

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KOPI ROBUSTA (*Coffea canephora*) LAMPUNG TERHADAP MEMORI KERJA TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus novergicus*) GALUR *Sprague dawley* YANG DI INDUKSI MONOSODIUM GLUTAMAT**

(Skripsi)

Oleh  
**Fakhri Wisu Amrullah**



**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2019**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KOPI ROBUSTA (*Coffea canephora*) LAMPUNG TERHADAP MEMORI KERJA TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus novergicus*) GALUR *Sprague dawley* YANG DI INDUKSI MONOSODIUM GLUTAMAT**

Oleh  
**FAKHRI WISA AMRULLAH**

**Skripsi**  
**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar**  
**SARJANA KEDOKTERAN**

**Pada**  
**Program Studi Pendidikan Dokter**  
**Fakultas Kedokteran Universitas Lampung**



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER**  
**FAKULTAS KEDOKTERAN**  
**UNIVERSITAS LAMPUNG**  
**BANDAR LAMPUNG**  
**2019**

## ABSTRACT

### THE EFFECT OF EXTRACT COFFE ROBUSTA (*Coffe chanephora*) LAMPUNG AGAINSTS TO WORKING MEMORY IN MALE RATS STRAIN (*Rattus novergicus*) Sprague dawley INDUCED BY MONOSODIUM GLUTAMATE

By

FAKHRI WISA AMRULLAH

**Background:** Monosodium Glutamate or MSG is widely known as a food seasoning. Overly MSG usage can cause a neurotoxicity. Coffee is a food source that has neuroprotective properties that consist of chlorogenic acid as an antioxidant to protect the length of dendrites and act as a neuroprotective substance. The purpose of this study was to determine the effect of Lampung Robusta coffee (*Coffea canephora*) extract on the working memory of male white mice (*Rattus novergicus*) induced by monosodium glutamate.

**Method:** This study was conducted on November-December 2018 using an experimental study method with a completely randomized design (CRD) with the Posttest Only Control Group Design. There were 25 sampels divided into 5 groups, with each group consist of 5 rats. In this study rats were induced with Monosodium Glutamate orally at a dose of 2 gr / kgBB / day for the control and treatment groups 1, 2, 3 and induced Robusta coffee extract for 0.5 gr / mL / day on treatment 1 group, 1 gr / mL / day for treatment 2 group, and 2 gr / mL / day for treatment 3 group. Working memory was assesed by observing the maze arm that been entered by the rats.

**Results:** The avarage results of the right arm of working memory squentially in each group K(-), K(+), P1, P2, P3 adalah 60.0%, 22.5%, 45.0%, 42.5%, 47.5%. The results of One Way Anova is 0.096  $p > 0,05$  So that it can be stated that there was no difference between control group and treatment group, which means there was no effect of robusta coffee extract (*Coffea canephora*) to the working memory of male white rats (*Rattus novergicus*) sprague dawley induced by monosodium glutamate.

**Conclusion:** There is no effect on the administration of robusta Lampung coffee extract (*Coffea canephora*) to the working memory of male white rats (*Rattus novergicus*) Sprague dawley induced by monosodium glutamate.

Keywords: Monosodium glutamate, robusta coffea and working memory

## ABSTRAK

### PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KOPI ROBUSTA (*Coffea canephora*) LAMPUNG TERHADAP MEMORI KERJA TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus novvergicus*) GALUR *Sprague dawley* YANG DI INDUKSI MONOSODIUM GLUTAMAT

Oleh

FAKHRI WISA AMRULLAH

**Latar Belakang:** Monosodium Glutamat atau MSG banyak dikenal oleh masyarakat sebagai penyedap rasa. Pemberian MSG yang melebihi dosis ada hubungannya dengan aktivasi reseptor glutamat yang berlebih sehingga MSG menyebabkan kerusakan otak. Kopi merupakan salah satu sumber pangan yang memiliki sifat neuroprotektif dengan kandungan asam klorogenat yang berperan sebagai antioksidan sehingga dapat mengembalikan ukuran dan panjang dendrit. Maka penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kopi robusta (*Coffea canephora*) Lampung terhadap memori kerja tikus putih jantan (*Rattus novvergicus*) yang di induksi monosodium glutamat.

**Metode:** Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari 2019 dengan menggunakan metode penelitian eksperimental dengan desain Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan pendekatan *Posttest Only Control Group Design*. Sampel yang digunakan sebanyak 25 ekor yang terbagi ke dalam 5 kelompok K(-), K(+), P1, P2, P3 dengan masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus. Kontrol(-) diinduksi aquadest sebanyak 2 ml peroral, Kontrol(+) diinduksi Monosodium Glutamat secara peroral dengan dosis 2 gr/kgBB/hari dan kelompok perlakuan 1, 2, 3 di induksi MSG peroral dengan dosis 2 gr/kgBB/hari serta diinduksi ekstrak kopi robusta Lampung pada kelompok P1, P2, P3 dengan dosis secara berurut yaitu 0,5 gr/ml/hari, 1 gr/ml/hari, 2 gr/ml/hari. Penilaian memori kerja dilakukan dengan menggunakan metode *radial arm maze*.

**Hasil:** Hasil rerata lengan benar *radial arm maze* secara berurutan setiap kelompok K(-), K(+), P1, P2, P3 adalah 60.0%, 22.5%, 45.0%, 42.5%, 47.5%. Hasil analisis *One Way Anova* didapatkan nilai  $p = 0,096$  ( $p > 0,05$ ). Sehingga dapat dinyatakan bahwa tidak terdapat perbedaan rerata pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

**Simpulan:** Tidak terdapat pengaruh pada pemberian ekstrak kopi robusta (*Coffea canephora*) Lampung terhadap memori kerja tikus putih jantan (*Rattus novvergicus*) galur *Sprague dawley* yang di induksi monosodium glutamat.

Kata Kunci: kopi robusta, memori kerja, monosodium glutamat

Judul Skripsi : **PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KOPI ROBUSTA (*Coffea canephora*) LAMPUNG TERHADAP MEMORI KERJA TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus norvegicus*) GALUR *Sprague dawley* YANG DI INDUKSI MONOSODIUM GLUTAMAT**

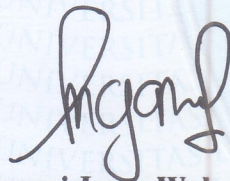
Nama Mahasiswa : **Fakhri Wisu Amrullah**

No. Pokok Mahasiswa : 1518011171

Program Studi : Pendidikan Dokter

Fakultas : Kedokteran

**MENYETUJUI**  
Komisi Pembimbing



**dr. Anggraeni Janar Wulan, S.Ked., M.Sc**  
NIP 19820130 200812 2 001



**dr. Novita Carolia, S.Ked., M.Sc**  
NIP 19831110 200801 2 001

**MENGETAHUI**

Dekan Fakultas Kedokteran

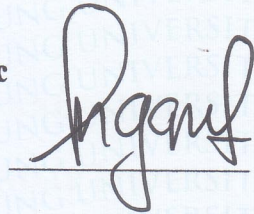


**Dr. Dyah Wulan S.R. Wardani, SKM., M.Kes**  
NIP 19720628 199702 2 001

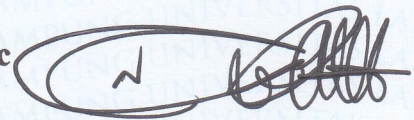
**MENGESAHKAN**

**1. Tim Penguji**

**Ketua : dr. Anggraeni Janar Wulan, S.Ked., M.Sc**

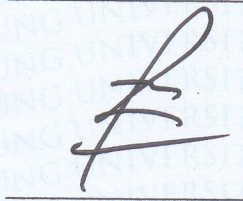


**Sekretaris : dr. Novita Carolia, S.Ked., M.Sc**



**Penguji**

**Bukan Pembimbing : dr. Waluyo Rudiyanto, S.Ked., M.Kes**



**2. Dekan Fakultas Kedokteran**



**Dr. Dyah Wulan S.R. Wardani, SKM., M.Kes**

**NIP 19720628 199702 2 001**

**Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 12 Juli 2019**

## LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya bahwa:

1. Skripsi dengan judul **“PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KOPI ROBUSTA (*Coffea chanephora*) LAMPUNG TERHADAP MEMORI KERJA TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus novergicus*) GALUR *Sprague dawley* YANG DIINDUKSI MONOSODIUM GLUTAMAT”** 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 yang disebut plagiarisme.
2. Hak intelektual atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

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

Bandar Lampung, 12 Juli 2019

Penyakit Pernyataan



  
Fakhri Wisa Amrullah

## **RIWAYAT HIDUP**

Penulis merupakan anak laki-laki dari bapak Dwi Julianto dan ibu Sari Prawardani yang dilahirkan di Desa Abung semuli Kabupaten Lampung Utara Provinsi Lampung pada tanggal 03 September 1997. Penulis adalah kakak dari Ghina fahira putri

Sekolah Dasar (SD) penulis diselesaikan SDN 1 Pakuan Sakti tahun 2009, Sekolah Menengah Pertama (SMP) penulis selesaikan di SMPN 1 Abung Semuli tahun 2012, dan Sekolah Menengah Atas (SMA) penulis selesaikan di SMA Al-azhar 3 Bandar Lampung pada tahun 2015. Selama menjadi pelajar, penulis mengikuti ekstrakurikuler ROHIS.

Pada tahun 2015 penulis terdaftar di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Mahasiwa Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN). Selama menjadi mahasiswa, penulis mengikuti organisasi FSI IBNU SINA (2016/2017).



“Qaala Innamaa Asykuu Batstsii Wahuznii Ilallahí  
Wa Alamu Minallahí Ma La Ta Lamun”

*Menutup peluh di akhir tulisan ini.*

*Dengan rasa bangga dan bahagia.*

*Karya ini kupersembahkan kepada ibu, ayah, adik,  
keluarga, sahabat dan teman-teman sejawat.*

*Terimakasih atas penantian dan rasa  
percaya bahwa karya ini dapat bermanfaat.*

*“Hanya kepada Allah aku mengadukan kesusahan dan  
kesedihanku. Dan aku mengetahui dari allah yang  
tidak kamu ketahui”  
(Q.S. Yusuf 86)*

## SANWACANA

Puji serta syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah memberi rahmat serta karunia-Nya selama pelaksanaan penyusunan skripsi ini. Sholawat dan salam, semoga selalu tercurah pada Nabi Muhammad SAW. Atas berkat rahmat dan ridho-Nya maka skripsi dengan judul “PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KOPI ROBUSTA (*Coffea canephora*) LAMPUNG TERHADAP MEMORI KERJA TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus norvegicus*) GALUR *Sprague dawley* YANG DI INDUKSI MONOSODIUM GLUTAMAT”.

