

## **Seduhan Kopi Robusta (*Coffea canephora*) Mengurangi Kadar Asam Laktat Darah Pasca Aktivitas Fisik Pada Mencit (*Mus musculus L.*)**

### ***Brewed Robusta Coffee (Coffea canephora) Reduces Blood Lactat Acid Levels Post Physical Activity In Mice (Mus musculus L)***

Afif Ferdian<sup>1</sup>, Rahayu<sup>2</sup>, Hanna Cakrawati<sup>2</sup> dan Tyas Putri Utami<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Mahasiswa Program Sarjana, Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Malang, Malang, Indonesia

<sup>2</sup> Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Malang, Malang,

<sup>3</sup> Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu-ilmu Kesehatan, Universitas Esa Unggul, Jakarta, Indonesia

\*hanna.bdz@gmail.com

#### **ABSTRAK**

Penimbunan asam laktat dalam darah yang terjadi dalam aktivitas fisik ketahanan dapat menimbulkan kelelahan dan penurunan performa. Konsumsi kafein diketahui dapat membantu menghambat terjadinya kelelahan selama latihan fisik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh seduhan kopi robusta (*Coffea canephora*) terhadap kadar asam laktat darah mencit (*Mus musculus L*) pasca aktivitas fisik. Penelitian ini menggunakan *Post Test Only Control Group Experimental Design*. Terdapat empat kelompok eksperimen yakni kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pemberian seduhan kopi menggunakan dosis 0,1 ml/20gBB, 0,2 ml/20gBB, dan 0,4 ml/20gBB yang diberikan secara peroral 1 jam sebelum aktivitas fisik dimulai. Aktivitas fisik dilakukan menggunakan rotarod dengan percepatan 4-40 rpm dalam 5 menit diulang tiga kali. Analisis data dilakukan menggunakan program SPSS 24.0. Pemberian seduhan kopi robusta dapat menurunkan kadar asam laktat darah mencit dengan aktivitas fisik menggunakan rotarod dengan  $p < 0,05$ . Dosis seduhan yang mulai menurunkan kadar asam laktat adalah dosis 0,2 ml/20gBB.

**Kata kunci:** aktivitas fisik, asam laktat, mencit, seduhan kopi robusta

#### **ABSTRACT**

Accumulation of blood lactic acid occurs during physical activity can cause fatigue and decreased performance. Caffeine consumption is known to help prevent fatigue during physical exercise. This study aims to determine the effect of brewed robusta coffee (*Coffea canephora*) on post physical activity blood lactic acid levels in mice. This study used *Post Test Only Control Group Experimental Design* with four groups: control group and treatment group was given brewed coffee using doses 0,1 ml/20gBW, 0,2 ml/20gBW, and 0,4 ml/20gBW per oral 1 hour before physical activity begin. Physical activity was performed using a rotarod with an acceleration of 4-40 rpm in 5 minutes, it repeated three times. Data analysis was performed

using the SPSS 24.0 program. Brewed coffee robusta consumption before physical activity using rotarod reduced the blood lactic acid levels in mice ( $p < 0,05$ ). Reduced levels of blood lactic acid begin to occur at dose 0,2 ml/20gBW.

**Keywords:** brewed robusta coffee, lactic acid, mice, physical activity

## PENDAHULUAN

Semua aktivitas fisik memerlukan energi, jumlah kebutuhan energi tergantung pada berat dan ringannya aktivitas fisik atau latihan yang dikerjakan (1). Energi untuk aktivitas fisik ini diperoleh dari beberapa sumber energi di dalam sel (2). Respirasi seluler anaerobik merupakan jalur metabolisme utama pada aktivitas fisik dengan intensitas tinggi. Namun jalur metabolisme ini menghasilkan produk samping yaitu asam laktat.

