*) Timon dan Pumba dalam The Lion King. Walt Disney Pictures

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ari Kurniasari

NIM : 131610101038

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Efektivitas Pasta Biji Kopi Robusta (*Coffea robusta*) sebagai Bahan *Direct Pulp Capping* terhadap Jumlah Sel Makrofag dan Sel Limfosit Pulpa Gigi” adalah benar-benar hasil karya saya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang 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 ini tidak benar.

Jember, Agustus 2017

Yang menyatakan

Ari Kurniasari

NIM 131610101038

SKRIPSI

**EFEKTIVITAS PASTA BIJI KOPI ROBUSTA (*Coffea robusta*) SEBAGAI
BAHAN *DIRECT PULP CAPPING* TERHADAP JUMLAH
SEL MAKROFAG dan SEL LIMFOSIT PULPA GIGI**

Oleh

Ari Kurniasari

131610101038

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : drg. Roedy Budirahardjo, M.Kes., Sp.KGA.

Dosen Pembimbing Pendamping : drg. Dwi Merry Christmarini Robin, M.Kes

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Efektivitas Pasta Biji Kopi Robusta (*Coffea robusta*) Sebagai Bahan *Direct Pulp Capping* Terhadap Jumlah Sel Makrofag dan Sel Limfosit Pulpa Gigi” telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Selasa, 15 Agustus 2017

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Penguji Ketua,

Penguji Anggota,

drg. Nuzulul Hikmah, M.Biomed
NIP. 198107172008012017

drg. Raditya Nugroho, Sp.KG.
NIP. 198206022009121003

Pembimbing Utama,

Pembimbing Anggota,

drg. Roedy Budirahardjo, M.Kes., Sp.KGA.
NIP. 196709141999031002

drg. Dwi Merry Christmarini R., M.Kes
NIP. 197712232008122002

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Jember

drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes. Sp. Pros
NIP. 196901121996012001

RINGKASAN

Efektivitas Pasta Biji Kopi Robusta (*Coffea robusta*) Sebagai Bahan *Direct Pulp Capping* Terhadap Jumlah Sel Makrofag Dan Sel Limfosit Pulpa Gigi. Ari Kurniasari, 131610101038; 2017; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Prevalensi penyakit pulpa gigi di Indonesia tergolong masih tinggi. Penyakit pulpa gigi yang banyak terjadi yaitu pulpitis. Pulpitis adalah suatu proses inflamasi pada jaringan pulpa yang umumnya merupakan lanjutan dari proses karies, dan apabila tidak dirawat dapat menyebabkan kematian pulpa. Secara klinis, pulpitis dibagi menjadi *reversible pulpitis* dan *irreversible pulpitis*. *Reversible pulpitis* merupakan inflamasi pada pulpa yang tidak parah, apabila penyebabnya dihilangkan, inflamasi akan menghilang dan pulpa akan kembali normal. Salah satu metode perawatan pada *reversible pulpitis* adalah dengan dilakukan *direct pulp capping*. Bahan *direct pulp capping* yang biasa digunakan dalam praktek kedokteran gigi adalah kalsium hidroksida. Namun hampir semua bahan artifisial yang dipergunakan dalam perawatan kedokteran gigi terdiri dari senyawa yang umumnya bersifat toksik, serta menimbulkan respon penolakan benda asing dari tubuh manusia. Di dalam jaringan pulpa terdapat beberapa komponen yang berperan dalam proses pertahanan jaringan terhadap cedera mekanis, kimia maupun *thermis*. Proses tersebut diantaranya diperantarai oleh sel makrofag dan sel limfosit. Keberadaan sel makrofag dan sel limfosit yang berlebih dapat menimbulkan destruksi pada jaringan, oleh karena itu dibutuhkan suatu antiinflamasi. Antiinflamasi tersebut dapat diperoleh dari tanaman herbal, salah satunya biji kopi Robusta.

Jenis penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris *in vivo*. Rancangan penelitian yang digunakan adalah *Post Test-Only Control Design*. Sampel penelitian adalah tikus wistar (*Rattus norvegicus*) jantan. Besar sampel dari penelitian ini adalah 48 ekor tikus yang dibagi menjadi 3 kelompok besar dan masing-masing kelompok terdiri atas 4 subkelompok. Masing-masing subkelompok terdiri dari 4 tikus. yaitu kelompok kontrol K0 yang dipreparasi hingga perforasi pulpa, tanpa aplikasi *pulp capping* dan langsung ditutup dengan

tumpatan sementara, kelompok K1 yang dipreparasi hingga perforasi pulpa, sesegera mungkin dilakukan *direct pulp capping* dengan Ca(OH)_2 dan ditutup dengan tumpatan sementara, serta kelompok K2 yang dipreparasi hingga perforasi pulpa, sesegera mungkin dilakukan *direct pulp capping* dengan pasta biji kopi Robusta 75% dan ditutup dengan tumpatan sementara. Kemudian tikus dikorbankan pada hari ke-1, 3, 5 dan 7, dilanjutkan dengan pemrosesan jaringan, pewarnaan dengan *Hematoxylin Eosin* dan penghitungan jumlah sel makrofag dan limfosit menggunakan mikroskop binokuler dengan perbesaran 400x. Data hasil penelitian di uji normalitas dan homogenitasnya dengan menggunakan *Kolmogorov-smirnov* dan uji *Levene*. Selanjutnya, data dianalisis dengan menggunakan uji parametrik *One Way ANOVA* dan dilanjutkan dengan uji *LSD (Least Significance Difference)*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada hari ke-1, 3, 5 dan 7, rerata jumlah sel makrofag dan sel limfosit pada semua kelompok mengalami peningkatan. Rerata jumlah sel makrofag dan sel limfosit dari kelompok kalsium hidroksida dan kelompok pasta biji kopi Robusta menunjukkan jumlah yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hasil uji statistik parametrik *One Way ANOVA* pada sel makrofag tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok, sedangkan pada sel limfosit menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan dengan nilai signifikansi 0,004 dan setelah dilakukan uji statistika lanjutan, terlihat adanya perbedaan signifikan antara kelompok kontrol dengan kelompok kalsium hidroksida dan kelompok pasta biji kopi Robusta, sedangkan antara kelompok kalsium hidroksida dan kelompok pasta biji kopi Robusta tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan. Hal ini menandakan bahwa pasta biji kopi Robusta mempunyai keefektifan yang hampir sama dengan kalsium hidroksida. Efek antiinflamasi dan antibakteri kopi Robusta seperti flavonoid, *xanthine*, asam klorogenat, mampu bekerja sama dalam menurunkan peradangan. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa pasta biji kopi Robusta sebagai bahan *direct pulp capping* efektif dalam menurunkan jumlah sel makrofag dan sel limfosit pada pulpa gigi dibandingkan dengan kelompok kontrol.

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Efektivitas Pasta Biji Kopi Robusta (*Coffea robusta*) Sebagai Bahan *Direct Pulp Capping* Terhadap Jumlah Sel Makrofag dan Sel Limfosit Pulpa Gigi”. 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, bimbingan dan motivasi berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Orang tua tercinta, Ayah Eksi Soemargono dan Mama Mila Kumala serta Mbak Asmahani yang tidak pernah putus memberikan dukungan, doa dan motivasi serta kasih sayang kepada penulis;
2. drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes., Sp.Pros selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember yang telah mendukung dalam perjalanan masa studi selama penulis menjadi mahasiswa;
3. drg. Roedy Budirahardjo, M.Kes., Sp.KGA. selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah meluangkan waktu dan memberikan bimbingan serta motivasi dengan penuh keikhlasan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini;
4. drg. Dwi Merry Christmarini Robin, M.Kes selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu dan memberikan bimbingan dengan penuh kesabaran sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini;
5. drg. Nuzulul Hikmah, M.Biomed selaku Dosen Penguji Ketua yang telah memberikan kritik dan saran untuk kesempurnaan skripsi ini;
6. drg. Raditya Nugroho, Sp.KG. selaku Dosen Penguji Anggota yang telah memberikan kritik dan saran untuk kesempurnaan skripsi ini;

7. drg. Zainul Cholid, Sp.BM., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing dan memberikan dukungan selama penulis menjadi mahasiswa;
8. Seluruh dosen FKG Universitas Jember atas bimbingan dan pengarahan selama menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
9. Seluruh staf dan karyawan/i Laboratorium Biomedik bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, khususnya Mas Agus dan bagian Laboratorium Patologi Anatomi khususnya Mbak Wahyu atas semua perhatian, bimbingan, dan bantuan dalam pelaksanaan penelitian skripsi ini;
10. Duati Mayangsari, Achmad Hendrawan Sumarna, Fitrilia Kristina yang telah menjadi keluarga kedua penulis selama di Jember;
11. Ryan Ravi Is Syahputra, yang tidak lelah memahami, menemani dan mendukung penulis, serta kesabaran dan kasih yang dicurahkan;
12. Rekan-rekan seperjuangan dalam penelitian pasta biji kopi Robusta: Achmad Hendrawan Sumarna, Maulana Akbari dan Daniel Benny Santoso terima kasih atas kerja sama, bantuan, dan dukungan yang diberikan;
13. Rekan-rekan FKG 2013 yang selalu memberikan semangat dan dukungan kepada penulis;
14. Teman-teman KKN 97 atas perhatian, semangat dan motivasi;
15. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu.

Penulis merasa penyusunan skripsi belum sempurna, sehingga kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan demi kesempurnaan skripsi. Semoga skripsi yang saya susun dapat memberikan manfaat bagi semua pihak yang membacanya.

Jember, Agustus 2017

Penulis

DAFTAR ISI

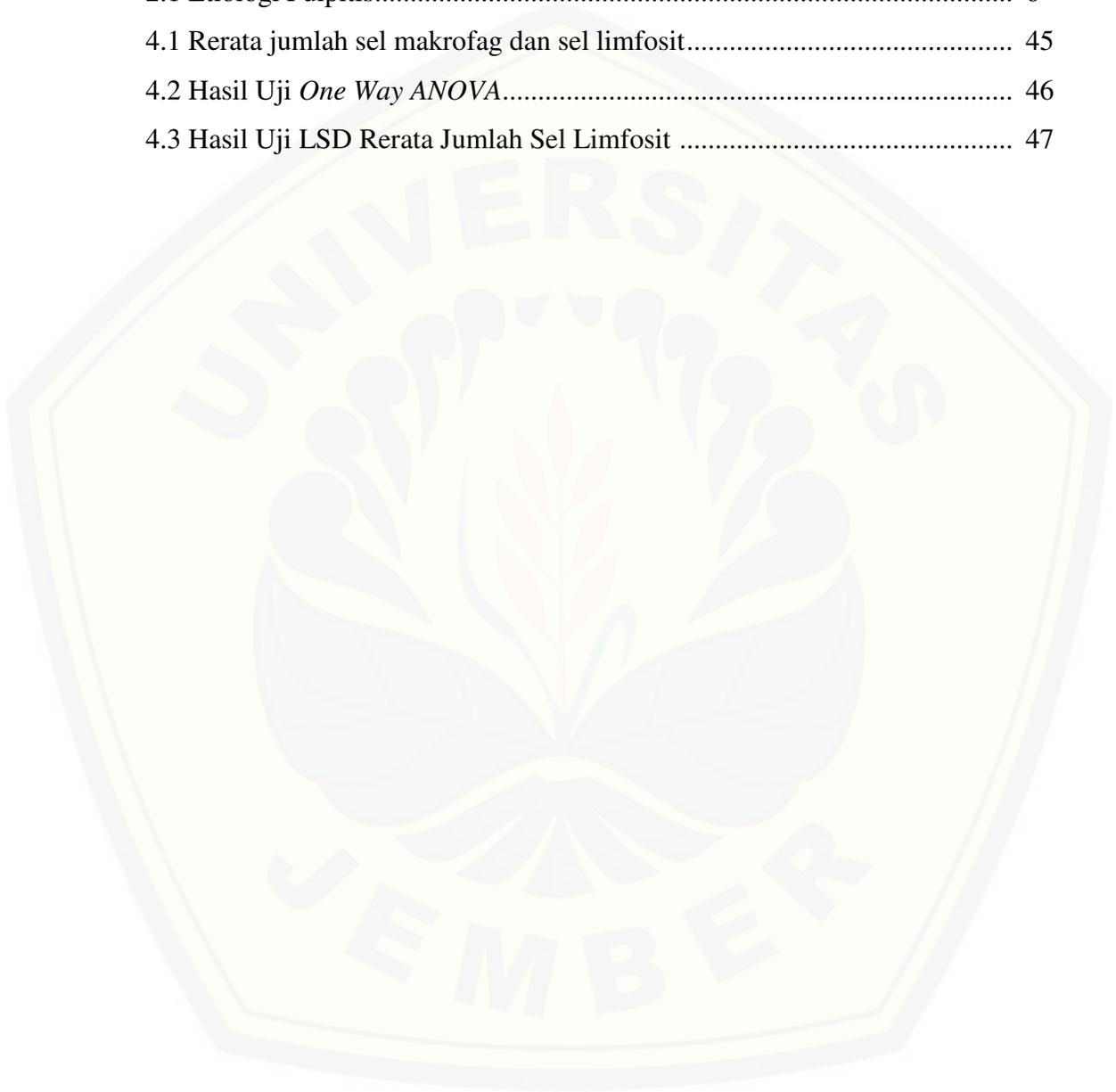
HALAMAN JUDULi
HALAMAN PERSEMBAHANii
HALAMAN MOTTOiii
HALAMAN PERNYATAAN.....	.iv
HALAMAN PEMBIMBINGANv
HALAMAN PENGESAHANvi
RINGKASANvii
PRAKATAix
DAFTAR ISI.....	.xi
DAFTAR TABELxiv
DAFTAR GAMBARxv
DAFTAR LAMPIRANxvi
DAFTAR SINGKATANxvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Pulpitis.....	5
2.1.1 Pengertian Pulpitis	5
2.1.2 Etiologi Pulpitis	5
2.1.3 Klasifikasi Pulpitis	6
2.1.3 Mekanisme Inflamasi Pulpa	8
2.1.3 Sel Inflamasi Di Dalam Pulpa.....	9
2.2 <i>Pulp Capping</i>	10
2.2.1 Jenis-jenis <i>Pulp Capping</i>	11

2.2.2	Syarat Bahan <i>Pulp Capping</i>	13
2.2.3	Bahan <i>Pulp Capping</i>	13
2.3	Kopi.....	16
2.3.1	Taksonomi dan Deskripsi Kopi Robusta (<i>Coffea robusta</i>)	17
2.3.2	Manfaat Kopi Robusta	18
2.3.3	Kandungan Kimia dan Manfaat Farmakologis.....	18
2.4	Kerangka Konseptual	21
2.5	Hipotesis.....	23
BAB 3. METODE PENELITIAN.....		24
3.1	Jenis Penelitian.....	24
3.2	Rancangan Penelitian.....	24
3.3	Tempat dan Waktu Penelitian.....	24
3.3.1	Tempat Penelitian.....	24
3.3.2	Waktu Penelitian.....	24
3.4	Variabel Penelitian.....	24
3.4.1	Variabel Terikat	25
3.4.2	Variabel Bebas	25
3.4.3	Variabel Terkendali.....	25
3.5	Definisi Operasional Penelitian.....	25
3.5.1	Pasta Biji Kopi Robusta 75%.....	25
3.5.2	Sel Makrofag	26
3.5.3	Sel Limfosit	26
3.5.4	<i>Direct Pulp Capping</i>	26
3.6	Sampel Penelitian.....	27
3.6.1	Subyek Penelitian	27
3.6.2	Kriteria Sampel.....	27
3.6.3	Besar Sampel	27
3.6.4	Kelompok Sampel	28
3.7	Dosis Ketamin.....	28

3.8 Alat dan Bahan Penelitian	28
3.8.1 Alat penelitian	28
3.8.2 Bahan Penelitian.....	29
3.9 Prosedur Penelitian.....	30
3.9.1 Tahap Persiapan Hewan Coba	30
3.9.2 Sterilisasi Alat	30
3.9.3 Pembuatan Ekstrak Biji Kopi Robusta.....	31
3.9.4 Pembuatan Pasta Biji Kopi Robusta	31
3.9.5 Tahap Pengelompokan dan Perlakuan Hewan Coba	32
3.9.6 Pembuatan dan Pewarnaan Preparat Jaringan.....	36
3.10 Penghitungan Jumlah Sel Makrofag dan Sel Limfosit.....	39
3.11 Analisa Statistik	40
3.12 Alur Penelitian	41
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	42
4.1 Hasil Penelitian	42
4.2 Pembahasan	48
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	54
5.1 Kesimpulan	54
5.2 Saran	54
DAFTAR PUSTAKA	55
LAMPIRAN	59

DAFTAR TABEL

2.1 Etiologi Pulpitis.....	6
4.1 Rerata jumlah sel makrofag dan sel limfosit.....	45
4.2 Hasil Uji <i>One Way ANOVA</i>	46
4.3 Hasil Uji LSD Rerata Jumlah Sel Limfosit	47



DAFTAR GAMBAR

2.1 Biji Kopi Robusta (<i>Coffea robusta</i>).....	17
4.1 Gambaran histologis jaringan pulpa gigi tikus Wistar jantan dengan pewarnaan HE pada perbesaran 100X	42
4.2 Gambaran histologis jaringan pulpa gigi molar satu kiri bawah tikus Wistar jantan dengan pewarnaan HE pada perbesaran 400X	43
4.3 Gambaran histologis jaringan pulpa gigi molar satu kiri bawah tikus Wistar jantan dengan pewarnaan HE pada perbesaran 1000X.....	43
4.4 Gambaran histologis jaringan pulpa gigi molar satu kiri bawah tikus Wistar jantan kelompok kontrol, kelompok kalsium hidroksida (K1), dan kelompok yang diberi pasta biji kopi robusta 75% (K2) pada perbesaran 400X dengan pewarnaan HE	44
4.5 Histogram rerata jumlah sel makrofag tikus wistar jantan pada kelompok kontrol, kelompok kalsium hidroksida dan kelompok pasta biji kopi Robusta pada hari ke-1, 3, 5, dan 7	45
4.6 Histogram rerata jumlah sel limfosit tikus wistar jantan pada kelompok kontrol, kelompok kalsium hidroksida dan kelompok pasta biji kopi Robusta pada hari ke-1, 3, 5, dan 7	46

DAFTAR LAMPIRAN

A. Surat <i>Ethical Clearance</i>	59
B. Dosis Ketamin	60
C. Hasil Penghitungan Jumlah Sel Makrofag	61
D. Hasil Penghitungan Jumlah Sel Limfosit	66
E. Analisis Data	71
F. Foto Penelitian	80
G. Pengamatan Histologis	88
H. Surat Ijin Penelitian di Lab Farmakologi	91
I. Surat Ijin Penelitian di Lab Patologi Anatomi	92

DAFTAR SINGKATAN

Ca(OH) ₂	: Kalsium Hidroksida
CGA	: <i>Chlorogenic Acid</i>
HE	: <i>Haematoxillin Eosin</i>
IL-1	: Interleukin-1
IL-2	: Interleukin-2
LSD	: <i>Least Significance Different</i>
MHC	: <i>Major Histocompatibility Complex</i>
PMN	: <i>Polymorphonuclear Neutrophil</i>
TLRs	: <i>Toll-Like Receptors</i>

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Prevalensi penyakit pulpa gigi di Indonesia tergolong masih tinggi. Menurut Profil Data Kesehatan Indonesia tahun 2010, penyakit pulpa dan periapiks menduduki urutan ke-7 penyakit rawat jalan rumah sakit di Indonesia. Demikian pula data dari Departemen Kesehatan, rumah sakit umum pemerintah daerah Jawa Timur mencatat kasus penyakit pulpa dan periapiks yang terus meningkat dari tahun ke tahun, sebanyak 8.044 kasus pada tahun 2006, 13.040 kasus pada tahun 2007, 35.775 kasus pada tahun 2008, dan 52.688 kasus pada tahun 2010 (RI DK, Profil Kesehatan Indonesia). Berdasarkan data tersebut, diperkirakan prevalensi penyakit pulpa dan periapiks masih terus mengalami peningkatan hingga tahun 2017.

