

**EFEK PEMBERIAN SEDUHAN KOPI (*Coffea canephora*) DAN
SEDUHAN COKLAT (*Theobroma cacao* L) TERHADAP
GAMBARAN HISTOLOGI GINJAL TIKUS PUTIH
(*Rattus norvegicus*)**

SKRIPSI



**NIKA OKTAVIANUS
NIM 3171017**

**PROGRAM STUDI SARJANA TERAPAN
TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL
SURAKARTA
2021**

**EFEK PEMBERIAN SEDUHAN KOPI (*Coffea canephora*) DAN
SEDUHAN COKLAT (*Theobroma cacao* L) TERHADAP
GAMBARAN HISTOLOGI GINJAL TIKUS PUTIH
(*Rattus norvegicus*)**

SKRIPSI

Diajukan sebagai persyaratan menyelesaikan jenjang pendidikan
Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis



**NIKA OKTAVIANUS
NIM 3171017**

**PROGRAM STUDI SARJANA TERAPAN
TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL
SURAKARTA
2021**

HALAMAN PENGESAHAN

SKRIPSI

**EFEK PEMBERIAN SEDUHAN KOPI (*Coffea canephora*) DAN
SEDUHAN COKLAT (*Theobroma cacao* L) TERHADAP
GAMBARAN HISTOLOGI GINJAL TIKUS PUTIH
(*Rattus norvegicus*)**

Oleh :

Nika Oktavianus

NIM. 3171017

Telah dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai persyaratan
guna memperoleh gelar Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis

Pada tanggal 08 Juli 2021 di Surakarta

Dewan Penguji,

M. Taufiq Qurrohman, M.Sc (Ketua Penguji)

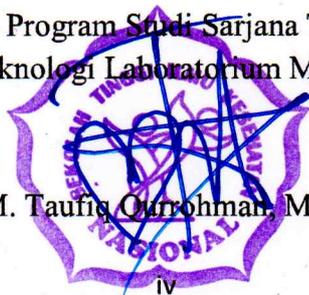
Wimpy, M.Pd (Anggota Penguji I)

Fitria Diniyah Janah Sayekti, M.Sc (Anggota Penguji II)

Mengetahui,

Ketua Program Studi Sarjana Terapan
Teknologi Laboratorium Medis

M. Taufiq Qurrohman, M.Sc



PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa Skripsi dengan judul :

**EFEK PEMBERIAN SEDUHAN KOPI (*Coffea canephora*) DAN
SEDUHAN COKLAT (*Theobroma cacao* L) TERHADAP
GAMBARAN HISTOLOGI GINJAL TIKUS PUTIH
(*Rattus norvegicus*)**

Yang dibuat untuk melengkapi persyaratan menyelesaikan Jenjang Pendidikan Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta, adalah hasil penelitian saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi, serta tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebut dalam daftar pustaka.

Apabila terdapat bukti tiruan atau duplikasi pada Skripsi ini, maka penulis bersedia untuk menerima pencabutan gelar akademik yang telah diperoleh.

Surakarta, 02 Juli 2021



Nika Oktavianus
NIM. 3171017

MOTTO

Dia memberi kekuatan kepada yang lelah dan menambah semangat kepada yang tak berdaya

Janganlah takut, sebab Aku menyertai engkau, janganlah bimbang, sebab Aku ini Allahmu; Aku akan meneguhkan, bahkan menolong engkau; Aku akan memegang engkau dengan tangan kanan-Ku yang membawa kemenangan

BERDOA

BERUSAHA

BERSERAH

PERSEMBAHAN

Skripsi ini penulis persembahkan untuk :

1. Tuhan Yesus atas berkat dan kasih karunia-Nya serta kemudahan yang Engkau berikan sehingga Skripsi ini dapat selesai tepat waktu.
2. Keluargaku tercinta, terutama kedua orang tuaku Sukardi dan Sumini yang selalu memberi doa, motivasi dan nasehat yang luar biasa, kakak-kakakku Agustina Kristiyani yang selalu memberi kesenangan dan semangat dikala diri merasa lelah, kalian yang terbaik dihidupku.
3. Ibu Fitria Diniyah Janah Sayekti, M.Sc., yang memberikan bimbingan, tuntunan, kesabaran, serta memberikan masukan dan inspirasi sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi ini.
4. Bapak M. Taufiq Qurrohman, M.Sc selaku penguji 1 yang telah ikut membimbing dan memberikan masukan kepada penulis untuk Skripsi ini.
5. Bapak Wimpy, M.Pd selaku penguji 2 untuk Skripsi ini yang telah membimbing dan memberikan saran, pengarahan untuk penelitian.
6. Mas Anang selaku laboran yang sabar dalam menyiapkan segala keperluan laboratorium dari awal sampai selesai penelitian.
7. Mbak Yulita, Mas Yehezkiel, Reza, Gilang, teman-teman satu bidang penelitian yang telah membantu dalam skripsi ini. Dan rekan-rekan sejawat yang selalu semangat dalam menjalani masa pendidikan.
8. Keluarga besar Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta, terimakasih atas segala yang diberikan hingga semua terlaksana dengan lancar.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Tuhan yang Maha Esa, karena berkat rahmat dan karunia-Nyalah penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Efek Pemberian Seduhan Kopi (*Coffea canephora*) Dan Coklat (*Theobroma cacao* L) Terhadap Gambaran Histologi Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)”. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat menyelesaikan program pendidikan Sarjana Terapan di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta.

Penyusunan Skripsi berdasarkan pemeriksaan yang dilakukan di Laboratorium tidak lepas dari bimbingan, bantuan, dukungan dan saran dari berbagai pihak secara langsung maupun tidak langsung. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terimakasih kepada :

1. Apt Hartono, S.Si., M.Si., selaku Ketua Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta yang telah memberi kesempatan kepada penulis untuk menyelesaikan Skripsi ini dan mengikuti pendidikan hingga selesai.
2. M. Taufiq Qurrohman, S.Si., M.Sc selaku Ketua Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medik yang telah memberi kesempatan kepada penulis untuk menyelesaikan Skripsi ini dan mengikuti pendidikan hingga selesai.
3. Fitria Diniyah Janah Sayekti, M.Sc selaku pembimbing utama, yang telah meluangkan waktu, tenaga serta pikiran untuk mengarahkan penulis dalam menyusun Skripsi ini.
4. M. Taufiq Qurrohman, M.Sc., Wimpy, M.Pd., Fitria Diniyah Janah Sayekti, M.Sc selaku penguji yang selalu memberikan bimbingan dan saran sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi ini dengan baik dan lancar.
5. Bapak dan Ibu dosen dan asisten dosen Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta, yang telah memberi ilmu pengetahuan serta wawasan kepada penulis.
6. Serta pihak yang telah membantu dalam penyusunan Skripsi ini.

