



Effect of *Coffea arabica* and *Coffea canephora* Consumption on *Mus musculus* Gaster Histopathological Description

Maria Angela Lumaksono¹, Pratiwi Dyah Kusumo¹, Fajar Lamhot Gultom^{2*}

¹Departemen Biomedik Dasar, Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Indonesia, Jl. Mayjen Sutoyo Cawang, Jakarta Timur 13630, Indonesia

²Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Indonesia, Jl. Mayjen Sutoyo Cawang, Jakarta Timur 13630, Indonesia

*Corresponding author: fajar_lamhot@yahoo.com

ABSTRACT

Green coffee bean is the bean from coffee fruit that have not undergone roasting process. The purpose of this research was to determine the gastroprotector effects of arabica green coffee bean (*Coffea arabica*) and robusta green coffee bean (*Coffea canephora*) to the histopathology (mucosal layer erosion) of mice's gastric (*Mus musculus*). This research used a laboratory experimental design with post-test control group design method. Thirty mice divided into three groups. Mice in the control group were only given standard feed and mineral water. Mice in the treatment group I was given 1,8 ml green bean *Coffea arabica* solution 5,5%. Mice in the treatment group II was given 1,8 ml green bean *Coffea canephora* solution 5,5%. Both treatments were carried out for seven days, at the same time. Mice's gastric made into histopathology slides, and then stained with Hematoxylin Eosin. Overview of the histopathology of the gastric assessed using the Wattimena scoring. The results of the assessment are tested by using the statistical test of Kruskal-Wallis, found the significance value of $>0,05$, which means there is no effect of green bean *Coffea arabica* and green bean *Coffea canephora* against the picture of the histopathological mice's gastric (*Mus musculus*), as well as no significant difference between the giving of green bean *Coffea arabica* and green bean *Coffea canephora* against the picture of the histopathological mice's gastric (*Mus musculus*).

Keywords: Green coffee bean, gastroprotective, antioxidants, Wattimena scoring

ABSTRAK

Green coffee bean adalah biji dari buah kopi yang tidak melalui proses penyangraian. Aktivitas antioksidan *green coffee bean* lebih besar daripada *roasted coffee bean*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh proteksi lambung dengan pemberian *green bean* kopi arabika (*Coffea arabica*) dan *green bean* kopi robusta (*Coffea canephora*) terhadap gambaran histopatologi (erosi lapisan mukosa) gaster mencit (*Mus musculus*). Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris dengan rancangan *post-test control group design*. Sebanyak tiga puluh mencit dibagi dalam tiga kelompok. Mencit pada kelompok kontrol hanya diberikan pakan standar dan air mineral. Mencit pada kelompok

perlakuan I diberikan 1,8 ml larutan *green bean Coffea arabica* 5,5% peroral. Mencit pada kelompok perlakuan II diberikan 1,8 ml larutan *green bean Coffea canephora* 5,5% peroral. Kedua perlakuan dilakukan selama tujuh hari, pada waktu yang sama. Gaster mencit dibuat preparat kemudian diwarnai dengan *Hematoxylin Eosin*. Gambaran histopatologi gaster dinilai menggunakan skor Wattimena. Hasil penilaian kemudian diuji dengan menggunakan uji statistik *Kruskall-Wallis*, didapatkan nilai signifikansi $>0,05$, yang berarti tidak ada pengaruh pemberian *green bean Coffea arabica* dan *green bean Coffea canephora* terhadap gambaran histopatologi gaster mencit (*Mus musculus*), serta tidak ada perbedaan signifikan antara pemberian *green bean Coffea arabica* dengan *green bean Coffea canephora* terhadap gambaran histopatologi gaster mencit (*Mus musculus*).

Kata Kunci : *Green coffee bean*, gastroprotektif, antioksidan, skor Wattimena

PENDAHULUAN

Perkembangan kedai kopi sangat pesat dalam 3 tahun belakangan ini, Tahun 2019 (>2937 kedai kopi), sedangkan pada 2016 (1083 kedai kopi) [1]. Mayoritas kopi yang dikonsumsi mengalami proses penyangraian (*roasting*) pada suhu 180° - 240° C selama 15-20 menit. Penyangraian bertujuan untuk membentuk rasa dan aroma pada kopi [2]. Biji dari buah kopi yang belum disangrai disebut *green bean*, memiliki rasa yang lebih pahit dan aroma yang tidak terlalu mencolok [3].