Penyakit pulpa gigi yang banyak terjadi yaitu pulpitis. Pulpitis adalah suatu proses inflamasi pada jaringan pulpa yang umumnya merupakan lanjutan dari proses karies, dan apabila tidak dirawat dapat menyebabkan kematian pulpa. Selama ini pulpitis ditentukan dengan adanya keluhan rasa sakit yang bersifat subyektif. Secara klinis, pulpitis dibagi menjadi *reversible pulpitis* dan *irreversible pulpitis*. Hal penting dalam menentukan diagnosis pulpitis adalah jaringan pulpa tersebut masih dapat dipertahankan atau sudah tidak dapat dipertahankan lagi (Widodo, 2005).

Reversible pulpitis merupakan inflamasi pada pulpa yang tidak parah, apabila penyebabnya dihilangkan, inflamasi akan menghilang dan pulpa akan kembali normal. Stimulus ringan seperti karies insipien, erosi servikal, atau atrisi oklusal, sebagian besar prosedur operatif, kuretase periodontal yang dalam, dan fraktur email yang menyebabkan tubulus dentin terbuka adalah faktor yang dapat mengakibatkan *reversible pulpitis*. Apabila *reversible pulpitis* dibiarkan dan tidak segera ditangani, inflamasi dapat berkembang menjadi *irreversible pulpitis* hingga nekrosis pulpa (Torabinejad *et al.*, 2014).

Salah satu metode perawatan inflamasi pulpa pada tahap *reversible pulpitis* adalah dengan dilakukan *pulp capping*. Terdapat dua jenis perawatan *pulp capping* dewasa ini, yaitu *indirect pulp capping* dan *direct pulp capping*. *Indirect pulp capping* adalah perawatan yang diberikan pada pulpa gigi tidak terbuka atau masih tertutup oleh lapisan dentin yang tipis, kemudian diberi bahan pelindung, sedangkan *direct pulp capping* merupakan suatu prosedur penutupan pulpa dengan *dressing* atau basis protektif yang diletakkan langsung diatas daerah pulpa yang terbuka. *Direct pulp capping* di aplikasikan sesegera mungkin pada pulpa yang terbuka oleh karena faktor trauma atau tereksposnya pulpa secara tidak sengaja selama preparasi kavitas (Ingle *et al.*, 2008). Tujuan dari *pulp capping* adalah untuk mempertahankan vitalitas pulpa dan merangsang proses penyembuhan di dalamnya.

Bahan *pulp capping* yang biasa digunakan dalam praktek kedokteran gigi adalah kalsium hidroksida. Kalsium hidroksida dipercaya dapat merangsang pembentukan jembatan dentin. Namun penelitian jangka panjang menunjukkan adanya kelemahan kalsium hidroksida dalam ikatannya terhadap dentin, dan terjadi *tunnel defect* pada pembentukan jembatan dentin sehingga memudahkan masuknya bakteri yang memperlambat proses penyembuhan, serta pHnya yang sangat tinggi yaitu 11-13 hal ini dapat mengakibatkan nekrosis *liquefaction* pada jaringan pulpa (Bogen *et al.*, 2008). Disamping itu, hampir semua bahan artifisial yang dipergunakan dalam perawatan kedokteran gigi terdiri dari senyawa yang umumnya bersifat toksik, serta menimbulkan respon penolakan benda asing dari tubuh manusia (Soerono, 2003). Di dalam jaringan pulpa terdapat beberapa komponen yang berperan dalam proses pertahanan jaringan terhadap cedera mekanis, kimia maupun *thermis*, meliputi perubahan progresif jaringan, berupa kerusakan jaringan sejak terkena trauma sampai pada pemulihannya. Proses tersebut diantaranya diperantarai oleh sel makrofag dan sel limfosit (Grossman, 2013).

Alasan menggunakan sel makrofag sebagai indikator adalah karena makrofag merupakan leukosit yang berperan dalam mengaktivasi sistem imun dengan menelan, memproses, menyimpan antigen dan menyampaikan informasi kepada limfosit dan

sel plasma (Grossman, 2013). Sedangkan alasan menggunakan sel limfosit sebagai indikator adalah karena sel limfosit adalah sel yang berperan dalam merespon mikroba dengan cara membangkitkan respon kekebalan efisien dan selektif yang bekerja di seluruh tubuh untuk mengeluarkan suatu benda asing (Campbell, 2010). Saraf (2006) menyatakan bahwa keberadaan sel makrofag dan sel limfosit yang berlebih dapat menimbulkan destruksi pada jaringan, oleh karena itu dibutuhkan suatu antiinflamasi. Antiinflamasi tersebut dapat diperoleh dari tanaman herbal, salah satunya biji kopi Robusta. Biji kopi Robusta merupakan komoditas unggulan yang dikembangkan di Jember. Kandungan kimia kopi seperti flavonoid, xanthine, asam klorogenat, polifenol dapat berfungsi sebagai antiinflamasi, antibakteri, dan antioksidan. (Natella *et al.*, 2008).

Salah satu mekanisme antiinflamasi dari biji kopi Robusta diperantarai oleh flavonoid. Flavonoid bekerja dengan menghambat enzim siklooksigenase yang merubah asam arakidonat menjadi prostaglandin dan menghambat enzim lipooksigenase yang merubah asam arakidonat menjadi leukotrien. Sehingga dengan dihambatnya kedua enzim ini, produksi sel-sel radang akan menurun (Sabir, 2003). Selain itu, terdapat mekanisme antibakteri dari biji kopi Robusta yang diperantarai oleh flavonoid dan *xanthine*. Mekanisme antibakteri ini bekerja dengan menginaktifkan sistem enzim bakteri serta merusak dinding sel bakteri yang menyebabkan bocornya metabolit penting, sehingga keadaan ini dapat menyebabkan kematian bakteri pemicu peradangan (Ramanaviciene *et al.*, 2003).

Penelitian menggunakan pasta biji kopi Robusta sebagai bahan *pulp capping* dengan konsentrasi 25%, 50%, 75% telah dilakukan sebelumnya dan diteliti pengaruhnya. Hasil penelitian tersebut menyatakan bahwa pasta biji kopi Robusta dengan konsentrasi 75% mempunyai efek antiinflamasi yang paling baik (Dewanti, 2016). Berdasarkan uraian diatas, peneliti ingin menguji secara laboratoris *in vivo* untuk mengetahui bagaimana efektivitas pasta biji kopi Robusta (*Coffea robusta*) sebagai bahan *direct pulp capping* dengan konsentrasi 75% terhadap jumlah sel makrofag dan sel limfosit.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka permasalahan yang dapat dirumuskan adalah bagaimana efektivitas pasta biji kopi Robusta (*Coffea robusta*) sebagai bahan *direct pulp capping* terhadap jumlah sel makrofag dan sel limfosit pulpa gigi?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitas pasta biji kopi Robusta (*Coffea robusta*) sebagai bahan *direct pulp capping* terhadap jumlah sel makrofag dan dan sel limfosit pulpa gigi.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diperoleh dari penelitian ini adalah:

1. Memberikan informasi kepada masyarakat dan tenaga medis tentang alternatif penggunaan pasta biji kopi Robusta sebagai bahan *direct pulp capping* yang efektif, non toksik, murah dan mudah didapat.
2. Memberikan informasi kepada masyarakat dan tenaga medis dalam mendukung upaya peningkatan kesehatan gigi dan mulut melalui pemanfaatan tanaman kopi yang banyak dijumpai di daerah Jember.
3. Sebagai landasan untuk penelitian di masa mendatang.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Pulpitis

2.1.1 Pengertian Pulpitis

Pulpitis merupakan suatu inflamasi pada pulpa yang disebabkan oleh penumpukan darah yang berlebihan yang disebabkan oleh kongesti vaskular. Hal tersebut dapat terjadi oleh karena iritasi pada pulpa (Tarigan, 2015). Menurut *Strangulation Theory* mengatakan bahwa pulpa yang teriritasi terjadi inflamasi lokal yang dapat menyebabkan peningkatan tekanan kapiler dan permeabilitas. Hasilnya terjadi peningkatan filtrasi dari kapiler ke ruang pulpa hingga terjadi peningkatan tekanan pada pulpa yang dapat menimbulkan gejala sakit (Garg dan Garg, 2014)

2.1.2 Etiologi Pulpitis

Pulpitis adalah radang pada jaringan pulpa gigi, yang dapat bersifat akut, kronis, dan kronis eksaserbasi akut, bergantung pada proses patogenesis dan etiologinya. Akhir-akhir ini akibat perawatan dan pemakaian bahan-bahan kedokteran gigi juga merupakan faktor penyebab yang perlu diteliti lebih lanjut di samping penyebab lainnya seperti trauma dan lain-lain. Letak jaringan pulpa yang terlindung oleh email dan dentin yang kuat dan keras, merupakan suatu keuntungan bagi jaringan pulpa dalam mempertahankan diri terhadap rangsang. Namun jaringan keras tersebut bersifat permeabel sehingga mudah dipengaruhi oleh rangsangan eksternal, seperti suhu, tekanan, zat kimia, dan lain-lainnya (Seorono, 2003). Etiologi pulpitis ditunjukkan pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Etiologi Pulpitis

I. Fisis
A. Mekanis
1. Trauma
a. Kecelakaan (olahraga kontak)
b. Prosedur gigi <i>iatrogenic</i> (pemasangan baji pada gigi, preparasi atau mahkota, dll.)
2. Pemakaian patologik (atrasi, abrasi, dll.)
3. Retak melalui badan gigi (sindroma gigi retak)
4. Perubahan <i>barometric</i> (barodontalgia)
B. Termal
1. Panas berasal dari preparasi kavitas, pada kecepatan rendah atau terlalu tinggi
2. Panas eksotermik karena menjadi kerasnya (<i>setting</i>) semen
3. Konduksi panas dan dingin melalui tumpatan yang ada dalam suatu bahan dasar protektif
4. Panas friksional (pergesekan) disebabkan oleh pemolesan restorasi
C. Listrik (arus galvanik dari tumpatan metalik yang tidak sama)
II. Kimiawi
A. Asam fosfat, monomeric akrilik, dll.
B. Erosi (asam)
III. Bakterial
A. Toksin yang berhubungan dengan karies
B. Invasi langsung pulpa dari karies atau trauma
C. Kolonisasi mikrobial di dalam pulpa oleh mikroorganisme <i>blood-borne</i> (anakoresis)

Sumber: Grossman (2013).

2.1.3 Klasifikasi Pulpitis

Klasifikasi dan diagnosis penyakit pulpa biasanya didasarkan pada tanda dan gejala klinis oleh karena sedikit atau tidak adanya korelasi antara data histologik penyakit pulpa dan gejalanya (Grossman, 2013).

A. *Reversible pulpitis*

Reversible pulpitis merupakan suatu kondisi inflamasi pulpa yang tidak parah, ringan hingga sedang. Apabila penyebabnya dihilangkan, inflamasi akan pulih kembali dan pulpa kembali normal. Namun, apabila *reversible pulpitis* dibiarkan dan tidak segera ditangani bisa menyebabkan pulpitis lebih parah, yaitu *irreversible*

pulpitis hingga nekrosis. *Reversible pulpitis* dapat disebabkan karena adanya trauma oklusi, stimulus kimiawi misalnya bahan makanan manis serta bakteri karies, dehidrasi kavitas dengan alkohol atau kloroform yang berlebihan, rangsangan pada leher gigi yang dentinnya terbuka atau syok termal misalnya karena bur yang terlalu lama menyebabkan panas (Torabinejad *et al.*, 2014). Gejala *reversible pulpitis* ada yang simptomatik dan asimtomatik. Gejala simptomatik berupa rasa sakit ngilu saat minum manis, asam, panas, atau dingin. Tidak timbul secara spontan dan tidak berlanjut apabila penyebabnya dihindari, sedangkan gejala asimtomatik dapat disebabkan oleh karies yang baru mulai dan dapat normal kembali apabila karies dihilangkan dan gigi direstorasi dengan baik (Tarigan, 2015).

B. *Irreversible pulpitis*

Irreversible pulpitis merupakan inflamasi pada pulpa yang terus-menerus dengan atau tanpa gejala dan disertai dengan kerusakan jaringan pulpa meskipun rangsangan dihilangkan. Penyebab utama *irreversible pulpitis* adalah bakteri. Penyebab lainnya diantaranya, makanan manis, stimulus termis, mekanis, kimiawi dan asam. Gejala pada pasien *irreversible pulpitis* dapat berupa akut atau kronis. Akut apabila terjadi sakit terus menerus, spontan, dan bisa menjalar, sakit yang tajam, rasa sakit bertahan beberapa menit sampai berjam-jam tetap ada meskipun stimulus dihilangkan. Gejala kronis apabila pasien tanpa gejala dan biasanya sudah terjadi drainase eksudat. Yang termasuk *pulpitis irreversible* adalah *acute irreversible pulpitis*, *chronic irreversible pulpitis*, dan *chronic hiperplastic pulpitis* (Tarigan, 2015).

C. Nekrosis Pulpa

Nekrosis pulpa adalah kematian pulpa yang merupakan proses lanjutan dari radang pulpa akut maupun kronis atau terhentinya sirkulasi darah secara tiba-tiba akibat trauma. Nekrosis pulpa dapat parsial atau total. Nekrosis parsial menunjukkan gejala seperti *irreversible pulpitis* dengan nyeri spontan sedangkan nekrosis pulpa

total tidak menunjukkan gejala dan tidak ada respon terhadap tes termal dan tes listrik (Tarigan, 2015).

2.1.3 Mekanisme Inflamasi Pada Pulpa

Jaringan pulpa akan memberikan suatu respon inflamasi sejak lapisan email terbuka oleh rangsangan eksternal seperti cedera mekanik, termis, kimia atau bakteri. Proses ini diawali dengan adanya rangsangan pada jaringan pulpa yang nantinya akan mengaktifkan enzim fosfolipase untuk mengubah fosfolipid menjadi asam arakidonat. Kemudian oleh enzim siklooksigenase, asam arakidonat sebagian diubah menjadi endoperoksida yang akhirnya menjadi prostaglandin. Prostaglandin ini mempunyai efek pada permeabilitas pembuluh darah dan sel-sel radang yang nantinya terlibat dalam proses inflamasi. Sedangkan bagian lain dari asam arakidonat akan diubah oleh enzim lipooksigenase menjadi hidroperoksida dan leukotrien. Leukotrien ini bertanggung jawab terhadap perubahan dalam permeabilitas pembuluh darah dan kemosistesis sel-sel radang (Ganiswara, 2005).

Adanya rangsangan eksternal pada jaringan pulpa, akan mulai terlihat adanya lapisan odontoblas yang cedera. Odontoblas adalah sel bentukan dentin yang membentang kedalam tubuli dentin dan merupakan sel pertama yang menghadapi injuri (Hargreaves *et al.*, 2011). Respon odontoblas mendeteksi injuri melalui *Toll-Like Receptors* (TLRs) yang diekspresikan oleh odontoblas (Takeda *et al.*, 2003). Bila intensitas injuri lebih besar, maka dapat timbul cedera pada jaringan pulpa yang lebih luas dan dalam. Odontoblas akan memproduksi sitokin pro-inflamasi seperti (TNF α dan IL-1) dan prostaglandin. Sitokin hasil produksi odontoblas akan berinteraksi dengan sel endotel pembuluh darah, mengubah sistem mikrosirkulasi dalam jaringan pulpa, sehingga terjadi hambatan aliran darah dan metabolisme dalam jaringan. Mula-mula terjadi vasodilatasi sistem mikrovaskularisasi yang menyebabkan sirkulasi darah menjadi statis. Di dalam arteri terjadi mobilisasi leukosit, sel-sel polimorfonuklear neutrofil (PMN) mengadakan marginasi yang dilanjutkan dengan emigrasi ke jaringan sekitarnya. Hal ini mengakibatkan

pengumpulan eksudat di jaringan untuk proses fagositosis, keadaan ini disebut inflamasi akut (Robbins *et al.*, 2007 ; Ingle *et al.*, 2008).

Polimorfonuklear neutrofil (PMN) berperan pada respon inflamasi akut dan hanya berumur pendek (24-36 jam). Neutrofil akan mulai mati setelah menghancurkan iritan dan jaringan yang rusak melalui proses fagositosis. Kemudian sisa benda asing dan luruhan sel yang tidak terfagosit oleh neutrofil akan di fagositosis oleh makrofag sebagai pertahanan lini kedua untuk mengisolasi, menghancurkan, atau mengaktifkan pertahanan, membersihkan debris, dan mempersiapkan proses penyembuhan dan perbaikan (Sherwood, 2011). Makrofag yang teraktivasi akan mensekresi IL-1 dan IL-12 setelah memproses antigen. *Interleukin-1* akan memberi sinyal kepada limfosit-T *helper* untuk berikatan dengan molekul MHC klas II pada makrofag dan IL-12 berperan pada aktivasi limfosit. Waktu yang dibutuhkan oleh limfosit untuk produksi dan diferensiasi menjadi sel efektor adalah sekitar 3 sampai 5 hari, dan selanjutnya limfosit akan keluar dari vaskularisasi menuju ke jaringan. Keadaan ini dapat terjadi terus-menerus dan berlangsung selama lebih dari seminggu, berbulan-bulan bahkan bertahun-tahun (Raven *et al.*, 2007).

2.1.5 Sel Inflamasi Di Dalam Pulpa

Inflamasi di dalam pulpa gigi dapat akut atau kronis bergantung pada tingkat histologi dan jenis sel yang dominan. Sel neutrofil merupakan sel inflamasi pertama yang melakukan migrasi dari pembuluh darah ke tempat cedera. Polimorfonuklear neutrofil (PMN) tertarik ke daerah inflamasi oleh faktor kemotaktik yang dihasilkan oleh bakteri. Polimorfonuklear neutrofil (PMN) hanya berumur pendek 24-36 jam. Sel ini memiliki inti bersegmen seperti kacang, tapal kuda, dan diameter 10-12 μm . Segmen/lobus dari inti 2-4 buah. Inti terisi penuh oleh butir-butir kromatin padat sehingga mengikat zat warna basa menjadi biru atau ungu (Torabinejad *et al.*, 2014).

