



Gambaran Histologi Ginjal Tikus Wistar (*Rattus norvegicus* Berkenhout 1769) Akibat Pemberian Kopi Putih

Kidney Histology of Wistar Rats (*Rattus norvegicus* Berkenhout 1769) Due to White Coffee

Yola Alunsa Agi ¹⁾, Titrawani ^{1) *}

¹⁾ Laboratorium Terpadu, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Riau, Pekanbaru, 28293

SUBMISSION TRACK

Submitted : 2021-02-07
Revised : 2021-11-17
Accepted : 2021-11-24
Published : 2021-12-04

KEYWORDS

White Coffee,
Kidney Histology,
Glomerulus

*CORRESPONDENCE

email:
titrawani@lecturer.unri.ac.id

ABSTRACT

Coffee is a drink that is very popular with the people of Indonesia and in other countries. Coffee has many benefits but on the other hand coffee can also damage health, the dangerous content in coffee is caffeine and cafeic acid. The effect of coffee consumption is still a matter of controversy, one of which is the effect on the kidneys, because the kidneys are the main excretory organ for removing metabolic waste from the body. The kidney is the second organ after the liver, which is most often the target of damage by chemicals. This study aims to determine the effect of multilevel doses of white coffee on the histological picture of rats' kidneys. This research is a completely randomized design study with four 4 treatments and four 4 replications. Consists of K (distilled water), P1 (0.36 ml), P2 (1.08 ml) and P3 (2.16 ml). The results of this study showed that macroscopic observations of the administration of white coffee civet coffee solution with different doses showed that the kidneys looked normal. It is characterized by the shape of the kidney like a pea and brownish red in color. The P0 group was significantly different from the P1, P2, P3 groups. The P1 group was significantly different from the P0 group and the P2 group, P3. The P2 group was significantly different from the P0, P1 and P2 groups. The P3 group was significantly different from the P0, P1 and P2 groups. This study concluded that white coffee in multilevel doses affects the histopathology of kidneys in rats.

PENDAHULUAN

Di Indonesia saat ini terdapat berbagai macam jenis minuman siap saji yang di jual dipasaran, hal ini disesuaikan karena perkembangan teknologi yang semakin pesat. Pada tahun 2006 lebih dari 500 minuman siap saji baru diperkenalkan diseluruh dunia (Malinauskas 2007). Jenis minuman siap saji yang banyak dikonsumsi masyarakat yaitu minuman siap saji seperti kopi dan minuman bersoda lainnya. Penggunaan kopi semakin meningkat seiring dengan kemajuan pengolahan dan penyajian kopi yang mempengaruhi kualitas dan kenikmatan kopi. Kreatifitas dan cara hidup masyarakat Indonesia yang berbeda-beda ini yang mampu menciptakan berbagai produk minuman siap saji.

Kopi merupakan salah satu minuman yang sangat digemari oleh masyarakat Indonesia

maupun di negara lain. Kopi memiliki cita rasa yang nikmat sehingga membuat masyarakat tertarik untuk mengkonsumsinya. Seiring berjalannya waktu, produk kopi yang terdapat dipasaran semakin beragam menyesuaikan perkembangan teknologi yang semakin pesat. Salah satu produk kopi yang paling populer saat ini yaitu. Kopi Putih pertama kali diperkenalkan oleh PT. Javaprima Abadi Semarang, perusahaan ini berusaha untuk memenuhi nilai konsumen dengan menawarkan kopi yang aman bagi lambung dengan harga yang sangat murah dipasaran (Lin N 2007). Kandungan yang berbahaya di dalam kopi yaitu kafein, karena kafein memiliki hubungan yang signifikan terhadap penurunan kepadatan mineral yang dapat menyebabkan kondisi keadaan suatu kualitas tulang menurun. Kafein memiliki sifat diuretik, sebuah kondisi dimana kopi mampu mempengaruhi proses penyerapan cairan di

dalam darah dan akhirnya berdampak buruk pada kondisi kesehatan dan fungsi ginjal (Arciero et al 1998). Mengonsumsi kopi dalam jumlah banyak dan dalam jangka panjang membuat penyakit ginjal menjadi semakin memburuk. Penderita penyakit ginjal mengonsumsi kopi tidak lebih dari empat cangkir perhari, karena mengonsumsi kopi secara berlebihan bisa meningkatkan kadar potasium dalam darah (Johnston et al 2003). Konsumsi kafein yang aman untuk dikonsumsi adalah 200-400mg/hari sama dengan sekitar 2-4 cangkir kopi per hari.

