

**EFEKTIVITAS EKSTRAK CERI KOPI SEBAGAI  
NEUROPROTEKTOR PADA TIKUS DIABETES DIINDUKSI  
PAKAN TINGGI LEMAK DAN STREPTOZOTOSIN YANG  
MENGALAMI GANGGUAN KOGNITIF**



Oleh :

dr. Muhammad Zulfadhli

2208330003

**PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU BIOMEDIS  
FAKULTAS KEDOKTERAN ILMU KESEHATAN  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA  
MEDAN  
2025**

**EFEKTIVITAS EKSTRAK CERI KOPI SEBAGAI  
NEUROPROTEKTOR PADA TIKUS DIABETES DIINDUKSI  
PAKAN TINGGI LEMAK DAN STREPTOZOTOSIN YANG  
MENGALAMI GANGGUAN KOGNITIF**



Diajukan Sebagai Syarat Untuk Memperoleh Kelulusan Magister Biomedis

Oleh :

dr. Muhammad Zulfadhli

2208330003

**PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU BIOMEDIS  
FAKULTAS KEDOKTERAN ILMU KESEHATAN  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA  
MEDAN  
2025**



**FAKULTAS KEDOKTERAN ILMU KESEHATAN**

Jalan Gedung Arca No. 53 Medan 20217 Telp. (061) 7350163 – 7333162 Ext.

20 Fax. (061) 7363488

Website : [fk@umsu.ac.id](mailto:fk@umsu.ac.id)



**HALAMAN PENGESAHAN**

Tesis ini diajukan oleh

Nama : Muhammad Zulfadhli

NPM : 2208330003

Judul : Efektivitas Ekstrak Ceri Kopi Sebagai Neuroprotektor Pada Tikus Diabetes  
Diinduksi Pakan Tinggi Lemak dan Streptozotosin yang Mengalami Gangguan  
Kognitif

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian  
persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Magister Biomedik Fakultas  
Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara

**DEWAN PENGUJI**

Pembimbing 1,

(Dr. Emni Purwoningsih, S.Pd, M.Kes)

Pembimbing 2,

(Assoc. Prof. Dr. dr. Shahrul Rahman, Sp.PD, FINASIM)

Penguji 1

(Assoc. Prof. Dr. dr. Nurfadly, MKT)

Penguji 2

(dr. Lita Septina, Sp.PD(K))

Mengetahui,



Dekan FKIK UMSU

Ir. Siti Masitah, S.Pd, Sp.T.H, T.B.K.L., Subsp.Rino(K)

NIDN: 010609820

Ketua Program Studi

Magister FKIK UMSU

(Dr. Emni Purwoningsih, S.Pd, M.Kes)

NIDN: 0105048103 -

Ditetapkan di: .....

Tanggal .....

## HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya yang bertandatangan dibawah ini menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil karya saya sendiri dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Muhammad Zulfadhli  
NPM : 2208330003  
Judul Tesis : Efektivitas Ekstrak Ceri Kopi Sebagai  
Neuroprotektektor Pada Tikus Diabetes  
Diinduksi Pakan Tinggi Lemak dan  
Streptozotosin yang Mengalami Gangguan  
Kognitif

Demikianlah pernyataan ini saya perbuat, untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Medan, 24 September 2025

Muhammad Zulfadhli

## KATA PENGANTAR

Puji syukur saya ucapkan kepada Allah *Subhanahu Wata'ala* karena berkat rahmatNya, saya dapat menyelesaikan tesis ini dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk memperoleh gelar Magister Biomedis pada Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara. Saya menyadari bahwa, tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, sangatlah sulit bagi saya untuk menyelesaikan tesis ini. Oleh karena itu, saya mengucapkan terima kasih kepada:

1. dr. Siti Masliana Siregar, Sp.T.H.T.B.K.L., Subsp.Rino(K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.
2. Assoc. Prof. Dr. dr. Nurfadly, MKT selaku Wakil Dekan I Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.
3. dr. Muhammad Edy Syahputra, M.Ked (ORL-HNS), Sp.T.H.T.B.K.L. selaku Wakil Dekan III Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.
4. Dr. Emni Purwoningsih, S.Pd, M.Kes selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedis dan dr. Isra Thirsty, M.Biomed selaku Sekretaris Program Studi Magister Ilmu Biomedis.
5. Dr. Emni Purwoningsih, S.Pd, M.Kes selaku Dosen Pembimbing I yang telah meluangkan banyak waktunya untuk memberikan bimbingan dan pengarahan kepada penulis selama menyelesaikan Thesis ini.
6. Assoc. Prof. Dr. dr. Shahrul Rahman, Sp.PD, FINASIM selaku Dosen Pembimbing II yang telah meluangkan banyak waktunya untuk memberikan bimbingan dan pengarahan kepada penulis selama menyelesaikan Thesis ini.
7. Assoc. Prof. Dr. dr. Nurfadly, MKT selaku Dosen Penguji I atas kesediaannya untuk menguji penulis seminar proposal penelitian. Terima kasih pula atas kritik dan saran yang diberikan.
8. dr. Lita Septina, Sp.PD(K) selaku Dosen Penguji II atas kesediaannya untuk menguji penulis seminar proposal penelitian. Terima kasih pula atas kritik dan saran yang diberikan.

9. Bapak dan Ibu dosen serta seluruh staff di Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara yang telah memberikan bimbingan kepada penulis dalam mengikuti perkuliahan melalui ilmu pengetahuan yang diajarkan.
10. Ayahanda Alm. Irawan Syah dan Ibunda Ratiem, S.Pd, terima kasih atas kasih sayang yang tidak ternilai untuk kedua orang tua saya.
11. Bd. Intan Safitri Rahmadani, S.Keb, terima kasih atas kasih sayang yang tidak ternilai untuk isteri saya.
12. Muhammad Khalid Alkhalifi, terima kasih atas kasih sayang yang tidak ternilai untuk putra saya.
13. Kerabat-kerabat penulis yaitu dr. Riyanda Indrawan Sani, dr. Tengku Soraya Putri, dr. Fathinia Masyulani, dr. Karina, dr. Nurlina Setiadi, dan dr. Imas Putri Munthe yang membantu serta memberi semangat dalam penelitian ini.
14. Bapak dan Ibu dosen, dan pegawai Unit Kemahasiswaan, yaitu Assoc. Prof. Dr. dr. Humairah Medina Liza Lubis, M. Ked PA), SP.PA, dr. Said Munazar Rahmad, MKT, MKM, dr. Zukhrofi Muzar, M.Si, Med, Phd dan Haris Muda Batubara, S.Pd yang membantu serta memberi semangat dalam penelitian ini.
15. Pihak lain yang telah banyak membantu dalam usaha memperoleh data yang saya perlukan, Lab Biokimia FK UMSU, *Animal House* Biologi USU, serta Lab terpadu FK USU.

Saya menyadari bahwa penulisan tesis ini masih jauh dari kesempurnaan, untuk itu kritik dan saran demi kesempurnaan tulisan ini sangat saya harapkan.

Akhir kata, saya berharap Allah SWT berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga tesis ini membawa manfaat bagi pengembangan ilmu.

Medan, 24 September 2025

Muhammad Zulfadhli

**PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TESIS UNTUK  
KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademika Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara,  
saya yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Muhammad Zulfadhli

NPM : 2208330003

Fakultas : Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara Hak Bebas Royalti Noneksklusif atas tesis saya yang berjudul Efektivitas Ekstrak Ceri Kopi Sebagai Neuroprotektor Pada Tikus Diabetes Diinduksi Pakan Tinggi Lemak Dan Streptozotosin Yang Mengalami Gangguan Kognitif.

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Non Eksklusif ini Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara berhak menyimpan, mengalih media/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Medan

Pada tanggal : 24 September 2025

Yang menyatakan

Muhammad Zulfadhli

## ABSTRAK

**Latar Belakang:** Diabetes melitus dapat menyebabkan hiperglikemia kronis yang memicu stres oksidatif, peradangan, dan kerusakan neuron, sehingga berkontribusi pada gangguan kognitif. Ceri kopi mengandung senyawa bioaktif (polifenol, flavonoid, kafein, asam klorogenat) yang berpotensi sebagai agen neuroprotektif. **Tujuan:** Menilai efektivitas ekstrak ceri kopi terhadap fungsi kognitif, kadar brain-derived neurotrophic factor (BDNF), dan stres oksidatif pada tikus diabetes yang diinduksi pakan tinggi lemak (HFD) dan streptozotocin (STZ). **Metode:** Desain *post-test only control group* menggunakan 36 ekor tikus Wistar jantan dibagi menjadi 6 kelompok: kontrol normal, kontrol negatif, HFD+STZ, HFD+STZ+metformin 200 mg/kgBB, HFD+STZ+ekstrak ceri kopi 100 mg/kgBB, dan HFD+STZ+ekstrak ceri kopi 200 mg/kgBB. Parameter yang diukur adalah fungsi memori spasial (Y-maze) dan kadar BDNF otak (ELISA). Data dianalisis dengan ANOVA dan uji post hoc,  $p < 0,05$  dianggap bermakna. **Hasil:** Ekstrak ceri kopi dosis 100 dan 200 mg/kgBB menurunkan glukosa darah signifikan ( $p < 0,05$ ), meningkatkan persentase alterasi Y-maze dan meningkatkan BDNF dibanding kelompok HFD+STZ. Efek terbaik ditunjukkan pada dosis 200 mg/kgBB, sebanding atau lebih baik daripada metformin pada beberapa parameter. **Kesimpulan:** Ekstrak ceri kopi efektif sebagai neuroprotektor melalui perbaikan spasial memori dan peningkatan BDNF, sehingga memperbaiki fungsi kognitif tikus diabetes.

**Kata kunci:** ceri kopi, neuroprotektor, gangguan kognitif, BDNF.

## ABSTRACT

**Background:** Diabetes mellitus causes chronic hyperglycemia that induces oxidative stress, inflammation, and neuronal damage, leading to cognitive impairment. Coffee cherry contains bioactive compounds (polyphenols, flavonoids, caffeine, chlorogenic acid) with neuroprotective potential. **Objective:** To evaluate the effect of coffee cherry extract on cognitive function, brain-derived neurotrophic factor (BDNF), and oxidative stress in diabetic rats induced by high-fat diet (HFD) and streptozotocin (STZ). **Methods:** A post-test only control group design was applied using 36 male Wistar rats divided into six groups: normal control, negative control, HFD+STZ, HFD+STZ+metformin 200 mg/kgBW, HFD+STZ+coffee cherry extract 100 mg/kgBW, and HFD+STZ+coffee cherry extract 200 mg/kgBW. Parameters measured included spatial memory (Y-maze) and brain BDNF (ELISA). Data were analyzed using ANOVA and post hoc tests, with  $p < 0.05$  considered significant. **Results:** Coffee cherry extract at doses of 100 and 200 mg/kgBW significantly reduced blood glucose levels ( $p < 0.05$ ), increased the percentage of alternation in the Y-maze, and elevated BDNF levels compared to the HFD+STZ group. The best effect was observed at a dose of 200 mg/kgBW, which was comparable to or even better than metformin in several parameters. **Conclusion:** Coffee cherry extract is effective as a neuroprotector by improving spatial memory and increasing BDNF, thereby enhancing cognitive function in diabetic rats.

**Keywords:** coffee cherry, neuroprotective, cognitive impairment, BDNF.

## DAFTAR ISI

<b>LEMBAR PENGESAHAN .....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....</b>	<b>ii</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TESIS UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS.....</b>	<b>iv</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>vi</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>vii</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR TABEL.....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR SINGKATAN.....</b>	<b>xiii</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	6
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>7</b>
2.1 Tanaman Kopi.....	7
2.1.1 Taksonomi.....	7
2.1.2 Fitokimia .....	7
2.1.3 Morfologi .....	8
2.2 Diabetes Melitus.....	9
2.2.1 Pengertian diabetes melitus.....	9
2.2.2 Etiologipatogenesis diabetes melitus .....	9
2.2.3 Diabetes melitus tipe 2 .....	9
2.2.4 Manifestasi klinis diabetes melitus .....	10
2.2.5 Patofisiologi diabetes melitus.....	11
2.2.6 Diagnosis diabetes melitus .....	12
2.3 Gula Darah .....	12
2.3.1 Nilai normal gula darah tikus .....	13
2.4 Streptozotosin.....	13

2.5 Pakan Tinggi Lemak (PTL).....	14
2.5.1 Latar Belakang Model PTL untuk Diabetes.....	14
2.5.2 Mekanisme Patofisiologi.....	14
2.5.3 Peran PTL dalam Induksi Model Diabetes .....	15
2.5.4 Komposisi PTL .....	15
2.5.5 Kelebihan Model PTL.....	15
2.6 Hubungan Kopi dengan Penyakit Neurodegeneratif.....	16
2.7 <i>Brain-derived Neurotrophic Factor</i> (BDNF).....	18
2.8 Spasial Memori dengan Y-Maze .....	19
2.9 Metode Ekstraksi Maserasi .....	20
2.10 Kerangka Teori.....	21
2.11 Kerangka Konsep .....	22
2.12 Hipotesis.....	22
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>	<b>23</b>
3.1 Definisi Operasional.....	23
3.2 Variabel Penelitian .....	23
3.2.1 Variabel bebas ( <i>independent</i> ) .....	23
3.2.2 Variabel terikat ( <i>dependent</i> ).....	23
3.3 Jenis Penelitian.....	23
3.4 Waktu dan Tempat Penelitian .....	24
3.4.1 Waktu penelitian .....	24
3.4.2 Tempat penelitian.....	24
3.4.3 Komite etik.....	24
3.4.4 Ekstraksi .....	24
3.4.5 Kopi yang digunakan .....	24
3.5 Alat dan Bahan Penelitian .....	24
3.5.1 Alat .....	24
3.5.2 Bahan.....	25
3.6 Alat dan Bahan Pembuatan Ekstrak Ceri Kopi .....	25
3.6.1 Alat .....	25
3.6.2 Bahan.....	25
3.7 Populasi dan Sampel Penelitian .....	26

3.7.1 Populasi Penelitian .....	26
3.7.2 Sampel Penelitian .....	26
3.8 Teknik Pengumpulan Data .....	27
3.9 Prosedur Penelitian.....	27
3.9.1 Persiapan Hewan Uji .....	27
3.9.2 Pembuatan Ekstrak Ceri Kopi .....	27
3.9.3 Pembuatan Hewan Model .....	28
3.10 Pengolahan dan Analisi Data .....	31
3.10.1 Pengolahan Data .....	31
3.10.2 Analisis Data .....	31
3.11 Alur Penelitian.....	32
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>33</b>
4.1 Hasil Penelitian .....	33
4.2 Pembahasan.....	39
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>43</b>
5.1 Kesimpulan.....	43
5.2 Saran.....	43
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>44</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>52</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel 3.1.	Waktu Kegiatan.....	24
Tabel 4.1.	Hasil uji Distribusi Frekuensi Pemeriksaan Gula Darah pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang Mengalami Gangguan Kognitif Setelah Pemberian Ekstrak.....	33
Tabel 4.2.	Hasil uji Distribusi Frekuensi Pemeriksaan Spasial Memori pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang Mengalami Gangguan Kognitif.....	34
Tabel 4.3.	Hasil uji One Way ANOVA Pemeriksaan Spasial Memori pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang Mengalami Gangguan Kognitif.....	35
Tabel 4.4.	Hasil uji Post Hoc Pemeriksaan Spasial Memori pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang Mengalami Gangguan Kognitif.....	36
Tabel 4.5.	Hasil uji Distribusi Frekuensi Kadar BDNF pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang Mengalami Gangguan Kognitif.....	37
Tabel 4.6.	Hasil uji One Way ANOVA Kadar BDNF pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang Mengalami Gangguan Kognitif.....	38
Tabel 4.7.	Hasil uji Post Hoc Kadar BDNF pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang Mengalami Gangguan Kognitif.....	39

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Hasil uji Distribusi Frekuensi Pemeriksaan Gula Darah pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang Mengalami Gangguan Kognitif Setelah Pemberian Ekstrak.....	18
Gambar 2.2. Bagan Kerangka Teori Penelitian.....	21
Gambar 2.3. Bagan Kerangka Konsep Penelitian.....	22
Gambar 3.1. Bagan Alur Penelitian.....	32

## DAFTAR SINGKATAN

IDF	: <i>International Diabetes Federation</i>
SKI	: <i>Surve Kesehatan Indonesia</i>
DM	: <i>Diabetes Melitus</i>
DMT2	: <i>Diabetes Melitus Tipe 2</i>
SSP	: <i>Sistem Saraf Pusat</i>
AD	: <i>Alzheimer Disease</i>
PD	: <i>Parkinson Disease</i>
IGF-1	: <i>Insulin-like Growth Factor 1</i>
pro-APP-A $\beta$	: <i>protein amyloid precursor - amyloid-<math>\beta</math></i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
IL-1	: <i>Interleukin 1</i>
IL-6	: <i>Interleukin 6</i>
IL-10	: <i>Interleukin 10</i>
TNF- $\alpha$	: <i>Tumor Necrosis Factor alpha</i>
A $\beta$	: <i>Amyloid beta</i>
BDNF	: <i>Brain-Derived Neurotrophic Factor</i>
pro-BDNF	: <i>Pro-Brai Derived Neurotrophic Factor</i>
m-BDNF	: <i>Mature Brain Derived Neurotrophic Factor</i>
MDA	: <i>Malondialdehyde</i>
NO	: <i>Nitric Oxide</i>
GSH	: <i>Glutathione</i>
SOD	: <i>Superoxide Dismutase</i>
CAT	: <i>Catalase</i>
GR	: <i>Glutathione Reductase</i>
GPx	: <i>Glutathione Peroxidase</i>
NF- $\kappa$ B	: <i>Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells</i>
Bcl-2	: <i>B-cell lymphoma 2</i>
Bax	: <i>Bcl-2-associated X protein</i>
caspase 3	: <i>Cysteine-aspartic acid protease-3</i>
A2AR	: <i>Adenosine A2A Receptor</i>

HO	: Heme Oxygenase
NOS	: <i>Nitric Oxide Synthase</i>
Cox	: Cyclooxygenase
APOE	: Apolipoprotein E
GLP-1	: Glucagon-Like Peptide-1
PI3K	: Phosphoinositide 3-Kinase
AKT	: Protein Kinase B (PKB/AKT)
GSK3 $\beta$	: Glycogen Synthase Kinase 3 beta
TAC	: Total Antioxidant Capacity
ELISA	: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
FFPE	: Formalin-Fixed Paraffin-Embedded
PrP <sup>Sc</sup>	: <i>Proteinase-resistant Prion Protein – Scrapie type</i>
ADA	: <i>American Diabetes Association</i>
GLUT	: Glucose Transporter
NIDDM	: <i>Noninsulin Dependent Diabetes Mellitus</i>
GIP	: Glucose-Dependent Insulinotropic Polypeptide
SGLT2	: Sodium-Glucose Cotransporter 2
NGSP	: National Glycohemoglobin Standardization Program
DCCT	: Diabetes Control and Complications Trial
STZ	: Streptozotosin
DNA	: Deoxyribonucleic Acid
PTL	: Pakan Tinggi Lemak
FFA	: <i>Free Fatty Acids</i>
DPPH	: 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl
ADTS	: Antioxidant Defense Test System
FRAP	: Ferric Reducing Antioxidant Power
ORAC	: Oxygen Radical Absorbance Capacity
GCSF	: <i>Granulocyte-Colony Stimulating Factor</i>
TrkB	: <i>Tropomyosin Receptor Kinase B</i>
MMP2	: Matrix Metalloproteinase-2
MMP9	: Matrix Metalloproteinase-9
NSC	: Neural Stem Cells

NPC : *Neural Precursor Cells*  
RIPA buffer : RadioImmunoPrecipitation Assay buffer  
SAP : Spontaneous Alternation Percentage  
CREB : cAMP Response Element-Binding protein  
LC-MS/MS : Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry

# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1. LATAR BELAKANG

Diabetes merupakan penyakit kronis yang disebabkan oleh kurangnya produksi insulin oleh pankreas atau ketidakmampuan tubuh untuk menggunakan insulin dengan efektif. Insulin berperan dalam mengatur kadar gula darah dalam tubuh dengan mengangkut glukosa ke seluruh sel tubuh. Kekurangan insulin dapat menyebabkan peningkatan kadar gula darah atau hiperglikemia. Hiperglikemia, sebagai efek umum dari diabetes yang tidak terkontrol, dapat menyebabkan kerusakan serius pada berbagai sistem tubuh, terutama pada saraf dan pembuluh darah.<sup>1</sup> Beberapa komplikasi jangka panjang yang serius berhubungan dengan diabetes. Sebagian besar disebabkan oleh komplikasi baik di level mikrovaskular (seperti retinopati dan nefropati) atau makrovaskular (seperti arteriopati pada ekstremitas bawah, penyakit kardiovaskular, dan stroke). Beberapa kondisi komorbid lainnya juga terkait dengan diabetes, terutama yang berhubungan dengan sistem saraf pusat (SSP), seperti gangguan kognitif, depresi, dan penyakit neurodegeneratif, khususnya *Alzheimer Disease* (AD).<sup>2,3</sup>

