

Gambaran Nekrosis Hepar Mencit yang Diinduksi Monosodium Glutamat dan Ekstrak Methanol Biji Kopi Robusta (*Coffea Canephora*)

Necrosis Description of Mice Liver Induced with Monosodium Glutamate and Methanol Robusta Coffee Bean Extract (Coffea canephora)

Tisya Yumn Al-Zuhroh^{1*}, Kuncoro Puguh Santoso², Maya Nurwartanti Yunita³, Nove Hidajati², Ratih Novita Praja⁴

¹Bachelor of Veterinary Medicine, ²Department of Basic Veterinary Medicine, ³Department of Pathology, ⁴Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Universitas Airlangga.

*Corresponding author: tisya.yumn.alzuhroh-2016@fkh.unair.ac.id

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh ekstrak methanol biji kopi robusta (*Coffea canephora*) terhadap gambaran histopatologis hepar mencit yang diinduksi dengan monosodium glutamate (MSG). Penelitian ini menggunakan 20 mencit jantan untuk 5 kelompok perlakuan: K + (MSG 0,12 mg dan Vitamin C 6 mg), K- (MSG 0,12 mg dan CMC Na 0,1 ml), P1 (MSG 0,12 mg) dan RCE 0,1 mg), P2 (MSG 0,12 mg dan RCE 0,2 mg), dan P3 (MSG 0,12 mg dan RCE 0,4 mg) secara oral selama 42 hari. Skor histopatologi hepar dianalisis dengan uji *Kruskal Wallis*. Hasil uji *Kruskal Wallis* diperoleh $p=0,391$ yang menunjukkan bahwa data tidak signifikan ($p>0,05$). Kelompok kontrol dan kelompok perlakuan tidak ada yang signifikan. Kesimpulannya adalah pemberian ekstrak methanol biji kopi robusta tidak menunjukkan penurunan kerusakan hepatosit yang berbeda dari kelompok perlakuan kontrol negatif.

Kata kunci: mencit, *monosodium glutamate*, hepar, *Coffea canephora*

Abstract

This study aimed to analyze the effect of methanol robusta coffee bean extract (*Coffea canephora*) on liver histopathological description in mice induced with monosodium glutamate (MSG). This study was used 20 male mice for 5 treatment groups: K + (MSG 0.12 mg and Vitamin C 6 mg), K- (MSG 0.12 mg and CMC Na 0.1 ml), P1 (MSG 0.12 mg and RCE 0.1 mg), P2 (MSG 0.12 mg and RCE 0.2 mg), and P3 (MSG 0.12 mg and RCE 0.4 mg) per orally for 42 days. Liver histological scores were analyzed using *Kruskal Wallis* test. The results of *Kruskal Wallis* test scored $p=0,391$ which indicates that the data is not significant ($p>0.05$). In the control and treatment groups there were no significant. In conclusion, the giving methanol robusta coffee bean extract did not show a decrease in hepatocyte damage that was different from the negative control treatment group.

Keywords: *Mus musculus*, *monosodium glutamate*, liver, *Coffea canephora*

Received: 9 Juli 2020

Revised: 14 Agustus 2020

Accepted: 12 Oktober 2020

PENDAHULUAN

Pengaruh monosodium glutamate (MSG) banyak berkaitan dengan gangguan organ di antaranya yaitu hepar, ginjal, reproduksi, jantung, plasenta, kerusakan saraf pada otak, obesitas, gangguan endokrin, *chinese syndrome* (Agarwal *et al.*, 2014; Sharma, 2015). Berdasarkan laporan *Federation of American Societies for Experimental Biology* (FASEB)

1995, menyebutkan bahwa secara umum MSG aman dikonsumsi, namun terdapat dua kelompok yang menunjukkan reaksi akibat konsumsi MSG ini. Kelompok pertama yaitu orang yang sensitif terhadap MSG dengan munculnya keluhan berupa rasa panas dan kaku otot di wajah, leher, lengan dan dada, menyebar sampai ke punggung, diikuti nyeri dada, sakit kepala, mual, berdebar-debar, dan kadang sampai muntah. Gejala ini disebut sebagai *MSG Complex Syndrome*. Hasil

presentase kelompok sensitif ini sekitar 25% dari populasi. Kelompok kedua yaitu penderita asma dengan keluhan meningkatnya serangan setelah mengonsumsi MSG. Dua kelompok ini muncul keluhan setelah konsumsi sekitar 0,5-2,5 gram MSG (Ardyanto, 2004).