Penulis meyakini penelitian ini tidak akan selesai tanpa dukungan dan bimbingan dari berbagai pihak. Maka dalam kesempatan ini penulis ingin menyampaikan rasa terimakasih kepada:

1. Kepada Allah Swt. yang telah memberikan ridho-Nya, karunia-Nya, kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan perkuliahan dan skripsi dengan baik
2. Prof. Dr. Ir. Hasriadi Mat Akin, M.P., selaku Rektor Universitas Lampung;
3. Dr. Dyah Wulan S. R. Wardani, SKM.,M.Kes., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
4. dr. Anggraeni Janar Wulan, S.Ked., M. Sc., selaku Pembimbing I yang telah meluangkan waktu, memberikan bimbingan, saran, motivasi dan pengarahan dalam penyusunan skripsi ini;

5. dr. Novita Carolia, S. Ked., M. Sc., selaku Pembimbing II atas kesediaan waktu, memberikan bimbingan, motivasi, saran dan pengarahan dalam penyusunan skripsi ini;
6. dr. Waluyo Rudiyanto, S. Ked., M. Kes., selaku Penguji Utama yang telah meluangkan waktu, memberikan saran, ilmu serta nasihat yang dapat membangun dalam penyusunan skripsi ini;
7. dr. A. Fauzi, S.Ked., M. Epid., Sp. OT selaku Pembimbing Akademik yang telah memberikan bimbingan, saran serta ilmu yang telah bermanfaat selama ini;
8. Kepada ayah dan ibu tercinta, Dwi julianto dan Sari prawardani yang selalu mendo'akan, mendukung, memberi motivasi dan semangat selama penulis menyelesaikan skripsi dan belajar di fakultas ini;
9. Seluruh staff dosen dan karyawan FK Unila yang telah membantu dalam pemenuhan berkas dan syarat sehingga skripsi ini terselesaikan;
10. Adek penulis, Ghina fahira putri yang memberikan semangat dan do'a selama penulis belajar di fakultas ini dan menyelesaikan skripsi ini;
11. Teman–teman seperjuangan, Thoriq Aziz, Brian Rocky, Sany setiawan, Reandy Ilham A, Mufid NA, Ghalib, Asy, Awan, Zihan, Nadhia khairunisa, Iton, Anis syafaatul husna dan Adilah yang selalu menyemangati satu sama lain. Semoga kelak sukses bersama kedepannya;
12. Teman – teman KKN periode 1 tahun 2018 Kabupaten Pringsewu Kecamatan Pagelaran Utara Pekon Madaraya yang telah berjuang bersama – sama dalam proses pembelajaran dan semua kekeluargaan, senyuman, tawa dan canda.

13. Seluruh anggota organisasi di Fakultas Kedokteran UNILA yaitu FSI IBNU SINA yang telah memberikan semangat dan pembelajaran dalam proses perkuliahan.
14. Angkatan FK Unila 2015 Endomisium, untuk semua senyuman, tawa, dan pembelajaran dari masing-masing individunya;
15. Seluruh calon teman sejawat kakak-kakak 2012, Cere13ellum, Cran14l, dan adik - adik Tr16eminus, V17reous, dan F18rinogen yang selalu siap berbagi pengalaman serta pengetahuan;

Semoga skripsi ini bermanfaat untuk pembacanya.

Bandar Lampung, 12 Juli 2019  
Penulis

Fakhri Wisu Amrullah



## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>i</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>iii</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>iv</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>v</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	4
1.4 Manfaat Penelitian .....	4
1.4.1 Bagi Peneliti Lain .....	4
1.4.2 Bagi Institusi Pendidikan.....	4
1.4.3 Bagi Masyarakat.....	4
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>5</b>
2.1 Monosodium Glutamat (MSG) .....	5
2.1.1 Sejarah MSG .....	5
2.1.2 Efek Biologis MSG .....	5
2.2 Tinjauan Tentang Kopi Robusta .....	10
2.2.1 Klasifikasi.....	10
2.2.2 Morfologi.....	11
2.2.3 Kandung Kimia dan Manfaat .....	12
2.2.4 Ekstraksi .....	12
2.3 Tinjauan Tentang Asam Klorogenat .....	13
2.4 Memori.....	14
2.4.1 Memori Kerja .....	15
2.4.2 Hipokampus.....	16
2.4.3 Korteks Prefrontal .....	16
2.4 <i>Radial Arm Maze</i> .....	18
2.5 Tikus putih .....	18
2.6 Kerangka Penelitian .....	21
2.6.1 Kerangka Teori.....	21
2.6.2 Kerangka konsep .....	22
2.7 Hipotesis.....	22

<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>	<b>23</b>
3.1 Jenis dan Desain Penelitian .....	23
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian .....	23
3.4 Populasi dan sampel penelitian .....	23
3.4.1 Populasi Penelitian .....	23
3.4.2 Sampel Penelitian .....	23
3.5 Kelompok perlakuan .....	25
3.6 Kriteria Inklusi dan Eksklusi.....	26
3.6.1 Kriteria Inklusi .....	26
3.6.2 Kriteria Eklusi .....	26
3.7 Variabel Penelitian .....	26
3.7.1 Variabel Bebas .....	26
3.7.2 Variabel Terikat.....	26
3.8 Definisi Oprasional .....	27
3.9 Alat dan Bahan Penelitian.....	28
3.9.1 Alat.....	28
3.9.2 Bahan.....	28
3.10 Prosedur penelitian.....	31
3.9.1 Ethical clearance.....	31
3.9.2 Pengadaan Hewan Coba.....	31
3.9.3 Pengadaan Alat <i>Radial Arm Maze</i> .....	31
3.9.4 Pembagian Kelompok .....	32
3.9.5 Perlakuan .....	32
3.11 Alur Penelitian .....	35
3.12 Pengumpulan Data .....	36
3.13 Pengolahan Data.....	36
3.14 AnalisisData .....	37
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>38</b>
4.1 Gambaran Umum Lokasi Penelitian .....	38
4.2 Hasil Penelitian .....	38
4.2.1 Analisis Univariat.....	39
4.2.2 Analisis Bivariat .....	42
4.3 Pembahasan.....	42
4.4 Keterbatasan Penelitian .....	46
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>47</b>
5.1 Kesimpulan .....	47
5.2 Saran.....	47
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>48</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>53</b>

**DAFTAR GAMBAR**

<b>Gambar</b>	<b>Halaman</b>
1. Struktur kimia Monosodium glutamat .....	5
2. (Kiri) biji kopi robusta dan (kanan) biji kopi arabika .....	11
3. Struktur kimia asam klorogenat .....	13
4. Hippocampus Manusia.....	16
5. Anatomi korteks prefrontal .....	17
6. Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ).....	19
7. Kerangka teori.....	21
8. Kerangka konsep.....	22
9. Radial arm maze.....	32



**DAFTAR TABEL**

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
1. Data Taksonomi Tikus .....	19
2. Data Fisiologis Tikus Putih.....	20
3. Analisis Univariat Hasil Perhitungan Nilai Memori Kerja.....	36

**DAFTAR LAMPIRAN**

<b>Lampiran</b>	<b>Halaman</b>
1. Data hasil penelitian.....	54
2. Dokumentasi penelitian .....	57
3. Ethical clearance .....	59



# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Monosodium Glutamat atau MSG banyak dikenal oleh masyarakat sebagai penyedap rasa. Kikunae Ikeda mulai mengembangkan MSG sejak tahun 1908 yang berasal dari rumput laut bernama *Laminaria Japonica*. Monosodium glutamat digunakan dalam bentuk protein terhidrolisis atau garam monosodium (Kazmi dkk., 2017). Glutamat adalah asam amino alami yang ditemukan hampir pada semua makanan, terutama makanan protein tinggi seperti produk susu, daging ikan, dan sayuran (Yonata & Iswara, 2016).

Asia merupakan produsen MSG terbesar di dunia. Masyarakat Indonesia mengkonsumsi MSG rata-rata 0,6 g/hari, di Taiwan sebanyak 3 g/hari, di Korea 2,3 g/hari, di Jepang 1,6 g/hari, di India 0,4 g/hari, dan di Amerika 0,35 g/hari. China adalah negara pengkonsumsi dan penghasil MSG terbanyak di dunia, mengkonsumsi MSG 52%-57% lebih besar dari seluruh jumlah konsumsi di dunia (Yonata & Iswara, 2016).

*Food and Drugs Administration* (FDA) dan *World Health Organization* (WHO) atau *Acceptable Daily Intake* (ADI) menetapkan batas aman konsumsi MSG adalah 120 mg/kgBB per hari. Banyaknya konsumsi MSG pada saat itu disetarakan dengan konsumsi garam per hari. MSG tidak boleh

diberikan pada bayi berusia kurang dari 12 bulan. *Advisory Committee on Hypersensitivity to Food Constituent* di FDA menyatakan secara umum mengonsumsi MSG dikategorikan aman. Namun, pada sekelompok orang yang sensitif terhadap MSG dapat menyebabkan reaksi jangka pendek, seperti sakit kepala, mual dan muntah (Walker & Lupien, 2018).

Pemberian MSG yang melebihi dosis ada hubungannya dengan aktivasi reseptor glutamat yang berlebih sehingga MSG dapat bersifat neurotoksik. Neurotoksik dapat terjadi apabila mengonsumsi MSG 2 gr/kgBB/hari selama 10 hari (Ramalho dkk., 2018). Konsumsi MSG dalam waktu lama bisa menyebabkan ketidakseimbangan antara antioksidan dan *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang menyebabkan stres oksidatif dan penyusutan dendrit (Husarova & Ostatnikova, 2013).

Kopi merupakan salah satu dari delapan komoditas utama perkebunan di Indonesia yang memiliki luas area yang cukup besar serta menjadi komoditas ekspor yang sangat menjanjikan (Yaqin & Nurmilawati, 2015). Lampung merupakan provinsi penghasil kopi robusta terbanyak di Indonesia. Kopi robusta paling banyak dihasilkan di kabupaten Tanggamus dan Lampung Barat (Farhaty & Muchtaridi, 2015).

Senyawa kimia yang ada pada biji kopi robusta dapat dibedakan jadi senyawa *volatile* dan *non volatile*. Senyawa *volatile* adalah senyawa yang mudah menguap, terutama pada saat kenaikan suhu dapat mempercepat penguapan. Antara lain golongan aldehid, keton, dan alkohol. Senyawa *non volatile* adalah senyawa yang berpengaruh terhadap mutu kopi antara lain kafein dan

asam klorogenat. Salah satu kandungan kopi yang menguntungkan dan berfungsi sebagai neuroprotektif adalah asam klorogenat (Farhaty & Muchtaridi, 2015).

Asam klorogenat dihasilkan dari kopi melalui proses ekstraksi, fraksinasi dan isolasi. Salah satu manfaatnya adalah berperan sebagai antioksidan eksogen dalam mencegah kerusakan sel serta menghambat kerusakan otak yang di pengaruhi MSG (Herawati & Sukohar, 2013).

