

Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Lampung Terhadap Aktivitas Enzim Katalase Cerebellum Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur Sprague-dawley yang Diinduksi Monosodium Glutamate

Syifa Fakhirah Siregar¹, Anggraeni Janar Wulan², Dwita Oktaria³

¹Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

²Bagian Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

³Bagian Pendidikan Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

Abstrak

Konsumsi berlebihan MSG mampu menimbulkan neurotoksisitas pada cerebellum, yang berujung pada keadaan stress oksidatif ditandai dengan menurunnya aktivitas katalase. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Lampung terhadap aktivitas enzim katalase cerebellum tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Sprague-dawley yang diinduksi monosodium glutamate. Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental dengan pendekatan *Posttest Only Control Group Design*. Sampel yang digunakan 25 ekor tikus terbagi ke dalam 5 kelompok, yaitu K- (aquades 3,5 ml/hari), K+ (MSG 4 g/kgBB/hari), P1, P2, dan P3 (MSG 4 g/kgBB/hari dan ekstrak biji kopi robusta Lampung 1,5 ml/200gBB/hari dengan konsentrasi 0,03 g/ml; 0,06 g/ml; 0,12 g/ml secara berurutan) yang dilakukan selama 14 hari. Pengukuran aktivitas enzim katalase cerebellum dilakukan secara spektrofotometri pada lambda 210 nm. Rerata aktivitas spesifik enzim katalase cerebellum pada K+, K-, P1, P2 dan P3 secara berurutan adalah 0.00104 U/mg, 0.00154 U/mg, 0.00139 U/mg, 0.00161 U/mg, dan 0.00190 U/mg dengan uji One-Way ANOVA didapatkan nilai $p=0,001$ ($p<0.05$). Uji post hoc LSD memiliki perbedaan bermakna ($p<0.05$) antara kelompok K + dan K- ($p = 0.007$), K+ dan P2($p = 0.003$), K + dan P3 ($p = 0.000$), dan P1 dan P3 ($p = 0.007$) yang artinya terdapat pengaruh pemberian ekstrak biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Lampung terhadap aktifitas enzim katalase cerebellum tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Sprague-dawley yang diinduksi MSG.

Kata Kunci: Cerebellum, katalase, kopi robusta, monosodium glutamate

The Effect Of Lampung Robusta Coffee Extract (*Coffea canephora*) Againsts To Activity Of The Cerebellar Catalase Enzyme In Male Rats (*Rattus norvegicus*) Strain Sprague-Dawley Induced by Monosodium Glutamate

Abstract

Excessive consumption of monosodium glutamate (MSG) has a neurotoxic effect on the cerebellum, which will lead to a state of oxidative stress characterized by decreased activity of catalase. This study aims to determine the effect of Lampung Robusta Coffee extract (*Coffea canephora*) againsts to activity of the cerebellar catalase enzyme in male rats (*Rattus norvegicus*) strain sprague-dawley induced by monosodium glutamate. This research is a type of experimental study with a *Posttest Only Control Group Design* approach. The subjects were 25 rats which were divided into 5 groups which are K- (aquadest 3,5 ml/day), K+ (MSG 4 g/kgBW/day), P1, P2, P3 (MSG 4 g/kgBW/day and Lampung Robusta Coffee extract 1,5 ml/200gBW/day with a concentration of 0,03 g/ml; 0,06 g/ml; 0,12 g/ml respectively) for 14 consecutive days. The activity of the cerebellar catalase enzyme is calculated with spectrophotometer 210 nm. The average specific activity of the cerebellum catalase enzyme in K +, K-, P1, P2 and P3 were 0.00104 U/mg, 0.00154 U/mg, 0.00139 U/mg, 0.00161 U/mg, and 0.00190 U/mg respectively. One-Way ANOVA test obtained p value = 0.001 ($p < 0.05$). Post Hoc LSD test showed a significant difference ($p < 0.05$) between the K + and K- ($p = 0.007$), K+ and P2($p = 0.003$), K + and P3 ($p = 0.000$), and P1 and P3 ($p = 0.007$), which means that there is an effect of Lampung Robusta Coffee extract (*Coffea canephora*) againsts to activity of the enzyme catalase of cerebellar in male rats (*Rattus norvegicus*) strain Sprague-dawley induced by MSG.