Makrofag merupakan leukosit produk monosit yang telah berdiferensiasi. Makrofag berdiameter 10 – 30 μm , bentuk tidak teratur, inti lonjong atau bentuk ginjal letak exentrik, mengandung granula azurofilik, dan bergerak secara amuboidal. Makrofag merupakan penstimulus dalam produksi monosit dan granulosit disussum tulang yang nantinya membantu dalam menghilangkan radang. Penyebab dari peningkatan produksi tersebut dikarenakan sel ini dapat mengeluarkan faktor-faktor seperti $\text{TNF-}\alpha$, IL-1, faktor perangsang koloni granulosit dan faktor perangsang koloni monosit (Guyton dan Hall, 2008). Makrofag mengaktifasi sistem imun dengan menelan, memproses, menyimpan antigen dan menyampaikan informasi kepada limfosit dan sel plasma (Grossman, 2013). Pada pemeriksaan histopatologi dengan pewarnaan *hematoxylin-eosin* (HE) di bawah mikroskop, makrofag berbentuk ireguler dan berwarna kebiruan dengan granula hasil fagositosis berwarna kecoklatan (Kiernan, 2008).

Limfosit muncul pada reaksi inflamasi kronis, memiliki diameter rata-rata 10 μm , nukleus berukuran besar dan kaya akan kromatin. Nukleus umumnya berbentuk bulat, tapi juga dapat berbentuk seperti kacang (pada limfosit dewasa). Limfosit terbagi menjadi dua jenis utama, yaitu limfosit B (sel B) dan limfosit T (sel T). Kedua jenis sel ini melakukan aktivitas pertahanan yang berbeda namun saling melengkapi (Ganong, 2002). Sel T merupakan sel limfosit yang mengalami pematangan di timus, sedangkan sel B merupakan sel limfosit yang pematangannya tetap berada di sumsum tulang. Sel B adalah sel yang berperan dalam pembentukan antibodi jika berhadapan dengan antigen tubuh (Campbell et al., 2010).

2.2 Pulp Capping

Mempertahankan pulpa yang sehat dan utuh merupakan pilihan yang lebih baik dibandingkan dengan perawatan saluran akar atau prosedur endodonsia lainnya, mengingat bahwa perawatan tersebut memakan waktu, rumit dan mahal. Dalam menghadapi suatu lesi karies yang dalam, beberapa ahli menganjurkan tindakan *pulp*

capping. *Pulp capping* merupakan suatu prosedur untuk mencegah terbukanya pulpa selama pembuangan dentin yang terkena karies yang kemudian diaplikasikan semen *zinc oxide eugenol* atau kalsium hidroksida di atas sisa dentin guna menekan invasi bakteri (Torabinejad *et al.*, 2014).

2.2.1 Jenis-Jenis *Pulp Capping*

Terdapat 2 jenis perawatan *pulp capping* dewasa ini, yaitu *direct pulp capping* dan *indirect pulp capping*.

A. *Direct Pulp Capping*

Perawatan *direct pulp capping* adalah tindakan pemeliharaan pulpa gigi yang terbuka dengan pemberian bahan pelindung. Indikasi dari *direct pulp capping* yaitu : (1) pulpa masih vital, (2) gigi sulung dengan pulpa terbuka karena sebab mekanis dan ukuran tidak lebih dari 1 mm², (3) gigi permanen dengan pulpa terbuka karena sebab mekanis, lebarnya tidak lebih dari 1 mm² dan tidak ada gejala, (4) pulpa yang terbuka akibat karies bukan merupakan indikasi karena pulpa sudah terinfeksi oleh bakteri, (5) usia dari pulpa (tingkat keberhasilan perawatan lebih tinggi pada gigi permanen di bawah usia 30 tahun oleh karena pulpa memiliki suplai darah yang lebih baik). Adanya nyeri spontan, nyeri pada malam hari, pembengkakan, fistula, gigi goyang secara patologis, resorpsi akar eksterna atau interna, radiolusensi di periapiks atau di antara akar, adanya kalsifikasi jaringan pulpa, perdarahan yang banyak sekali pada tempat terbukanya pulpa serta terdapat pus atau eksudat merupakan kontraindikasi dalam perawatan *direct pulp capping* (Ingle *et al.*, 2008).

B. *Indirect Pulp Capping*

Indirect pulp capping adalah perawatan yang diberikan pada pulpa gigi tidak terbuka atau masih tertutup oleh lapisan dentin yang tipis, kemudian diberi bahan pelindung. Indikasi *indirect pulp capping*, yaitu : (1) gigi vital dengan karies profunda yang belum perforasi dengan lapisan dentin yang tipis, (2) tidak ada keluhan spontan, (3) pada gigi sulung/dewasa muda yang kaya dengan suplai darah dan daya

tahan tubuh tinggi. Kontraindikasi perawatan *indirect pulp capping* adalah : (1) gigi vital dengan pulpa meradang, (2) terdapat fistula, (3) goyang patologis, (4) terdapat resorpsi akar interna/eksterna, (5) kalsifikasi pulpa (Ingle *et al.*, 2008).

Indirect pulp capping nantinya akan merangsang pembentukan dentin reaksioner, sementara *direct pulp capping* merangsang dalam pembentukan dentin reparatif oleh jembatan dentin, yang akan menutup hampir keseluruhan pulpa yang terbuka (A. Njeh *et al.*, 2016).

Pulpa memiliki sel khusus yaitu odontoblas yang membentuk dentin seumur hidup. Hal ini bertujuan untuk menjaga kesehatan pulpa dengan mengimbangi kehilangan enamel dan dentin akibat karies atau keausan gigi. Odontoblas membentuk dentin reaksioner dan dentin reparatif sebagai respon terhadap stimulus injuri. Dentin reaksioner akan terlihat pada injuri dengan intensitas sedang, seperti masa prekavitas pada karies enamel dan proses lambat pada lesi dentin. Dentin reparatif terbentuk di permukaan pulpa dan hanya terlokalisir di dekat bagian yang terkena iritasi. Dentin reparatif akan terbentuk setelah injuri mencapai intensitas yang lebih besar. Ketika keausan gigi sudah melewati lapisan enamel dan menyebabkan dentin terpapar, maka dentin reparatif akan dibentuk di permukaan pulpa tepat dibawah dentin yang telah terpapar. Pembentukan dentin ini bertujuan untuk mencegah pulpa terpapar oleh mineral-mineral asing. Selain dentin reaksioner dan dentin reparatif, adapula dentin primer dan dentin sekunder. Dentin primer merupakan dentin yang pertama kali terbentuk sebelum erupsi gigi sampai gigi erupsi sempurna. Dentin primer memenuhi fungsi formatif pulpa. Sedangkan dentin sekunder mulai terbentuk setelah erupsi gigi dan berlanjut dengan sangat lambat sepanjang umur gigi, terdeposisi secara tidak rata pada dentin primer, dan perlahan-lahan akan memreduksi ruang pulpa seiring bertambahnya umur. Deposisi dentin sekunder ini akan melindungi pulpa (Grossman, 2013).

2.2.2 Syarat Bahan *Pulp Capping*

Bahan *pulp capping* harus memenuhi syarat biokompatibilitas yang dapat diterima tubuh atau dengan kata lain tidak membahayakan penggunaannya. Idealnya bahan yang diletakkan dalam rongga mulut tidak boleh membahayakan jaringan pulpa dan jaringan lunak rongga mulut. Selain itu, bahan *pulp capping* harus memiliki sifat ideal, yaitu dapat merangsang pembentukan dentin reparatif, dapat mempertahankan vitalitas pulpa, bersifat bakterisida atau bakteriostatik, adesif pada dentin dan bahan restoratif, tahan terhadap tekanan selama penempatan restorasi dan selama masa restorasi, steril, bersifat radiopaque dan memberikan segel bakteri (Qureshi, 2014).

Bahan *pulp capping* juga harus tidak mengandung bahan toksik yang mampu berdifusi dan dapat diabsorpsi ke dalam sistem sirkulasi tubuh yang menyebabkan reaksi toksik secara sistemik. Bahan yang digunakan harus bebas dari agen-agen *sensitizing* yang dapat berperan menimbulkan alergi dan seharusnya tidak karsinogenik (Kenneth, 2003).

2.2.3 Bahan *Pulp Capping*

Saat ini banyak bahan yang tersedia sebagai prosedur perawatan *pulp capping*, beberapa diantaranya :

A. Zinc Oxide Eugenol

ZOE telah digunakan dalam kedokteran gigi selama bertahun-tahun sebagai basis, liners, semen dan bahan restoratif sementara. Namun penggunaannya untuk *direct pulp capping* masih dipertanyakan, dikarenakan eugenol sangatlah sitotoksik (Huang *et al.*, 2006). Hal ini diketahui bahwa ZOE dapat melepaskan eugenol dalam konsentrasi yang sitotoksik. Manfaat eugenol dalam pengendalian nyeri disebabkan karena kemampuan memblokir transmisi impuls saraf. Selain itu, penelitian menunjukkan terjadinya inflamasi kronis setelah aplikasi ZOE. ZOE juga menyebabkan kebocoran tepi yang tinggi. Meskipun telah tercatat bahwa kebocoran

ini tidak penting karena ZOE dapat memberikan segel biologis dari pelepasan eugenol, namun pelepasan eugenol ini dapat menurun secara drastis seiring berjalannya waktu. ZOE tidak lagi digunakan saat ini karena menyebabkan resorpsi internal dan tingkat kesuksesannya hanya 55-57% (Torabinejad *et al.*, 2014).

B. Kalsium Hidroksida

Dalam bidang kedokteran gigi kalsium hidroksida merupakan bahan perlindungan pulpa yang digunakan sejak lama dan secara luas pada perawatan endodontik karena kemampuannya dalam penyembuhan jaringan. Kalsium hidroksida memiliki sifat yang sangat basa sehingga memiliki aktivitas antibakteri yang tinggi terhadap bakteri mulut dan berperan penting dalam inisiasi proses remineralisasi. Pelepasan ion hidroksil dari kalsium hidroksida yang tinggi dapat membunuh mikroorganisme penyebab peradangan. Ion hidroksil bekerja dengan mendenaturasi protein dan menghidrolisis lemak lipopolisakarida (LPS) seperti pirogenitas, toksisitas, aktivasi makrofag dan komplemen, sehingga dinding sel rusak dan mengakibatkan kematian bakteri (Widyasri, 2010). Kalsium hidroksida juga merupakan bakterisid karena bersifat alkali dengan pH 11-13. Peningkatan ion OH^- , menjadikan kemungkinan bakteri untuk hidup rendah sekali, sedangkan ion Ca^{2+} dari kalsium hidroksida dipercaya memiliki khasiat dalam merangsang pembentukan jembatan dentin dan memelihara vitalitas pulpa (Hazrina, 2007).

Kalsium hidroksida tipe *hard setting* merupakan bahan *liners* yang paling sering digunakan oleh dokter gigi dalam praktek sehari-hari dibandingkan bahan *liners* lainnya. Kalsium hidroksida tipe *hard setting* dibedakan menjadi *two paste system* dan *single paste system* yang merupakan kalsium hidroksida dengan bahan pengisi *dimethacrylates*, serta dipolimerisasi menggunakan cahaya. Perbedaan antara bahan kalsium hidroksida tipe *hard setting* dan tipe *non setting* adalah dimana pada bahan kalsium hidroksida tipe *non setting* akan mudah larut secara bertahap di bawah bahan restorasi yang nantinya akan melemahkan fungsi dari restorasi tersebut, sedangkan bahan kalsium hidroksida tipe *hard setting* lebih sukar larut (Van-Noort,

2007). Salah satu bahan kalsium hidoksida tipe *hard setting* yang sering digunakan sebagai bahan *pulp capping* adalah *Hydcal*. *Hydcal* merupakan campuran antara 65.5 g Ca(OH)_2 murni dan 35.5 g eksipien (bahan inaktif). *Hydcal* hadir dengan prinsip kerja *two paste system* yang terdiri dari *base paste* dan *catalyst paste*, penggunaannya yaitu dengan cara mencampurkan *base paste* dan *catalyst paste* dengan perbandingan jumlah yang sama (Gandolfi *et al.*, 2012).

Kalsium hidoksida mempunyai beberapa kekurangan, pada pH 11-13 menyebabkan terjadinya nekrosis *liquefaction* terutama pada lapisan superficial pulpa. Efek toksik dari kalsium hidoksida yang kelihatannya dinetralisir pada lapisan pulpa yang lebih dalam, justru menyebabkan nekrosis koagulasi yang berbatasan dengan jaringan vital, menyebabkan iritasi ringan pada pulpa. Pada proses kesembuhan, terjadi *tunnel defect* pada pembentukan jembatan dentin yang akan memudahkan masuknya bakteri dan memperlambat proses kesembuhan (Bogen *et al.*, 2008).

C. *Mineral Trioxide Aggregate* (MTA)

Mineral trioxide aggregate (MTA) adalah bahan yang biasa digunakan pada perawatan endodontik. Setelah bertahun-tahun berkembang MTA banyak digunakan untuk perawatan klinis termasuk di bidang kedokteran gigi anak, MTA sering digunakan sebagai perawatan apeksifikasi dan apeksogenesis pada gigi permanen muda, pulpotomi gigi disidui dan *pulp capping* gigi permanen. Komposisi MTA terdiri dari tricalcium *silicate*, dicalcium *silicate*, tricalcium *aluminat*, tetracalcium *aluminoferrite*, calcium *sulphate* dan *bismuth oxide*. Bahan dasar MTA adalah *Portland* semen yang terdiri dari Kapur (CaO dan MgO) 65%, Silica (SiO_2) 20%, Oksida besi (Fe_2O_3) dan Alumina (Al_2O_3) 10% dan lainnya 5%. Bahan MTA ini memiliki kandungan bioaktif yang secara esensial dapat menstimulasi pelepasan bakteri dalam pulpa. Saat digunakan MTA harus dicampur dengan air yang steril agar bisa merekat dengan baik pada jaringan pulpa gigi. *Mineral trioxide aggregate* (MTA) bersifat hidropilik yang bisa mengeras (*setting time*) dalam waktu 3-4 jam.

Sejak diperkenalkan tahun 1993, MTA merupakan salah satu bahan kedokteran gigi yang serbaguna dan biokompatibel. *Mineral trioxide aggregate* (MTA) adalah bahan yang paling banyak direkomendasikan dan dirancang dengan komponen fisik yang cocok untuk perawatan pulpotomi serta relatif mudah digunakan dalam kondisi apapun. Sebagai bahan yang mempunyai *sealing ability*, MTA mampu memperbaiki perforasi pada furkasi di saluran akar gigi dan mampu mengurangi kontaminasi bakteri. *Mineral trioxide aggregate* (MTA) juga merupakan bahan dengan biokompatibel yang tinggi serta dapat menginduksi reaksi penyembuhan jaringan dengan sangat baik (Steffen *et al.*, 2009).

Suatu studi menemukan bahwa MTA dapat menginduksi proliferasi sel pulpa, pelepasan sitokin, pembentukan jaringan keras dan sintesis *interface* dengan dentin yang dalam komposisinya menyerupai hidroksiapatit. MTA memiliki kekuatan tekan yang relatif tinggi dan memiliki pH basa tinggi. Studi terbaru yang meneliti pulpotomi parsial atau *direct pulp capping* menggunakan MTA pada manusia telah menunjukkan hasil jangka pendek yang menguntungkan (Bogen *et al.*, 2008).

2.3 Kopi

Kopi merupakan tanaman perkebunan yang sudah lama dibudidayakan. Selain sebagai sumber penghasilan rakyat, kopi juga berperan sebagai komoditas andalan ekspor dan sumber pendapatan devisa negara. Terdapat 4 jenis kelompok kopi yang banyak dikenal, yaitu kopi arabika, kopi robusta, kopi liberika dan kopi ekselsa. Kelompok kopi yang dinilai memiliki nilai ekonomis dan diperdagangkan secara komersial, yaitu kopi arabika dan robusta (Rahardjo, 2012).

Kopi robusta merupakan jenis kopi yang banyak dijumpai di perkebunan daerah Jember. Kopi robusta ditanam pada ketinggian rendah sekitar 200-800 meter dari permukaan laut. Sebaliknya, kopi arabika ditanam di ketinggian 600-2000 meter dari permukaan laut dan memerlukan lebih banyak perhatian khusus serta harus ditanam di daerah yang dingin dengan iklim sub tropik ($15^{\circ} - 24^{\circ}\text{C}$) (Rahardjo, 2012).

Pada jenis Robusta, mempunyai kandungan senyawa antibakteri lebih tinggi dibandingkan dengan kopi jenis Arabika. Salah satunya kandungannya adalah *caffeic acid*, yaitu sebesar 1,6-2,4% sedangkan kopi jenis Arabika hanya 0,9-1,2% (Clarke dan Macrae dalam Ridwansyah, 2003).

2.3.1 Deskripsi dan Taksonomi Kopi Robusta (*Coffea robusta*)



Gambar 2.1 Biji Kopi Robusta (*Coffea robusta*) (Sumber: Rahardjo, 2012)

Kopi robusta memiliki rasa dan bentuk lebih kasar, rasa lebih mengarah pada coklat, beraroma manis, memiliki variasi warna bergantung pada cara pengolahannya. Bentuk biji kopi Robusta bulat dan agak lebih padat daripada biji kopi Arabika yang pipih memanjang. Ukuran biji kopi Robusta juga lebih kecil dan teksturnya sedikit kasar (Gambar 2.1) (Rahardjo, 2012).

Taksonomi tanaman kopi jenis robusta, yaitu :

Kingdom : *Plantae*

Subkingdom : *Tracheobionta*

Super Divisi : *Spermatophyta*

Divisi : *Magnoliophyta*

Kelas : *Magnoliophyta*

Sub Kelas : *Asteridae*

Ordo : *Rubiales*

Famili : *Rubiaceae*

Genus : *Coffea*

Spesies : *Coffea robusta* Lindl. Ex De Will (Tanaman Obat, 2008)

2.3.2 Manfaat Kopi Robusta

Kopi mempunyai nilai ekonomis yang tinggi dan banyak manfaat dibidang medis. Meminum kopi dalam jumlah yang wajar dapat menambah kecepatan berpikir dan inspirasi, menyembuhkan rasa kantuk dan kelelahan, peningkatan sesor stimuli dan reaksi motorik, mendorong aliran sekresi cairan maupun sekresi padat dari dalam tubuh, sehingga bada terasa lebih segar (Ramanaviciene *et al.*, 2003). Harmandini (2009) menyatakan bahwa meminum secangkir kopi setiap hari terbukti dapat mencegah resiko kanker mulut hingga separuhnya. Kafein pada kopi juga dapat menangkal radikal bebas/antioksidan dan menghancurkan molekul yang dapat merusak sel DNA, mengurangi resiko diabetes, mencegah penyakit saraf, menghambat penurunan fungsi kognitif otak, serta sebagai penambah stamina. Sedangkan Namboodiripad (2009), membuktikan adanya zona hambatan kopi terhadap *S. mutans*, dengan demikian dikatakan bahwa kopi diduga dapat menghambat karies gigi.