Penulis menyadari dalam penulisan Skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, untuk itu penulis mengharapkan saran dan kritik yang bersifat

membangun bagi kesempurnaan Skripsi ini. Semoga Skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi semua pihak serta menambah wawasan bagi para pembaca.

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL.....	ii
HALAMAN PERSETUJUAN PEMBIMBING	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
MOTTO	vi
PERSEMBAHAN.....	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI.....	x
Daftar Tabel	xii
Daftar Gambar.....	xiii
INTISARI.....	xiv
ABSTRACT.....	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Pembatasan Masalah	3
C. Rumusan Masalah	3
D. Tujuan Penelitian	3
E. Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
A. Landasan Teori.....	5
B. Kerangka Pikir	13

C. Hipotesis.....	14
BAB III METODE PENELITIAN.....	15
A. Desain Penelitian.....	15
B. Tempat dan Waktu Penelitian	15
C. Subyek dan Obyek Penelitian	15
D. Populasi Sampel.....	15
E. Definisi Operasional dan Variabel Penelitian	17
F. Teknik Sampling	18
G. Sumber Data.....	18
H. Instrumen Penelitian.....	18
I. Alur Penelitian	20
J. Prosedur Penelitian.....	21
K. Teknik Analisis Data.....	24
BAB IV Hasil dan Pembahasan	26
A. Hasil Penelitian	26
B. Pembahasan.....	32
BAB V Simpulan dan Saran	36
A. Simpulan	36
B. Saran.....	36
DAFTAR PUSTAKA	37
LAMPIRAN.....	43

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
3.1 Kriteria Penilaian Mikroskopis Kualitas Histologi Ginjal	20
4.1 Hasil Pengamatan Makroskopis ginjal tikus putih (Wistar)	26
4.2 Hasil Penilaian Mikroskopis ginjal tikus putih (Wistar)	28
4.3 Hasil analisis uji normalitas <i>Shapiro-Wilk</i>	30
4.4 Hasil analisis uji <i>Mann Whitney</i>	31

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2. 1 Morfologi Tanaman Kopi <i>Coffea canephora</i>	6
2. 2 Morfologi Buah Kakao (<i>Theobroma cacao</i>)	8
2. 3 Struktur Kafein	9
2. 4 Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	9
2. 5 Struktur Histologi Ginjal	10
2. 6 Gambaran Mikroskopis Ginjal Normal	10
2. 7 Gambaran Degenerasi Tubulus (400x)	11
2. 8 Gambaran Nekrosis Tubulus (400x)	12
2. 9 Gambaran Karioreksis (A) dan Kariolisis (B) (400x)	12
4.1 Gambaran makroskopis ginjal tikus putih (wistar)	27
4.2 Gambaran histologi ginjal tikus putih (wistar) kelompok kontrol (K0) pewarnaan HE dan perbesaran 400x	28
4.3 Gambaran histologi ginjal kelompok K1, K2, K3, C1, C2 dan C3 pewarnaan HE dan perbesaran 400x	29

INTISARI

Nika Oktavianus. NIM 3171017. Efek Pemberian Seduhan Kopi (*Coffea canephora*) Dan Seduhan Coklat (*Theobroma cacao* L) Terhadap Gambaran Histologi Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Konsumsi kopi dan coklat di Indonesia selalu mengalami peningkatan. Kopi dan coklat merupakan minuman yang digemari oleh masyarakat berbagai kalangan. Dalam kopi dan coklat memiliki kandungan kafein yang memberikan efek samping pada organ ginjal. Ginjal merupakan organ yang mudah terjadi kerusakan karena adanya zat-zat kimia. Efek dari kafein menyebabkan kerusakan sel epitel tubulus. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian seduhan kopi dan seduhan coklat terhadap gambaran histologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*).

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian Eksperimental, dengan menggunakan desain penelitian *Posttest Only Control Group Design* menggunakan 7 kelompok antara lain kelompok kontrol, 3 kelompok seduhan kopi (3mg, 6mg dan 12mg) dan 3 kelompok seduhan coklat (3mg, 6mg dan 12mg).

Hasil Uji *Mann Whitney* pengamatan mikroskopis histologi ginjal pada kelompok K2, K3, dan C3 memiliki nilai Asymp. sig $p= 0,040$; $0,011$ dan $0,013$ ($<0,05$). Kelompok K1, C1, dan C2 memiliki nilai Asymp. sig $0,127$ dan $0,317$ ($>0,05$). Dari hasil penelitian tersebut, dapat disimpulkan bahwa seduhan kopi dan seduhan coklat dapat menyebabkan perubahan gambaran histologi ginjal tikus.

Kata Kunci : Kopi, Coklat, Kafein, Histologi Ginjal

ABSTRACT

Nika Oktavianus NIM 3171017. Effects of Giving Coffee Stew (*Coffea canephora*) and Chocolate (*Theobroma cacao* L) on Histology of White Rat Kidney (*Rattus norvegicus*)

The consumption of coffee and chocolate in Indonesia is always increasing. Coffee and chocolate are drinks that are favored by people of all walks of life. Coffee and chocolate have contained caffeine, which has side effects on the kidneys. Kidneys are organs that are easily damaged due to the presence of substance chemicals. The effects of caffeine cause damage to tubular epithelial cells. This research aims to determine the effect of coffee and chocolate steeping on the kidney histology of white rats (*Rattus norvegicus*).

This research used an experimental type of research, using a posttest only control group design research using 7 groups, including group K0 (control), 3 groups of brewing coffee K1 (3mg/200g/day), K2 (6mg/200g/day) and K3 (12mg/200g/day) and 3 groups of chocolate steeping C1(3mg,/200g/day), C2(6mg/200g/day) and C3(12mg/200g/day).

The results of the Mann Whitney test for microscopic observations of kidney histology in groups K2, K3, and C3 had Asymp values. sig p= 0.040; 0.011 and 0.013 (0.05). From the results of these studies, it said that steeping coffee and steeping chocolate can cause changes in the histological picture of rats, in the form of degeneration and necrosis.

