

## Pengaruh Seduhan Kopi Robusta sebagai Antioksidan terhadap Kadar Malondialdehyde (MDA) pada Tikus Wistar Jantan

### *Effect of Robusta Coffee Steeping as an Antioxidant on Malondialdehyde (MDA) Levels in Male Wistar Rats*

Endah Pratiwi<sup>1\*</sup>, Bambang Wirjatmadi<sup>1</sup>, Sri Sumarmi<sup>1</sup>

#### ABSTRAK

**Latar Belakang:** Pola tidur jaga terbalik merupakan perilaku dimana pelaku tidak melakukan istirahat malam sebagai mana mestinya yang dilakukan oleh banyak orang, namun justru siang hari digunakan untuk istirahat malam/tidur.

Jika kondisi ini berlangsung lama, akan mempengaruhi system *Hipotalamus Piutari Adrenal* (HPA) Axis pada tubuh. Stimulus pada *hipotalamus* akan memicu adanya peningkatan sekresi hormon adrenalin dan hormon kortisol. Ketika hormon adrenalin disekresikan, akan terjadi peningkatan denyut jantung dan penyempitan pembuluh darah (vasokonstriksi) sehingga dapat merusak jaringan endotel. akibatnya akan membawa seseorang mengalami hipoksia. Hipoksia memicu pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) yang mengakibatkan stress oksidatif.

**Tujuan :** Untuk mengetahui perbedaan kadar *Malondialdehyde* (MDA) terhadap tikus wistar jantan yang dipapar stress psikologis setelah pemberian seduhan kopi robusta

**Metode :** Penelitian ini merupakan penelitian experimental dengan pendekatan *Randomized Post Test Only Control Group Design* dimana pengambilan sampel secara acak didalam keberagaman kelompok perlakuan.

**Hasil :** Rerata kadar MDA yang paling tinggi adalah pada kelompok (K2) dengan nilai  $20,10 \pm 4,17$  nmol/ml. Pada kelompok (P1) rerata kadar MDA dengan nilai  $15,49 \pm 2,60$  nmol/ml lebih rendah jika dibandingkan dengan kelompok (K2). Pada kelompok (P2) rerata kadar MDA dengan nilai  $11,84 \pm 3,09$  nmol/ml lebih rendah jika dibandingkan dengan kelompok (P1). Pada kelompok (P3) rerata kadar MDA dengan nilai  $11,69 \pm 1,03$  nmol/ml lebih rendah jika dibandingkan dengan kelompok (P2). Sedangkan pada kelompok kontrol (K1) menunjukkan rerata kadar MDA dengan nilai  $12,83 \pm 2,22$  nmol/ml lebih rendah daripada kelompok (K2).

**Kesimpulan:** Terdapat perbedaan kadar *Malondialdehyde* MDA antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan terhadap tikus wistar jantan yang dipapar stress psikologis setelah pemberian seduhan kopi robusta.

**Kata kunci :** Pola tidur terbalik, Antioksidan, Stress oksidatif, Kopi Robusta

#### ABSTRACT

**Background:** Background: Reverse sleep pattern is a behavior where the perpetrator does not do night rest as it should be done by many people, but instead the day is used for night rest / sleep. To prevent all that, antioxidants are needed that can prevent oxidative stress. It turns out that a study proves that there is a flavonoid antioxidant content in robusta coffee (*Coffea robusta*) of  $10.90 \mu\text{g} / \text{g}$ , caffeine content of 2.4%, protein by 7.5%, and chlorogenic acid (CGA) content of 6.4% as an antioxidant.

**Purpose:** To find out the difference in Malondialdehyde (MDA) levels in male wistar rats exposed to psychological stress after giving a steeping of robusta coffee.

**Methods :** This study is an experimental study with the Randomized Post Test Only Control Group Design approach where random sampling in the diversity of treatment groups.

**Results:** The highest average MDA level is in the group (K2) with a value of  $20.10 \pm 4.17$  nmol / ml. In the group (P1) the average MDA level with a value of  $15.49 \pm 2.60$  nmol / ml is lower when compared to the group (K2). In the group (P2) the average MDA level with a value of  $11.84 \pm 3.09$  nmol / ml is lower when compared to the group (P1). In the group (P3) the average MDA level with a value of  $11.69 \pm 1.03$  nmol / ml is lower when compared to the group (P2). While in the control group (K1) showed an average MDA level with a value of  $12.83 \pm 2.22$  nmol / ml lower than the group (K2).

