

**PENGARUH PEMBERIAN KOPI ROBUSTA LAMPUNG TERHADAP  
GAMBARAN HISTOLOGI ARTERI KORONARIA TIKUS PUTIH  
(*Rattus norvegicus*) JANTAN GALUR *Sprague dawley***

**(Skripsi)**

**Oleh**

**DWI JAYANTI TRI LESTARI**



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2018**

**PENGARUH PEMBERIAN KOPI ROBUSTA LAMPUNG TERHADAP  
GAMBARAN HISTOLOGI ARTERI KORONARIA TIKUS PUTIH  
(*Rattus norvegicus*) JANTAN GALUR *Sprague dawley***

Oleh  
**DWI JAYANTI TRI LESTARI**

**Skripsi**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar  
SARJANA KEDOKTERAN**

Pada  
**Program Studi Pendidikan Dokter  
Fakultas Kedokteran**



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2018**

## ABSTRACT

### **The Influence of Administering Lampung Robusta Coffee to Histological Appearance Coronary Artery of Male White Rat (*Sprague dawley*)**

By

DWI JAYANTI TRI LESTARI

**Background:** Coffee is one of caffeine sources. Recent observations show that high levels of caffeine intake will increase the concentration of homocystein. Increased concentrations of homocystein are closely linked to the risk of cardiovascular disease.

**Objective:** To know the effect giving Lampung Robusta Coffee to Histological Appearance Coronary Artery of Male White Rat (*Sprague dawley*).

**Method:** The type of this research is pure laboratory experimental design with post test only control group designs. The population was 8-12 weeks old with 20 mice samples divided into 4 experimental groups.

**Result:** The results showed that in group K(-) had normal coronary artery histology. In P1 the arrangement of intima, media and adventitia tunica begin irregule the coronary artery getting thicker. P2 shows that the coronary artery getting more thick than group K(-) and P1. In P3 the arrangement of intima, media and adventitia tunica are irregular and the coronary artery thickness is over than K(-), P1 and P2. Data is normally distributed. *One Way Anova* test results obtained p value  $<0.05$  in all groups.

**Conclusion:** There is an effect of giving Lampung Robusta Coffee to Histological Structure Coronary Artery of Male White Rat (*Sprague dawley*).

**Keywords:** Lampung robusta coffee, histological coronary artery, white rat

## ABSTRAK

### **Pengaruh Pemberian Kopi Robusta Lampung Terhadap Gambaran Histologi Arteri Koronaria Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur *Sprague dawley***

Oleh

DWI JAYANTI TRI LESTARI

**Latar Belakang:** Kopi merupakan salah satu sumber kafein. Observasi terkini menunjukkan bahwa kadar asupan kafein yang tinggi akan membuat terjadinya peningkatan konsentrasi homosistein. Meningkatnya konsentrasi homosistein berhubungan erat dengan resiko penyakit kardiovaskuler.

**Tujuan:** Mengetahui pengaruh pemberian kopi robusta Lampung terhadap gambaran histologi arteri koronaria tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley*.

**Metode:** Jenis penelitian ini adalah desain eksperimental metode rancangan acak terkontrol dengan pola *post test only control group designs*. Populasi berupa tikus putih berjumlah 20 ekor yang berusia 8-12 minggu dibagi kedalam 4 kelompok percobaan.

**Hasil:** Kelompok K(-) memiliki histologis arteri koronaria normal. Pada P1 susunan tunika intima, tunika media dan adventitia mulai tidak teratur dan sedikit terjadi penebalan arteri koroner. Pada P2 menunjukkan peningkatan ketebalan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol dan P1. Pada P3 susunan tunika intima, tunika media dan adventitia sudah tidak teratur dan ketebalan arteri koroner lebih tebal dibandingkan kelompok kontrol, P1 dan P2. Data terdistribusi normal. Hasil uji *One Way Anova* didapatkan nilai  $p < 0,05$  pada semua kelompok.

**Kesimpulan:** Terdapat penebalan dinding arteri koronaria tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* akibat pemberian kopi robusta Lampung.

**Kata Kunci :** kopi robusta Lampung, histologis arteri koronaria, tikus putih

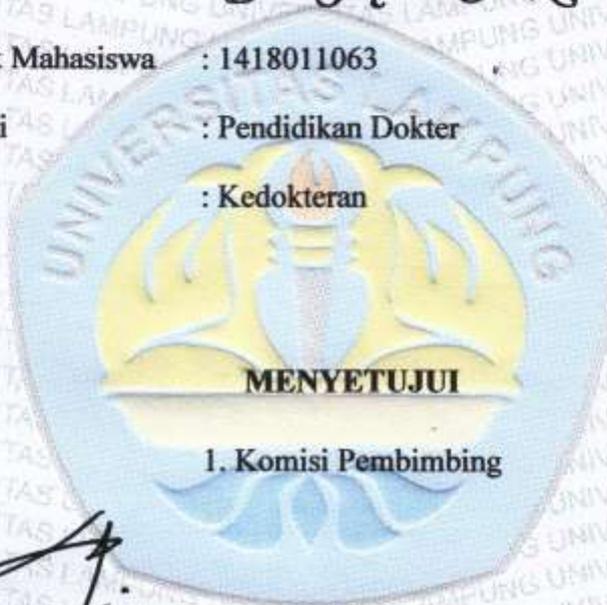
**Judul Skripsi** : **PENGARUH PEMBERIAN KOPI ROBUSTA LAMPUNG TERHADAP GAMBARAN HISTOLOGI ARTERI KORONARIA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) JANTAN GALUR *Sprague dawley***

**Nama Mahasiswa** : **Dwi Jayanti Tri Lestari**

**Nomor Pokok Mahasiswa** : **1418011063**

**Program Studi** : **Pendidikan Dokter**

**Fakultas** : **Kedokteran**



**1. Komisi Pembimbing**

**Dr. dr. Susianti, S.Ked., M.Sc**  
**NIP 19780805 200501 2 003**

**dr. Syahrul Hamidi Nasution, S.Ked**

**2. Dekan Fakultas Kedokteran**

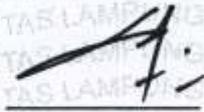


**Dr. dr. Muhartono, S.Ked., M.Kes., Sp.PA**  
**NIP 19701208 200112 1 001**

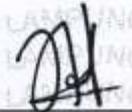
**MENGESAHKAN**

**1. Tim Penguji**

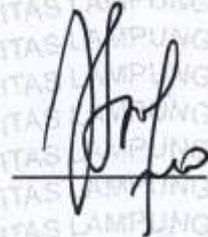
**Ketua : Dr. dr. Susianti, S.Ked., M.Sc**



**Sekretaris : dr. Syahrul Hamidi Nasution, S.Ked**



**Penguji  
Bukan Pembimbing : Dr. dr. Khairun Nisa, S.Ked.,  
M.Kes., AIFO**



**2. Dekan Fakultas Kedokteran**



**Dr. dr. Muhartono, S.Ked., M.Kes., Sp.PA  
NIP 19701208 200112 1 001**

**Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 1 Februari 2018**

## LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya, bahwa :

1. Skripsi dengan judul **“PENGARUH PEMBERIAN KOPI ROBUSTA LAMPUNG TERHADAP GAMBARAN HISTOLOGI ARTERI KORONARIA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) JANTAN GALUR *Sprague dawley*”** adalah hasil karya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai tata etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau disebut plagiarisme
2. Hal intelektual atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung

Atas pernyataan ini, apabila di kemudian hari ternyata ditemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya.

Bandar Lampung, Januari 2018

Pembuat Pernyataan



Dwi Jayanti Tri Lestari



## **RIWAYAT HIDUP**

Penulis lahir di Kota Bandar Lampung, pada tanggal 15 November 1996, sebagai anak ketiga dari empat bersaudara, dari pasangan Bapak Drs. H. Syarip Anwar, MP dan Ibu Hj. Nurhayati HA, SE, MM

Penulis mulai menempuh pendidikan Taman Kanak-kanak di Pertiwi Lampung Barat pada tahun 2001 setelah satu tahun menempuh pendidikan Taman Kanak Kanak, penulis memasuki jenjang pendidikan dasar di SD Negeri 1 Rawa Laut (Teladan) Bandar Lampung.

Pada tahun 2008 penulis melanjutkan pendidikan di SMPN 1 Bandar Lampung selama tiga tahun dan pada tahun 2011 penulis meneruskan pendidikan menengah atas di SMAN 2 Bandar Lampung.

Setelah tiga tahun, penulis lulus dan meneruskan pendidikan di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN).

## **PERSEMBAHAN**

Dengan mengucapkan syukur kepada Allah SWT, kupersembahkan karya ini yang selalu kusebut sebagai lembaran-lembaran masa depan untuk orang-orang yang kusayangi

Ayahku tersayang Drs. H. Syarip Anwar, MP dan Ibuku tersayang Hj. Nurhayati HA, SE, MM sebagai pemberi semangat terbaik dalam hidupku yang tak pernah lelah mendoakan serta menyayangiku, atas semua doa, cinta, pengorbanan, ketulusan, kesabaran dan dukungan hingga dapat menghantarkanku sampai pada titik ini.

## SANWACANA

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT, karena berkat rahmat dan hidayah-Nya skripsi ini dapat diselesaikan.

Skripsi dengan judul “ *Pengaruh Pemberian Kopi Robusta Lampung Terhadap Gambaran Histologi Arteri Koronaria Tikus Putih (Rattus Norvegicus) Jantan Galur Sprague Dawley*” adalah salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana Kedokteran di Universitas Lampung .

Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Hasriadi Mat Akin, M.P., selaku Rektor Universitas Lampung.
2. Dr. dr. Muhartono, S.Ked., M.Kes., Sp.PA selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
3. Dr. dr. Susianti, S.Ked, M.Sc selaku Pembimbing Utama atas kesediaannya untuk memberikan waktu, motivasi, saran dan kritik dalam proses penyelesaian skripsi ini.
4. dr. Syahrul Hamidi Nasution, S.Ked selaku Pembimbing Kedua atas kesediaannya memberikan untuk waktu, motivasi, saran dan kritik dalam

proses penyelesaian skripsi ini.

5. Dr. dr. Khairun Nisa, S.Ked., M.Kes., AIFO selaku Penguji Utama atas kesediaannya memberikan waktu, saran dan kritik dalam proses penyelesaian skripsi ini.
6. dr. Hanna Mutiara, S. Ked, M.Kes selaku Pembimbing Akademik, terima kasih atas motivasi dan doanya.
7. Seluruh Staf Pengajar dan karyawan di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, atas ilmu dan pengetahuan yang menjadi landasan bagi masa depan dan cita cita.
8. Bu Nuriyah dan Mas Bayu, yang telah membantu selama penelitian sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
9. Orang tuaku Drs.Hi.Syarip Anwar, MP dan Hj.Nurhayati HA,S.E.,M.M. atas dukungan, doa, kerja keras dan motivasi yang senantiasa diberikan selama ini.
10. Kakakku Deswan Wiratama Subing,S.H.,M.H., dr. Dian Revita Sari dan Adikku Dandy Nursyaputra Subing atas perhatian dan doa yang telah diberikan.
11. Keluarga besar H. M. Moeslim (alm) atas dukungan, motivasi dan doa yang telah diberikan.
12. Keluarga besar H. Hendrik Amir (alm) atas dukungan, motivasi dan doa

yang telah diberikan.