Berdasarkan *International Diabetes Federation* (IDF) Diabetes Atlas, prevalensi diabetes global pada rentang usia 20-79 tahun diperkirakan mencapai 10,5% (sekitar 536,6 juta orang) pada tahun 2021, dengan proyeksi meningkat menjadi 12,2% (sekitar 783,2 juta orang) pada tahun 2045.<sup>4</sup> Diabetes cenderung serupa antara laki-laki dan perempuan, dengan angka tertinggi terjadi pada kelompok usia 75–79 tahun. Berdasarkan Surve Kesehatan Indonesia (SKI) tahun 2023, Prevalensi penderita DM untuk keseluruhan semua umur sebanyak 1,7% (dari sampel tertimbang  $\pm 877.531$  orang). Untuk penduduk usia  $\geq 15$  tahun, berdasarkan pemeriksaan kadar gula darah sebanyak 11,7% positif diabetes (dengan ukuran sampel  $\pm 19.159$  orang). Berdasarkan tipe diabetes (diagnosis dokter) DM Tipe 2 paling dominan, mencapai 50,2%, terutama pada usia lanjut (65–74 tahun: 52,5%; 55–64 tahun: 51,8%;  $\geq 75$  tahun: 50,8%), DM Tipe 1 sebesar 16,9%, lebih banyak terjadi pada anak-anak (5–14 tahun: 55,7%; 15–24 tahun: 29,3%; 35-44 tahun: 19,9%), diabetes gestasional sekitar 2,6%, paling sering pada

usia 25-34 tahun (3,8%), dan sedikit menurun pada usia 35-44 dan 65-74 tahun (masing-masing sekitar 3%), dan sisanya, 30,3% responden tidak tahu tipenya.<sup>5</sup>

Beberapa bukti yang baru muncul mengindikasikan keterkaitan yang kuat antara resistensi insulin dan perkembangan kondisi neurodegeneratif seperti *Alzheimer Disease* (AD) dan *Parkinson Disease* (PD).<sup>6,7</sup> Suatu kondisi hiperinsulinemia, terlepas dari adanya DM tipe 2, tampaknya berhubungan dengan penurunan kinerja kognitif. Ada kemungkinan peran defisiensi insulin dan resistensi insulin sebagai faktor mediator dalam neurodegenerasi yang terjadi pada AD.<sup>8</sup> Resistensi insulin dan IGF-1 di otak merangsang rangkaian reaksi pro-apoptosis, pro-inflamasi, dan *protein amyloid precursor - amyloid- $\beta$*  (pro-APP-A $\beta$ ) serta memengaruhi ekspresi dan metabolisme protein tau dengan mempromosikan stres oksidatif, generasi spesies oksigen reaktif (ROS), ketidaknormalan fungsi mitokondria, dan kerusakan DNA. Semua peristiwa ini berkontribusi pada terjadinya neurodegenerasi.<sup>9,10</sup>

Selain itu, DM juga berkaitan dengan hormone kortisol. Hormon kortisol merupakan glukokortikoid yang dihasilkan oleh kelenjar adrenal, memegang peran krusial dalam beragam proses fisiologis dalam tubuh manusia.<sup>11</sup> Kadar kortisol saliva pada individu dengan DM tipe 2 lebih tinggi dibandingkan dengan individu yang memiliki kondisi pra-diabetes, dan pada individu yang memiliki kondisi pra-diabetes lebih tinggi dibandingkan dengan individu yang sehat.<sup>12</sup> Pada diabetes DM tipe 2, salah satu indikator yang terlibat dalam penyakit Alzheimer adalah peradangan yang timbul akibat resistensi insulin, yang kemudian memicu peningkatan sitokin proinflamasi (seperti IL-6, IL-1 beta) dan TNF- $\alpha$ .<sup>9</sup> Peningkatan stres oksidatif dan disfungsi mitokondria pada otak, yang berkontribusi pada proses neurodegenerasi yang terlibat dalam penyakit-penyakit seperti penyakit Alzheimer dan Parkinson (PD).<sup>13</sup>

Penelitian menggunakan bahan tanaman sebagai anti DM banyak dikembangkan, hal ini dikaitkan dengan kandungan antioksidan yang tinggi pada tanaman. Salah satu tanaman yang memiliki potensi sebagai antioksidan adalah kopi. Indonesia kaya akan tanaman kopi, di Provinsi Aceh, Indonesia, kopi Gayo memiliki kandungan kafein yang tinggi dan rendah tanin dengan tingkat pH sedang.<sup>14</sup> Contoh kopi Gayo Luwak dalam bentuk buah hijau mengandung 12,30%

lipid, 13,36% protein, 1,20% kafein, dan 3,73% asam klorogenik. Sementara dalam bentuk panggang, kopi ini mengandung 14,79% lipid, 13,66% protein, 1,10% kafein, dan 0,80% asam klorogenat.<sup>15</sup> Kafein, sebagai senyawa paling melimpah dalam ampas kopi, adalah polifenol yang berperan sebagai antioksidan.<sup>16</sup> Kafein memiliki efek neuroprotektif dalam menghadapi penyakit Alzheimer secara *in vitro* dan *in vivo*.<sup>17</sup> Kafein juga terkait dengan penurunan risiko penyakit Parkinson pada individu sehat dan penundaan perkembangan gejala motorik pada penderita Parkinson.<sup>18</sup> Konsumsi kafein dalam jumlah moderat (200-500 mg/hari) dan teratur yang terkandung dalam kopi dapat membantu mencegah atau menunda timbulnya penyakit Alzheimer dan berpotensi sebagai agen terapi.<sup>19</sup>

Ceri kopi memiliki beberapa bagian yang penting, termasuk kulit, daging buah, lendir, lapisan perkamen, kulit perak, dan biji kopi. Kulit, juga dikenal sebagai pericarp, mengalami perubahan warna menjadi merah saat buahnya matang. Di bawah kulit terdapat daging buah berwarna kuning keemasan, yang kaya serat dan memiliki rasa manis, disebut sebagai mesokarp luar. Bagian ini juga mencakup lapisan lendir tipis yang dikenal sebagai lapisan pektin. Kemudian, terdapat lapisan perkamen atau endokarp, yang diikuti oleh kulit perak. Biji kopi terletak di tengah buah, diselubungi oleh endosperma buah.<sup>20</sup> Kandungan kimia yang ditemukan pada ceri kopi adalah kafein, *Epigallocatechin Gallate*, dan *Trigonelline*.<sup>21</sup>

Penelitian menunjukkan bahwa ekstrak ceri kopi diakui sebagai nutrasetikal yang aman dan efektif untuk mendukung atau meningkatkan memori kerja terkait proses kognitif.<sup>22</sup> Mengonsumsi kopi dapat memperlambat penurunan fungsi kognitif dengan memperlambat laju akumulasi A $\beta$ -amiloid otak dan memperbaiki neurotoksisitas terkait stres oksidatif yang dimediasi A $\beta$ -amiloid dan proses inflamasi.<sup>23</sup> Ekstrak ceri kopi dengan dosis tunggal 100 mg yang kaya akan polifenol memberikan perkembangan yang signifikan bagi neurofungsional otak dengan meningkatkan BDNF, sebuah neuroprotein.<sup>24</sup>

Penelitian uji toksisitas oral ekstrak buah ceri kopi jangka pendek menunjukkan bahwa tikus betina dapat mentoleransi baik pada dosis hingga sekitar 8800 mg/kg berat badan per hari baik pada ekstrak etanol maupun bubuk utuh. Pada tikus jantan, menunjukkan toleransi terhadap dosis yang lebih rendah, sekitar 4000

mg/kg berat badan per hari untuk ekstrak etanol melalui gavage, dan kurang dari sekitar 2100 mg/kg berat badan per hari untuk bubuk utuh atau ekstrak air yang diberikan dalam makanan.<sup>25</sup>

Selain dari ceri kopi, manfaat dari kopi dapat ditemukan dalam beberapa penelitian lainnya. Ekstrak biji kopi hijau dan panggang memiliki efek neurotrofik dan protektif pada otak tikus iskemik dengan menghambat biomarker stres oksidatif (seperti Malondialdehyde (MDA), *Nitric Oxide* (NO), Glutathione (GSH), Superoxide Dismutase (SOD), Catalase (CAT), Glutathione Reductase (GR), Glutathione Peroxidase (GPx)), aktivasi marker inflamasi (seperti *Tumor Necrosis Factor alpha* (TNF- $\alpha$ ), *Interleukin 1 beta* (IL-1 $\beta$ ), *Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells* (NF- $\kappa$ B), dan *Brain-Derived Neurotrophic Factor* (BDNF)), dan marker apoptosis (seperti Bcl-2, Bax, dan caspase 3).<sup>26</sup> Phenyldane, kandungan kopi dari tiga jenis ekstrak (panggang ringan, panggang gelap, panggang tanpa kafein), berperan sebagai neuroprotektif pada penyakit Alzheimer dengan menghambat pembentukan plak  $\beta$ -amiloid dan agregasi tau protein.<sup>27</sup> Asam fenolik, asam klorogenat, asam kafeat, dan asam ferulat memberikan efek neurologis yang serupa dengan kafein. Asam fenolik tidak hanya berfungsi sebagai antioksidan, antiinflamasi, dan agen neurotrofik, tetapi juga dapat melawan toksisitas amiloid.<sup>28</sup>

Ekstrak biji kopi hijau dapat menurunkan risiko penyakit Alzheimer melalui jalur asetilkolin, glutamat, dan insulin dengan menurunkan plak  $\beta$ -amiloid dan tau protein pada otak tikus. Selain itu, asam kolinergik pada ekstrak biji kopi hijau dapat meningkatkan metabolisme dopamine, yang menurunkan neurotoksisitas pada model hewan uji penyakit Parkinson.<sup>29</sup> Efek neuroprotektif kopi terhadap penyakit Parkinson telah terbukti melalui regulasi polimorfisme gen Adenosine A2A Receptor (A2AR), ekspresi Heme Oxygenase (HO), gen responsif toksin, varian genetik NOS, lokus genetik familial parkinsonisme, ekspresi Cyclooxygenase (Cox), reseptor glutamat, dan polimorfisme gen Apolipoprotein E (APOE).<sup>30</sup> Asam klorogenik dalam kopi dapat bertindak sebagai agen neuroprotektif pada penyakit Parkinson melalui aktivitas pelepasan Glucagon-Like Peptide-1 (GLP-1) dan peningkatan GLP-1 endogen yang melibatkan aktivasi jalur

pensinyalan kaskade Phosphoinositide 3-Kinase (PI3K)/ Protein Kinase B (PKB/AKT)/ Glycogen Synthase Kinase 3 beta (GSK3 $\beta$ ).<sup>31</sup>

Dalam sebuah penelitian sampel hipokampus yang diperoleh dari tikus direndam dalam formalin 10% dapat digunakan untuk menilai kadar *Total Antioxidant Capacity* (TAC) dan Malondialdehyde (MDA) melalui uji ELISA.<sup>32</sup> Metode ELISA berbasis jaringan FFPE dinilai menjadi sebuah pendekatan yang lebih cepat dan praktis untuk mendeteksi protein prion PrPSc.<sup>33</sup> Mengekstraksi dan menganalisis protein dari sel maupun jaringan otak yang telah difiksasi formalin sangat kompatibel untuk digunakan dalam ELISA.<sup>34,35</sup>

Penggunaan ceri kopi pada penelitian neurogeneratif telah banyak dilakukan namun penelitian tentang efek ekstrak ceri kopi sebagai neuroprotektif pada hewan model diabetik yang diinduksi pakan tinggi lemak dan streptozotosin yang mengalami gangguan kognitif belum ada dilakukan, dengan demikian pada peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tersebut.

## **1.2. RUMUSAN MASALAH**

Berdasarkan latar belakang masalah di atas, rumusan masalah dalam penelitian ini adalah bagaimana efektivitas ekstrak ceri kopi sebagai neuroprotektor pada tikus diabetes yang diinduksi pakan tinggi lemak dan streptozotosin yang mengalami gangguan kognitif?

## **1.3. TUJUAN PENELITIAN**

### **1.3.1. TUJUAN UMUM**

Secara umum penelitian ini bertujuan untuk menganalisis efektivitas ekstrak ceri kopi sebagai neuroprotektor pada tikus diabetes yang diinduksi pakan tinggi lemak dan streptozotosin yang mengalami gangguan kognitif.

### **1.3.2. TUJUAN KHUSUS**

- 1) Untuk membandingkan nilai spasial memori ekstrak ceri kopi 100 mg/hari/oral dan 200 mg/hari/oral sebagai neuroprotektor pada tikus diabetes yang diinduksi pakan tinggi lemak dan streptozotosin yang mengalami gangguan kognitif.
- 2) Untuk membandingkan nilai BDNF ekstrak ceri kopi 100 mg/hari/oral dan 200 mg/hari/oral sebagai neuroprotektor pada tikus diabetes yang

diinduksi pakan tinggi lemak dan streptozotosin yang mengalami gangguan kognitif.

#### **1.4. MANFAAT PENELITIAN**

##### 1. Manfaat Teoritis

Memberikan kontribusi pada ilmu mengenai potensi neuroprotektif ekstrak ceri kopi.

##### 2. Manfaat Aplikatif

Menjadi dasar penggunaan kopi ceri sebagai penggunaan kopi ceri sebagai neuroprotektif.

## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Tanaman Kopi

##### 2.1.1. Taksonomi Tanaman Kopi

Taksonomi tanaman kopi dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

<i>Kingdom</i>	: <i>Plantae</i>
<i>Sub kingdom</i>	: <i>Tracheobionta</i>
<i>Divisi</i>	: <i>Spermatophyta</i>
<i>Sub divisi</i>	: <i>Magnoliophyta</i>
<i>Kelas</i>	: <i>Magnoliopsida</i>
<i>Sub kelas</i>	: <i>Asteridae</i>
<i>Ordo</i>	: <i>Rubiales</i>
<i>Famili</i>	: <i>Rubiaceae</i>
<i>Genus</i>	: <i>Coffea</i>
<i>Spesies</i>	: <i>Coffea robusta</i>

Tanaman kopi termasuk dalam kategori tumbuhan dikotil yang memiliki akar tunggang. Akar tunggang ini khusus dimiliki oleh kopi robusta yang ditanam dari bibit semai. Sistem perakaran kopi cenderung dangkal, hanya mencapai kedalaman 0-30 cm. Kopi, terutama kopi robusta, memiliki lima jenis cabang tanaman, yakni cabang primer, sekunder, reproduksi, balik, dan kipas.<sup>36</sup>

##### 2.1.2. Fitokimia Tanaman Kopi

Tanaman kopi (terutama *Coffea arabica* dan *Coffea canephora*) mengandung berbagai senyawa fitokimia yang memberikan manfaat biologis dan terapeutik. Senyawa-senyawa ini tersebar di biji, daun, kulit buah (ceri kopi), dan bahkan akar.

- 1) Kafein
  - a. Golongan: Alkaloid purin.
  - b. Fungsi: Merangsang sistem saraf pusat, meningkatkan kewaspadaan, bersifat lipofilik (mudah melewati sawar darah otak).
  - c. Efek biologis: Antioksidan, neurostimulasi, pelindung neurodegeneratif.
  - d. Sumber utama: Biji dan daun kopi.<sup>37</sup>
- 2) Asam Klorogenat (*Chlorogenic acid*)

- a. Golongan: Asam fenolik (ester dari asam kafeat dan asam kuinat).
  - b. Fungsi: Antioksidan kuat, antidiabetes, antiinflamasi, antiobesitas.
  - c. Sumber utama: Biji, daun, kulit buah kopi.
  - d. Aktivitas biologis: Menurunkan penyerapan glukosa di usus, meningkatkan sensitivitas insulin.<sup>38</sup>
- 3) Asam Ferulat dan Asam Kafeat
- a. Golongan: Asam fenolik.
  - b. Fungsi: Antioksidan, antiinflamasi, antidiabetes, antikanker.
  - c. Terdapat di: Biji, kulit buah kopi, dan ampas kopi.<sup>39</sup>
- 4) Polifenol & Flavonoid
- a. Golongan: Senyawa fenolik kompleks.
  - b. Fungsi: Antioksidan, anti-aging, pelindung vaskular dan otak.
  - c. Ditemukan di: Biji dan kulit buah kopi.<sup>40</sup>

### 2.1.3. Morfologi Tanaman Kopi Gayo

Berikut adalah penjelasan mengenai morfologi tanaman kopi Gayo:<sup>41-44</sup>

- 1) Akar : Akar tunggang dengan akar lateral yang kuat dan dalam, memungkinkan penyerapan air dan nutrisi maksimal di tanah vulkanik dataran tinggi.
- 2) Batang : Berkayu, tegak, bercabang banyak. Diameter batang utama 5–10 cm. Warna batang kecoklatan dengan permukaan kasar pada tanaman tua.
- 3) Daun : Berwarna hijau tua mengilap, berbentuk lonjong (elips), dengan ujung runcing dan tepi daun halus. Panjang  $\pm$  10–15 cm, lebar  $\pm$  4–6 cm. Tersusun berlawanan pada batang.
- 4) Bunga : Bunga berwarna putih, wangi, berukuran kecil, muncul di ketiak daun. Tipe bunga sempurna (hermafrodit). Mekar serentak setelah hujan.
- 5) Buah (Cherry) : Berwarna hijau saat muda, merah cerah saat matang. Berbentuk bulat agak lonjong, diameter 1–1,5 cm. Tiap buah biasanya mengandung dua biji kopi.
- 6) Biji (Benih) : Biji berwarna hijau kebiruan, berbentuk lonjong pipih, dengan lekukan membujur di tengah.

## 2.2. Diabetes Melitus

### 2.2.1. Pengertian Diabetes Melitus

Menurut *American Diabetes Association* (ADA), diabetes melitus merupakan suatu kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin atau kedua-duanya.<sup>45</sup> Jika telah berkembang penuh secara klinis, maka diabetes melitus ditandai dengan hiperglikemia puasa dan *postprandial*, aterosklerotik dan penyakit mikroangiopati dan neuropati. Manifestasi klinis hiperglikemia biasanya sudah bertahun-tahun mendahului timbulnya kelainan klinis dari penyakit vaskularnya. Pasien dengan kelainan toleransi glukosa ringan (gangguan glukosa puasa dan gangguan toleransi glukosa) dapat tetap beresiko mengalami komplikasi metabolik diabetes.<sup>46,47</sup>

### 2.2.2. Etiopatogenesis Diabetes Melitus

Etiologi diabetes tipe 2 bervariasi, mulai yang pedominan resistensi insulin disertai defisiensi insulin relatif sampai yang pedominan defek sekresi insulin disertai resistensi insulin.<sup>45</sup> Pada awalnya tampak terdapat resistensi dari sel-sel sasaran terhadap kerja insulin. Insulin mula-mula mengikat dirinya kepada reseptor-reseptor permukaan sel tertentu, kemudian terjadi reaksi intraselular yang menyebabkan mobilisasi pembawaan GLUT 4 glukosa dan meningkatkan transport glukosa menembus membran sel.<sup>46</sup>

Pada pasien-pasien dengan DM tipe 2 terdapat kelainan peningkatan insulin dengan reseptor. Kelainan ini dapat disebabkan oleh berkurangnya jumlah tempat reseptor pada membran sel yang tampak selnya responsif terhadap insulin atau akibat ketidaknormalan reseptor insulin intrinsik. Akibatnya terjadi penggabungan abnormal antara kompleks reseptor insulin dengan sistem transpor glukosa. Ketidaknormalan *postreseptor* dapat mengganggu kerja insulin. Pada akhirnya, timbul kegagalan sel beta dengan menurunnya jumlah insulin yang beredar dan tidak lagi memadai untuk mempertahankan euglikemia. Sekitar 8% pasien diabetes tipe 2 mengalami obesitas, karena obesitas berkaitan dengan resistensi insulin.<sup>46,47</sup>

### 2.2.3. Diabetes Melitus Tipe 2

Diabetes melitus tipe 2, noninsulin *dependent* diabetes melitus (NIDDM) disebut juga diabetes *onset* matur (*onset*-dewasa) dan diabetes resisten ketosis (istilah NIDDM sebenarnya tidak tepat karena 25% diabetes, pada kenyataannya,

harus diobati dengan insulin; bedanya mereka tidak memerlukan insulin sepanjang usia).<sup>48,49</sup>

DM tipe 2 mempunyai *onset* pada usia pertengahan (40-an tahun), atau lebih tua dan cenderung tidak berkembang ke arah ketosis. Kebanyakan penderita memiliki berat badan yang lebih. Atas dasar ini pula, penyandang DM jenis ini dikelompokkan menjadi dua: (1) kelompok obes dan kelompok non-obes. Kemungkinan untuk menderita DM tipe 2 akan berlipat ganda jika berat badan bertambah sebanyak 20% di atas berat badan ideal dan usia bertambah 10 tahun atau di atas 40 tahun.<sup>48,49</sup>