Keywords: Catalase, cerebellar, monosodium glutamate, robusta coffee

Korespondensi: Syifa Fakhirah Siregar | Jl. Anggur 2 No.9 Perumnas 2 Parung Panjang, Kabupaten Bogor, Provinsi Jawa Barat | HP 081290898029 | e-mail: syifafakhirah@gmail.com

Pendahuluan

Monosodium glutamate (MSG) merupakan asam amino yang paling banyak ditemukan di alam dan yang paling umum dikonsumsi sebagai peningkat cita rasa

makanan alami.^{1,2} Konsumsi MSG meningkat di seluruh dunia dalam beberapa tahun terakhir, dengan asupan harian rata-rata dari makanan dilaporkan sekitar 0,5 g di antara orang Amerika, 0,3 atau 0,5 sampai 1 g di Eropa, dan

1,2 atau 1,7 sampai 4 g di Asia.^{3,4} Hasil tersebut mungkin tidak pasti, mengingat MSG mungkin ada dalam makanan kemasan tanpa label kandungan.⁵ Indonesia sendiri memiliki angka sebesar 21,8% atau empat dari lima penduduk Indonesia mengkonsumsi penyedap lebih dari satu kali dalam sehari.⁶

Mengingat kegunaannya sebagai penambah cita rasa, ternyata konsumsi MSG dengan dosis 30 mg/hari sudah mampu menimbulkan efek negative pada manusia.⁷ Konsumsi MSG yang melebihi ambang batas, dapat menyebabkan gangguan pada banyak organ termasuk cerebellum dimana stress oksidatif rentan terjadi di otak.⁸ Stress oksidatif terjadi karena MSG dapat diubah menjadi alpha KGDH yang akan menimbulkan kenaikan senyawa oksigen reaktif (ROS) sehingga menyebabkan ketidakseimbangan antara pro-oksidan dengan antioksidan.⁹

Kadar superoksida dismutase otak (SOD) dan katalase sebagai antioksidan dapat menurun dengan pemberian dosis MSG 2 g/kgBB selama 7 hari secara intraperitoneal.¹⁰ Kedua antioksidan tersebut juga menurun dengan pemberian dosis MSG 4 g/kgBB selama 14 hari secara peroral, sebagai indikasi kuat terjadinya stress oksidatif.¹¹

Provinsi Lampung dikenal sebagai salah satu produsen kopi robusta (*Coffea canephora* var.robusta) di Indonesia. Perkebunan kopi robusta terluas di Lampung berada di Kabupaten Lampung Barat dan Kabupaten Tanggamus.¹²

Kopi mengandung senyawa polifenol asam klorogenik (CGA) dan kafein dalam konsentrasi tinggi, yang diketahui memiliki manfaat berupa antioksidan dan penangkal radikal bebas.¹³ Kafein dengan dosis 6 mg/KgBB yang diberikan secara peroral selama 14 hari dinilai memiliki efek neuroprotektif yang mampu menurunkan waktu durasi kejang juga meningkatkan kadar antioksidan di otak.¹⁴ Trigonelline yang ada pada kopi juga mampu meningkatkan kadar superoksida dismutase otak (SOD), katalase (CAT), dan glutathione (GSH) serta menurunkan aktivitas hippocampal malondialdehyde (MDA) dan acetylcholinesterase (AChE).¹⁵

Metode

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan pendekatan *Post Test Only Control Group Design*. Penelitian ini dilakukan pada bulan Agustus sampai Desember 2020 di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung dan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

Sampel hewan coba dihitung dengan rumus Federeer dengan jumlah sampel 30 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Sprague-dawley yang diperoleh dari Animal Vet Laboratorium Services Dramaga, Kabupaten Bogor, Jawa Barat dengan kriteria hewan coba usia 8-12 minggu dan berat badan 170-230 gram. Kemudian hewan coba dilakukan pengelompokan ke dalam 5 kelompok (K-, K+, P1, P2, dan P3) yang masing-masing terdiri dari 6 ekor tikus putih dengan teknik pengambilan sampel *simple random sampling*. Hewan coba diadaptasikan selama 6 hari di Animal House Fakultas Kedokteran Universitas Lampung untuk menyeragamkan makanan dan cara hidup sebelum diberi perlakuan.

Biji kopi robusta yang digunakan pada penelitian ini adalah biji kopi robusta lampung *green bean* yang diperoleh dari daerah Belalau, Lampung Barat yang kemudian dilakukan proses penyangraian. Proses penyangraian sebanyak 585 gram biji kopi robusta dilakukan dengan menggunakan alat Uncle John Roaster di Kedai Kopi Flambojan Bandar Lampung sampai tingkat kematangan cukup (light roast) yaitu saat terjadi first crack pada suhu 201°C dan waktu penyangraian 11 menit.

Setelah masa adaptasi, tikus putih diinduksi dengan MSG dan ekstrak biji kopi robusta lampung selama 14 hari. Pembuatan larutan MSG dilakukan setiap 3 hari sekali dengan cara melarutkan MSG dosis 4 g/kgBB yang telah diukur dengan neraca ke dalam aquades 3,5 ml. Sedangkan larutan ekstrak biji kopi robusta lampung diberikan dengan dosis kopi adalah 1,5 ml/200gBB/hari pada setiap kelompok perlakuan dengan konsentrasi ekstrak biji kopi robusta lampung pada kelompok perlakuan P1, P2, dan P3 secara berurutan adalah 0,03 g/ml, 0,06g/ml, dan 0,12 g/ml.