Asam laktat dihasilkan oleh proses glikolisis anaerob di sitosol yang menghasilkan 2 molekul Adenosin trifosfat (ATP) bersama piruvat per molekul glukosa yang dihidrolisa. Asam piruvat akan di konversi menjadi asam laktat ketika ketersediaan oksigen terbatas di dalam tubuh (3). Proses glikolisis anaerob terjadi pada saat otot membutuhkan energi dalam waktu cepat dengan jumlah tertentu sedangkan pasokan oksigen kurang, seperti yang terjadi pada seseorang yang berolahraga dengan intensitas tinggi. Pada kondisi pasokan oksigen kurang ini,

reoksidasi terhadap *Nikotinamida Adenosin Dinukleotida Hidrogen* (NADH) yang terbentuk dari *Nikotinamida Adenosin Dinukleotida* ( $\text{NAD}^+$ ) saat glikolisis akan terganggu. Dalam keadaan ini, NADH direoksidasi melalui terangkaian dengan proses reduksi piruvat menjadi laktat melalui jalur anaerob dengan menambahkan dua atom hidrogen untuk membentuk asam laktat (3)(4).

Sebagian laktat yang dihasilkan pada glikolisis anaerob ini dibawa keluar otot menuju sirkulasi darah (5). Penimbunan asam laktat dalam darah menjadi masalah mendasar dalam kinerja fisik karena menimbulkan kelelahan yang kronis dan menurunkan kinerja fisik. Asam laktat akan menurunkan pH dalam otot maupun darah yang akan menghambat kerja enzim glikolitik dan mengganggu reaksi kimia di dalam sel otot. Keadaan ini akan mengakibatkan kontraksi otot bertambah lemah dan akhirnya otot mengalami kelelahan (6).

Ada beberapa rekomendasi resmi maupun tidak resmi dalam mengatasi

kelelahan. Penggunaan produk sintetik, produk bahan alam, dan suplemen nutrisi secara klinis maupun eksperimental menunjukkan adanya efek mengurangi kelelahan pada beberapa penelitian. Amfetamin, efedrin dan kafein merupakan produk sintetis yang dikenal dapat mempengaruhi kerja system saraf dan meningkatkan resistensi terhadap kelelahan. Namun, produk amfetamin dan efedrin tidak diperbolehkan dalam kompetisi (7).

Kopi, teh dan minuman berenergi diketahui banyak mengandung kafein. Tinjauan ketat tentang toksisitas kafein menunjukkan bahwa konsumsi hingga 400 mg kafein per hari pada orang dewasa yang sehat, tidak menimbulkan efek samping. Bahkan studi epidemiologi mendukung adanya manfaat mengkonsumsi kopi dalam jumlah sedang, dapat mengurangi risiko beberapa penyakit kronis. Namun konsumsi jumlah yang sama mungkin akan berdampak pada kehamilan (8).

Kopi merupakan komoditas terbesar kedua di negara berkembang setelah petroleum (9). Indonesia menjadi negara penghasil kopi urutan ke-4 terbesar di dunia setelah Brazil, Vietnam dan Kolombia dengan total produksi pada tahun 2016 mencapai 639.305 ton (10).

Perilaku mengonsumsi kopi di

Indonesia saat ini lebih menjadi sebuah gaya hidup dan telah menjadi budaya populer (11)(12). Jenis kopi yang banyak dikonsumsi adalah jenis kopi robusta (13). Jenis kopi ini pula yang menjadi mayoritas produksi kopi nasional (12).

Kafein, menjadi senyawa yang dominan dalam kopi. Kandungan kafein pada biji mentah kopi robusta lebih tinggi dibandingkan dengan biji mentah kopi arabika (14)(15). Kandungan kafein kopi robusta sekitar 2,2% dan Arabika sekitar 1,2% (14). Berdasarkan penelitian sebelumnya efek ergogenik secara signifikan didapat dengan suplementasi kafein dalam rentang dosis 3-9 mg/kg (16).