Penyusutan dendrit akibat interaksi dengan monosodium glutamat dapat dicegah atau dikembalikan dengan asam klorogenat. Asam klorogenat berperan sebagai antioksidan yang dapat mengembalikan ukuran dan panjang dendrit. Efek neuroprotektif dari asam klorogenat berperan dalam pengurangan  $Ca^{2+}$  yang masuk melalui reseptor NMDA (Mikami & Yamazawa, 2015). Penggunaan dosis kopi sebanyak 1 mg/ml/150g/hari terbukti dapat dijadikan sebagai neuroprotektif (Lee dkk., 2016).

Berdasarkan uraian di atas, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian mengenai pengaruh pemberian ekstrak kopi robusta (*Coffea canephora*) Lampung terhadap memori kerja tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) yang di induksi monosodium glutamat.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan uraian latar belakang yang telah dikemukakan di atas, maka bagian yang menjadi pokok permasalahan dalam penelitian yaitu: apakah terdapat pengaruh pemberian ekstrak kopi robusta (*Coffea canephora*)

Lampung terhadap memori kerja tikus putih jantan (*rattus novergicus*) yang di induksi monosodium glutamat ?

### **1.3 Tujuan Penelitian**

Adapun tujuan penelitian yang dilakukan adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kopi robusta (*Coffea canephora*) Lampung terhadap memori kerja tikus putih jantan (*Rattus novergicus*) yang di induksi monosodium glutamat.

### **1.4 Manfaat Penelitian**

#### **1.4.1 Bagi Peneliti Lain**

Untuk menambah ilmu pengetahuan di bidang ilmu biologi medik serta dapat menerapkan ilmu yang telah didapat selama perkuliahan agar dapat digunakan sebagai rujukan penelitian selanjutnya.

#### **1.4.2 Bagi Institusi Pendidikan**

Sebagai bahan kepustakaan dalam lingkungan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

#### **1.4.3 Bagi Masyarakat**

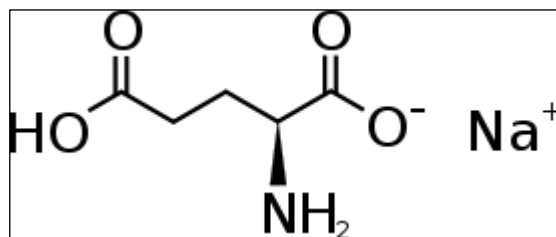
Memberikan informasi untuk meningkatkan pengetahuan masyarakat mengenai efek pengaruh penggunaan Monosodium glutamat (MSG).

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Monosodium Glutamat (MSG)

#### 2.1.1 Sejarah MSG

Monosodium Glutamat mulai dikenal sejak tahun 1960-an. Pada tahun 1908, Kikunae Ikeda seorang professor dari Universitas Tokyo menemukan kunci kelezatan pada kandungan asam glutamat. Awal mulanya ditemukan rasa umami yaitu dengan penggunaan sejenis rumput laut *Laminaria Japonica*. Penemuan ini melengkapinya 4 (empat) jenis rasa sebelumnya yaitu rasa asam, manis, asin dan pahit serta rasa umami (Yonata & Iswara, 2016).



**Gambar 1** Struktur kimia Monosodium glutamat (Xiong *et al.*, 2009).

#### 2.1.2 Efek Biologis MSG

Monosodium glutamat bersifat larut dalam air. Komposisi senyawa MSG adalah 78% glutamat, 12% natrium, dan 10% air. Monosodium glutamat bila larut didalam air ataupun saliva akan berdisosiasi menjadi



garam bebas dan menjadi bentuk anion dari glutamat. Glutamat akan membuka kanal  $\text{Ca}^{2+}$  pada neuron yang terdapat pada *taste bud* sehingga memungkinkan  $\text{Ca}^{2+}$  bergerak ke dalam sel dan menimbulkan depolarisasi reseptor dan potensial aksi yang sampai ke otak kemudian diterjemahkan sebagai rasa lezat (Yonata & Iswara, 2016).

Glutamat secara struktur relatif menyerupai GABA (*Gamma Amino Butyric Acid*). Glutamat adalah *major excitatory neurotransmitter* pada sistem saraf pusat. Neurotransmitter ini ditemukan pada semua jenis sel pada otak, termasuk beberapa neuron, astrosit, oligodendrosit, dan mikroglia. Gangguan homeostatis glutamat dapat memengaruhi semua fungsi fisiologis dan interaksi sel-sel otak, menuju berbagai kejadian patologis yang heterogen (Walls, Waagepetersen dkk., 2014).

Glutamat sebagai neurotransmitter memiliki mekanisme eliminasi untuk menyerap cairan ekstraseluler yang merupakan kerja dari protein transporter, termasuk salah satu peranannya untuk keperluan sintesis GABA oleh kerja enzim *Glutamic Acid Decarboxylase (GAD)* (Anurogo & Ikrar, 2014). *Gamma Amino Butyric Acid* merupakan neurotransmitter inhibitorik utama di sistem saraf pusat. Sistem kerja protein transporter glutamat dibantu oleh enzim *glutamine sintetase* yang bertugas merubah ammonia dan glutamat menjadi glutamin yang tidak berbahaya dan bisa dikeluarkan dari otak. Meski terakumulasi di otak, glutamat diusahakan untuk tetap dipertahankan dalam kadar rendah dan non-toksik (Hendarto & Nasar, 2002).

Kelebihan glutamat ini akan diambil baik oleh neuron maupun sel glia, setelah dilepaskan ke celah sinaps. Diketahui beberapa jenis protein transporter yang memiliki afinitas sangat besar terhadap glutamat. Transporter glutamat yang terdapat di astrosit/sel glia (GLAST-1 dan GLT-1) memiliki peran yang sangat penting untuk melindungi neuron terhadap proses eksitotoksisitas yang disebabkan oleh glutamat (Sulkowski dkk., 2014). Protein transporter ini banyak terdapat disekitar sinaps eksitatorik glutamat. terdapat empat jenis transporter yang telah diidentifikasi yaitu *GLAST-1/EAAT-1*, *GLT-1/EAAT-2*, *EAAC-1* dan *EAAT-4* (Danbolt, 2001).

Reseptor glutamat dibagi menjadi dua kelompok, yaitu reseptor ionotropik dan reseptor metabotropik. Reseptor Iontropik glutamat (iGlu) yaitu AMPA, NMDA dan KAINATE. Reseptor Non N-Methyl-D-Aspartat (Non-NMDA), akan memediasi transmisi sinaps eksitatorik yang berhubungan dengan *voltage-independent channels* yang akan mendepolarisasi neuron melalui arus influks dari ion-ion terutama ion Natrium. Reseptor Metabotropik glutamat (mGlu) adalah reseptor yang menyebabkan efek sinaptik yang lebih lambat, berkaitan dengan perubahan kimiawi (Kew & Kemp, 2005). Aktivasi reseptor NMDA akan menyebabkan terjadinya peningkatan influks ion  $Ca^{2+}$  yang relatif lebih lambat namun berlangsung lebih lama. Reseptor glutamat terutama reseptor NMDA memiliki peran mediasi fungsi survival neuron, akson dan struktur dendrit, sinaptogenesis dan plastisitas sinaps (Ferraguti & Shigemoto, 2006).

Akumulasi glutamat dalam jumlah melimpah didalam celah sinap ini menyebabkan overstimulasi reseptor glutamat, neuron, dan otak secara keseluruhan. Stimulasi neuron dalam jangka waktu yang lama oleh neurotransmitter eksitatorik akan menyebabkan kerusakan bahkan kematian neuron. Efek inilah yang disebut dengan eksitotoksisitas. Peristiwa ini didominasi oleh hilangnya neuron pasca sinaps. Peningkatan konsentrasi asam amino eksitatorik ini diruang ekstraseluler otak diperkirakan akibat melambatnya proses *uptake* oleh neuron dan sel glia. Konsentrasi ion  $Ca^{2+}$  intrasel yang sangat tinggi terlibat dalam kematian neuron pada peristiwa eksitotoksisitas ini (Simon dkk., 2013).

Penurunan adenosina trifospat (ATP) akut dapat memicu kerusakan neuron akibat akumulasi L-glutamat yang berlebihan. Proses ini dinamakan *excitotoxicity*, melibatkan aktivasi reseptor glutamat. Akumulasi sitosol  $Ca^{2+}$ , aktivasi kaskade yang dipicu oleh  $Ca^{2+}$ , generasi radikal bebas oksigen dan kegagalan mitokondria. Produksi ATP pada mitokondria berhenti tanpa oksigen atau glukosa. Persediaan ATP akan dihabiskan dengan cepat menyebabkan beberapa fungsi terganggu atau menurun. Gradien ion tidak dapat dipertahankan dan neuron didepolarisasi tanpa kebutuhan energi untuk bahan bakar, pompa  $Na^+$ ,  $K^+$ . Hal ini menimbulkan hilangnya “*neuronal excitability*” dan pembebasan glutamat secara besar-besaran massif (Noviani dkk., 2016). Kekurangan energi mengurangi uptake glutamat yang dilakukan oleh astrosit. Timbunan glutamat berlebih didalam sinaps akan

mempercepat kematian berbagai neuron. Akibat kegagalan energi pada mulanya fungsional dan berpotensi bersifat reversible. Jika penyebabnya tidak dikoreksi, berbagai perubahan ini diikuti oleh akumulasi  $\text{Ca}^{2+}$  di sitosol dan mitokondria, yang memicu perubahan *irreversible* seperti: kerusakan seluler, mitokondria, dan membran-membran lainnya; disorganisasi sitoskeleton, dan degradasi DNA (Anurogo & Ikrar, 2014).

Akumulasi  $\text{Ca}^{2+}$  di mitokondria mengganggu rantai respirasi dan produksi ATP, serta memacu pembentukan radikal bebas oksigen. Kalsium mengaktifasi beberapa fosfolipase bersama dengan “*oxidative stress*”, merusak membran fosfolipid. Kalsium mengaktifkan produksi *nitric oxide*, yang bereaksi dengan radikal bebas oksigen, menghasilkan oksidasi dan nitrasasi lebih lanjut, serta proses nitrasasi dari beberapa protein esensial. Kalsium juga mengaktifkan kalpain, di mana proteases merusak submembrane sitoskeleton, mikrotubuli, neurofilamen, dan endonuklease yang menyebabkan kerusakan DNA (Anurogo & Ikrar, 2014).

Akumulasi laktat dari glukolisis anaerobik memicu penurunan pH intraseluler, yang menekan aktivitas neuronal, menimbulkan pembengkakan sel dan meningkatkan produksi radikal bebas. Nekrosis melibatkan mekanisme induksi glutamat eksitotoksitas (Anurogo & Ikrar, 2014). Konsumsi MSG, asam glutamat bebas yang dihasilkan sebagian akan terikat di usus dan selebihnya akan dilepaskan kedalam

darah, selanjutnya asam glutamat bebas ini akan menyebar ke seluruh tubuh termasuk akan menembus sawar darah-otak (*blood-brain barrier*) dan terikat pada reseptornya (Setiawati, 2008).