Sehingga setiap kelompok mendapat perlakuan yang berbeda yaitu pada kelompok K- (aquades 3,5 ml/hari), K+ (MSG 4 g/kgBB/hari), P1, P2, dan P3 (MSG 4 g/kgBB/hari dan ekstrak biji kopi robusta lampung 1,5 ml/200gBB/hari dengan konsentrasi 0,03 g/ml; 0,06 g/ml; 0,12 g/ml secara berurutan) dengan frekuensi pemberian satu kali sehari selama 14 hari secara peroral.

Setelah diberi perlakuan selama 14 hari, dilakukan prosedur terminasi dengan anastesi ketamine dosis 0,2 ml/100gBB secara injeksi intraperitoneal pada setiap hewan coba. Selanjutnya, dilakukan prosedur pembedahan dan pengambilan jaringan cerebellum dalam keadaan anastesi dalam. Jaringan cerebellum yang diperlukan disimpan di dalam lemari es -4°C sampai jaringan siap digunakan.

Saat sampel siap untuk digunakan, dilakukan pembuatan homogenate sampel dengan cara dihaluskan menggunakan micropestle bersama PBS 0,1 M pH 7, dengan perbandingan sampel:PBS = 1:1. Homogenat kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 10 menit untuk memisahkan supernatan dari pelet.

Langkah selanjutnya adalah melakukan pengukuran kinetik katalase dengan melihat absorbansi penguraian H₂O₂ pada blanko dan sampel pada detik ke 30 dan detik ke 150. Pengukuran absorbansi dilakukan dengan meneteskan 975 µl larutan H₂O₂ (pengenceran optimal hingga 100x) ke dalam kuvet dengan 25 µl PBS 0.1 M pH 7 untuk blanko dan 975 µl larutan H₂O₂ (pengenceran optimal hingga 100x) dengan 25 µl homogenate untuk sampel. Selisih penguraian H₂O₂ oleh sampel dikurangkan dengan selisih penguraian H₂O₂ oleh blanko, kemudian hasil pengamatan dicatat.

Langkah selanjutnya adalah menentukan kurva standar protein dengan cara mengukur

serapan larutan 50 mg BSA dengan aquadest 1:1 yang kemudian diencerkan dengan perbandingan 0,1, 0,2, 0,4, 0,6, dan 0,8 pada Panjang gelombang 280 nm. Hasil pengukuran tersebut dicatat dan dibuat kurva untuk mencari rumus untuk menghitung konsentrasi protein.

Kemudian menentukan konsentrasi protein pada cerebellum dengan melakukan pengukuran absorbansi homogenat yang telah diencerkan dengan PBS pada pengenceran optimal 1:100 pada panjang gelombang 280 nm. Hasil pengukuran kemudian dihitung dengan menggunakan rumus yang didapat dari kurva standar protein.

Langkah terakhir adalah melakukan perhitungan aktivitas katalase dengan rumus sebagai berikut.

Aktivitas katalase (U/ml) =

$$\frac{\Delta \text{absorbansi sampel} - \Delta \text{absorbansi blanko}}{\text{menit} \times \text{faktor pengencer}} \times \text{molaritas H}_2\text{O}_2 \times \text{volume sampel yang diukur}$$

Aktivitas spesifik katalase (U/ml) =

$$\frac{\text{aktivitas katalase} \left(\frac{U}{ml}\right)}{\text{kadar protein dalam sampel} \left(\frac{mg}{ml}\right)}$$

Analisis yang digunakan adalah uji parametrik *One-Way* ANOVA dan uji analisis post-hoc LSD dengan sebelumnya telah dilakukan uji normalitas data dengan uji *Saphiro-Wilk* karena sampel yang digunakan pada penelitian kali ini kurang dari sama dengan 50.

Hasil

Setelah dilakukan perhitungan berdasarkan rumus baku absorbansi, didapatkan rerata aktivitas spesifik katalase cerebellum pada lima kelompok seperti yang disajikan pada tabel 1.

Tabel 1. Rerata Aktivitas Spesifik Katalase Cerebellum

Kelompok Rerata aktivitas spesifik katalase	Kelompok Rerata aktivitas spesifik katalase
K- 0,00154 U/mg	K- 0,00154 U/mg
K+ 0,00104 U/mg	K+ 0,00104 U/mg
P1 0,00139 U/mg	P1 0,00139 U/mg
P2 0,00161 U/mg	P2 0,00161 U/mg
P3 0,00190 U/mg	P3 0,00190 U/mg

Tabel 1 menunjukkan bahwa terjadi penurunan nilai aktivitas katalase pada kelompok kontrol positif jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Sedangkan pada kelompok perlakuan terlihat adanya peningkatan nilai aktivitas katalase pada kelompok perlakuan 1, 2 dan 3 jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif,

dengan nilai aktivitas katalase tertinggi pada kelompok perlakuan 3, maka dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi dosis perlakuan semakin besar nilai aktivitas katalase.