2.3.3 Kandungan Kimia dan Manfaat Farmakologis Biji Kopi Robusta

Beberapa kandungan kimia dari biji kopi Robusta yang memiliki manfaat farmakologis adalah xanthine, asam klorogenat, fenol dan flavonoid yang dapat berfungsi sebagai antiinflamasi, antibakteri dan antioksidan (Ramanaviciene *et al.*, 2003).

A. Xanthine

Caffeic acid merupakan senyawa kimia hasil metilasi xanthine dengan bentuk dasar heterosiklis. *Caffeic acid* juga dikenal dengan nama 1,3,7 trimetil xanthine. *Caffeic acid* dalam kopi Robusta komposisinya 1,6-2,4% yang mana memiliki peran

penting dalam pengembangan pertahanan tubuh melawan bakteri. Kandungan *caffeic acid* yang merupakan asam organik non-volatil mampu mencegah pertumbuhan bakteri gram positif dan gram negatif, senyawa antibakteri tersebut bekerja dengan merusak membran sitoplasma yang dapat menyebabkan bocornya metabolit penting dan menginaktifkan sistem enzim bakteri. Kerusakan ini memungkinkan nukleotida dan asam amino merembes keluar dan mencegah masuknya bahan-bahan aktif ke dalam sel, keadaan ini dapat menyebabkan kematian bakteri. *Caffeic acid* juga berperan sebagai antioksidan untuk menetralkan radikal bebas sehingga molekul menjadi stabil dan melindungi sel dari kerusakan (Ramanaviciene *et al.*, 2003).

B. Asam Klorogenat

Asam klorogenat atau *chlorogenic acid* (CGA) merupakan ester dari asam kafeat yang merupakan komponen terbanyak dalam kopi. Asam klorogenat mampu melawan radikal bebas yang masuk ke dalam tubuh dengan cara mempertahankan struktur normal sel dan fungsinya. Asam klorogenat bekerja dengan cara masuk ke dalam agen asing dan merusak dinding agen asing tersebut. 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 nantinya akan merangsang sel-sel fibroblas untuk bermigrasi ke daerah luka, dan mempercepat terjadinya penyembuhan (Winarsi, 2007).

C. Fenol

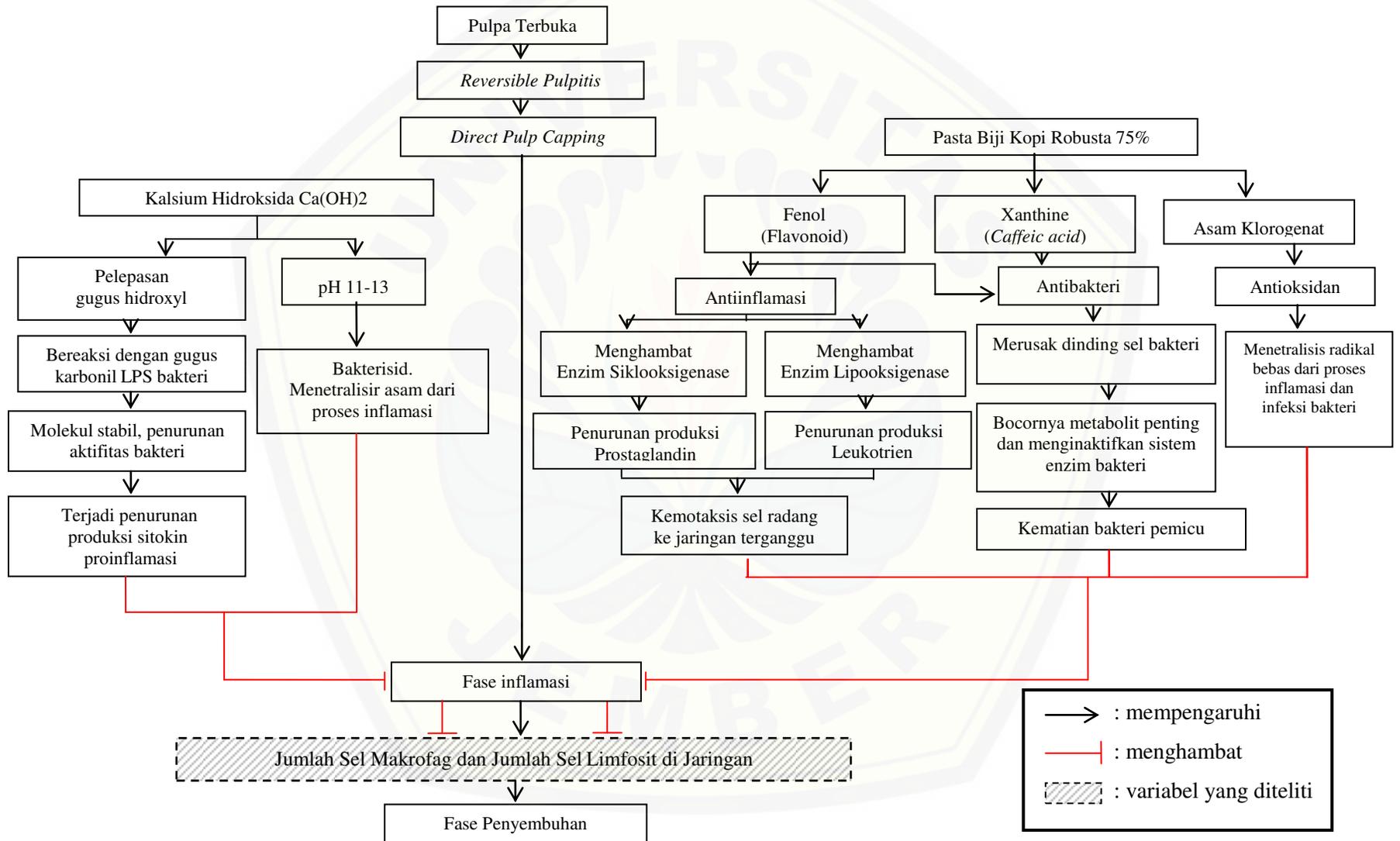
Fenol merupakan senyawa antioksidan kuat yang mampu menetralkan radikal bebas. Radikal bebas sering dikaitkan dengan penyebab kerusakan sel yang berhubungan dengan penuaan. Selain itu fenol juga efektif memperkuat sistem kekebalan tubuh. Fenol memiliki mekanisme penghambatan dengan cara meracuni protoplasma agen infeksi dan merusak dinding agen infeksi serta mengendapkan protein agen infeksi (Prindle *et al.*, 2000).

Fenol ataupun polifenol juga berperan dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme dan produksi toksin bakteri. Senyawa fenol juga dapat berinteraksi

dengan protein membran, menyebabkan perubahan struktur dan fungsinya. Aktivitas antibakteri komponen fenol telah terbukti dapat menghambat beberapa jenis bakteri, terutama bakteri gram positif (Davidson *et al.*, 2005). Pada perusakan membran sitoplasma, ion H⁺ dari senyawa fenol dan turunannya (flavonoid) akan menyerang gugus polar (gugus fosfat) sehingga molekul fosfolipida akan terurai menjadi gliserol, asam karboksilat dan asam fosfat. Hal ini mengakibatkan fosfolipida tidak mampu mempertahankan bentuk membran sitoplasma akibatnya membran sitoplasma akan bocor dan bakteri akan mengalami hambatan pertumbuhan dan bahkan kematian. Flavonoid juga bekerja sebagai antiinflamasi. Banyak mekanisme yang berkontribusi terhadap sifat antiinflamasi flavonoid, diantaranya yaitu; efek dari kemampuan flavonoid memodulasi sintesis prostaglandin dan metabolisme asam arakidonat, serta inhibitor enzim yang kuat (Hoffmann, 2003).

Konsentrasi tinggi dari flavonoid terbukti dapat menghambat pelepasan asam arakidonat dan sekresi enzim lisosom dari membran dengan jalan menghambat jalur siklooksigenase, lipooksigenase dan enzim fosfolipase. Sementara pada konsentrasi rendah, senyawa ini hanya dapat menghambat jalur lipooksigenase. Sehingga dengan terhambatnya pelepasan asam arakidonat dari sel atau jaringan yang terinflamasi menyebabkan kurang tersedianya substrat arakidonat bagi jalur siklooksigenase maupun lipooksigenase dan akhirnya proses peradangan akan menurun (Sabir, 2003). Lipooksigenase sendiri merupakan enzim yang merubah asam arakidonat menjadi leukotrien yang berperan terhadap migrasi leukosit (Wilmana, 2007).

2.4 Kerangka Konsep



Penjelasan

1. Terbukanya pulpa oleh karena kesalahan dalam pemakaian instrumen saat preparasi kavitas (*iatrogenic*) adalah salah satu etiologi yang menyebabkan *reversible pulpitis*. *Reversible pulpitis* adalah keadaan klinis yang ditandai dengan adanya inflamasi ringan hingga sedang dalam jaringan pulpa. Dalam hal ini, *reversible pulpitis* sesegera mungkin harus dirawat untuk mempertahankan vitalitas pulpa dengan *direct pulp capping*.
2. Bahan yang digunakan dalam perawatan *direct pulp capping* pada penelitian ini adalah kalsium hidroksida Ca(OH)_2 dan pasta biji kopi Robusta.
3. Kalsium hidroksida Ca(OH)_2 dan pasta biji kopi Robusta sebagai bahan *direct pulp capping* mempunyai mekanisme yang berbeda dalam menyembuhkan *reversible pulpitis*.
 - *Direct pulp capping* dengan kalsium hidroksida Ca(OH)_2 mempunyai pH 11-13 yang bersifat bakterisid berpengaruh dalam menetralkan asam dari proses inflamasi. Selain itu *direct pulp capping* dengan kalsium hidroksida Ca(OH)_2 berpengaruh sebagai antiinflamasi dengan melepaskan gugus hidroksil yang nantinya bereaksi dengan gugus karbonil LPS bakteri. Menghasilkan molekul yang stabil. Sehingga terjadi penurunan signifikan produksi mediator sitokin proinflamasi seperti $\text{TNF } \alpha$. Mekanisme dari kalsium hidroksida ini akan menghambat adanya fase inflamasi.
 - *Direct pulp capping* dengan pasta biji kopi Robusta dengan kandungan utama flavonoid, xanthine, dan asam klorogenat yang mempunyai pengaruh sebagai antiinflamasi, antibakteri, dan antioksidan. Flavonoid pada biji kopi Robusta berpengaruh sebagai antiinflamasi dengan menghambat enzim siklooksigenase yang merubah asam arakidonat menjadi prostaglandin dan menghambat enzim lipooksigenase yang merubah asam arakidonat menjadi leukotrien, hal ini menyebabkan terjadinya gangguan kemotaksis sel radang ke jaringan. Serta pengaruh

antibakteri dari biji kopi Robusta yang diperantarai oleh xanthine dan flavonoid bekerja dengan merusak dinding sel bakteri yang dapat menyebabkan bocornya metabolit penting dan menginaktifkan sistem enzim bakteri. Kerusakan ini memungkinkan nukleotida dan asam amino merembes keluar dan mencegah masuknya bahan-bahan aktif ke dalam sel, keadaan ini dapat menyebabkan kematian bakteri. Selain itu adanya pengaruh antioksidan dari biji kopi Robusta yang diperantarai oleh asam klorogenat dengan menetralkan radikal bebas hasil proses inflamasi dan infeksi bakteri, sehingga sel terlindungi dari kerusakan yang ditimbulkan proses inflamasi. Ketiga mekanisme ini (antiinflamasi, antibakteri, antioksidan) bekerja bersamaan dalam menghambat fase inflamasi.

4. Masing-masing pengaruh mekanisme pasta biji kopi Robusta dan kalsium hidroksida ini akan menghambat fase inflamasi pada pulpa gigi, sehingga berpengaruh pada jumlah sel makrofag dan sel limfosit pada jaringan pulpa.
5. Setelah fase inflamasi, dilanjutkan dengan fase penyembuhan yang akan merangsang pembentukan barrier substansi keras pada jaringan pulpa didekatnya.

2.5 Hipotesis

Pasta biji kopi Robusta (*Coffea robusta*) sebagai bahan *direct pulp capping* efektif dalam menurunkan jumlah sel makrofag dan sel limfosit pulpa gigi.

BAB III. 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, 2012). Dilakukan secara langsung pada gigi molar 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*.

3.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di laboratorium Biomedik Bagian Fisiologi dan Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada Bulan Desember-Februari 2016.

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah pasta biji kopi Robusta (*Coffea robusta*) dengan konsentrasi 75%.

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah jumlah sel makrofag dan sel limfosit di pulpa.

3.4.3 Variabel Terkendali

Variabel Terkendali pada penelitian ini adalah :

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

3.5 Definisi Operasional

3.5.1 Pasta Biji Kopi Robusta 75%

Pasta biji kopi Robusta merupakan sediaan semi-padat yang didapatkan dari pencampuran 75% ekstrak biji kopi Robusta (*Coffea robusta*) dengan 25% bahan plasebo atau bahan dasar pembuat pasta. Kopi didapatkan dari bubuk kopi murni Rolas produksi PTP XII daerah Jember Jawa Timur kemudian diekstrak dan dibuat menjadi pasta di Fakultas Farmasi Universitas Jember.

3.5.2 Sel Makrofag

Sel makrofag merupakan sel yang berbentuk bulat dan berukuran lebih besar daripada sel lainnya. Inti sel makrofag berbentuk ginjal, berwarna keunguan, serta dikelilingi oleh sitoplasma berwarna merah muda transparan. Pengamatan sel makrofag dilakukan pada jaringan pulpa gigi tikus Wistar jantan, dengan pewarnaan *Haematoxylin Eosin* (HE), perbesaran 400X, diamati menggunakan *Optilab* yang telah tersambung dengan mikroskop binokuler.

3.5.3 Sel Limfosit

Sel limfosit merupakan sel yang berbentuk bulat, memiliki inti bulat, berwarna keunguan yang besarnya hampir sama dengan besar sel, dan di sekitar inti sel terdapat sedikit sitoplasma berwarna merah muda transparan yang hampir tidak terlihat. Pengamatan sel limfosit dilakukan pada jaringan pulpa gigi tikus Wistar jantan, dengan pewarnaan *Haematoxylin Eosin* (HE), perbesaran 400X, diamati menggunakan *Optilab* yang telah tersambung dengan mikroskop binokuler.

3.5.5 *Direct Pulp Capping*

Direct pulp capping merupakan suatu prosedur perawatan yang dilakukan pada gigi molar satu rahang bawah tikus Wistas jantan yang telah teranastesi, kemudian dipreparasi kavitas klas I pada permukaan oklusal menggunakan *contra angle low speed* dengan mata bur *round end* (diameter 0,84 mm) sampai terbukanya atap pulpa yang ditandai dengan adanya *pink spot*. Setelah itu kavitas dibersihkan dan dikeringkan, lalu sesegera mungkin diberi kalsium hidroksida atau pasta biji kopi Robusta di dasar kavitas dengan *liner applicator*, banyaknya diperkirakan sejung sonde, kemudian dikondensasi dengan *stopper cement*. Kavitas ditutup dengan tumpatan sementara menggunakan *plastic filling instrument* yang kecil atau dengan sonde dan ditekan dengan kapas lembab.

3.6 Sampel Penelitian

3.6.1 Sampel pada penelitian ini menggunakan tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*) sebanyak 48 ekor tikus.

3.6.2 Kriteria Sampel

- Jenis kelamin jantan dengan strain atau galur wistar
- Berat badan 200-250 gram
- Usia 2-3 bulan
- Keadaan umum tikus baik setelah diadaptasikan selama 7 hari

3.6.3 Besar Sampel Penelitian

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

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

Keterangan:

n = besar sampel minimum

σ = standart 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 $Z = 1.96$

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 wistar jantan dan tiap kelompok

dibagi lagi menjadi 4 subkelompok dengan jumlah 4 ekor tikus wistar jantan tiap subkelompok.

3.6.4 Kelompok Sampel

Sampel penelitian dibagi menjadi 3 kelompok perlakuan, sebagai berikut :

- 1) Kelompok K0 : Kelompok kontrol negatif yang dipreparasi pada gigi molar satu bawah kiri, tidak diberi bahan *pulp capping*, langsung ditutup dengan tumpatan sementara.
- 2) Kelompok K1 : Kelompok yang dipreparasi pada gigi molar satu bawah kiri, kemudian dilakukan *direct pulp capping* dengan Ca(OH)_2 dan ditutup dengan tumpatan sementara.
- 3) Kelompok K2 : Kelompok yang dipreparasi pada gigi molar satu bawah kiri, kemudian dilakukan *direct pulp capping* dengan pasta biji kopi Robusta 75% dan ditutup dengan tumpatan sementara.

3.7 Dosis Ketamin

Dosis ketamin intramuscular yang digunakan untuk anestesi tikus menurut Kusumawati (2004) adalah 20 – 40 mg /kg BB. Jika dikonversikan untuk tikus, maka dosis ketamin yang digunakan adalah 0,004 – 0,01 ml/ 200 -250 g BB tikus.

3.8 Alat Penelitian dan Bahan Penelitian

3.8.1 Alat

- a. Kandang tikus
- b. Timbangan hewan coba
- c. Tempat makan dan minum tikus
- d. *Rat dental chair*
- e. *Cotton pelet*
- f. Sonde
- g. *Glass plate*

- h. Spatula semen
- i. Eskavator
- j. *Plastis filling instrument* ukuran kecil
- k. Gunting
- l. Pinset
- m. *Disposable syring*
- n. Gelas Ukur
- o. Blade dan scalpel
- p. Mikroskop binokuler (Olympus, USA)
- q. *Optilab* ®Miconos Jepang
- r. Sarung tangan
- s. Masker
- t. *Stopper sement* ukuran kecil
- u. *Contra angle low speed*
- v. *Diamond round bur* (diameter 0,84 mm)
- w. *Liner applicator*
- x. *Chip blower*
- y. *Paper pad/Glass plate*
- z. *Autoclave*
- aa. Pena
- bb. Mikrotom
- cc. *Object glass* dan *deck glass*

3.8.2 Bahan Penelitian

- a. Pasta biji kopi robusta dengan konsentrasi 75%
- b. Kalsium hidroksida jenis *hard setting* merk dagang *Hydcal*
- c. Tumpatan sementara merk dagang *Orafil*
- d. Ketamin (®KTM-100 Tangerang Indonesia)
- e. 48 ekor tikus wistar jantan

- f. Makanan untuk tikus wistar jantan jenis konsentrat (Feedmill Malindo, Gresik-Indonesia)
- g. *Eter choride*
- h. Alcohol 70%, 80%, 90%, 95%, 100%
- i. Larutan saline steril
- j. Formalin 10%
- k. *Paraffin*
- l. *Xylol*
- m. Ethanol
- n. PBS pH 7,4
- o. BSA 3%
- p. Substrat DAB
- q. Meyer-HE
- r. Tripsin 0,025%
- s. Poliolesin

3.9 Prosedur Penelitian

3.9.1 Tahap Persiapan Hewan Coba

- a. Sebelum penelitian, dilakukan persiapan *Ethical clearance*.
- b. Sampel tikus wistar diadaptasikan sebelumnya terhadap lingkungan kandang selama 1 minggu dan diberi makan standar konsentrat (Feedmill Malindo, Gresik-Indonesia) dan diberi air minum setiap hari.
- c. Berat badan tiap sampel tikus ditimbang dan dikelompokkan menjadi 3 kelompok secara acak masing-masing 16 ekor.