Konsumsi MSG dalam waktu lama dapat menyebabkan ketidakseimbangan antara antioksidan dan *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang menyebabkan stres oksidatif (Sharma, 2015). MSG dapat menyebabkan efek yang buruk terhadap berbagai organ dalam tubuh, salah satunya yaitu hepar (Ganesan *et al.*, 2013). Hepar mempunyai reseptor terhadap glutamat, sehingga hepar memiliki batas kesanggupan untuk metabolisme asam glutamat dan rentan mengalami kerusakan akibat stres oksidatif dari konsumsi MSG yang berlebihan (Pieper *et al.*, 2011; Eweka dan Om'iniabosh, 2007). Jenis kerusakan yang ditimbulkan akibat pemberian MSG pada hepar mencit adalah degenerasi dan nekrosis (Utomo *et al.*, 2012).

Mekanisme toksisitas MSG yaitu dengan menyebabkan stres oksidatif yang kemudian menimbulkan ROS (Onyema *et al.*, 2006). Antioksidan sangat diperlukan untuk meminimalkan efek dari ROS tersebut. Pada mamalia telah dikembangkan adanya sistem antioksidan kompleks yang berfungsi dalam menghilangkan stres oksidatif. Mekanismenya yaitu dengan cara antioksidan tersebut menangkap radikal bebas yang ada (Li *et al.*, 2015).

Kopi memiliki banyak kandungan yang berguna bagi tubuh, salah satunya adalah asam klorogenat yang berfungsi sebagai hepatoprotektor, antioksidan, antivirus, dan berperan dalam kegiatan antispasmodik (Farah, 2012). Asam klorogenat memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan dengan kafein, dikarenakan asam klorogenat memiliki banyak gugus hidroksil yang mempengaruhi aktivitas antioksidan yaitu memberikan efek dalam menurunkan ROS dengan cara menghambat aktivitas enzim *xanthine oxydase* dalam mengoksidasi xantin (Sukohar *et al.*, 2011; Dewajanti, 2019).

Berdasarkan potensi hepar yang sangat rentan terhadap berbagai penyakit termasuk zat kimia yang masuk dalam tubuh dan memiliki fungsi detoksifikasi, maka peneliti ingin mengetahui pengaruh pemberian ekstrak methanol biji kopi robusta terhadap gambaran histopatologi hepar mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi MSG.

METODE PENELITIAN

Pada surat keterangan kelaikan etik No. 1.KE.073.08.2020, persiapan hewan coba dimulai dengan persiapan alat dan bahan penelitian yang akan digunakan. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak biji kopi robusta (RCE). Biji kopi robusta, dikeringkan di bawah sinar matahari selama \pm 24 jam, kemudian dibuat serbuk. Serbuk biji kopi robusta ditimbang sebanyak 1000 gram, kemudian direndam menggunakan methanol 95% dengan perbandingan 1:2 selama 4x24 jam. Hasil maserasi dilakukan soxhletasi, kemudian diuapkan dengan rotary evaporator hingga mendapatkan ekstrak biji kopi robusta kental.

Rancangan penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang menggunakan sampel mencit jantan dewasa *strain Balb C* sebanyak 20 ekor yang dibagi menjadi lima kelompok perlakuan yaitu kelompok kontrol positif (K+) diberi perlakuan dengan MSG dosis 0,12 mg dan Vitamin C dosis 6 mg, kontrol negatif (K-) diberi perlakuan dengan MSG dosis 0,12 mg, P1 (MSG dosis 0,12 mg dan ekstrak biji kopi robusta 0,1 mg), P2 (MSG dosis 0,12 mg dan ekstrak biji kopi robusta 0,2 mg), dan P3 (MSG dosis 0,12 mg dan ekstrak biji kopi robusta 0,4 mg). Mencit diseleksi berdasarkan kriteria inklusi, kemudian mencit diadaptasi dengan lingkungan penelitian selama 7 hari. Perlakuan dimulai pada hari ke 8 yang dilakukan selama 42 hari, pada hari ke 43 mencit di *euthanasia* dengan cara *cervical dislocation* dengan didahului anastesi, dibedah, kemudian organ heparnya diambil.