Kemudian dilakukan analisis uji normalitas data dengan *Shapiro-Wilk* untuk melihat distribusi data penelitian seperti yang disajikan pada tabel 2.

Tabel 2. Uji Normalitas Aktivitas Spesifik Katalase Cerebellum

Kelompok	<i>p-Value</i>
K- (Kontrol negatif)	0,152*
K+ (Kontrol positif)	0,529*
P1 (Perlakuan 1)	0,252*
P2 (Perlakuan 2)	0,241*
P3 (Perlakuan 3)	0,452*

* $p > 0,05$ = data terdistribusi normal

Tabel 2 menunjukkan nilai $p > 0,05$ di semua kelompok perlakuan, sehingga dapat disimpulkan bahwa data aktivitas enzim katalase cerebellum terdistribusi normal.

Selanjutnya dilakukan analisis homogenitas data dengan uji *Levene* seperti yang disajikan pada tabel 3.

Tabel 3. Uji Homogenitas Aktivitas Spesifik Katalase Cerebellum

	<i>Levene statistic</i>	df1	df2	<i>p-Value</i>
Aktivitas spesifik enzim katalase cerebellum	2,328	4	20	,156*

* $p > 0,05$ = variasi data homogen

Tabel 3 menunjukkan nilai $p > 0,05$ sehingga memenuhi asumsi data untuk dilakukan uji parametrik *One-way ANOVA* untuk mengetahui perbedaan rerata dari pengaruh pemberian ekstrak biji kopi robusta lampung

terhadap aktivitas enzim katalase cerebellum tikus putih jantan galur Sprague-dawley yang diinduksi MSG seperti yang disajikan pada tabel 4.

Tabel 4. Uji Parametrik *One-Way ANOVA* Aktivitas Spesifik Katalase Cerebellum

	f	<i>p-Value</i>
Aktivitas spesifik enzim katalase	6,870	,001*

cerebellum

* $p < 0,05$ = memiliki perbedaan bermakna

Tabel 4 menunjukkan nilai $p < 0,05$ yang berarti memiliki perbedaan bermakna. Dapat diartikan sebagai terdapat perbedaan rerata minimal antar 2 kelompok pada penelitian dan dapat dilanjutkan uji *post-hoc* LSD untuk

melihat antar kelompok mana yang memiliki perbedaan bermakna dan antar kelompok mana yang tidak memiliki perbedaan bermakna seperti pada tabel 5.

Tabel 5. Uji Post Hoc LSD Aktivitas Spesifik Katalase Cerebellum

Variable	Kelompok perlakuan	Kelompok perlakuan	<i>p-Value</i>
Aktivitas spesifik enzim katalase cerebellum	K-	K+	,007*
		P1	,378
		P2	,695
	K+	P3	,051
		P1	,051
		P2	,003*
	P1	P3	,000*
		P2	,208
	P2	P3	,007*
		P3	,109

* $p < 0,05$ = hubungan bermakna

Tabel 5 menunjukkan aktivitas enzim katalase cerebellum antara kelompok kontrol negatif dan kelompok kontrol positif memiliki perbedaan rerata yang bermakna dengan *p-Value* 0,007. Hal ini menunjukkan bahwa MSG dosis 4gr/kgBB selama 14 hari terbukti dapat menurunkan aktivitas enzim katalase cerebellum. Didapatkan juga perbedaan rerata yang bermakna aktivitas enzim katalase antara kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan 2 dan 3 dengan *p-Value* K+ dengan P2 adalah 0,003 dan K+ dengan P3 adalah 0,000. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak biji kopi robusta lampung dosis 1,5ml/200gBB/hari dengan konsentrasi 0,06g/ml dan konsentrasi 0,12g/ml terbukti dapat meningkatkan aktivitas enzim katalase cerebellum tikus yang mengalami stress oksidatif akibat induksi MSG.

Pembahasan

Pada penelitian ini, dosis MSG 4gr/kgBB/hari selama 14 hari secara peroral mampu menyebabkan penurunan aktivitas spesifik katalase sebesar 32,4% sebagai penanda terjadinya stress oksidatif. Pada penelitian sebelumnya, dengan pemberian MSG dosis 4 gr/kg peroral selama 14 hari, hanya mampu menurunkan aktivitas katalase sebesar

16%.¹¹ Penelitian lainnya juga menunjukkan dengan pemberian MSG dosis 4 gr/kg intraperitoneal selama 7 hari, hanya menurunkan aktivitas katalase sebesar 13,4% dari homogenat jaringan otak.¹⁶

Sedangkan pada penelitian lain, pemberian MSG dosis 2 gr/kgBB selama 7 hari secara intraperitoneal mampu menurunkan aktivitas katalase dengan penurunan yang cukup sama besarnya dengan penelitian ini yaitu sebesar 54%.¹⁰ Penelitian lainnya juga menegaskan, dengan pemberian MSG dosis 100mg/kgBB selama 2 bulan secara peroral, mampu menurunkan aktivitas katalase sebesar 50% dari homogenat jaringan otak.¹⁷