Gejala muncul perlahan-lahan dan biasanya ringan (kadang-kadang bahkan belum menampakkan gejala selama bertahun-tahun) serta progresivitas gejala menjadi lambat. Koma hiperosmolar dapat terjadi pada kasus-kasus berat. Namun ketoasidosis jarang sekali muncul, kecuali kasus yang disertai stres atau infeksi. Kadar insulin menurun atau bahkan tinggi, atau mungkin juga insulin bekerja tidak efektif.<sup>49</sup> Etiologi DM tipe 2 bervariasi mulai dari resistensi insulin sampai dengan defek sekresi insulin.<sup>45</sup>

#### **2.2.4. Manifestasi Klinis Diabetes Melitus**

Manifestasi diabetes melitus bervariasi dari pasien ke pasien. Pertolongan medis paling sering dicari karena gejala berkaitan dengan hiperglikemia (*poliuria*, *polidipsia*, *polifagia*), tetapi kejadian pertama mungkin berupa dekomposisi metabolik akut yang menyebabkan koma diabetik. Kadang-kadang penampakan awal berupa penyulit penyulit degeneratif seperti neuropati tanpa gejala hiperglikemia.<sup>50</sup>

Pasien-pasien dengan defisiensi insulin tidak dapat mempertahankan glukosa plasma puasa normal, atau toleransi glukosa setelah makan karbohidrat. Jika hiperglikemiberat dan melebihi ambang ginjal untuk zat ini, maka timbul glikosuria. Glikosuria ini akan mengakibatkan diuresis osmotik yang meningkatkan pengeluaran urin (*poliuria*) dan timbul rasa haus (*polidipsia*). Karena glukosa hilang bersama urin, maka pasien mengalami keseimbangan kalori negatif dan berat badan berkurang. Rasa lapar yang semakin besar (*polifagia*) mungkin akan timbul sebagai akibat kehilangan kalori. Pasien mengeluh lelah dan mengantuk.<sup>46</sup>

Pada hiperglikemia yang berat, pasien tersebut mungkin menderita *polidipsia*, *poliuria*, lemah, dan *somnolen*. Biasanya mereka tidak mengalami ketoasidosis karena pasien ini tidak defisiensi insulin secara absolut namun hanya relatif. Sejumlah insulin masih tetap disekresi dan masih cukup untuk menghambat ketoasidosis.<sup>46</sup>

### **2.2.5. Patofisiologi Diabetes Melitus Tipe 2**

Diabetes Melitus Tipe 2 (DMT2) merupakan gangguan metabolik kronis yang ditandai oleh.<sup>45,47,51,52</sup>

1. Resistensi Insulin
  - Sel tubuh (terutama otot rangka, hati, dan jaringan adiposa) menjadi kurang responsif terhadap aksi insulin.
  - Hal ini menyebabkan glukosa tidak dapat masuk ke dalam sel secara efektif, sehingga tetap berada dalam sirkulasi darah → hiperglikemia.
2. Disfungsi Sel  $\beta$  Pankreas
  - Pada fase awal, pankreas mencoba mengimbangi resistensi insulin dengan meningkatkan sekresi insulin (hiperinsulinemia).
  - Seiring waktu, sel  $\beta$  tidak mampu mempertahankan produksi → terjadi penurunan sekresi insulin absolut.
3. Peningkatan Produksi Glukosa oleh Hati
  - Karena insulin tidak efektif, hati terus memproduksi glukosa melalui glukoneogenesis dan glikogenolisis, meskipun kadar glukosa darah sudah tinggi.
4. Disregulasi Hormon Inkretiin (GLP-1, GIP)
  - Hormon ini biasanya meningkatkan pelepasan insulin pasca-makan, tetapi pada penderita DMT2, fungsi inkretiin menurun, menyebabkan sekresi insulin pasca-prandial yang tidak adekuat.
5. Inflamasi dan Disfungsi Mitokondria
  - Peradangan kronis tingkat rendah dan stres oksidatif berkontribusi pada kerusakan sel  $\beta$  dan memperparah resistensi insulin.
6. Keterlibatan Ginjal dan Usus
  - Reabsorpsi glukosa di tubulus ginjal meningkat, melalui overekspresi SGLT2 → mempertahankan hiperglikemia.

- Usus mengalami disbiosis mikrobioma dan perubahan sekresi hormon metabolik.

### 2.2.6. Diagnosis Diabetes Melitus

Diagnosis ditegakkan jika salah satu dari kriteria berikut terpenuhi:  
45,47,51,52

1. Gula Darah Puasa (GDP)  $\geq 126$  mg/dL
  - Setelah puasa minimal 8 jam
  - *Harus dikonfirmasi pada hari berbeda jika tidak disertai gejala klasik*
2. Gula Darah 2 Jam Post-Prandial (2-JPP)  $\geq 200$  mg/dL
  - Dihitung 2 jam setelah pembebanan glukosa 75 gram (Tes Toleransi Glukosa Oral/TTGO)
3. Hemoglobin A1c (HbA1c)  $\geq 6,5\%$ 
  - Dilakukan dengan metode terstandar NGSP dan DCCT-aligned
  - Tidak boleh digunakan pada kondisi dengan gangguan hemoglobin, anemia berat, atau penyakit ginjal kronik lanjut
4. Gula Darah Sewaktu  $\geq 200$  mg/dL dengan gejala klasik diabetes
  - Gejala klasik: poliuria, polidipsia, penurunan berat badan tanpa sebab jelas

### 2.3. Gula Darah

Kadar glukosa darah merupakan parameter utama untuk menilai metabolisme karbohidrat. Glukosa di dalam darah diperoleh dari berbagai macam sumber antara lain karbohidrat dalam makanan, glukoneogenesis dan glikogenolisis.<sup>53</sup>

Karbohidrat dalam makanan terdapat dalam bentuk polisakarida, disakarida dan monosakarida. Ketika makanan dicerna, makanan bercampur dengan saliva, yang terdiri atas enzim pencernaan *ptyalin* (suatu  $\alpha$ -amilase) yang terutama disekresikan oleh kelenjar parotis. Enzim ini menghidrolisis tepung menjadi disakarida maltosa, laktosa, sukrosa dan polimer glukosa kecil lainnya. Enzim ini bekerja optimum pada pH 6,7 sehingga akan dihambat oleh getah lambung ketika makanan sudah sampai di lambung. Dalam usus halus, amilase pankreas yang kuat juga bekerja atas polisakarida yang dimakan. Pتيالinsaliva dan amilase pankreas menghidrolisis polisakarida menjadi hasil akhir berupa disakarida, laktosa, maltosa,

sukrosa. Laktosa akan diubah menjadi glukosa dan galaktosa dengan bantuan enzim laktase.<sup>54</sup>

Pada vili usus halus terdapat eritrosit yang mengandung empat enzim (laktase, sukrase, maltase, dan  $\alpha$ -dekstrinase), yang mampu memecahkan disakarida laktosa, sukrosa, dan maltosa, dan polimer glukosa kecil lainnya. Dalam mikrovili usus halus laktosa dipecah menjadi satu molekul galaktosa dan satu molekul glukosa, sukrosa dipecah menjadi satu molekul fruktosa dan satu molekul glukosa, maltosa dan polimer-polimer glukosa lainnya menjadi molekul-molekul glukosa. Jadi produk akhir dari pencernaan karbohidrat semuanya adalah monosakarida.<sup>55</sup> Monosakarida akan masuk melalui sel mukosa dan kapiler darah untuk diabsorpsi di intestinum. Masuknya glukosa ke dalam epitel usus tergantung konsentrasi tinggi  $\text{Na}^+$  di atas permukaan mukosa sel.<sup>54</sup>

Glukosa diangkut oleh mekanisme ko-transport aktif natrium glukosa dimana transport aktif natrium menyediakan energi untuk mengabsorpsi glukosa melawan suatu perbedaan konsentrasi. Pengangkutan glukosa ke dalam sel melalui proses difusi dengan bantuan protein pembawa. Ada lima jenis protein pembawa tersebut GLUT 1, GLUT 2, GLUT 3, GLUT 4 dan GLUT 5. GLUT 1 merupakan pengangkutan glukosa yang ada pada otak, ginjal, kolon dan eritrosit. GLUT 2 terdapat pada sel hati, pankreas, usus halus dan ginjal. GLUT 3 berfungsi pada sel otak, ginjal dan plasenta. GLUT 4 terletak di jaringan adipose, otot jantung dan otot skeletal. GLUT 5 bertanggung jawab terhadap absorpsi glukosa dari usus halus.<sup>56</sup>

Mekanisme di atas juga berlaku untuk galaktosa. Pengangkutan fruktosa menggunakan mekanisme yang berbeda yaitu dengan menggunakan mekanisme difusi fasilitasi. Unsur-unsur gizi tersebut diangkut ke dalam hepar lewat vena porta hati. Galaktosa dan fruktosa segera dikonversi menjadi glukosa di dalam hepar.<sup>53</sup>

### **2.3.1. Nilai Normal Gula Darah Tikus**

Nilai glukosa darah puasa tikus putih normal adalah  $117,06 \pm 1,96$  mg/dL.<sup>57</sup> Selain itu, berdasarkan penelitian lainnya, kadar glukosa darah puasa tikus normal (sehat) umumnya berada pada kisaran 80–120 mg/dL (4.4–6.7 mmol/L).<sup>58</sup>

### **2.4. Streptozotosin**

Streptozotosin (STZ) adalah senyawa nitrosourea yang memiliki aktivitas alkilasi dan sitotoksik, terutama terhadap sel  $\beta$ -pankreas. Senyawa ini berasal dari

bakteri *Streptomyces achromogenes*.<sup>59</sup> Streptozotosin masuk ke dalam sel  $\beta$ -pankreas melalui transporter GLUT2, yang diekspresikan tinggi di sel tersebut. Setelah masuk, STZ akan menginduksi kerusakan DNA melalui alkilasi, meningkatkan *reactive oxygen species* (ROS) dan nitric oxide (NO), dan menghambat sintesis DNA, menyebabkan nekrosis sel  $\beta$ . Akibatnya, produksi insulin terganggu  $\rightarrow$  menyebabkan hiperglikemia  $\rightarrow$  diabetes tipe 1 atau tipe 2 tergantung dosis dan kombinasi.<sup>60,61</sup>

STZ banyak digunakan untuk menginduksi model diabetes pada hewan, terutama:

- STZ dosis tunggal tinggi (150–200 mg/kg)  $\rightarrow$  diabetes tipe 1.
- STZ dosis rendah multiple (40–60 mg/kg selama 5 hari)  $\rightarrow$  tipe 1 autoimun.
- STZ dosis sedang + pakan tinggi lemak  $\rightarrow$  diabetes tipe 2.

Model ini juga sering digunakan untuk studi komplikasi diabetes, termasuk kerusakan saraf, kognitif, dan neurodegenerasi.<sup>62</sup> Pemberian streptozotosin dalam dosis 70 mg/kgBB secara *intraperitoneal* dapat meningkatkan glukosa puasa tikus lebih dari 200 mg/dL setelah lima hari penyuntikan.<sup>63</sup>

STZ tidak hanya menyebabkan hiperglikemia, tetapi juga menurunkan neurotrophin seperti BDNF, merusak struktur hippocampus, dan menyebabkan gangguan kognitif. Oleh karena itu, sering digunakan untuk studi neurodegeneratif dan neuroproteksi, termasuk penggunaan senyawa seperti ekstrak herbal (misalnya ceri kopi).<sup>64</sup>

## **2.5. Pakan Tinggi Lemak (PTL) pada Tikus untuk Induksi Diabetes**

### **2.5.1. Latar Belakang Model PTL untuk Diabetes**

Pemberian pakan tinggi lemak (high-fat diet) pada tikus laboratorium merupakan metode induksi yang umum digunakan untuk meniru sindrom metabolik dan diabetes melitus tipe 2 (DMT2) pada manusia. Diet ini mengandung 45–60% lemak total, biasanya berasal dari lemak jenuh atau lemak hewani, yang dapat memicu resistensi insulin, peningkatan berat badan, dan gangguan metabolisme glukosa.<sup>65,45</sup>

### **2.5.2. Mekanisme Patofisiologis**

Asupan lemak berlebih meningkatkan lipotoksisitas dan menyebabkan akumulasi asam lemak bebas (free fatty acids/FFA) dalam jaringan hati dan otot,

yang menghambat aksi insulin. PTL juga menstimulasi inflamasi subklinis kronis melalui aktivasi makrofag di jaringan adiposa dan peningkatan sitokin proinflamasi seperti TNF- $\alpha$  dan IL-6.<sup>66,67</sup>

### **2.5.3. Peran Pakan Tinggi Lemak dalam Induksi Model Diabetes**

Pakan tinggi lemak sering dikombinasikan dengan streptozotosin (STZ) untuk menginduksi diabetes tipe 2 pada model hewan. Kombinasi ini meniru dua komponen utama patofisiologi DM2: resistensi insulin (akibat PTL) dan kerusakan sel  $\beta$  pankreas (akibat STZ). Hasilnya adalah hiperglikemia stabil, obesitas, dan dislipidemia, yang menyerupai kondisi klinis pada manusia.<sup>68</sup>

### **2.5.4. Komposisi Pakan Tinggi Lemak**

Komposisi pakan tinggi lemak yang digunakan dalam penelitian biasanya terdiri dari 45–60% kalori dari lemak, 20–25% protein, dan sisanya karbohidrat. Lemak yang digunakan sering berasal dari lard (lemak babi), minyak jagung, atau minyak sawit. Kadar dan jenis lemak sangat menentukan keparahan efek metabolik yang ditimbulkan.<sup>69</sup>

### **2.5.5. Kelebihan Model PTL**

Model PTL pada tikus direkayasa untuk mencerminkan perkembangan tahapan metabolik diabetes manusia secara bertahap: obesitas  $\rightarrow$  resistensi insulin  $\rightarrow$  glukosa tinggi. Kajian menyarankan formula pakan sekitar 45% kalori dari lemak, yang memicu perubahan fisiologis hampir serupa dengan pola makan western modern, memunculkan fenotipe seperti manusia dengan progresi penyakit kronis.<sup>70,71</sup>

Model PTL tidak memerlukan teknologi mutakhir atau manipulasi genetik. Hewan hanya perlu diberi pakan tinggi kalori selama periode tertentu. Hal ini membuat model ini terjangkau, mudah diterapkan, dan mudah direproduksi dalam berbagai laboratorium penelitian.<sup>70,71</sup>

Model PTL menghasilkan kelebihan berat badan, resistensi insulin, hiperglikemia, dan peningkatan sitokin pro-inflamasi. Jika intervensi seperti diet perubahan atau obat diberikan, fenomena metabolik ini bersifat reversibel, memungkinkan penelitian tentang pencegahan atau terapi diabetes.<sup>70,71</sup>

## 2.6. Hubungan Kopi dengan Penyakit Neurodegenerasi

Kopi mengandung berbagai komponen seperti kafein, polifenol, trigonelin, niasin, kalium, diterpen, dan akrilamida. Kafein, yang merupakan 1,3,7-trimethylxanthine, adalah alkaloid mirip purin dengan berbagai efek biologis. Kafein diyakini memiliki efek pelindung saraf dengan menghambat reseptor adenosin, yang pada akhirnya dapat meningkatkan konsentrasi neurotransmitter serotonin dan asetilkolin di sistem saraf pusat.<sup>72</sup> Kafein juga memiliki efek pleiotropik pada berbagai sistem biologis termasuk sistem saraf pusat (SSP), sistem peredaran darah, dan sistem kekebalan. Setelah dimetabolisme oleh hati, kafein menghasilkan tiga dimetilxantin lainnya, yaitu teobromin, teofilin, dan paraxantin, yang masing-masing memiliki efek fisiologisnya sendiri.<sup>73</sup>

Pemberian ekstrak ceri kopi 100 mg, tidak mendapatkan efek yang menguntungkan untuk mood, mental, fisik, dan kognitif. Untuk dosis ekstrak ceri kopi 300 mg lebih efektif dalam mengendalikan mood, mental, fisik, dan kognitif.<sup>74</sup> Konsumsi ekstrak ceri kopi yang mengandung asam klorogenik, dapat mengontrol regulasi glukosa post prandial. Konsumsi 40% ekstrak ceri kopi yang mengandung antioksidan (DPPH, ADTS, FRAP, dan ORAC) dapat menangkal radikal bebas, menghambat  $\alpha$ -amilase, dan menghambat  $\alpha$ -glukosidase. Konsumsi 70% ekstrak ceri kopi yang mengandung kafein, dapat mengaktifasi anticholinesterase yang dapat digunakan sebagai tatalaksana alzheimer.<sup>75</sup>

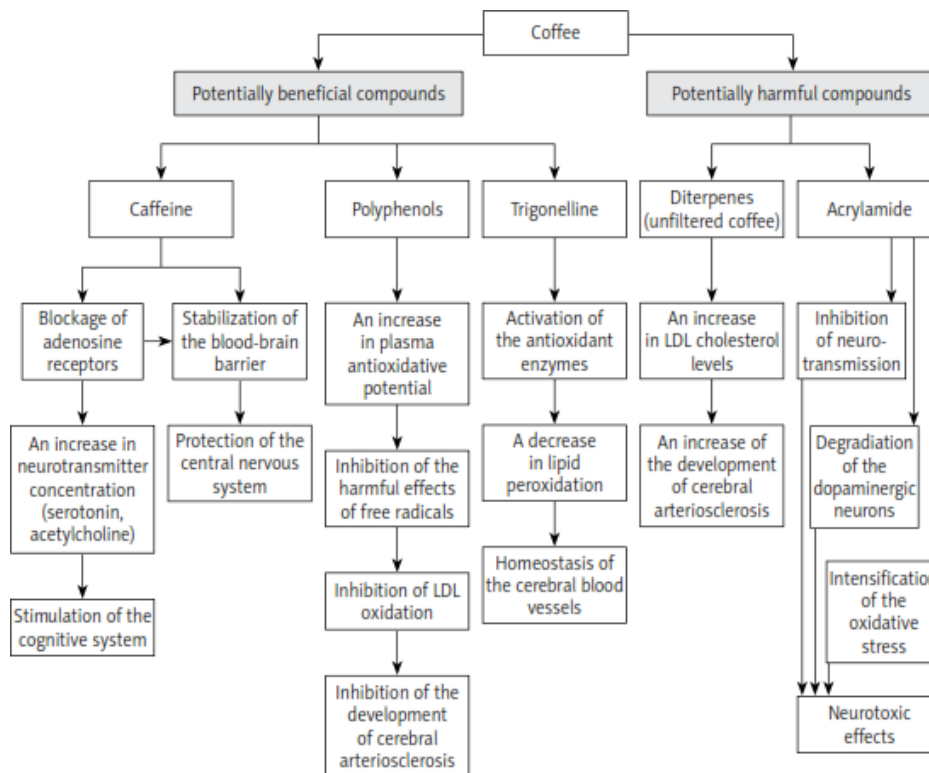
Penelitian yang dilakukan oleh West et al. (2019) pada kelompok lansia yang menderita diabetes melitus tipe 2 menemukan bahwa meningkatnya konsumsi kafein secara signifikan berkaitan dengan peningkatan kinerja kognitif dan volume gray matter yang lebih besar. Tingkat asupan kafein yang lebih tinggi memiliki hubungan yang kecil namun signifikan dengan kognisi keseluruhan ( $p = 0,018$ ), memori kerja/perhatian ( $p = 0,002$ ), kategorisasi semantik ( $p = 0,026$ ), dan fungsi eksekutif ( $p = 0,047$ ).<sup>76</sup> Konsumsi 3–5 cangkir kopi per hari berhubungan dengan penurunan risiko demensia sebesar 65-70% dan penurunan risiko penyakit Alzheimer sebesar 62-64% dibandingkan dengan konsumsi kopi yang lebih sedikit ( $p \leq 0,05$ ).<sup>77</sup> Penelitian lain menjelaskan bahwa konsumsi kopi sebanyak  $\geq 2$  cangkir per hari sepanjang hidup (asupan kopi lebih tinggi) berkaitan dengan tingkat kepositifan  $A\beta$  yang lebih rendah pada orang dewasa tua non-demensia,

dibandingkan dengan mereka yang mengonsumsi <2 cangkir kopi per hari. Semakin tinggi jumlah total asupan kopi sepanjang hidup, semakin rendah tingkat kepositifan A $\beta$ .<sup>78</sup>