**Conclusion:** There was a difference in Malondialdehyde MDA levels between the control group and the treatment group of male wistar rats who were exposed to psychological stress after administering robusta coffee brew.



**Keywords:** *Reverse sleep patterns, Antioxidants, Oxidative Stress, Robusta Coffee.*

---

\*Koresponden:

endah.15pratiwi@gmail.com

Endah Pratiwi

<sup>1</sup>Departemen Gizi, Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Airlangga, Kampus C Mulyorejo, 60115, Surabaya, Jawa Timur, Indonesia

## PENDAHULUAN

Pola tidur jaga terbalik merupakan perilaku dimana pelaku tidak melakukan istirahat malam sebagai mana mestinya yang dilakukan oleh banyak orang, namun justru siang hari digunakan untuk istirahat malam/tidur. Hal ini diakibatkan karena malam hari digunakan untuk aktivitas tuntutan pekerjaan seperti *shift* malam, atau karena adanya gangguan tidur. Pada orang normal, jika hal ini terjadi secara terus menerus, maka siklus tidur biologisnya akan mengalami perubahan. Tidak hanya itu, juga akan berdampak pada penurunan daya tahan tubuh serta dapat merubah *mood* menjadi *swing* atau gampang berubah-ubah, menjadi mudah tersinggung, kurang konsentrasi, mudah lelah, depresi, hingga bisa menimbulkan stress psikologis. (Japardi I, 2002). Jika kondisi ini berlangsung lama, akan mempengaruhi system *Hypothalamus Pituitary Adrenal* (HPA) Axis pada tubuh. Stimulus pada *hypothalamus* akan memicu adanya peningkatan sekresi hormon adrenalin dan hormon kortisol. Ketika hormon adrenalin disekresikan, akan terjadi peningkatan denyut jantung dan penyempitan pembuluh darah (vasokonstriksi) (Rosyidah N.H., 2021) sehingga dapat merusak jaringan endotel. akibatnya akan membawa seseorang mengalami hipoksia. Respon yang menandakan terjadi hipoksia didalam tubuh dengan adanya peningkatan HIF. Hipoksia memicu pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) yang mengakibatkan stress oksidatif ditandai dengan kadar *malondialdehyde* (MDA) dan akan memberi konsekuensi bagi tubuh sebagai salah satu penyebab timbulnya penyakit degenerative (Barton JR, 2007). Hal yang sama juga didukung dengan penelitian (Kala M, 2016) yang menyebutkan bahwa akan terjadi peningkatan hormon kortisol akibat dari keadaan tikus yang mengalami stress secara psikologis. Peningkatan hormon kortisol berkorelasi terhadap peningkatan aktivitas SOD pada tikus dalam kondisi stress. Pada puncaknya, stress oksidatif akan terjadi akibat dari keadaan tekanan darah yang meningkat, sehingga menyebabkan dinding endotel tidak dapat mengkompensasi dan mengalami *oscillatory shear-stress* kemudian menyebabkan disfungsi endotel bagian dalam (Deanfield, Dkk, 2007).

Untuk mencegah semua itu, diperlukan antioksidan yang mampu mencegah stress oksidatif. seduhan kopi yang selama ini digunakan sebagai “teman nongkrong” bagi sebagian orang ketika hendak bergadang ternyata dalam kandungannya membawa manfaat sebagai antioksidan . Hal ini telah banyak dibuktikan dari berbagai penelitian yang membuktikan bahwa terdapat kandungan antioksidan *flavonoid* salah satunya didalam kopi robusta (*Coffea robusta*) yakni sebesar 10,90 µg/g, kandungan kafein sebesar 2,4%, kandungan protein sebesar 7,5%, dan kandungan *chlorogenic acid* (CGA) sebesar 6,4% . Adapun kandungan *chlorogenic acid* (CGA) dalam kopi robusta lebih kuat dari vitamin C dan vitamin E (Liang N, 2014). Sebagaimana tujuan dalam penelitian ini untuk mengetahui bagaimana pengaruh seduhan kopi robusta terhadap kadar *Malondialdehyde* (MDA) pada tikus wistar jantan dan berdasarkan hal tersebut diharapkan hasil penelitian dapat membuktikan manfaat dari kandungan kopi robusta sebagai antioksidan untuk mencegah stress oksidatif.