13. Sahabat-sahabat terbaikku Arninda Rahman, Bella Juliana dan Chyntia Saputri untuk kebersamaan, perjuangan, pengertian dan dukungan selama ini.
14. Sahabat-sahabat SMA terbaikku Fatimah Marsela, Zakia Agustri, Risa Apriani dan Sonya Soraya yang memberikan dukungan selama ini.
15. Teman-teman *pet house* (Keith Shawn, Kholifah Nawang, Nabila Fatimah, Ocsi Zara, dan lainnya) atas jerih payahnya membantu penulis dalam menyelesaikan penelitian.
16. Teman-teman belajar bersama ku: Naylul Azizah, Febrina, Piesta, Debby dan Renti. Terima kasih telah membantu penulis dalam menyelesaikan penelitian.
17. Teman-teman angkatan 2014. Terima kasih atas kebersamaan, kekompakkan dan keceriaan selama perkuliahan.
18. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu-persatu yang telah memberikan bantuan dalam penyelesaian penelitian ini.

Akhir kata, penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, akan tetapi sedikit harapan semoga skripsi ini dapat berguna dan bermanfaat bagi kita semua. Amin.

Bandar Lampung, Januari 2018

Penulis

Dwi Jayanti Tri Lestari

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>PERSEMBAHAN</b> .....	i
<b>SANWACANA</b> .....	ii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	vi
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	ix
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	x
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xi
<b>BAB 1 PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.4 Manfaat Penelitian .....	3
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Kopi.....	5
2.1.1 Kopi Robusta.....	7
2.1.2 Kopi Arabika .....	8
2.2 Jantung .....	10
2.2.1 Anatomi Jantung .....	10
2.2.2 Histologi Jantung .....	13
2.2.3 Fisiologi Jantung .....	15
2.3 Arteri Koronaria .....	16
2.3.1 Anatomi Arteri Koronaria .....	16
2.3.2 Histologi Arteri Koronaria .....	17
2.3.3 Fisiologi Arteri Koronaria.....	18

2.4 Proses Kerusakan Arteri Koronaria Akibat Konsumsi Kopi .....	19
2.5 Tikus Putih .....	23
2.6 Kerangka Penelitian .....	24
2.6.1 Kerangka Teori.....	24
2.6.2 Kerangka Konsep .....	27
2.7 Hipotesis.....	27

### **BAB III METODE PENELITIAN**

3.1 Desain Penelitian.....	28
3.2 Tempat dan Waktu .....	28
3.3 Populasi dan Sampel .....	28
3.3.1 Kriteria Inklusi .....	31
3.3.2 Kriteria Eksklusi.....	31
3.4 Alat dan Bahan Penelitian .....	33
3.4.1 Alat Penelitian .....	33
3.4.2 Bahan Penelitian .....	33
3.5 Prosedur Penelitian .....	34
3.5.1 Pemilihan Kopi Robusta .....	34
3.5.2 Perhitungan Dosis Bertingkat Pemberian Kopi .....	34
3.5.3 Pemilihan Hewan Coba .....	35
3.5.4 Adaptasi Hewan Coba .....	35
3.5.5 Prosedur Pemberian Intervensi .....	36
3.5.6 Prosedur Pengelolaan Hewan Coba Pasca Penelitian .....	36
3.5.7 Prosedur Pengambilan Bagian Arteri Koronaria .....	36
3.5.8 Prosedur Operasional Pembuatan Preparat .....	37
3.6 Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional Variabel .....	41
3.6.1 Identifikasi Variabel .....	41
3.6.2 Definisi Operasional Variabel .....	41
3.7 Analisis Data .....	42
3.8 <i>Ethical Clearance</i> .....	42

**BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN**

4.1 Hasil Penelitian.....43  
4.2 Analisis Data.....47  
4.3 Pembahasan.....49

**BAB V SIMPULAN DAN SARAN**

5.1 Simpulan.....56  
5.2 Saran.....56

**DAFTAR PUSTAKA**

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Komposisi kimia biji dan bubuk kopi robusta .....	8
2. Definisi operasional variable.....	41

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Perbedaan kopi Arabika dan Robusta dilihat dari bentuk bijinya .....	6
2. Kopi robusta menjelang matang .....	7
3. Kopi Arabika matang .....	9
4. Struktur anatomi jantung bagian dalam .....	13
5. Tampak depan anatomi arteri koronaria.....	16
6. Lapisan pembuluh darah .....	18
7. Kerangka teori pengaruh pemberian kopi terhadap arteri koronaria .....	26
8. Kerangka konsep .....	27
9. Diagram alur penelitian .....	32

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Data hasil penelitian.....	63
2. Hasil analisis.....	64
3. Ethical Clearence.....	68
4. Surat peminjaman laboratorium.....	69
5. Sertifikat tikus.....	70
6. Penimbangan berat kopi.....	71
7. Pembuatan kopi.....	71
8. Pemberian kopi ke tikus menggunakan sonde.....	72
9. Proses laparotomi.....	72
10. Pengukuran preparat.....	73
11. Hasil pengukuran ketebalan arteri koronaria.....	74

## **BAB I PENDAHULUAN**

### **1.1. Latar Belakang**

Kopi merupakan salah satu sumber kafein yang tersebar luas dan dapat diperoleh secara bebas. Pengaruh gaya hidup dan semakin maraknya kafe serta kedai kopi turut meningkatkan jumlah konsumen kopi. Menurut *National Coffee Association United States* (2011), Konsumsi kopi sebagai sumber utama kafein meningkat sebesar 98% dalam 10 tahun terakhir di Indonesia.

Kafein atau 1,3,7 trimetil 2,6 dioksimurin merupakan salah satu senyawa alkaloid yang sangat penting yang terdapat di dalam biji kopi. Kafein dalam kondisi murni berupa serbuk putih berbentuk kristal prisma heksagonal, dan merupakan senyawa tidak berbau, serta berasa pahit (Widyotomo *et al.*, 2007).

Kafein memiliki beberapa pengaruh pada sistem kardiovaskular jika dikonsumsi dalam jumlah yang banyak dan dalam jangka waktu yang panjang (Kang, 2010). Kelebihan konsumsi kafein dapat menyebabkan seseorang cepat marah, lemas, pusing, gangguan tidur atau sakit kepala serta dapat menginduksi antagonis adenosin dan penghambat fosfodiesterase, berinteraksi dengan sistem saraf simpatik dan merangsang

aktivasi reseptor  $\beta_1$ . Hal ini menyebabkan efek positif inotropik dan kronotropik yang membuat denyut jantung meningkat (Cappelletti *et al.*, 2015).

(Ruswendi, 2011) menyatakan bahwa terdapat hubungan antara kafein dengan kadar plasma homosistein dalam tubuh peminum kopi. Kadar asupan kafein yang tinggi akan membuat terjadinya peningkatan konsentrasi homosistein. Menurut (Widyotomo *et al.*, 2007) homosistein merupakan substansi yang terbentuk dari metionin, yakni suatu asam amino esensial yang terbentuk pada saat tubuh mengeluarkan protein. Meningkatnya konsentrasi homosistein berhubungan erat dengan resiko penyakit kardiovaskuler dan telah terbukti bahwa asam amino esensial sering menyebabkan timbulnya luka di berbagai lapisan dalam pembuluh darah arteri yaitu tunika intima dan selanjutnya menjadi tempat menumpuknya asam lemak dan kalsium. Timbunan ini bisa mengakibatkan penebalan dinding pembuluh darah.

Meskipun hubungan konsumsi kopi dengan faktor risiko metabolik penyakit jantung dan koroner telah menjadi topik yang sering menarik, namun sedikit penelitian tentang kopi, kafein, atau teh yang mungkin berhubungan dengan penebalan dan pelebaran pembuluh darah. *The Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA)* meneliti hubungan dosis dan respons dari kebiasaan kopi, kopi tanpa kafein, kafein, dan konsumsi teh pada dewasa muda untuk melihat perkembangan koroner dan aterosklerosis karotid. Pada penelitian tersebut menunjukkan

bahwa konsumsi teh dapat mencegah perkembangan kalsifikasi koroner, sementara kopi dan asupan kafein pada penelitian tersebut tidak terlihat apakah menguntungkan atau merugikan (Reis *et al.*, 2011).

## **1.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang diatas maka yang menjadi permasalahan dalam penelitian ini adalah “Apakah terdapat pengaruh pemberian kopi robusta Lampung terhadap gambaran histologi arteri koronaria tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley*?”

## **1.3 Tujuan Penelitian**

### **1.3.1 Tujuan Umum**

Untuk mengetahui pengaruh pemberian kopi robusta Lampung terhadap gambaran histologi arteri koronaria tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley*.

### **1.3.2 Tujuan Khusus**

1. Untuk mengetahui pengaruh pemberian kopi robusta Lampung terhadap ketebalan dinding arteri koronaria tikus putih.
2. Untuk mengetahui apakah peningkatan dosis kopi robusta Lampung menyebabkan peningkatan ketebalan dinding arteri koronaria.

#### 1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat :

1. Bagi Peneliti

Sebagai informasi dasar untuk mengetahui pengaruh pemberian kopi robusta Lampung terhadap gambaran histologi arteri koronaria tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* agar dapat dilakukan penelitian lebih lanjut.

2. Bagi Institusi Pendidikan dan Masyarakat

Untuk memberikan informasi mengenai pengaruh kopi yang berlebihan terhadap arteri koronaria tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* secara histologi.

3. Bagi Ilmu Pengetahuan dan Teknologi

Sebagai sumber ilmu tambahan mengenai pengaruh pemberian kopi robusta Lampung terhadap gambaran histologi arteri koronaria tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley*.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1. Kopi**

Kopi merupakan komoditas perkebunan yang memiliki peranan penting dalam perekonomian Indonesia. Komoditas ini diperkirakan menjadi sumber pendapatan utama tidak kurang dari 1,84 juta keluarga yang sebagian besar mendiami kawasan pedesaan di wilayah-wilayah terpencil. Selain itu, lebih kurang 1 juta keluarga mengandalkan pendapatannya dari industri hilir dan perdagangan kopi (Ditjenbun, 2011).

Tanaman kopi termasuk dalam golongan famili Rubiaceae yang mempunyai 500 macam genus dan lebih dari 6000 spesies. Daunnya berwarna hijau gelap dan mengkilat dengan panjang 10-15 cm dan mempunyai lebar 6 cm. Bunganya berwarna putih dan berbau harum. Biji berbentuk oval, panjang kira-kira 1,5 cm. Biji kopi ini umumnya matang sekitar tujuh hingga sembilan bulan (Rukmana, 2014).

Di Indonesia ada beberapa jenis kopi, diantaranya adalah kopi arabika dan kopi robusta. Kopi arabika pada umumnya memiliki dua keping biji dan berbentuk agak memanjang, bidang cembung tidak terlalu tinggi, celah tengah berlekuk sedangkan Kopi robusta atau kopi *Canephora* memiliki biji

yang agak bulat, lengkungan biji lebih tebal dibandingkan kopi arabika dan garis tengah dari atas kebawah hampir rata (Panggabean, 2011).