Salah satu kondisi yang dapat menyebabkan penurunan aktivitas katalase yang terlampau rendah pada hasil penelitian adalah kelainan pada hewan coba itu sendiri seperti akatalasemia atau pajanan stress terhadap tikus tersebut. Tingkat reduksi H₂O₂ oleh katalase tikus normal 4x lebih cepat dari tikus yang mengalami akatalasemia dan 2x lebih cepat dari tikus yang mengalami hipokatalasemia dikarenakan pada tikus akatalasemia atau hipokatalasemia menunjukkan mutasi pada salah satu gennya.¹⁸ Sedang pajanan stres yang dialami tikus dapat berasal dari handling, restraint, insersi sonde

dari mulut ke lambung, wet cage bedding, water or food deprivation, tail pinching, kebisingan, serta suhu lingkungan yang panas atau dingin.^{19,20,21} Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa pajanan stress pada tikus dapat meningkatkan ROS, sitokin pro-inflamasi, mengaktifkan asetilkolinesterase, perubahan influx kalsium, meningkatkan permeabilitas sawar darah otak, dan mendorong perubahan glutamate yang akan mempengaruhi struktural dan fisiologi dari sistem saraf.²²

Sel atau jaringan hanya mengandung sebagian kecil enzim katalase dari seluruh tubuh yang mampu menguraikan H₂O₂.²³ Aktivitas katalase pada jaringan cenderung tinggi pada jaringan hati dan ginjal dibanding jaringan lain.²⁴ Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan aktivitas katalase pada sampel hemolysate sebesar 3,57 kU/mg lebih besar jika dibandingkan aktivitas katalase pada sampel homogenate jaringan hati 2,89 kU/mg, jaringan ginjal 2,73 kU/mg, jaringan jantung 2,23 kU/mg dan lebih besar dari sampel homogenate jaringan cerebellum yaitu 1,68 U/g dan 1,17 U/g dan 0,145 U/g.^{25,26,27} Penelitian lain menegaskan, rata-rata aktivitas katalase dari 3-7 sampel otak tikus didapati <100 IU/g.²⁸

Ikatan glutamat pada reseptor ionotropik dan metabotropik post-sinapstik dan disfungsi mitokondria akibat perubahan struktur lipid membran menyebabkan berkurangnya produksi ATP, yang pada akhirnya menyebabkan masuknya kalsium ke dalam sel. Peningkatan signifikan Ca²⁺ dan Na⁺ serta penurunan signifikan konsentrasi K⁺ di sel otak juga aktivasi enzim fosfolipase, endonuklease, dan protease dapat menyebabkan kematian sel saraf. Hiper-eksitabilitas dari glutamat juga mampu menggoyahkan regulasi permeabilitas dari sawar darah otak.^{29,30} Sehingga dapat disimpulkan bahwa asupan berlebih MSG akan menyebabkan hipereksitabilitas dan eksitotoksitas kemudian memicu stress oksidatif yang ditandai dengan menurunnya aktivitas enzim katalase.

Setelah dilakukan pemberian ekstrak biji Kopi Robusta Lampung dengan dosis 1,5 ml/200gBB/hari, didapatkan hasil bahwa rerata aktivitas spesifik katalase bertingkat yaitu 0,00139 U/mg pada kelompok P1, 0,00161

U/mg pada kelompok P2, dan 0,00190 U/mg pada kelompok P3. Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa penanda stres oksidatif berkorelasi terbalik dengan konsumsi kopi.³¹ Rerata aktivitas spesifik katalase kelompok perlakuan 1 memiliki nilai lebih rendah dari rerata aktivitas spesifik katalase kelompok kontrol negatif, namun rerata aktivitas spesifik katalase kelompok perlakuan 2 dan 3 memiliki nilai lebih tinggi dari rerata aktivitas spesifik katalase kelompok kontrol negatif. Hal tersebut dikarenakan pada kelompok perlakuan 1 diberikan oksidan eksogen MSG yang sama dengan kelompok kontrol positif dengan dosis 4 gr/kgBB yang tidak diberikan pada kelompok kontrol negatif, namun dengan tambahan pemberian antioksidan eksogen yaitu kopi dengan tingkat konsentrasi yang paling rendah (0,03 g/mL) dibanding pemberian antioksidan eksogen pada kelompok P2 dan P3 dengan konsentrasi yang lebih tinggi (0,06 g/ml dan 0,12 g/ml) setiap hari selama 14 hari.