3.9.2 Sterilisasi Alat

Semua alat penelitian yang terbuat dari logam dicuci bersih kemudian disterilkan dalam *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121⁰C. Sedangkan alat yang

terbuat dari plastik dicuci bersih dan dikeringkan kemudian diulas dengan alkohol 70%.

3.9.3 Pembuatan Ekstrak Biji Kopi Robusta

Pembuatan ekstrak biji Kopi Robusta dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember. Sampel kopi diekstrak dengan menggunakan pelarut etanol dan air, rasio perbandingan antara etanol dan air adalah 600 ml : 400 ml. Kopi sebanyak 20 gram dilarutkan dengan satu liter etanol dan air. Setelah itu larutan dihomogenkan menggunakan *hot plate with magnetic stirrer* selama 3 jam dengan suhu 60⁰C. Kemudian dilakukan penyaringan dengan kertas saring. Setelah disaring dilakukan evaporasi dengan menggunakan evaporator.

3.9.4 Pembuatan Pasta Biji Kopi Robusta

1. Alat

- a. Mortal dan Pastel
- b. Gelas ukur
- c. *Beaker glass*
- d. Kaca arloji
- e. Pipet tetes
- f. Pengaduk gelas
- g. Pot/wadah pasta

2. Bahan

1. Plasebo
 - a. Magnesium Carbonat
 - b. Calcium Carbonat
 - c. Gliserin 5ml
 - d. TEA (*Triethanolamine*)
 - e. Propilen glikol
 - f. Aquadest

2. Ekstrak biji kopi robusta (*Coffea robusta*) 100%
3. Prosedur Pembuatan
 - a. Ekstrak biji kopi robusta ditimbang untuk mendapatkan berat 75g.
 - b. Mencampurkan semua bahan hingga didapatkan berat 100g.

3.9.5 Tahap Pengelompokan dan Perlakuan Hewan Coba

Sebanyak 48 ekor tikus wistar jantan dengan berat 200-250gr secara acak dibagi menjadi 3 kelompok dimana nantinya setiap sampel akan dipreparasi pada gigi molar satu bawah kirinya sampai terbukanya atap pulpa kemudian dilakukan *direct pulp capping* lalu kavitas ditutup dengan tumpatan sementara. Tikus yang sudah diberi perlakuan, akan dikorbankan pada hari ke-1, 3, 5, dan 7.

- A. Kelompok 1 (K0) merupakan kelompok kontrol negatif. Terdiri dari 16 ekor tikus wistar jantan. Pertama tikus dianastesi menggunakan ketamin secara *intramuscular* dengan menyuntikkan pada bagian paha tikus, kemudian diposisikan diatas *rat dental chair*. Selanjutnya gigi molar satu bawah tikus dipreparasi kavitas klas I pada permukaan oklusal, menggunakan *contra angle low speed* dengan mata bur *round end* (diameter 0,84 mm), arah tegak lurus sumbu gigi sampai terbukanya pulpa yang ditandai dengan adanya *pink spot* pada atap pulpa. Kedalaman preparasi diperkirakan sebesar kepala bur (0,5-1 mm), setelah itu kavitas dibersihkan dari sisa serbuk dentin dengan eskavator, diirigasi dengan larutan saline steril lalu dibersihkan dengan *cotton pellet*. Kemudian kavitas dikeringkan dengan hembusan udara dari *chip blower*. Kavitas yang sudah kering diberi kapas lalu ditutup dengan tumpatan sementara menggunakan *plastic filling instrument* yang kecil atau dengan sonde dan ditekan dengan kapas lembab. Kelompok pertama dibagi lagi menjadi 4 sub kelompok dengan masing-masing subkelompok terdiri dari 4 ekor tikus.

1. Sub kelompok 1 hari ke-1
Pada hari ke-1 sebanyak 4 ekor tikus wistar jantan 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 1 hari ke-3
Pada hari ke-3 sebanyak 4 ekor tikus wistar jantan 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 1 hari ke-5
Pada hari ke-5 sebanyak 4 ekor tikus wistar jantan 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 1 hari ke-7
Pada hari ke-7 sebanyak 4 ekor tikus wistar jantan dikorbankan dengan cara inhalasi menggunakan overdosis *eter*, kemudian dilakukan pengambilan sampel dengan cara mengambil gigi dan jaringan regio molar rahang bawah kiri tikus.
- B. Kelompok kedua (K1) merupakan kelompok kontrol positif. Terdiri dari 16 ekor tikus wistar jantan. Pertama tikus dianastesi menggunakan ketamin secara *intramuscular* dengan menyuntikkan pada bagian paha tikus, kemudian diposisikan diatas *rat dental chair*. Selanjutnya gigi molar satu bawah tikus dipreparasi kavitas klas I pada permukaan oklusal, menggunakan *contra angle low speed* dengan mata bur *round end* (diameter 0,84 mm), arah tegak lurus sumbu gigi sampai terbukanya pulpa yang ditandai dengan adanya *pink spot* pada atap pulpa. Kedalaman preparasi diperkirakan sebesar kepala bur (0,5-1 mm), setelah itu kavitas dibersihkan dari sisa serbuk dentin dengan

eskavator, diirigasi dengan larutan saline steril lalu dibersihkan dengan *cotton pellet*. Kemudian kavitas dikeringkan dengan hembusan udara dari *chip blower*. Sesegera mungkin, kavitas yang sudah kering dilakukan *direct pulp capping* dengan Ca(OH)_2 *hard setting* merk dagang *Hydcal* yang sebelumnya telah dicampur base dan katalisnya dengan perbandingan 1:1 diatas *paper pad/glass plate* dengan sonde. Kemudian bahan diaplikasikan ke dasar kavitas/atap pulpa dengan *liner applicator* banyaknya diperkirakan sejung sonde, setelah itu dikondensasi dengan *stopper cement* ukuran kecil. Kavitas ditutup dengan tumpatan sementara menggunakan *plastic filling instrument* yang kecil atau dengan sonde dan ditekan dengan kapas lembab. Kelompok kedua dibagi lagi menjadi 4 sub kelompok dengan masing-masing subkelompok terdiri dari 4 ekor tikus.

1. Sub kelompok 2 hari ke-1

Pada hari ke-1 sebanyak 4 ekor tikus wistar jantan 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 2 hari ke-3

Pada hari ke-3 sebanyak 4 ekor tikus wistar jantan 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 2 hari ke-5

Pada hari ke-5 sebanyak 4 ekor tikus wistar jantan 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 2 hari ke-7

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

- C. Kelompok ketiga (K2) merupakan kelompok perlakuan. Terdiri dari 16 ekor tikus wistar jantan. Pertama tikus dianestesi menggunakan ketamin secara *intramuscular* dengan menyuntikkan pada bagian paha tikus, kemudian diposisikan diatas *rat dental chair*. Selanjutnya gigi molar satu bawah tikus dipreparasi kavitas klas I pada permukaan oklusal, menggunakan *contra angle low speed* dengan mata bur *round end* (diameter 0,84 mm), arah tegak lurus sumbu gigi sampai terbukanya pulpa yang ditandai dengan adanya *pink spot* pada atap pulpa. Kedalaman preparasi diperkirakan sebesar kepala bur (0,5-1 mm), setelah itu kavitas dibersihkan dari sisa serbuk dentin dengan eskavator, diirigasi dengan larutan saline steril lalu dibersihkan dengan *cotton pellet*. Kemudian kavitas dikeringkan dengan hembusan udara dari *chip blower*. Seseegera mungkin, kavitas yang sudah kering dilakukan *direct pulp capping* dengan bahan pasta biji kopi Robusta konsentrasi 75%. Bahan diaplikasikan ke dasar kavitas/atap pulpa dengan *liner applicator* diperkirakan banyaknya sejung sonde, setelah itu dikondensasi dengan *stopper cement* ukuran kecil. Kavitas ditutup dengan tumpatan sementara menggunakan *plastic filling instrument* yang kecil atau dengan sonde dan ditekan dengan kapas lembab. Kemudian kelompok ketiga dibagi lagi menjadi 4 sub kelompok dengan masing-masing subkelompok terdiri dari 4 ekor tikus.

1. Sub kelompok 3 hari ke-1

Pada hari ke-1 sebanyak 4 ekor tikus wistar jantan 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 3 hari ke-3

Pada hari ke-3 sebanyak 4 ekor tikus wistar jantan 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 3 hari ke-5

Pada hari ke-5 sebanyak 4 ekor tikus wistar jantan 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 3 hari ke-7

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

Kemudian semua sampel jaringan yang telah diambil difiksasi menggunakan formalin 10% selama minimal 12-18 jam. Setelah difiksasi jaringan dicuci dengan air mengalir. Kemudian dilakukan pemotongan gigi secara vertikal untuk dibuat sediaan selanjutnya, diamati secara histologis menggunakan pewarnaan HE.

3.9.6 Pembuatan dan Pewarnaan Preparat Jaringan

Sampel yang telah dimasukkan ke dalam buffer formalin selanjutnya dilakukan dekalsifikasi. Proses dekalsifikasi menggunakan larutan asam format yang berguna untuk menghilangkan garam-garam kalsium dari jaringan tulang dan gigi sebelum pemotongan, sehingga tulang dan gigi menjadi lebih lunak dan memudahkan dalam pemotongan. Tahap dekalsifikasi meliputi :

- a. Sampel yang telah direndam dalam formalin 10% dicuci dengan air bersih yang mengalir pelan selama 30 menit.

- b. Kemudian dimasukkan ke dalam larutan asam formic 10% selama 14 hari dan dilakukan vibrasi setiap hari agar proses dekalsifikasi merata.
- c. Setelah itu dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan sisa bahan dekalsifikasi. (Tim Patologi Anatomi FKG Unej, 2007).

Setelah melalui tahap dekalsifikasi, selanjutnya merupakan tahap pembuatan sediaan histologi. Tahapan ini diawali proses dehidrasi, *clearing* dan impregnasi dengan mencelupkan jaringan ke dalam larutan. Dehidrasi dengan cara merendam dalam alkohol bertingkat dengan konsentrasi 70%, 80%, 90%, Absolut (100%) I, Absolut (100%) II, Absolut (100%) III untuk menghilangkan air dalam jaringan. Pada tiap konsentrasi direndam secara berturut-turut selama 60 menit. Kemudian *clearing* dengan cara merendam dalam larutan *xylol* I, *xylol* II, dan *xylol* III, masing-masing selama 60 menit. Kemudian impregnasi melalui proses infiltrasi parafin dalam oven dengan suhu 60 °C, dengan cara bertahap. Sediaan dimasukkan ke dalam parafin murni I, II, dan III masing-masing selama 60 menit (Tim Patologi Anatomi FKG Unej, 2007).

Setelah melalui proses dehidrasi, *clearing*, dan impregnasi, tahap pembuatan sediaan histologi berikutnya adalah sebagai berikut :

- a. Pembuatan blok (*embedding*)
 1. Persiapan alat cetak dari logam yang berbentuk balok bersiku yang ditempatkan di atas permukaan kaca. Alat cetak diolesi dengan gliserin untuk mempermudah pemisahan alat cetak dengan blok parafin yang telah setting.
 2. Parafin cair dalam dua wadah, yaitu parafin untuk *embedding* dan parafin sebagai media penyesuaian temperatur jaringan yang akan ditanam.
 3. Parafin cair untuk *embedding* dituangkan ke dalam cetakan hingga penuh setinggi permukaan, lalu jaringan ditanamkan pada posisi yang

sesuai dan diusahakan jaringan yang menempel pada dasar cetakkan dalam kondisi rata.

4. Bila parafin sudah *setting*, cetakkan dilepaskan dan blok parafin diberi label dan siap dilakukan pemotongan. (Tim Patologi Anatomi FKG Unej, 2007).

b. Pemotongan jaringan menggunakan mikrotom

1. Blok parafin diletakkan pada mikrotom.
2. Pisau mikrotom harus dalam keadaan bersih, kemudian memasang pisau mikrotom pada posisinya.
3. Mengatur ketebalan sayatan antara 4-6 mikron.
4. Memindahkan hasil potongan berupa pita tipis menggunakan kuas ke atas permukaan air dalam *waterbath* dengan temperatur tetap 56 °C-58 °C agar sayatan jaringan dapat mengembang dengan baik.
5. Hasil sayatan diseleksi dan dipindahkan di atas object glass yang telah diolesi *mayer egg albumin* dan diberi label sesuai dengan label jaringan yang dipotong.
6. Sediaan jaringan dibiarkan kering dengan *hot plate* suhu 30° C-35° C selama minimal 12 jam dan selanjutnya dilakukan tahap pengecatan jaringan (Tim Patologi Anatomi FKG Unej, 2007).

c. Tahap pengecatan

Proses pengecatan jaringan menggunakan *Haematoxylin Eosin* tahapannya adalah deparafinisasi, dehidrasi I, pengecatan utama, pengecatan pembeding, dehidrasi II, dan *clearing*. Proses deparafinasi dilakukan dengan cara merendam dalam larutan *xylol I*, *xylol II*, dan *xylol III*, masing-masing selama 2-3 menit. Selanjutnya adalah proses dehidrasi dengan cara merendam dalam alkohol dengan konsentrasi absolut (100%) I, absolut (100%) II, alkohol 95% I dan alkohol 95% II. Pada tiap konsentrasi direndam secara berturut-turut selama 3 menit. Kemudian diirigasi dengan air mengalir selama 10 menit. Proses berikutnya adalah aplikasi cat utama yaitu *Mayer's Hematocyclin*

selama 15 menit, lalu diirigasi dengan air mengalir selama 15 menit. Setelah itu dilakukan aplikasi cat pembanding yaitu *Eosin* selama 2 menit. Tahap selanjutnya adalah dehidrasi kembali dengan cara merendam dalam alkohol bertingkat dengan konsentrasi 95% I, 95% II, absolut (100%) I, dan absolut (100%) II. Pada tiap konsentrasi direndam secara berturut-turut selama 2-3 menit. Tahap pengecatan diakhiri dengan *clearing* menggunakan *xylol* I, *xylol* II, dan *xylol* III masing-masing selama 3 menit (Tim Patologi Anatomi FKG Unej, 2007).

- d. *Mounting* dengan entelan lalu tutup dengan *deck glass*.

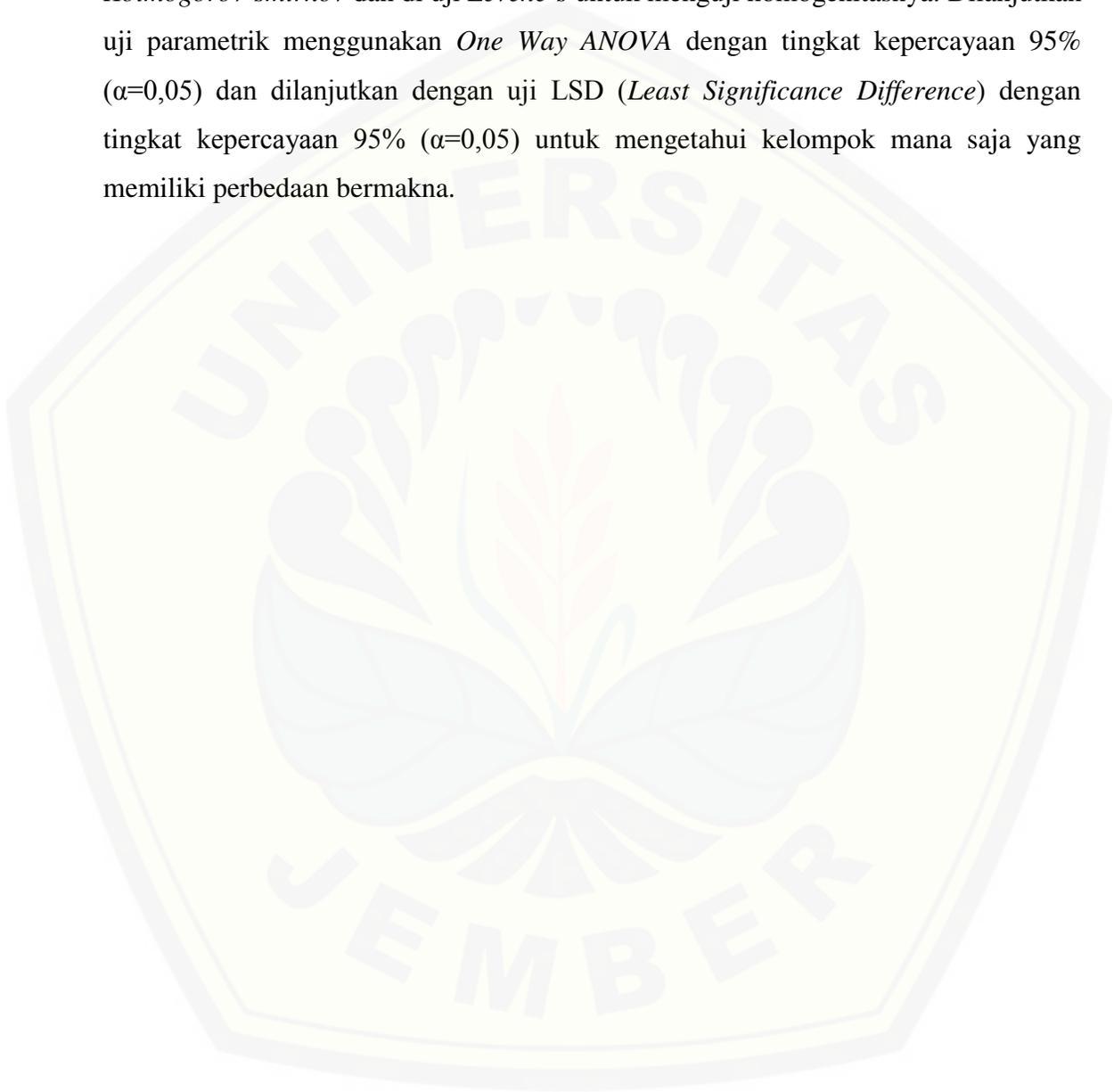
Setelah pewarnaan selesai, slide ditempatkan di atas kertas tisu pada tempat datar, ditetesi dengan bahan *mounting* yaitu entelan dan ditutup dengan *deck glass*, cegah jangan sampai terbentuk gelembung udara. Kemudian dilakukan pemberian label pada preparat histologi.