Pemberian glutamat dosis tinggi tidak menyebabkan perubahan pada seluruh bagian dari otak. Perubahannya hanya terjadi pada circumventricular organ (CVO) dan area-area disekitarnya yang merupakan daerah paling banyak dijumpai terjadinya lesi akibat pemberian MSG, baik pada hewan coba dewasa maupun yang masih bayi (Setiawati, 2008).

Jurnal *Neurochemistry International* bulan Maret 2003 melaporkan, pemberian MSG sebanyak 4 mg/grkgBB terhadap bayi tikus menimbulkan neurodegenerasi berupa jumlah neuron yang lebih sedikit dan rami dendrit (jaringan antar sel neuron) yang lebih renggang. Kerusakan ini terjadi perlahan sejak umur 21 hari dan memuncak pada umur 60 hari. Sementara itu, bila disuntikkan pada tikus dewasa, dosis yang sama menimbulkan gangguan pada neuron dan daya ingat. Ditemukan adanya kerusakan pada nukleus arkuatus di hipotalamus pada pembedahan (pusat pengolahan impuls saraf) (Ardyanto, 2004).

## **2.2 Tinjauan Tentang Kopi Robusta**

### **2.2.1 Klasifikasi**

Menurut *Integrated Taxonomic Information System (2011)*, klasifikasi dari tanaman kopi robusta adalah sebagai berikut.

Kingdom : Plantae  
Divisi : Tracheopyta  
Subdivisi : Spermatophyta  
Infradivisi : Angiospermae  
Kelas : Magnoliopsida  
Famili : Rubiaceae  
Genus : Coffea  
Spesies : *Coffea canephora*

### 2.2.2 Morfologi

Kopi robusta memiliki buah kopi yang terdiri dari daging buah dan biji. Daging buah terdiri dari tiga bagian yaitu lapisan kulit luar (eksokarp), lapisan daging buah (mesokarp), dan lapisan kulit tanduk (endokarp) yang tipis, tetapi keras. Pada umumnya buah kopi mengandung dua butir biji, biji tersebut mempunyai dua bidang, bidang yang datar (perut) dan bidang yang cembung (punggung) (Widyotomo & Sri, 2007).



**Gambar 2** kopi robusta & kopi Arabica (Grioni dkk., 2015).

### 2.2.3 Kandung Kimia dan Manfaat

Kopi robusta memiliki banyak kandungan kimia pada bijinya seperti karbohidrat, senyawa nitrogen (protein, asam amino bebas, kafein, trigonelline), lemak (miyak kopi, diterpen), mineral, asam dan ester (asam klorogenat, asam kuinat). Senyawa-senyawa yang terkandung dalam biji kopi robusta ini memiliki manfaat tertentu seperti asam klorogenat, kafein, trigonelline, serat terlarut dan diterpen memiliki peran penting untuk menghasilkan aroma pada minuman kopi (Widyotomo & Sri, 2007).

### 2.2.4 Ekstraksi

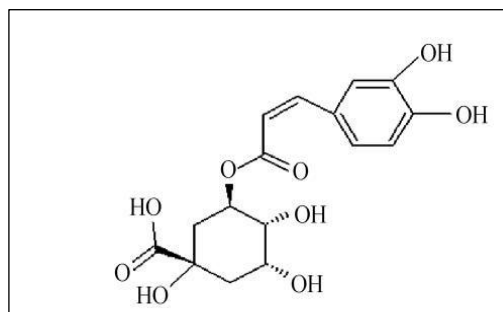
Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan bagian-bagian tanaman atau bahan-bahan lain dari bagian inaktif dengan menggunakan pelarut selektif sesuai dengan prosedurnya (Rahayu dkk., 2018). Berdasarkan cara kerjanya, pengolahan buah kopi dibedakan 2 macam yaitu pengolahan basah dan pengolahan kering. Perbedaan tersebut terletak pada cara kering, pengupasan daging buah, kulit tanduk dan kulit ari dilakukan setelah kering sedangkan pada cara basah, pengupasan daging buah dilakukan sewaktu masih basah (Yulia dkk., 2016).

Ekstrak kopi robusta (*Coffea robusta*) diperoleh dengan cara mengupas biji kopi lalu memblender biji kopi robusta kering hingga menjadi serpihan kecil, selanjutnya di tumbuk sampai halus. Kemudian ditimbang sebanyak 300 gram menggunakan neraca timbang dan

dimaserasi dalam larutan etanol 97% sebanyak 1200 ml selama 24 jam dengan menggunakan *shaker bath*. Setelah itu disaring menggunakan pompa vakum. Kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* sehingga didapatkan ekstrak pekat dengan konsentrasi 100% (Harahap, 2018).

### 2.3 Tinjauan Tentang Asam Klorogenat

Asam klorogenat merupakan ester yang dibentuk dari asam trans sinamat dan asam kuinat dan merupakan senyawa *phenolic* utama di dalam biji kopi (7,0-10,0%) yang banyak ditemukan di beberapa makanan. Senyawa ini berperan sebagai antioksidan yang mampu mencegah penyusutan dendrit karena berinteraksi dengan monosodium glutamat (Farhaty & Muchtaridi, 2017).



**Gambar 3** Struktur kimia asam klorogenat  
( Gill M & Wianowska D, 2017).

Asam klorogenat merupakan salah satu polifenol yang banyak ditemukan di dalam makanan (Lee dkk., 2008). Salah satu sumber asam klorogenat terbesar terdapat pada biji kopi (Farah dkk., 2005). Asam klorogenat merupakan senyawa dengan aktivitas antioksidan yang kuat (Olthof dkk., 2001). Beberapa tahun terakhir, sejumlah manfaat kesehatan yang berhubungan



dengan konsumsi makanan dan minuman dengan kandungan asam klorogenat dalam jumlah tinggi telah dijelaskan dari penelitian epidemiologi. Pengaturan dosis tertentu, asam klorogenat terbukti dapat digunakan sebagai antioksidan (Lee dkk., 2008).

Asam klorogenat masih memiliki fungsi lainnya seperti aktivitas antioksidan yang bekerja dengan cara menurunkan kadar MDA dan ROS dalam irisan kortikal tikus setelah stres oksidatif yang diinduksi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Ditemukan juga efek anti-apoptosis dengan cara peningkatan viabilitas sel, promosi diferensiasi sel dengan mencegah apoptosis yang diinduksi etanol pada sel PC12 tikus dengan meningkatkan ekspresi protein pertumbuhan. Penghambatan jalur apoptosis mitokondria dengan mempromosikan potensi transmembran mitokondria (Mikami & Yamazawa, 2015).

## 2.4 Memori

Memori adalah proses pengolahan informasi meliputi perekaman dan pemanggilan kembali. Psikologi kognitif mengidentifikasi tiga operasi umum memori yaitu *encoding*, *storage*, dan *retrieval*. Pada saat itu encoding, seseorang merubah data sensoris menjadi bentuk representasi mental. Pada *storage*, seseorang menyimpan informasi yang didapat sebagai memori dan pada *retrieval*, seseorang mengambil kembali informasi yang telah disimpan sebagai memori (Mustafar & Dzulkifli, 2006).

Memori memiliki tiga macam penyimpanan yaitu ingatan sensoris, memori jangka pendek, dan memori jangka panjang. Ingatan sensoris adalah sistem penyimpanan yang memiliki kapasitas besar tetapi informasi dalam

penyimpanannya cepat hilang dan mudah digantikan oleh informasi baru yang serupa. Memori jangka pendek adalah sistem penyimpanan aktif yang memiliki kapasitas terbatas. Memori jangka panjang adalah sistem penyimpanan yang memiliki kapasitas dan durasi yang besar, informasi yang disimpan relatif permanen dan dapat dipanggil kembali dikemudian hari (Julianto, 2017).

#### 2.4.1 Memori Kerja

Memori jangka pendek (*short term memory*) merupakan suatu sistem penyimpan informasi aktif yang memiliki kemampuan untuk menampung informasi secara sementara ketika seseorang sedang melakukan tugas-tugas kognitif (Julianto, 2017). Memori jangka pendek sering dikenal dengan memori kerja (Mustafar & Dzulkifli, 2006).

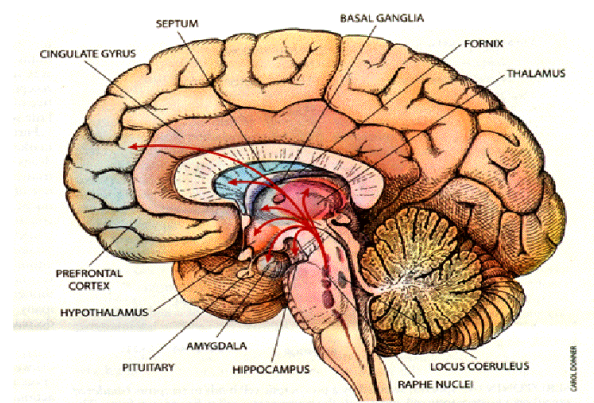
Model Baddeley untuk memori jangka pendek yaitu :

- a. *Phonological loop*, adalah penyimpanan verbal jangka pendek dimana informasi dapat tetap aktif apabila pengulangan dengan suara atau vocal.
- b. *Visuospatial sketchpad*, adalah penyimpanan visual dan spasial jangka pendek. Hal ini dipercaya esensial untuk *mental imagery* dan *spatial reasoning*.
- c. *Episodic buffer* adalah penyimpanan sementara yang menghubungkan informasi dari *phonological loop*, *visuospatial sketchpad* dan memori jangka panjang.

- d. *Central executive* adalah komponen utama yang mengkoordinasi aktivitas antara *phonological loop*, *visuospatial sketchpad* dan *episodic buffer*, hal ini diperantarai oleh lobus frontal otak.

#### 2.4.2 Hipokampus

Hipokampus merupakan bagian dari sistem limbik yang berperan dalam belajar, mengingat, pengaturan emosi, dan hipotalamus. Sel di hipokampus berbentuk piramidal dan meliputi regio *cornu ammonis* (CA) 1, 2, dan 3. Sel-sel di regio CA1 dan CA2 rentan terhadap hipoksia, sedangkan regio CA3 rentan terhadap *stressor* fisik dan juga stres kronik. Hal-hal tersebut dapat mengakibatkan depresi dan hilangnya neuron di hipokampus dan amigdala yang selanjutnya dapat menurunkan kemampuan fungsi memori dan kognitif seseorang (Arjadi, 2012).