Oleh karenanya penelitian ini menggunakan seduhan kopi robusta yang mengandung kafein lebih tinggi untuk mengurangi kelelahan pada aktivitas fisik, yang ditinjau dari salah satu indikatornya yakni kadar asam laktat darah.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan *true experiment* dengan menggunakan *Post test Control Group Design*. Penelitian ini juga menggunakan hewan coba mencit (*Mus musculus*) dengan *Ethical Clearance* yang diperoleh dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran

Universitas Muhammadiyah Malang No: E.5.a/300/KEPK-UMM/IX/2018.

### **Hewan coba**

Penelitian ini menggunakan hewan coba mencit putih jantan (*Mus musculus L*) berjenis kelamin jantan. Mencit dengan jenis kelamin jantan diketahui lebih tahan terhadap perlakuan. Usia mencit yang digunakan adalah usia 2-3 bulan, dengan berat badan  $\pm 20$  gram (berat badan rata-rata normal). Mencit yang digunakan dalam penelitian berada dalam kondisi sehat yang ditandai dengan gerakannya yang aktif dan mata yang jernih.

Jumlah mencit putih jantan yang digunakan sebanyak 28 ekor, yang didapat dari perhitungan menggunakan rumus Federer ditambah cadangan eror.

### **Aklimatisasi hewan coba**

Mencit diadaptasikan (aklimatisasi) di dalam kandang yang saling terpisahkan satu sama lain diletakan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Muhammadiyah Malang selama 7 hari agar mencit dapat menyesuaikan diri dengan lingkungan baru dengan fase 12 jam gelap dan 12 jam terang yang dibalik. Mencit diberi makan BR-1 dalam bentuk konsentrat asli tanpa ada penambahan yang lain yang diberikan 1 kali sehari. Jika ada sisa

makanan, maka sisa makanan dibuang lalu diganti dengan yang baru. Mencit juga diberi minuman aquadest secukupnya.

Pada hari ke-8 dan hari ke-9, mencit mulai diadaptasikan dengan alat rotarod. Mencit diberi 10 kali percobaan pada batang rota dengan *intertrial interval* 30 detik (ITI). Kemudian, pada hari ke-10 sampai hari ke-12, secara berturut-turut, mencit diaklimatisasi dengan 3 kali percobaan per harinya dengan kecepatan 20 rpm/min untuk membiasakannya pada perangkat rotarod.

### **Pembuatan seduhan kopi robusta**

Bubuk kopi robusta diperoleh dari perkebunan PTPN XII Jember, Jawa Timur. Bubuk kopi berasal dari biji kopi robusta (*Coffea canephora var. Robusta*) yang sebelumnya telah disangrai dalam suhu  $150^{\circ}\text{C}$  selama 15-17 menit dan kemudian digiling hingga halus.

Seduhan kopi dibuat dengan penambahan air yang telah dipanaskan dengan suhu  $92^{\circ}\text{C}$  dengan berat bubuk dan volume air yang telah disesuaikan berdasarkan perhitungan dosis untuk perlakuan pada hewan coba kemudian disaring.

### **Dosis pemberian seduhan kopi**

Dosis yang digunakan dalam penelitian ini adalah 2,23 mg/kg, 4,45 mg/kg, 8,9 mg/kg. Pemberian dosis pada mencit dalam penelitian ini menggunakan tabel perbandingan luas tubuh hewan coba dengan manusia, dimana dosis mencit dengan berat badan 20 gram adalah 0,0026 dosis manusia (17). Berdasarkan hasil perhitungan dan konversi maka didapatkan dosis 0,1 ml/20gBB untuk kelompok 2, 0,2 ml/20gBB untuk kelompok 3, dan 0,4 ml/20gBB untuk kelompok 4.