3.10 Penghitungan Jumlah Sel Makrofag dan Sel Limfosit

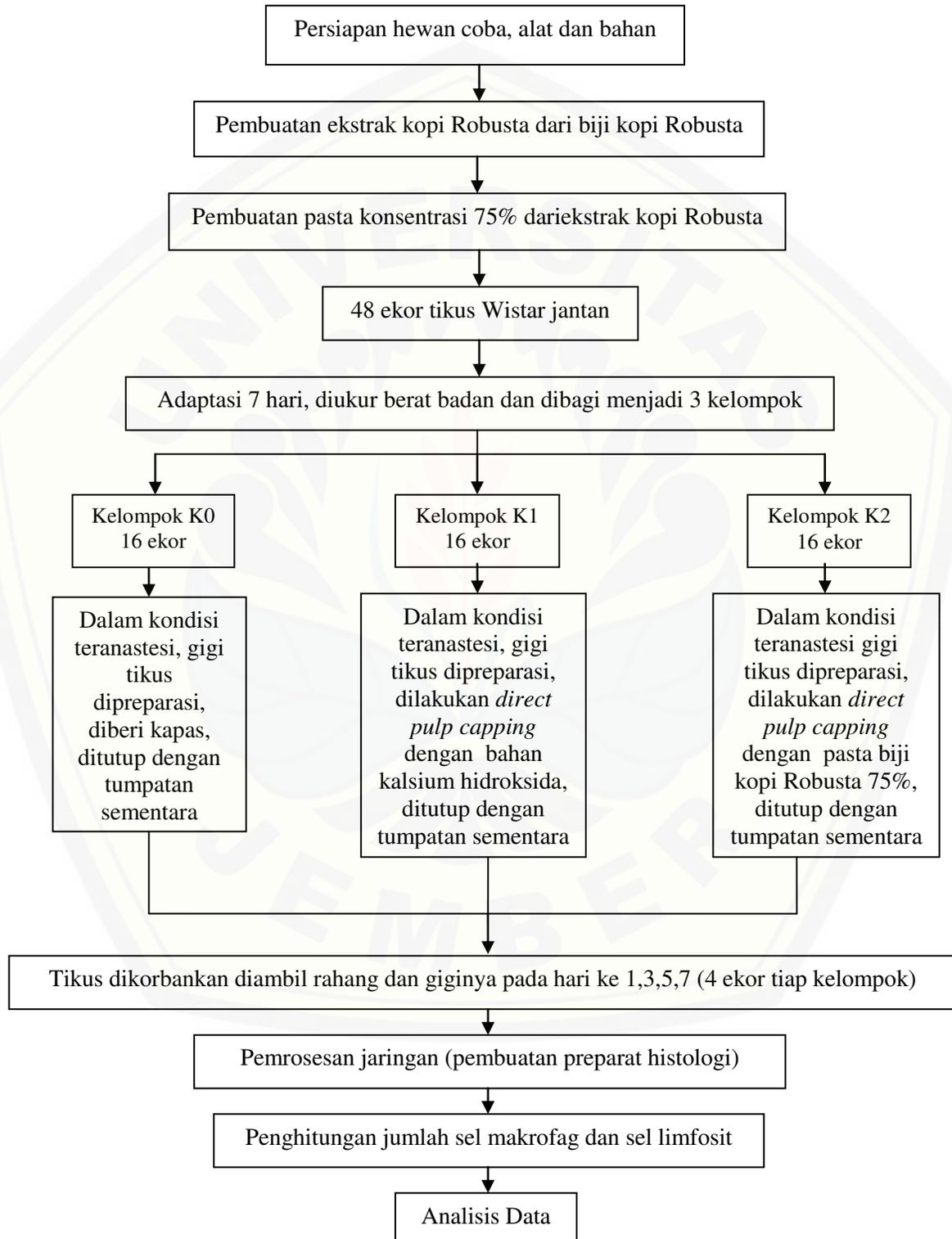
- a. Menggunakan lensa obyektif pada mikroskop binokuler dengan bantuan *OptiLab* pada perbesaran 400X
- b. Penghitungan sel makrofag dan sel limfosit dilakukan pada 3 lapang pandang yang berbeda, yaitu di pulpa bagian koronal, apikal, dan 1/3 apikal. Dilakukan oleh 3 orang pengamat. Jumlah sel makrofag dan sel limfosit tiap sampel ditentukan dengan penjumlahan dari ketiga lapang pandang dari ketiga pengamat kemudian diambil nilai rata-ratanya.

3.11 Analisa Statistik

Data penelitian yang telah diperoleh diuji normalitasnya menggunakan uji *Kolmogorov-smirnov* dan di uji *Levene's* untuk menguji homogenitasnya. Dilanjutkan uji parametrik menggunakan *One Way ANOVA* dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$) dan dilanjutkan dengan uji *LSD (Least Significance Difference)* dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$) untuk mengetahui kelompok mana saja yang memiliki perbedaan bermakna.



3.12 Alur Penelitian



BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa penggunaan pasta biji kopi Robusta (*Coffea robusta*) sebagai bahan *direct pulp capping* efektif dalam menurunkan jumlah sel makrofag dan sel limfosit pada pulpa gigi dibanding kelompok kontrol.

5.2 Saran

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

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh penggunaan pasta kopi Robusta terhadap jumlah sel imunokompeten yang lain pada jaringan pulpa gigi.
2. Dapat dilakukan penelitian lebih lanjut dengan membandingkan pasta kopi robusta dengan pasta jenis kopi yang lain sebagai bahan *pulp capping*.
3. Perlu penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh zat aktif yang terdapat dalam biji kopi Robusta (*Coffea robusta*) sebagai agen antiinflamasi.

DAFTAR PUSTAKA

- A. Njeh, E., Uzunoğlu, H., Ardila-Osorio, S. Simon, A. Berdal, O. Kellermann dan M. Goldberg. 2016. Reactionary and reparative dentin formation after pulp capping: Hydrogel vs. Dycal. *Evidence-Based Endodontics*. 1(3):1-9.
- Bogen, G., Kim, J. S., Bakland L. K. 2008. Direct pulp capping with mineral trioxide aggregate: an observational study. *Journal of the American Dental Association* 139(3):305-15.
- Bucala R. 2003. New Concepts in Wound Healing. Fibrocytes: Circulating Fibroblast that mediate tissue repair. The Picower Institute for Medical Research, Manhasset, NY 11030, USA *European Tissue Repair Society*.
- Campbell, N.A., J.B. Reece, & L. G. Mitchell. 2010. *Biologi*. Edisi 8. Terj. Dari: Biology. 8th ed. oleh Manulu, W. Jakarta: Erlangga. h. 293-298.
- Daniel, W. W. 2005. *Biostatic a Foundation for Analysis in The Health Sciences*. Edisi 8. Georgia: Willey. h. 528 – 529.
- Davidson, P. M., Sofos, J. N., dan Brenem, A. L. 2005. *Antimicrobial in Foods*. Edisi 3. New York: Marcel Dekker Inc. h. 615 – 617.
- Dewanti, I.D.A. R., Susilawati, I.D.A., Lestari, Pujiana Endah., Budirahardjo, Roedy. 2016. Robusta Coffee Beans Decrease Of Inflammation In Dental Caries. Jember: *1st International Conference on Medicine and Health Sciences*.
- Fatimatuzzahro, Nadie., Haniastuti, Tetiana., Handajani, Juni. 2013. Dental pulp inflammatory response of Sprague Dawley rats after etching application of 19% ethylene diamine tetraacetic acid and 37% phosphoric acid. *Dental Journal* 46(4):190-195.
- Gandolfi, M.G., Siboni, F., & Prati, C. 2012. Chemical–Physical Properties of TheraCal, a Novel Light-Curable MTA-Like Material for Pulp Capping. *International Endodontic Journal* 45(6):571-579.
- Ganong, W. F. 2002. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 20. Widjajakusumah D, Irawati D, Siagian M, Moeloek D, Pendit BU, penerjemah: Widjajakusumah D, editor. Jakarta: EGC. Terjemahan dari: Review of Medical Physiology. h. 328-336.
- Ganiswara, S. G. 2005. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi 4. Jakarta : Gaya Baru. h.218
- Garg, Nisha dan Garg, Amit. 2014. *Textbook of Endodontics*. India:Jaypee Brothers Medical Publishers. h. 24-26.

- Guyton, C. A., Hall, J. E. 2008. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Jakarta : EGC. h.247-258
- Grossman, Louis I., S.Oliet., Rio, C.E Del. 2013. *Ilmu Endodontik dalam praktek*. Edisi 11. Jakarta: EGC. h. 66-128.
- Haniastuti, T. 2008. Potential Role of Odontoblasts in the Innate Immune Response of the Dental Pulp. *Majalah Kedokteran Gigi (Dental Journal)* 41(3):2-4.
- Harmandini, F. 2009. *Manfaat Kopi Untuk Mencegah Berbagai Macam Penyakit*. Female Kompas [Serial Online].
<http://female.kompas.com/read/2009/07/27/11533750/ManfaatKopi.untuk.Mencegah.Berbagai.Penyakit>.
- Hargreaves MK, Goodis HE. 2002. *Seltzer and Bender's dental pulp*. Carlos Stream: Quintessence Publishing Co., Inc. China. h. 13, 42, 54, 65, 69, 95-6, 137-9.
- Hazrina, Maidiyana. 2007. Perawatan Fraktur Klas III Ellys Dan Davey Pada Anak Dengan Pulp Capping Direct. USU e-Repository.
- Huang F, Ho Y, Chang Y. 2006. Mechanisms of cytotoxicity of eugenol in human osteoblastic cells *in vitro*. *International Endodontic Journal* 39:389-393.
- Hoffmann, D. 2003. *Medical Herbalism: The Science and Practice of Herbal Medicine*. Inner Traditions/Bear & Co, Britain. h. 101-103.
- Ingle, J. I., Bakland, L. K. 2008. *Endodontics*. Edisi 6. London: BC Decker Inc. h. 1310 - 1312.
- Kenneth, J. Annusavice. 2003. *Phillip's Science of Dental Materials*. Edisi 11. USA: Saunders. h. 256-260
- Kiernan, J. A. 2008. *Histological and histochemical methods: theory and practice*. Edisi 4. Bloxham, UK : Scion. h. 88-90
- Kusumawati, D. 2004. *Bersahabat dengan Hewan Coba*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. h. 39-40
- Martins Gren, M. 2005. The dynamics of Cell-ECM Interactions, with Implications for tissue engineering. *Riverside: Department of Biology, University of California* 92:521-527.
- Namboodiripad P., K. Srividya. 2009. Can Coffee Prevent Caries? An In-Vitro Study. *The Internet Journal of Dental Science* 7(2):18-21.

- Natella F, Nardini M, Belelli F, Pignatelli P, Di Santo S, Ghiselli A, Violi F, Scaccini C. 2008. Effect of coffee drinking on platelets: inhibition of aggregation and phenols incorporation. *British Journal of Nutrition* 100(6):1276-1282.
- Notoatmodjo, S. 2012. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: PT. Rineka Cipta. h. 60.
- Prindle, R. L., Wright, A.S. 2000. Phenolic Compound. Dalam Lawrence, A. & Block, S. S. *Disinfection Sterilization and Preservation*. Philadelphia.
- Qureshi, Asma., E, Soujanya., Nandakumar, Pratapkumar, Sambashivarao. 2014. Recent Advances in Pulp Capping Materials. *Journal of Clinical and Diagnostic Research* 8(1):316–321.
- Rahardjo, Puji. 2012. *KOPI Panduan Budi Daya dan Pengolahan Kopi Arabika dan Kopi Robusta*. Bogor: Penebar Swadaya. h.9-11.
- Ramanaviciene, Almira, Mostovojus, Voktoras, Bachmatova, Iriana., dan Ramanavicius. 2003. Anti-Bacterial Effect on Caffeine on *Eschericia coli* and *Pseudomonas fluorescens*. *Journal Acta Medica Lituania* 10 (4):185-188.
- Raven, Johnson, Mason, Singer. 2007, *Biology*. New York: Mosby Elsevier. Edisi 9 h. 1156-1158.
- Robbins, S. R. S., Kumar, V. 2007. “Basic Patology”. Disadur Staf Pengajar Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. *Buku Ajar Patologi*. Edisi 7. Jakarta : EGC. h. 322-324
- RI, DK. 2012. Profil Data Kesehatan Indonesia 2011. Tabel 4.30.
- RI, DK. 2007. Profil Kesehatan Indonesia 2006. Lampiran 4.14.
- RI, DK. 2009. Profil Kesehatan Indonesia 2008. Lampiran 4.20.
- RI, DK. 2010. Profil Kesehatan 2009. Lampiran 4.17.
- Ridwansyah. 2003. Pengolahan Kopi. Skripsi Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara. <http://www.library.usu.ac.id/tekper.ridwansyah4.pdf>. h.4-5.
- Sabir, A. 2003. Pemanfaatan Flavonoid di Bidang Kedokteran Gigi. *Majalah Kedokteran Gigi (Dental Journal)* 36(3):81-87
- Saraf, Sanjay. 2006. *Text Book Of Oral Pathology*. First Edition. New Delhi, India: Jaypee Brother Medical Publisher Ltd. h. 97-101

- Sherwood, L. 2011. *Fisiologi Manusia Dari Sel ke Sistem*. Jakarta : EGC. h. 210
- Soerono, Akbar SM. 2003. Penyakit Endodontik dalam Endodontologi. *Kumpulan Naskah*. Edisi 1.
- Steffen R, v. Waes, H. 2009. Understanding mineral trioxide aggregate/Portlandcement: A review of literature and background factors. *European Archives of Paed Dental* 10(2):93-7.
- Tanaman Obat. 2008. Kopi (*Coffea robusta* L). [Serial Online]. <http://tanamanobat.org/496/kopi-coffea-robusta-l/>
- Tarigan, R. 2015. *Perawatan Pulpa Gigi (Endodonti)*. Edisi 3. Jakarta: EGC. h.26-36
- Takeda K., Kaisho T., dan Akira S. 2003. Toll-like Receptors. *Annual Review of Immunology* 21:335-376.
- Tim Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. 2007. Petunjuk Pratikum Patologi Anatomi Degenerasi dan Inflamasi. Jember : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Torabinejad, M., Walton R. E. 2014. *Prinsip dan Praktek Ilmu Endodonsia*. Alih bahasa: Narlan S, Winiati S, Bambang N. Edisi 4. Jakarta: EGC. h.76.
- Van-Noort, Richard. 2007. *Dental Materials*. London: Elsevier Limited.
- Widodo, T. 2005. Respon Imun Humoral pada Pulpitis (Humoral Immune Response on Pulpitis). *Majalah Kedokteran Gigi (Dental Journal)* 38(2):49-51.
- Widyasri, Prananingrum. 2010. The increasing of odontoblast-like cell number on direct pulp capping of rattus norvegicus using chitosan. *Majalah Kedokteran Gigi (Dental Journal)* 43(4): 168 - 171
- Wilmana, P.F., Gan, S. 2007. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi 5. Jakarta: Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. h. 237-239.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta : Kanisius. h.11-15.

LAMPIRAN A. Surat *Ethical Clearance*

 KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
KOMISI ETIK PENELITIAN
Jl. Kalimantan 37 Kampus Bumi Tegal Boto Telp/Fax (0331) 337877 Jember 68121 – Email :
fk_unej@telkom.net

KETERANGAN PERSETUJUAN ETIK
ETHICAL APPROVAL
Nomor : 117/H25.1.11/KE/2017

Komisi Etik, Fakultas Kedokteran Universitas Jember dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul :

The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, Jember University, With regards of the protection of human rights and welfare in medical research, has carefully reviewed the proposal entitled :

EFEKTIVITAS BJI KOPI ROBUSTA (*Coffea robusta*) SEBAGAI BAHAN DIRECT PULP CAPPING PADA REVERSIBLE PULPITIS TERHADAP JUMLAH SEL MAKROFAG dan SEL LIMFOSIT

Nama Peneliti Utama : Ari Kurniasari (NIM.131610101038)
Name of the principal investigator

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
Name of institution

Dan telah menyetujui protokol tersebut diatas.
And approved the above mentioned proposal.

Jember, 21 Maret 2017
Ketua Komisi Etik

dr. Rini Riyanti, Sp.PK

LAMPIRAN B. Dosis Ketamin

Dosis ketamin intramuscular yang digunakan untuk anestesi tikus menurut Kusumawati (2004) adalah 20 – 40 mg /kg BB.

Dosis ketamin untuk tikus = 20-40 mg/kg BB.