**Gambar 1** : Perbedaan biji kopi Arabika dan Robusta (Panggabean, 2011)

Senyawa terpenting yang terdapat dalam kopi adalah kafein. Kafein (1,3,7-trimethylxanthine) merupakan golongan methylxanthine seperti theophylline (1,3-dimethylxanthine) dan theobromine (3,7-dimethylxanthine). Kafein pada suhu ruang berupa bubuk tidak berwarna, tidak berbau dan memiliki rasa agak pahit. Kafein larut dalam air mendidih tetapi pada suhu ruang, pelarut terbaik adalah kloroform (Higdon, 2006).

Kafein termasuk salah satu jenis alkaloid yang banyak terdapat dalam biji kopi, daun teh, dan biji coklat. Efek berlebihan mengkonsumsi kafein dapat menyebabkan gugup, tremor, insomnia, hipertensi, mual dan kejang. Kafein sebagai stimulan tingkat sedang sering diduga menyebabkan kecanduan. Kafein hanya dapat menimbulkan kecanduan jika dikonsumsi dalam jumlah yang banyak dan rutin (Maramis *et al.*, 2013).

### 2.1.1. Kopi Robusta

Kopi robusta ditemukan pertama kali di Kongo pada tahun 18981 oleh ahli botani dari Belgia. Robusta merupakan tanaman asli Afrika yang meliputi daerah Kongo, Sudan, Liberia, dan Uganda. Robusta mulai dikembangkan secara besar-besaran di awal abad ke-20 oleh pemerintahan kolonial Belanda di Indonesia (Tshilenge, 2009).



**Gambar 2:** Kopi robusta menjelang matang (Tshilenge, 2009)

Kopi jenis ini memiliki sifat lebih unggul dan sangat cepat berkembang, oleh karena itu jenis ini lebih banyak dibudidayakan oleh petani kopi di Indonesia. Beberapa sifat penting kopi robusta yaitu resisten terhadap penyakit (HIV) dan tumbuh sangat baik pada ketinggian 0-900 meter dari permukaan laut.

Namun idealnya ditanam pada ketinggian 400-800 meter. Suhu rata-rata yang dibutuhkan tanaman ini sekitar 26°C dengan curah hujan 2000-3000 mm per tahun. Tanaman ini tumbuh dengan baik pada tanah yang memiliki tingkat keasaman (pH) sekitar 5-6,5 (Tshilenge, 2009).

Klasifikasi tanaman

Kerajaan : *plantae*

Divisi : *Tracheophyta*

Kelas : *Magnoliopsida*

Suku : *Rubiaceae*

Marga : *Coffea*

Spesies : *Coffea canephora Pierre ex A. Froehner*

Adapun komposisi kimia dari biji dan bubuk kopi robusta dapat dilihat pada tabel berikut ini:

**TABEL 1:** Komposisi kimia biji dan bubuk kopi robusta (Panggabean, 2011)

Komponen	Persentase kandungan Biji Kopi	Persentase kandungan Kopi Bubuk
Mineral	4.0-4.5	4.6-5.0
Kafein	1.6-2.4	2.0
Trigonelline	0.6-0.75	0.3-0.6
Lipid	9.0-13.0	6.0-11.0
Total Asam Klorogenat	7.0-10.0	3.9-4.6
Asam Alifatik	1.5-2.0	1.0-1.5
Oligosakarida	5.0-7.0	0-3.5
Total Polisakarida	37.0-47.0	-
Asam Amino	2.0	0
Protein	11.0-13.0	13.0-15.0
Asam Humin	-	16.0-17.0

### 2.1.2. Kopi Arabika

Nama ilmiah kopi arabika adalah *Coffea arabica*. Carl Linnaeus, ahli botani asal Swedia, menggolongkannya ke dalam keluarga *Rubiaceae* genus *Coffea*. Sebelumnya tanaman ini sempat diidentifikasi sebagai *Jasminum arabicum* oleh seorang naturalis asal Perancis. Kopi arabika diduga sebagai spesies hibrida hasil persilangan dari *Coffea eugenioides* dan *Coffea*

*canephora* (Mawardo *et al.*, 2008).



**Gambar 3:** Kopi Arabika matang (Mawardo *et al.*, 2008).

Kopi arabika memiliki banyak kultivar, galur dan klon. Kebanyakan jenis yang ada saat ini bersumber dari kultivar Typica dan Bourbon yang dibawa dari Yaman. Kultivar Typica memiliki buah lebih besar, namun produktivitasnya lebih rendah. Sedangkan kultivar Bourbon memiliki daun yang lebih lebar, buah lebih membulat dan batang yang tegak (Mawardo *et al.*, 2008).

#### Klasifikasi tanaman

Kerajaan : *Plantae*  
Divisi : *Tracheophyta*  
Kelas : *Magnoliopsida*  
Suku : *Rubiaceae*  
Marga : *Coffea*  
Spesies : *Coffea Arabica L.*

Di Indonesia, tanaman kopi arabika hanya bisa tumbuh dengan baik di ketinggian 1.000-2.000 meter dari permukaan laut. Tanaman tersebut masih bisa tumbuh di dataran lebih rendah, hanya saja pertumbuhannya tidak optimal dan mudah terserang penyakit karat daun. Secara umum kopi arabika membutuhkan curah hujan 1.500-2.500 mm per tahun. Dengan bulan kering tidak lebih dari 3 bulan dalam setahun. Suhu udara yang dikehendaki tanaman ini ada pada kisaran 15-25°C (Mawardo *et al.*, 2008).

## **2.2. Jantung**

### **2.2.1. Anatomi Jantung**

Jantung terletak di rongga toraks di antara paru – paru yang dinamakan mediastinum. Pangkal jantung berada di bagian paling atas, di belakang sternum, dan semua pembuluh darah besar masuk dan keluar dari daerah ini. Apeks jantung yang dibentuk oleh ujung ventrikel kiri menunjuk ke arah anterior, inferior, dan kiri, serta berada di atas diafragma (Scanlon, 2007).

Jantung memiliki panjang kira-kira 12 cm (5 in.), lebar 9 cm (3,5 in.), dan tebal 6 cm (2,5 in.), dengan massa rata – rata 250 g pada wanita dewasa dan 300 g pada pria dewasa. Dua pertiga massa jantung berada di sebelah kiri dari garis tengah tubuh (Tortora, 2012).

Batas-batas jantung:

- Kanan : vena kava superior, atrium kanan, vena kava inferior
- Kiri : ujung ventrikel kiri
- Anterior : atrium kanan, ventrikel kanan, sebagian kecil ventrikel kiri

- Posterior : atrium kiri, 4 vena pulmonalis
- Inferior : ventrikel kanan yang terletak hampir horizontal sepanjang diafragma sampai apeks jantung
- Superior : apendiks atrium kiri

Jantung mempunyai tiga permukaan: facies sternocostalis (anterior), facies diaphragmatica (inferior), dan basis cordis (facies posterior). Facies sternocostalis terutama dibentuk oleh atrium kanan dan ventrikel kanan, yang dipisahkan satu sama lain oleh sulcus atrioventrikularis. Pinggir kanannya dibentuk oleh atrium kanan dan pinggir kirinya oleh ventrikulus kiri dan sebagian auricula kiri. Ventrikulus kanan dipisahkan dari ventrikulus kiri oleh sulcus interventrikularis anterior. Facies diaphragmatica jantung terutama dibentuk oleh ventrikel kanan dan kiri yang dipisahkan oleh sulcus interventrikularis posterior. Permukaan inferior atrium kanan, dimana bermuara vena kava inferior, juga ikut membentuk facies ini. Basis cordis, atau facies posterior terutama dibentuk oleh atrium kiri, tempat bermuara empat vena pulmonalis. Basis cordis terletak berlawanan dengan apex cordis (Snell, 2012).

Apex cordis, dibentuk oleh ventriculus kiri, mengarah ke bawah, depan dan kiri. Apex terletak setinggi spatium intercostale V kiri, 9 cm dari garis tengah. Pada daerah apex, denyut apex biasanya dapat dilihat dan diraba pada orang hidup. Perhatikan bahwa basis cordis dinamakan basis karena jantung berbentuk piramid dan basisnya terletak berlawanan dengan apex.

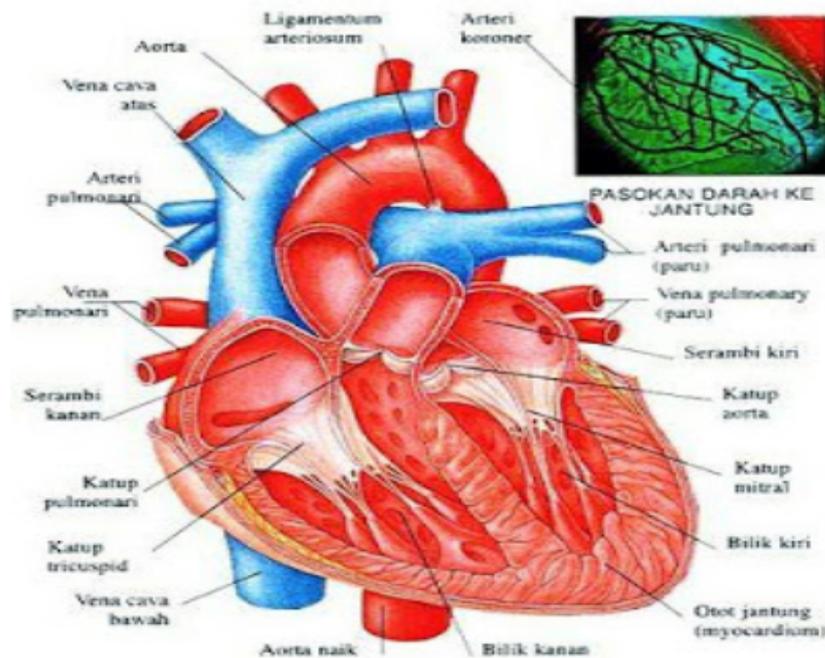
Jantung tidak bertumpu pada basisnya melainkan pada pada facies diaphragmatica (Snell, 2012).

Jantung mempunyai empat ruangan yaitu atrium dekstra, atrium sinistra, ventrikel dekstra, dan ventrikel sinistra. Ventrikel dekstra memiliki ketebalan 4 – 5 mm dan membentuk permukaan anterior jantung. Darah mengalir dari ventrikel dekstra melewati katup pulmonal ke arteri besar bernama trunkus pulmonal, kemudian ke paru – paru (Tortora, 2012).

Atrium dekstra memiliki ketebalan sekitar 2 – 3 mm, membentuk batas kanan dari jantung dan menerima darah dari vena kava superior di bagian posterior atas, vena kava inferior, dan sinus koroner di bagian lebih bawah. Terdapat perbedaan antara dinding posterior dan anterior yaitu pada dinding posterior halus, sedangkan dinding anteriornya kasar karena adanya *pectinate muscles*. Antara atrium dekstra dan sinistra ada sekat tipis yaitu *septum interatrial*. Darah mengalir dari atrium kanan ke ventrikel dekstra melewati suatu katup yang dinamakan katup tricuspid (Tortora, 2012).