Keywords: Coffee, Chocolate, Caffeine, Kidney Histology

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Minuman merupakan kebutuhan yang sangat penting bagi manusia yang harus dipenuhi setiap hari. Fungsi utama minuman adalah untuk mencukupi kebutuhan cairan tubuh dan juga melepas dahaga. Keinginan akan minuman tidak sekedar air saja, tetapi banyak orang juga menginginkan minuman yang memberikan rasa dan menyegarkan. Karena tingginya tingkat kebutuhan minuman dan keinginan masyarakat untuk menikmati rasa yang berbeda membuat produsen berlomba menciptakan inovasi baru dalam membuat produk minuman yang berkualitas untuk memenuhi kebutuhan tersebut. Salah satunya produk yang banyak beredar di pasar adalah minuman ringan. Berbagai minuman ringan antara lain minuman berenergi sari buah, teh kemasan, coklat, kopi dan minuman berkarbonasi (Febriyani *dkk*, 2012).

Kopi merupakan salah satu minuman yang digemari oleh masyarakat berbagai kalangan. Kopi saat ini menjadi *trend* gaya hidup masyarakat, hal ini membuat banyak usaha baru yang menjual beranekaragam kopi. Berdasarkan Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian Kementerian Pertanian produksi kopi dari tahun 2017-2021 diprediksi meningkat sebesar 18,94% dengan peningkatan pada tahun 2017 mencapai 637,54 ribu ton pada tahun 2021 menjadi 758,28 ribu ton. Konsumsi kopi di Indonesia diprediksi pada tahun 2017-2021 tumbuh rata-rata 8,22% tahun dengan peningkatan pada tahun 2017 mencapai 276,17 ribu ton pada tahun 2021 menjadi 369,89 ribu ton. Kopi di Indonesia 81,87% merupakan jenis kopi robusta yang terdapat pada provinsi Sumatera Selatan, Lampung, Bengkulu, Jawa Timur dan Jawa Tengah (Kementerian Pertanian, 2017) Komposisi dalam kopi antara lain mineral, kafein, asam klorogenat, trigonelin, karbohidrat, lemak, asam amino, asam organik dan aroma volatile (Higdon & Frei, 2006). Efek dari minuman kopi yang memberikan rasa nikmat serta menjadikan tubuh tidak mudah lelah, membuat kopi sangat digemari dan banyak orang menjadi ketergantungan terhadap kopi. Penikmat kopi banyak yang tidak

memperhatikan anjuran batasan minum kopi dalam satu harinya, sehingga biasanya beberapa penikmat kopi baru menyadari efek sampingnya setelah mengalami tanda gejala tertentu pada tubuhnya seperti kesulitan tidur, palpitasi, tremor dan peningkatan frekuensi urinasi (Oktaria, 2019).

Bahan olahan makanan dan minuman selain kopi yang juga digemari diberbagai usia salah satunya coklat. Berdasarkan Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian Kementerian Pertanian produksi coklat dari tahun 2016-2020 diprediksi meningkat sebesar 2,78% dengan peningkatan pada tahun 2016 mencapai 760,43 ribu ton pada tahun 2020 menjadi 846,48 ribu ton. Konsumsi coklat di Indonesia diprediksi pada tahun 2016-2020 tumbuh rata-rata 1,17% tahun dengan peningkatan pada tahun 2016 mencapai 258,71 ribu ton pada tahun 2020 menjadi 271,07 ribu ton. Coklat dihasilkan dari produk pengolahan biji kakao (*Theobroma cacao*). Biji kakao yang difermentasi dijadikan serbuk yang disebut coklat bubuk. Produk coklat bubuk ini banyak digunakan untuk membuat berbagai macam makanan maupun minuman seperti kue, es krim dan minuman coklat. Komposisi dalam biji coklat antara lain lemak, karbohidrat, protein (Rizza *et al.*, 2002), theobromin dan kafein (Franco *et al.*, 2013).

Coklat dan kopi merupakan minuman yang mengandung kafein. Kafein memberikan efek mengurangi rasa lelah, meningkatkan kesadaran, meningkatkan fungsi otak serta bagi atlet diyakini dapat meningkatkan stamina dan penampilan saat bertanding (Hayati, 2012). Kandungan kafein biji mentah kopi arabika lebih rendah dibandingkan biji mentah kopi robusta, kandungan kafein kopi robusta sekitar 2,2 % dan Arabika sekitar 1,2 % (Aditya *dkk.*, 2016). Kandungan kafein pada biji kopi berkisar 1-2,5% dan pada satu cangkir kopi dalam 100 ml mengandung kafein 80-100 mg, tergantung dari banyaknya kopi yang digunakan (Tjay & Rahardja, 2007 dalam Nugraheni *dkk.*, 2017). Biji coklat mengandung kafein sebanyak 0,2-0,3% dan theobromin 2-3% (Franco *et al.*, 2013). Coklat juga mengandung senyawa lain diantaranya lemak 55%, karbohidrat 17%, dan protein 11% (Rizza *et al.*, 2002). Mengonsumsi kopi dan coklat yang berlebih dapat

memberikan efek samping pada organ lambung, hati dan ginjal. Efek ini ditimbulkan dari kafein yang terkandung dalam kopi dan coklat.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Selviana (2015) kafein dalam kopi dapat mempercepat proses terbentuknya asam lambung sehingga menyebabkan terjadinya gastritis. Rohman *dkk.*, (2021) kafein dalam minuman berenergi menyebabkan kerusakan struktur dan penurunan fungsi ginjal pada tikus putih yang ditandai dengan peningkatan bobot ginjal, penurunan diameter glomerulus, penurunan ukuran sel epitel tubulus distal dan penurunan sel epitel tubulus proksimal. Umoh & Jimmy (2017) mengatakan bahwa pemberian kopi selama 28 hari memberikan efek perubahan cito-arsitektural ginjal sehingga menyebabkan kerusakan tubulus interstisial dan glomerulus yang parah pada tikus wistar jantan.

Ginjal merupakan salah satu organ yang paling mudah terjadi kerusakan oleh zat-zat kimia setelah hati. Hal ini dikarenakan banyak zat kimia yang harus disaring oleh ginjal dan diekskresikan melalui urin (Guyton & Hall, 2016). Salah satu bagian ginjal yang paling sering terjadi kerusakan disebabkan zat kimia adalah tubulus proksimal. Tubulus proksimal peka terhadap hipoksia dan mudah hancur karena keracunan akibat kontak dengan bahan-bahan yang diekskresikan melalui ginjal (Devangga *dkk.*, 2018). Kerusakan yang sering terjadi adalah nekrosis tubulus dan hiperplasi atau hipoplasia tubulus (Kumar *et al.*, 2007).