Kandungan kopi putih dalam 1 porsi terdiri dari 110 kalori, 3g Lemak, 3g lemak jenuh, 0g lemak trans, 0g lemak tak jenuh ganda, 0g lemak tak jenuh tunggal, 2 mg kolestrol, 1g protein, 15g karbohidrat, 1g serat, 11g gula, 30mg sodium, 0,5-1% kafein, 1,00-1,16% asam klorogenat.

Penelitian terkait yang dilakukan oleh Makna Bhara (2009) yang berjudul pengaruh pemberian kopi dosis bertingkat peroral 30 hari terhadap gambaran histologi hepar tikus wistar. Hasil penelitian ini menunjukkan terjadinya perubahan gambaran histologis hepar tikus wistar berupa degenerasi parenkimatosa, degenerasi hidropik dan nekrosis. Penelitian lain yang terkait telah dilakukan oleh Bakti Ciptaning Gerhastuti (2009) yang berjudul pengaruh pemberian kopi dosis bertingkat peroral 30 hari terhadap gambaran histologi ginjal tikus wistar. Hasil Penelitian ini menunjukkan tidak adanya kerusakan tubulus proksimal yang berbeda bermakna pada kelompok P1 dibanding kelompok kontrol ($p>0,05$) sedangkan pada kelompok P2 dan P3 terdapat kerusakan tubulus proksimal yang berbeda bermakna dibandingkan dengan kelompok kontrol ($p>0,05$).

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juli hingga Oktober 2019. Penelitian dilakukan di Laboratorium Zoologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,

Universitas Riau, Pekanbaru. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 4 ulangan. Terdiri dari K (akuades), P1 (0,3 ml), P2 (1,08 ml) dan P3 (2,16 ml). Pengamatan dilakukan selama 30 hari, Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) bobot badan 200-250 gram. Perhitungan dosis ini dilakukan berdasarkan penelitian Makna Bhara (2009) dengan mengkonversikan dosis yang diminum oleh manusia terhadap tikus putih, dimana tikus dengan berat badan 200 gram adalah 0,018 dosis manusia berdasarkan tabel konversi perhitungan dosis Lawrance & Bacharach (1964). Dalam penelitian ini yang diamati yaitu kerusakan pada sel glomerulus ginjal tikus putih (*Rattus norvigus*) dengan melihat setiap 5 sudut pandang pada preparat ginjal.

Sebelum dilakukan pembuatan preparat awetan terlebih dahulu dilakukan pengambilan organ ginjal pada tikus. Pembuatan preparat sampel jaringan pada organ ginjal dengan metode parafin. Pengambilan sampel organ yang akan diperiksa dan difiksasi dengan larutan BNF (*Buffered Neutral Formalin*) 10% selama 24 jam. Selanjutnya sampel organ tersebut direndam dengan alkohol 70%. Proses pemotongan organ secara Selanjutnya perendaman jaringan ginjal kedalam BNF 10% selama 15 menit dan dibilas pada air mengalir. Kemudian dilakukan proses dehidrasi. Secara bertahap dengan alkohol 30%, 50%, 70%, 90% dan ethanol serta xylol I dan xylol II masing-masing selama 45 menit. Proses infiltrasi, embedding, sectioning dengan ketebalan 6-7mikro. Potongan jaringan yang berbentuk pita dimasukkan kedalam water bath Kemudian potongan jaringan diambil dengan menggunakan gelas objek Selanjutnya jaringan dipanaskan dalam oven dengan suhu 40°C selama semalam. Deferafinisasi. Sampel dimasukkan kedalam ethanol I, ethanol II, Alkohol bertingkat 96%, 80%, 70%, masing-masing larutan selama 2 menit. Tahapan pewarnaan sampel menggunakan Hematoxylin-Eosin (HE). Sampel dimasukkan kedalam hematoxilin selama 8 menit, kemudian celupkan kedalam aquades sebanyak 3 kali celup. Baru