Terdapat banyak jenis kopi yang beredar di pasaran, tetapi secara umum yang terbesar dan sering dibudidayakan adalah kopi arabika (*Coffea arabica*) dan kopi robusta (*Coffea canephora*). Kedua jenis kopi ini berbeda dalam iklim optimal untuk tumbuh, bentuk fisik, kandungan kimia, serta rasa.

Beberapa senyawa aktif yang terkandung dalam kopi adalah polifenol (asam klorogenat), alkaloid (kafein), dan diterpenoid alkohol (kafestol kahweol) bersifat sebagai antioksidan dan antiinflamasi [4]. Kandungan antioksidan dalam kopi berfungsi sebagai gastroprotektor. Komponen bioaktif utama pada kopi yang memiliki aktivitas antioksidan adalah polifenol, terutama asam klorogenat.

Proses penyangraian biji kopi dapat mengurangi kadar polifenol. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Liang dan Kitts, yang menunjukkan bahwa 45%-54%

asam klorogenat berkurang pada penyangraian dengan suhu 230° C selama 12 menit (*light roast*), dan $>99\%$ kadar polifenol berkurang pada penyangraian dengan suhu 250° C selama 21 menit [5]. Uji DPPH yang dilakukan oleh Budryn, dkk, menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan *green coffee bean* (54,34%) lebih besar daripada *roasted coffee bean* (41,6%) [6]. Kafein dan asam kafeat dalam kopi mencegah kerusakan sel gaster akibat stres oksidatif. Beberapa faktor yang menginduksi terjadinya stres oksidatif pada gaster adalah peningkatan sekresi HCl, penggunaan berkepanjangan OAINS, dan alkohol [7].

Konsumsi kopi, khususnya kopi yang telah disangrai (*roasted coffee*), seringkali dikaitkan dengan kejadian inflamasi gaster dalam masyarakat. Hal ini didasari oleh teori kandungan kafein dalam kopi dapat merangsang sekresi gastrin, sehingga kadar HCl dalam gaster meningkat [8]. Namun, informasi mengenai pengaruh *green coffee bean* terhadap gaster masih minim, oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian *green bean* kopi arabika (*Coffea arabica*) dan *green bean* kopi robusta (*Coffea canephora*) 0.1 gram/hari selama 7 hari terhadap erosi gaster.

METODE

Desain Penelitian

Desain Penelitian eksperimental laboratoris, dengan rancangan *post-test control group design* yang dilakukan selama 20 hari (13 hari adaptasi dan 7 hari perlakuan hewan coba), di Lab. Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Indonesia. Pembuatan sediaan histopatologi dilakukan di Lab. Patologi Anatomi MRCCC Siloam Semangi. Penelitian ini lulus kaji etik berdasarkan surat no.10/Etik Penelitian/FKUKI/2020.

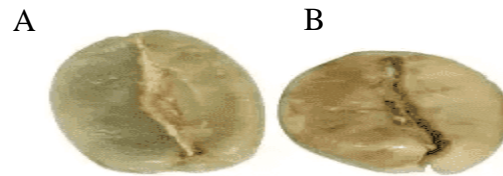
Sample penelitian

Sample penelitian adalah 30 mencit (*Mus musculus*) galur Swiss Webster jantan, berumur minimal dua minggu, yang diperoleh dari *Project New House of Mice* Jakarta, berusia minimal dua minggu, dengan rerata berat badan 22,49 gram (KP1), 23,14 gram (KP2) dan 22,43 gram (KP3) dipelihara dalam kondisi kandang dan pencahayaan yang sama, diberikan pakan standar dan minuman berupa air mineral. Besar sampel yang digunakan dalam penelitian ini ditentukan dengan rumus Federer, dimana jumlah minimal 9 mencit/perlakuan. Untuk mengantisipasi hilangnya unit eksperimen, maka dilakukan koreksi dengan menggunakan rumus $N = n / (1-f)$, dimana N merupakan besar sampel koreksi, n merupakan besar sampel awal, dan f merupakan perkiraan proporsi dropout sebesar 10%, sehingga didapatkan jumlah ekor mencit pada setiap kelompok perlakuan adalah 10 ekor. Sample *Mus Musculus* dikelompokkan secara acak dalam tiga jenis perlakuan (10 ekor mencit untuk tiap perlakuan) :

1. Kelompok Kontrol (diberikan air mineral)
2. Larutan *green bean Coffea arabica* 5,5% 1,8 ml/hari secara oral selama 7 hari.
3. Larutan *green bean Coffea canephora* 5,5% 1,8 ml/hari secara oral selama 7 hari.