Berdasarkan uraian di atas, maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian lebih lanjut tentang “Efek Pemberian Seduhan Kopi (*Coffea canephora*) Dan Seduhan Coklat (*Theobroma cacao* L) Terhadap Gambaran Histologi Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)”.

B. Pembatasan Masalah

Pembatasan masalah skripsi ini antara lain :

1. Peneliti melakukan pengamatan makroskopis berupa warna, tekstur dan ukuran ginjal. Pengamatan mikroskopis berupa adanya degenerasi dan nekrosis pada preparat histologi ginjal. Tikus yang digunakan tikus putih galur wistar (*Rattus norvegicus*) jenis kelamin jantan dengan berat \pm 200

gram. Dosis bertingkat seduhan kopi dan coklat yang digunakan yaitu 3 mg/200g/hari; 6 mg/200g/hari; dan 12 mg/200g/hari yang diberikan selama 30 hari.

C. Rumusan Masalah

1. Apakah pemberian seduhan kopi dan seduhan coklat dengan dosis bertingkat memberikan efek terhadap gambaran histologi ginjal tikus putih?

D. Tujuan Penelitian

1. Umum

Mengetahui efek pemberian seduhan kopi dan seduhan coklat terhadap gambaran histologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*).

2. Khusus

Untuk mengetahui perbedaan gambaran histologi ginjal antara kelompok pemberian seduhan kopi dan seduhan coklat dengan dosis bertingkat menggunakan pewarnaan *hematoxylin eosin*.

E. Manfaat

1. Manfaat teoritis

Penelitian memberikan informasi bagi para pembaca mengenai efek pemberian seduhan kopi dan seduhan coklat dengan dosis bertingkat terhadap gambaran histologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) dan memperluas ilmu pengetahuan dalam ruang lingkup bidang Patologi Anatomi.

2. Manfaat praktis

Penelitian ini diharapkan dapat memberi manfaat dan pengetahuan tentang mengkonsumsi kopi dan coklat secara berlebihan dapat memberikan efek terhadap ginjal.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian Eksperimental, dengan menggunakan desain penelitian *Posttest Only Control Group Design* menggunakan 7 kelompok diantaranya 3 kelompok perlakuan menggunakan seduhan kopi dan 3 kelompok perlakuan menggunakan seduhan coklat dengan 1 kelompok sebagai kontrol.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat Penelitian

Penelitian dan Pemeriksaan akan dilakukan di laboratorium Farmakologi dan laboratorium Patologi Anatomi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional.

2. Waktu Penelitian

Penelitian akan dilakukan pada bulan Desember 2020 sampai dengan bulan Juni 2021.

C. Subyek dan Obyek Penelitian

1. Subyek Penelitian

Subyek penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar.

2. Obyek Penelitian

Obyek penelitian ini adalah hasil pengamatan jaringan ginjal secara makroskopis dan mikroskopis yang diberikan perlakuan kopi dan coklat dengan dosis bertingkat setelah proses pembuatan preparat yang diamati dengan pengecatan *hematoxylin eosin*.

D. Populasi dan Sampel

1. Populasi penelitian

Populasi yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar dewasa, jenis kelamin jantan, berbulu putih dan halus, umur 3-4 bulan, berat badan \pm 200 gram dengan kondisi sehat yang ditandai dengan gerakannya yang aktif dan tingkah laku normal.

2. Sampel penelitian

Untuk menentukan jumlah sampel dari kedua kelompok tersebut, digunakan rumus federer sebagai berikut :

$$(t - 1)(r - 1) \geq 15$$

$$(7 - 1)(r - 1) \geq 15$$

$$r - 1 \geq 2,5$$

$$r \geq 3,5$$

$$r \geq 4$$

(Pembulatan)

Keterangan :

r = Jumlah Replikasi

t = Jumlah Kelompok

(Budijanto, 2013)

Dari rumus federer didapatkan jumlah kelompok adalah tujuh kelompok dimana satu kelompok sebagai kontrol, tiga diantaranya dengan perlakuan menggunakan kopi dan tiga diantaranya dengan perlakuan menggunakan coklat. Batasan konsumsi maksimal kafein dalam sehari yang diatur SNI 01-7152-2006 yaitu 150mg/hari dan 50mg/sajian. Dosis yang dipakai dihitung menggunakan faktor konversi dari manusia 70kg ke tikus 200g yaitu 0,018 maka dosis yang diberikan adalah $150\text{mg} \times 0,018 = 2,7 \text{ mg}/200\text{g}/\text{hari}$ dibulatkan menjadi $3 \text{ mg}/200\text{g}/\text{hari}$ yang kemudian dibuat seduhan (Stevani, 2016)

a. Perlakuan dengan kopi selama 30 hari

- i. Kelompok pertama adalah perlakuan dengan kopi berdosis rendah $3 \text{ mg}/200\text{g}/\text{hari}$
- ii. Kelompok kedua adalah perlakuan dengan kopi berdosis sedang $6 \text{ mg}/200\text{g}/\text{hari}$
- iii. Kelompok ketiga adalah perlakuan dengan kopi berdosis tinggi $12 \text{ mg}/200\text{g}/\text{hari}$

b. Perlakuan dengan coklat selama 30 hari

- i. Kelompok pertama adalah perlakuan dengan coklat berdosis rendah 3 mg/200g/hari
- ii. Kelompok kedua adalah perlakuan dengan coklat berdosis sedang 6 mg/200g/hari
- iii. Kelompok ketiga adalah perlakuan dengan coklat berdosis tinggi 12 mg/200g/hari

Jumlah replikasi didapatkan hasil dari masing-masing kelompok tersebut terdapat empat potongan jaringan ginjal.

E. Definisi Operasional dan Variabel Penelitian

Adapun definisi operasional dari variabel bebas dan terikat pada pengamatan mikroskopis adalah sebagai berikut:

1. Hewan Coba

Hewan coba adalah hewan yang digunakan untuk penelitian. Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar dengan berat kurang lebih 200 gram dan umur 2-3 bulan.

Variabel : Terikat

2. Bahan Perlakuan

Bahan perlakuan adalah bahan yang diberikan kepada hewan uji coba. Bahan perlakuan yang digunakan adalah kopi dan coklat.

a. Seduhan Kopi

Seduhan kopi adalah mencampurkan kopi dengan air panas. Kopi yang digunakan dalam penelitian adalah kopi jenis robusta yang diseduh dengan aquades. Kopi robusta yang digunakan berasal dari perkebunan kopi di daerah Temanggung.