## ALAT DAN BAHAN

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain kandang tikus, vakum, sonde lambung, timbangan elektronik, spuit, gunting bedah, pinset, dan spektrofotometri.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain pakan standart tikus putih jantan *strain wistar*, aquadest, seduhan kopi robusta, larutan PBS dingin, Larutan TCA 15% , Larutan TBA 0,37% , Larutan HCL 0,25N.

## METODE

Penelitian ini merupakan penelitian experimental dengan pendekatan *Randomized Post Test Only Control Group Design* dimana pengambilan sampel secara acak didalam keberagaman kelompok perlakuan.

Penelitian ini menggunakan tikus putih jantan strain wistar yang dikelompokkan menjadi 5 (lima) kelompok , yaitu: kelompok kontrol dan kelompok perlakuan stress psikologis yang berjumlah 30 ekor dengan kriteria inklusi berat rata-rata  $\pm$  200 gram, berumur tikus  $\pm$  2-3 bulan dan dalam kondisi tampak sehat, bulu tampak berkilau, mata jernih dan bergerak aktif.

PROSEDUR PEMERIKSAAN. Sampel diambil sebanyak 0,5 ml. selanjutnya ditambahkan 4,5 ml larutan PBS dingin, setelah itu diambil 4 ml supernatant, kemudian supernatant tersebut ditambahkan 1 ml larutan TCA 15% , selanjutnya diberikan 1 ml larutan TBA 0,37% dalam HCL 0,25 N. Setelah itu dipanaskan dalam *waterbath* 80°C selama 15 menit, kemudian didinginkan pada suhu ruang selama 60 menit, setelah didinginkan disentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit, Kemudian mengukur absorbansi supernatant MDA sampel pada

spektrofotometer dengan  $\lambda = 532$  nm, dan Dihitung kadar MDA dengan menggunakan persamaan garis regresi dari kurva standar (baku) larutan MDA.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

**Tabel 1.** Rerata kadar MDA kelompok kontrol dan kelompok perlakuan

Kelompok	Mean $\pm$ SD (Kadar MDA)	Nilai Minimum	Nilai Maksimum
K1	12.83 $\pm$ 2.22	9.44	15.96
K2	20.10 $\pm$ 4.17	16.99	25.92
P1	15.49 $\pm$ 2.60	10.58	17.45
P2	11.84 $\pm$ 3.09	7.60	16.42
P3	11.69 $\pm$ 1.03	10.58	13.22

Dari jumlah 30 ekor tikus dibagi menjadi lima kelompok dengan masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor tikus putih berdasarkan dari perhitungan sampel rumus *Lemeshow*, dimana dibagi dalam beberapa bagian, yaitu Kelompok K1 (kelompok kontrol tanpa stress) kelompok yang tidak diberikan paparan stress, hanya diberikan pakan biasa dan aquadest selama 1x24 jam, Kelompok K2 (kelompok kontrol tanpa stress) kelompok yang setelah masa adaptasi pada hari ke-8 dipapar stress psikologis & diberikan seduhan kopi robusta, Kelompok P1 (Perlakuan) kelompok yang diberi paparan stress psikologis (selama 1x24jam) dan diberi seduhan kopi robusta kemudian dilakukan observasi penanda stress oksidatif dengan pemeriksaan kadar MDA darah pada jam ke -6 setelahnya, Kelompok P2 (Perlakuan) kelompok yang diberi paparan stress psikologis (selama 1x24jam) dan diberi seduhan kopi robusta kemudian dilakukan observasi penanda stress oksidatif dengan pemeriksaan kadar MDA darah pada jam ke -12 setelahnya, terakhir adalah Kelompok P3 (Perlakuan) kelompok yang diberi paparan stress psikologis (selama 1x24jam) dan diberi seduhan kopi robusta kemudian dilakukan observasi penanda stress oksidatif dengan pemeriksaan kadar MDA darah pada jam ke -24 setelahnya.