Suplementasi

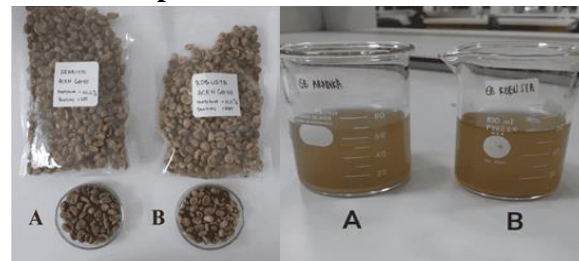
Green bean Coffea arabica adalah biji kopi arabika yang belum disangrai, *Green bean Coffea canephora* adalah biji kopi robusta yang belum disangrai. Keduanya berasal dari Gayo, Aceh, diperoleh dari PT Gerilya Adhidrawa Prakasa dan diolah kedalam bentuk larutan. Konversi perhitungan dosis suplementasi menurut Laurence & Bacharach. Suplementasi sediaan *green bean* dilakukan pada waktu yang sama setiap harinya.



Gambar 1. Green Bean Coffea
(A) *Green bean Coffea arabica*;
(B) *Green bean Coffea canephora*

Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Asteridae
Ordo	: Rubiales
Famili	: Rubiaceae
Genus	: <i>Coffea</i> (5)

Sediaan suspensi coffee



Gambar 2. Sediaan suspensi *Coffea*

- A. *Green bean Coffea arabica*
- B. *Green bean Coffea canephora*

Gambaran Histopatologis

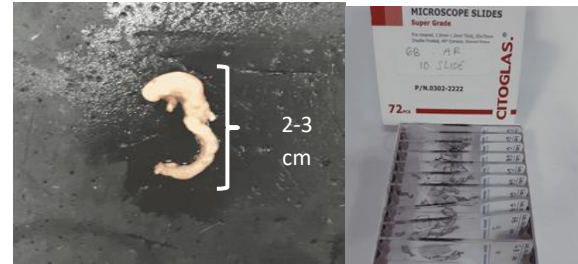
Setelah 7 hari diberikan perlakuan, mencit dikorbkan dengan cara dislokasi leher, kemudian dilakukan laparotomi untuk mengambil gaster mencit. Sediaan preparat histopatologi dilakukan dengan menggunakan metode Kiernan. Sediaan gaster difiksasi dengan

merendamnya dalam *Neutral Buffered Formalin* 10% selama 24 jam, kemudian dilakukan *trimming* pada jaringan, dan jaringan dimasukkan ke dalam *embedding cassette*. Selanjutnya, jaringan dimasukkan kedalam alkohol 70%, 80%, 90%, 96%, serta toluene I dan II, masing-masing selama 2 jam. Kemudian, jaringan dimasukkan ke dalam parafin cair bersuhu 56°C selama 2 jam, sebanyak 2 kali. Setelah itu, jaringan diblok dengan menggunakan parafin blok, dan dipotong menggunakan mikrotom dengan ketebalan 4-5µm. Jaringan dikembangkan di atas air, kemudian ditangkap dengan gelas objek, dan jaringan dikeringkan dalam suhu kamar. Preparat histopatologi kemudian diwarnai dengan menggunakan Hematoxylin Eosin, menggunakan metode Harris.