Skala ukur : Kategorik

Variabel : Bebas

b. Seduhan Coklat

Seduhan coklat adalah mencampur coklat dengan air panas. Coklat yang digunakan dalam penelitian adalah coklat bubuk yang diseduh dengan aquades. Coklat yang digunakan hasil

olahan kakao forastero dari perkebunan coklat di daerah Temanggung.

Skala ukur : Kategorik

Variabel : Bebas

3. Pengamatan histologi ginjal secara makroskopis

Pengamatan makroskopis ginjal dilakukan setelah tikus dimatikan dan diambil jaringan ginjal. Pengamatan makroskopis berdasarkan warna, tekstur dan ukuran ginjal.

Variabel : Terikat

4. Pengamatan secara mikroskopis

Pengamatan mikroskopis jaringan ginjal dilakukan setelah pengecatan *hematoxylin eosin*. Pengecatan *hematoxylin eosin* digunakan untuk memperjelas ada tidaknya perubahan histopatologi ginjal. Hasil ukur dinyatakan dengan derajat kerusakan antara lain, sel Normal = 1, Degenerasi = 2, Nekrosis (Piknotik, karioreksis, kariolisis)= 3.

Skala ukur : Ordinal

Variabel : Terikat

F. Teknik Sampling

Teknik pengambilan sampel organ ginjal tikus adalah sampling kuota.

G. Sumber Data

Sumber data primer yang diperoleh peneliti secara langsung dari pengamatan mikroskopis ginjal.

H. Instrumen Penelitian

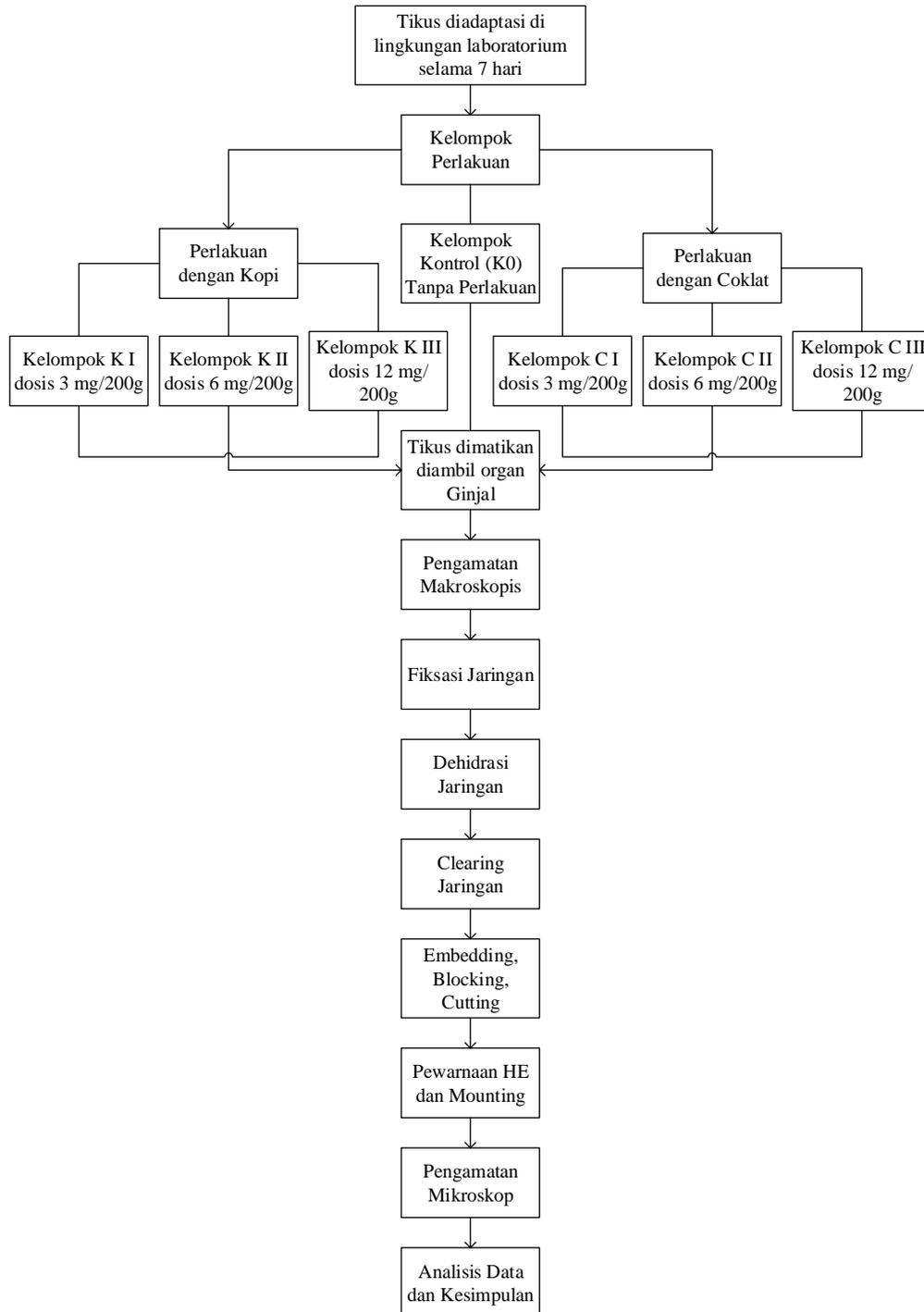
1. Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

Pisau makros dan talenan, pinset, wadah bermulut lebar, *cassete tissue*, pensil, kertas label, timer, mangkok stainleestill, mikrotom, pisau mikrotom, floating bath, spatel, obyek glass, deck glass, dan chamber pengecatan.

2. Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

Jaringan ginjal, kopi, coklat, parafin, xilol, cat *hematoxylin*, cat *eosin*, alkohol 100%, aquadest, *canada balsam*, NBF 10%, kapas, dan kertas saring.

I. Alur Prosedur



J. Prosedur Penelitian

1. Adaptasi Tikus

Tikus diadaptasi selama 7 hari di laboratorium dengan pemberian pakan yang sesuai.