### Perlakuan

Mencit dibagi ke dalam 4 kelompok, yakni:

Kelompok kontrol : kontrol positif (hanya diberi aquadest dan BR-1 tanpa diberi seduhan kopi robusta dan diberi perlakuan aktivitas fisik dengan menggunakan rotarod)

Kelompok 1 : Seduhan kopi robusta dosis 0,1 ml/20g BB mencit dan diberi perlakuan aktivitas fisik dengan menggunakan rotarod

Kelompok 2 : Seduhan kopi robusta dosis 0,2 ml/20g BB mencit dan diberi perlakuan aktivitas fisik dengan menggunakan rotarod

Kelompok 3 : Seduhan kopi robusta dosis 0,4 ml/20g BB mencit dan diberi

perlakuan aktivitas fisik dengan menggunakan rotarod

Sebelum diberikan perlakuan aktivitas fisik, mencit ditimbang terlebih dahulu. Mencit pada kelompok perlakuan diberikan seduhan kopi robusta sesuai dosis dengan cara peroral menggunakan sonde 1 jam sebelum dilakukan aktivitas fisik menggunakan rotarod. Hal ini dilakukan untuk memberi waktu absorpsi sediaan uji dalam tubuh mencit. Kafein dalam kopi cepat diserap dalam saluran cerna dan mencapai puncak konsentrasi dalam plasma 15-120 menit setelah ingesti, tergantung beberapa factor (18).

Uji aktivitas fisik *endurance* melalui metode rotarod dilakukan selama 1 jam, terdiri dari 3 kali percobaan dengan percepatan 4 - 40 rpm dalam 5 menit dan dipisahkan oleh *intertrial interval* (ITI) selama 15 menit (19).

Setelah aktivitas fisik selesai, dilakukan pengambilan ampel darah untuk pengukuran asam laktat melalui pemotongan ujung distal ekor mencit. Pengukuran kadar asam laktat dilakukan dengan menggunakan reagen kering strip BM-lactate accutrend plus dengan alat accutrend plus.

### Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan uji perbandingan Anova one way dan uji menggunakan program SPSS 24.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengukuran asam laktat menunjukkan adanya variasi pada setiap kelompok.

Tabel 1 Jumlah Rerata Kadar Asam Laktat

Perlakuan	Asam Laktat (mmol/L)
	Mean $\pm$ SD (n=6)
Kontrol (+)	6,05 $\pm$ 0,28
Perlakuan 1	5,28 $\pm$ 0,22
Perlakuan 2	4,75 $\pm$ 0,30
Perlakuan 3	4,16 $\pm$ 0,22

Berdasarkan hasil uji normalitas menggunakan uji *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas menggunakan uji *Lavene*, didapatkan data yang berdistribusi normal dan homogeny ( $p > 0,05$ ). Hasil uji *One Way ANOVA* pada penelitian ini didapatkan nilai  $p < 0,05$  yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan kadar asam laktat yang signifikan antar kelompok uji. Hasil uji post hoc *Bonferroni* menunjukkan bahwa hanya kelompok 2 dan 3 yang memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol s ( $p < 0,05$ ).

Hasil ini menunjukkan bahwa seduhan kopi robusta mulai memberikan

efek terhadap penurunan signifikan kadar asam laktat darah mencit pada dosis 0,2 ml/20gBB.

Berdasarkan penelitian, tingginya ion  $H^+$  merupakan factor yang mengakibatkan terjadinya kelelahan dan bukan ion laktat (20)(7). Meskipun begitu, tingginya asam laktat dalam darah dapat menjadi indicator terjadinya kelelahan dalam melakukan aktivitas fisik (19)(21). Proses kontraksi otot yang berlangsung selama aktivitas fisik, mengaktifasi ATPase dan memicu terjadinya glikolisis untuk memenuhi kebutuhan energy bagi kontraksi otot. Proses tersebut pada akhirnya akan memicu peningkatan metabolit intraseluler, seperti ion  $H^+$ , laktat, Pi dan ROS (Radical Oxygen Species) yang berkontribusi terhadap perubahan aktivitas jembatan silang. Jika produksi asam piruvat dari proses glikolisis melebihi oksidasinya, atau ketika oksidan jaringan otot rendah, maka kelebihan asam piruvat akan diubah menjadi asam laktat yang kemudian berdisosiasi menjadi ion  $H^+$  dan laktat. Penurunan pH akibat peningkatan  $H^+$  dari hasil disosiasi asam laktat ini akan mengganggu pelepasan kalsium dari reticulum sarkoplasma, mengurangi sensitivitas troponin terhadap ion kalsium sehingga mempengaruhi siklus jembatan

silang dan mengganggu kekuatan otot untuk berkontraksi (7).