Gambaran histopatologi gaster *Mus musculus* adalah gambaran struktur jaringan gaster *Mus musculus* setelah diberikan perlakuan, yang diamati dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 200x, dan dinilai dengan menggunakan skor Wattimena. Skor Wattimena merupakan salah satu parameter untuk menilai kondisi mukosa gaster secara mikroskopis (9):

- 1 = Tidak ditemukan erosi
- 2 = Erosi hanya pada epitel permukaan
- 3 = Erosi mencapai kedalaman $\frac{1}{3}$ kelenjar gaster bagian atas
- 4 = Erosi mencapai kedalaman $\frac{1}{3}$ kelenjar gaster bagian tengah
- 5 = Erosi mencapai kedalaman $\frac{1}{3}$ kelenjar gaster bagian bawah
- 6 = Erosi mencapai kedalaman lamina muskularis Mukosa

Data yang diperoleh adalah skoring erosi gaster mencit menurut skor Wattimena, kemudian data dianalisis menggunakan uji statistik Kruskal-Wallis dengan program IBM SPSS Statistics 25



Gambar 3. Sediaan Gaster *Mus musculus*

HASIL

Hasil pengamatan gambaran mikroskopis histopatologis sediaan gaster yang telah disuplementasi 3 jenis perlakuan : Kontrol, *Green bean Coffea arabica* dan *Green bean Coffea canephora* selama 7 hari perlakuan adalah sebagai berikut :

Tabel 1. Hasil Penilaian Gambaran Histopatologi Gaster Mencit*

Kelompok	Skor Wattimena					
	1	2	3	4	5	6
KP 1	9	1	0	0	0	0
KP 2	8	2	0	0	0	0
KP 3	10	0	0	0	0	0

*jumlah mencit tiap kelompok berdasarkan skor Wattimena

Ket.

KP 1 : Kontrol

KP 2 : *Green bean Coffea arabica*

KP 3 : *Green bean Coffea canephora*

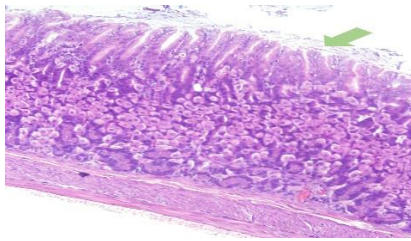
Tabel 2. Hasil Uji *Kruskal-Wallis*

	Histopatologi
Kruskal-Wallis H	2.148
df	2
Asymp. Sig.	0.342

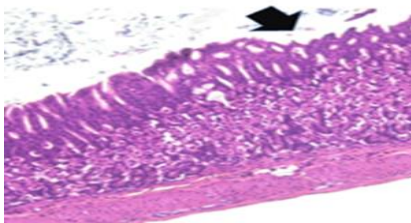
Hasil uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan bermakna antar perlakuan KP1, KP 2 dan KP 3 ($p=0.342$).

Gambaran Histopatologis
Kelompok Kontrol

A



B



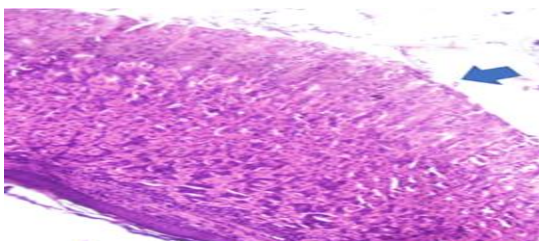
Gambar 4. Histopatologi Gaster KP 1
(Perbesaran 200x)

(A) Skor Wattimena 1. Tampak epitel utuh (panah hijau);

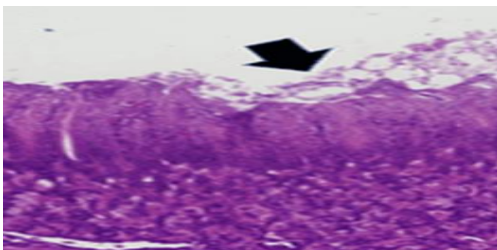
(B) Skor Wattimena 2. Tampak erosi pada epitel permukaan (panah hitam)

Kelompok 2

A



B

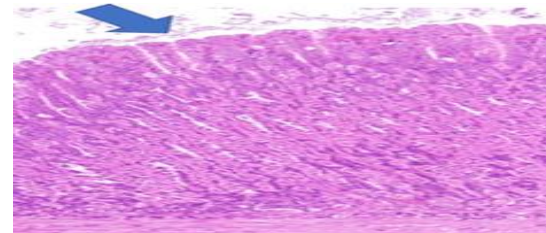


Gambar 5. Histopatologi Gaster KP 1
(Perbesaran 200x)

A) Skor Wattimena I, tampak epitel utuh (panah biru);

(B) Skor Wattimena II, tampak erosi pada epitel permukaan (panah hitam)

Kelompok 3



Gambar 6. Histopatologi Gaster KP 1
(Perbesaran 200x)

Skor Wattimena I.