2. Pemberian Perlakuan

Tikus yang telah diadaptasi dibagi menjadi 3 kelompok besar yaitu kontrol, pemberian seduhan kopi dan pemberian seduhan coklat. Kelompok 1 sebagai kontrol (K0) tanpa diberikan perlakuan. Kelompok 2 dengan perlakuan pemberian kopi bertingkat secara per oral. Kelompok 2 terbagi menjadi 3 berdasarkan tingkat pemberian antara lain kelompok 1 pemberian seduhan kopi 3 mg/200g/hari (K1), kelompok 2 pemberian seduhan kopi 6 mg/200g/hari (K2) dan kelompok 3 pemberian seduhan kopi 12 mg/200g/hari (K3). Kelompok 3 dengan pemberian seduhan coklat bertingkat secara per oral. Kelompok 3 dibagi menjadi 3 berdasarkan tingkat pemberian, antara lain kelompok 1 pemberian seduhan coklat 3 mg/200g/hari (C1), kelompok 2 pemberian seduhan coklat 6 mg/200g/hari (C2) dan kelompok 3 pemberian seduhan coklat 12 mg/200g/hari (C3). Masing-masing kelompok dengan perlakuan seduhan kopi dan coklat yang diberikan melalui oral. Perlakuan yang diberikan selama 30 hari.

3. Pengambilan sampel Jaringan Ginjal

Tikus diterminasi menggunakan ether sehari setelah perlakuan hari terakhir. Jaringan yang diperoleh untuk penelitian ini diambil dari hewan tikus yang dipelihara sesuai dengan syarat-syarat hewan coba. Jaringan diambil dari tikus yang telah diberi perlakuan kopi dan coklat selama 30 hari sesuai dengan kelompok masing-masing.

4. Pengamatan Makrokopis

Jaringan ginjal yang telah diambil dilakukan pengamatan makroskopis berupa warna, tekstur dan ukuran ginjal. Jaringan ginjal tikus dipotong membujur menjadi 2 NBF dan diberi label.

5. Pembuatan Sediaan Jaringan

Menurut Kemenkes RI, 2015 pemrosesan jaringan histologi dapat dilakukan dengan cara manual ataupun dengan menggunakan mesin otomatis (*tissue prosesor*).

a. Fiksasi

Jaringan yang telah dipotong secara makroskopis sekitar 5 mm dilakukan pencucian dengan NaCl untuk menghilangkan darahnya lalu dimasukkan dimasukkan kedalam *cassete tissue* kemudian dilakukan fiksasi dengan NBF 10% selama 1 ½ jam, kemudian NBF 10% selama 1 ½ jam.

b. Dehidrasi

Proses pengeluaran cairan yang ada di dalam jaringan ini dilakukan dengan memasukkan jaringan pada alkohol 50% selama 1½ jam, alkohol 70% selama 1½ jam, alkohol 95% selama ½ jam, alkohol 95% selama ½ jam, alkohol 100% selama 2 jam, dan alkohol 100% selama 2 jam.

c. *Clearing*

Pada proses ini digunakan larutan xilol I selama 1 jam dan xilol II selama 2 jam.

d. *Embeding* dan *Blocking*

Jaringan dimasukkan ke dalam parafin cair I selama 2 jam dan parafin cair II selama 4 jam, kemudian diletakkan pada *base mold*. Jaringan diposisikan dengan benar menggunakan pinset dan terakhir ditambahkan dengan parafin panas hingga menutupi cetakan dan ditutup dengan *cassete tissue*. Proses ini dilakukan untuk meletakkan atau memosisikan spesimen sedemikian rupa dengan tujuan agar mudah dalam proses pemotongan mikrotom.

e. *Cutting*

Pemotongan jaringan dari blok dengan ketebalan 3-5 mm dengan menggunakan mikrotom dan ditangkap dengan objek glass pada *floating bath* (60°C)

f. Pewarnaan HE dan Mounting

Tahapan pewarnaan HE menurut Khristian & Inderiati, 2017 adalah pertama deparafinisasi dengan memasukan jaringan dalam xilol, lalu dimasukan kedalam alkohol absolut, alkohol 90% dan alkohol 70% untuk proses rehidrasi. Selanjutnya dilakukan perendaman cat *hematoxylin*, kemudian untuk memperjelas warna biru pada inti sel dimasukan kedalam bluing reagen. Jaringan kemudian direndam cat eosin dan dicuci dengan alkohol. Terakhir jaringan dimasukan dalam xilol untuk selanjutnya dilakukan mounting jaringan dengan enthelan/canada balsam.

g. Pengamatan Mikroskopis

Sediaan yang telah ditutup dengan kaca penutup/*cover glass*. Dibaca menggunakan mikroskop cahaya pada perbesaran 400x dengan pengamat sejumlah 3 orang.

h. Analisis Data dan Kesimpulan

Hasil yang diamati dicatat untuk dianalisis data dengan SPSS dan disimpulkan.

6. Perawatan Hewan Uji

Tikus diadaptasi selama 7 hari terhadap kondisi laboratorium seperti suhu, kelembaban dan udara. Tikus diberi makan setiap hari menggunakan Br-1 dan air minum dalam botol yang diganti serta mengisi ulang setiap hari. Alas yang digunakan sekam padi karena dapat menyerap kotoran tikus dan mudah dibersihkan. Kandang tikus dibersihkan dan diganti sekam yang baru 2 kali dalam seminggu.

7. Proses Terminasi Hewan

Tikus diterminasi menggunakan ether secara overdosis sehari setelah dilakukan perlakuan pemberian seduhan kopi dan coklat selama 30 hari. Terminasi dilakukan dengan cara meletakkan kapas yang telah dibasahi dengan larutan ether. Toples ditutup rapat. Tikus dipastikan mati dengan memantau denyut jantung tikus dan dilakukan dislokasi tulang leher tikus.

8. Penanganan Sampah

a. Sampah bangkai tikus

Tikus yang telah diambil organnya dipastikan mati terlebih dahulu. Bangkai tikus dikubur dengan kedalaman kurang lebih 70 cm untuk mencegah bau bangkai tikus dan mencegah digali oleh hewan lain.

b. Kotoran tikus selama dan setelah penelitian

Sampah sekam dan kotoran tikus merupakan limbah infeksius, dimasukkan kedalam karung yang akan dibuang bersamaan limbah infeksius lain.