Berat tikus yang digunakan = 200 g – 250 g = 0,2 kg – 0,25 kg

Dosis ketamin = 20-40 mg/kg BB x $\frac{200-250 \text{ g}}{1000 \text{ g}}$

= 4- 10 mg

= 0,004 – 0,01 gram

= 0,004 – 0,01 ml

LAMPIRAN C. PENGHITUNGAN JUMLAH MAKROFAG

Kelompok	Hari	Tikus	Pengamat	Lapang pandang			Rata-rata	Rata-rata jumlah makrofag
				1	2	3		
KO	1	1	a	0	0	0	0	0
			b	0	0	0	0	
			c	0	0	0	0	
		2	a	0	1	0	0,33	0,33
			b	0	1	0	0,33	
			c	0	1	0	0,33	
		3	a	0	0	0	0	0
			b	0	0	0	0	
			c	0	0	0	0	
		4	a	0	0	0	0	0
			b	0	0	0	0	
			c	0	0	0	0	
	3	1	a	0	0	0	0	0
			b	0	0	0	0	
			c	0	0	0	0	
		2	a	0	0	1	0,33	0,22
			b	0	0	0	0	
			c	0	0	1	0,33	
		3	a	0	0	0	0	0,11
			b	0	0	0	0	
			c	1	0	0	0,33	
		4	a	0	0	1	0,33	0,33
			b	0	0	1	0,33	
			c	0	0	1	0,33	
5	1	a	1	1	1	1	1	
		b	1	1	0	0,67		
		c	2	1	1	1,33		
	2	a	1	1	1	1	0,78	
		b	1	0	1	0,67		
		c	1	1	0	0,67		
	3	a	2	1	1	1,33	1	
		b	2	0	1	1		
		c	1	0	1	0,67		

	4	a	1	0	0	0,33	0,44	
		b	1	0	1	0,67		
		c	1	0	0	0,33		
	7	1	a	2	1	1	1,33	1,11
			b	1	1	1	1	
			c	1	1	1	1	
		2	a	0	1	1	0,67	0,78
			b	1	1	1	1	
			c	0	1	1	0,67	
		3	a	1	1	0	0,67	0,89
			b	1	1	1	1	
			c	1	1	1	1	
4		a	2	0	2	1,33	1,22	
		b	1	1	2	1,33		
		c	1	0	2	1		

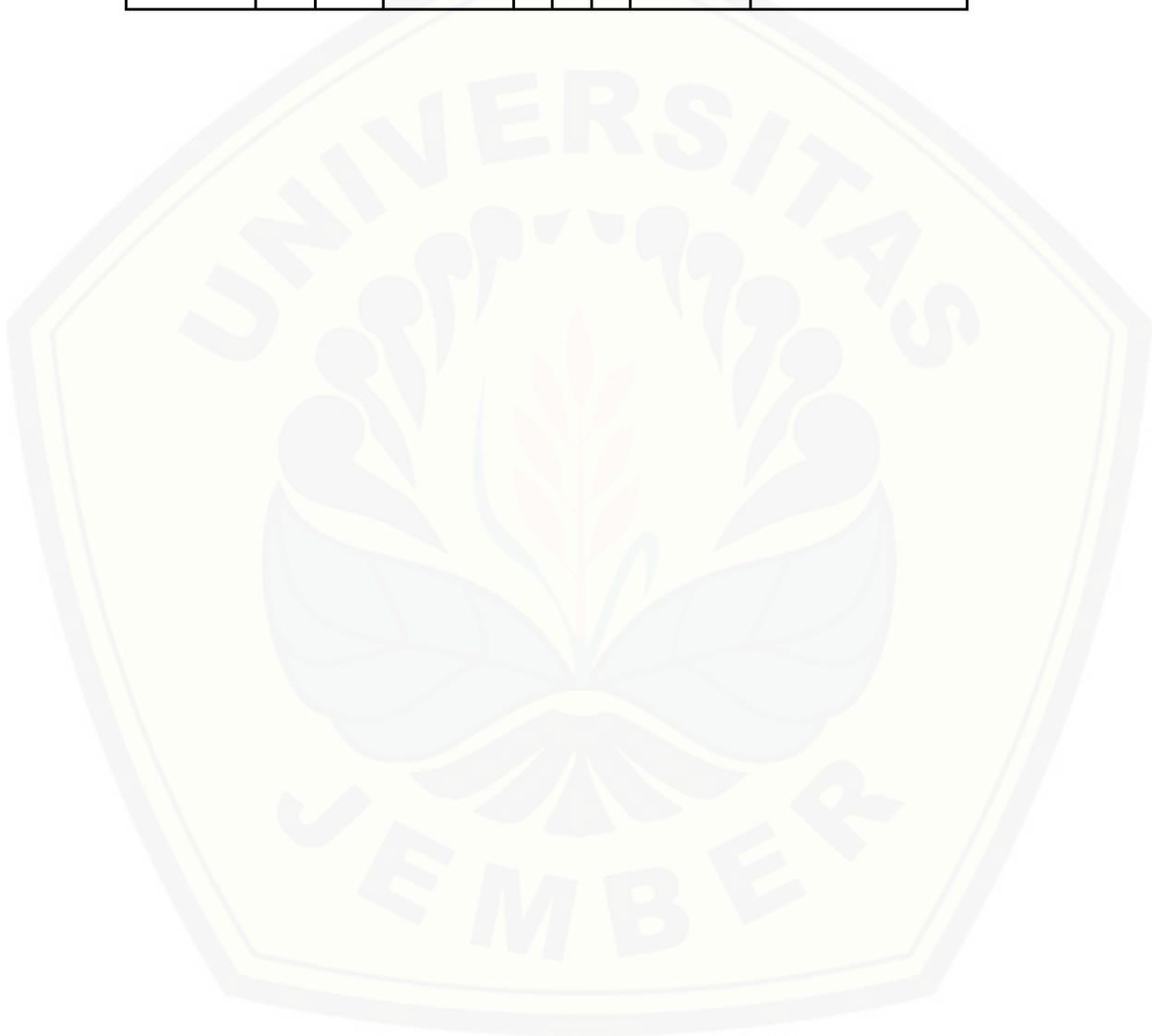
Kelompok	Hari	Tikus	Pengamat	Lapang pandang			Rata-rata	Rata-rata jumlah makrofag
				1	2	3		
K1	1	1	a	0	0	0	0	0
			b	0	0	0	0	
			c	0	0	0	0	
		2	a	0	0	0	0	0
			b	0	0	0	0	
			c	0	0	0	0	
		3	a	1	0	0	0,33	0,33
			b	1	0	0	0,33	
			c	1	0	0	0,33	
		4	a	0	0	0	0	0
			b	0	0	0	0	
			c	0	0	0	0	
	3	1	a	0	0	0	0	0
			b	0	0	0	0	
			c	0	0	0	0	
		2	a	1	0	0	0,33	0,33
			b	1	0	0	0,33	
			c	1	0	0	0,33	
3		a	0	0	0	0	0	

5	4	b	0	0	0	0	0,33
		c	0	0	0	0	
		a	0	0	1	0,33	
	1	b	0	0	1	0,33	0,33
		c	0	0	1	0,33	
		a	1	0	1	0,67	
	2	b	1	0	1	0,67	0,67
		c	1	0	1	0,67	
		a	2	0	0	0,67	
	3	b	1	0	0	0,33	0,44
		c	1	0	0	0,33	
		a	0	1	0	0,33	
4	b	0	2	0	0,67	0,56	
	c	0	2	0	0,67		
	a	0	0	1	0,33		
1	b	0	0	1	0,33	0,33	
	c	0	0	1	0,33		
	a	0	0	1	0,33		
7	1	a	1	1	0	0,67	0,67
		b	1	1	0	0,67	
		c	1	1	0	0,67	
	2	a	1	1	2	1,33	0,89
		b	1	0	1	0,67	
		c	1	0	1	0,67	
	3	a	1	2	0	1	0,78
		b	1	1	0	0,67	
		c	1	1	0	0,67	
	4	a	1	2	0	1	1
		b	1	2	0	1	
		c	1	2	0	1	

Kelompok	Hari	Tikus	Pengamat	Lapang pandang			Rata-rata	Rata-rata jumlah makrofag
				1	2	3		
K2	1	1	a	1	1	0	0,67	0,44
			b	0	1	0	0,33	
			c	0	1	0	0,33	
		2	a	0	0	0	0	0
			b	0	0	0	0	

		c	0	0	0	0	
	3	a	0	0	0	0	0
		b	0	0	0	0	
		c	0	0	0	0	
	4	a	0	0	0	0	0
		b	0	0	0	0	
		c	0	0	0	0	
3	1	a	1	0	0	0,33	0,33
		b	1	0	0	0,33	
		c	1	0	0	0,33	
	2	a	0	0	1	0,33	0,22
		b	0	0	0	0	
		c	0	0	1	0,33	
	3	a	0	0	0	0	0
		b	0	0	0	0	
		c	0	0	0	0	
	4	a	1	0	0	0,33	0,11
		b	0	0	0	0	
		c	0	0	0	0	
5	1	a	1	1	0	0,67	0,56
		b	1	1	0	0,67	
		c	1	0	0	0,33	
	2	a	0	0	1	0,33	0,67
		b	1	0	1	0,67	
		c	1	1	1	1	
	3	a	0	1	1	0,67	0,56
		b	0	0	1	0,33	
		c	0	1	1	0,67	
	4	a	0	1	1	0,67	0,44
		b	0	1	0	0,33	
		c	0	1	0	0,33	
7	1	a	2	1	1	1,33	1
		b	2	1	0	1	
		c	1	1	0	0,67	
	2	a	1	1	0	0,67	0,67
		b	1	1	0	0,67	
		c	1	1	0	0,67	

3	a	1	1	0	0,67	0,78
	b	1	1	1	1	
	c	0	1	1	0,67	
4	a	0	1	1	0,67	0,67
	b	0	1	1	0,67	
	c	0	1	1	0,67	



LAMPIRAN D. PENGHITUNGAN JUMLAH LIMFOSIT

Kelompok	Hari	Tikus	Pengamat	Lapang pandang			Rata-rata	Rata-rata jumlah limfosit
				1	2	3		
K0	1	1	a	0	0	0	0,00	0,00
			b	0	0	0	0,00	
			c	0	0	0	0,00	
		2	a	0	0	0	0	0,00
			b	0	0	0	0,00	
			c	0	0	0	0,00	
		3	a	1	0	1	0,67	0,67
			b	1	0	1	0,67	
			c	1	0	1	0,67	
		4	a	0	1	0	0,33	0,33
			b	0	1	0	0,33	
			c	0	1	0	0,33	
	3	1	a	2	0	2	1,33	1,33
			b	2	0	2	1,33	
			c	2	0	2	1,33	
		2	a	2	1	1	1,33	1,11
			b	1	1	1	1,00	
			c	1	1	1	1,00	
		3	a	2	3	2	2,33	1,67
			b	1	2	1	1,33	
			c	1	2	1	1,33	
		4	a	3	1	1	1,67	1,22
			b	2	0	1	1	
			c	2	0	1	1	
5	1	a	4	2	3	3	2,78	
		b	4	2	2	2,67		
		c	3	3	2	2,67		
	2	a	5	3	3	3,67	3	
		b	5	2	2	3		
		c	3	2	2	2,33		
	3	a	2	4	1	2,33	2,33	
		b	2	4	1	2,33		
		c	2	4	1	2,33		

	4	a	3	2	3	2,67	2,56	
		b	2	3	2	2,33		
		c	2	3	3	2,67		
	7	1	a	5	3	3	4,33	3,89
			b	5	3	3	3,67	
			c	5	3	3	3,67	
		2	a	5	4	2	3,67	3,56
			b	5	4	2	3,67	
			c	4	4	2	3,33	
		3	a	4	4	3	4,33	3,78
			b	4	4	3	3,67	
			c	4	3	3	3,33	
4	a	4	3	4	3,67	3,67		
	b	4	3	4	3,67			
	c	4	3	4	3,67			

Kelompok	Hari	Tikus	Pengamat	Lapang pandang			Rata-rata	Rata-rata jumlah limfosit
				1	2	3		
K1	1	1	a	1	0	0	0,33	0,22
			b	1	0	0	0,33	
			c	0	0	0	0	
		2	a	0	1	0	0,33	0,33
			b	1	0	0	0,33	
			c	0	0	1	0,33	
		3	a	0	0	0	0	0,33
			b	0	1	0	0,33	
			c	0	1	1	0,67	
		4	a	0	0	0	0,00	0,00
			b	0	0	0	0,00	
			c	0	0	0	0,00	
	3	1	a	1	1	1	1	1,33
			b	1	2	1	1,33	
			c	2	2	1	1,67	
		2	a	1	2	2	1,67	1,22
			b	1	1	1	1,00	
			c	1	0	2	1	
3		a	1	1	1	1	1,00	

	4	b	1	1	1	1,00	1,44	
		c	1	1	1	1,00		
		a	2	1	1	1,33		
		b	2	2	1	1,67		
		c	2	1	1	1,33		
	5	1	a	3	2	1	2,00	2,22
			b	3	2	2	2,33	
			c	3	2	2	2,33	
		2	a	2	3	3	2,67	2,56
			b	2	3	2	2,33	
			c	2	3	3	2,67	
		3	a	2	2	1	1,67	2,00
			b	3	2	2	2,33	
			c	2	2	2	2,00	
		4	a	1	3	2	2,00	2,22
			b	1	3	3	2,33	
			c	2	2	3	2,33	
	7	1	a	5	3	3	3,67	3,67
			b	5	3	3	3,67	
			c	5	3	3	3,67	
		2	a	5	2	3	3,33	3,44
			b	5	3	3	3,67	
			c	5	2	3	3,33	
3		a	3	4	3	3,33	3,00	
		b	3	4	2	3,00		
		c	3	4	1	2,67		
4		a	3	3	4	3,33	3,22	
		b	3	4	3	3,33		
		c	3	3	3	3,00		

Kelompok	Hari	Tikus	Pengamat	Lapang pandang			Rata-rata	Rata-rata jumlah limfosit
				1	2	3		
K2	1	1	a	0	0	0	0,00	0,00
			b	0	0	0	0,00	
			c	0	0	0	0,00	
		2	a	0	1	0	0,33	0,33

			b	0	1	0	0,33	0,22
			c	0	1	0	0,33	
		3	a	0	0	0	0	
			b	1	0	0	0,33	
			c	0	0	1	0,33	
		4	a	1	0	0	0,33	
	b		1	0	0	0,33		
	c		1	0	0	0,33		
	3	1	a	2	0	2	1,33	1
			b	2	0	1	1	
			c	1	0	1	0,67	
		2	a	2	1	1	1,33	1,44
b			2	2	1	1,67		
c			2	1	1	1,33		
3		a	2	0	1	1,00	1,11	
		b	2	1	1	1,33		
		c	2	0	1	1,00		
4		a	1	1	1	1	1,22	
		b	1	1	2	1,33		
		c	1	1	2	1,33		
5	1	a	3	2	1	2	2	
		b	3	2	1	2		
		c	3	2	1	2		
	2	a	3	2	3	2,67	2,44	
		b	3	2	2	2,33		
		c	3	2	2	2,33		
	3	a	2	1	3	2,00	2,00	
		b	2	1	3	2,00		
		c	2	2	2	2,00		
	4	a	4	3	3	3,33	3,22	
		b	4	3	2	3,00		
		c	4	3	3	3,33		
7	1	a	5	3	2	3,33	3,44	
		b	5	3	3	3,67		
		c	5	3	2	3,33		
	2	a	3	5	3	3,67	3,33	
		b	2	5	3	3,33		

		c	2	5	2	3,00	
	3	a	5	3	2	3,33	3,44
		b	5	3	3	3,67	
		c	5	3	2	3,33	
		a	4	3	3	3,33	
	4	b	4	3	3	3,33	
		c	4	3	3	3,33	



LAMPIRAN E. ANALISIS DATA

Uji Normalitas Makrofag

Descriptive Statistics

Makrofag

perlakuan	hari dikorbankan	Mean	Std. Deviation	N
kontrol negatif	hari ke 1	.0833	.16667	4
	hari ke 3	.1667	.14344	4
	hari ke 5	.8056	.26255	4
	hari ke 7	1.0000	.20286	4
	Total	.5139	.44606	16
Ca(OH) ₂	hari ke 1	.0833	.16667	4
	hari ke 3	.1667	.19245	4
	hari ke 5	.5000	.14344	4
	hari ke 7	.8333	.14344	4
	Total	.3958	.33937	16
pasta kopi robusta 75%	hari ke 1	.1111	.22222	4
	hari ke 3	.1667	.14344	4
	hari ke 5	.5556	.09072	4
	hari ke 7	.7778	.15713	4
	Total	.4028	.31914	16
Total	hari ke 1	.0926	.16973	12
	hari ke 3	.1667	.14603	12
	hari ke 5	.6204	.21429	12
	hari ke 7	.8704	.18247	12
	Total	.4375	.36845	48

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Jumlah Makrofag
N		48
Normal Parameters ^a	Mean	.4375
	Std. Deviation	.36845
Most Extreme Differences	Absolute	.153
	Positive	.153
	Negative	-.118
Kolmogorov-Smirnov Z		1.062
Asymp. Sig. (2-tailed)		.209

Uji Homogenitas Makrofag

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Makrofag

F	df1	df2	Sig.
.874	11	36	.572

Uji Parametrik *One Way Anova* Makrofag

ANOVA

Makrofag	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	226.686	11	20.608	.907	.543
Within Groups	817.769	36	22.716		
Total	1044.454	47			

Uji Normalitas Limfosit

Descriptive Statistics

Limfosit

hari	dikorbankan perlakuan	Mean	Std. Deviation	N
hari ke 1	kontrol negatif	,2500	,32031	4
	Ca(OH) ₂	,1925	,13841	4
	pasta kopi robusta 75%	,2200	,15556	4
	Total	,2208	,20102	12
hari ke 3	kontrol negatif	1,3325	,24226	4
	Ca(OH) ₂	1,2475	,18786	4
	pasta kopi robusta 75%	1,1925	,18786	4
	Total	1,2575	,19717	12
hari ke 5	kontrol negatif	2,6675	,28791	4
	Ca(OH) ₂	2,2500	,23123	4
	pasta kopi robusta 75%	2,4150	,57535	4
	Total	2,4442	,39953	12
hari ke 7	kontrol negatif	3,7250	,14201	4
	Ca(OH) ₂	3,3325	,28791	4
	pasta kopi robusta 75%	3,3850	,06351	4
	Total	3,4808	,24945	12
Total	kontrol negatif	1,9938	1,37863	16
	Ca(OH) ₂	1,7556	1,21935	16
	pasta kopi robusta 75%	1,8031	1,27036	16
	Total	1,8508	1,26766	48

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		jumlah limfosit
N		48
Normal Parameters ^a	Mean	1,8508
	Std. Deviation	1,26766
Most Extreme Differences	Absolute	.114
	Positive	.114
	Negative	-.110
Kolmogorov-Smirnov Z		.790
Asymp. Sig. (2-tailed)		.560

a. Test distribution is Normal.