Hal ini memiliki arti bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*) Lampung dengan dosis 1,5 ml/200gBB/hari, maka semakin tinggi pula antioksidan yang ada untuk mencegah terjadinya stress oksidatif akibat induksi glutamate pada jaringan cerebellum. Penelitian sebelumnya menyimpulkan bahwa semakin tinggi dosis konsentrasi larutan dari kopi maka semakin tinggi pula kandungan antioksidan yang dimilikinya dan mampu meningkatkan hasil metabolit 3,3x lebih tinggi.³² Namun, pemberian ekstrak biji kopi robusta dinyatakan memiliki perbedaan yang bermakna hanya pada kelompok perlakuan 2 dan 3 dengan konsentrasi larutan 0,06 g/ml dan 0,12 g/mL, dengan ini dapat disimpulkan bahwa tingkat konsentrasi larutan tersebut merupakan dosis yang paling efektif dalam proteksi cerebellum dari keadaan stress oksidatif.

Penelitian sebelumnya menyatakan, pemberian kopi dengan dosis kelompok perlakuan 2 yang diberikan pada tikus setara dengan 600 mg kafein atau 4 cups kopi per hari dan pemberian kopi dengan dosis kelompok perlakuan 3 yang diberikan pada tikus penelitian ini setara dengan konsumsi kopi dosis 800 mg kafein atau 8 cups kopi per hari pada manusia dan dinilai memiliki efek

neuroprotektif.^{14,33} Penelitian lain juga menegaskan bahwa konsumsi kopi dengan dosis 3-5 cups dapat menurunkan risiko demensia sebesar 65% sedangkan pemberian kopi dengan dosis kelompok perlakuan 1 yang diberikan pada tikus setara dengan dosis 200 mg kafein atau 2 cups kopi per hari dapat menurunkan risiko parkinson sebesar 26%.^{34,35} Sehingga dapat dibuktikan bahwa dosis pada kelompok perlakuan 2 dan 3 memiliki kandungan antioksidan yang lebih tinggi.

Kemampuan antioksidan senyawa bioaktif dalam ekstrak biji Kopi Robusta Lampung inilah yang akan mencegah terjadinya stres oksidatif yang tidak terkontrol sehingga dapat mencegah terjadinya apoptosis neuron. Kandungan senyawa aktif pada kopi didominasi senyawa polifenol yang diantaranya adalah quercetin, asam ferulat, asam klorogenat, kafein, dan trigonelin. Senyawa polifenol aktif pada kopi menghambat banyak jalur inflamasi yang menyebabkan kematian sel saraf, seperti sel B yang diaktifkan (NF- κ B), TNF- α , IFN- γ , IL-1, IL-6, IL-17A, dan IL-22.³⁶ Polifenol juga dapat meningkatkan enzim detoksifikasi radikal bebas, termasuk katalase, superoksida dismutase, dan glutathione peroksidase.^{37,38} Polifenol juga terbukti mampu memodulasi ekspresi komponen pro-apoptosis, seperti caspase, Bcl-2 dan Bax sehingga tidak terjadi kematian sel.³⁹ Serta polifenol memiliki peran baik dalam regulasi kanal ion, transduksi sinyal, dan pelepasan neurotransmitter di otak.³⁷

Selain mencegah apoptosis, mencegah inflamasi, dan meningkatkan enzim antioksidan, senyawa aktif polifenol yaitu asam ferulat dan kafein dapat melakukan pemulungan radikal bebas dengan cara mendonorkan elektron dari gugus hidroksil fenoliknya.^{13,40,41} Senyawa asam klorogenat juga berperan mengurangi influx Ca²⁺ melalui reseptor NMDA dan menurunkan ROS sehingga stress nitro-oksidatif dapat dicegah.^{13,42,43} Kafein sendiri, komponen polifenol dengan efek neuroprotektik yang lebih luas dari senyawa lainnya, memiliki perlindungan terhadap H₂O₂, stress nitro-oksidatif, eksitotoksik glutamate, apoptosis intrinsik, dan regulasi proteosom serta memiliki komponen purin yang sama dengan adenosin sehingga memungkinkan kafein untuk dapat berikatan dengan reseptor A_{2a}R dan

bersifat sebagai blokade.^{13,44} CGA dan asam caffeic juga mampu menghambat aktivitas asetilkolinesterase dan peroksidasi lipid yang diinduksi oleh berbagai pro-oksidan,⁴⁵

Simpulan

Terdapat pengaruh pemberian ekstrak biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Lampung dosis 1,5ml/200gBB/hari pada konsentrasi 0,06 g/ml dan 0,12g/ml terhadap aktivitas enzim katalase cerebellum tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Sprague-dawley yang diinduksi monosodium glutamate (MSG) 4gr/kgBB selama 14 hari.