Tampak epitel utuh (panah biru)

PEMBAHASAN

Dosis kopi yang digunakan pada penelitian ini merupakan dosis sedang konsumsi kopi pada manusia, yaitu 45 gram kopi yang kemudian dikonversikan menjadi dosis untuk mencit. Pada 45 gram kopi terkandung 300 mg kafein. Konsumsi kafein dosis rendah hingga sedang (50 – 300 mg/hari) dapat meningkatkan energi dan konsentrasi, tanpa menimbulkan efek samping seperti stimulasi sistem kardiovaskular dan perubahan perilaku [10].

Kondisi mukosa gaster dapat dilihat dengan pemeriksaan endoskopi dan pemeriksaan histopatologi. Skor Wattimena merupakan salah satu parameter yang dapat digunakan untuk menilai kondisi mukosa gaster secara makroskopis maupun mikroskopis [9].

Sebanyak 90% komponen polifenol pada kopi adalah asam klorogenat. Proses penyangraian dapat mengurangi kadar asam klorogenat, sehingga kandungan asam klorogenat pada *green coffee bean* lebih besar daripada *roasted coffee bean*. Semakin tinggi derajat penyangraian, maka kadar asam klorogenat akan semakin berkurang [11]. Asam klorogenat dihidrolisis dalam saluran

pencernaan menjadi asam ferulat dan kafeat [12]. Penelitian yang dilakukan oleh Shimoyama, dkk pada tahun 2012 membuktikan bahwa asam klorogenat memiliki efek gastroprotektif dengan cara meningkatkan enzim katalase, superoksida dismutase, dan glutathione peroxidase [13].

Berdasarkan pengamatan histopatologi, pada kelompok kontrol, nampak bahwa 90% lapisan mukosa gaster utuh, tanpa erosi, dan tanda-tanda radang (skor 1), 10% menunjukkan adanya erosi pada epitel permukaan (skor 2). Pada keadaan normal, mekanisme pertahanan mukosa lambung preepitel yaitu mukus, bikarbonat, dan barrier fosfolipid mampu melindungi lambung dari perusak endogen (HCl, pepsinogen, garam empedu) serta eksogen OAINS (obat anti inflamasi non steroid), alkohol, makanan tinggi lemak, makanan manis, makanan pedas [14]. Adanya mencit yang mengalami erosi pada epitel permukaan dapat disebabkan oleh pengaruh variabel luar yang tidak dapat dikendalikan, seperti stres psikologis yang dialami mencit atau kondisi awal gaster mencit yang tidak diteliti pada penelitian ini. Stres psikologis akan menyebabkan pelepasan angiotensin II. Hal ini berakibat pada penurunan aliran darah ke mukosa gaster, sehingga terjadi pembentukan *reactive oxygen species* yang diikuti dengan stres oksidatif, iskemia, dan destruksi lapisan mukosa gaster [15].

Berdasarkan pengamatan histopatologi pada kelompok perlakuan I, nampak bahwa 80% tanpa erosi (skor 1), 20% (skor 2), sedangkan pada kelompok perlakuan II, gambaran histopatologis sepuluh tikus (100%) tidak nampak erosi. Data penelitian yang telah diuji secara statistik menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan signifikan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan I dan kelompok perlakuan II, yang berarti pemberian *green bean Coffea arabica* dan *green bean Coffea canephora* tidak menyebabkan erosi sel epitel gaster, dan dapat diasumsikan bahwa *green bean*

Coffea arabica dan *green bean Coffea canephora* memberikan efek gastroprotektor, yang ditunjukkan dengan gambaran histopatologi gaster. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian meta-analisis dan cross sectional yang dilakukan oleh Shimamoto, dkk pada 8013 orang di Jepang, yang menunjukkan bahwa tidak ada hubungan antara konsumsi kopi dengan terjadinya ulkus di gaster dan duodenum, walaupun banyak teori yang mengatakan bahwa kopi merupakan salah satu faktor risiko terjadinya iritasi gaster karena kandungan kafein dalam kopi dapat menstimulasi produksi HCl. Hal ini dapat disebabkan karena efek preventif kopi, seperti kandungan antioksidan, lebih besar dari risiko peningkatan HCl [15].