Organ hepar difiksasi dalam larutan *Buffer Neutral Formaline* 10% untuk pembuatan preparat histopatologi dengan pewarnaan *Hematoxyline-Eosin* (HE), kemudian dilakukan pengamatan preparat histopatologi pada 5 lapang pandang tiap organ hepar. Skoring tingkat kerusakan hepatosit menggunakan metode skoring menurut Utomo *et al.* (2012), Skor 0 yaitu tidak terjadi kerusakan hepatosit, skor 1 yaitu kerusakan hepatosit mencapai 0,1-5%, skor 2 yaitu kerusakan hepatosit mencapai 6-25%, skor 3 yaitu kerusakan hepatosit mencapai 26-50%, skor 4 yaitu kerusakan hepatosit lebih dari 50%.

Skor histopatologi hepar dianalisis homogenitas dengan uji *Saphiro-Wilk* dan *Levene*, kemudian dilanjutkan dengan uji *Kruskal Wallis* dengan signifikansi ($p < 0,05$).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemeriksaan histopatologi dari setiap pengulangan dalam setiap kelompok dinilai skornya dengan mikroskop *trinocular* dengan perbesaran 400 kali seperti pada Gambar 1. Hasil uji non parametrik *Kruskal Wallis* skor kerusakan hepatosit mencit adalah 0,391 ($p > 0,05$) yang menunjukkan bahwa data tidak signifikan, sehingga data tidak dapat dilanjut dengan uji lanjut *Mann Withney*. Data skor kemudian dilanjutkan dengan menghitung rata-rata dan standard deviasi seperti pada Tabel 1.

Berdasarkan hasil pengamatan secara mikroskopis diperoleh tidak adanya perbedaan yang nyata pada kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol. Kerusakan struktur hepatosit ditandai dengan adanya perubahan degeneratif yang terdiri dari degenerasi hidropik, degenerasi lipid, dan nekrosis. Degenerasi hidropik merupakan tingkat kerusakan hepatosit yang ditandai dengan sitoplasma mengalami vakuolisasi, vakuola-vakuola Nampak jernih dan terjadi peningkatan pemasukan air ke dalam sel, kemudian memasuki vakuola-vakuola tersebut. Degenerasi lipid merupakan tingkat kerusakan hepatosit yang ditandai dengan di dalam sitoplasma hepatosit terbentuk satu vakuola besar yang berisi lemak, sehingga nukleus

terdesak ke tepi sel. Nekrosis merupakan tingkat kerusakan hepatosit yang ditandai dengan nukleus mengkerut (piknotis), nukleus pecah menjadi fragmen-fragmen (karyoreksis), nukleus lisis (karyolisis), membran sel mengalami lisis sehingga batas antar sel tidak nampak jelas (Hastuti, 2006).

Kelompok kontrol negatif (K-) pada Tabel 1 menunjukkan kerusakan hepatosit dengan rata-rata hasil skoring yaitu 2.20 dan secara pengamatan histologis didapatkan adanya nekrosis yang berupa karyolisis dan piknotis dengan sedikit karyoreksis, selain itu juga ditemukan adanya degenerasi hidropik, namun tidak ditemukan adanya degenerasi lipid. Kelompok perlakuan 1 (P1) terdapat kerusakan hepatosit dengan rata-rata hasil skoring yaitu 2.25 dan secara pengamatan histologis didapatkan adanya nekrosis yang berupa karyolisis dan piknotis, namun tidak ditemukan adanya karyoreksis, selain itu juga ditemukan adanya degenerasi hidropik, namun tidak ditemukan adanya degenerasi lipid. Data hasil statistik yang menyebutkan bahwa kelompok kontrol positif (K+) dan perlakuan 1 (P1) tidak terjadi perubahan histologis yang signifikan atau dalam kategori kerusakan ringan ke sedang.