Ventrikel dekstra membentuk permukaan anterior jantung dengan ketebalan sekitar 4 – 5 mm dan bagian dalamnya terdapat bubungan - bubungan yang dibentuk oleh *trabeculae carnae*. Ventrikel dekstra dan ventrikel sinistra dipisahkan oleh *septum interventrikular*. Darah dari atrium sinistra mengalir ke ventrikel sinistra melewati katup bikuspid (mitral). Ventrikel sinistra merupakan bagian tertebal dari jantung dan memiliki ketebalan sekitar 10 – 15 mm dan membentuk apeks dari jantung. Sama dengan ventrikel dekstra, ventrikel sinistra mempunyai *trabeculae carnae* dan *chordae tendineae*

yang menempel pada muskulus papilaris. Darah dari ventrikel sinistra ini akan melewati katup aorta ke *ascending aorta*. Sebagian darah akan mengalir ke arteri koroner dan membawa darah ke dinding jantung (Tortora, 2012).



**Gambar 4:** Struktur anatomi jantung (Tortora, 2012)

### 2.2.2. Histologi Jantung

Jantung adalah organ berotot yang berkontraksi secara ritmik, yang memompa darah melalui sistem sirkulasi. Jantung juga berfungsi menghasilkan sebuah hormon yang disebut faktor natriuretik atrium. Dindingnya terdiri atas 3 tunika antara lain: bagian dalam atau endokardium, bagian tengah atau miokardium dan bagian luar atau perikardium. Bagian tengah jantung yang fibrosa disebut skeleton fibrosa dan berfungsi sebagai dasar katup, selain sebagai tempat asal dan insersi otot jantung (Junquiera, 2007).

Endokardium adalah lapis paling dalam dari jantung, dibatasi oleh epitel selapis gepeng yang merupakan lanjutan endotel berbagai pembuluh darah yang masuk atau keluar jantung. Endocardium terdiri atas tiga lapisan, lapisan paling dalam terdiri atas endotel dan jaringan ikat subendotel, berisi serat kolagen dan inti sel – sel jaringan ikat. Lapisan tengah endocardium, meskipun terdiri atas serat kolagen yang padat dan serat elastin dan beberapa sel – sel otot polos, dalam fotomikroskopik ini ditempati oleh percabangan sistem konduksi jantung yaitu serat purkinje. Lapisan ketiga dari endokardium yang tebal dan terdiri atas unsur jaringan ikat, didalamnya ada pembuluh darah, terkadang lemak dan juga sel jaringan ikat (Gartner *et al.*, 2012).

Miokardium adalah tunika yang paling tebal dari jantung dan terdiri atas sel – sel otot jantung yang tersusun dalam lapisan yang mengelilingi bilik – bilik jantung dalam bentuk pilinan yang rumit. Sejumlah besar lapisan – lapisan ini berinsersi ke dalam skeleton fibrosa jantung. Susunan sel otot ini sangat bervariasi sehingga sediaan histologi dari sebagian kecil daerahnya, akan memperlihatkan sel – sel yang tersusun dalam berbagai arah (Junquiera, 2007).

Epikardium dibentuk oleh epitel selapis gepeng yang ditopang oleh selapis tipis jaringan ikat. Lapisan jaringan ikat longgar subepikardium mengandung vena, saraf dan ganglia saraf. Jaringan adipose yang umumnya mengelilingi jantung, memenuhi lapisan ini (Junquiera, 2007).

Katup jantung terdiri atas jaringan ikat fibrosa padat di pusat (yang mengandung serat kolagen maupun elastin) yang dilapisi kedua sisinya oleh lapisan endotel. Dasar katup melekat pada annulus fibrosus di skeleton fibrosa. Jantung memiliki sistem khusus untuk membangkitkan stimulus ritmik yang tersebar di seluruh miokardium dimana sistem ini terdiri atas 2 nodus yang terletak di atrium, yaitu nodus sinoatrial dan nodus atrioventrikular serta berkas atrioventrikular (Junquiera, 2007).

Berkas atrioventrikular dibentuk oleh sel – sel yang serupa dengan sel nodus atrioventrikular. Akan tetapi ke arah distal, sel – sel ini menjadi lebih besar dari sel otot jantung biasa dan memiliki tampilan tersendiri yang disebut sel purkinje dengan masing – masing dengan inti (N) terletak di tengah yang sitoplasmanya kaya akan mitokondria dan glikogen. Sel ini membentuk sejumlah taut rekah (gap junction) satu sama lain dan dengan sel – sel otot jantung (Gartner *et al.*, 2012).

### **2.2.3. Fisiologi Jantung**

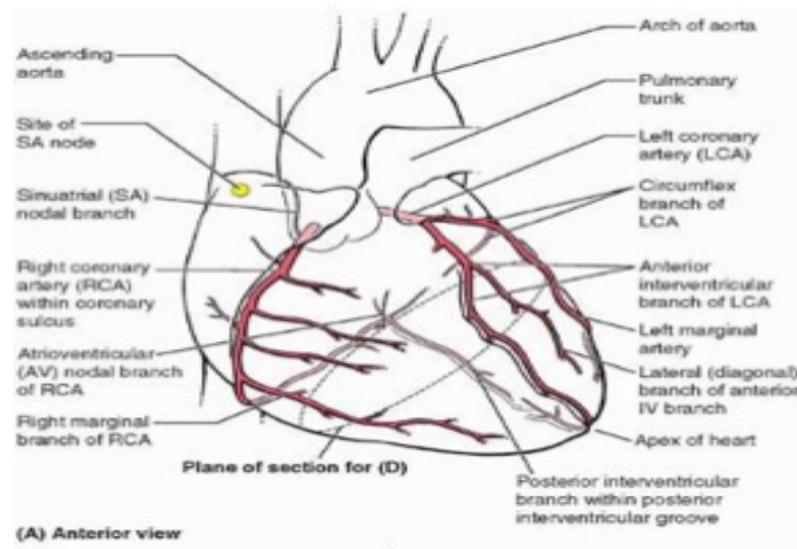
Jantung ialah pompa tekanan dan pengisap ganda yang mampu menyesuaikan sendiri, bagian-bagian yang bekerja serentak untuk mengeluarkan darah ke semua bagian tubuh (Moore dan Agur, 2013). Meskipun semua darah melewati jantung akan tetapi otot jantung tidak mampu menyerap oksigen atau nutrient dari darah di dalam rongga-rongganya karena lapisan endocardium yang kedap air sehingga darah tidak memungkinkan untuk mengalir dari rongga jantung ke dalam miokardium. Dinding jantung juga terlalu tebal untuk difusi oksigen dan zat lain dari

darah di dalam rongga ke sel jantung. Maka dari itu, otot jantung harus menerima darah melalui pembuluh darah yaitu sinus koronaria (Sherwood, 2011).

## 2.3. Arteri Koronaria

### 2.3.1. Anatomi Arteri Koronaria

Arteri koronaria terbagi menjadi dua yaitu arteri koronaria dekstra dan arteri koronaria sinistra. Arteri koronaria dekstra berasal dari sinus aorta dextra dan berjalan di sulcus koronaria ke tepi bawah. Arteri koronaria dekstra akan memasuki sulcus interventrikularis posterior dan melepaskan cabang ramus interventrikularis posterior yang memperdarahi ventrikel. Cabang utama arteri koronaria kanan adalah arteri marginalis dan arteri desenden posterior (Moore *et al.*, 2013).



**Gambar 5:** Arteri Koronaria dari arah anterior (Moore *et al.*, 2013).

Arteri koronaria sinistra berasal dari sinus aorta sinistra membentuk ramus interventrikular anterior yang berjalan ke apeks jantung, dan ramus

sirkumfleksa sinistra yang berjalan di dalam sulkus koronaria mengelilingi tepi jantung kiri untuk mencapai bagian posterior jantung (Paulsen *et al.*, 2012).

### **2.3.2. Histologi Arteri Koronaria**

Arteri koronaria adalah pembuluh darah yang elastis dan berukuran sedang-besar. Pembuluh darah terdiri dari lapisan-lapisan antara lain:

a. Tunika intima

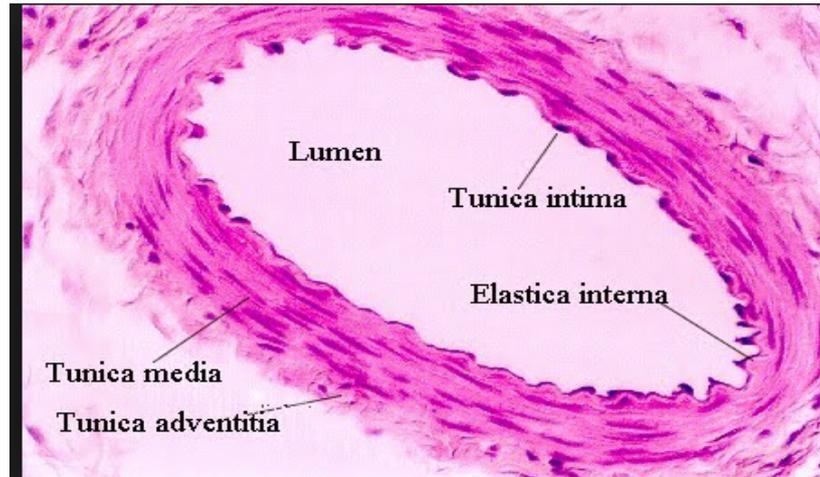
Tunika ini mempunyai satu lapis sel endotel yang ditopang oleh selapis tipis subendotel jaringan ikat longgar yang terkadang mengandung sel otot polos. Pada arteri, intima dipisahkan dari tunika media oleh lamina elastika interna atau komponen terluar intima yang terdiri dari elastin dan mempunyai celah (*fenestra*) sehingga memungkinkan terjadi difusi zat untuk memberikan nutrisi ke sel-sel bagian dalam dinding pembuluh

b. Tunika media

Lapisan tengah yang terdiri dari lapisan konsentris sel-sel otot polos yang tersusun secara berpilin. Pada arteri, tunika media mempunyai lamina elastika eksterna yang lebih tipis sebagai pemisah dengan tunika adventitia.

c. Tunika adventitia

Tunika ini merupakan lapisan terluar dan terdiri dari serat kolagen tipe 2 dan elastin (Junquiera, 2007)



**Gambar 6:** lapisan-lapisan pembuluh darah (Junquiera, 2007)

### 2.3.3. Fisiologi Arteri Koronaria

Sirkulasi aliran koroner dipengaruhi oleh faktor mekanis, sistem autoregulasi dan tahanan perifer. Sistem autoregulasi dipengaruhi oleh regulasi saraf yang bersifat alfa dan beta adrenergik maupun yang bersifat tekanan. Tekanan perfusi dipengaruhi oleh tekanan cairan dalam rongga jantung terutama tekanan ventrikel sinistra yang diketahui melalui pengukuran tekanan darah. Faktor mekanis berkaitan dengan besar atau kecilnya lumen arteri koroner. Makin kecil lumen yang disebabkan karna proses aterosklerosis maka makin kecil pula aliran darah koroner. (Sherwood, 2011)

Mekanisme pengaturan aliran koroner yaitu menjaga keseimbangan pasokan maupun kebutuhan jaringan agar oksigenisasi jaringan terpenuhi dan setiap jaringan mampu melakukan fungsinya dengan optimal. (Sherwood, 2011).