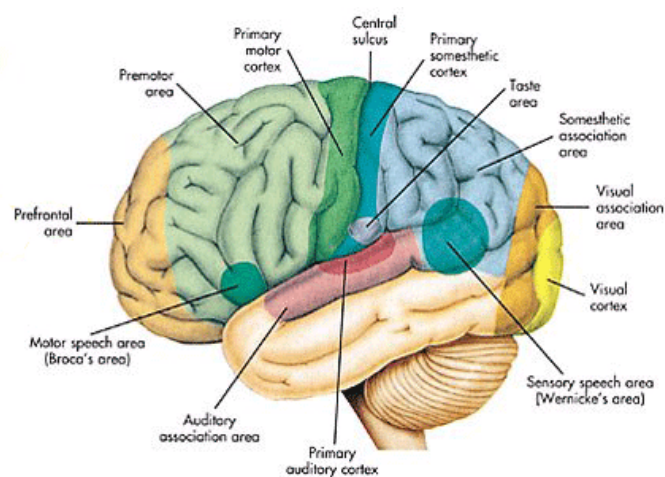


**Gambar 4** Hipokampus Manusia (Villain dkk., 2010).

#### 2.4.3 Korteks Prefrontal

Korteks prefrontal adalah salah satu bagian anterior dari otak yang terletak pada lobus frontal, di depan daerah motor dan premotor. Prefrontal kortek terdiri dari *superior frontal gyrus*, *middle frontal gyrus*, dan *inferior frontal gyrus*. Sindrom yang terjadi karena kerusakan pada area prefrontal dibagi menjadi 3 area yaitu *Lateral Prefrontal Cortex*, *Medial Prefrontal Cortex*, dan *Orbital Prefrontal Cortex* (Joaquin, 2015).

Gangguan pada lateral korteks prefrontal biasanya di sebabkan oleh penyakit, trauma, tumor, atau vascular accident. Adapula sindrom yang muncul adalah apatis, sindrome *dysexecutive*, afasia prefrontal, gangguan untuk melakukan memori kerja dan perencanaan. Gangguan pada area prefrontal korteks orbital disebabkan oleh penyakit tumor dan aneurisma anterior *communicating* arteri. Dan gangguan pada medial korteks prefrontal dapat disebabkan oleh berbagai hal seperti penyakit tumor dan lain-lain (Joaquin, 2015).



**Gambar 5** Anatomi korteks prefrontal (Voytek dkk., 2010).

## 2.4 *Radial Arm Maze*

*Radial Arm Maze* adalah salah satu alat yang cocok digunakan untuk mengukur memori kerja dan melihat fungsi (Thorajak dkk., 2017). Umumnya hewan memiliki kemampuan mempelajari dan mengingat lokasi lengan dengan umpan menggunakan petunjuk visual. Hewan dengan kemampuan neurokognitif yang rusak, kemampuan untuk mengingat akan menurun dan akan memasuki lengan yang sama secara berulang. Penggunaan *Radial Arm Maze* sudah banyak digunakan untuk studi berbagai isu neurologi seperti cedera otak, lesi hipokampus, depresi, dan pengaruh elektromagnetik terhadap defisit memori (Dubreuil dkk., 2003). Kelebihan uji memori dengan menggunakan *Radial Arm Maze* antara lain murah, mudah dirakit dan disimpan, serta minimalnya stres yang ditimbulkan pada hewan coba. Kekurangan *Radial Arm Maze* adalah hewan coba harus ditangani dengan baik dan harus sedikit kekurangan makan untuk memotivasinya mencari pakan. Hal ini dapat menjadi masalah pada beberapa kasus, contohnya jika usia tikus sudah tua dan butuh makanan selalu penuh supaya tetap sehat (Tarragon dkk., 2012).

## 2.5 Tikus putih

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) adalah binatang asli Asia, India, dan Eropa Barat, termasuk dalam keluarga rodentia, sehingga masih termasuk kerabat dengan hamster, gerbil, tupai, dan mahluk pengerat lainnya. Tikus ini digunakan sebagai sarana penelitian biomedis, pengujian dan pendidikan. Faktor yang mendukung kelangsungan hidup tikus putih dengan baik ditinjau

dari segi lingkungan adalah suhu dan kelembaban. Temperatur yang baik 19 °C - 23 °C dan kelembaban 40-70% (Wolfenshon & Lloyd, 2013).

**Tabel 1** Data Taksonomi Tikus

<b>Taksonomi Tikus Putih</b>	
Kingdom	Animalia
Filum	Chordate
Klas	Mamalia
Ordo	Rodensia
Family	Muridae
Subfamily	Murinae
Genus	Rattus
Spesies	<i>Rattus Novergicus</i>



**Gambar 6** Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)  
(Wolfenshon & Lloyd, 2013).

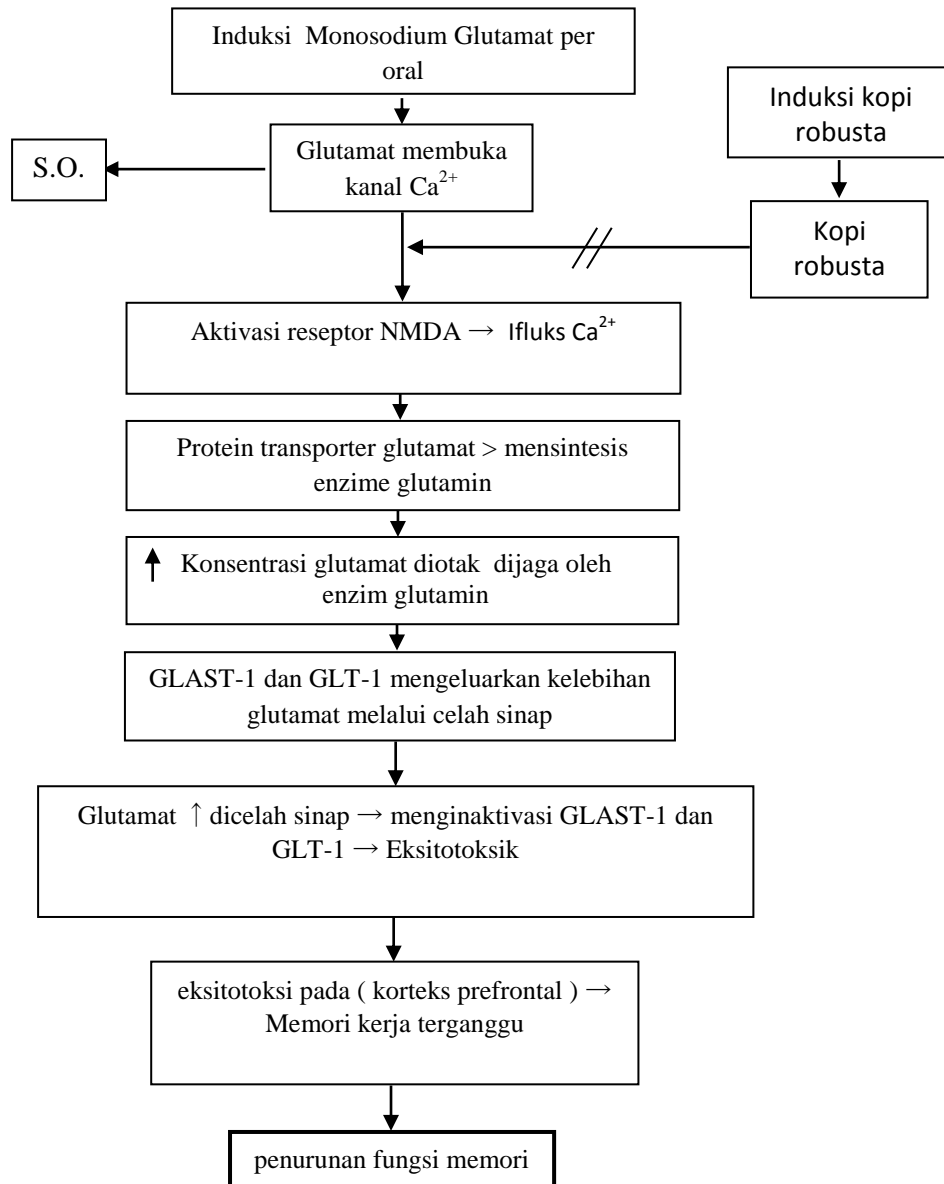
Tikus putih yang digunakan untuk percobaan laboratorium ada tiga macam yaitu Sprague Dawley, Long Evans dan wistar. Tikus ini memiliki sifat yang menguntungkan sebagai hewan penelitian di antaranya perkembangan cepat, mempunyai ukuran yang lebih besar dari mencit, mudah dipelihara dalam jumlah yang banyak (Krinke, 2000). Ciri-ciri morfologi tikus putih (*Rattus novergucus*) yaitu kepalanya kecil, ekornya yang lebih panjang di bandingkan badanya, pertumbuhannya cepat, temperamennya baik, kemampuan laktasi tinggi, dan tahan terhadap arsenik tiroksi ( Smith & Mangkoewidjojo, 1998).

**Tabel 2** Data Fisiologis Tikus Putih

<b>Nilai Fisiologis</b>	<b>Kadar</b>
Berat tikus dewasa	Jantan 100 - 150g
Kebutuhan makan	5 - 10g/100g berat badan
Kebutuhan minum	10 ml/100 g berat badan
Jangka hidup	3 - 4 tahun
Temperatur rektal	360 °C– 400 °C
Detak Jantung	250 – 450 kali / menit
Tekanan Darah	Sistol 84 – 134 mmHg Diastol 60 mmHg
Laju pernafasan	70 – 115 kali / menit
Serum protein	5.6 - 7.6 (g/dl)
Albumin	3.8 - 4.8(g/dl)
Globulin	1.8 - 3 (g/dl)
Glukosa	50 - 135 (mg/dl)
Nitrogen urea darah	15 - 21(mg/dl)
Kreatinin	0.2 - 0.8(mg/dl)
Total bilirubin	0.2 - 0.55(mg/dl)
Kolesterol	40 – 130(mg/dl)

## 2.6 Kerangka Penelitian

### 2.6.1 Kerangka Teori



Keterangan :

Mencegah :  $--\rightarrow$

Mempengaruhi :  $\downarrow$  atau  $\leftarrow$

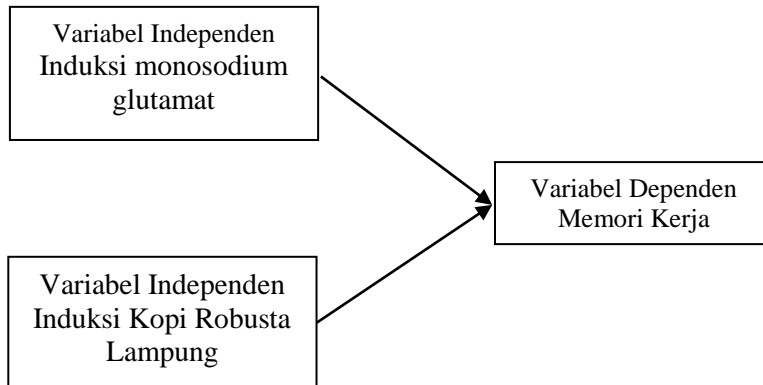
Variabel yang di teliti :  $\square$

**Gambar 7** Kerangka teori

Pengaruh pemberian ekstrak kopi robusta (*Coffea canephora*) Lampung terhadap memori kerja tikus putih jantan (*Rattus Novergicus*) Galur *Sprague dawley* yang di induksi monosodium glutamat (Anurogo & Ikrar, 2014; Setiawati FSN, 2008; Yonata *et al.*, 2009; Mikami & Yamaza, 2015).