Kelompok yang paling tinggi rerata kadar MDA adalah kelompok yang diberikan *stress psikologis* dan hanya diberikan pakan standart (K2) dengan nilai 20,10  $\pm$  4,17 nmol/ml. Pada kelompok (P1) perlakuan *stress psikologis* dan diberikan seduhan kopi robusta kemudian dilakukan pemeriksaan terhadap kadar MDA pada jam ke 6 setelahnya, didapatkan rerata kadar MDA dengan nilai 15,49  $\pm$  2,60 nmol/ml lebih rendah jika dibandingkan dengan kelompok (K2). Pada kelompok (P2) perlakuan *stress psikologis* dan diberikan seduhan kopi robusta kemudian dilakukan pemeriksaan terhadap kadar MDA pada jam ke 12 setelahnya didapatkan rerata kadar MDA dengan nilai 11.84  $\pm$  3.09 nmol/ml lebih rendah jika dibandingkan dengan kelompok (P1). Pada kelompok (P3) perlakuan *stress psikologis* selama 1x24 jam dan diberikan seduhan kopi robusta kemudian dilakukan pemeriksaan terhadap kadar MDA pada jam ke 24 setelahnya didapatkan rerata kadar MDA dengan nilai 11.69  $\pm$  1.03 nmol/ml lebih rendah jika dibandingkan dengan kelompok (P2). Sedangkan pada kelompok kontrol (K1) menunjukkan rerata kadar MDA dengan nilai 12.83  $\pm$  2.22 nmol/ml lebih rendah daripada kelompok (K2). Kadar MDA untuk semua kelompok berdistribusi normal ( $p > 0,05$ ), hal ini dibuktikan dengan menggunakan uji *Saphiro-Wilk*.

**Tabel 2.** Test of Normality dengan uji *Saphiro-Wilk*

Kelompok	n	P value/Sig	Keterangan
K1	6	0,752	Normal
K2	6	0,012	Normal
P1	6	0,060	Normal
P2	6	0,989	Normal
P3	6	0,409	Normal

Pada tabel 2. Menunjukkan hasil uji normalitas kadar MDA pada tiap kelompok, baik kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan. Kesemua kelompok berdistribusi normal. Pada kelompok (K1) dengan nilai  $p = 0,752$ , pada kelompok (K2) dengan nilai  $p = 0,012$ , pada kelompok (P1) dengan nilai  $p = 0,060$ , pada kelompok (P2) dengan nilai  $p = 0,989$ , pada kelompok (P3) dengan nilai  $p = 0,409$ . Untuk menguji asumsi varians data homogen menggunakan *Lavene Test*.

**Tabel 3.** Hasil uji *Lavene* MDA

<i>Lavene's Test of Equality of Variances</i>		
	F	Sig.
MDA Equal variances assumed	0,067	0,802

Pada tabel 3. Dari hasil Uji *Lavene's Test* didapatkan nilai signifikansi atau nilai  $p (0,802) > \alpha (0,05)$ , sehingga dapat disimpulkan bahwa data kadar *Malondialdehyde* (MDA) adalah homogen. Analisis berikutnya adalah dengan melakukan uji statistik *One Way Anova* untuk menguji hipotesis kesamaan rata-rata lebih dari dua kelompok.

**Tabel 4.** Hasil *One Way Anova* MDA semua kelompok

<i>Levene Statistic</i>	<i>df1</i>	<i>df2</i>	<i>Sig.</i>
2,927	4	25	0,041

Berdasarkan hasil output "*Test of Homogeneity of Variances*" Pada tabel 4. diketahui bahwa nilai signifikan  $0,041 < \alpha (0,05)$  maka dapat diinterpretasikan bahwa varians dari kelompok data adalah tidak sama (homogen) artinya terdapat perbedaan kadar *Malondialdehyde* (MDA) pada masing-masing kelompok. Karena hasil menunjukkan perbedaan itu artinya  $H_0$  ditolak maka uji lanjut dengan *Post Hoc Test teknik Dunnet's T3* untuk mengetahui kelompok mana saja yang berbeda.