dimasukkan ke dalam eosin selama 4menit. Kemudian dicelupkan lagi ke dalam aquades sebanyak 3 kali celup. Kemudian dimasukkan ke dalam alkohol bertingkat 70%, 80%, 95%, Ethanol I, Ethanol II masing-masing selama 2 menit. Kemudian dimasukan ke dalam xylol I, xylol II selama 3 menit. Kemudian dilakukan mounting pengamatan dengan mikroskop dan sekaligus dokumentasi dengan fotomikrografi (Muntiha M 2001). Setelah itu dilakukan analisis data, jika didapatkan data normal maka dilakukan uji beda menggunakan ANOVA (*analysis of variance*) dan jika didapatkan perbedaan yang bermakna maka dilanjutkan ddengan uji lanjut DMRT (*Duncant Multiple Range Test*) dengan program SPSS pada taraf signifikan 5% (Matjik & Sumertajaya 2002) kemudian dihitung persentase kerusakan menggunakan rumus menurut Baldatina (2008).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil pengamatan terhadap kerusakan morfologi pada tikus putih selama 30

hari penelitian terjadinya penurunan berat badan dari setiap perlakuan (P1, P2 dan P3) dibandingkan dengan P0. Penimbangan berat badan tikus putih dilakukan setiap 1 minggu sekali untuk mengetahui kondisi tikus putih sebelum dan setelah pemberian kopi putih. Penurunan berat badan tikus putih pada kelompok perlakuan disebabkan tikus mengalami stress. Penurunan berat badan sejalan dengan peningkatan kadar hormon kortikosteron yang merombak cadangan glukosa dan lemak untuk penyediaan sumber energi metabolisme yang digunakan dalam merespon stre sehingga terjadilah penurunan berat badan pada tikus putih (Ridwan A *et al* 2012). Peningkatan berat badan tikus pada kelompok kontrol disebabkan oleh terdapatnya kandungan protein pada pemberian makanan yaitu voer babi. Protein berperan penting dalam pertumbuhan dan pemeliharaan jaringan tubuh, juga sebagai sumber energi manusia dan hewan,sehingga kemungkinan dapat meningkatkan status gizi tikus dengan peningkatan berat badan tikus putih (Asmara *et al* 2007).

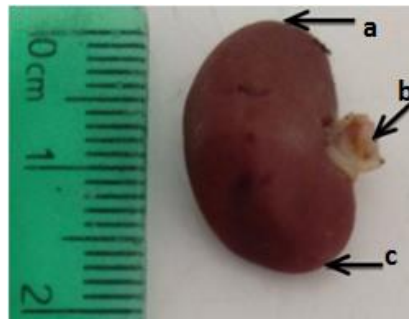
Tabel 4.1 Pengamatan Morfologi Tikus Putih

Perlakuan	Rerata Berat Badan Tikus	Bentuk Fisik Tikus
P0	213,5 gr	Berat badan meningkat
P1	201,81 gr	Berat badan menurun
P2	200,75 gr	Berat badan menurun
P3	199,87 gr	Berat badan menurun

Ket : P0: Kontrol, P1: Dosis 0,36 ml/hari, P2: Dosis 1,08 ml/hari, P3: Dosis 2,16 ml/hari

Pada pengamatan makroskopis ginjal tikus putih pada P0 maupun P1, P2, P3 dengan dosis yang berbeda tampak bahwa organ ginjal tikus putih berwarna merah kecoklatan dengan bentuk menyerupai kacang polog. Bagian atas dan bagian bawah dari ginjal tikus putih tampak cembung sedangkan bagian dari tepi medal dari ginjal tampak cekung karena ditemukannya adanya hilus (Syaiyuddin 2003). Pada umumnya batas medial ginjal berbentuk konkaf dan

memiliki hilus renalis (Kusumajayanti 2007). Pada hari ke-30 setelah melakukan euthanasi pada semua tikus, kemudian dilakukan pengambilan dan persiapan organ ginjal untuk pembuatan preparat histologinya. Organ ginjal normal secara makroskopis akan terlihat seperti pada gambar 4.1



Gambar 4.1 Struktur Makroskopis Ginjal Tikus Putih. a) Anterior Ginjal, b) Hilus Ginjal, c) Posterior Ginjal.