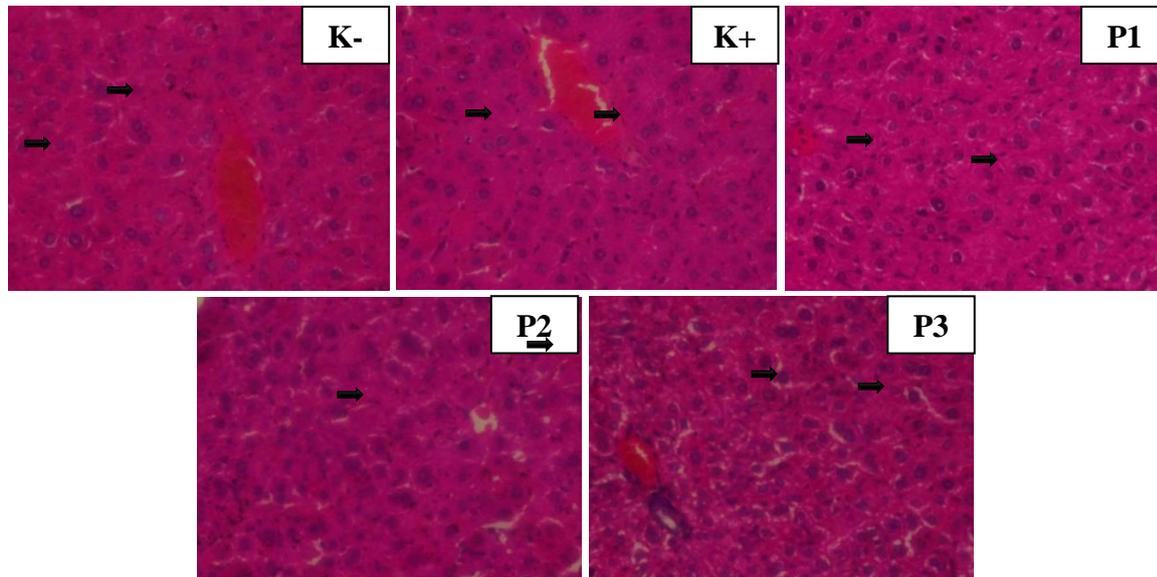
Hasil pengamatan secara mikroskopis pada kelompok perlakuan kontrol positif (K+), perlakuan 2 (P2), dan perlakuan 3 (P3) juga tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan dan termasuk dalam kategori kerusakan ringan ke sedang. Data di atas menunjukkan bahwa pemberian MSG dosis 0,12 mg dapat menimbulkan kerusakan hepatosit pada prosentase kerusakan 6-25%. Pemberian ekstrak methanol biji kopi robusta dari kelompok P1, P2, P3 terlihat adanya penurunan kerusakan hepatosit yang tidak signifikan secara statistik.

Li (2007) menyebutkan bahwa kerusakan hepatosit dapat terjadi karena MSG memicu efek parasimpatik dan menghasilkan asetilkolin dalam darah, sehingga kolinesterase meningkat dalam plasma dan merusak jaringan hepar. Akumulasi MSG dalam hepar akibat konsumsi MSG yang berlebihan, juga dapat menyebabkan kerusakan hepatosit akibat efek radikal bebas yang ditimbulkan oleh MSG tersebut.

Tabel 1. Rata-rata dan simpangan baku skor kerusakan hepatosit mencit pada setiap perlakuan

Perlakuan	$\bar{x} \pm SD$
K- (MSG + CMC Na 1%)	2,20 ^a ± 0,231
K+ (MSG + Vitamin C)	2,00 ^a ± 0,000
P1 (MSG + RCE 0,1 mg)	2,25 ^a ± 0,300
P2 (MSG + RCE 0,2 mg)	2,05 ^a ± 0,342
P3 (MSG + RCE 0,4 mg)	2,00 ^a ± 0,000

^a superskrip yang sama dalam kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ($p > 0,05$).



Gambar 1. Gambaran histopatologi hepar mencit yang telah diberi perlakuan (perbesaran 400x; pewarnaan HE) yang ditunjukkan oleh sel nekrosis yang ditandai dengan inti sel yang mengalami piknotis dan karyolisis (→) (kelompok perlakuan K-, K+, P1, P2, dan P3 pada gambar memiliki skor kerusakan hepatosit yang sama yaitu skor 2; kerusakan hepatosit mencapai 6-25%).

Berdasarkan hasil yang didapat, pada kelompok K- yang hanya diberi MSG menunjukkan terjadinya kerusakan sel. Rata-rata skor kerusakannya yaitu 2.20, hal ini sejalan dengan penelitian Arania dan Sariningsih (2014), Legoh *et al.* (2017), dan Baskara *et al.* (2019) mengenai efek pemberian MSG terhadap kerusakan hepatosit yang dapat terjadi sebagai dampak radikal bebas. Senyawa radikal bebas dalam tubuh dapat merusak asam lemak tak jenuh ganda pada membran sel, sehingga dinding sel rapuh, menyebabkan struktur membran sel rusak, kemudian radikal bebas masuk ke sitoplasma hingga menyerang inti sel. Rusaknya membran hepatosit mengakibatkan cairan ekstrasel masuk dalam sel, sehingga terjadi degenerasi parenkimatososa, degenerasi hidropik, dan nekrosis (Winarsi, 2007).