### 2.6.2 Kerangka konsep



**Gambar 8** Kerangka konsep

### 2.7 Hipotesis

$H_0$  : Tidak terdapat pengaruh pemberian ekstrak biji kopi robusta lampung terhadap fungsi memori kerja tikus putih yang diinduksi Monosodium glutamat.

$H_1$  : Terdapat pengaruh pemberian ekstrak biji kopi robusta Lampung terhadap fungsi memori kerja tikus putih yang diinduksi Monosodium glutamat.

## **BAB III METODE PENELITIAN**

### **3.1 Jenis dan Desain Penelitian**

Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimental dengan desain Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan pendekatan *Posttest Only Control Group Design*.

### **3.2 Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan pada Februari 2019. Perlakuan dilakukan di *animal house* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Pembuatan ekstrak kopi dilakukan di Laboratorium Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

### **3.4 Populasi dan sampel penelitian**

#### **3.4.1 Populasi Penelitian**

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan jenis kelamin jantan dewasa.

#### **3.4.2 Sampel Penelitian**

Penentuan besar sampel ditentukan dengan menggunakan rumus frederer (Wahyuningrum & Probosari, 2012).

$$t(n-1) \geq 20$$

$$5(n-1) \geq 20$$

$$5n - 5 \geq 20$$

$$5n \geq 20 + 5$$

$$n \geq 25/5$$

$$n \geq 5$$

keterangan :

t : jumlah kelompok.

n : jumlah sampel tiap kelompok.

Hasil perhitungan rumus di atas, sampel penelitian yang digunakan sebanyak 25 ekor yang dipilih secara random dan dibagi dalam 5 kelompok, dengan masing-masing kelompok terdiri 5 ekor tikus.

Dan untuk menghindari *drop out* atau tikus mati maka di tambahkan tikus dengan rumus sebagai berikut :

$$N = \frac{5}{1-F}$$

$$N = \frac{5}{1-10\%}$$

$$N = \frac{5}{0,9}$$

$$N = 5,55$$

N = 6 (pembulatan ke atas).

Keterangan :

N : besar sampel koreksi

n : besar sampel awal

f : perkiraan proporsi *drop out* sebesar 10%

Dari perhitungan rumus tersebut maka jumlah sampel tambahan yang diperlukan adalah 1 ekor pada tiap kelompok sehingga pada penelitian ini menggunakan 30 ekor tikus dari populasi yang ada tetapi selama penelitian terdapat tikus mati 5 ekor maka pada penelitian ini menggunakan sampel 25 ekor.

### 3.5 Kelompok perlakuan

Sampel 25 ekor tikus putih dewasa akan di bagi menjadi 5 kelompok sebagai berikut :

- a) Kelompok kontrol (K1): kelompok tikus putih yang diinduksi aquadest sebanyak 2 ml peroral dengan menggunakan sonde.
- b) Kelompok kontrol (k2): kelompok tikus putih yang di induksi oleh Monosodium Glutamat per oral sebanyak 2 g/kgBB/hari
- c) Kelompok perlakuan (P1): kelompok tikus putih yang di induksi oleh Monosodium glutamat per oral sebanyak 2 g/kgBB/hari dan di induksi kopi robusta Lampung per oral dengan dosis 0,5 gr/kgBB.
- d) Kelompok perlakuan (P2): kelompok tikus putih yang di induksi Monosodium glutamate per oral sebanyak 2 g/kgBB/hari dan di induksi kopi robusta Lampung per oral dengan dosis 1 gr/kgBB.
- e) Kelompok perlakuan (p3): kelompok tikus putih yang di induksi monosodium glutamate per oral dengan dosis 2 g/kgBB/hari dan di induksi kopi robusta Lampung per oral dengan dosis 2 gr/kgBB.

### **3.6 Kriteria Inklusi dan Eksklusi**

#### **3.6.1 Kriteria Inklusi**

Kriteria inklusi sampel yang akan digunakan pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

- a) Sehat (aktif dan tidak cacat).
- b) Memiliki berat badan 100-150 gram.
- c) Jenis kelamin jantan.
- d) Berusia 2-4 bulan.

#### **3.6.2 Kriteria Eklusi**

Kriteria eksklusi sampel yang akan digunakan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a) Tidak sakit selama diberikan perlakuan yang ditandai dengan penampakan rambut botak atau rontok, kusam, dan aktivitas tidak aktif.
- b) Terdapat penurunan berat badan lebih dari 10% setelah masa adaptasi di laboratorium.
- c) Mati selama perlakuan.

### **3.7 Variabel Penelitian**

#### **3.7.1 Variabel Bebas**

- a. Ekstrak kopi robusta Lampung
- b. Monosodium Glutamat

#### **3.7.2 Variabel Terikat**

- a. Memori Kerja

### 3.8 Definisi Oprasional

**Tabel 3** Definisi Oprasional

No.	Variabel	Definisi	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
a.	Memori Kerja	Sebuah memori yang mampu menyimpan informasi selama beberapa menit hingga beberapa jam. Pada hewan coba memori ini dapat dilihat menggunakan <i>radial arm maze</i> jumlah lengan yang benar dimasuki tikus yaitu dengan cara membagi jumlah lengan yang benar dibagi jumlah lengan keseluruhan dikali 100 (Prasetya & Yuliani., 2014).	<i>Radial arm maze</i>	Persentase	Numerik
b.	Monosodium Glutamat	Larutan MSG diinduksi secara intraperitoneal dengan dosis 2 g/KgBB/hari dan msg di larutkan menggunakan aquadest sebanyak 2 ml (Ramalh dkk., 2018).	Neraca	Mg/KgBB	Numerik
c.	Ekstrak biji kopi robusta Lampung	Ekstrak biji kopi yang dibuat dengan cara mencampurkan 300 gr bubuk kopi ke dalam 1200 ml fenol lalu didiamkan selama 24 jam kemudian diinduksi peroral bersamaan degan MSG yang berfungsi sebagai neuroprotektor dengan tiga dosis variasi yakni 0.5 gr/ml, 1 gr/ml, dan 2 gr/ml (Lee dkk., 2016).	Neraca	0.5 gr/ml 1 gr/ml 2 gr/ml	Kategorik

### 3.9 Alat dan Bahan Penelitian

#### 3.9.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain :

- a) Kandang tikus
- b) Botol minum 125 ml
- c) Tempat makan
- d) Spuit 1 cc/ml
- e) *Handschoen*, kapas, dan alkohol
- f) Neraca
- g) *Stopwatch*
- h) *Radial Arm Maze*
- i) Kamera

#### 3.9.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain:

- a) Tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sphrague dawley* yang memenuhi kriteria inklusi.

- b) Larutan Monsodium Glutamat

Larutan MSG dibuat dengan cara melarutkan MSG 2 gr/kgBB/hari yang telah diukur dengan neraca dan dilarutkan menggunakan aquades agar mudah untuk diinjeksikan secara peroral (Ramalhoa dkk., 2018). Larutan dosis MSG didapatkan dengan cara menghitung berdasarkan rumus berikut adalah.

$$\text{Berat Tikus (Gr) : Berat Tikus/Kg (Gr) X Dosis MSG}$$

$$= 150 \text{ gr} : 1000 \text{ gr} \times 2 \text{ gr}$$

$$= 0,3 \text{ gr/tikus.}$$

Dosis per tikus yang telah didapatkan selanjutnya akan di hitung dosis per 25 tikus selama 10 hari yaitu :

$$\text{Dosis x Banyak Tikus x Banyak Induksi x Hari}$$

$$= 0,3 \times 25 \times 1 \times 10$$

$$= 75 \text{ gr} / 250 \text{ ml}$$

c) Ekstrak Kopi Robusta Lampung

Ekstrak biji kopi Robusta Lampung (*Coffea robusta*) diperoleh dengan cara memblender biji kopi robusta kering hingga menjadi serpihan kecil, selanjutnya ditumbuk sampai halus. Kemudian ditimbang sebanyak 300 gram menggunakan larutan etanol 97% sebanyak 1200 ml selama 24 jam dengan menggunakan *shaker bath*. Setelah itu disaring menggunakan pompa vakum. Kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* sehingga didapatkan ekstrak pekat (Yaqin & Nurmilawati, 2015).

Ekstrak biji kopi robusta Lampung yang telah dibuat dengan kepekatan 100% atau dalam hitungan standar dihitung sebagai 1ml = 1gr, di ambil sebanyak 0,5 gr (0,5 cc) diencerkan dengan 1 liter aquades (1000 ml) sehingga konsentrasinya menjadi 0,5



mg/ml. kemudian setiap masing-masing kelompok perlakuan diberikan banyaknya dosis kopi sesuai dengan perhitungan 3 cups kopi.

d) Penentuan Dosis Kopi Robusta Lampung

Penentuan dosis akan dilakukan berdasarkan table konversi *Laurence-Bacharach* dengan mengambil faktor konversi dari manusia (70kg) ke tikus (200g) sebanyak 0,018. Berat badan tikus rata-rata yang akan dilakukan pada penelitian yaitu 150g, maka konversi dosis harus dirubah terlebih dahulu yang didapatkan dengan rumus, berat badan tikus penelitian (g): berat badan tikus pada tabel (g) x faktor konversi. Hasil konversi dosis yang akan digunakan berdasarkan data penelitian, yaitu:  $150g : 200g \times 0,018 = 0,0135$ . Mengonsumsi kopi sebanyak 3 *cup* dalam sehari dapat dijadikan sebagai acuan dalam melihat pengaruh kopi terhadap otak (Lee M, Mcgeer dkk., 2016). Berdasarkan acuan tersebut maka dosis yang akan digunakan dalam penelitian ini, didapatkan dengan rumus, sebagai berikut:

$$\text{Dosis kopi} = 1 \text{ oz} \times \text{faktor konversi}$$

Keterangan:

$$1 \text{ oz (cup)} = 28 \text{ ml}$$

$$\text{Faktor konversi dengan berat badan tikus } 150 \text{ g} = 0,0135$$

Dosis kopi

$$\begin{aligned} &= 3(28\text{ml}) \times 0,0135 \\ &= 84\text{ml} \times 0,0135 \\ &= 1,134 \text{ mg/ml/gr/hari} \end{aligned}$$

Jadi, konversi dosis yang meminum kopi sebanyak 3 cup adalah 1,134 mg/ml/150g/hari.

### **3.10 Prosedur penelitian**

#### **3.9.1 *Ethical clearance***

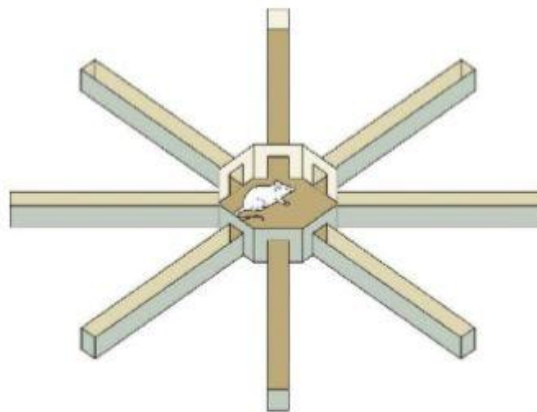
Penelitian ini dimulai dengan mengajukan proposal *ethical clearance* ke fakultas Kedokteran Universitas Lampung untuk mendapatkan izin etik penelitian menggunakan 30 ekor tikus putih (*Rattus Novergicus*) jantan dengan galur *Sprague dawley* dan sudah mendapat izin penelitian dengan nomor etik 251 /UN26.18/PP.05.02.00/2019 tanggal 30 Januari 2019.