#### 2.4. Proses Kerusakan Arteri Koronaria Akibat Konsumsi Kopi

Ruswendi (2011) menyatakan bahwa terdapat hubungan antara kafein dengan kadar plasma homosistein dalam tubuh peminum kopi. Kadar asupan kafein yang tinggi akan membuat terjadinya peningkatan konsentrasi homosistein.

Homosistein dapat memediasi pembentukan penyakit kardiovaskular dengan beberapa mekanisme yang berbeda termasuk peningkatan proliferasi sel vaskular otot polos, disfungsi endotel, kerusakan oksidatif, dimana peningkatan diartikan sebagai sintesis kolagen dan kerusakan bahan elastis dinding arteri. Pemeriksaan efek homosistein pada ekspresi CRP dan penyelidikan pada mekanisme yang terkait dalam sel-sel otot polos dalam pembuluh darah (VSMC) mengungkapkan bahwa homosistein secara signifikan menginduksi mRNA dan protein ekspresi CRP di VSMC baik *in vitro* dan *in vivo*. Homosistein meningkatkan ekspresi subunit NR1 (N-methyl-D-aspartate reseptor (NMDAR)), sementara MK-801 mengurangi homosistein yang diinduksi ekspresi CRP di VSMC (Ganguly *et al.*, 2015).

Studi ini menunjukkan bahwa homosistein mampu memulai respon inflamasi dalam sel otot polos vaskuler dengan merangsang produksi CRP, yang dimediasi melalui sinyal jalur NMDAR-ROS-ERK1/2/p38- NF-kB. Temuan ini memberikan bukti baru untuk peran homosistein dalam patogenesis aterosklerosis. Mekanisme yang paling umum untuk

peningkatan risiko penyakit kardiovaskular adalah disfungsi endotel (Ganguly *et al.*, 2015).

Disfungsi endotel dapat meningkatkan produksi zat-zat oksigen reaktif dari endotel, terutama anion superoksida, yang berinteraksi dengan molekul intraseluler lainnya untuk mempengaruhi fungsi metabolik dan sintesis endotel. Sebagai akibatnya, sel-sel tersebut menyebabkan terjadinya proses proinflamasi (Soehnlein, 2012).

Saat stresor fisik dan kimia mengganggu homeostasis endotel, akan terjadi beberapa hal berikut:

- (1) Rusaknya fungsi endotel sebagai barier permeabilitas
- (2) Pelepasan sitokin inflamasi
- (3) Peningkatan produksi molekul adesi permukaan sel yang memanggil leukosit
- (4) Pelepasan zat-zat vasoaktif terganggu (prostasiklin dan nitrit oksida)
- (5) Terganggunya sifat antitrombotik.

Hal ini memungkinkan masuknya lipid ke lapisan subintima dan mendorong pelepasan sitokin proinflamasi. Sitokin ini dan lingkungan yang kaya lipid mendorong pengerahan leukosit ke lapisan subintima, yang nantinya akan berkumpul menjadi *foam cell* (Soehnlein, 2012).

Endotel yang telah teraktifasi tidak lagi berfungsi sebagai barier yang efektif terhadap pergerakan lipoprotein ke dalam dinding pembuluh darah. Permeabilitas endotel yang meningkat memberi jalan bagi LDL untuk

masuk ke intima, suatu proses yang difasilitasi dengan meningkatnya konsentrasi LDL dalam sirkulasi. Setelah berada di dalam intima, LDL berakumulasi di subendotel, berikatan dengan matriks ekstraseluler yaitu proteoglikan. Hal ini meningkatkan waktu keberadaan LDL di dalam intima, yang memungkinkan LDL mengalami modifikasi kimia yang merupakan poin penting dalam terbentuknya lesi aterosklerosis (Soehnlein, 2012).

Oksidasi merupakan salah satu perubahan yang terjadi pada LDL yang berada di dalam intima. Hal ini dapat terjadi sebagai aksi dari zat oksigen reaktif dan enzim-enzim pro-oksidan yang berasal dari endotel yang teraktifasi atau sel-sel otot polos, atau dari makrofag yang menembus dinding pembuluh darah. Pada pasien diabetes dengan kondisi hiperglikemia kronis, dapat terjadi glikasi dari LDL, suatu modifikasi yang dapat mengaktifkan sifat proinflamasi dari LDL. Perubahan biokimia ini terjadi cepat dan berkontribusi pada mekanisme inflamasi yang diinisiasi oleh disfungsi endotel, dan mereka dapat menyebabkan inflamasi sepanjang siklus pertumbuhan dari plak. Pada tahap *fatty streak* dan sepanjang pertumbuhan dari plak, LDL yang dimodifikasi (mLDL) menyebabkan pengerahan leukosit dan pembentukan *foam cell* (Soehnlein, 2012).

Pengerahan dari leukosit (terutama monosit dan limfosit T) ke dalam dinding pembuluh darah merupakan tahap kunci dalam aterogenesis. Proses ini bergantung kepada ekspresi dari *leukocyte adhesion molecule*

(LAM) dan signal seperti *monocyte chemotactic protein 1* (MCP-1), IL-8, *interferon-inducible protein-10* (Soehnlein, 2012).

Aterogenesis dimulai saat terjadinya jejas pada endotel akibat berbagai faktor risiko dengan berbagai intensitas. Salah satu penjejas utama endotel adalah LDL plasma yang tinggi. LDL akan mengalami oksidasi menjadi LDL-oks yang mudah sekali menempel dan menumpuk pada dinding pembuluh darah menjadi deposit lipid. Penumpukan ini menyebabkan jejas pada endotel. Pada keadaan terjejas, endotel normal akan menjadi endotel yang hiperpermeabel, yang ditunjukkan dengan terjadinya berbagai proses eksudasi (misalnya; protein, glukoprotein) dan infiltrasi monosit ke dalam lapisan pembuluh darah akibat peningkatan adhesifitas terhadap lipoprotein, leukosit, platelet dan kandungan plasma lain. Selain itu, endotel terjejas juga memiliki prokoagulan yang lebih banyak dibandingkan antikoagulan, serta mengalami pemacuan molekul adesi leukosit seperti *L-selektin*, *integrin*, *platelet-endothelial-cell adhesion molecule (PECAM)-1* dan molekul adesi endotel seperti *E- selektin*, *P-selektin*, *intracelular cell adhesion molecule (ICAM-1)* dan *vascular-cell adhesion molecule (VCAM-1)*. Keadaan ini mengakibatkan makro molekul lebih mudah menempel pada dinding pembuluh darah, sehingga mengakibatkan jejas pada endotel (Soehnlein, 2012).

Sel endotel berfungsi sebagai vasodilator, antitrombotik, dan antiinflamasi. Sel endotel, paling sedikit mensintesis 3 faktor vasodilator yang berbeda; *Nitrit Oxide (NO)*, prostasiklin (PGI<sub>2</sub>), dan EDHF (*endothelium-derived*

*hyperpolarizing factor*) yang belum teridentifikasi. Pada beberapa kondisi patologis, sel endotel juga mensintesis beberapa faktor vasokonstriksi (EDCF-*endothelium-derived constriction factor*) termasuk *endothelin*, *superoxide*, dan prostaglandin vasokonstriktor (Soehnlein, 2012).

Respon inflamasi yang terjadi pada atherogenesis diperantarai oleh makrofag derivat monosit dan limfosit T, yang apabila berlanjut akan meningkatkan jumlah makrofag dan limfosit yang bermigrasi. Aktifitas makrofag dan limfosit menimbulkan pelepasan enzim hidrolitik, sitokin, kemokin dan faktor pertumbuhan, yang dapat menginduksi kerusakan lebih lanjut, dan akhirnya menimbulkan nekrosis fokal. Respon inflamasi ini apabila terus berlanjut akan menstimulai migrasi dan proliferasi mioisit yang saling bercampur pada area inflamasi dan membentuk lesi intermedia. Apabila inflamasi tidak mereda, maka arteri akan mengalami *remodeling*, yaitu penebalan dan pelebaran dinding arteri secara bertahap hingga lumen arteri tidak dapat berdilatasi kembali (Soehnlein, 2012).

#### **2.5. Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley***

Hewan coba adalah hewan yang dikembang biakkan yang digunakan sebagai hewan uji coba. Berbagai jenis hewan yang umum digunakan sebagai hewan percobaan yaitu mencit, tikus, marmut, kelinci, hamster, unggas, kambing, domba, sapi, kerbau, kuda dan simpanse. Tikus digunakan untuk berbagai macam penelitian medis selama bertahun-tahun dikarenakan tikus mempunyai karakteristik genetik yang unik, mudah

berkembang biak, murah serta mudah untuk mendapatkannya (Adiyati, 2011).

Pada wilayah Asia Tenggara, tikus ini berkembang biak di Filipina, Indonesia, Laos, Malaysia, dan Singapura. Galur tikus yang sering digunakan dalam penelitian antara lain galur *Sprague Dawley*, *Wistar*, *Long Evans*, dan *Holdzman* (Isroi, 2010).

Berikut ini adalah klasifikasi tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* menurut (Adiyati, 2011).

Kingdom : Animalia  
Filum : Chordata  
Kelas : Mamalia  
Ordo : Rodentia  
Subordo : Sciurognathi  
Famili : Muridae  
Sub-Famili : Murinae  
Genus : *Rattus*  
Spesies : *Rattus norvegicus*  
Galur/Strain : *Sprague dawley*