Nursheha dan Febrianti (2015) menyebutkan bahwa upaya dalam menangkal radikal bebas diperlukan suatu substansi yaitu antioksidan yang dapat melindungi tubuh dari serangan radikal bebas serta meredam dampak negatifnya. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya pada radikal bebas sehingga aktivitas radikal bebas yang reaktif dapat dihambat. Penggolongan antioksidan ada 3 macam, yaitu antioksidan primer, antioksidan sekunder, dan antioksidan tersier (Kumalaningsih, 2007). Antioksidan yang digunakan pada penelitian ini yaitu antioksidan sekunder (non-enzimatis) yang berupa Vitamin C dan ekstrak methanol biji kopi robusta.

Kelompok perlakuan yang diberikan Vitamin C (K+) setelah diinduksi MSG, diperoleh data bahwa kerusakan hepatosit menurun dengan rata-rata skor kerusakannya

yaitu 2.00, dibandingkan dengan perlakuan yang hanya diberikan MSG dan CMC Na (K-) dengan rata-rata skor kerusakannya yaitu 2.20, hal ini sejalan dengan penelitian Maulida *et al.* (2013) mengenai pemberian Vitamin C dosis 0,26 mg/g BB setelah diinduksi MSG dosis 4 mg/g BB dibandingkan dengan yang hanya diinduksi MSG dengan dosis yang sama, menunjukkan penurunan kerusakan hepatosit namun secara statistik tidak signifikan. Vitamin C merupakan salah satu sumber antioksidan yang mendonorkan satu elektronnya pada radikal bebas, sehingga struktur membran sel tetap terjaga. Vitamin C sudah tidak mampu melawan radikal bebas karena semakin banyak elektron yang didonorkan untuk meredam radikal bebas, sehingga absorbansi yang diberikan pun semakin menurun, hal ini menyebabkan struktur membran sel tidak dapat terjaga, maka akan terjadi kerusakan sel seperti yang terjadi pada kelompok perlakuan K+ (Nursheha dan Febrianti, 2015).

Kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak methanol biji kopi robusta (P1, P2, P3) setelah diinduksi MSG diperoleh data bahwa kerusakan hepatosit tidak menunjukkan penurunan kerusakan hepatosit yang berbeda dengan kelompok perlakuan kontrol yang hanya diberi MSG dan CMC Na ataupun MSG dan Vitamin C. Data statistik kelompok kontrol dengan perlakuan yang tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan.

Faktor kemungkinan yang dapat menyebabkan tidak adanya perbedaan yang nyata antara kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan yaitu densitas dari waktu perlakuan yang kurang lama, respon biologis dari tiap mencit yang berbeda, cuaca dan lingkungan, serta adanya regenerasi hepatosit yang sangat baik, sehingga dapat mengimbangi kerusakan sel yang terjadi akibat pembentukan oksidan (Galila *et al.*, 2012; Fitria *et al.*, 2014). Sejalan dengan penelitian Wahyudi *et al.* (2018) yang menunjukkan terjadinya pola penurunan kadar SGOT dan SGPT yang secara statistik penurunan tersebut tidak berbeda nyata.

Fajariyah *et al.*, (2010) menyebutkan bahwa gangguan metabolisme pada hepatosit yang

disebabkan oleh adanya zat toksik yang menyebabkan terjadinya kerusakan morfologik ataupun fungsional akan dapat teratasi dengan adanya regenerasi hepatosit. Daya regenerasi hepatosit yang cepat dan adanya proliferasi hepatosit dapat ditandai dengan mitosis dan adanya sel binukleat (Herrington, 2014). Fase mitosis biasanya selesai dalam 3 hari, sedangkan tahap akhir mitosis terjadi pada 6-8 jam setelah sintesis DNA (Michalopoulos, 2007).

Sintesis DNA pada saat proses regenerasi hepatosit sudah dimulai 12 jam ketika memasuki fase S dalam siklus sel dan berada pada puncaknya setelah 24 jam. Hepatosit pada kelompok kontrol negatif ini telah mengalami regenerasi pada saat diinduksi oleh pelarut CMC Na 1%, sesuai dengan penelitian Putri *et al.* (2019) yang menyatakan pada kelompok kontrol yang diinduksi parasetamol dan CMC 0,5% selama 7 hari, mengalami peningkatan rata-rata hepatosit normal sebanyak 0,95% dan penurunan degenerasi sebanyak 1,69%.