Pemberian kopi berkafein secara signifikan meningkatkan kadar granulocyte-colony stimulating factor (GCSF), IL-10, dan IL-6 dalam plasma secara spesifik. Peningkatan GCSF sangat penting karena dapat meningkatkan memori kerja pada tikus dengan Alzheimer melalui tiga mekanisme utama: pembentukan mikroglia dari sumsum tulang, sinaptogenesis, dan neurogenesis. Oleh karena itu, kopi mungkin merupakan sumber kafein yang optimal untuk pencegahan Alzheimer karena komponen-komponen dalam kopi berinteraksi dengan kafein untuk meningkatkan kadar GCSF plasma, yang memberikan berbagai manfaat terapeutik terhadap penyakit Alzheimer.<sup>79</sup> Konsumsi kafein dalam jumlah moderat dapat melindungi terhadap gangguan kognitif seperti Alzheimer dan neuropatologi A $\beta$  pada tikus. Pemberian kafein dalam air minum (300 mg/L) selama 2 bulan pada tikus tua yang menunjukkan ciri-ciri penyakit Alzheimer, menunjukkan bahwa kadar kafein plasma yang lebih tinggi berkorelasi signifikan dengan kadar A $\beta$  plasma yang lebih rendah pada tikus.<sup>80</sup>

Beberapa penelitian pada tikus model Alzheimer menunjukkan bahwa kafein memiliki potensi neuroprotektif dalam mengatasi patologi neurodegeneratif. Penelitian juga menunjukkan korelasi antara kadar kafein plasma yang tinggi dengan penurunan kadar A $\beta$  plasma. Jika temuan serupa dapat dipertahankan pada manusia, pengukuran plasma A $\beta$  mungkin berguna sebagai penanda dalam penelitian klinis yang melibatkan kopi, kafein, dan penyakit Alzheimer.<sup>81</sup> Konsumsi kafein telah terbukti dapat melindungi dari kerusakan neurologis dan mencegah kehilangan memori yang terkait dengan diabetes melitus tipe 2 pada tikus. Kafein juga terbukti melindungi sawar darah otak, meningkatkan ekskresi A $\beta$ , dan dengan demikian mengurangi risiko terjadinya penyakit Alzheimer serta Parkinson. Kopi, yang mengandung polifenol seperti asam klorogenat, memiliki sifat antioksidan yang dapat mengurangi peradangan dan memberikan perlindungan terhadap demensia.<sup>82,83</sup> Asupan kafein dalam jumlah moderat, yaitu hingga 400 mg/hari, telah terbukti tidak memiliki efek negatif pada kesehatan orang dewasa yang sehat. Namun, konsumsi kafein yang melebihi 500-600 mg/hari secara rutin

dapat meningkatkan risiko kesehatan dan berpotensi menyebabkan penyalahgunaan.<sup>84</sup>



Gambar 2.1. Mekanisme Pengaruh Kopi Terhadap Risiko Penyakit Neurodegeneratif

## 2.7. *Brain-derived neurotrophic factor* (BDNF)

*Brain-derived neurotrophic factor* (BDNF) adalah protein pada manusia yang dikode oleh gen BDNF. BDNF termasuk dalam kelompok neurotrofin yang sangat berpengaruh dalam mendukung fungsi dan perkembangan neuron. Di otak, BDNF aktif di area hipokampus, korteks, dan area basal.<sup>85</sup> Penelitian menunjukkan bahwa neurotrofin merupakan mediator molekuler penting yang mendukung struktur dan fungsi neuroplastisitas serta melindungi neuron dari berbagai kerusakan otak.<sup>86,87</sup> BDNF adalah salah satu jenis neurotrofin yang reseptornya adalah *Tropomyosin Receptor Kinase B* (TrkB). BDNF diekspresikan secara signifikan di daerah otak dengan tingkat plastisitas tinggi, seperti hipokampus, hipotalamus, dan korteks. Selain itu, BDNF berperan dalam mengatur transmisi sinapsis dan perubahan ekspresi yang dipengaruhi oleh aktivitas neuron.<sup>88</sup>

Sintesis dan pematangan BDNF melibatkan beberapa tahap, yaitu intraseluler dan ekstraseluler. Pada jalur intraseluler, prekursor pre-pro-BDNF diproduksi di retikulum endoplasma dan diangkut ke aparatus Golgi. Pembelahan

intraseluler melepaskan pre-region, membentuk pro-BDNF. Selanjutnya, pro-domain juga dilepaskan untuk menghasilkan mature BDNF (m-BDNF). Pembentukan m-BDNF di vesikel intraseluler memungkinkan transportasi neurotrofin ke terminal akson, yang kemudian dilepaskan melalui membran presinaps ke ruang ekstraseluler. Enzim yang berperan dalam fase intraseluler adalah convertase dan furin. Pada jalur ekstraseluler, pro-BDNF dilepaskan ke daerah ekstraseluler dan kemudian diproses oleh metalloproteinase 2 dan 9 (MMP2 dan MMP9), plasmin, serta protease ekstraseluler.<sup>89,90</sup>

Di otak, BDNF aktif di hipokampus, korteks, dan otak depan yang berfungsi dalam proses berpikir dan ingatan jangka panjang. Selain di otak, BDNF juga diekspresikan di retina, neuron motorik, ginjal, air liur, dan prostat.<sup>91</sup> BDNF berperan dalam mendukung keberadaan neuron di sistem saraf pusat, membantu pertumbuhan dan diferensiasi neuron baru, meningkatkan sinaptogenesis, berperan dalam neurogenesis, serta melindungi *neural stem cells* (NSC) dan *neural precursor cells* (NPC) yang berfungsi dalam respons neurogenik untuk meningkatkan kemampuan hidup sel.<sup>92,93</sup>

BDNF dapat meningkatkan sinaptogenesis, yaitu proses pembentukan sinapsis baru dan pembongkaran sinapsis lama oleh  $\beta$ -adducin. Adducin adalah protein membran-skeletal yang menutupi ujung filamen aktin dan meningkatkan penyatuan filamen aktin dengan spektrin serta protein sitoskeleton lainnya. Ini menciptakan jaringan sitoskeleton yang stabil dan kokoh. Aktin memiliki berbagai peran dalam fungsi sinaptik.<sup>94</sup> Pada neuron pra-sinaptik, aktin terlibat dalam pembentukan vesikula sinaptik dan pemulihan vesikel setelah pelepasan neurotransmitter.<sup>95</sup>

## 2.8. Spasial memori dengan Y-Maze

Y-maze task adalah tes perilaku yang banyak digunakan dalam penelitian ilmu saraf untuk mengukur memori spasial dan kemampuan kognitif pada hewan, terutama tikus. Tes ini melibatkan sebuah labirin plastik hitam berbentuk huruf "Y" dengan tiga lengan yang serupa (panjang 50 cm, tinggi 32 cm dan lebar 16 cm) yang berpotongan pada 120°. Seekor tikus ditempatkan di ujung satu lengan dan dibiarkan bergerak bebas melalui labirin selama 8 menit tanpa pemicu, seperti makanan dan minuman.<sup>96,97</sup>

Prosedur Y-Maze Task:<sup>98,99</sup>

1. Pengenalan: Hewan ditempatkan di salah satu lengan labirin dan diberikan waktu untuk mengeksplorasi.
2. Tahap Eksplorasi: Hewan diharapkan menjelajahi ketiga lengan labirin.
3. Pengukuran: Frekuensi dan urutan masuknya hewan ke masing-masing lengan dicatat.

Parameter yang Diukur:<sup>98,99</sup>

- Alternasi Spontan: Persentase percobaan di mana hewan memasuki ketiga lengan yang berbeda secara berturut-turut, menunjukkan kemampuan mengingat lengan yang telah dikunjungi.
- Jumlah Kunjungan Lengan: Berapa kali setiap lengan dikunjungi selama tes.

Entri tikus ke semua lengan dicatat (4 cakar harus berada di dalam lengan untuk entri yang valid) dan pergantian spontan dihitung jika seekor hewan memasuki tiga lengan yang berbeda secara berurutan. Persentase pergantian spontan dihitung berdasarkan rumus berikut:  $[(\text{jumlah pergantian})/(\text{jumlah total entri lengan} - 2)] \times 100$ .<sup>96,97</sup> Jumlah entri ke lengan dan perubahan direkam selama 10 menit dengan sistem pencitraan video EthoVisionXT.<sup>100</sup>

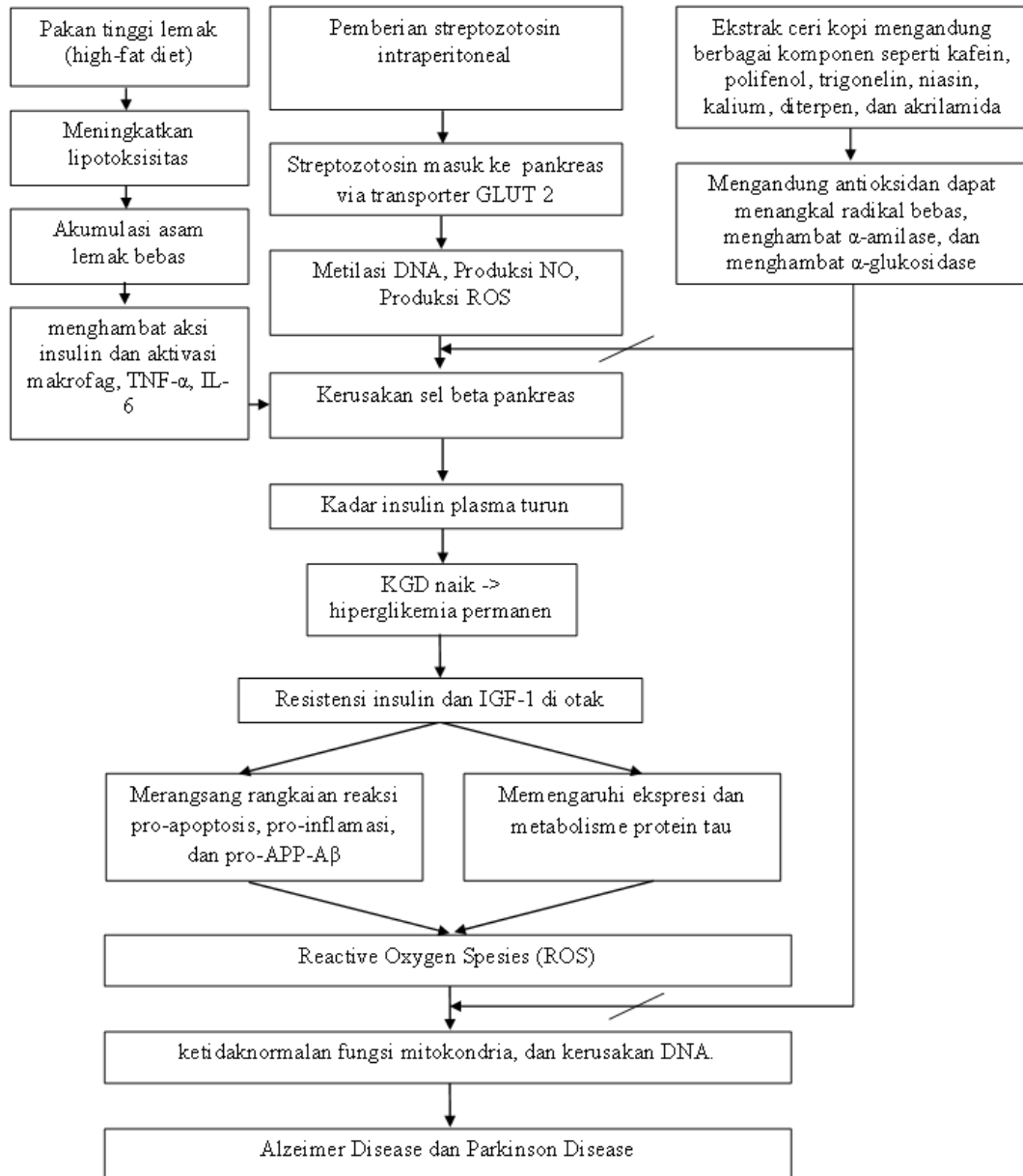
## 2.9. Metode Estraksi Maserasi

Ekstraksi merupakan teknik pemisahan zat berdasarkan perbedaan kelarutan dalam dua cairan yang tidak bercampur, umumnya air dan pelarut organik. Salah satu metode yang sering digunakan adalah maserasi. Maserasi adalah metode ekstraksi senyawa aktif dari bahan tumbuhan dengan cara perendaman serbuk simplisia dalam pelarut pada suhu kamar selama periode tertentu, sambil diaduk atau dibiarkan statis.<sup>101,102</sup>

Tahapan proses maserasi:

1. Persiapan Simplisia: Bahan tanaman dikeringkan dan dihaluskan (serbuk).
2. Perendaman: Serbuk direndam dalam pelarut (misalnya etanol, metanol, atau air) dengan perbandingan tertentu (umumnya 1:10).
3. Durasi Maserasi: Biasanya 3×24 jam, dilakukan di suhu ruang.
4. Penyaringan: Filtrat dipisahkan dari ampas menggunakan kertas saring.
5. Evaporasi: Filtrat dikentalkan menggunakan evaporator atau rotary vacuum evaporator untuk menghilangkan pelarut.<sup>103</sup>

## 2.10. Kerangka Teori



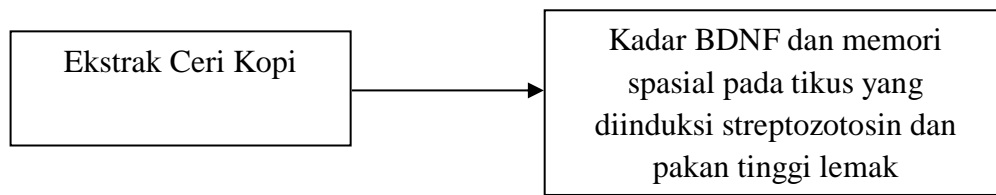
Gambar 2.2. Bagan Kerangka Teori Penelitian

Keterangan:

→ = selanjutnya (terjadi)

↘ = tidak terjadi

### 2.11. Kerangka Konsep



Gambar 2.3. Bagan Kerangka Konsep Penelitian

### 2.12. Hipotesis

- a.  $H_a$  : Pemberian ekstrak ceri kopi 100 mg/hari/oral atau 200 mg/hari/oral efektif sebagai neuroprotektor pada tikus diabetes yang diinduksi pakan tinggi lemak dan streptozotosin yang mengalami gangguan kognitif.
- b.  $H_0$  : Pemberian ekstrak ceri kopi 100 mg/hari/oral atau 200 mg/hari/oral tidak efektif sebagai neuroprotektor pada tikus diabetes yang diinduksi pakan tinggi lemak dan streptozotosin yang mengalami gangguan kognitif.

## BAB 3

### METODE PENELITIAN

#### 3.1. Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Alat Ukur	Skala Ukur	Hasil Ukur
<b>Ekstrak Kopi Ceri</b>	Bahan yang dibuat dari ceri kopi robusta (kopi Gayo) yang di ekstrak dengan cara maserasi dengan pelarut etanol 70%.	Timbangan analitik dan oral gavage	Rasio	100 mg/ hari/oral dan 200 mg/hari/oral.
<b>Uji memori spasial</b>	Presentase alterasi pada kombinasi lengan yang dihasilkan oleh tikus putih jantan selama 10 menit pengamatan.	Timer	Rasio	Persentase alterasi
<b>Kadar Brain-derived neurotrophic factor (BDNF)</b>	Kadar BDNF yang diambil dari jaringan otak tikus.	Elisa Kit BDNF	Rasio	Kadar BDNF dalam jaringan otak (pg/mL)

#### 3.2. Variabel Penelitian

##### 3.2.1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah dosis ekstrak ceri kopi.

##### 3.2.2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah berupa spasial memori dengan menggunakan kamera (Y-maze) dan BDNF dari jaringan otak.

#### 3.3. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental terhadap hewan coba dengan metode *Posttest With Kontrol Group Design*. Ini memungkinkan peneliti mengukur pengaruh perlakuan dengan cara membandingkan kelompok tersebut dengan kelompok kontrol. Dalam penelitian ini terdapat enam kelompok yang dipilih secara *random*, kemudian untuk mengetahui adakah perbedaan kadar BDNF dan spasial memori antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol.

### 3.4. Waktu dan Tempat Penelitian

#### 3.4.1. Waktu Penelitian

Waktu penelitian dilakukan pada bulan Agustus 2024-Juli 2025, yaitu sebagai berikut:

Tabel 3.1. Waktu Kegiatan Penelitian

No	Nama Kegiatan	Bulan											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	Studi Literatur	■	■										
2	Pembuatan proposal			■	■	■	■	■					
3	Persiapan alat dan bahan							■	■				
4	Melakukan penelitian									■	■	■	
5	Analisis dan evaluasi											■	
6	Pelaporan hasil dan submit ke jurnal												■

#### 3.4.2. Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Unit Pengelolaan Hewan Laboratorium (UPHL) FK UMSU, Laboratorium Biokimia FK UMSU, Laboratorium MIPA USU, dan Laboratorium Terpadu FK USU.

#### 3.4.3. Komite Etik

Sebelum melakukan penelitian menggunakan hewan uji, dilakukan pengurusan *etical clearance* pada Komite Etik Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.

#### 3.4.4. Ekstraksi

Pembuatan ekstrak ceri kopi robusta di lakukan di laboratorium biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.

#### 3.4.5. Ceri Kopi yang Digunakan

Ceri kopi robusta (*Coffea canephora*) yang digunakan dalam penelitian adalah kopi Gayo yang didapat dari Aceh, tepatnya dari daerah Takengon.

### 3.5. Alat dan Bahan Penelitian

#### 3.5.1. Alat

- a. Kandang tikus ukuran 410 x 320 x 130 mm
- b. Wadah pakan standar

- c. Wadah air untuk minum
- d. *Disposable syring 1 cc*
- e. Jarum ukuran 27 G
- f. Alkohol Swab
- g. Timbangan digital
- h. Glucocheck

### **3.5.2. Bahan**

- a. Pakan tikus
- b. *Aquadest*
- c. Ekstrak ceri kopi
- d. Streptozotosin
- e. Sekam
- f. *NaCl*
- g. Rat Elisa Kit BDNF
- i. *Citrate buffer* pH 4,5 0,1 M
- h. Glucocheck strip
- i. Formalin buffer 10%

## **3.6. Alat dan Bahan Pembuatan Ekstrak Ceri Kopi**

### **3.6.1. Alat**

- a. Blender
- b. Timbangan
- c. *Aluminium Foil*
- d. Pot penyimpanan
- e. Kertas saring
- f. Infus Set
- g. Kompor

### **3.6.2. Bahan**

- a. Ceri kopi
- b. *Etanol 70%*
- c. *CMC-Na*

### 3.7. Populasi dan Sampel Penelitian

#### 3.7.1. Populasi Penelitian

Populasi penelitian meliputi putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus sp.*).

Kriteria Inklusi

- a. Tikus putih jantan
- b. Tikus putih jantan dewasa (> 3 bulan)
- c. Bobot tikus putih jantan (175 – 200 g)
- d. Selama observasi 7 hari sebelum perlakuan tidak sakit, aktivitas dan tingkah laku normal.

#### 3.7.2. Sampel Penelitian

Sampel penelitian ditentukan dengan rumus Federer dengan penjabaran sebagai berikut :<sup>104</sup>

$$\text{Rumus} = (n - 1) (t - 1) \geq 15$$

Keterangan :

n = Jumlah sampel

t = Kelompok sampel

Penelitian menggunakan 6 kelompok dengan pembagian kelompok perlakuan sebagai berikut:

Kelompok 1 tikus normal

Kelompok 2 tikus normal + streptozotosin 30 mg/kgBB/dosis tunggal/intraperitoneal

Kelompok 3 tikus normal + streptozotosin 30 mg/kgBB/dosis tunggal/intraperitoneal + pakan tinggi lemak 15 gram/hari/oral

Kelompok 4 tikus normal + streptozotosin 30 mg/kgBB/dosis tunggal/intraperitoneal + pakan tinggi lemak 15 gram/hari/oral + metformin 200 mg/kgBB/hari/oral

Kelompok 5 tikus normal + streptozotosin 30 mg/kgBB/dosis tunggal/intraperitoneal + pakan tinggi lemak 15 gram/hari/oral + ekstrak ceri kopi dosis 100 mg/ hari/oral.

Kelompok 6 tikus normal + streptozotosin 30 mg/kgBB/dosis tunggal/intraperitoneal + pakan tinggi lemak 15 gram/hari/oral + ekstrak ceri kopi dosis 200 mg/ hari/oral.

Maka jumlah sampel yang dipergunakan diperoleh dari perhitungan sebagai berikut :

$$\begin{aligned} \text{Rumus} & : (n - 1)(t - 1) \geq 15 \\ & (n - 1)(6 - 1) \geq 15 \\ & (n - 1)(5) \geq 15 \\ & 5n - 5 \geq 15 \\ & 5n \geq 15 + 5 \\ & 5n \geq 20 \\ & n \geq 4 \end{aligned}$$

Berdasarkan perhitungan tersebut diperoleh bahwa masing-masing kelompok sampel mempergunakan 4 ekor tikus putih jantan. Jadi, jumlah sampel secara keseluruhan dipergunakan dalam penelitian ini adalah 24 ekor tikus jantan, kemudian disiapkan tikus putih tambahan apabila dalam penelitian tikus putih jantan tiba-tiba mati maka tambahan 2 ekor tikus dari masing-masing kelompok. Jadi total tikus putih sebanyak 36 ekor tikus putih jantan.