Keseimbangan antara faktor agresif dan defensif sangat penting untuk mempertahankan integritas mukosa gaster. Faktor agresif merupakan faktor-faktor yang dapat merusak mukosa gaster, dapat berasal dari endogen, seperti HCl, pepsin, garam empedu, atau eksogen seperti obat-obatan, alkohol, dan bakteri. Sedangkan, faktor defensif gaster merupakan faktor-faktor yang mempertahankan integritas mukosa gaster, yaitu mukus, bikarbonat, resistensi mukosa, vaskularisasi agar pasokan oksigen dan nutrisi cukup, serta prostaglandin [14].

Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan antara gambaran histopatologi gaster kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan II. Pada kondisi lingkungan yang sama, 10% mencit pada kelompok kontrol mengalami erosi hingga permukaan epitel gaster, sedangkan, pada kelompok perlakuan II, 100% mencit memiliki epitel permukaan gaster yang utuh, tanpa erosi dan peradangan. Walaupun uji statistik menunjukkan bahwa perbedaan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan II tidak signifikan, perbedaan ini dapat disebabkan karena aktivitas antioksidan *green bean Coffea canephora* yang dapat memproteksi gaster terhadap faktor-faktor agresif gaster, sehingga

epitel permukaan gaster nampak utuh, sedangkan, pada kelompok kontrol tidak terdapat efek proteksi antioksidan terhadap faktor-faktor agresif gaster.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang antara kelompok perlakuan I dengan kelompok perlakuan II. Seluruh mencit pada kelompok perlakuan II (10 ekor) tidak menunjukkan adanya erosi, sedangkan pada kelompok perlakuan I, 2 dari 10 ekor mencit mengalami erosi sampai epitel permukaan. Hal ini dapat disebabkan karena kadar kandungan dan aktivitas antioksidan pada *green bean Coffea canephora* lebih besar daripada *green bean Coffea arabica*. Pada 100 gram *green bean Coffea arabica* terkandung asam klorogenat sebanyak 4,1 – 7,9 gram, kafein sebanyak 0,9-1,3 gram, dan diterpen sebanyak 0,5-1,2 gram. Sedangkan, pada 100 gram *green bean Coffea canephora* memiliki kandungan asam klorogenat sebanyak 6,1-11,3 gram, kafein sebanyak 1,5-2,5 gram, dan diterpen sebanyak 0,2-0,8 gram [4]. Penelitian aktivitas antioksidan melalui uji DPPH (2,2-difenil-1- pikrilhidrazil) yang dilakukan oleh Hasbulah dan Umiyati menunjukan bahwa *Coffea canephora* memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi daripada *Coffea arabica*, hal tersebut diasumsikan menjadi dasar skor Wattimena kelompok *green bean Coffea canephora* lebih baik dibandingkan *green bean Coffea arabica*, walaupun hasil uji statistik Kruskal-Wallis menunjukkan perbedaan gambaran histopatologi pada kelompok perlakuan pemberian tidak signifikan [16].

Limitasi dari penelitian ini adalah perlakuan yang terbatas pada suplementasi *green bean coffee*, dan tidak dilakukan perbandingan terhadap *roasted coffee*. Penelitian ini berfokus pada efek pemberian *green bean coffee*, karena kandungan asam klorogenat yang lebih tinggi daripada *roasted coffee*. Limitasi penelitian yang dibatasi pada analisis histopatologi gaster, akan dilanjutkan dengan pengukuran parameter stress oksidatif dan variasi suplementasi *green bean*

coffea canephora dan *green bean Coffea arabica*.