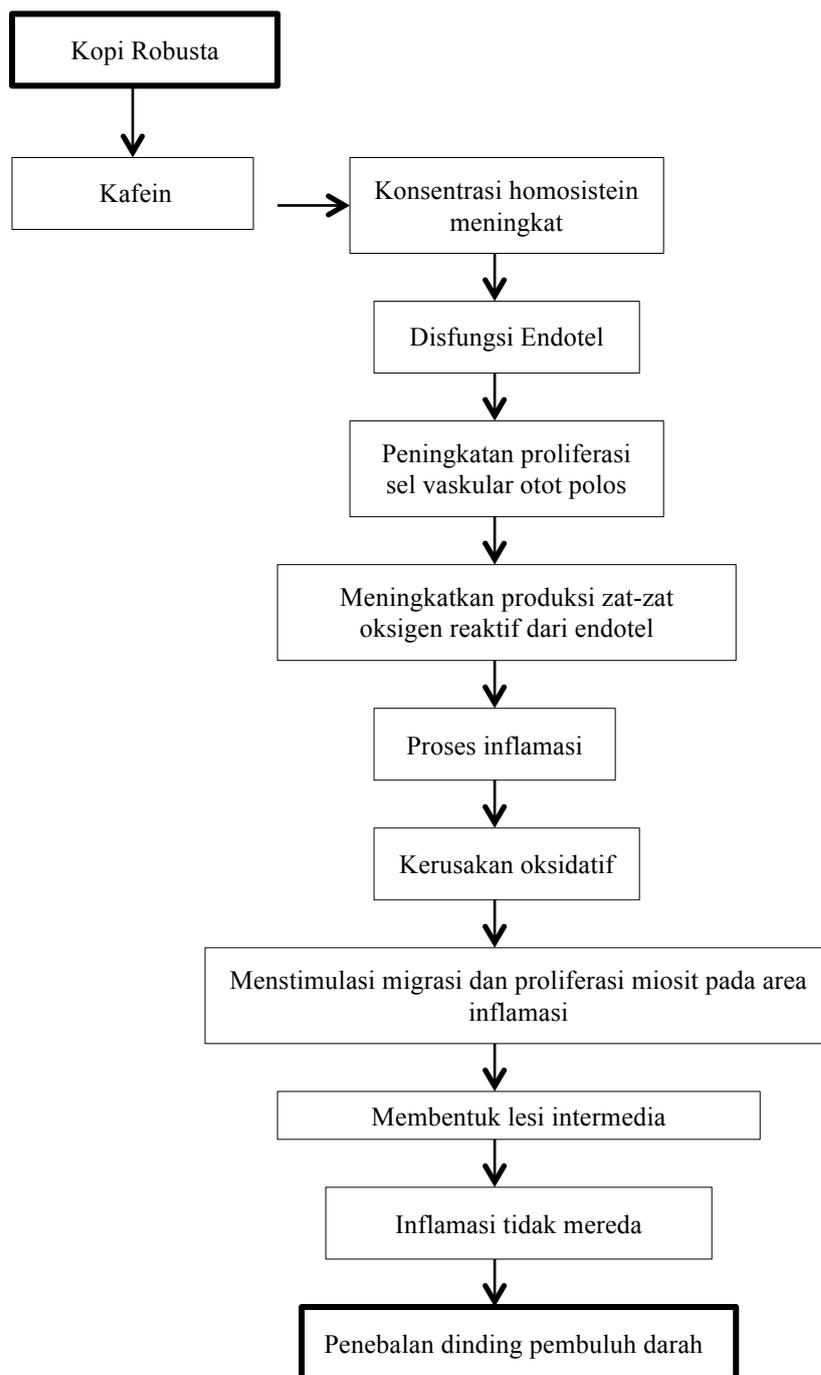
## **2.6. Kerangka Penelitian**

### **2.6.1. Kerangka Teori**

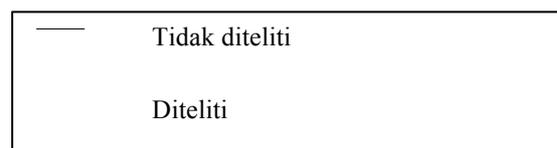
Kopi merupakan minuman yang mengandung kafein. Kafein memiliki beberapa pengaruh pada sistem kardiovaskular jika dikonsumsi dalam jumlah yang banyak dan dalam jangka waktu yang panjang (Kang,

2010). Kadar asupan kafein yang tinggi akan membuat terjadinya peningkatan konsentrasi homosistein yang merupakan substansi dari metionin, yakni suatu asam amino esensial yang terbentuk pada saat tubuh mengeluarkan protein. Homosistein dapat memediasi pembentukan penyakit kardiovaskular dengan beberapa mekanisme antara lain peningkatan proliferasi sel vascular otot polos, disfungsi endotel dan kerusakan oksidatif. Disfungsi endotel dapat meningkatkan produksi zat oksigen reaktif dari endotel, terutama anion superoksida, yang berinteraksi dengan molekul intraseluler lainnya untuk mempengaruhi fungsi metabolik dan sintesis endotel. Akibatnya, sel-sel tersebut menyebabkan terjadinya proses proinflamasi apabila berlanjut akan meningkatkan jumlah makrofag dan limfosit yang bermigrasi (Soehnlein, 2012).

Aktifitas makrofag dan limfosit menimbulkan pelepasan enzim hidrolitik, sitokin, kemokin dan faktor pertumbuhan yang menginduksi kerusakan lebih lanjut dan menimbulkan nekrosis fokal. Respon inflamasi ini apabila terus berlanjut akan menstimulasi migrasi dan proliferasi miosit yang saling bercampur pada area inflamasi dan membentuk lesi intermedia. Apabila inflamasi tidak mereda, maka arteri akan mengalami *remodeling*, yaitu penebalan dinding arteri secara bertahap hingga lumen arteri tidak dapat berdilatasi kembali (Soehnlein, 2012).



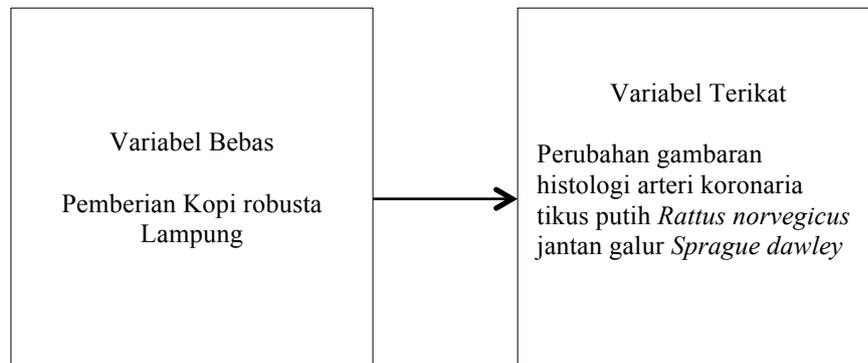
Keterangan :



**Gambar 7 :** Kerangka teori pengaruh pemberian kopi dosis bertingkat yang mengandung kafein terhadap arteri koronaria (Soehnlein, 2012).

### 2.6.2. Kerangka Konsep

Adapun kerangka konsep dari penelitian ini adalah sebagai berikut.



Gambar 8. Kerangka Konsep

### 2.7. Hipotesis

1. Terdapat pengaruh pemberian kopi robusta Lampung terhadap gambaran histologi arteri koronaria tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley*.
2. Terdapat peningkatan ketebalan dinding arteri koronaria terhadap peningkatan dosis kopi robusta Lampung.

## **BAB III METODE PENELITIAN**

### **3.1. Desain Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik yang akan menggunakan metode rancangan acak terkontrol dengan pola *post test only controlled group design* (Notoatmodjo, 2010). Sebanyak 20 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* umur 8-12 minggu dipilih secara acak (*random sampling*) dan dibagi menjadi 4 kelompok digunakan sebagai subjek penelitian.

### **3.2. Tempat dan Waktu**

Penelitian ini akan dilakukan di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Pemeliharaan tikus dan pemberian intervensi dilakukan di *pet house* Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Pembuatan preparat dan pengamatannya akan dilakukan di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Waktu penelitian dilakukan selama 30 hari.

### **3.3. Populasi dan Sampel**

Populasi penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* dewasa umur 8-12 minggu. Tikus tersebut diperoleh dari Laboratorium Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor.

Sampel penelitian sebanyak 20 ekor tikus dipilih secara acak (*random sampling*) yang dibagi dalam 4 kelompok, sesuai dengan rumus Federer.

Rumus penentuan sampel untuk uji eksperimental adalah :

$$t(n-1) \geq 15$$

Dimana t merupakan jumlah kelompok percobaan dan n merupakan jumlah pengulangan atau jumlah sampel tiap kelompok (Aprilia, 2010). Penelitian ini akan menggunakan 4 kelompok perlakuan sehingga perhitungan sampel menjadi :

$$(4)(n-1) \geq 15$$

$$(4n-4) \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 19/4$$

$$n \geq 4,75$$

$$n \geq 5 \text{ (Pembulatan)}$$

Maka sampel yang akan digunakan untuk tiap kelompok sebanyak 5 ekor tikus putih dan jumlah kelompok yang akan digunakan adalah 4 kelompok sehingga penelitian ini akan menggunakan 20 ekor tikus putih dari populasi yang ada. Namun untuk menghindari *drop out*, ditambahkan tikus menggunakan rumus sebagai berikut:

$$N = \frac{n}{1-f}$$

Keterangan:

N = besar sampel koreksi

n = jumlah sampel berdasarkan estimasi

$f$  = perkiraan proporsi drop out sebesar 10% (Sastroasmoro dan Ismael, 2010)

$$N = \frac{n}{1 - f}$$

$$N = 5 / (1 - 10\%)$$

$$N = 5 / 0,9$$

$$N = 5,6$$

$$N = 6 \text{ (pembulatan)}$$

Berdasarkan perhitungan diatas, maka besar sampel koreksi yaitu 6 tikus per kelompok, sehingga jumlah sampel keseluruhan yang digunakan adalah sebanyak 24 ekor tikus putih jantan galur *Sprague dawley*. Untuk pemilihan sampel peneliti menggunakan teknik *simple random sampling*.

Adapun empat kelompok tersebut terbagi menjadi:

1. Kelompok kontrol negatif dimana subjek penelitian hanya diberikan pakan standar dan air/*aquadest* selama 30 hari.
2. Kelompok perlakuan 1 dimana subjek penelitian diberikan pakan standar dan air/*aquadest* serta larutan kopi 0,36 ml per hari yang diberikan melalui sonde oral selama 30 hari.
3. Kelompok perlakuan 2 dimana subjek penelitian diberikan pakan standar dan air/*aquadest* larutan kopi 1,08 ml per hari yang diberikan melalui sonde oral selama 30 hari.
4. Kelompok perlakuan 3 dimana subjek penelitian diberikan pakan standar dan air/*aquadest* serta larutan kopi 2,16 ml per hari yang diberikan melalui sonde oral selama 30 hari.