Sampel penelitian diperoleh dari populasi *sample random sampling* dengan kriteria inklusi dan eksklusi.

### **3.8. Teknik Pengumpulan Data**

Data yang dipakai pada penelitian ini adalah data primer yang diperoleh dari hasil penelitian secara langsung.

### **3.9. Prosedur Penelitian**

#### **3.9.1. Persiapan Hewan Uji**

Sebelum perlakuan tikus terlebih dahulu diaklimatisasi selama seminggu. Tikus dipelihara dalam kandang yang diberi alas sekam dan anyaman kawat sebagai penutup. Pemberian pakan dilakukan setiap hari secara *ad libitum*. Selanjutnya secara acak tikus dimasukkan ke dalam tiap kandang terpisah yang sudah diberi tanda sesuai dengan perlakuan.

#### **3.9.2. Pembuatan Ekstrak Ceri Kopi**

Berikut adalah cara pembuatan ekstrak ceri kopi yang sudah dilakukan dengan menggunakan metode maserasi:

### 1. Persiapan Bahan

- Keringkan ceri kopi hingga kadar air < 10% dengan menggunakan oven pada suhu 40°C.
- Haluskan hingga menjadi serbuk kasar menggunakan blender atau grinder.

### 2. Proses Maserasi

- Timbang serbuk ceri kopi 100 g.
- Rendam dalam etanol 70% dengan perbandingan 1:10.
- Tutup rapat dan simpan di suhu ruang, terlindung dari cahaya langsung (gelap), selama 3–5 hari, sambil dikocok atau diaduk sesekali.

### 3. Penyaringan

- Setelah masa maserasi, larutan disaring menggunakan penyaring vakum untuk memisahkan ampas dari cairan.

### 4. Pemekatan Ekstrak

- Filtrat hasil saringan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C untuk menghilangkan pelarut.

### 5. Penyimpanan

Ekstrak kental yang dihasilkan disimpan dalam wadah gelap di lemari es.

#### 3.9.3. Pembuatan Hewan Model

##### 1. Pemberian Streptozotosin

Pemberian streptozotosin dilakukan secara injeksi *intraperitoneal* sebanyak 30 mg/kgBB pada tikus jantan kelompok 2, 3, 4, 5, dan 6 sebanyak 1 kali pemberian.

##### 2. Pemberian Pakan Tinggi Lemak

Untuk menginduksi DMT2, tikus pada kelompok 3, 4, 5, 6 dan 7 menerima pakan tinggi lemak selama 4 minggu, yang terdiri dari 15,5% protein, 38,8% lemak, dan 45,7% karbohidrat berdasarkan kalori.

##### 3. Pemeriksaan KGD

Pemeriksaan gula darah tikus dilakukan dengan mengambil darah dari ujung ekor tikus yang dipotong sedikit, kemudian gula darah dicek dengan menggunakan alat glucocheck.

#### 4. Pemberian Metformin

Pemberian metformin dilakukan secara oral 200 mg/KgBB pada tikus putih jantan kelompok 4.

#### 5. Pemberian Ekstrak Ceri Kopi

Pemberian ekstrak ceri kopi dilakukan secara oral sebanyak 100 mg/hari pada tikus putih jantan kelompok 5, dan 200 mg/hari pada tikus putih jantan kelompok 6.

#### 6. Prosedur Pemeriksaan Y-Maze

##### a. Adaptasi

- Tikus diadaptasikan terlebih dahulu ke ruang laboratorium selama  $\pm$  1 minggu, dan dipegang tiap hari untuk membiasakan diri.

##### b. Persiapan Arena

- Y-maze diletakkan di ruangan dengan pencahayaan sedang dan kondisi tenang.
- Bersihkan setiap lengan dengan alkohol 70% sebelum dan sesudah pengujian setiap tikus.

##### c. Prosedur Uji

- Tikus diletakkan di ujung salah satu lengan (misalnya lengan A), dan dibiarkan bebas menjelajahi arena selama 10 menit.
- Pengamatan dimulai segera setelah tikus dilepaskan.
- Setiap masuknya seluruh tubuh ke suatu lengan dihitung sebagai satu entri.

##### d. Pencatatan Data

- Catat urutan dan jumlah masuknya tikus ke tiap lengan.
- Hitung jumlah alternasi spontan, yaitu tiga entri berturut-turut ke tiga lengan berbeda (misal: A  $\rightarrow$  B  $\rightarrow$  C).
- Jumlah total entri (untuk mengontrol aktivitas locomotor).
- Sebuah alterasi valid terjadi bila urutan tiga consecutive entries melibatkan tiga lengan berbeda.
- Supaya perhitungan alterasi dianggap valid, jumlah entries juga harus cukup.

- Umumnya digunakan minimal 8–10 entries total selama sesi uji → jika kurang dari itu, data dianggap tidak representatif.

e. Cara Penghitungan

$$\text{Persentase Alternasi Spontan (\%)} = \frac{\text{Jumlah Alternasi Aktual}}{\text{Jumlah Alternasi Maksimal}} \times 100$$

- Jumlah Alternasi Aktual = banyaknya set tiga urutan berbeda yang berhasil.
- Jumlah Alternasi Maksimal = (total masuk lengan – 2).

f. Cara Interpretasi Hasil

- > 50% → menandakan fungsi memori kerja spasial baik.
- ≈ 50% → tikus memilih lengan secara acak (tidak ada preferensi).
- < 50% → menunjukkan adanya gangguan memori kerja spasial.

## 1. Prosedur Pemeriksaan BDNF

- Terminasi Tikus (Euthanasia)
  - Anestesi terlebih dahulu dengan menggunakan ketamin–xylazine dosis 10 mg/kg i.p.
  - Dilanjutkan dengan dislokasi servikal atau dekapitasi cepat setelah hilang refleks nyeri.
- Pengambilan Jaringan Otak
  - Setelah terminasi, kepala tikus dibuka dengan gunting kecil dan pinset steril.
  - Gunakan forsep untuk membuka tengkorak dari belakang ke depan.
  - Angkat jaringan otak utuh secara perlahan, usahakan tidak merusak struktur.
  - Cuci otak dengan saline/NaCl 0.9% untuk membersihkan darah.
  - Masukkan ke dalam larutan formalin buffer 10%
- Pemeriksaan Kadar BDNF dengan ELISA
  - Homogenisasi Jaringan Otak
    1. Ambil 100 mg jaringan otak
    2. Tambahkan RIPA buffer
    3. Homogenisasi menggunakan homogenizer atau sonikator hingga larut

4. Sentrifugasi 10.000–15.000 rpm selama 15 menit pada 4°C
  5. Ambil supernatan untuk pemeriksaan ELISA (protein larut)
- Pengukuran ELISA
    1. Gunakan kit ELISA BDNF khusus tikus
    2. Ikuti protokol kit
    3. Tambahkan sampel dan standar ke dalam sumur mikroplate yang telah dilapisi antibodi
    4. Tambahkan konjugat dan substrat, lalu hentikan reaksi
    5. Baca absorbansi menggunakan ELISA reader pada panjang gelombang 450 nm
  - Perhitungan
    - 1) Buat kurva standar (standar BDNF dalam pg/mL)
    - 2) Hitung konsentrasi sampel berdasarkan kurva standar tersebut

### 3.10. Pengolahan dan Analisis Data

#### 3.10.1. Pengolahan Data

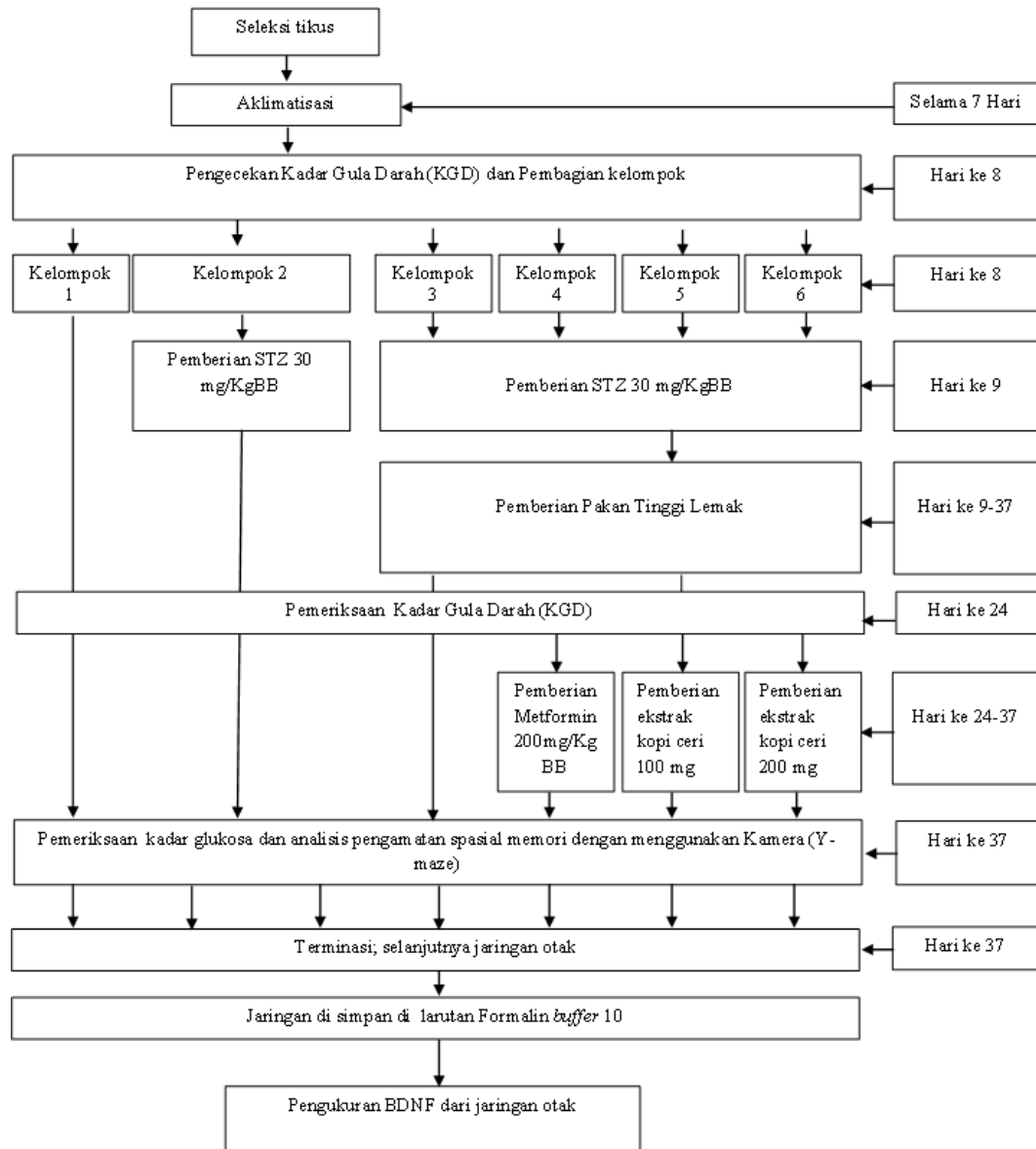
Adapun langkah-langkah pengolahan data meliputi:

- a. *Editing* data dilakukan untuk memeriksa ketepatan dan kelengkapan data apabila data belum lengkap ataupun ada kesalahan data.
- b. *Coding* data dilakukan apabila data sudah terkumpul kemudian dikoreksi ketepatannya dan kelengkapannya kemudian diberikan kode oleh peneliti secara manual sebelum diolah ke komputer.
- c. *Entry* data yang telah dibersihkan kemudian dimasukkan ke dalam program komputer.
- d. *Data Cleaning* pemeriksaan semua data yang telah dimasukkan ke dalam komputer guna menghindari terjadinya kesalahan dalam memasukkan data.
- e. *Saving* penyimpanan data untuk siap dianalisis.

#### 3.10.2. Analisis Data

Data yang didapat telah dilakukan pengolahan data, dari uji normalitas didapatkan data berdistribusi normal ( $p > 0,05$ ). Selanjutnya data diuji dengan *One Way ANOVA*, dan untuk mengetahui secara lebih spesifik perbedaan antar kelompok dilakukan uji *Post Hoc*.<sup>105</sup>

### 3.11. Alur Penelitian



Gambar 3.1. Bagan Alur Penelitian

## BAB 4

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1. Hasil Penelitian

Penelitian dilakukan setelah memperoleh lulus etik dari Komite Etik FK UMSU dengan nomor 1322.SP.01/KEPK/FKUMSU/2024.

##### 4.1.2. Hewan Model DM yang Mengalami Gangguan Kognitif

Hasil kadar gula darah pada tikus putih jantan galur wistar (*Rattus novergius sp.*) dari masing-masing kelompok penelitian dengan mengecek kadar gula darah yang di ambil dari ekor tikus.

Tabel 4.1. Hasil Uji Distribusi Frekuensi Pemeriksaan Kadar Gula Darah Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang Mengalami Gangguan Kognitif Setelah Pemberian Ekstrak

Kelompok	N	Nilai Rata-Rata (mg/dL)	Std. Deviation
Kelompok 1	4	108,25	15,88
Kelompok 2	4	195,25	13,05
Kelompok 3	4	254,75	7,41
Kelompok 4	4	130,50	11,00
Kelompok 5	4	126,25	11,50
Kelompok 6	4	128,00	2,16

Keterangan:

Kelompok 1 : tikus normal

Kelompok 2 : tikus yang diinduksi STZ

Kelompok 3 : tikus yang diinduksi STZ dan pakan tinggi lemak

Kelompok 4 : tikus yang diberikan metformin 200 mg/kgBB/hari/oral

Kelompok 5 : tikus yang diberikan ekstrak ceri kopi 100 mg/hari/oral

Kelompok 6 : tikus yang diberikan ekstrak ceri kopi 200 mg/hari/oral

Dari tabel 4.1 menunjukkan hasil analisis deskriptif kadar glukosa darah, diperoleh bahwa adanya perbedaan kadar glukosa darah antar kelompok. Kelompok 3 memiliki kadar tertinggi (hiperglikemia berat), sedangkan kelompok 1 memiliki kadar gula darah normal. Kadar gula darah kelompok 2 juga tinggi, menandakan keberhasilan induksi diabetes. Sebaliknya, kelompok 4, 5, dan 6 menunjukkan penurunan kadar glukosa mendekati normal. Kelompok 6 menunjukkan hasil paling stabil, sehingga diduga memberikan efek paling optimal dalam menurunkan kadar glukosa darah.

#### 4.1.2. Hasil Uji Statistik Pemeriksaan Spasial Memori pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang Mengalami Gangguan Kognitif

Hasil uji Y-maze pada tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus sp.*) dari masing-masing kelompok penelitian dengan mengecek aktivitas tikus di sebuah labirin berbentuk Y. Adapun peneliti melihat aktivitas tikus ke masing-masing cabang labirin dan menilai presentase alterasi.

Tabel 4.2. Hasil Uji Distribusi Frekuensi Pemeriksaan Spasial Memori pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang Mengalami Gangguan Kognitif

Kelompok	N	Nilai Rata-Rata (%)	Std. Deviation
Kelompok 1	3	64,40	9,53
Kelompok 2	4	64,09	6,49
Kelompok 3	4	61,39	15,85
Kelompok 4	3	86,67	6,26
Kelompok 5	4	92,52	5,31
Kelompok 6	3	96,02	3,52

Keterangan:

Kelompok 1 : tikus normal

Kelompok 2 : tikus yang diinduksi STZ

Kelompok 3 : tikus yang diinduksi STZ dan pakan tinggi lemak

Kelompok 4 : tikus yang diberikan metformin 200 mg/kgBB/hari/oral

Kelompok 5 : tikus yang diberikan ekstrak ceri kopi 100 mg/hari/oral

Kelompok 6 : tikus yang diberikan ekstrak ceri kopi 200 mg/hari/oral

Dari tabel 4.2 menunjukkan bahwa adanya variasi nilai rata-rata antar kelompok perlakuan. Kelompok 2 dan 3 menunjukkan penurunan dibanding kelompok kontrol. Sebaliknya, Kelompok 4, 5, dan 6 memperlihatkan peningkatan nilai secara bertahap. Peningkatan tertinggi pada Kelompok 6 dengan simpangan baku paling kecil menunjukkan bahwa perlakuan dosis tersebut tidak hanya efektif, tetapi juga konsisten dalam memperbaiki kondisi hewan coba.

Kemudian dilanjutkan uji normalitas dan hasilnya menunjukkan hasil p-value dari masing-masing kelompok  $>0,05$ , yang berarti data berdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji statistik dengan menggunakan One-way ANOVA dan didapatkan:

Tabel 4.3. Hasil uji One Way ANOVA Pemeriksaan Spasial Memori pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang Mengalami Gangguan Kognitif

Kelompok	p-value
Kelompok 1	
Kelompok 2	
Kelompok 3	
Kelompok 4	0,000
Kelompok 5	
Kelompok 6	

Keterangan:

Kelompok 1 : tikus normal

Kelompok 2 : tikus yang diinduksi STZ

Kelompok 3 : tikus yang diinduksi STZ dan pakan tinggi lemak

Kelompok 4 : tikus yang diberikan metformin 200 mg/kgBB/hari/oral

Kelompok 5 : tikus yang diberikan ekstrak ceri kopi 100 mg/hari/oral

Kelompok 6 : tikus yang diberikan ekstrak ceri kopi 200 mg/hari/oral

Dari tabel 4.3 menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan (K1–K6) dengan nilai  $p = 0,000$  ( $p < 0,05$ ). Temuan ini mengindikasikan bahwa perlakuan yang diberikan pada masing-masing kelompok berpengaruh nyata terhadap variabel yang diukur, sehingga respon yang diperoleh bukan disebabkan oleh faktor kebetulan melainkan akibat perbedaan intervensi yang diberikan.

Selanjutnya dilakukan uji statistik dengan menggunakan Post Hoc (Tukey HSD) dan didapatkan:

Tabel 4.4. Hasil uji Post Hoc Pemeriksaan Spasial Memori pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang Mengalami Gangguan Kognitif

Kelompok	Perbedaan Nilai Rata-Rata (I-J)	Sig. (p-value)
K1 vs K2	5,31083	0,970
K1 vs K3	8,01583	0,853
K1 vs K4	-10,12667	0,749
K1 vs K5	-23,11417*	0,044
K1 vs K6	-26,62000*	0,027
K2 vs K3	2,70500	0,998
K2 vs K4	-15,43750	0,287
K2 vs K5	-28,42500*	0,006
K2 vs K6	-31,93083*	0,004
K3 vs K4	-18,14250	0,156
K3 vs K5	-31,13000*	0,003
K3 vs K6	-34,63583*	0,002
K4 vs K5	-12,98750	0,459
K4 vs K6	-16,49333	0,288
K5 vs K6	-3,50583	0,995

Keterangan:

Kelompok 1 : tikus normal

Kelompok 2 : tikus yang diinduksi STZ

Kelompok 3 : tikus yang diinduksi STZ dan pakan tinggi lemak

Kelompok 4 : tikus yang diberikan metformin 200 mg/kgBB/hari/oral

Kelompok 5 : tikus yang diberikan ekstrak ceri kopi 100 mg/hari/oral

Kelompok 6 : tikus yang diberikan ekstrak ceri kopi 200 mg/hari/oral

Dari tabel 4.4 hasil uji Tukey HSD menunjukkan bahwa perlakuan pada kelompok 5 dan 6 mampu meningkatkan persentase alterasi secara signifikan dibandingkan dengan kelompok 2 dan 3. Temuan ini mengindikasikan bahwa kelompok 5 dan 6 memiliki efek neuroprotektif yang lebih kuat dalam memperbaiki gangguan kognitif. Kelompok 4 berada di posisi tengah, dengan kecenderungan meningkat namun belum signifikan, yang menunjukkan bahwa kondisi fisiologis pada kelompok tersebut relatif stabil. Dengan demikian, peningkatan signifikan pada kelompok 5 dan 6 menegaskan potensi optimal sebagai terapi adjuvan dalam menurunkan dampak negatif hiperglikemia terhadap fungsi kognitif. Artinya ekstrak ceri kopi terbukti dapat memperbaiki fungsi kognitif tikus.

#### 4.1.3. Hasil Uji Statistik Kadar BDNF pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang Mengalami Gangguan Kognitif

Hasil uji BDNF pada tikus putih jantan galur wistar (*Rattus novergicus sp.*) dari masing-masing kelompok penelitian dengan mengecek kadar BDNF dari jaringan otak tikus.