Pengamatan struktur makroskopis pada perlakuan organ ginjal dilihat dari perubahan warna dan bentuk ginjal tersebut. Berdasarkan hasil pengamatan terhadap organ ginjal tikus putih dari tiga perlakuan dengan dosis yang berbeda menunjukkan organ ginjal tampak normal, karena tidak mengalami kelainan bentuk ataupun perubahan warna dimana pada kelompok kontrol maupun perlakuan menunjukkan warna brown red sesuai dengan standar warna *westwood security shutters* 2012 (Gambar 4.1). Organ ginjal dikatakan normal jika berwarna merah kecoklatan dan menyerupai kacang polong (Snell 2006). Pemeriksaan organ secara makropatologi merupakan salah satu indikator yang berguna bagi toksisitas untuk mengetahui adanya gejala kerusakan pada organ sasaran (Lu 1994). Setelah pembedahan tidak ditemukan perubahan makroskopis pada ginjal hal tersebut dapat terjadi karena jarak antar dosis tidak terlalu besar. Jika bentuk ginjal dan warna ginjal berubah disebabkan efek dari pemberian perlakuan ataupun efek dari luar perlakuan seperti stress tikus, tikus sakit sebelum diberikan perlakuan.

Pada penelitian ini dilakukan pengamatan pada sel glomerulus dengan menghitung sel glomerulus abnormal. Berdasarkan Tabel 4.2 dikatakan bahwa rerata persentase kerusakan sel glomerulus yang tertinggi pada P3 sebesar $78,19 \pm 5,07^d$, sedangkan rerata nilai persentase kerusakan sel glomerulus yang terendah adalah pada P0 dengan memiliki nilai persentase kerusakan sebesar $21,52 \pm 9,89^a$.

Nilai kerusakan sel glomerulus yang terjadi pada kontrol seharusnya adalah 0%. Hal ini terjadi karena adanya pengaruh faktor luar yang tidak bisa dikendalikan seperti kondisi awal ginjal tikus sebelum diberi perlakuan maupun faktor psikologis tikus tersebut (Khakim 2007). Selain itu pengaruh faktor eksternal seperti kondisi lingkungan dan makanan yang tidak higienis sehingga dapat menyebabkan gangguan kesehatan pada tikus tersebut. Keadaan stress pada tikus juga dapat meningkatkan aktivitas enzim sitosol yang menimbulkan efek pada ginjal dan jantung (Sanchez et al 2002).

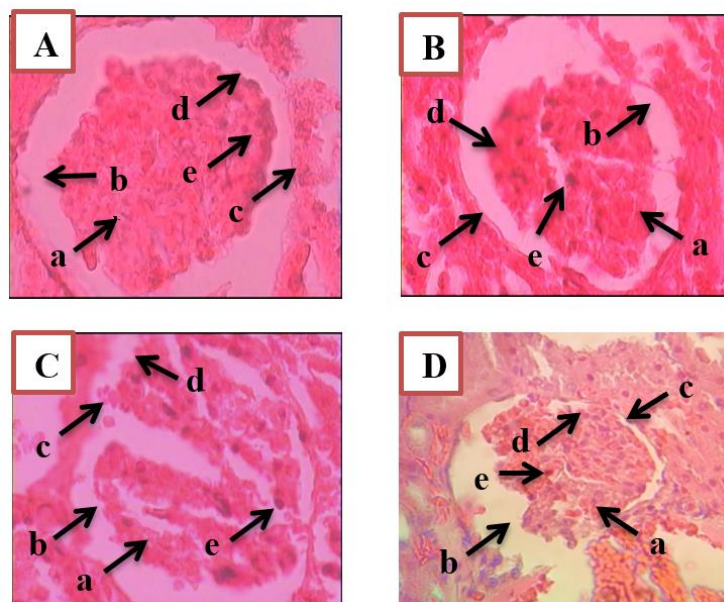
Hasil Uji ANOVA pada pembengkakan glomerulus diperoleh nilai P sebesar 0,000. Nilai $P < 0,05$ yang artinya terdapat perbedaan nyata persentase kerusakan histologi ginjal tikus putih pada tiap perlakuan. Hasil uji DMRT menunjukkan perbedaan yang nyata antara pemberian kopi luwak white koffee P1, P2, P3 dengan perbandingan berupa P0. Nilai kerusakan P0 lebih rendah dibandingkan dengan P1, P2, dan P3.

Pada skoring kerusakan sel glomerulus tikus putih menunjukkan bahwa nilai kerusakan sel glomerulus pada kontrol berada pada kisaran nilai kerusakan 0%-25%. Pada P1 nilai kerusakan sel glomerulus yang dialaminya berada pada kisaran nilai kerusakan 26%-50%. P2 nilai kerusakan sel glomerulus yang dialaminya berada pada kisaran nilai kerusakan 50%-75%. Sedangkan pada P3 nilai kerusakan sel glomerulus yang dialaminya berada pada kisaran nilai kerusakan $>75\%$.