Daftar Pustaka

1. Siagian M, Jusuf AA, Handini M. Pengaruh pajanan monosodium glutamat terhadap fungsi dan gambaran histologis ginjal tikus serta perubahannya pasca penghentian pajanan. J Indon med assoc. 2014;64:(7).
2. Kazmi Z, Fatima It, Perveen S, Malik SS. Monosodium glutamate: Review on clinical reports. INT J FOOD PROP. 2017; 20(S2):1807-15.
3. Onaolapo OJ, Onaolapo AY, Akanmuc MA, Gbola O. Evidence of alterations in brain structure and antioxidant status following 'low dose' monosodium glutamate ingestion. Pathophysiol. 2016; 23:147-56
4. Park E, Yu KH, Kim DK, Kim S, Sapkota K, Kim S-J, Kim CS, Chun HS. Protective effects of N-acetylcysteine against monosodium glutamate induced astrocytic cell death. Food Chem Toxicol. 2014; 67:1-9
5. Alalwani AD. Monosodium glutamate induced testicular lesions in rats (histological study). Middle East Fertil Soc J. 2014; 19:274-80
6. Riset Kesehatan Dasar. Riset Kesehatan Dasar Tahun 2018. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI. 2018.
7. Food and Drug Administration. Questions and answers on monosodium glutamate. US: FDA. 2012.
8. Prastiwi D, Djunaedi A, Partadiredja G. High dosage of monosodium glutamate causes deficits of the motor coordination and the number of cerebellar Purkinje cells of rats. Hum Exp Toxicol. 2015; 34 (11)

9. Eshami Ala Sh E, Sujuti H, Mintaroem K. The effect of nigella sativa extract on alpha-ketoglutarate activity and histopathologic changes on rat liver induced by monosodium glutamate. *J Trop Life Sci.* 2015; 5(3):123-27
10. Rajagopal SS, Lakshminarayanan G, Rajesh R, Dharmalingam SR, Ramamurthy S, Chidambaram K, et. al. Neuroprotective potential of *Ocimum sanctum* (Linn) leaf extract in monosodium glutamate induced excitotoxicity. *Afr J Pharm Pharmacol.* 2013; (27): 1894-1906
11. Owoeye O, Salami OA. Monosodium glutamate toxicity: sida acuta leaf extract ameliorated brain histological alterations, biochemical and haematological changes in wistar rats. *Afr. J. Biomed. Res.* 201;20 : 173- 82
12. Swibawa IG. Komunitas nematoda pada tanaman kopi (*Coffea canephora* Var. Robusta) muda di Kabupaten Tanggamus Lampung. *Agrotrop.* 2014; 4(2): 139-47
13. Taram F, Winter AN, Linseman DA. Neuroprotection comparison of chlorogenic acid and its metabolites against mechanistically distinct cell death-inducing agents in cultured cerebellar granule neurons. *Brain Res.* 2016; 1648 (Part A):69-80
14. Souza MA, Mota BC, Gerbatin RR, Rodrigues FS, Castro M, Figuera MR, Royes LFF. Antioxidant activity elicited by low dose of caffeine attenuates pentylene tetrazol induced seizures and oxidative damage in rats. *Neurochem. Int.* 2013; 62(1): 821-30.
15. Khalili M, Alavi M, Esmail-Jamaat E, Baluchnejadmojarad T, Roghani M. Trigonelline mitigates lipopolysaccharide-induced learning and memory impairment in the rat due to its anti-oxidative and anti-inflammatory effect. *International Immuno-Pharmacology.* 2018; 61:355-62
16. Hazzaa SM, Abdelaziz SAM, Eldaim MAA, Daim MMA, Elgarawany GE. Neuroprotective potential of allium sativum against monosodium glutamate-induced excitotoxicity: impact on short-term memory, gliosis, and oxidative stress. *Nutrients.* 2020; 12.
17. Hussein UK, Hassan N, Elhalwagy M, Zaki AR, Abubakr HO, Nagulapalli Venkata KC, et. al. Ginger and propolis exert neuroprotective effects against monosodium glutamate induced neurotoxicity in rats. *Molecules.* 2017; 22(11): 124
18. Masuoka N, Wakimoto M, Ubuka T, Nakano T. Spectrophotometric determination of hydrogen peroxide: catalase activity and rates of hydrogen peroxide removal by erythrocytes. *Clinica Chimica Acta.* 1996; 254: 101-12
19. Dewi IK, Wulan AJ, Ayu PR. Pengaruh pemberian ekstrak etanol kulit manggis terhadap kadar glukosa darah tikus putih yang diberi paparan gelombang elektromagnetik handphone periode kronik. *Medula.* 2017; 7 (4) : 164-70.
20. Sundaramahalingam M, Ramasundaram S, Rathinasamy SD, Natarajan RP, Somasundaram T. Role of *Acorus calamus* and alpha-asarone on hippocampal dependent memory in noise stress exposed rats. *Pak J Biol Sci.* 2013;16(16):770-8
21. Ahmad A, Rasheed N, Banu N, Palit G. Alterations in monoamine levels and oxidative systems in frontal cortex, striatum, and hippocampus of the rat brain during chronic unpredictable stress. *Stress.* 2010; 13(4):355-64.
22. Amin SN, Hassan SS, Khashaba AS, Youakim MF, Latif NSA, Rashed LA, et. al. Hippocampal and cerebellar changes in acute restraint stress and the impact of pretreatment with ceftriaxone. *Brain sci.* 2020; 10 (193): 1-22
23. Hardiany NS, Sucitra, Paramita R. Profile of malondialdehyde (MDA) and catalase specific activity in plasma of elderly woman. *HSJI.* 2019; 10 (2): 132-6
24. Aebi H. Catalase in-vitro assay methods. *Methods Enzymol.* 1984; 105: 121-6
25. Coşan DT, Saydam F, Özbayer C, Doğan F, Soyocak A, Güneş HV, et. al. Impact of tannic acid on blood pressure, oxidative stress and urinary parameters in L-NNA-induced hypertensive rats. *Cytotechnology.* 2015; 67(1):97-105.