**Tabel 5.** *Post Hoc Test teknik Dunnet's T3*

Kelompok	Nilai Signifikan (p) perbandingan tiap pasangan kelompok				
	K1	K2	P1	P2	P3
K1	-	0,047	-	-	-
K2	0,047	-	-	0,029*	0,026*

Hasil uji *Post Hoc Test teknik Dunnet's T3* Pada tabel 5 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan kadar MDA antara kelompok (K2) perlakuan *stress psikologis* dan hanya diberikan pakan standart dengan nilai signifikan  $p = 0,047$  dengan kelompok (P2) perlakuan *stress psikologis* dan diberi seduhan kopi robusta kemudian pemeriksaan kadar MDA darah pada jam ke -12 setelahnya dengan nilai signifikan  $p = 0,029$  dan pada kelompok (P3) perlakuan *stress psikologis* dengan diberi seduhan kopi robusta kemudian pemeriksaan kadar MDA darah pada jam ke -24 setelahnya dengan nilai signifikan  $p = 0,026$ .

Gangguan pola tidur yang mengakibatkan stress yang dialami oleh hewan coba akan mengakibatkan terjadinya peningkatan *hormone Corticotropic Releasing Hormon* (CRH) yang dapat mengeluarkan kortisol yang tinggi bentuk aktivitas dari *Hipotalamic- Pituitary-Adrenal-Axis* (HPA). Sumbu HPA yang ditekan akan meningkatkan aktivitas system syaraf simpatis dan respon adrenal. Peningkatan system simpatis ini akan melepaskan neurotransmitter *norepinefrin local* pada ujung saraf simpatis. Sehingga terjadi ketidakseimbangan antara ROS dan antioksidan dan mengakibatkan stress oksidatif. (Weidinger, A. and Kozlov, 2015). MDA (*Malondialdehyde*) merupakan penanda stress oksidatif yang paling sering digunakan sebagai indikator untuk melihat indikasi peroksidasi lipid. MDA dapat ditemukan pada hampir seluruh cairan biologis tubuh, diantaranya terdapat dalam plas, urin, cairan sendi, cairan alveolus, cairan empedu, cairan getah bening, dan dari berbagai organ (Birben, 2012).

Pola tidur terbalik menjadi salah satu faktor pemicu stress oksidatif. Hal ini dapat dibuktikan dengan melihat nilai kadar MDA pada kelompok (K2) yang hanya diberikan *stress psikologis* lebih tinggi jika dibandingkan dengan ketiga kelompok perlakuan yang lain (P1,P2, dan P3).

## KESIMPULAN

Terdapat perbedaan kadar *Malondialdehyde* MDA antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan terhadap tikus wistar jantan yang dipapar stress psikologis setelah pemberian seduhan kopi robusta.

## ACKNOWLEDGEMENT

Ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada Kepala Departemen Ilmu Faal & Biokimia dan Kepala Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang telah memberikan izin sehingga penelitian ini dapat terlaksana, serta para dosen pembimbing maupun penguji yang telah memberikan bimbingan, arahan dan masukan dalam proses penelitian dan penyusunan artikel ini.

## REFERENSI

- Barton JR, S. B. (2007) *Preeklampsia. In : Manual of Obstetrics*. 7 th. Texas.
- Birben, E. et al. (2012) 'Oxidative stress and antioxidant defense', *World Allergy Organization Journal*. doi: 10.1097/WOX.0b013e3182439613.
- Deanfield, JE. Halcox, JP. and Rabelink, T. (2007) 'Endothelial Function and Dysfunction : Testing and Clinical Relevance. *Circulation*', pp. 1285–1295.
- Japardi I (2002) 'Gangguan Tidur', 2, pp. 1–11.
- Kala M, N. M. (2016) 'Role of Cortisol and Superoxide Dismutase in Psychological Stress induced Anovulation', *Endocrinology Journal*, 225, pp. 117–124.
- Liang N, K. (2014) 'Antioxidant Property of Coffee Components Assessment of Methods that Define Mechanisms of Action, Molecules', 19, pp. 19180–19208.
- Rosyidah N.H. (2021) *Pengaruh pemberian jus brokoli (Brasica oleracea L. var italica) terhadap kadar MDA darah dan fungsi endotel sel jantung pada tikus jantan wistar model stress psikologis*. Universitas Airlangga.
- Weidinger, A. and Kozlov, A. V. (2015) *Biological activities of reactive oxygen and nitrogen species: Oxidative stress versus signal transduction*", *Biomolecules*. doi: 10.3390/biom5020472.