Tabel 4.2 Persentase dan Skoring Kerusakan Sel Glomerulus Ginjal Tikus Putih

Perlakuan	Persentase Rerata Kerusakan (%)	Skoring Kerusakan
P0	21,52±9,89 ^a	0
P1	47,41±1,57 ^b	1
P2	56,97±4,24 ^c	2
P3	78,19±5,07 ^d	3

Keterangan: P0: Kontrol, P1: Perlakuan 1, P2: Perlakuan 2, P3: Perlakuan 3. Nilai Hasil Skoring 0: Normal, 1: Ringan, 2: Sedang, 3: Berat, angka-angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama berbeda nyata pada taraf kepercayaan 5%



Gambar 4.2 Struktur Histologi ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). Pewarnaan *Hematoxylin-Eosin*. Perbesaran 400x. Keterangan A: Kontrol, B: Perlakuan 1, C: Perlakuan 2, D: Perlakuan 3. a: Glomerulus, b: Ruang Bowman, c: Epitelium pars parietalis, d: Epitelium pars visceralis, e: Inti Piknosis.

Pada Gambar A menunjukkan sediaan histologi ginjal tikus putih P0. Berdasarkan hasil pengamatan tampak bahwa sediaan histologi ginjal pada kontrol menunjukkan adanya beberapa kerusakan yang ditemukan pada glomerulus berupa inti piknosis namun hanya dalam jumlah kecil. Preparat histologi ginjal untuk kontrol masih terlihat dalam keadaan normal. Hal ini ditandai dengan tampak inti glomerulus yang bulat dan terletak didalam sel. Selain itu bagian epitelium pars visceralis dan bagian epitelium pars parietalis tampak jelas dan ruang bowman juga melingkupi glomerulus. Hal

tersebut dapat terjadi karena faktor yang dapat mempengaruhi hasil penelitian seperti kondisi kandang yang kurang ideal, pemberian pakan dan minum yang kurang bervariasi, faktor stress tikus, pengaruh zat atau penyakit lain serta faktor internal lain seperti daya tahan dan kerentanan tikus.

Pada Gambar B menunjukkan struktur histologi ginjal tikus putih dengan pemberian kopi luwak white koffee dengan dosis 0,36 ml ditemukan adanya beberapa kerusakan berupa inti piknosis. Kerusakan yang terjadi tidak mempengaruhi bentuk dari glomerulus. Hal ini

ditandai dengan preparat histologi ginjal tikus putih ruang bowman tidak mengalami penyempitan. Epitelium pars visceralis dan epitelium pars parietalis masih dapat terlihat dengan jelas. Kerusakan yang terjadi pada inti sel glomerulus masih dalam persentase yang ringan (Tabel 4.3). Penelitian yang terkait yaitu dengan judul pengaruh dosis dan lama perlakuan ekstrak daun kaliandra merah (*Calliandra calothyrsus* Meissn.) terhadap struktur histologi ginjal mencit (*Mus musculus* L.) dengan kerusakan histologi ginjal berupa edema, penyempitan glomerulus dan endapan protein, menunjukkan ada korelasi antara dosis dan lama perlakuan, namun korelasi terjadi pada jenis kerusakan degenerasi lemak, hemoragi dan inti piknotik (Assiam et al 2014).

Pada Gambar C menunjukkan sediaan histologi ginjal tikus putih Perlakuan 2 dengan dosis 1,08 ml. Berdasarkan hasil pengamatan pemberian kopi luwak white koffie terhadap histologi ginjal tikus putih tampak hanya ditemukan beberapa kerusakan pada sel glomerulus ginjal. Kerusakan yang ditemukan berupa inti mengalami piknosis. Kerusakan yang terjadi dalam persentase sedang (Tabel 3.1). Hal ini ditandai ruang bowman pada glomerulus masih terlihat jelas. Epitelium pars parietalis dan epitelium pars visceralis sudah mengalami penyempitan sehingga tidak dapat dibedakan. Adanya perbedaan persentase kerusakan sel glomerulus yang terjadi akibat pemberian white koffie dari setiap perlakuan dapat disebabkan oleh adanya perbedaan dosis disetiap perlakuan. Perbedaan dosis tentu saja memberikan pengaruh ataupun efek yang berbeda terhadap ginjal tikus putih. Hal ini didukung dalam penelitian sebelumnya yang membuktikan bahwa setelah pemberian minuman bernergi selama 30 hari dengan dosis yang bertingkat menunjukkan peningkatan jumlah sel nekrosis pada sel epitel tubulus proksimal ginjal (Prasetyaning U et al 2013). Wibowo (2012) yang telah melakukan penelitian yang berjudul pengaruh formalin peroral dosis bertingkat selama 12 minggu terhadap gambaran histopatologis ginjal tikus wistar. Pemberian formalin selama 12 minggu secara peroral menyebabkan terjadinya