26. Eide I, Syversen TL. Uptake of elemental mercury and activity of catalase in rat, hamster, guinea-pig, normal and acatalasemic mice. *Acta Pharmacol Toxicol (Copenh)*. 1982; 51 (4): 371-6.
27. Tirumanyam M, Nadella R, Kondammagari S, Borelli DPR, Nannepaga JS. Bacopa phospholipid complex retrieves aluminum maltolate complex induced oxidative stress and apoptotic alterations in the brain regions of albino rat. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2019; 26 (12): 12071-9.
28. Jones GL, Masters CJ. On the nature and characteristics of the multiple forms of catalase in mouse liver. *Arch. Biochem. Biophys*. 1975; 169 (1): 7-21
29. Shivasharan BD, Nagakannan P, Thippeswamy BS, Veerapur VP. Protective effect of calendula officinalis L. Flowers against monosodium glutamate induced oxidative stress and excitotoxic brain damage in rats. *Indian J Clin Biochem*. 2013; 28(3):292-8.
30. Salim S. Oxidative stress and the central nervous system. *J Pharmacol Exp Ther*. 2016; 360:201-5
31. Yoshida Y, Hayakawa M, Niki E. Evaluation of the antioxidant effects of coffee and its components using the biomarkers hydroxyoctadecadienoic acid and isoprostane. *Journal of oleo science*. 2008;57: 691-7
32. Bamia C, Baron JA, Djordjevic N, Farah A, de Mejia EG, Hollman PC, et. al. Drinking coffee, mate, and very hot beverage. IARC monograph on the evaluation of carcinogenic risk to human. *Swiss: WHO*. 2018;116.
33. Hedström AK, Mowry EM, Gianfrancesco MA, Shao X, Schaefer CA, Shen L, et. al. High consumption of coffee is associated with decreased multiple sclerosis risk; results from two independent studies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2016; 87(5):454-60.
34. Eskelinen MH, Ngandu T, Tuomilehto J, Soininen H, Kivipelto M. Midlife coffee and tea drinking and the risk of late-life dementia: A population based CAIDE study. *J Alzheim Dis*. 2009; 16:85-91
35. Qi H, Li S. Dose-response meta-analysis on coffee, tea and caffeine consumption with risk of Parkinson's disease. *Geriatr Gerontol Int*. 2014; 14(2):430-9.
36. Spencer JP, Vafeiadou K, Williams RJ, Vauzour D. Neuroinflammation: modulation by flavonoids and mechanisms of action. *Mol Aspects Med*. 2012; 33: 83-97.
37. Bhullar KS, Rupasinghe HP. Polyphenols: multipotent therapeutic agents in neurodegenerative diseases. *Oxid Med Cell Longev*. 2013.
38. Corrêa TA, Monteiro MP, Mendes TM, Oliveira DM, Rogero MM, Benites CI, et. al. Medium light and medium roast paper-filtered coffee increased antioxidant capacity in healthy volunteers: results of a randomized trial. *Plant Foods Hum Nutr*. 2012; 67(3):277-82
39. Kelsey NA, Wilkins HM, Linseman DA. Nutraceutical antioxidants as novel neuroprotective agents. *Molecules*. 2010; 15:7792-814
40. Hugel HM, Yu T, Jackson N. The effects of coffee consumption on cognition and dementia disease. *J Gerontol Geriatr Res*. 2015; 4(4): 1-6
41. Socala K, Szopa A, Serefko A, Poleszak E, Wlaz P. Neuroprotective effects of coffee bioactive compounds : A Review. *Int J Mol Sci*. 2021; 22(107): 1-64
42. Anggreani E, Lee CY. Neuroprotective effect of chlorogenic acids against alzheimer's disease. *Int J Food Sci*. 2017; 330-37.
43. Mikami Y, Yamazawa T. Chlorogenic acid, a polyphenol in coffee, protects neurons against glutamate neurotoxicity. *Life sciences*. 2015; 139: 69-74.
44. Kolahdouzan M, Hamadeh MJ. The neuroprotective effects of caffeine in neurodegenerative disease. *J CNS Neurosci Ther*. 2017; 23:272-90
45. Oboh G, Agunloye OM, Akinyemi AJ, Ademiluyi AO, Adefegha SA. 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*. 2013; 38: 413-9.