Anindyaputri (2017) menyebutkan bahwa proses regenerasi dapat terjadi pada hepatosit. Cara kerja hepatosit mirip dengan sel induk (sel *punca*), artinya hepatosit dapat menggandakan diri, kemudian sel lainnya juga akan mengikuti dan memecah menjadi beragam sel yang berbeda. Sel-sel baru yang terbentuk akan membentuk struktur baru menyerupai lobules hepar baru. Kemampuan ini hanya dapat dilakukan oleh hepatosit jika kerusakan yang terjadi merupakan kerusakan ringan.

Kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak methanol biji kopi robusta dosis 0,4 mg (P3) setelah diinduksi MSG, diperoleh data yang menunjukkan bahwa kerusakan hepatosit terendah dibandingkan dengan dosis 0,1 mg dan 0,2 mg, namun secara statistik perbedaan tersebut tidak signifikan. Faktor kemungkinannya yaitu disebabkan oleh dosis ekstrak methanol biji kopi robusta yang diberikan terlalu rendah dan belum efektif dalam memperbaiki hepatosit. Menurut Shimoda *et al.* (2006) dan Choi *et al.* (2016) penelitian mengenai dosis ekstrak kopi robusta yang dapat menurunkan trigliserida hepar mencit yaitu 100 dan 200 mg/kg BB dan 200 mg/kg BB.

Pada dosis tersebut, kafein pada ekstrak kopi robusta ditemukan sebagai penyerapan lemak, sedangkan asam klorogenatnya ditemukan terlibat dalam efek supresi dari ekstrak kopi robusta yang menghasilkan kadar trigliserida hepar. Senyawa fenolik lain seperti neoklorogenik dan asam feruloquinic dapat meningkatkan aktivitas CPT. CPT merupakan enzim yang memiliki kecepatan terbatas dalam mengkatalis transportasi asam lemak ke mitokondria dalam proses β -*oxydase*. Sehingga ekstrak kopi robusta efektif terhadap penambahan berat badan dan akumulasi lemak dengan menghambat penyerapan lemak dan aktivasi metabolisme lemak di hepar (Shimoda et al., 2006).

Asam klorogenat di dalam kopi memiliki aktivitas antiosidan yang mampu melindungi lipid, protein, dan DNA, menghambat terjadinya stres oksidatif dengan cara menekan pembentukan ROS di dalam sel melalui mekanisme *optimal oxygen scavenging* dan *chain breaking activities* dalam membantu proses penanggulangan radikal bebas. Asam klorogenat menyumbangkan atom hidrogen untuk menghambat reaksi oksidasi (Martini et al.; Liang et al., 2016).

Faktor genetik, fisiologis, dan lingkungan pada saat pemrosesan biji kopi dapat mempengaruhi komposisi kimia kandungannya. Aktivitas antioksidan akan meningkat apabila biji kopi melalui tahap *roasting* selama 10 menit (*medium roasted coffee*), karena akan memproduksi kopi dengan *optimal oxygen scavenging* dan *chain breaking activities*. Hasil studi dari 6 negara mengenai efek kopi robusta dan arabika menunjukkan bahwa efek protektif lebih banyak pada kopi *roasted* daripada kopi hijau. *Roasting* pada biji kopi akan terbentuk melanoidin yang merupakan polimer berwarna coklat, yang terbentuk melalui reaksi *maillard* (Martini et al., 2016; Rostagno et al., 2015). Faktor kemungkinan yang terjadi yaitu ekstrak methanol biji kopi robusta pada penelitian ini memiliki efek protektif yang lebih rendah, karena ekstrak diperoleh dari biji kopi robusta yang tidak melalui tahap *roasting*.