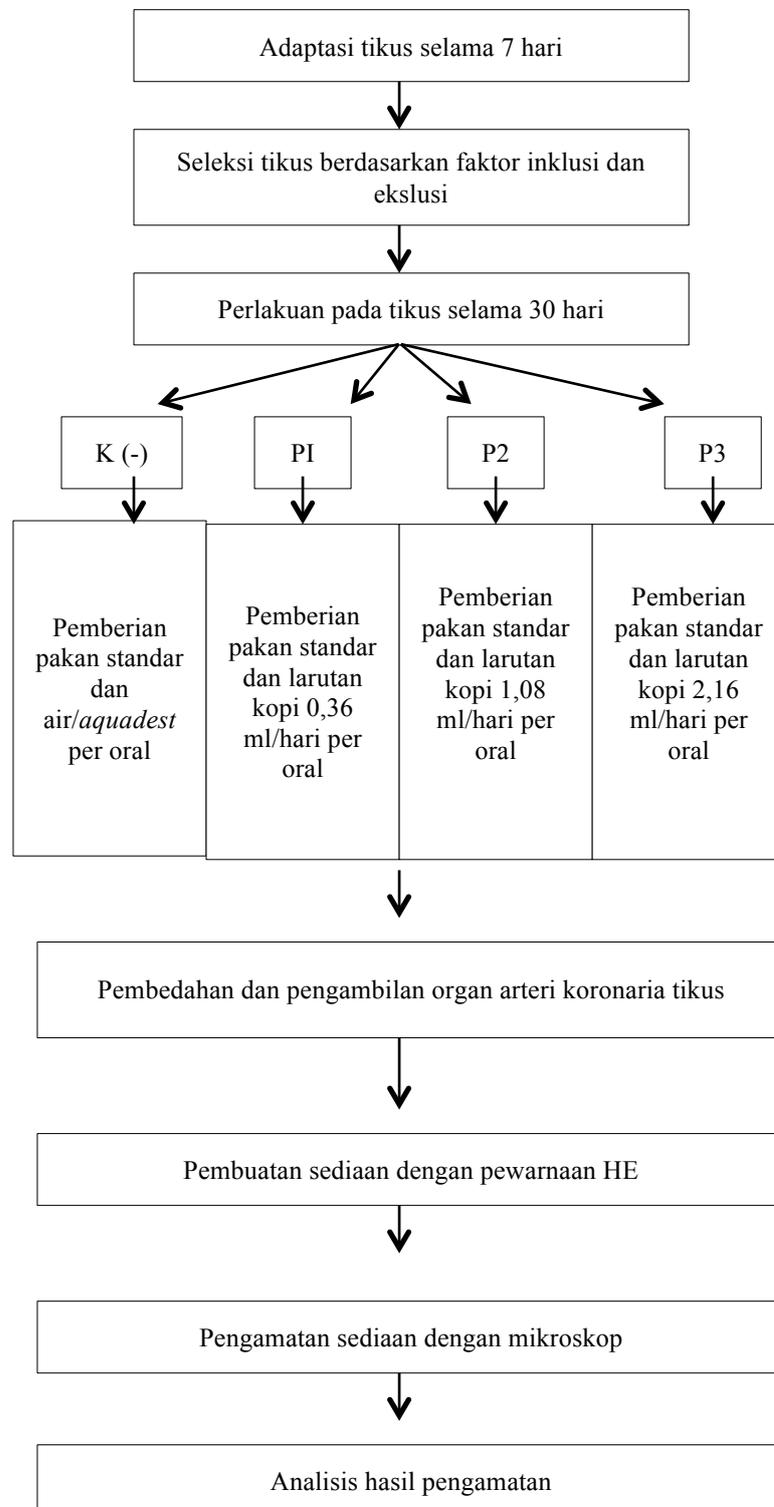
**3.3.1. Kriteria Inklusi**

- a. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*
- b. Sehat (tidak ada penyakit maupun kelainan anatomis)
- c. Memiliki berat badan 150-200 gram
- d. Jenis kelamin jantan
- e. Berusia sekitar 8-12 minggu (dewasa)

**3.3.2. Kriteria Eksklusi**

- a. Terdapat penurunan berat badan lebih dari 10% setelah masa adaptasi di laboratorium.
- b. Penampakan rambut tikus kusam, rontok dan aktivitas kurang/tidak aktif.
- c. Mati selama masa pemberian intervensi atau perlakuan.

## 3.3.3 Alur Penelitian



Gambar 9. Diagram alur penelitian

### 3.4. Alat dan Bahan Penelitian

#### 3.4.1. Alat penelitian

Alat penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- a. Neraca analitik *Metler Toledo* dengan tingkat ketelitian 0,01 g untuk menimbang berat tikus
- b. Sduit oral 3 cc
- c. Kandang tikus beserta botol minum
- d. Sonde
- e. Satu set alat bedah minor (untuk mengambil organ tikus)
- f. Alat untuk proses mikroteknik pembuatan preparat histologi :  
deckglass, objectglass, mikrotom, oven, cetakan paraffin
- g. Mikroskop cahaya untuk melihat preparat histologi.

#### 3.4.2. Bahan Penelitian

Bahan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- a. Kopi Robusta Lampung yang diperoleh dari daerah Liwa dan telah menjadi larutan kopi dengan dosis 0,36 ml, 1,08 ml dan 2,16 ml.
- b. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley*
- c. Air/aquadest
- d. Pakan tikus standar
- e. *Ketamine-xylazine*

### 3.5. Prosedur Penelitian

#### 3.5.1. Pemilihan Kopi Robusta

Pada penelitian ini menggunakan bubuk kopi robusta Lampung yang diperoleh dari daerah Liwa kemudian diseduh menggunakan air hangat lalu diberikan pada tikus melalui sonde

#### 3.5.2. Perhitungan Dosis Bertingkat Pemberian Kopi

Perhitungan dosis ini dilakukan berdasarkan penelitian Makna Bhara (2009) dengan menggunakan tabel perbandingan luas permukaan tubuh hewan coba, dimana dosis tikus dengan berat badan 200 g adalah 0,018 dosis manusia. Pada manusia, di dalam 1 cangkir kopi 200 ml air mengandung 10 g bubuk kopi (konsentrasi 1 kali), dan dosis konversi banyaknya volume larutan untuk tikus yang setara dengan 200 ml air yaitu  $0,018 \times 200\text{ml}$  adalah 3,6 ml. Untuk 3 cangkir kopi setara dengan 10,8 ml dan untuk 6 cangkir kopi setara dengan 21,6 ml.

Pada penelitian ini dibuat larutan 100 g bubuk kopi (konsentrasi 10 kali) yang diseduh dalam 200 ml. Banyaknya volume air yang boleh diberikan pada tikus maksimal adalah 5 ml, sehingga dalam penelitian ini volume larutan kopi yang digunakan sebagai berikut:

- a. Kelompok kontrol negatif (pakan standar dan air/*aquadest*)
- b. Kelompok perlakuan 1 (pakan standar dan air/*aquadest* serta larutan kopi 0,36 ml per hari)
- c. Kelompok perlakuan 2 (pakan standar dan air/*aquadest* serta larutan kopi 1,08 ml per hari)

- d. Kelompok perlakuan 3 (pakan standar dan air/*aquadest* serta larutan kopi 2,16 ml per hari)

Berdasarkan dosis tersebut, maka dosis minimal yang digunakan pada penelitian ini adalah 0,36 ml larutan kopi yang setara dengan 1 cangkir kopi.

### **3.5.3. Pemilihan Hewan Coba**

Penelitian ini dilakukan untuk menguji pengaruh pemberian kopi dosis bertingkat peroral pada hewan coba. Sebagai model dipilih tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*. Tikus ini dipilih sebagai model hewan coba karena merupakan mamalia yang mempunyai tipe metabolisme sama dengan manusia sehingga hasilnya dapat digeneralisasi pada manusia. Selain itu, dengan menggunakan tikus sebagai hewan coba, maka pengaruh diet dapat benar-benar dikendalikan dan terkontrol. Namun, hal ini juga mempunyai kelemahan karena manusia dapat mengkonsumsi makanan yang lebih beragam, sehingga kondisi yang dicapai pada penelitian kemungkinan akan berbeda dengan kenyataan pada manusia. Walau demikian, hal ini merupakan pendekatan yang paling dapat dilaksanakan.

### **3.5.4. Adaptasi Hewan Coba**

Tikus putih sebanyak 24 ekor dibagi ke dalam 4 kandang dan diadaptasi selama 1 minggu sebelum pemberian intervensi dimulai. Selama masa adaptasi tikus diberi pakan standar untuk tikus dan air/*aquadest*. Pengukuran berat badan tikus sebelum perlakuan.

### **3.5.5. Prosedur Pemberian**

Untuk pemberian intervensi dilakukan berdasarkan kelompok perlakuan. Kelompok 1 (K-) sebagai kontrol, dimana hanya akan diberi pakan standar dan air/*aquadest*. Kelompok 2 (P1), dimana diberikan pakan standar dan larutan kopi dengan dosis 0,36 ml per hari. Kelompok 3 (P2), dimana diberikan pakan standar dan larutan kopi dengan dosis 1,08 ml per hari. Kelompok 4 (P3), dimana diberikan pakan standar dan larutan kopi dengan dosis 2,16 ml per hari. Pemberian intervensi pada keempat kelompok ini dilakukan secara oral dengan menggunakan sonde disertai dengan pakan standar dan dilakukan selama 30 hari.

### **3.5.6. Prosedur Pengelolaan Hewan Coba Pasca Penelitian**

Pada akhir perlakuan, tikus dianestesi menggunakan *ketamine-xylazine* dengan dosis 75-100 mg/kg ditambah 5-10 mg/kg secara intraperitoneal selama 10-30 menit. Setelah dianestesi, tikus diterminasi dengan cara melakukan dislokasi servikal (AVMA, 2013). Setelah itu dilakukan pembedahan untuk mengambil arteri koronaria pada tikus. Bangkai tikus dimusnahkan dengan cara pembakaran khusus.

### **3.5.7. Prosedur Pengambilan Bagian Arteri Koronaria**

Pada penelitian ini akan dilakukan pengamatan terhadap ketebalan dari arteri koronaria. Ketebalan arteri koronaria diukur pada 4 posisi (vertikal atas, vertikal bawah, horizontal kanan dan horizontal kiri) kemudian hasil dari keempat posisi ini akan direratakan dan didapatkan

rerata ketebalan dari arteri koronaria. Setelah didapatkan data dari masing-masing kelompok maka akan dilakukan analisis data untuk melihat pengaruhnya (Ratnawati, 2013; Eckman *et al.*, 2013)

### 3.5.8. Prosedur Operasional Pembuatan Preparat

#### a) *Fixation*

1. Spesimen berupa potongan organ telah dipotong secara representatif kemudian segera difiksasi dengan formalin 10% selama 3 jam
2. Dicuci dengan air mengalir sebanyak 3-5 kali.

#### b) *Trimming*

1. Organ dikecilkan hingga ukuran  $\pm 3$  mm.
2. Potongan organ tersebut dimasukkan kedalam *tissue cassette*.

#### c) *Dehidrasi*

1. Mengeringkan air dengan meletakkan *tissue cassette* pada kertas tisu.
2. Dehidrasi dengan:
  - a. Alkohol 70% selama 0,5 jam
  - b. Alkohol 96% selama 0,5 jam
  - c. Alkohol 96% selama 0,5 jam
  - d. Alkohol 96% selama 0,5 jam
  - e. Alkohol absolut selama 1 jam
  - f. Alkohol absolut selama 1 jam
  - g. Alkohol absolut selama 1 jam
  - h. Alkohol *xylol* 1:1 selama 0,5 jam

d) *Clearing*

Untuk membersihkan sisa alkohol, dilakukan *clearing* dengan *xylol* I dan II, masing-masing selama 1 jam.

e) *Impregnasi*

Impregnasi dilakukan dengan menggunakan paraffin selama 1 jam dalam oven suhu 65°C.

f) *Embedding*

1. Sisa paraffin yang ada pada pan dibersihkan dengan memanaskan beberapa saat di atas api dan diusap dengan kapas.
2. Paraffin diletakkan ke dalam cangkir logam dan dimasukkan ke dalam oven dengan suhu diatas 58 °C.
3. Paraffin cair dituangkan ke dalam pan.
4. Dipindahkan satu persatu dari *tissue cassette* ke dasar pan dengan mengatur jarak yang satu dengan yang lainnya.
5. Pan dimasukkan ke dalam air.
6. Paraffin yang berisi potongan arteri koronaria dilepaskan dilepaskan dari pan dengan dimasukkan ke dalam suhu 4-6 °C beberapa saat.
7. Paraffin dipotong sesuai dengan letak jaringan yang ada dengan menggunakan skalpel/pisau hangat.
8. Siap dipotong dengan mikrotom.