perubahan histopatologis ginjal tikus wistar, perubahan yang terlihat berupa atrofi dan degenerasi sel.

Pada Gambar D menunjukkan struktur histologi ginjal tikus putih perlakuan 3 dengan pemberian kopi luwak white koffie dengan dosis 2,16 ml. Berdasarkan hasil pengamatan tampak bahwa sediaan histologi ginjal pada perlakuan 3 ditemukan kerusakan pada glomerulus dalam jumlah banyak berupa inti mengalami piknosis. Kerusakan yang terjadi mengalami perubahan bentuk, hal ini terlihat ruang bowman mengalami penyempitan akibat menyatunya epitelium pars parietalis dan epitelium pars visceralis. Kerusakan yang terjadi termasuk kedalam kategori berat dengan persentase sebesar $78,19 \pm [5,07] \text{ } ^d$ (Tabel 4.3). Hal ini didukung dalam penelitian yang telah dilakukan oleh Pasma (2016) yang berjudul pengaruh minuman berenergi terhadap terjadinya penyakit ginjal kronis pada hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan marker imunohistokimia alfa-smooth muscle actin. Hasil pengamatan histopatologi organ ginjal hewan coba terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif ($p > 0,01$) dan antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan ($p > 0,01$).

Kerusakan yang tampak pada sediaan histologi berupa inti sel dari sel glomerulus mengalami nekrosis berupa piknosis yaitu inti tampak lebih padat dan berwarna gelap. Sulistyowati 2010, menyatakan bahwa glomerulus yang normal ditandai dengan kapsula bowman melingkupi secara keseluruhan dan tampak seperti mangkuk. Glomerulus normal memiliki bentuk polihedral, inti bulat berada didalam sel, sitoplasma yang ada didalam sel tampak jernih serta bagian epitelium par visceralis dan epitelium pars parietalis masih terlihat jelas (Septina & Kurniati 2009).

Hasil analisis persentase kerusakan sel glomerulus pada pemberian larutan kopi luwak *white koffie* dengan tingkat dosis yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata dari setiap perlakuan. Pemberian larutan kopi luwak *white koffie* dengan dosis yang bertingkat berbeda

nyata dengan kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan larutan kopi luwak *white koffie* dengan tingkat dosis yang berbeda memberikan pengaruh atau efek yang tidak baik bagi kesehatan jika dikonsumsi dengan jumlah yang banyak.

Adanya perubahan yang terjadi pada struktur ginjal terutama pada bagian sel glomerulus diakibatkan oleh bagian tersebut sering terpapar zat-zat maupun bahan asing yang masuk kedalam tubuh. Tresnati *et al* (2007), menyatakan bahwa fungsi penyaringan oleh ginjal dimulai dari glomerulus yakni pembentukan ultrafilter dari plasma, selanjutnya filtrat akan masuk kedalam kapsula bowman dan menuju lumen tubulus.

KESIMPULAN

Pada pengamatan mikroskopis histologi ginjal tikus putih setelah pemberian larutan kopi luwak *white koffie* kerusakan sel glomerulus yang tertinggi pada P3 (2,16 ml) sebesar $78,19 \pm 5,07^d$ dengan skoring kerusakan mencapai $>75\%$. Hasil pengamatan histopatologi ginjal tikus putih berbeda nyata dari kelompok perlakuan terhadap kelompok kontrol.

SARAN

Saran bagi penelitian selanjutnya yaitu, melakukan penelitian dengan variabel yang sama dengan dosis yang lebih sedikit. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh pemberian kopi jenis lain terhadap gambaran histologi ginjal tikus putih dengan jumlah lapang pandang atau preparat yang lebih banyak.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada pembimbing skripsi Ibu Dra. Titrawani, M.Si. Kepada penguji Bapak Dr.rer.nat. Radith Mahatma, M.Si dan Ibu Ennie Cahyadi, S.Si, M.Si atas saran dan masukannya dalam penulisan skripsi.