Setyono et al. (2014) menyebutkan bahwa sediaan ekstrak biji kopi robusta dengan pelarut etanol memungkinkan proses absorpsi dilakukan secara efisien dan cepat, sehingga efek yang ditimbulkan lebih optimal. Peneliti menggunakan methanol sebagai pelarut ekstraknya. Perbedaan pelarut ini juga memungkinkan bahwa kadar senyawa yang tertarik ke dalam ekstrak juga akan berbeda.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa, pemberian ekstrak methanol biji kopi robusta terhadap gambaran histopatologi hepar mencit yang diinduksi MSG tidak menunjukkan penurunan kerusakan hepatosit.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Perkebunan Bayu Kidul Songgon Banyuwangi atas perijinan penggunaan hasil biji kopi robusta untuk bahan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Agarwal, A., Virk, G., Ong, C., & du Plessis, S. S. (2014). Effect of Oxidative Stress on Male Reproduction. Tygerberg. *World J Mens Health*, 32(1), 1-17.
- Anindyaputri, I. (2017). Hepar Manusia: Regenerasi Sel. Jakarta. Hello Sehat Media Informasi Kesehatan.
- Arania, R. & Sariningsih. (2014). Pengaruh Pemberian Vitamin C Terhadap Gambaran Histopatologi Hepar Mencit Jantan Dewasa (*Mus musculus L*) yang Diinduksi Monosodium Glutamate. Fakultas Kedokteran Universitas Malahayati. *Jurnal Ilmu Kedokteran Dan Kesehatan*, 1(1).
- Ardyanto, T. D. (2004). MSG dan Kesehatan: Sejarah, Efek dan Kontroversinya.

- Universitas Sebelas Maret; Surakarta. *Inovasi*, 1(16), 52-6.
- Choi, B. K., Park, S. B., Lee, D. R., Lee, H. J., Jin, Y. Y., Yang, S. H., & Suh, J. W. (2016). Green Coffee Bean Extract Improves Obesity by Decreasing Body Fat in High Fat Diet Induced Obese Mice. South Korea. *Asian Pac J Trop Med*, 9(7), 635-643.
- Dewajanti, A. M. (2019). Peranan Asam Klorogenat Tanaman Kopi Terhadap Penurunan Kadar Asam Urat dan Beban Oksidatif. Departemen Biokimia Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Kristen Krida Wacana. *Jurnal Kedokteran Meditek*, 25(1), 46-51.
- Eweka, A. O., & Om'Iniabo, F. A. E. (2007). Histological Studies of The Effects of Monosodium Glutamate on The Liver of Adult Wistar Rats. Benin City (Nigeria). *J Gastroenterol Hepatol*, 6(2).
- Fajariyah, S., Utami, E. T., & Arisandi, Y. (2010). Efek Pemberian Estrogen Sintetis (Diethylstilbestrol) Terhadap Struktur Hepar dan Kadar SGOT dan SGPT pada Mencit (*Mus musculus*) Betina Strain Balb C. Jurusan Biologi FMIPA Universitas Jember. *Ilmu Dasar*, 11(1), 76-82.
- Farah, A. (2012). Coffee: Emerging Health Effects and Disease Prevention, First Edition. John Wiley dan Sons, Inc and Institute of Food Technologists (USA): Wiley-Blackwell Publishing Ltd, 352.
- Fitria, L. & Sarto, M. (2014). Profil Hematologi Tikus (*Rattus norvegicus Berkenhout, 1769*) Galur Wistar jantan dan Betina Umur 4, 6, dan 8 Minggu. *Biogenesis*, 2(2).
- Ganesan, K., K. Sukalingam, K. Balamurali, S. R., Alaudeen, B. S., Ponnusamy, K., & Ariffin, I. A. (2013). A Studies on Monosodium L-Glutamate Toxicity in Animal Models a Review. *IJPCBS*, 3(4), 1257-68.
- Hastuti, U. S. (2006). Pengaruh Berbagai Dosis Citrinin Terhadap Kerusakan Struktur Hepatosit Mencit (*Mus musculus*) Pada Tiga Zona Lobulus Hepar. Malang. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 22(3).
- Herrington, C. S. (2014). Muir's Textbook of Pathology. Boca Raton: CRC Press.
- Kumalaningsih, S. (2007). Antioksidan dan Manfaatnya. Surabaya: Trubus Agrisarana.
- Legoh, C., Keseke, M. M., & Pasiak, T. F. (2017). Gambaran Histologik Hati Tikus Wistar yang Diberi Jus Tomat Setelah Diinduksi Monosodium Glutamat. Manado. *Jurnal e-Biomedik*, 5(1).
- Li Y, Shi, H. E. (2007). New Developments and Novel Therapeutic Perspectives for Vitamin C. *J Nutr*, 137(10), 2171-2184.
- Li, S., Tan, H. Y., Wang, N., Zhang, Z. J., Lao, L., Wong, C. W., & Feng, Y. (2015). The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Liver Diseases. Hongkong. *International Journal of Molecular Science*. 26087-124.
- Liang, N. & Kitts, D. D. (2014). Antioxidant property of Coffee Components: Assesment of Methods that Define Mechanisms of Action. *Molecules*, 19(11), 19180-19208.
- Martini, D., Bo', C. D., Tassotti, M., Riso, P., Rio, D. D., Brighenti, F., & Porrini, M. (2016). Coffee Consumption and Oxidative Stress: a Review of Human Intervention Studies. Italy. *Molecules*, 21(8), 979.
- Michalopoulos, G. K. (2007). Liver Regeneration. *J Cell Physiol*, 210(2), 286-300.
- Nursheha, A. & Febrianti, N. (2015). Pengaruh Ekstrak Daun Cincau (*Cyclea barbata*