K. Teknik Analisis Data

Penilaian makroskopis organ berdasarkan warna, tekstur dan ukuran ginjal secara deskriptif. Pengamatan secara mikroskopis dilakukan dengan mengamati preparat pada 5 lapang pandang perbesaran 400x dihitung nilai rerata kerusakan. Data yang didapat pada penelitian diuji normalitasnya menggunakan uji *Shapiro-Wilk*. Jika didapatkan data distribusi normal dilakukan uji statistik parametrik ANOVA dan jika didapatkan perbedaan yang bermakna dilakukan uji statistik Post Hoc dengan menggunakan uji Tukey. Sedangkan jika didapat data distribusi tidak normal dilakukan uji statistik non parametrik *Kruskal Wallis*, Uji *Mann Whitney* dilakukan jika pada hasil uji *Kruskal Wallis* terdapat perbedaan yang bermakna dengan ketentuan:

Jika $p \leq 0,05$, ada perbedaan yang bermakna

Jika $p > 0,05$ tidak ada perbedaan yang bermakna

Tabel 3. 1 Kriteria Penilaian Mikroskopis Histologi Ginjal

No	Deskripsi	Kualitas	
		Skala ordinal	Nilai
1	Inti sel bulat berwarna biru, sitoplasma berwarna merah	Normal	1
2	Inti membesar dan bergelembung, kromatin jarang	Degenerasi	2
3	Inti terlihat lebih kecil. Inti menjadi lebih padat (piknotik), inti tampak pecah/ hancur bersegmen-segmen (karioreksis), inti hilang (kariolisis)	Nekrosis (sel piknotik, karioreksis, kariolisis)	3

Sumber : Almunawati *dkk.*, 2017, Intan *dkk.*, 2018 dan Noventi & Imanto., 2019.

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Pemberian seduhan kopi dan seduhan coklat dengan dosis bertingkat 3 mg/200g/hari, 6 mg/200g/hari dan 12 mg/200g/hari per oral selama 30 hari menyebabkan perubahan histologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar berupa degenerasi dan nekrosis (Piknotik, karioreksis dan kariolisis) pada tubulus ginjal. Seduhan kopi 3 mg/200g/hari, 6 mg/200g/hari dan seduhan coklat 3 mg/200g/hari, 6 mg/200g/hari menyebabkan degenerasi, sedangkan seduhan kopi 12 mg/200g/hari dan seduhan coklat 12 mg/200g/hari dapat menyebabkan nekrosis. Dosis yang diberikan semakin tinggi, maka kerusakan ginjal yang terjadi semakin parah.

B. Saran

1. Bagi Peneliti Selanjutnya

Penelitian ini dapat dijadikan acuan penelitian selanjutnya, disarankan peneliti selanjutnya untuk mencoba menggunakan bahan dan dosis yang berbeda. Perlu adanya kontrol positif sebagai pembanding.

2. Bagi Akademik

Penelitian ini dapat menambah referensi buku yang lebih lengkap dan dapat menambah perbendaharaan skripsi dalam bidang sitohistoteknologi.

3. Bagi Masyarakat Umum

Memberi informasi kepada masyarakat umum tentang efek konsumsi kopi dan coklat secara berlebihan

DAFTAR PUSTAKA

- Aditya, I. W., Nocianitri, K. A., & Yusasrini, N. L. A. (2016). Kajian Kandungan Kafein Kopi Bubuk, Nilai pH dan Karakteristik Aroma dan Rasa Seduhan Kopi Jantan (Pea berry coffee) dan Betina (Flat beans coffee) Jenis Arabika dan Robusta. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan (Itepa)*, Vol.5 No.1, 148–160.
- Afoakwa, E. O. (2016) *Chocolate Science and Technology*. Second Edition. WILEY Blackwell. doi: 10.1002/9781118913758
- Apriliyanto M. A., Purwadi, & Dimas D. (2018). Daya saing komoditas kopi(Coffea Sp.) di Indonesia. *JURNAL MASEPI*, Vol.3 No.2.
- Almunawati, Budiman, H., & Aliza, D. (2017). Histopatologi Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Yang Diinjeksi Formalin. *JIMVET*, Vol.1 No.3, 424–431.
- Aprotosoai, A. C., Luca, S. V., & Miron, A. (2016). Flavor Chemistry of Cocoa and Cocoa Products-An Overview. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, Vol.15, 73–91. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12180>.
- Babatunde, A., Oluseyi, T., Kehinde, O., & Andrew, O. (2017). Determination and Characterization of Caffeine in Tea, Coffee and Soft Drinks by Derivative Spectrophotometry and High Performance Liquid Chromatography. *Biomedicine and Nursing*, Vol.3 No.2.
- Budijanto, D. (2013). *Populasi, Sampling, dan Besar Sampel*. Kementerian Kesehatan RI.
- Devangga, K., Dewi, A. K., & Hermanto, B. (2018). Pengaruh Pemberian Triheksifenidil Dosis Bertingkat Per Oral terhadap Diameter Lumen Tubulus Ginjal Mus Musculus. *eJournal Kedokteran Indonesia*, Vol.5 No.3, 151–154. <https://doi.org/10.23886/ejki.5.7166.151-54>

- Ernawati, L., Witjahyo, B., & Ismail, A. (2018). Pengaruh Pemberian Ekstrak Cabai Rawit (*Capsicum frutescens* L.) Terhadap Gambaran Mikroskopis Ginjal Mencit Balb/c. *Diponegoro Medical Journal*, Vol.7 No.4, 1647–1660.
- Fahrimal, Y., Rahmiwati dan Aliza, D. (2016) “Gambaran histopatologis ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang diinfeksi trypanosoma evansi dan diberi ekstrak daun sernai (*Wedelia biflora*). *Jurnal Medika Veterinaria*, Vol.10 No.2, hal. 166–170.
DOI: <https://doi.org/10.21157/j.med.vet.v10i2.4386.q3771>
- Farhaty, N. dan Muchtaridi. (2014). Tinjauan Kimia Dan Aspek Farmakologi Senyawa Asam Klorogenat Pada Biji Kopi : Review. *Farmaka Suplemen*, Vol.14 No.1, hal. 214–227
- Febriyani, N. M. P. S., Hardinsyah, & Briawan, D. (2012). Minuman Berkalori dan Kontribusinya terhadap Total Asupan Energi Remaja dan Dewasa. *Jurnal Gizi dan Pangan*, Vol.7 No.1, 35–42.
- Franco, R., Oñatibia-Astibia, A., & Martínez-Pinilla, E. (2013). Health benefits of methylxanthines in cacao and chocolate. In *Nutrients* Vol.5 (hal. 4159–4173) *ISSN 2072-6643*.
- Guyton, & Hall. (2016). *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. In Elsevier, Singapura (12 ed.).
- Hau, J. & Schapiro, S. J. (2013) *Handbook of laboratory animal science: Animal models*, Volume III, Third Edition. doi: 10.1201/b16317
- Hayati. (2012). Penggunaan Kafein dalam Dunia Olahraga dan Efeknya Sebagai Ergogenik. *WAHANA*, Vol.58 No.1.
- Hiatt, L. P. G. and J. L. (2017). *Color Atlas and Text of Histology*. 7th Edition. Philadelphia : Wolters Kluwer.
- Hidayat, R., Hendri, B. dan Nuning, N. (2013). Histopatologi Ginjal Mencit (*Mus musculus* L.) Jantan Akibat Radiasi Cahaya Lampu Merkuri. *Jurnal Ilmiah:*