g) *Cutting*

1. Pemotongan dilakukan pada ruangan dingin.

2. Sebelum memotong, blok didinginkan terlebih dahulu di lemari es.
3. Dilakukan pemotongan kasar, lalu dilanjutkan dengan pemotongan halus dengan ketebalan 4-5 mikron. Pemotongan dilakukan menggunakan *rotary microtome* dengan *disposable knife*.
4. Dipilih lembaran potongan yang paling baik, diapungkan pada air, dan dihilangkan kerutan.
5. Lembaran jaringan dipindahkan ke dalam *water bath* pada suhu 60 °C selama beberapa detik sampai mengembang sempurna.
6. Dengan gerakan menyendok, lembaran jaringan tersebut diambil dengan *slide* bersih dan ditempatkan di tengah atau pada sepertiga atas atau bawah.
7. *Slide* yang berisi jaringan ditempatkan pada inkubator (suhu 37 °C) selama 24 jam sampai jaringan melekat sempurna.

h) *Straining* (Pewarnaan) dengan Prosedur Pulasan Hematoksilin-Eosin

Setelah jaringan melekat sempurna pada *slide*, dipilih *slide* yang terbaik lalu secara berurutan dimasukkan ke dalam zat kimia di bawah ini dengan waktu sebagai berikut:

1. Dilakukan deparafinisasi dalam:
  - a) Larutan *xylol* I selama 5 menit
  - b) Larutan *xylol* II selama 5 menit
  - c) Ethanol absolut selama 1 jam

2. *Hydrasi* dalam:
    - a) Alkohol 96% selama 2 menit
    - b) Alkohol 70% selama 2 menit
    - c) Air selama 10 menit
  3. Pulasan inti dibuat dengan menggunakan:
    - a) Harris hematoxilin selama 15 menit
    - b) Air mengalir
    - c) Eosin selama maksimal 1 menit
  4. Lanjutkan dehidrasi dengan menggunakan:
    - a) Alkohol 70% selama 2 menit
    - b) Alkohol 96% selama 2 menit
    - c) Alkohol absolut 2 menit
  5. Penjernihan
    - a) *Xylo* I selama 2 menit
    - b) *Xylo* II selama 2 menit
- i). *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 gelombang udara.
- j) *Slide* dibaca dengan mikroskop  
*Slide* diperiksa dibawah mikroskop cahaya di laboratorium histologi.

### 3.6. Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional Variabel

#### 3.6.1. Identifikasi Variabel

- a. Variabel Bebas adalah pemberian kopi dosis bertingkat per oral selama 30 hari pada tikus *Sprague dawley* jantan
- b. Variabel Terikat adalah perubahan gambaran histologi arteri koronaria tikus *Sprague dawley* jantan dengan menilai rerata ketebalan arteri koronaria hewan coba yang diberi intervensi dibandingkan dengan yang kontrol.

#### 3.6.2. Definisi Operasional Variabel

Adapun definisi operasional variable akan dijelaskan dalam bentuk tabel di bawah ini:

**Tabel 2:** Definisi operasional variabel

Variabel	Definisi	Alat ukur	Hasil ukur	Skala kategorik
Pemberian kopi robusta Lampung	Bubuk kopi robusta Lampung yang diseduh menjadi larutan kopi	Sprit 3 cc	Kopi dengan dosis bertingkat 0,36 ml, 1,08 ml dan 2,16 ml ke tikus putih jantan galur <i>Sprague dawley</i>	Kategorik ordinal
Perubahan gambaran histologi arteri koronaria	Gambaran dari arteri koronaria yang dipotong 3 mm dibawah perbatasan atrium dan ventrikel. Pengukuran ketebalan arteri koronaria dengan cara mengukur dari 6 posisi (jam 1, 3, 5, 7, 9, 11) lalu dirataratakan	Mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x	Nilai rerata ketebalan arteri koronaria hewan coba (Eckman <i>et al</i> , 2013).	Numerik

### 3.7. Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan terhadap gambaran histologi arteri koronaria hewan coba dengan mikroskop diuji analisis statistik. Hasil penelitian dianalisis apakah memiliki distribusi normal atau tidak secara statistik dengan uji normalitas *Shapiro-Wilk* karena jumlah sampel  $\leq 50$ . Selanjutnya dilakukan uji *Levene* untuk mengetahui apakah dua atau lebih kelompok data memiliki varians yang sama ( $p > 0,05$ ) atau tidak. Jika varians data berdistribusi normal akan dilanjutkan dengan metode uji parametrik *One Way ANOVA*. Hipotesis dianggap bermakna jika didapatkan nilai  $p < 0,050$ . Selanjutnya dilakukan analisis *Post-Hoc LSD* untuk melihat perbedaan antar kelompok perlakuan.

### 3.8. Ethical Clearance

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan etik dari Komisi Etika Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dengan nomor surat 4216/UN26.8/DL/2017 (Terlampir).

## V. SIMPULAN DAN SARAN

### A. Simpulan

1. Terdapat penebalan dinding arteri koronaria tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* yang diberikan kopi robusta Lampung.
2. Semakin tinggi dosis maka semakin tebal dinding arteri koronaria pada tikus putih *Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley*.

### B. Saran

1. Penelitian selanjutnya sebaiknya menggunakan ekstrak kopi agar saat pemberian kopi tidak kesulitan karena kopi yang terlalu pekat
2. Penelitian selanjutnya meneliti dengan variasi kopi lain untuk melihat perbandingan kopi robusta dan jenis kopi lain.
3. Untuk penelitian selanjutnya, diharapkan peneliti lain menggunakan kandang hewan yang lebih ideal dan sesuai standar.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adiyati PN. 2011. Ragam jenis ektoparasit pada hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*. [Skripsi]. Bogor: Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor.
- Aditya B. 2010. Pengaruh Pemberian Minyak Goreng Bekas Yang Dimurnikan Dengan Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*) Terhadap Ketebalan Arteri Koronaria Tikus Wistar jantan. [Skripsi]. Lampung: Universitas Lampung.
- American Veterinary Medical Association. 2013. Guidelines for euthanasia of Animals (internet). Diakses pada tanggal 21 Maret 2017. Tersedia Dari: <https://www.avma.org/KB/Policies/Documents/euthanasia.pdf>
- Aprilia H. 2010. Keefektifan metode snowball throwing terhadap Kemampuan menyomak berita siswa kelas VII SMP N 5 Depok Sleman [skripsi]. Yogyakarta: Universitas Negeri Yogyakarta.
- Cappelletti, S. Daria, P. Aromatario, M. 2015. Cognitive and Physical Performance Enhancer or Psychoactive Drug?;pp. 71–88.
- Clancy, F. 2016. Perseverative Cognition and Health Behaviors: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Frontiers in Human Neuroscience*, 10(November), p.534.
- Eckman DM, Stacey RB, Rowe R, Agostino RD, Kock ND. 2013. Weekly Doxorubicin increases coronary arteriolar wall and adventitial thickness. *J.Plos One*. 8(2):1-6
- Ganguly, P.,Alam, S.F., 2015. Role of homocysteine in the development of cardiovascular disease. *Nutrition journal*. 14:6.
- Gartner LP, Hiatt JL. 2012. Atlas berwarna histologi. Edisi ke-5. Tangerang: Binarupa Aksara.
- Higdon J, Frei B. 2006. Coffee and health: a review of recent human research. *Crit Rev Food Sci Nutr* 46: 101-123.

- Isroi. 2010. Biologi rat (*Rattus norvegicus*) [internet]. Diakses pada tanggal 20 Maret 2017. Tersedia dari: <http://www.isroi.wordpress.com>
- Junqueira, LC., 2007. Persiapan jaringan untuk pemeriksaan mikroskopik. *Histology Dasar: teks dan atlas*. Edisi 10. Jakarta : EGC. 3 – 5.
- Kang, P. 2010. NIH Public Access. *Ratio Caffeine Consumption and Cardiovascular Risks*. 36(3): 490–499.
- Makna, B. 2009. Pengaruh Pemberian Kopi Dosis Bertingkat Peroral 30 Hari Terhadap Gambaran Histologi Hepar Tikus Wistar. [Skripsi]. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Maramis, R.K., Citraningtyas, G., Wehantouw, F., 2013. Analisis Kafein Dalam Kopi Bubuk Di Kota Manado Menggunakan Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 2(4):122–128.
- Moore KL, Dalley AF, Agur AMR, moore ME. 2013. *Anatomi berorientasi klinis*. Edisi ke-5. Jakarta: Erlangga.
- National Coffee Association USA. 2011. *What is coffee?*. <http://www.ncausa.org/i4a/pages/index.cfm?pageid=67>. Diunduh 21 Maret 2017.
- Notoadmojo S. 2012. *Metodologi penelitian kesehatan*. Jakarta: PT Rineka Cipta.
- Panggabean, Edy. 2011. *Buku Pintar Kopi*. Jakarta Selatan: AgroMedia Pustaka.
- Paulsen F, Waschke J. 2013. *Atlas anatomi sobotta jilid 3*. Edisi ke-23. Jakarta: EGC.
- Reis, J. P., Loria, C. M., Steffen, L. M., Zhou, X., Horn, V., Siscovick, D. S., Jeffrey, J. (2011). *Study*, 30(10): 2059–2066. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.110.208280.Coffee>
- Rukmana, H. Rahmat. 2014. *Untung Selangit dari Aribisnis Kopi*. Yogyakarta: Lily Publisher.
- Ruswendi D. 2011. Inilah kenapa ngopi itu enak. , pp.1–3.
- Scanlon C, Sanders T. 2007. *Buku Ajar Anatomi Dan Fisiologi (Essentials of Anatomy and Physiology)* ; Edisi III, cetakan pertama ;Jakarta: EGC. 301 – 306.
- Sherwood L. 2011. *Fisiologi manusia: dari sel ke sistem* . Edisi ke-6. Jakarta: EGC.

- Soehnlein O. Multiple roles for neutrophils: alarmin evidence of a hit and run?  
*Circ Res.* 2012;110:1036-1038
- Sridevi P, Ravishankar G. 2010. Free diterpenes cafestol and kahweol in beans and in vitro cultures of *Coffea* species. *Current Science* 99: 1101-1104
- Surip M, Retno H, Aris W. 2008. Panduan budidaya dan Pengelolaan Kopi arabika Gayo. Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia.
- Tao L, Kendall K. 2013. Sinopsis organ sistem kardiovaskular, diterjemah oleh Hartono A dan Gunardi S. Tangerang Selatan: Karisma Publishing Group.
- Tortora, G.J., Derrickson, B., 2012. Principles of Anatomy and physiology. 13<sup>th</sup> ed. USA: John Wiley & Sons.
- Tshilenge P. 2009. Genetic variation in *Coffea canephora* L. (Var. Robusta) accessions from the founder gene pool evaluated with ISSR and RAPD. *African journal of biotechnology*. Vol. 8 (3): 380-390.
- Widyotomo, S., Mulato, S. 2007. Kafein : Senyawa Penting Pada Biji Kopi. 23(1): 44-50.