DAFTAR PUSTAKA

- Arceiro PJ., AW Gardner., NL Benowitz dan ET Poehlman. 1998. Relationship of Blood Pressure Heart Rate and Behavioral Mood State to Norepinephrine Kinetics in Younger and Old Men Following Caffeine Ingestion. *Europe Journal Clinical Nutrition*: 5-18.
- Asmara IY, Garnida D, dan Tanwiriah W. 2007. Penampilan Broiler yang Diberi Ransum Mengandung Tepung Daun Ubi Jalar (*Ipomoea batatas*) terhadap Karakteristik Karkas. Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran Bandung. *J.Indon.Trop.Anim.Agric*: 126-32.
- Baldatina. 2008. Parameter Skoring Evaluasi Tubulus dan Glomerulus Ginjal pada 10 Lapang Pandang. Fakultas Kedokteran Hewan. IPB.
- Bhara M. 2009. Pengaruh Pemberian Kopi Dosis Bertingkat Per Oral 30 Hari Terhadap Gambaran Histologi Hepar Tikus Wistar. [Skripsi]. Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Johnston K.L, Clifford M.N, Morgan L.M. 2003. Coffee Acutely Modifies Gastrointestinal Hormone Secretion and Glucose Tolerance in Human. *Glycemic Effect of Chlorogenic Acid and Caffeine*. 79 (4): 728-33.
- Khakim JL. 2007. Pengaruh Jus Buah Pepaya (*Carica papaya*) Terhadap Kerusakan Histologi Lambung Mencit Yang Diinduksi Aspirin. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Lawrence DR, Bacharach AI. 1964. Evaluation of Drug Activities: Pharmacometric. New York: Academic Press.
- Lin N. 2007. The Effect of Brand Image and Product Knowledge on Purchase Intention Moderated by Price Discount. *Journal of International Management*: 121-132.
- Matjik A.A & I M Sumertajaya. 2002. Perancangan Percobaan dengan Aplikasi SAS dan Minitab Jilid I. IPB Press. Bogor.

- Muntiha M. 2001. Teknik Pembuatan Preparat Histopatologi dari Jaringan Hewan dengan Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin. Balai Penelitian Veteriner, Bogor.
- Malinauskas BM, Aeby VG, Overton RF, et al., 2007, A Survey of Energy Drink Consumption Patterns Among College Students, *Nutr J*, 6:35
- Pasma Anggun FN. 2016. Pengaruh Minuman Berenergi Terhadap Terjadinya Penyakit Ginjal Kronis Pada Hewan Coba Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Dengan Marker Imunohistokimia alfa-smooth Muscle Actin. [Skripsi}. Fakultas Farmasi. Universitas Airlangga. Surabaya
- Prasetyaning U, Andari D, dan Agustini SM. 2013. Pengaruh Pemberian Minuman Berenergi Subakut Terhadap Gambaran Histologi Ginjal Tikus Putih Strain Wistar. *Jurnal Kedokteran*. Vol 9 No 1.
- Ridwan A, Zakaria Z, Barlian A. 2012. Pengaruh Fotoperiode terhadap Respon Stres dan Parameter Reproduksi pada Mencit Jantan (*Mus musculus L.*) Galur Swiss Webster. Institut Teknologi Bandung. *Jurnal Matematika & Sains*: 17 (1).
- Sanchez O, Arnau A, Pareje M, Poch E, Ramirez I, Soley M. 2002. Acute Stress Induced Tissue Injury in Mice; Different between Emotional and Social Stress. *Cell Stress International*. Barcelona. Hlm. 50(3): 82-119.
- Syaifuddin. 2003. Anatomi Fisiologi untuk Mahasiswa Keperawatan. EGC: Jakarta.
- Septina S & Kurniati R. 2009. Pengaruh Pendedahan Ekstrak Batang Tabar Kedayan (*Aristolochia papillifolia* Ding Hou) Terhadap Struktur Jaringan Ginjal Mencit (*Mus musculus L.*). *Bioprospek* 6(II): 16-22.
- Snell RS. 2006. Anatomi Klinik untuk Mahasiswa Kedokteran. Ed ke-6. Jakarta: EGC.