Biologi Eksperimen dan Keanekaragaman Hayati, Vol.1 No.2, hal. 78–82

Higdon, J. V., & Frei, B. (2006). Coffee and health: A review of recent human research. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, Vol.46, 101–123.
<https://doi.org/10.1080/10408390500400009>

Intan, A. E. K., Manggau, M. A., & Cangara, H. (2018). Studi Histopatologi Organ Hati dan Ginjal dari Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) setelah Pemberian Dosis Tunggal dan Berulang Ekstrak Etanol Parang Romang (*Boehmeria virgata* (FORST) GUILL). *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, Vol.22 No.2, 64–68.
<https://doi.org/10.20956/mff.v22i2.5704>

Karmawati, K., Zainal, M., Syakir, M., Ardaba, K., & Rubiyo. (2010). *Budidaya dan Pasca Panen Kakao*. Bogor: Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan(Puslitbang Perkebunan).

Kemenkes, RI 2015. *Panduan Penatalaksanaan Kanker Payudara*. Jakarta: KEMENKES RI Komite Penanggulangan Kanker Nasional.

Kementrian Pertanian. 2016. *Outlook Komoditas Pertanian Sub Sektor Perkebunan Kakao*. Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian Sekretariat Jendral Kementrian Pertanian.

Kementrian Pertanian. 2017. *Outlook Komoditas Pertanian Sub Sektor Perkebunan Kopi*. Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian Sekretariat Jendral Kementrian Pertanian.

Khristian, E., & Inderiati, D. (2017). *Sitohistoteknologi*. Jakarta: KEMENKES RI Pusat Pendidikan SDM Kesehatan.

Kumar, V., Cotran, R. S., & Robbins, S. L. (2007). *Buku Ajar Patologi Robbins Edisi 7 Vol 1*. Jakarta: EGC.

Mappa I. S., Kairupan, C., & Loho, L. (2013). Gambaran Histologi Ginjal Tikus Putih (*Wistar*) setelah Pemberian Rifampisin. *Jurnal e-Biomedik*, Vol.1 No.1, 338–342.

- National Association for Biomedical Research. (2016). The essential need for animals in medical research : Mice and Rats. *Foundation for Biomedical Research*.
- Noventi W., R. H., & Imanto., M. (2019). Pengaruh Pemberian Minyak Jelantah terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur Sprague dowley. *Agromedicine Journal*, Vol.6 No.1, 159–166.
- Nugraheni, F. T., Dewi, M., & Septiyana, R. (2017). Perbandingan Rendemen Kristal Kafein pada Biji Kopi (*Coffea arabica* L.) dan Coklat (*Theobroma cacao* L.) dengan Menggunakan Metode Refluks. *Cendekia Journal of Pharmacy*, Vol.1 No.1, 41–48. <https://doi.org/10.31596/cjp.v1i1.6>
- Oktaria, S. (2019). Hubungan Antara Konsumsi Minuman Berkafein dengan Pola Tidur pada Mahasiswa Teknik. *Jurnal Kesehatan Masyarakat & Gizi(JKG)*, Vol.1 No.2. <https://doi.org/10.35451/jkg.v1i2.110>
- Peláez, P., Bardón, I., & Camasca, P. (2016). Methylxanthine and catechin content of fresh and fermented cocoa beans, dried cocoa beans, and cocoa liquor. *Scientia Agropecuaria*, Vol.7 No.4, 355–365. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2016.04.01>
- Prastowo B., Elna K., Rubijo, Siswanto, Chandra I., S. J. M. (2010). *Budidaya dan Pasca Panen Kopi*. Bogor: Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan(Puslitbang Perkebunan).
- Prasetyaning, U., Andari, D. dan Agustini, S. (2017). Pengaruh Pemberian Minuman Berenergi Subakut Terhadap Gambaran Histologi Ginjal Tikus Putih Strain Wistar. *Saintika Medika*. Vol.9 No.1, 46-53. DOI: <https://doi.org/10.22219/sm.v9i1.4125>
- Rahardjo, P. (2012). *Panduan Budidaya dan Pengolahan Kopi Arabika Robusta*. Penebar Swadaya.

- Richard L. Drake, A. Wayne Vogl, Adam W.M. Mitchell, Richard M. Tibbitts, and Paul E. Richardson. (2008). *Gray's Atlas of Anatomy*. 3rd Edition. Philadelphia : Elsevier.
- Rizza, Robert A, Go., Vay Liang W., M. Molly Mc Mahon, M.D., G. G. H. (2002). *Encyclopedia of Foods : A Guide to Healthy Nutrition*. Academic Press : London, 403 – 406.
- Rohman, J. H. F. *et al.* (2021). Efek Minuman Berenergi terhadap Histopatologis Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). *Media Bina Ilmiah*, Vo.15 No.7, (hal. 4835–4848) *ISSN 2615-3505*.
- Selviana, B. Y. (2015). Effect of Coffee and Stress with the Incidence of Gastritis. *J majority*, Vol.4 No.2, 1–5.
- Sinala, S. (2016). *Farmasi Fisik*. Pusdik SDM Kesehatan, Kemenkes RI, 41
- Stevani, H. (2016). *Praktikum Farmakologi*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Sudibyoy, A. (2012). Peran Coklat Sebagai Produk Pangan Derivat Kakao yang Menyehatkan. *Jurnal Riset Industri*, Vol.6 No.1, 23–40.
- Suhita, R. P. L. ., Sudira, I. . dan Winaya, I. B. O. (2013). Histopatologi Ginjal Tikus Putih Akibat Pemberian Ekstrak Pegagan (*Centella asiatica*) Peroral. *Buletin Veteriner Udayana*.
- Suyanto (2016). *Modul Bahan Ajar : Patologi*. Kemenkes RI, 55.
- Tofovic, S. P. *et al.* (2002). Long-term caffeine consumption exacerbates renal failure in obese, diabetic, ZSF1 (fa-facp) rats. *Kidney International*. Vol.61 1444. DOI:<https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.2002.00278.x>.
- Umoh, I., & Jimmy, E. (2017). A Comparative Histopathological Effect of Caffeinated and Decaffeinated Coffee on the Histomorphology of the Kidney

of Adult Male Albino Wistar Rats. *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, Vol.12 No.3. <https://doi.org/10.9790/3008-1203056266>