KESIMPULAN

Pemberian *green bean Coffea Arabica* dan *green bean Coffea canephora* 0.1 gram/hari selama 7 hari tidak memberikan efek erosi pada permukaan mukosa gaster *Mus musculus*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Laboratorium Patologi Anatomi MRCCC Siloam Semanggi, Laboratorium penelitian FK UKI, dan PT Gerilya Adhidrawa Prakasa.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Toffin. 2020 Brewing in Indonesia : Insight for Successful Coffee Shop Business. Jakarta : Toffin. 2019:6-21.
- [2] Nugroho J, Lumbanbatu L, Rahayoe S. Pengaruh Suhu dan Lama Penyangraian terhadap Sidat Fisik-Mekanis Biji Kopi Robusta. Dipresentasikan dalam : Seminar Nasional dan Gelar Teknologi PERTETA; 8-9 Agustus 2018; Mataram, Indonesia: A217-24
- [3] Natania O, Musyabiq S, Kedokteran F, Lampung U, Ilmu B, Komunitas K, et al. Efektivitas Asam Klorogenik dalam Ekstrak Kopi Hijau untuk Penurunan Berat Badan Pasien *Majority*. 2017;7(1):94–9.
- [4] Farhaty N, Muchtaridi. Tinjauan Kimia dan Aspek Farmakologi Senyawa Asam Klorogenat pada Biji Kopi : Review. *Farmaka*. 2016; 14 n (1): 215.
- [5] Liang N, Kitts DD. Antioxidant Property of Coffee Components: Assessment of Methods that Define Mechanisms of Action. *Molecules*. 2014; 19(11): 19180-208.
- [6] Budryn G, Zakłós-Szyda M, Zaczyńska D, Żyżelewicz D, Grzelczyk J, Zduńczyk Z, et al. Green and roasted coffee extracts as antioxidants in β TC3 cells with induced

- oxidative stress and lipid accumulation inhibitors in 3T3L1 cells, and their bioactivity in rats fed high fat diet. *Eur Food Res Technol.* 2017;243(8):1323–34.
- [7] Kuswandi MR, Lintong PM, Loho LL. Gambaran Histopatologi Lambung Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang diberi Minuman Kopi (*Coffea Arabica* L). *Jurnal e-Biomedik.* Januari-Juni 2017; 5(1).
- [8] Opitz SEW, Goodman BA, Keller M, Smrke S, Wellinger M, Yeretian C. Understanding the Effects of Roasting on Antioxidant Components of Coffee Brews by Coupling On-line ABTS Assay to High Performance Size Exclusion Chromatography. *Phytochemical Analysis.* 2017; 28: 113.
- [9] Wattimena JR. L-Hypoproteinemie Experimentale Chez Le Rat. Exploitation Pharmacocinetique Du Methode. These Doct'eur D'Etat Es Sciences Pharmaceutiques. Faculte De Pharmacie. Universitas Montpellier. 1982.
- [10] Eskelinen MH, Kivipelto M. Caffeine as a Protective Factor in Dementia and Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease.* 2010; 20 Suppl 1: S167-74.
- [11] Yashin A, Yashin Y, Wang JY, Nemzer B. Antioxidant and Antiradical Activity of Coffee. *Antioxidant (Basel).* 2013;230–45.
- [12] Kempf K, Herder C, Erlund I, Kolb H, Martin S, Carstensen M, et al. Effects of coffee consumption on subclinical inflammation and other risk factors for type 2 diabetes : a clinical trial 1 – 3. *The American Journal of Clinical Nutrition* 2010;(2):950–7.
- [13] Shimoyama AT, Santin JR, Machado ID, Mara A, Oliveira D. Antiulcerogenic activity of chlorogenic acid in different models of gastric ulcer. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2013;5–14.
- [14] Sherwood L. Fisiologi Manusia dari Sel ke Sistem. Ed. 8. Jakarta : EGC. 2014: 633-43.
- [15] Shimamoto T, Yamamichi N, Kodashima S, Takahashi Y, Fujishiro M. No Association of Coffee Consumption with Gastric Ulcer , Duodenal Ulcer , Reflux Esophagitis , and Non- Erosive Reflux Disease : A Cross-Sectional Study of 8 , 013 Healthy Subjects in Japan. *PLoS ONE* 2013;8(6):1–9.
- [16] Hafidz U, Umiyati R. Antioxidant Activity and Total Phenolic Compounds of Arabica and Robusta Coffee at Different Roasting Levels Antioxidant Activity and Total Phenolic Compounds of Arabica and Robusta Coffee at Different Roasting Levels. *Journal of Physics.* 2021; ; 1764: 1-3.