- miers*) Terhadap Gambaran Histopatologik Hepar Mencit (*Mus musculus*) Yang Diinduksi MSG Sebagai Sumber Belajar Biologi SMA Kelas XI. Yogyakarta. *Jupemasi Pbio*, 1(2), 198-203.
- Onyema, O. O., Farombi, E. O., Emerole, G. O., Ukoha, A. I., & Onyeze, G. O. (2006). Effect of Vitamin E on Monosodium Glutamate Induced Hepatotoxicity and Oxidative Stress in Rats. Oyo State (Nigeria). *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics*, (43), 20-23.
- Pieper, M. J., Flor, P. J., Dinan, T. G., & Cryan, J. F. (2011). Exciting Times Beyond The Brain: Metabotropic Glutamate Receptors in Peripheral and Non-Neural Tissues. Regensburg (Germany). *Pharmacol Rev*, 63, 35-58.
- Putri, R. P., Rousdy, D. W., & Yanti, A. H. (2019). Aktivitas Hepatoprotektif Ekstrak Methanol Buah Lakum (*Cayratia trifolia* L. Domin) Terhadap Hepatosit Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.) yang Diinduksi Parasetamol. FMIPA Universitas Tanjungpura. *Majalah Ilmiah Biologi Biosfera : A Scientific Journal*, 36(2), 71-78.
- Rostagno, M. A., Celeghini, Mauricio, Debien, I. C. N., Nogueira, G. C., Meireles, M. A. A., & Renata M. S. (2015). Phenolic Compounds in Coffee Compared to Other Beverages. Brazil. *Academic Press*, 137-142.
- Setyono, J., Nugroho, D. A., Mustofa, & Saryono. (2014). Efek Orlistat, Ekstrak Biji Kopi Hijau, dan Kombinasinya Terhadap Kadar Adinopektin dan Profil Lipid. Purwokerto. FKIK Universitas Jendral Soedirman. *Jurnal Ners*, 9(1), 26.
- Sharma, A. (2015). Monosodium Glutamate-Induced Oxidative Kidney Damage and Possible Mechanisms: a Mini Review. *Journal of Biomedical Science*, 22, 1-6.
- Shimoda, H., Seki, E., & Aitani, M. (2006). Inhibitory Effect of Green Coffee Bean Extract on Fat Accumulation and Body Weight Gain in Mice. Japan. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 6, 9.
- Sukohar, A., Setiawan, Wirakusumah, F. F., & Sastramihardja, H. S. (2011). Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Sitotoksik Kafein dan Asam Klorogenat dari Biji Kopi Robusta Lampung. Bandar Lampung. *Jurnal Medika Planta*, 1(4).
- Utomo, Y., Hidayat, A., Dafip, M., & Sasi, F. A. (2012). Studi Histopatologi Hati Mencit (*Mus musculus* L.) yang Diinduksi Pemanis Buatan. *Jurnal FMIPA UNNES*, 35(2), 122-129.
- Winarsi, H. (2007). Antioksidan Alami dan Radikal Bebas Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan. Kanisius. 189-9.
- Yacout, G. A., Elguindy, N. M., & Azab, E. F. E. (2012). Hepatoprotective Effect of Basil (*Ocinum basilicum* L.) on CCl₄-Induced Liver Fibrosis in Rats. *African Journal of Biotechnology*, 11, 15702-15711.
- Zachary, J. F., & McGavin, M. D. (2012). Pathologic Basic of Veterinary Disease, 5thEdition. Missouri: Elsevier Mosby, 1344.