Uji Homogenitas Limfosit

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Limfosit

F	df1	df2	Sig.
1.852	11	36	.081

Uji Parametrik *One Way Anova* Limfosit

ANOVA

Limfosit	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	408.417	21	19.448	3.091	.004
Within Groups	163.583	26	6.292		
Total	572.000	47			

Uji Lanjutan Limfosit

Multiple Comparisons

LSD

(I)	(J)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol perlakuan	K03	-,08333	,25768	.748	-,6059	,4393
	K05	-,72222*	,25768	.008	-1,2448	-,1996
	K07	-,91667*	,25768	.001	-1,4393	-,3941
	K11	-,22222	,25768	.394	-,7448	,3004
	K13	-1,36111*	,25768	.000	-1,8837	-,8385
	K15	-1,83333*	,25768	.000	-2,3559	-1,3107
	K17	-2,83333*	,25768	.000	-3,3559	-2,3107
	K21	-,27778	,25768	.288	-,8004	,2448
	K23	-1,47222*	,25768	.000	-1,9948	-,9496
	K25	-2,16667*	,25768	.000	-2,6893	-1,6441
	K27	-3,19444*	,25768	.000	-3,7171	-2,6718
kontrol perlakuan	K01	,08333	,25768	.748	-,4393	,6059
	K05	-,63889*	,25768	.018	-1,1615	-,1163
	K07	-,83333*	,25768	.003	-1,3559	-,3107
	K11	-,13889	,25768	.593	-,6615	,3837
	K13	-1,27778*	,25768	.000	-1,8004	-,7552
	K15	-1,75000*	,25768	.000	-2,2726	-1,2274
	K17	-2,75000*	,25768	.000	-3,2726	-2,2274
	K21	-,19444	,25768	.455	-,7171	,3282
	K23	-1,38889*	,25768	.000	-1,9115	-,8663
	K25	-2,08333*	,25768	.000	-2,6059	-1,5607
	K27	-3,11111*	,25768	.000	-3,6337	-2,5885

K05	K01	,72222*	,25768	.008	,1996	1,2448
	K03	,63889*	,25768	.018	,1163	1,1615
	K07	-,19444	,25768	.455	-,7171	,3282
	K11	,50000	,25768	.060	-,0226	1,0226
	K13	-,63889*	,25768	.018	-1,1615	-,1163
	K15	-1,11111*	,25768	.000	-1,6337	-,5885
	K17	-2,11111*	,25768	.000	-2,6337	-1,5885
	K21	,44444	,25768	.093	-,0782	,9671
	K23	-,75000*	,25768	.006	-1,2726	-,2274
	K25	-1,44444*	,25768	.000	-1,9671	-,9218
	K27	-2,47222*	,25768	.000	-2,9948	-1,9496
	K07	K01	,91667*	,25768	.001	,3941
K03		,83333*	,25768	.003	,3107	1,3559
K05		,19444	,25768	.455	-,3282	,7171
K11		,69444*	,25768	.011	,1718	1,2171
K13		-,44444	,25768	.093	-,9671	,0782
K15		-,91667*	,25768	.001	-1,4393	-,3941
K17		-1,91667*	,25768	.000	-2,4393	-1,3941
K21		,63889*	,25768	.018	,1163	1,1615
K23		-,55556*	,25768	.038	-1,0782	-,0329
K25		-1,25000*	,25768	.000	-1,7726	-,7274
K27		-2,27778*	,25768	.000	-2,8004	-1,7552
K11		K01	,22222	,25768	.394	-,3004
	K03	,13889	,25768	.593	-,3837	,6615
	K05	-,50000	,25768	.060	-1,0226	,0226
	K07	-,69444*	,25768	.011	-1,2171	-,1718
	K13	-1,13889*	,25768	.000	-1,6615	-,6163
	K15	-1,61111*	,25768	.000	-2,1337	-1,0885
	K17	-2,61111*	,25768	.000	-3,1337	-2,0885

	K21	-,05556	,25768	.831	-,5782	,4671
	K23	-1,25000*	,25768	.000	-1,7726	-,7274
	K25	-1,94444*	,25768	.000	-2,4671	-1,4218
	K27	-2,97222*	,25768	.000	-3,4948	-2,4496
K13	K01	1,36111*	,25768	.000	,8385	1,8837
	K03	1,27778*	,25768	.000	,7552	1,8004
	K05	,63889*	,25768	.018	,1163	1,1615
	K07	,44444	,25768	.093	-,0782	,9671
	K11	1,13889*	,25768	.000	,6163	1,6615
	K15	-,47222	,25768	.075	-,9948	,0504
	K17	-1,47222*	,25768	.000	-1,9948	-,9496
	K21	1,08333*	,25768	.000	,5607	1,6059
	K23	-,11111	,25768	.669	-,6337	,4115
	K25	-,80556*	,25768	.003	-1,3282	-,2829
	K27	-1,83333*	,25768	.000	-2,3559	-1,3107
K15	K01	1,83333*	,25768	.000	1,3107	2,3559
	K03	1,75000*	,25768	.000	1,2274	2,2726
	K05	1,11111*	,25768	.000	,5885	1,6337
	K07	,91667*	,25768	.001	,3941	1,4393
	K11	1,61111*	,25768	.000	1,0885	2,1337
	K13	,47222	,25768	.075	-,0504	,9948
	K17	-1,00000*	,25768	.000	-1,5226	-,4774
	K21	1,55556*	,25768	.000	1,0329	2,0782
	K23	,36111	,25768	.170	-,1615	,8837
	K25	-,33333	,25768	.204	-,8559	,1893
	K27	-1,36111*	,25768	.000	-1,8837	-,8385
K17	K01	2,83333*	,25768	.000	2,3107	3,3559
	K03	2,75000*	,25768	.000	2,2274	3,2726
	K05	2,11111*	,25768	.000	1,5885	2,6337

	K07	1,91667*	,25768	.000	1,3941	2,4393
	K11	2,61111*	,25768	.000	2,0885	3,1337
	K13	1,47222*	,25768	.000	,9496	1,9948
	K15	1,00000*	,25768	.000	,4774	1,5226
	K21	2,55556*	,25768	.000	2,0329	3,0782
	K23	1,36111*	,25768	.000	,8385	1,8837
	K25	,66667*	,25768	.014	,1441	1,1893
	K27	-,36111	,25768	.170	-,8837	,1615
K21	K01	,27778	,25768	.288	-,2448	,8004
	K03	,19444	,25768	.455	-,3282	,7171
	K05	-,44444	,25768	.093	-,9671	,0782
	K07	-,63889*	,25768	.018	-1,1615	-,1163
	K11	,05556	,25768	.831	-,4671	,5782
	K13	-1,08333*	,25768	.000	-1,6059	-,5607
	K15	-1,55556*	,25768	.000	-2,0782	-1,0329
	K17	-2,55556*	,25768	.000	-3,0782	-2,0329
	K23	-1,19444*	,25768	.000	-1,7171	-,6718
	K25	-1,88889*	,25768	.000	-2,4115	-1,3663
	K27	-2,91667*	,25768	.000	-3,4393	-2,3941
K23	K01	1,47222*	,25768	.000	,9496	1,9948
	K03	1,38889*	,25768	.000	,8663	1,9115
	K05	,75000*	,25768	.006	,2274	1,2726
	K07	,55556*	,25768	.038	,0329	1,0782
	K11	1,25000*	,25768	.000	,7274	1,7726
	K13	,11111	,25768	.669	-,4115	,6337
	K15	-,36111	,25768	.170	-,8837	,1615
	K17	-1,36111*	,25768	.000	-1,8837	-,8385
	K21	1,19444*	,25768	.000	,6718	1,7171
	K25	-,69444*	,25768	.011	-1,2171	-,1718

	K27	-1,72222*	,25768	.000	-2,2448	-1,1996
K25	K01	2,16667*	,25768	.000	1,6441	2,6893
	K03	2,08333*	,25768	.000	1,5607	2,6059
	K05	1,44444*	,25768	.000	,9218	1,9671
	K07	1,25000*	,25768	.000	,7274	1,7726
	K11	1,94444*	,25768	.000	1,4218	2,4671
	K13	,80556*	,25768	.003	,2829	1,3282
	K15	,33333	,25768	.204	-,1893	,8559
	K17	-,66667*	,25768	.014	-1,1893	-,1441
	K21	1,88889*	,25768	.000	1,3663	2,4115
	K23	,69444*	,25768	.011	,1718	1,2171
	K27	-1,02778*	,25768	.000	-1,5504	-,5052
K27	K01	3,19444*	,25768	.000	2,6718	3,7171
	K03	3,11111*	,25768	.000	2,5885	3,6337
	K05	2,47222*	,25768	.000	1,9496	2,9948
	K07	2,27778*	,25768	.000	1,7552	2,8004
	K11	2,97222*	,25768	.000	2,4496	3,4948
	K13	1,83333*	,25768	.000	1,3107	2,3559
	K15	1,36111*	,25768	.000	,8385	1,8837
	K17	,36111	,25768	.170	-,1615	,8837
	K21	2,91667*	,25768	.000	2,3941	3,4393
	K23	1,72222*	,25768	.000	1,1996	2,2448
	K25	1,02778*	,25768	.000	,5052	1,5504

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

LAMPIRAN F. Foto Penelitian**Prosedur Pembuatan Ekstrak dan Pasta Biji Kopi Robusta**

Gambar. 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 setangkup



Gambar. Ekstrak Biji Kopi Robusta 100%



Gambar. Pembuatan pasta biji kopi robusta

Prosedur Perlakuan Hewan Coba



Gambar. Pemeliharaan hewan coba



Gambar. Rat Dental Chair



Gambar. Alat *pulp capping* gigi tikus

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



Gambar. Bahan *pulp capping* dan tumpatan sementara

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



Gambar. Prosedur *pulp capping* pada gigi tikus



Gambar. 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. Prosedur dekapitasi tikus

Prosedur Pembuatan Sediaan Histologi



Gambar. 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. Mikrotom



Gambar. Waterbath



Gambar. Slide warmer



Gambar. Kompor listrik



Gambar. Oven



Gambar. Mikroskop binokuler



Gambar. Tahap impregnasi



Gambar. Tahap *embedding*



Gambar. Tahap pemotongan



Gambar. Tahap pewarnaan HE

LAMPIRAN G. PENGAMATAN HISTOLOGIS

a. Kelompok Kontrol (K0)

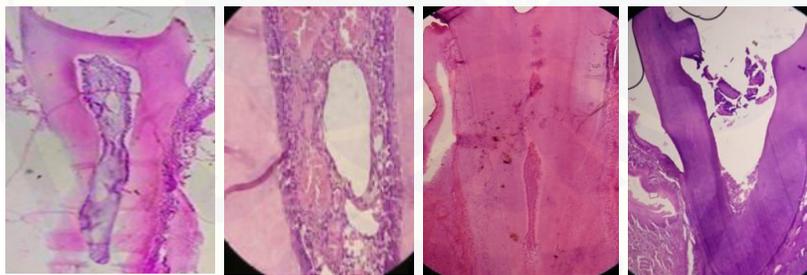
Hari ke-1



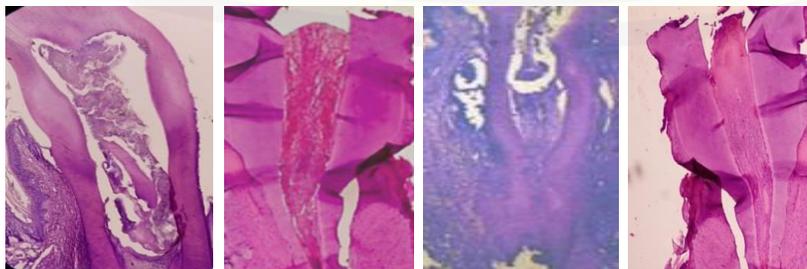
Hari ke-3



Hari ke-5

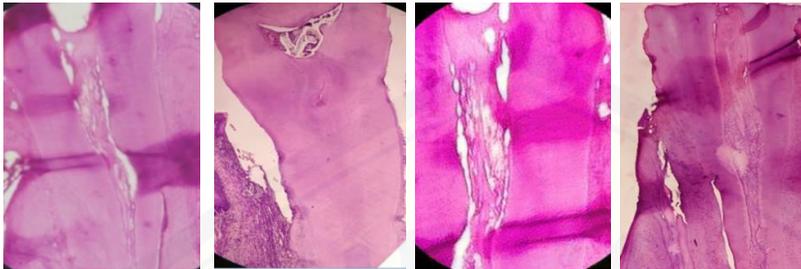


Hari ke-7

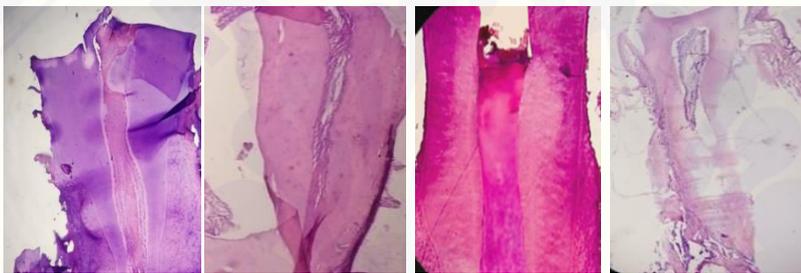


b. Kelompok *direct pulp capping* kalsium hidroksida (K2)

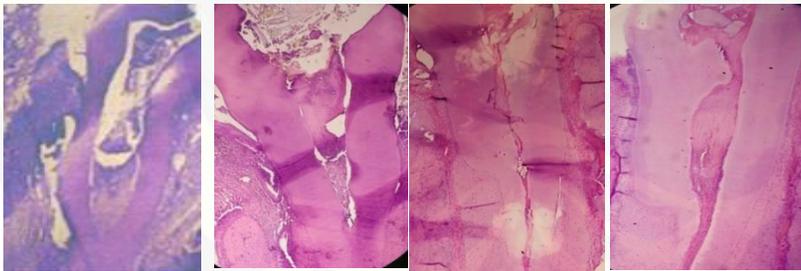
Hari ke-1



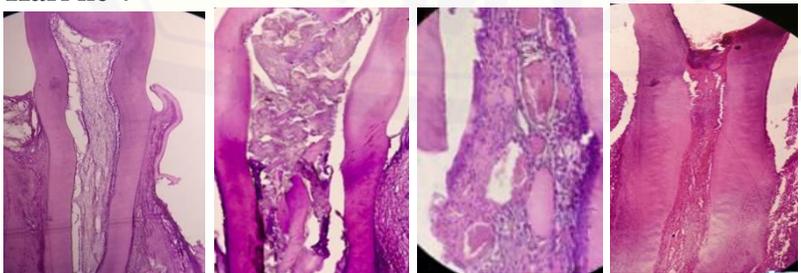
Hari ke-3



Hari ke-5

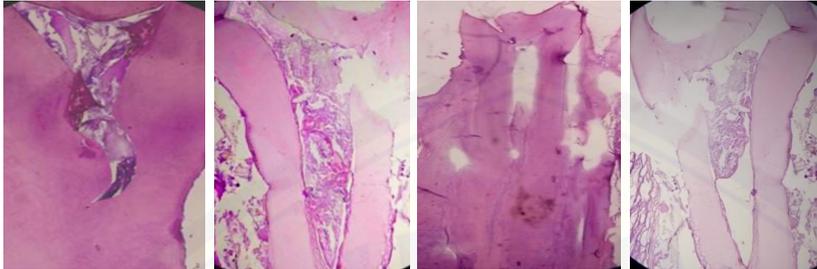


Hari ke-7

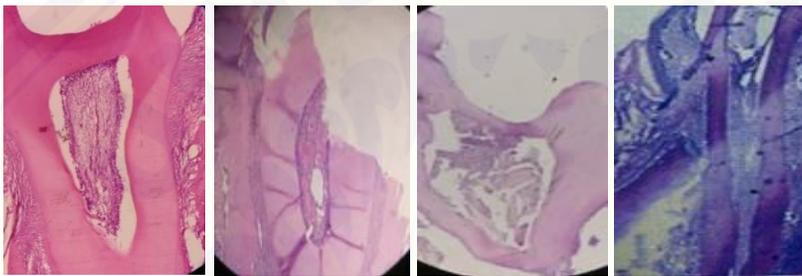


c. Kelompok *direct pulp capping* pasta kopi Robusta 75%

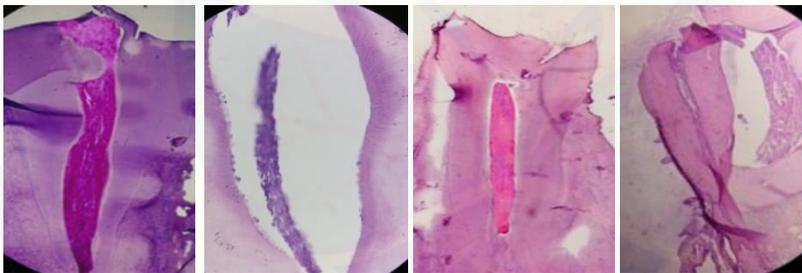
Hari ke-1



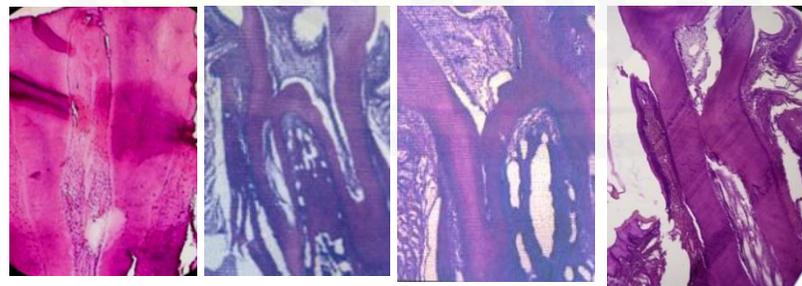
Hari ke-3



Hari ke-5



Hari ke-7



LAMPIRAN H. Surat Ijin Penelitian di Lab Farmakologi



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
Jl. Kalimantan No. 37 Jember ☎(031) 333536, Faks. 331991

Nomor : 2401/UN25.8/TL/2017
Perihal : Ijin Penelitian

Kepada Yth
Kepala Bagian BIOMEDIK
Fakultas Kedokteran Gigi 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 kami dibawah ini :

- | | | |
|----|-------------------------|--|
| 1 | Nama | : Ari Kurniasari |
| 2 | NIM | : 131610101038 |
| 3 | Semester/Tahun | : 2016/2017 |
| 4 | Fakultas | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember |
| 5 | Alamat | : Jl. Batu Raden 1/6 Jember |
| 6 | Judul Penelitian | : Efektivitas Pasta Biji Kopi Robusta (Coffea Robusta) Sebagai Bahan Direct Pulp Capping Pada Reversible Pulpitis Terhadap Jumlah Sel Makofag Dan Sel Limposit |
| 7 | Lokasi Penelitian | : Laboratorium Farmakologi FKG Universitas Jember |
| 8 | Data/alat yang dipinjam | : Timbangan, Dental Rat Chair |
| 9 | Waktu | : Desember 2016 s/d Februari 2017 |
| 10 | Tujuan Penelitian | : Untuk Mengetahui Efektivitas Pasta Biji Kopi Robusta (Coffea Robusta) Sebagai Bahan Direct Pulp Capping Terhadap Jumlah Sel Makofag Dan Sel Limposit |
| 11 | Dosen Pembimbing | : 1. drg. Roedy Budirahardjo, M.Kes., Sp.KGA.
2. drg. Dwi Merry Christmarini R., M.Kes. |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih



Dr. drg. DDA Susilawati, M.Kes
NIP.196109031986022001

LAMPIRAN I. Surat Ijin Penelitian di Lab Patologi Anatomi



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
Jl. Kalimantan No. 37 Jember ☎(0331) 333556, Faks. 331991

Nomor : 2401/UN25.8/TL/2017
Perihal : Ijin Penelitian

Kepada Yth
Kepala Bagian BIOMEDIK
Fakultas Kedokteran Gigi 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 kami dibawah ini :

- | | | |
|----|-------------------------|--|
| 1 | Nama | : Ari Kurniasari |
| 2 | NIM | : 131610101038 |
| 3 | Semester/Tahun | : 2016/2017 |
| 4 | Fakultas | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember |
| 5 | Alamat | : Jl. Batu Raden 1/6 Jember |
| 6 | Judul Penelitian | : Efektivitas Pasta Biji Kopi Robusta (Coffea Robusta) Sebagai Bahan Direct Pulp Capping Pada Reversible Pulpitis Terhadap Jumlah Sel Makofag Dan Sel Limposit |
| 7 | Lokasi Penelitian | : Laboratorium Patologi Anatomi FKG Universitas Jember |
| 8 | Data/alat yang dipinjam | : - |
| 9 | Waktu | : Desember 2016 s/d Februari 2017 |
| 10 | Tujuan Penelitian | : Untuk Mengetahui Efektivitas Pasta Biji Kopi Robusta (Coffea Robusta) Sebagai Bahan Direct Pulp Capping Terhadap Jumlah Sel Makofag Dan Sel Limposit |
| 11 | Dosen Pembimbing | : 1. drg. Roedy Budirahardjo, M.Kes., Sp.KGA.
2. drg. Dwi Merry Christmarini R., M.Kes |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih



Dr. drg. IDA Susilawati, M.Kes
NIP.196109031986022001