#### **3.9.2 Pengadaan Hewan Coba**

Penelitian ini digunakan hewan coba yaitu 30 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan dengan galur *Sprague dawley* namun selama penelitian terdapat tikus yang mati sebanyak 5 ekor.

#### **3.9.3 Pengadaan Alat *Radial Arm Maze***

”*Radial Arm Maze*” yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari papan yang terletak di tengah dengan delapan lengan yang tersusun radial mengelilingi papan. Diameter maze 36 cm, panjang masing-masing lengan 80 cm, dan tinggi lengan 20 cm dengan bentuk seperti pada gambar di bawah ini (Prasetya & Yuliani, 2014).



**Gambar 9** *Radial arm maze*  
(Prasetya & Yuliani, 2014).

#### **3.9.4 Pembagian Kelompok**

Penelitian ini sampel dipilih secara acak dan dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan dengan masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor tikus putih. Selanjutnya semua tikus diadaptasikan selama 14 hari.

#### **3.9.5 Perlakuan**

Setelah masa adaptasi, tikus putih diinduksi dengan MSG dan ekstrak kopi robusta Lampung selama 10 hari. Induksi dilakukan dengan menginduksi aquadest pada kontrol(-) sebanyak 2 ml peroral dengan menggunakan sonde serta pemberian Monosodium Glutamat secara peroral dengan dosis 2 gr/kgBB/hari untuk kelompok kontrol (+) dan perlakuan 1, 2, 3 serta di induksi ekstrak kopi robusta Lampung sebanyak 0,5 gr/mL/hari untuk perlakuan 1, pemberian MSG dan induksi secara peroral ekstrak biji kopi robusta Lampung sebanyak 1 gr/mL/hari untuk perlakuan 2, dan pemberian MSG dan

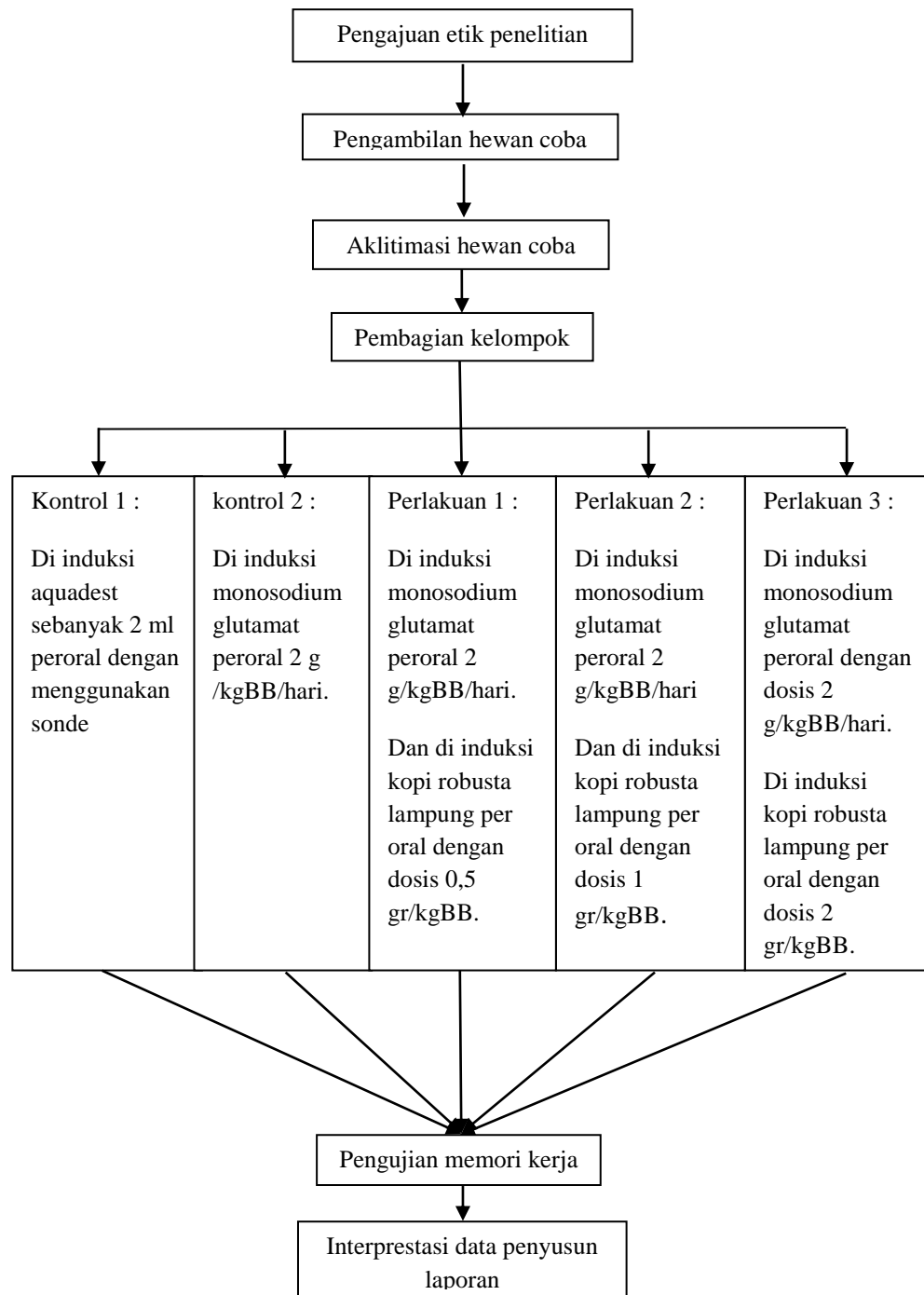
induksi ekstrak kopi robusta Lampung sebanyak 2 gr/mL/hari untuk perlakuan 3 (Thorajak dkk., 2017).

Selanjutnya setiap hari pelet yang diberikan dikurangi tetapi tetap diberi minum. Untuk penyesuaian, pada hari ke-11 tikus diletakan dibagian tengah *Radial Arm Maze* selama 5 menit tanpa diberi umpan. Pada hari ke 12 tikus dibiarkan di bagian tengah selama 30 detik dan lengan 2, 3, 4, 6 diberi umpan pada pintu masuk, bagian tengah dan juga ujung lengan, setelah 30 detik skat di angkat dan tikus dibebaskan selama 5 menit untuk memakan umpan. Pada hari ke-13 tikus dibiarkan di bagian tengah selama 30 detik dan umpan hanya diletakan pada tengah dan ujung lengan 2, 3, 4, 6 setelah 30 detik skat di angkat dan tikus dibebaskan selama 5 menit untuk memakan umpan. Pada hari ke-14 dilakukan pengujian memori kerja *Radial Arm Maze*. Pada masing-masing ujung lengan diletakan cangkir berisi keju. Sesi diakhiri setelah tikus memakan umpan di seluruh lengan atau setelah memakan waktu 5 menit (Prasetya & Yuliani, 2014).

Hasil ditentukan menurut angka kesalahan tikus dalam memasuki lengan *Radial Arm Maze*, dikatakan benar apabila tikus memasuki lengan yang mempunyai umpan lalu memakan umpan yang telah di sediakan dan dikatakan salah apabila tikus memasuki lengan yang tidak ada makanannya. Kemudian akan dilakukan penghitungan persentase keberhasilan tikus memasuki lengan yang mempunyai

umpan dengan cara lengan yang diberi umpan : jumlah lengan keseluruhan x 100 (Prasetya & Yuliani, 2014).

### 3.11 Alur Penelitian



**Gambar 10** Bagan Alur Penelitian

### 3.12 Pengumpulan Data

Penelitian ini menggunakan data primer yaitu data yang di ambil langsung dari subjek penelitian. Pengumpulan data nilai memori kerja diperoleh dengan bantuan rekaman video untuk menghindari pengamatan yang tidak tepat. Data nilai memori kerja pada penelitian ini dinyatakan dalam angka berupa persentase dimana melihat tikus dalam memasuki alat RAM. Selanjutnya nilai memori kerja dengan cara melihat tikus memasuki lengan yang ada umpannya, Dikatakan salah apabila tikus memasuki lengan maze yang tidak memiliki umpan. Kemudian akan dilakukan penghitungan persentase keberhasilan tikus memasuki lengan.

### 3.13 Pengolahan Data

Data yang telah diperoleh dari proses pengumpulan data akan diubah kedalam bentuk table-tabel, kemudian proses pengolahan data menggunakan program computer yang terdiri beberapa langkah :

- a) Koding, untuk mengkonversikan (menerjemahkan) data yang dikumpulkan selama penelitian kedalam simbol yang cocok untuk keperluan analisis.
- b) *Data entry*, memasukkan data kedalam computer.
- c) Verifikasi, memasukan data pemeriksaan secara visual terhadap data yang telah dimasukan kedalam komputer.
- d) Output komputer, hasil yang telah dianalisis oleh komputer kemudian dicetak.

### 3.14 Analisis Data

Analisis statistika untuk mengolah data yang didapat menggunakan program komputer yang akan di lakukan yaitu analisis bivariat. Analisis bivariat adalah analisis yang digunakan untuk mengetahui hubungan antara variabel bebas dan variabel terikat dengan menggunakan uji statistik. Analisis dimulai dengan uji normalitas data dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* karena sampel yang digunakan  $\leq 50$  dan kemudian dilakukan uji varians *Levene's* untuk menguji homogenitas data. Kemudian dilanjutkan dengan uji parametrik One Way ANOVA. Hipotesis di anggap bermakna apabila  $p < 0,05$ . Setelah dilakukan uji One Way ANOVA didapatkan  $p > 0,05$  jadi dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat pengaruh yang signifikan.



## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Kesimpulan**

Tidak terdapat pengaruh pemberian ekstrak kopi robusta (*Coffea canephora*) Lampung terhadap memori kerja tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang di induksi monosodium glutamat

#### **5.2 Saran**

1. Dilakukan pengukuran secara spesifik mengenai zat aktif yang bersifat neuroprotektif dalam darah
2. Perlu dilakukan pengukuran zat aktif pada kopi dalam ekstraksi yang digunakan
3. Perlu dilakukannya penelitian dengan waktu induksi yang lebih memadai sehingga didapatkan efek yang ditargetkan
4. Pada penelitian selanjutnya, lebih baik menggunakan kopi yang masih hijau dan belum mengalami proses pemanggangan sehingga zat aktif pada kopi tidak terdegradasi

## DAFTAR PUSTAKA

- Anggreani E, Lee CY 2017. Neuroprotective Effect of Chlorogenic Acids against Alzheimer's Disease. "Int. J Food Sci" Cornell University, NY, USA:330-37.
- Anurogo D, Ikrar T. 2014. The Neuroscience of Glutamate. Ethical digest. (5):55-61.
- Ardyanto TD. 2004. MSG dan Kesehatan : Sejarah, Efek dan Kontroversinya. INOVASI. 16(1):52-6.
- Arjadi F, Soejono SK, Maurits LS, Pangestu M. 2012. Jumlah sel piramidal CA3 hipokampus tikus putih jantan pada berbagai model stress kerja kronik. Majalah kedokteran bandung. 46(4):197-202.
- Baddeley A. 2003. Working Memory: Looking Back And Looking Forward. "Nat. Rev. Neurosci". (4):829-39.
- Danbolt NC. 2001. Glutamate uptake. Progress in Neurobiology. (65):105.
- Dubreuil D, Tixier C, Dutrieux G, Edeline JM. 2003. Does the radial arm maze necessarily test spatial memory. "Neurobiol Learn Mem". 79: 109-17.
- Farah A. 2012. Coffee: Emerging Health Effects and Disease Prevention, First Edition. John Willey & Sons, Inc and Institute of Food Technologists (USA): Wiley-Blackwell Publishing Ltd.
- Farah A, de Paulis T, Moreira DP, Trugo LC, Martin PR. 2006. Chlorogenic acids and lactones in regular and water-decaffeinated arabica coffees. J Agric Food Chem. 54(2): 374-81.
- Farah A, Paulis TD, Trugo LC. 2005. Effect of Roasting on the Formation of Chlorogenic Acid Lactones in Coffee. "J. Agric. Food Chem". 53 :1505-513.
- Farah A, Donangelo CM, de Paulis T, Martin PR, Perrone D. 2008. Comprehensive Analysis of Major and Minor Chlorogenic Acids and

- Lactones in Economically Relevant Brazilian cultivars. *Food Chem.* 106(2): 859- 67.
- Farhaty N, Muchtaridi. 2015. Tinjauan Kimia Dan Aspek Farmakologi Senyawa Asam Klorogenat Pada Biji Kopi : Review. *Farmaka.* 4(3): 19.
- Ferraguti F, Shigemoto R. 2006. Metabotropic glutamate receptors. *Cell Tissue Res.* 326:483-504.
- Gil M, Wianowska D. 2017. Chlorogenic acids – their properties, occurrence and analysis. *Faculty of Chemistry.* 72(1): 61-104.
- Gonthier MP, Verny MA, Besson C, Rémésy C, Scalbert A. 2003. Chlorogenic acid bioavailability largely depends on its metabolism by the gut microflora in rats. *J Nutr*;133:1853–9. Grioni, Angoli, Sieri. 2015. Espresso coffee consumption and risk of coronary heart disease in a large Italian cohort. *PLoS ONE.* 10(5):1–10.
- Harahap MR. 2018. Aktivitas Daya Hambat Limbah Daging Buah Kopi Robusta (*Coffea robusta* L.) Aceh terhadap Bakteri *S.aureus* dan *E.coli*. *Jurnal Kesehatan.* 9(1): 93-8.
- Herawati H, Sukohar A. 2013. Pengaruh Asam Klorogenat Kopi Robusta Lampung Terhadap Ekspresi Cyclin D1 Dan Caspase 3 Pada Cell Lines Hep-G2. Seminar Nasional Sains & Teknologi V Lembaga Penelitian Universitas Lampung.
- Hendarto A, Nasar SS. 2002. Aspek praktis nutrisi parenteral pada anak. *seri pediatri.* 3(4): 227 – 34.
- Husarova V, Ostatnikova D. 2013. Monosodium Glutamate Toxic Effects and Their Implications for Human Intake: A Review. *JMED Research.* (2013): 12.
- Jamaat E E, Kiasalari Z, Sanaeirad A, Roghani M. 2018. The effect chlorogenic acid on learning and memory and acetylcholinesterase activity in rats with cognitive deficit induced by intercerebroventricular streptozotocin. “ *J Basic Clin Physiol Pharmacol* ”. 6(2) : 17-22.
- Julianto V. 2017. Meningkatkan Memori Jangka Pendek Dengan Karawitan. *Jurnal ilmiah psikologi.* 2(2): 137-46.
- Kato M, Ochiai R, Kozuma K, Sato H, Katsuragi Y. 2017. Effect of Chlorogenic Acid Intake on Cognitive Function in the Elderly: A Pilot Study. *Hindawi Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*; 2018:1-8.

- Katsuyoshi S, Ryuji O, Kazuya K, Hirotaka S, Takashi K, Noriko O, Yoshihisa K. 2018. Effect of Chlorogenic Acids on Cognitive Function: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Journal of Nutrients* 2018. 10(10) : 1337.
- Kazmi Z, Fatima I, Perveen S. 2017. Monosodium glutamate: Review on clinical reports. *International Journal of Food Properties*. 20 (2): 1807-15.
- Kew JNC, Kemp John A. 2005. Ionotropic and metabotropic glutamate receptor structure and pharmacology. *Psychopharmacology*. 179: 4-29.
- Kim J, Lee KW, 2015. Coffee and its Active Compounds are Neuroprotective. *Coffee in Health and Disease Prevention*:p.423-27.
- Krinke GJ. 2000. *The Handbook of Experimental Animals: The Laboratory Rat*. London: Academic Press.
- Lee M, McGeer EG, McGeer PL. 2016. Quercetin, not caffeine, is a major neuroprotective component in coffee. *Neurobiology of aging*. 46:113-23.
- Mikami Y, Yamazawa T. 2015. Chlorogenic acid, a polyphenol in coffee, protects neurons against glutamate neurotoxicity. *Life sciences*. 139: 69-74.
- Mustafar MFM, Dzulkifli MA. The Effect of Ground Colour on Memory Performance. *The 8th International Postgraduate Research Colloquium: Interdisciplinary Approach for Enhancing Quality of Life IPRC Proceedings*: 102-14.
- Namba T, Matsuse T. 2002. A historical study of coffee in Japanese and Asian countries: focusing the medicinal uses in Asian traditional medicines. *J Jpn Hist Pharm*;37:65–75.
- Noviani NH, Paryono, Dahlan P. 2016. Patofisiologi stroke iskemia pada anak dengan sickle cell disease. *Berkala ilmiah kedokteran duta wacana*. 2(1): 279-87.
- Oboh G, Agunloye OM, Akinyemi AJ, Ademiluyi AO, Adefegha SA. 2013. Comparative study on the inhibitory effect of caffeic and chlorogenic acids on key enzymes linked to alzheimer's disease and some pro-oxidant induced oxidative stress in rats' brain-*in vitro*. *Neurochem res*. 38(2): 413-19.
- Olthof MR, Hollman PCH, Katan MB. 2001. Chlorogenic Acid and Caffeic Acid Are Absorbed in Humans. *Journal of Nutrition*. 131: 66–71.

- Prasetya DY, Yuliani S. 2014. Aktifitas ekstrak rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) pada radial arm maze dan pasive avoidance test tikus model demensia. *Pharmaciana*. 4(2):157-64.
- Rahayu ET, Hadiarti D, Kurniati T. 2018. Pengembangan Video Pembelajaran Pada Materi Ekstraksi Dan Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder Daun Buas-Buas (*Premna Serratifolia* Linn) Di Program Studi Pendidikan Kimia Universitas Muhammadiyah Pontianak. *Jurnal Ilmiah*. 6(1): 51-8.
- Ramalhoa JB, Izaguirryb AP, Soaresb MB, Spiazib CC, Pavinb NF, Affeldtc RF. 2018. Selenofuranoside improves long-term memory deficits in rats after exposure to monosodium glutamate: Involvement of Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase activity. *Physiology & Behavior*. 184: 27-33.
- Seminar Nasional Sains & Teknologi V Lembaga Penelitian Universitas Lampung.1(2): 533-40.
- Setiawati FSN. 2008. Dampak penggunaan monosodium glutamat (MSG) terhadap kesehatan lingkungan. *RBITH*. 4: 453-59.
- Simon H, Muhartomo H, Pudjonarko D. 2013. Pengaruh Pemberian Monosodium Glutamat peroral terhadap Degenerasi Neuron Piramidal CA1 Hipokampus pada Tikus Wistar. *Med Hosp*. 1(3): 175-81.
- Smith JB, Mangkoewidjojo S. 1998. Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Sulkowski G, Bouta BD, Salinska E, Struzynska L. 2014. Modulation of Glutamate Transport and Receptor Binding by Glutamate Receptor Antagonists in EAE Rat Brain. *PLoS ONE*. 9(11): 1-19.
- Thorajak P, Pannangrong W, Welbat JU. 2017. Effects of Aged Garlic Extract on Cholinergic, Glutamatergic and GABAergic Systems with Regard to Cognitive Impairment in A $\beta$ -Induced Rats. *Nutrients*. 9 : 686.
- Trugo LC. 2003. Analysis of Coffee Products. Elsevier Science: Brazil. P1498-500.
- Villain N, Landeau B, Groussard M, Mevel K, Fouquest M, Jacques D dkk., 2010. A Simple Way To Improve Anatomical Mapping Of Functional Brain Imaging. *J Neuroimaging*. (20): 324-33.
- Voytek B, Davis M, Yago E, Barcelo F, Vogel EK, Knight RT. 2010. Dynamic Neuroplasticity After Human Prefrontal Cortex Damage. *Neuron*. (68):401-8.

- Wahyuningrum MR, Probosari E. 2012. Pengaruh pemberian buah pepaya (*Carica papaya* L.) Terhadap kadar trigliserida pada tikus sprague dawley dengan hiperkolesterolemia. " J. Nutr ". 1(1): 192-98.
- Walls AB, Waagepetersen HS, Bak LK, Schousboe A. 2014. The Glutamine–Glutamate/GABA Cycle: Function, Regional Differences in Glutamate and GABA Production and Effects of Interference with GABA Metabolism. " Neurochem. Res". 10: 1-9.
- Walker R, Lupien JR. 2018. The Safety Evaluation of Monosodium Glutamate. " J Nutr ". 66(1): 22-31.
- Widyotomo S, Sri M. 2006. Ekstraksi Kafein Dari Dalam Biji Kopi. *Warta Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia*, 22(3): 133–41.
- Wolfenshon, Lloyd. 2013. *Handbook of Laboratory Animal Management and Welfare*, 4th ed. Wiley-Blackwell, West Sussex: 234.
- Xiong JS, Branigan D, Li M. 2009. Deciphering the MSG controversy. *Int J Clin Exp Med*. 2: 329-36.
- Yaqin MA, Nurmilawati M. 2015. Pengaruh Ekstrak Kopi Robusta (*Coffea robusta*) sebagai Penghambat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *Universitas Nusantara PGRI Kediri*. (1): 867-72.
- Yonata A, Iswara I. 2016. Efek Toksik Konsumsi Monosodium Glutamate. *Majority*. 5(3): 100-4.