Tabel 4.5. Hasil Uji Distribusi Frekuensi Pemeriksaan Kadar BDNF pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang Mengalami Gangguan Kognitif

Kelompok	N	Nilai Rata-Rata (pg/mL)	Std. Deviation
Kelompok 1	4	0,106	0,008
Kelompok 2	4	0,057	0,022
Kelompok 3	4	0,033	0,005
Kelompok 4	4	0,156	0,229
Kelompok 5	4	0,478	0,017
Kelompok 6	4	0,715	0,013

Keterangan:

Kelompok 1 : tikus normal

Kelompok 2 : tikus yang diinduksi STZ

Kelompok 3 : tikus yang diinduksi STZ dan pakan tinggi lemak

Kelompok 4 : tikus yang diberikan metformin 200 mg/kgBB/hari/oral

Kelompok 5 : tikus yang diberikan ekstrak ceri kopi 100 mg/hari/oral

Kelompok 6 : tikus yang diberikan ekstrak ceri kopi 200 mg/hari/oral

Dari tabel 4.5 menunjukkan bahwa kadar BDNF mengalami penurunan pada kelompok diabetes (K2 dan K3), dengan nilai terendah pada kelompok 3. Sebaliknya, pada kelompok yang mendapat perlakuan (K4–K6) terjadi peningkatan kadar BDNF secara bertahap, di mana kelompok 6 memperlihatkan nilai tertinggi dengan variasi paling kecil. Hal ini mengindikasikan bahwa perlakuan pada Kelompok 6 memiliki efek paling optimal dan konsisten dalam meningkatkan kadar BDNF.

Kemudian dilanjutkan uji normalitas dan hasilnya menunjukkan hasil p-value dari masing-masing kelompok  $>0,05$ , yang berarti data berdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji statistik dengan menggunakan One-way ANOVA dan didapatkan:

Tabel 4.6. Hasil uji One Way ANOVA Pemeriksaan Kadar BDNF pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang Mengalami Gangguan Kognitif

Kelompok	p-value
Kelompok 1	
Kelompok 2	
Kelompok 3	0,000
Kelompok 4	
Kelompok 5	
Kelompok 6	

Keterangan:

Kelompok 1 : tikus normal

Kelompok 2 : tikus yang diinduksi STZ

Kelompok 3 : tikus yang diinduksi STZ dan pakan tinggi lemak

Kelompok 4 : tikus yang diberikan metformin 200 mg/kgBB/hari/oral

Kelompok 5 : tikus yang diberikan ekstrak ceri kopi 100 mg/hari/oral

Kelompok 6 : tikus yang diberikan ekstrak ceri kopi 200 mg/hari/oral

Dari tabel 4.6 untuk membandingkan hasil antar enam kelompok penelitian (K1–K6) menunjukkan nilai  $p = 0,001$ , yang lebih kecil dari batas signifikansi 0,05 ( $p < 0,05$ ). Hasil ini mengindikasikan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna secara statistik kadar BDNF antar kelompok.

Selanjutnya dilakukan uji statistik dengan menggunakan Post Hoc (Tukey HSD) dan didapatkan:

Tabel 4.7. Hasil uji Post Hoc Kadar BDNF pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang Mengalami Gangguan Kognitif

Kelompok	Perbedaan Nilai Rata-Rata (I-J)	Sig. (p-value)
K1 vs K2	0,0490250*	0,001
K1 vs K3	0,0730250*	0,000
K1 vs K4	-0,0499750*	0,001
K1 vs K5	-0,3712250*	0,000
K1 vs K6	-0,6087250*	0,000
K2 vs K3	0,0240000	0,169
K2 vs K4	-0,0990000*	0,000
K2 vs K5	-0,4202500*	0,000
K2 vs K6	-0,6577500*	0,000
K3 vs K4	-0,1230000*	0,000
K3 vs K5	-0,4442500*	0,000
K3 vs K6	-0,6817500*	0,000
K4 vs K5	-0,3212500*	0,000
K4 vs K6	-0,5587500*	0,000
K5 vs K6	-0,2375000*	0,000

Keterangan:

Kelompok 1 : tikus normal

Kelompok 2 : tikus yang diinduksi STZ

Kelompok 3 : tikus yang diinduksi STZ dan pakan tinggi lemak

Kelompok 4 : tikus yang diberikan metformin 200 mg/kgBB/hari/oral

Kelompok 5 : tikus yang diberikan ekstrak ceri kopi 100 mg/hari/oral

Kelompok 6 : tikus yang diberikan ekstrak ceri kopi 200 mg/hari/oral

Dari tabel 4.7 menunjukkan adanya perbedaan signifikan pada hampir semua kelompok penelitian ( $p < 0,05$ ). Kelompok 1 berbeda nyata dengan semua kelompok lainnya (K2–K6). Kelompok 2 juga berbeda signifikan dengan K1, K4, K5, dan K6, tetapi tidak berbeda dengan K3 ( $p = 0,169$ ), yang artinya nilai rata-rata K2 dan K3 relatif serupa. Hal ini diperkuat dengan hasil K3 yang juga hanya tidak berbeda dengan K2, tetapi berbeda dengan kelompok lain. Sementara itu, kelompok 4, 5, dan 6 memiliki perbedaan signifikan terhadap semua kelompok, sehingga menunjukkan efek perlakuan yang jelas dan konsisten. Secara keseluruhan, dapat disimpulkan bahwa setiap kelompok memiliki perbedaan nyata, kecuali antara kelompok 2 dan kelompok 3 yang tidak berbeda signifikan. Artinya ekstrak ceri kopi terbukti dapat meningkatkan kadar BDNF tikus.

## 4.2. Pembahasan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa induksi kombinasi pakan tinggi lemak (high-fat diet/HFD) selama 2 minggu diikuti injeksi streptozotosin (STZ)

secara intraperitoneal berhasil menciptakan model tikus diabetes tipe 2 yang ditandai dengan peningkatan kadar glukosa darah dan gangguan kognitif signifikan pada pengujian Y-maze dan kadar BDNF. Dari uji statistik yang dilakukan, pada kelompok 2 dan 3 didapatkan p-value 0,000 ( $<0,05$ ) dibandingkan dengan kelompok 1.

Model ini sesuai dengan studi sebelumnya yang menyatakan bahwa HFD menyebabkan resistensi insulin perifer dan sentral, sedangkan STZ merusak sel  $\beta$  pankreas sehingga memperkuat hiperglikemia kronik dan stres oksidatif sistemik.<sup>106,107</sup> Kombinasi HFD dan STZ juga diketahui mempercepat gangguan memori dan menurunkan ekspresi BDNF (brain-derived neurotrophic factor) di hippocampus.<sup>108</sup>

Pada kelompok 2 dan 3, didapatkan nilai BDNF lebih rendah dari kelompok 1. Kadar BDNF yang menurun secara signifikan pada kelompok diabetes menunjukkan adanya kerusakan sistem neurotrofik yang berperan penting dalam neuroplastisitas dan fungsi memori.<sup>109</sup> Penurunan BDNF telah dikaitkan dengan patogenesis penyakit Alzheimer dan gangguan kognitif akibat diabetes.<sup>110</sup>

Pada penelitian ini, kelompok yang diinduksi STZ menunjukkan kadar BDNF terendah, mengindikasikan dampak neurodegeneratif akibat hiperglikemia kronik dan stres oksidatif. Hal ini mendukung temuan bahwa diabetes dapat menyebabkan atrofi hippocampus dan penurunan ekspresi gen BDNF melalui jalur inflamasi dan disfungsi mitokondria.<sup>111</sup>

Uji perilaku Y-maze digunakan untuk menilai fungsi memori kerja spasial. Hasil menunjukkan bahwa kelompok diabetes mengalami penurunan *spontaneous alternation percentage* (SAP), yang menunjukkan disfungsi hippocampus. Namun, pemberian ekstrak ceri kopi secara signifikan meningkatkan SAP pada kelompok perlakuan, mendekati nilai normal.

Hal ini konsisten dengan studi terbaru yang menunjukkan bahwa senyawa polifenol dan asam klorogenat dalam kulit kopi (ceri kopi) memiliki efek neuroprotektif, antioksidan, dan anti-inflamasi yang mampu menurunkan beban oksidatif di otak.<sup>112,113</sup> Senyawa ini dapat meningkatkan ekspresi BDNF melalui aktivasi jalur CREB dan menghambat jalur inflamasi NF- $\kappa$ B.

Peningkatan kadar BDNF pada kelompok tikus yang diberi ekstrak ceri kopi menegaskan bahwa fitokimia dalam ceri kopi mampu menstimulasi neuroregenerasi. Peningkatan BDNF dapat terjadi melalui peningkatan aktivitas antioksidan, perbaikan metabolisme glukosa, serta peningkatan sensitivitas insulin sentral.<sup>114</sup> Ekstrak ceri kopi juga mengandung flavonoid seperti quercetin dan proantosianidin, yang telah terbukti meningkatkan ekspresi BDNF dan memperbaiki plastisitas sinaptik pada model tikus Alzheimer.<sup>115</sup>

Beberapa mekanisme kerja utama ekstrak ceri kopi yang diduga berperan dalam efek neuroprotektif antara lain sebagai antioksidan kuat dalam menetralkan ROS dan menghambat lipid peroksidasi, anti-inflamasi dengan cara menghambat ekspresi IL-6, TNF- $\alpha$ , dan COX-2, modulasi neurotrofin dengan cara meningkatkan ekspresi BDNF dan NGF, perbaikan fungsi mitokondria dengan cara menurunkan ekspresi Bax dan meningkatkan Bcl-2 pada neuron, dan efek antidiabetik dengan cara menurunkan resistensi insulin dan memperbaiki metabolisme glukosa otak.<sup>113,116</sup>

Untuk perbandingan dengan obat standard, terdapat peningkatan BDNF pada kelompok 4, 5, dan 6 dibandingkan dengan Kelompok 1. Hasil penelitian ini sejalan dengan studi yang menggunakan agonis GLP-1 seperti liraglutide yang juga menunjukkan efek peningkatan BDNF dan perbaikan fungsi memori pada model tikus diabetes.<sup>117</sup> Meskipun belum dikomparasi langsung, ceri kopi sebagai bahan alami memberikan potensi tinggi sebagai agen neuroprotektif komplementer dengan risiko toksisitas lebih rendah.

Dalam penelitian ini, peneliti menggunakan formalin sebagai media pengawet jaringan yang akan dilakukan pemeriksaan dengan ELISA dan dijumpai hasil pada pembacaan pemeriksaan tersebut. Hal ini sejalan dengan penelitian lain dari sampel hipokampus yang diperoleh dari tikus direndam dalam formalin 10% selama 72 jam dapat digunakan untuk memeriksa kadar dan MDA melalui uji ELISA.<sup>32</sup> Dalam penelitian lainnya meskipun fokus utama jurnal ini adalah *western blot*, metode ekstraksi protein dari jaringan otak *formalin-fixed* ini sangat kompatibel untuk digunakan dalam ELISA.<sup>35</sup> Dalam sebuah penelitian yang berfokus utama adalah LC-MS/MS, protokol ekstraksi protein dari jaringan FFPE yang menggunakan ammonium bicarbonate, pemanasan, dan sonikasi sangat cocok

digunakan untuk analisis berbasis ELISA, karena menghasilkan peptida dan protein terlarut dari jaringan tetap.<sup>118</sup>

## **BAB 5**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1. KESIMPULAN**

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa

1. Ekstrak ceri kopi dengan dosis 200 mg/hari memperbaiki spasial memori yang lebih baik dibandingkan dengan dosis 100 mg/hari.
2. Ekstrak ceri kopi dengan dosis 200 mg/hari dapat meningkatkan kadar BDNF dibandingkan dengan dosis 100 mg/hari.

#### **5.2. SARAN**

Adapun saran yang ingin disampaikan peneliti agar menjadi penelitian yang lebih baik untuk kedepannya

1. Penelitian lanjutan disarankan untuk dilakukan dengan:
  - Variasi dosis yang lebih luas dan durasi perlakuan yang lebih panjang untuk mengevaluasi efek jangka panjang ekstrak ceri kopi.
  - Analisis molekuler lebih lanjut seperti ekspresi gen BDNF, CREB, NF- $\kappa$ B, dan penanda inflamasi lain untuk memperkuat pemahaman mekanisme kerja ekstrak ini.
2. Isolasi senyawa aktif spesifik dari ceri kopi perlu dilakukan untuk mengetahui senyawa mana yang paling dominan dalam memberikan efek neuroprotektif.
3. Uji toksisitas dan keamanan jangka panjang perlu dievaluasi sebelum ceri kopi dapat direkomendasikan sebagai bahan terapi komplementer pada manusia.
4. Eksplorasi formulasi ceri kopi dalam bentuk suplemen atau bahan pangan fungsional juga perlu dikembangkan guna aplikasi klinis di masa depan.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Definition, diagnosis and classification of diabetes melitus and its complications. Part 1: Diagnosis and classification of diabetes melitus. Geneva, World Health Organization, 2023.
2. Baglietto-Vargas, D.; Shi, J.; Yaeger, D.M.; Ager, R.; LaFerla, F.M. Diabetes and Alzheimer's Disease Crosstalk. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2016, 64, 272–287.
3. Hamed, S.A. Brain Injury with Diabetes Mellitus: Evidence, Mechanisms and Treatment Implications. *Expert Rev. Clin. Pharmacol.* 2017, 10, 409–428.
4. Sun H, et al. IDF Diabetes Atlas: Global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045. *Diabetes Research and Clinical Practice* Volume 183, January 2022, 109119. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2021.109119>.
5. Survei Kesehatan Indonesia (SKI). Prevalensi diabetes melitus. Badan Penelitian dan Pengembangan Kementerian Kesehatan RI. 2023.
6. Chen W, Cai W, Hoover B, Kahn CR. Insulin action in the brain: cell types, circuits, and diseases. *Trends Neurosci.* 2022;45(5):384–400.
7. Nowell J, Blunt E, Gupta D, Edison P. Antidiabetic agents as a novel treatment for Alzheimer's and Parkinson's disease. *Ageing Res Rev.* 2023;89: 101979.
8. Barbagall M, Dominguez LJ. Type 2 diabetes mellitus and Alzheimer's disease. *World J Diabetes* 2014 December 15; 5(6): 889-893. DOI: 10.4239/wjd.v5.i6.889.
9. De la Monte, S.M. Contributions of Brain Insulin Resistance and Deficiency in Amyloid-Related Neurodegeneration in Alzheimer's Disease. *Drugs* 2012, 72, 49–66.
10. Lester-Coll, N.; Rivera, E.J.; Soscia, S.J.; Doiron, K.; Wands, J.R.; de la Monte, S.M. Intracerebral Streptozotocin Model of Type 3 Diabetes: Relevance to Sporadic Alzheimer's Disease. *J. Alzheimers Dis. JAD* 2006, 9, 13–33.
11. Luthra, N.S.; Clow, A.; Corcos, D.M. The interrelated multifactorial actions of cortisol and klotho: Potential implications in the pathogenesis of parkinson's disease. *Brain Sci.* 2022.
12. Zietek, T.; Rath, E. Inflammation meets metabolic disease: Gut feeling mediated by GLP-1. *Front. Immunol.* 2016, 7, 154.
13. Arpi N, Muzaifa M, Sulaiman MI, Andini R, Kesuma SI. Chemical Characteristics of Cascara, Coffee Cherry Tea, Made of Various Coffee Pulp Treatments. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science* 709 (2021) 012030. Doi:10.1088/1755-1315/709/1/012030.
14. Muzaifa M, Hasni D, Febriani, Patria A, Abubakar A. Chemical composition of green and roasted coffee bean of Gayo arabica civet coffee (kopi luwak). *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science* 425 (2020) 012001. Doi:10.1088/1755-1315/425/1/012001.
15. Lestari W, Hasballah K, Listiawan MY, Sofia S. Identification of antioxidant components of Gayo Arabica Coffee Cascara using the GC-MS method. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science* 956 (2022) 012011. Doi:10.1088/1755-1315/956/1/012011.

16. Yelanchezian YMM, Waldvogel HJ, Faull RLM, Kwakowsky A. Neuroprotective Effect of Caffeine in Alzheimer's Disease. *Molecules* 2022, 27, 3737. <https://doi.org/10.3390/molecules27123737>.
17. Hong CT, Chan L, Bai CH. The Effect of Caffeine on the Risk and Progression of Parkinson's Disease: A Meta-Analysis. *Nutrients* 2020, 12, 1860. <https://doi.org/10.3390/nu12061860>.
18. Zhou X, Zhang L. The Neuroprotective Effects of Moderate and Regular Caffeine Consumption in Alzheimer's Disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* Volume 2021, Article ID 5568011, 18 pages <https://doi.org/10.1155/2021/5568011>.
19. Robinsona JL, Huntere JM, Izquierdof TR, Argumedof A, Bastieng JB, Kellerh R and Pietrzowski ZJ. Cognitive short- and long-term effects of coffee cherry extract in older adults with mild cognitive decline. *Aging, Neuropsychology, And Cognition* <https://doi.org/10.1080/13825585.2019.1702622>.
20. Esquivel, P., & Jiménez, V. M. (2012). Functional properties of coffee and coffee by-products. *Food Research International*, 46(2), 488–495.
21. Eckhardt et al. Risk Assessment of Coffee Cherry (Cascara) Fruit Products for Flour Replacement and Other Alternative Food Uses. *Molecules* 2022, 27, 8435. <https://doi.org/10.3390/molecules27238435>.
22. Robinsona JL, Huntere JM, Izquierdof TR, Argumedof A, Bastieng JB, Kellerh R and Pietrzowski ZJ. Cognitive short- and long-term effects of coffee cherry extract in older adults with mild cognitive decline. *Aging, Neuropsychology, And Cognition* <https://doi.org/10.1080/13825585.2019.1702622>.
23. Gardener SL, Rainey-Smith SR, Villemagne VL, et al. Higher Coffee Consumption Is Associated With Slower Cognitive Decline and Less Cerebral A $\beta$ -Amyloid Accumulation Over 126 Months: Data From the Australian Imaging, Biomarkers, and Lifestyle Study. *Front. Aging Neurosci.*, 19 November 2021. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2021.744872>.
24. Robinson JL, Yanes JA, Reid MA, et al. Neurophysiological Effects of Whole Coffee Cherry Extract in Older Adults with Subjective Cognitive Impairment: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Cross-Over Pilot Study. *Antioxidants* 2021, 10, 144. <https://doi.org/10.3390/antiox10020144>.
25. Heimbach, J.T.; Marone, P.A.; Hunter, J.M.; Nemzer, B.V.; Stanley, S.M.; Kennepohl, E. Safety studies on products from whole coffee fruit. *Food Chem. Toxicol.* 2010, 48, 2517–2525.
26. Rizk S, Taha H, Moneim AEA, Amin HK. Neuroprotective effect of green and roasted coffee bean extracts on cerebral ischemia-induced injury in rats. *Metabolic Brain Disease*. 1943–1956 (2021). <https://doi.org/10.1007/s11011-021-00769-6>.
27. Mancini RS, Wang Y, Weaver DF. Phenylindanes in Brewed Coffee Inhibit Amyloid-Beta and Tau Aggregation. *Front. Neurosci.*, 12 October 2018 Sec. Neuroenergetics, Nutrition and Brain Health. 2018. <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00735>.
28. Colombo R, Papetti A. 2019. An outlook on the role of decaffeinated coffee in neurodegenerative diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1550384>.

29. Pereira RF, Young L, Park Y. Neuroprotective effects of green coffee bean extract against Alzheimer's and Parkinson's disease: a mini review. *Food and Life* (2021) 2021(1):1-7. <https://doi.org/10.5851/fl.2020.e11>.
30. Lee LK, Rodzi NARM. Addressing the Neuroprotective Actions of Coffee in Parkinson's Disease: An Emerging Nutrigenomic Analysis. *Antioxidants* 2022, 11, 1587. <https://doi.org/10.3390/antiox11081587>.
31. Sharma N, Soni R, Chatterjee S, et al. Chlorogenic Acid: a Polyphenol from Coffee Rendered Neuroprotection Against Rotenone-Induced Parkinson's Disease by GLP-1 Secretion. *Molecular Neurobiology*. 2022. <https://doi.org/10.1007/s12035-022-03005-z>.
32. Malekiyan R et al. Antioxidant and neuroprotective effects of lycopene and insulin in the hippocampus of streptozotocin-induced diabetic rats. *BIOMEDICAL REPORTS* 10: 47-54, 2019. DOI: 10.3892/br.2018.1171.
33. Nicholson EM, et al. PrPSc detection in formalin-fixed paraffin-embedded tissue by ELISA. *BMC Research Notes* 2011, 4:432 <http://www.biomedcentral.com/1756-0500/4/432>.
34. Sadick JS et al. 2016. Protein characterization of intracellular target-sorted, formalin-fixed cell subpopulations. *Scientific RepoRts*. 6:33999. DOI: 10.1038/srep33999.
35. Thacker JS et al. 2021. Unlocking the brain: A new method for Western blot protein detection from fixed brain tissue. *Journal of Neuroscience Methods*. S0165-0270(20)30418-0. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2020.108995>.
36. Novita, Elida et al. 2010. Peningkatan Mutu Biji Kopi Rakyat Dengan Pengolahan Semi Basah Berbasis Produksi Bersih. *Jurnal Agroteknologi*.
37. De Mejia EG, Ramirez-Mares MV. (2014). *Impact Of Caffeine And Coffee On Our Health*. *Trends In Endocrinology & Metabolism*.
38. Tajik N, et al. (2017). *The potential effects of chlorogenic acid on human health: A review of the current evidence*. *Nutrients*.
39. Pandey KB, Rizvi SI. (2009). *Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease*. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*.
40. Murthy PS, Naidu MM. (2012). *Sustainable management of coffee industry by-products and value addition—A review*. *Resources, Conservation and Recycling*.
41. Pusat Perlindungan Varietas Tanaman dan Perizinan Pertanian (PPVTTP). (2020). *Deskripsi Varietas Kopi Arabika Gayo 1, Gayo 2, dan Gayo 3*. Kementerian Pertanian RI.
42. Badan Litbang Pertanian. (2013). *Deskripsi 13 Klon Kopi Arabika Unggul Nasional*. Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar.
43. Arifin, B., et al. (2020). "Specialty Coffee from Gayo Highlands: Production System, Farmer Empowerment, and Sustainability." *Journal of Indonesian Agribusiness*.
44. Syahputra, I., et al. (2021). "Karakter morfologi dan mutu kopi arabika dari dataran tinggi Gayo." *Jurnal Agroindustri Perkebunan, Vol. 9(2)*.
45. American Diabetes Association Professional Practice Committee. (2025). *Standards of Care in Diabetes-2025*. *Diabetes Care*, 48(Suppl 1), S128–S145. doi:10.2337/dc25-S006.
46. Price SA, Wilson LM. *Patofisiologi konsep klinis proses-proses penyakit*. Ed.6 Vol.1. Jakarta: EG; 2005.

47. Perkumpulan Endokrinologi Indonesia. (2021). *Pedoman Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe 2 Dewasa di Indonesia 2021*. Jakarta: PB PERKENI.
48. Setiati, S., Alwi, I., Sudoyo, A. W., & rekan-rekan. (2024). *Buku ajar ilmu penyakit dalam* (Edisi ke-7, Jilid II). Jakarta: InternaPublishing.
49. Arisman, M.B., 2014. *Buku Ajar Ilmu Gizi: Obesitas, Diabetes Melitus & Dislipidemia – Konsep, Teori dan Penanganan Aplikatif*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
50. Kasper, D.L. et al., 2022. *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 22nd ed. New York: McGraw-Hill Professional.
51. Kumar, V. et al., 2025. *Robbins & Cotran Pathologic Basis of Disease*, 11th ed. Philadelphia: Elsevier
52. DeFronzo, R. A., Ferrannini, E., Zimmet, P., & Alberti, G. (2024). *International Textbook of Diabetes Mellitus* (5th ed.). Wiley-Blackwell.
53. Hall, J. E., & Hall, M. E. (Eds.). (2025). *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology* (15th ed.). Philadelphia, PA: Elsevier.
54. Barrett, K.E. et al., 2025. *Ganong's Review of Medical Physiology*, 27th ed. New York: McGraw Hill Professional.
55. Yunir EM, Situmorang RT, dkk. Pedoman Nasional Pelayanan Kedokteran: Tata Laksana Diabetes Melitus Tipe 2 Dewasa. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia; 2020.
56. Murray, R.K. et al., 2023. *Harper's Illustrated Biochemistry*, 32nd ed. New York: McGraw Hill Education.
57. Braslasu ED, Bradatan C, Cornila M, Savulescu I, Cojmaleata R, Braslasu MC. Normal blood glucose in white wistar rat and its changes following anesthesia. *Lucrari Sciintifice Medicina Veterinara*; 2007.
58. Ayala, J.E., et al. (2020). Standard operating procedures for describing and performing metabolic tests of glucose homeostasis in mice. *Disease Models & Mechanisms*, 13(2), dmm042100.
59. Szkudelski, T. (2021). *Streptozotocin – Nicotinamide-induced experimental model of diabetes*. *Pharmacological Reports*, 73(1), 37–45. <https://doi.org/10.1007/s43440-020-00104-0>.
60. Lenzen, S. (2021). *The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes*. *Diabetologia*, 64, 255–265.
61. Islam, M.S. (2020). *Streptozotocin-induced type 1 and type 2 diabetes in rodents: Disease models overview and therapeutic strategies*. *Diabetes Therapy*, 11(4), 885–902. <https://doi.org/10.1007/s13300-020-00779-x>.
62. Furman, B.L. (2021). *Streptozotocin-induced diabetic models in rodents: State of the art*. *ILAR Journal*, 61(1), 37–46. <https://doi.org/10.1093/ilar/ilaa004>.
63. Amin ME, et al. 2013. *Anti-diabetic effect of murraya koenigii (l) and olea europea (l) leaf extracts on streptozotocin induced diabetic rats*. *Pak. J. Pharm. Sci.* March 2013; Vol.26, No.2: 359-65.
64. Moreira, P.I., et al. (2022). *Streptozotocin-induced diabetic model: A platform to study cognitive dysfunction and Alzheimer's-like features*. *Journal of Neurochemistry*, 161(4), 299–312.
65. De Moura e Dias, M., et al. (2021). High-fat diet induces insulin resistance and alters gut microbiota in Wistar rats. *Nutrients*, 13(4), 1240. <https://doi.org/10.3390/nu13041240>.

66. Samuel, V. T., & Shulman, G. I. (2016). The pathogenesis of insulin resistance: integrating signaling pathways and substrate flux. *J Clin Invest*, 126(1), 12–22. <https://doi.org/10.1172/JCI77812>.
67. Gao, Z., et al. (2018). Inflammation links obesity and insulin resistance. *Frontiers in Endocrinology*, 9, 354.
68. Kusunoki, M., et al. (2020). A high-fat diet combined with low-dose streptozotocin induces type 2 diabetes with severe peripheral neuropathy in rats. *Experimental Animals*, 69(1), 62–71.
69. Hariri, N., & Thibault, L. (2010). High-fat diet-induced obesity in animal models. *Nutrition Research Reviews*, 23(2), 270–299. <https://doi.org/10.1017/S0954422410000168>.
70. Stott, N. L. & Marino, J. S. (2020). *High-fat rodent models of type 2 diabetes: from rodent to human*. Review menyarankan komposisi pakan 45% lemak untuk meniru pola makan manusia dan profil metabolik yang relevan.
71. Singh, R. et al. (2024). *Animal models for type 1 and type 2 diabetes: advantages and limitations*. Membahas nilai translasi model HFD dalam meneliti DMT2 manusia serta kelebihan dalam riset metabolik kronis.
72. Wierzejska, R. (2017). Can coffee consumption lower the risk of Alzheimer's disease and Parkinson's disease? A literature review. *Archives of Medical Science*, 13(3), 507–514. <https://doi.org/10.5114/aoms.2016.63599>.
73. Carman, A. J., Dacks, P. A., Lane, R. F., Shineman, D. W., & Fillit, H. M. (2014). Current evidence for the use of coffee and caffeine to prevent age-related cognitive decline and Alzheimer's disease. *Journal of Nutrition, Health and Aging*, 18(4), 383–392. <https://doi.org/10.1007/s12603-014-0021-7>.
74. Jackson PA, et al. Acute Cognitive Performance and Mood Effects of Coffeeberry Extract: A Randomized, Double Blind, Placebo-Controlled Crossover Study in Healthy Humans. *Nutrients* 2023, 15, 2418. <https://doi.org/10.3390/nu15112418>.
75. Nemzer B, et al. Quantification of Major Bioactive Constituents, Antioxidant Activity, and Enzyme Inhibitory Effects of Whole Coffee Cherries (*Coffea arabica*) and Their Extracts. *Molecules* 2021, 26, 4306. <https://doi.org/10.3390/molecules26144306>.
76. West, R. K., Ravona-Springer, R., Livny, A., Heymann, A., Shahar, D., Leroith, D., Preiss, R., Zukran, R., Silverman, J. M., & Schnaider-Beeri, M. (2019). Age modulates the association of caffeine intake with cognition and with gray matter in elderly diabetics. *Journals of Gerontology - Series A Biological Sciences and Medical Sciences*, 74(5), 683–688. <https://doi.org/10.1093/gerona/gly090>.
77. Eskelinen, M. H., & Kivipelto, M. (2010). Caffeine as a protective factor in dementia and Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 20(SUPPL.1). <https://doi.org/10.3233/JAD-2010-1404>.
78. Kim, J. W., Byun, M. S., Yi, D., Lee, J. H., Jeon, S. Y., Jung, G., Lee, H. N., Sohn, B. K., Lee, J. Y., Kim, Y. K., Shin, S. A., Sohn, C. H., & Lee, D. Y. (2019). Coffee intake and decreased amyloid pathology in human brain. *Translational Psychiatry*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/s41398-019-0604-5>.


79. Arendash, G. W., & Cao, C. (2010). Caffeine and coffee as therapeutics against Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 20(SUPPL.1), 117–126. <https://doi.org/10.3233/JAD-2010-091249>.
80. Cao, C., Wang, L., Lin, X., Mamcarz, M., Zhang, C., Bai, G., Nong, J., Sussman, S., & Arendash, G. (2011). Caffeine synergizes with another coffee component to increase plasma GCSF: Linkage to cognitive benefits in Alzheimer's mice. *Journal of Alzheimer's Disease*, 25(2), 323–335. <https://doi.org/10.3233/JAD-2011-110110>.
81. Cao, C., Cirrito, J. R., Lin, X., Wang, L., Verges, D. K., Dickson, A., Mamcarz, M., Zhang, C., Mori, T., Gary, W., Holtzman, D. M., & Potter, H. (2013). *Alzheimer's transgenic mice*. 17(3), 681–697. <https://doi.org/10.3233/JAD-2009-1071>.
82. Pelligrino, D. A., Xu, H. L., & Vetri, F. (2010). Caffeine and the control of cerebral hemodynamics. *Journal of Alzheimer's Disease*, 20(SUPPL.1), 1–16. <https://doi.org/10.3233/JAD-2010-091261>.
83. West, R. K., Ravona-Springer, R., Livny, A., Heymann, A., Shahar, D., Leroith, D., Preiss, R., Zukran, R., Silverman, J. M., & Schnaider-Beeri, M. (2019). Age modulates the association of caffeine intake with cognition and with gray matter in elderly diabetics. *Journals of Gerontology - Series A Biological Sciences and Medical Sciences*, 74(5), 683–688. <https://doi.org/10.1093/gerona/gly090>.
84. Zulkifly, S., Darmawan, I., & Tambunan, V. (2017). *Manfaat Kopi untuk Mencegah Penyakit Alzheimer*. 44(10), 742–744.
85. Tapia-Arancibia L, Aliaga E, Silhol M, et al. New insights into brain BDNF function in normal aging and Alzheimer disease. *Brain Res Rev*. 2008;59(1):201-20. doi: 10.1016/j.brainresrev.2008.07.007.
86. Pittenger C, Duman RS. Stress, depression, and neuroplasticity: a convergence of mechanisms. *Neuropsychopharmacology*. 2008;33(1):88-109. doi: 10.1038/sj.npp.1301574.
87. Davidson RJ, McEwen BS. Social influences on neuroplasticity: Stress and interventions to promote well-being. *Nat Neurosci*. 2012;15(5):689-95. doi: 10.1038/nn.3093.
88. Arancio O, Chao MV. Neurotrophins, synaptic plasticity and dementia. *Curr Opin Neurobiol*. 2007;17(3):325-30. doi: 10.1016/j.conb.2007.03.013.
89. Cattaneo A, Cattani N, Begni V, et al. The human BDNF gene: peripheral gene expression and protein levels as biomarkers for psychiatric disorders. *Transl Psychiatry*. 2016;6(11):e958. doi: 10.1038/tp.2016.214.
90. Kowanski P, Lietzau G, Czuba E, et al. BDNF: A Key Factor with Multipotent Impact on Brain Signaling and Synaptic Plasticity. *Cell Mol Neurobiol*. 2018;38(3):579-593. doi: 10.1007/s10571-017-0510-4.
91. Mandel AL, Ozdener H, Utermohlen V. Identification of pro- and mature brain-derived neurotrophic factor in human saliva. *Arch Oral Biol*. 2009;54(7):689-95. doi: 10.1016/j.archoralbio.2009.04.005.
92. Pansri P, Phanthong P, Suthprasertporn N, et al. Brain-derived neurotrophic factor increases cell number of neural progenitor cells derived from human induced pluripotent stem cells. *PeerJ*. 2021;9:e11388. doi: 10.7717/peerj.11388.

93. Numakawa T, Odaka H, Adachi N. Actions of Brain-Derived Neurotrophic Factor and Glucocorticoid Stress in Neurogenesis. *Int J Mol Sci*. 2017;18(11):2312. doi: 10.3390/ijms18112312.
94. Bednarek E, Caroni P.  $\beta$ -Adducin is required for stable assembly of new synapses and improved memory upon environmental enrichment. *Neuron*. 2011;69(6):1132-46. doi: 10.1016/j.neuron.2011.02.034.
95. Matsuoka Y, Li X, Bennett V. Adducin: structure, function and regulation. *Cell Mol Life Sci*. 2000;57(6):884-95. doi: 10.1007/PL00000731.
96. Sierksma, A.S., van den Hove, D.L., Pfau, F., Philippens, M., Bruno, O., Fedele, E., Ricciarelli, R., Steinbusch, H.W., Vanmierlo, T., Prickaerts, J., 2014. Improvement of spatial memory function in APPswe/PS1dE9 mice after chronic inhibition of phosphodiesterase type 4D. *Neuropharmacology* 77, 120–130.
97. Kitanaka, J., Kitanaka, N., Hall, F.S., Fujii, M., Goto, A., Kanda, Y., Koizumi, A., Kuroiwa, H., Mibayashi, S., Muranishi, Y., Otaki, S., Sumikawa, M., Tanaka, K., Nishiyama, N., Uhl, G.R., Takemura, M., 2015. Memory impairment and reduced exploratory behavior in mice after administration of systemic morphine. *J. Exp. Neurosci.* 9, 27–35.
98. D. Deacon, R. Rawlins, and J. Rawlins, "The Y-Maze as a Measure of Spatial Working Memory in Mice," *Nature Protocols*, vol. 1, no. 1, pp. 1611-1614, 2006.
99. P. Dere, J. Huston, and M. De Souza Silva, "The pharmacology, neuroanatomy and neurogenetics of one-trial object recognition in rodents," *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, vol. 31, no. 5, pp. 673-704, 2007.
100. Takao, K.; Kobayashi, K.; Hagihara, H.; Ohira, K.; Shoji, H.; Hattori, S.; Koshimizu, H.; Umemori, J.; Toyama, K.; Nakamura, H.K.; et al. Deficiency of schnurri-2, an MHC enhancer binding protein, induces mild chronic inflammation in the brain and confers molecular, neuronal, and behavioral phenotypes related to schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* 2013, 38, 1409–1425.
101. Tetti, M. (2014). Ekstraksi, Pemisahan Senyawa , dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*, 7 (2): 361-367.
102. Azwanida, N. N. (2015). A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. *Medicinal & Aromatic Plants*, 4(3): 196. DOI: 10.4172/2167-0412.1000196.
103. Tiwari, P., et al. (2021). Phytochemical screening and extraction: A review. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 10(1), 135–140.
104. Hepni. Karakterisasi simplisia dan uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol buah pisang batu (*musa balbisiana colla*) terhadap bakteri *staphylococcus aureus*, *streptococcus mutans*, *salmonella typhi* dan *eschericia colli*. Skripsi Program Ekstensi Sarjana Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara. 2012.
105. Dahlan MS. Uji repeated anova. Dalam buku statistik untuk kedokteran dan kesehatan. Salemba medika. 2011: 114.
106. Reagan, L. P. (2020). *Neuroendocrine and cognitive dysfunction in diabetes: role of stress and insulin*. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 56, 100817.
107. Wang, X. Et al. (2023). New Insights into High-Fat Diet with Chronic Diseases. *Nutrients* 2023, 15, 4031. <https://doi.org/10.3390/nu15184031>.

108. Kang, Y. et al. (2023). *High-fat diet and STZ-induced diabetes impair memory via downregulation of BDNF*. *Journal of Neuroendocrinology*.
109. Zhang, X. et al. (2021). *BDNF reduction mediates memory impairment in diabetic rats via hippocampal inflammation*. *Neuroscience Letters*, 746, 135681.
110. Papatriantafyllou, A. (2018). *Diabetes as a risk factor for Alzheimer's disease: the role of BDNF*. *Nature Reviews Neurology*, 14(3), 132.
111. Zhao, X. et al. (2024). *Chronic hyperglycemia suppresses hippocampal BDNF expression via oxidative stress*. *Brain Research*, 1836, 148233.
112. Martinez-Saez, N. et al. (2022). *Coffee cherry extract as neuroprotective nutraceutical: antioxidant and cognitive benefits*. *Antioxidants*, 11(8), 1402.
113. Murthy, P. S. et al. (2023). *Coffee pulp: A rich source of bioactive phenolics with neuroprotective potential*. *Food Chemistry*, 410, 135310.
114. Oliveira, L. D. et al. (2022). *Polyphenol-rich coffee by-products improve neuroplasticity via BDNF signaling*. *Neurobiology of Disease*, 163, 105582.
115. Gottlieb, S., et al. (2022). *Polyphenols in central nervous system: cellular effects and molecular mechanisms*. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(13), 6477.
116. Ho, L., Varghese, M., Wang, J., Zhao, W., Chen, F., Knable, L.A., et al. (2012). *Dietary supplementation with decaffeinated green coffee improves diet-induced insulin resistance and brain energy metabolism in mice*. *Nutritional Neuroscience*, 15(1), 37–45.
117. Sedky, A. A., Magdy, Y. (2021). *Improvement of cognitive function, glucose and lipid homeostasis and serum osteocalcin levels by liraglutide in diabetic rats*. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, 35(6), 989–1003. doi:10.1111/fcp.12664.
118. Sprung RW et al. 2009. *Equivalence of Protein Inventories Obtained from Formalin-fixed Paraffin-embedded and Frozen Tissue in Multidimensional Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Shotgun Proteomic Analysis*. The American Society for Biochemistry and Molecular Biology, Inc.

## Lampiran 1

### Surat Keterangan Lolos Kaji Etik



**UMSU**  
Unggul | Cerdas | Terpercaya

**KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN**  
**HEALTH RESEARCH ETHICS COMMITTEE**  
**FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA**  
**FACULTY OF MEDICINE UNIVERSITY OF MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA**

**KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK**  
**DESCRIPTION OF ETHICAL APPROVAL**  
**"ETHICAL APPROVAL"**  
**No : 1322.SP.01/KEPK/FKUMSU/2024**

Protokol penelitian yang diusulkan oleh :  
*The Research protocol proposed by*

**Peneliti Utama** : **dr. Muhammad Zulfadhli**  
*Principal in investigator*

**Nama Institusi** : **Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara**  
*Name of the Institution Faculty of Medicine University of Muhammadiyah of Sumatera Utara*


**Dengan Judul**  
*Title*


**"EFEKTIVITAS EKSTRAK COFFEE CHERRY SEBAGAI NEUROPROTEKTOR PADA TIKUS DIABETES DIINDUKSI PAKAN TINGGI LEMAK DAN STREPTOZOTOCIN YANG MENGALAMI GANGGUAN KOGNITIF"**  
**"THE EFFECTIVENESS OF COFFEE CHERRY EXTRACT AS A NEUROPROTECTOR IN DIABETIC RATS INDUCED WITH HIGH-FAT DIET AND STREPTOZOTOCIN EXPERIENCING COGNITIVE DISORDERS"**

Dinyatakan layak etik sesuai 7 (tujuh) Standar WHO 2011, yaitu 1) Nilai Sosial, 2) Nilai Ilmiah  
 3) Pemerataan Beban dan Manfaat, 4) Resiko, 5) Bujukan / Eksploitasi, 6) Kerahasiaan dan Privacy, dan  
 7) Persetujuan Setelah Penjelasan, yang merujuk pada Pedoman CIOMS 2016. Hal ini seperti yang ditunjukkan oleh terpenuhinya indikator setiap standar.

*Declared to be ethically appropriate in accordance to 7 (seven) WHO 2011 Standards, 1) Social Values, 2) Scientific Values, 3) Equitable Assesment and Benefits, 4) Risks, 5) Persuasion / Exploitation, 6) Confidentiality and Privacy, and 7) Informed Consent, referring to the 2016 CIOMS Guidelines. This is as indicated by the fulfillment of the indicator of each standard*

Pernyataan Laik Etik ini berlaku selama kurun waktu tanggal 11 Oktober 2024 sampai dengan tanggal 11 Oktober 2025  
*The declaration of ethics applies during the periode Oktober 11, 2024 until Oktober 11, 2025*



Medan, 11 Oktober 2024  
 Ketua  
  
 Assoc. Prof. Dr. dr. Nurfadly, MKT

## Lampiran 2

Surat Keterangan Tikus Penelitian

LABORATORIUM PENELITIAN

SURAT KETE

No. 901/ESL/SK/IX/2024

Saya yang bertandatangan di bawah ini :

Nama : apt. Riwandi Yusuf Siregar, S. Farm.  
 Jabatan : Analis CV. Ellio Sains Laboratorium

Melalui surat ini memberikan keterangan bahwa:

Nama : Assoc. Prof. Dr. dr. Shahrul Rahman., Sp.PD FINASIM  
 Institusi : Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara

Sesuai dengan Surat Kepala Laboratorium Identifikasi Hewan Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sumatera Utara no. 23/UN5.2.1.11/KRK/2018 tanggal 11 mei 2018, Menerangkan bahwa tikus putih yang digunakan adalah Spesies *Rattus norvegicus galur wistar* (Berkenhout, 1769).

Pada tanggal 02 September 2024 telah membeli Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar dengan taksonomi sebagai berikut:

Kingdom : Animalia  
 Filum : Chordata  
 Sub Filum : Vertebrata  
 Class : Mamalia  
 Ordo : Rodentia  
 Sub Ordo : Myomorpha  
 Family : Muridae  
 Genus : Rattus  
 Species : *Rattus norvegicus*

(*American Fancy Rat and Mouse Association, 2004*)

Demikian Surat Keterangan ini dibuat dengan sebenarnya untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Medan, 02 September 2024

Analis



apt. Riwandi Yusuf Siregar, S. Farm.

### Lampiran 3. Hasil Uji Statistik KGD Tikus

#### KGD AWAL

##### Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
KGD awal K1	4	88	98	91,75	4,500
KGD awal K2	4	92	97	94,75	2,630
KGD awal K3	4	100	106	103,25	2,500
KGD awal K4	4	102	109	105,50	3,109
KGD awal K5	4	106	109	107,50	1,291
KGD awal K6	4	110	116	113,00	2,582
Valid N (listwise)	4				

##### Tests of Normality

	Kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
KGDawal	Kelompok 1	,229	4	.	,895	4	,404
	Kelompok 2	,304	4	.	,811	4	,123
	Kelompok 3	,210	4	.	,982	4	,911
	Kelompok 4	,185	4	.	,972	4	,855
	Kelompok 5	,151	4	.	,993	4	,972
	kelompok 6	,151	4	.	,993	4	,972

a. Lilliefors Significance Correction

##### ANOVA

KGD awal

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1281,375	5	256,275	29,906	,000
Within Groups	154,250	18	8,569		
Total	1435,625	23			

## Multiple Comparisons

Dependent Variable: KGD awal

Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kelompok 1	Kelompok 2	-3,000	2,070	,698	-9,58	3,58
	Kelompok 3	-11,500*	2,070	,000	-18,08	-4,92
	Kelompok 4	-13,750*	2,070	,000	-20,33	-7,17
	Kelompok 5	-15,750*	2,070	,000	-22,33	-9,17
	kelompok 6	-21,250*	2,070	,000	-27,83	-14,67
Kelompok 2	Kelompok 1	3,000	2,070	,698	-3,58	9,58
	Kelompok 3	-8,500*	2,070	,007	-15,08	-1,92
	Kelompok 4	-10,750*	2,070	,001	-17,33	-4,17
	Kelompok 5	-12,750*	2,070	,000	-19,33	-6,17
Kelompok 3	kelompok 6	-18,250*	2,070	,000	-24,83	-11,67
	Kelompok 1	11,500*	2,070	,000	4,92	18,08
	Kelompok 2	8,500*	2,070	,007	1,92	15,08
	Kelompok 4	-2,250	2,070	,880	-8,83	4,33
	Kelompok 5	-4,250	2,070	,353	-10,83	2,33
Kelompok 4	kelompok 6	-9,750*	2,070	,002	-16,33	-3,17
	Kelompok 1	13,750*	2,070	,000	7,17	20,33
	Kelompok 2	10,750*	2,070	,001	4,17	17,33
	Kelompok 3	2,250	2,070	,880	-4,33	8,83
	Kelompok 5	-2,000	2,070	,923	-8,58	4,58
Kelompok 5	kelompok 6	-7,500*	2,070	,020	-14,08	-,92
	Kelompok 1	15,750*	2,070	,000	9,17	22,33
	Kelompok 2	12,750*	2,070	,000	6,17	19,33
	Kelompok 3	4,250	2,070	,353	-2,33	10,83
	Kelompok 4	2,000	2,070	,923	-4,58	8,58
kelompok 6	kelompok 6	-5,500	2,070	,134	-12,08	1,08
	Kelompok 1	21,250*	2,070	,000	14,67	27,83
	Kelompok 2	18,250*	2,070	,000	11,67	24,83
	Kelompok 3	9,750*	2,070	,002	3,17	16,33
	Kelompok 4	7,500*	2,070	,020	,92	14,08
	Kelompok 5	5,500	2,070	,134	-1,08	12,08

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

**KGD awal**

Tukey HSD

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Kelompok 1	4	91,75		
Kelompok 2	4	94,75		
Kelompok 3	4		103,25	
Kelompok 4	4		105,50	
Kelompok 5	4		107,50	107,50
kelompok 6	4			113,00
Sig.		,698	,353	,134

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

**KGD SEBELUM PEMBERIAN EKSTRAK****Descriptive Statistics**

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
KGD sebelum pemberian ekstrak K1	4	91	104	97,75	6,238
KGD sebelum pemberian ekstrak K2	4	177	189	184,75	5,315
KGD sebelum pemberian ekstrak K3	4	205	237	221,00	13,466
KGD sebelum pemberian ekstrak K4	4	224	240	230,25	7,411
KGD sebelum pemberian ekstrak K5	4	232	242	237,75	4,646
KGD sebelum pemberian ekstrak K6	4	237	247	242,00	4,761
Valid N (listwise)	4				

### Tests of Normality

	Kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
KGD sebelum pemberian ekstrak	Kelompok 1	,252	4	.	,903	4	,444
	Kelompok 2	,343	4	.	,835	4	,182
	Kelompok 3	,133	4	.	1,000	4	1,000
	Kelompok 4	,261	4	.	,898	4	,419
	Kelompok 5	,258	4	.	,917	4	,519
	kelompok 6	,236	4	.	,911	4	,488

a. Lilliefors Significance Correction

### ANOVA

KGD sebelum pemberian ekstrak

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	60809,500	5	12161,900	209,889	,000
Within Groups	1043,000	18	57,944		
Total	61852,500	23			

### Multiple Comparisons

Dependent Variable: KGD sebelum pemberian ekstrak

Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kelompok 1	Kelompok 2	-87,000*	5,383	,000	-104,11	-69,89
	Kelompok 3	-123,250*	5,383	,000	-140,36	-106,14
	Kelompok 4	-132,500*	5,383	,000	-149,61	-115,39
	Kelompok 5	-140,000*	5,383	,000	-157,11	-122,89
	kelompok 6	-144,250*	5,383	,000	-161,36	-127,14
Kelompok 2	Kelompok 1	87,000*	5,383	,000	69,89	104,11
	Kelompok 3	-36,250*	5,383	,000	-53,36	-19,14
	Kelompok 4	-45,500*	5,383	,000	-62,61	-28,39
	Kelompok 5	-53,000*	5,383	,000	-70,11	-35,89
Kelompok 3	kelompok 6	-57,250*	5,383	,000	-74,36	-40,14
	Kelompok 1	123,250*	5,383	,000	106,14	140,36
	Kelompok 2	36,250*	5,383	,000	19,14	53,36
	Kelompok 4	-9,250	5,383	,538	-26,36	7,86
Kelompok 4	Kelompok 5	-16,750	5,383	,057	-33,86	,36
	kelompok 6	-21,000*	5,383	,011	-38,11	-3,89
	Kelompok 1	132,500*	5,383	,000	115,39	149,61
	Kelompok 2	45,500*	5,383	,000	28,39	62,61
Kelompok 5	Kelompok 3	9,250	5,383	,538	-7,86	26,36
	Kelompok 5	-7,500	5,383	,730	-24,61	9,61
	kelompok 6	-11,750	5,383	,292	-28,86	5,36
Kelompok 6	Kelompok 1	140,000*	5,383	,000	122,89	157,11
	Kelompok 2	53,000*	5,383	,000	35,89	70,11
	Kelompok 3	16,750	5,383	,057	-,36	33,86
kelompok 6	Kelompok 4	7,500	5,383	,730	-9,61	24,61
	kelompok 6	-4,250	5,383	,966	-21,36	12,86
	Kelompok 1	144,250*	5,383	,000	127,14	161,36
kelompok 6	Kelompok 2	57,250*	5,383	,000	40,14	74,36
	Kelompok 3	21,000*	5,383	,011	3,89	38,11
	Kelompok 4	11,750	5,383	,292	-5,36	28,86
	Kelompok 5	4,250	5,383	,966	-12,86	21,36

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

**KGD sebelum pemberian ekstrak**

Tukey HSD

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Kelompok 1	4	97,75			
Kelompok 2	4		184,75		
Kelompok 3	4			221,00	
Kelompok 4	4			230,25	230,25
Kelompok 5	4			237,75	237,75
kelompok 6	4				242,00
Sig.		1,000	1,000	,057	,292

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

**KGD SEBELUM TERMINASI****Descriptive Statistics**

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
KGD sebelum terminasi K1	4	90	123	108,25	15,882
KGD sebelum terminasi K2	4	180	210	195,25	13,048
KGD sebelum terminasi K3	4	245	263	254,75	7,411
KGD sebelum terminasi K4	4	120	140	130,50	11,000
KGD sebelum terminasi K5	4	113	140	126,25	11,500
KGD sebelum terminasi K6	4	125	130	128,00	2,160
Valid N (listwise)	4				

**Tests of Normality**

	Kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
KGD sebelum terminasi	Kelompok 1	,270	4	.	,894	4	,401
	Kelompok 2	,170	4	.	,987	4	,939
	Kelompok 3	,263	4	.	,954	4	,741
	Kelompok 4	,306	4	.	,772	4	,061
	Kelompok 5	,144	4	.	,997	4	,989
	kelompok 6	,250	4	.	,927	4	,577

a. Lilliefors Significance Correction

**ANOVA**

KGD sebelum terminasi

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	63533,333	5	12706,667	103,681	,000
Within Groups	2206,000	18	122,556		
Total	65739,333	23			

## Multiple Comparisons

Dependent Variable: KGD sebelum terminasi

Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kelompok 1	Kelompok 2	-87,000*	7,828	,000	-111,88	-62,12
	Kelompok 3	-146,500*	7,828	,000	-171,38	-121,62
	Kelompok 4	-22,250	7,828	,095	-47,13	2,63
	Kelompok 5	-18,000	7,828	,244	-42,88	6,88
	kelompok 6	-19,750	7,828	,169	-44,63	5,13
Kelompok 2	Kelompok 1	87,000*	7,828	,000	62,12	111,88
	Kelompok 3	-59,500*	7,828	,000	-84,38	-34,62
	Kelompok 4	64,750*	7,828	,000	39,87	89,63
	Kelompok 5	69,000*	7,828	,000	44,12	93,88
Kelompok 3	kelompok 6	67,250*	7,828	,000	42,37	92,13
	Kelompok 1	146,500*	7,828	,000	121,62	171,38
	Kelompok 2	59,500*	7,828	,000	34,62	84,38
	Kelompok 4	124,250*	7,828	,000	99,37	149,13
Kelompok 4	Kelompok 5	128,500*	7,828	,000	103,62	153,38
	kelompok 6	126,750*	7,828	,000	101,87	151,63
	Kelompok 1	22,250	7,828	,095	-2,63	47,13
	Kelompok 2	-64,750*	7,828	,000	-89,63	-39,87
Kelompok 5	Kelompok 3	-124,250*	7,828	,000	-149,13	-99,37
	Kelompok 5	4,250	7,828	,993	-20,63	29,13
	kelompok 6	2,500	7,828	,999	-22,38	27,38
Kelompok 6	Kelompok 1	18,000	7,828	,244	-6,88	42,88
	Kelompok 2	-69,000*	7,828	,000	-93,88	-44,12
	Kelompok 3	-128,500*	7,828	,000	-153,38	-103,62
	Kelompok 4	-4,250	7,828	,993	-29,13	20,63
kelompok 6	kelompok 6	-1,750	7,828	1,000	-26,63	23,13
	Kelompok 1	19,750	7,828	,169	-5,13	44,63
	Kelompok 2	-67,250*	7,828	,000	-92,13	-42,37
kelompok 6	Kelompok 3	-126,750*	7,828	,000	-151,63	-101,87
	Kelompok 4	-2,500	7,828	,999	-27,38	22,38
	Kelompok 5	1,750	7,828	1,000	-23,13	26,63

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

## KGD sebelum terminasi

## Tukey HSD

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Kelompok 1	4	108,25		
Kelompok 5	4	126,25		
kelompok 6	4	128,00		
Kelompok 4	4	130,50		
Kelompok 2	4		195,25	
Kelompok 3	4			254,75
Sig.		,095	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

### Lampiran 4. Hasil Uji Statistik Spasial Memori

#### Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
kelompok1	4	61,54	100,00	77,0525	17,16304
kelompok2	4	57,14	70,00	64,0925	6,49046
kelompok3	4	40,00	77,77	61,3875	15,85132
kelompok4	4	75,00	100,00	84,6475	11,43938
kelompok5	4	87,50	100,00	92,5175	5,30715
kelompok6	4	93,33	100,00	97,0175	3,49167
Valid N (listwise)	4				

#### Tests of Normality

	group	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
alterasi_pct	Kelompok 1	,227	4	.	,929	4	,587
	Kelompok 2	,286	4	.	,851	4	,231
	Kelompok 3	,243	4	.	,959	4	,771
	Kelompok 4	,250	4	.	,901	4	,434
	Kelompok 5	,313	4	.	,900	4	,429
	Kelompok 6	,303	4	.	,815	4	,131

a. Lilliefors Significance Correction

#### ANOVA

alterasi\_pct

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4296,981	5	859,396	6,792	,001
Within Groups	2277,532	18	126,530		
Total	6574,513	23			

## Multiple Comparisons

Dependent Variable: alterasi\_pct

Tukey HSD

(I) group	(J) group	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kelompok 1	Kelompok 2	12,96000	7,95392	,591	-12,3178	38,2378
	Kelompok 3	15,66500	7,95392	,396	-9,6128	40,9428
	Kelompok 4	-7,59500	7,95392	,926	-32,8728	17,6828
	Kelompok 5	-15,46500	7,95392	,409	-40,7428	9,8128
	Kelompok 6	-19,96500	7,95392	,173	-45,2428	5,3128
Kelompok 2	Kelompok 1	-12,96000	7,95392	,591	-38,2378	12,3178
	Kelompok 3	2,70500	7,95392	,999	-22,5728	27,9828
	Kelompok 4	-20,55500	7,95392	,152	-45,8328	4,7228
	Kelompok 5	-28,42500*	7,95392	,022	-53,7028	-3,1472
Kelompok 3	Kelompok 6	-32,92500*	7,95392	,007	-58,2028	-7,6472
	Kelompok 1	-15,66500	7,95392	,396	-40,9428	9,6128
	Kelompok 2	-2,70500	7,95392	,999	-27,9828	22,5728
	Kelompok 4	-23,26000	7,95392	,082	-48,5378	2,0178
Kelompok 4	Kelompok 5	-31,13000*	7,95392	,011	-56,4078	-5,8522
	Kelompok 6	-35,63000*	7,95392	,003	-60,9078	-10,3522
	Kelompok 1	7,59500	7,95392	,926	-17,6828	32,8728
	Kelompok 2	20,55500	7,95392	,152	-4,7228	45,8328
Kelompok 5	Kelompok 3	23,26000	7,95392	,082	-2,0178	48,5378
	Kelompok 5	-7,87000	7,95392	,915	-33,1478	17,4078
	Kelompok 6	-12,37000	7,95392	,636	-37,6478	12,9078
Kelompok 6	Kelompok 1	15,46500	7,95392	,409	-9,8128	40,7428
	Kelompok 2	28,42500*	7,95392	,022	3,1472	53,7028
	Kelompok 3	31,13000*	7,95392	,011	5,8522	56,4078
	Kelompok 4	7,87000	7,95392	,915	-17,4078	33,1478
Kelompok 6	Kelompok 6	-4,50000	7,95392	,992	-29,7778	20,7778
	Kelompok 1	19,96500	7,95392	,173	-5,3128	45,2428
	Kelompok 2	32,92500*	7,95392	,007	7,6472	58,2028
Kelompok 6	Kelompok 3	35,63000*	7,95392	,003	10,3522	60,9078
	Kelompok 4	12,37000	7,95392	,636	-12,9078	37,6478
	Kelompok 5	4,50000	7,95392	,992	-20,7778	29,7778

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

**alterasi\_pct**

Tukey HSD

group	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Kelompok 3	4	61,3875	
Kelompok 2	4	64,0925	
Kelompok 1	4	77,0525	77,0525
Kelompok 4	4	84,6475	84,6475
Kelompok 5	4		92,5175
Kelompok 6	4		97,0175
Sig.		,082	,173

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

### Lampiran 5. Hasil Uji Statistik BDNF

#### Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
Kelompok1	4	,0979	,1156	,106275	,0084827
Kelompok2	4	,0550	,0600	,057250	,0022174
kelompok3	4	,0280	,0400	,033250	,0053774
Kelompok4	4	,1400	,1900	,156250	,0228674
Kelompok5	4	,4600	,5000	,477500	,0170783
Kelompok6	4	,7000	,7300	,715000	,0129099
Valid N (listwise)	4				

#### Tests of Normality

	Kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
BDNF	Kelompok 1	,256	4	.	,903	4	,446
	Kelompok 2	,214	4	.	,963	4	,798
	Kelompok 3	,227	4	.	,950	4	,717
	Kelompok 4	,358	4	.	,790	4	,085
	Kelompok 5	,192	4	.	,971	4	,850
	Kelompok 6	,151	4	.	,993	4	,972

a. Lilliefors Significance Correction

#### ANOVA

BDNF

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1,525	5	,305	1683,317	,000
Within Groups	,003	18	,000		
Total	1,528	23			

## Multiple Comparisons

Dependent Variable: BDNF

Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kelompok 1	Kelompok 2	,0490250*	,0095177	,001	,018777	,079273
	Kelompok 3	,0730250*	,0095177	,000	,042777	,103273
	Kelompok 4	-,0499750*	,0095177	,001	-,080223	-,019727
	Kelompok 5	-,3712250*	,0095177	,000	-,401473	-,340977
	Kelompok 6	-,6087250*	,0095177	,000	-,638973	-,578477
Kelompok 2	Kelompok 1	-,0490250*	,0095177	,001	-,079273	-,018777
	Kelompok 3	,0240000	,0095177	,169	-,006248	,054248
	Kelompok 4	-,0990000*	,0095177	,000	-,129248	-,068752
	Kelompok 5	-,4202500*	,0095177	,000	-,450498	-,390002
Kelompok 3	Kelompok 6	-,6577500*	,0095177	,000	-,687998	-,627502
	Kelompok 1	-,0730250*	,0095177	,000	-,103273	-,042777
	Kelompok 2	-,0240000	,0095177	,169	-,054248	,006248
	Kelompok 4	-,1230000*	,0095177	,000	-,153248	-,092752
	Kelompok 5	-,4442500*	,0095177	,000	-,474498	-,414002
Kelompok 4	Kelompok 6	-,6817500*	,0095177	,000	-,711998	-,651502
	Kelompok 1	,0499750*	,0095177	,001	,019727	,080223
	Kelompok 2	,0990000*	,0095177	,000	,068752	,129248
	Kelompok 3	,1230000*	,0095177	,000	,092752	,153248
	Kelompok 5	-,3212500*	,0095177	,000	-,351498	-,291002
	Kelompok 6	-,5587500*	,0095177	,000	-,588998	-,528502
Kelompok 5	Kelompok 1	,3712250*	,0095177	,000	,340977	,401473
	Kelompok 2	,4202500*	,0095177	,000	,390002	,450498
	Kelompok 3	,4442500*	,0095177	,000	,414002	,474498
	Kelompok 4	,3212500*	,0095177	,000	,291002	,351498
Kelompok 6	Kelompok 6	-,2375000*	,0095177	,000	-,267748	-,207252
	Kelompok 1	,6087250*	,0095177	,000	,578477	,638973
	Kelompok 2	,6577500*	,0095177	,000	,627502	,687998
	Kelompok 3	,6817500*	,0095177	,000	,651502	,711998
	Kelompok 4	,5587500*	,0095177	,000	,528502	,588998
	Kelompok 5	,2375000*	,0095177	,000	,207252	,267748

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

**BDNF**

Tukey HSD

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
Kelompok 3	4	,033250				
Kelompok 2	4	,057250				
Kelompok 1	4		,106275			
Kelompok 4	4			,156250		
Kelompok 5	4				,477500	
Kelompok 6	4					,715000
Sig.		,169	1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

Lampiran 9. Dokumentasi