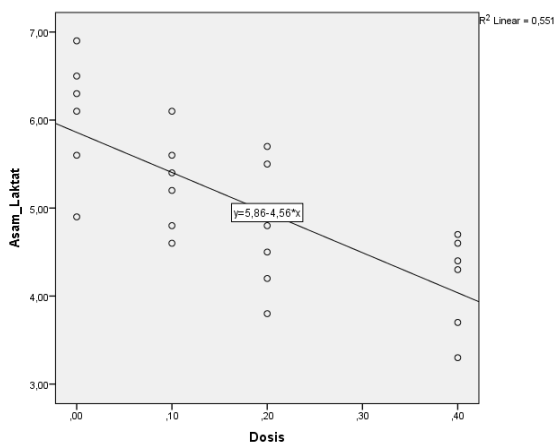
Akumulasi asam laktat dalam sel otot menyebabkan asidosis intraseluler dan menimbulkan kelelahan. Asam laktat yang dihasilkan dalam sel otot akan berdifusi ke dalam darah dan akan mengakibatkan peningkatan kadar asam laktat plasma (22). Penumpukan asam laktat dalam darah akan meningkat setelah aktivitas fisik, namun akan segera berkurang lebih dari setengahnya setelah 50 menit (23). Oleh karenanya pengambilan sampel darah untuk pengukuran asam laktat perlu dilakukan segera setelah perlakuan aktivitas fisik menggunakan rotarod selesai.

Pada hasil penelitian ini, semua kelompok perlakuan memiliki kadar asam laktat darah yang lebih rendah dari kelompok kontrol. Penurunan asam laktat ini diduga terjadi karena adanya kandungan kafein yang tinggi pada seduhan kopi robusta. Kopi robusta merupakan jenis kopi yang memiliki kandungan kafein yang tinggi dibandingkan kopi jenis arabika (14)(15). Kafein dapat meningkatkan daya tahan kinerja dengan jalan meningkatkan pelepasan adrenalin ke dalam darah yang menstimulasi pelepasan asam lemak bebas dari jaringan menuju otot rangka. Kafein juga dapat membantu penghematan

glukosa, meningkatkan ketahanan dan kekuatan otot dengan menurunkan akumulasi asam laktat (24).

Pada kelompok perlakuan dengan dosis seduhan kopi robusta 0,1 ml/20gram BB memberikan hasil penurunan asam laktat darah yang paling rendah, dengan nilai kadar asam laktat darah rata-rata 4,16 mmol/L dan tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol. Berbeda halnya dengan kelompok perlakuan dengan dosis seduhan kopi robusta 0,2 ml/20gram BB dan 0,4 ml/20gram BB yang menunjukkan perbedaan yang signifikan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hal ini menunjukkan diperlukannya dosis yang cukup tinggi untuk dapat menimbulkan efek pada penurunan asam laktat darah. Pada penelitian yang dilakukan Peker *et al* (24), konsumsi kafein 5mg/kgBB pada orang dewasa menurunkan kadar asam laktat darah secara signifikan ( $p=0,01$ ) dibandingkan dengan kelompok yang diberi placebo. Sementara dalam penelitian ini, kadar kafein dalam seduhan kopi tidak diukur. Kadar kafein atau 1,3,7 methylxanthine dalam kopi sangat bergantung bagaimana cara preparasi kopi tersebut dilakukan (25).





Gambar 1. Grafik scatter plot dengan persamaan  $y = 5,86 - 4,56x$ . y adalah kadar asam laktat darah. X adalah dosis seduhan kopi robusta.

Berdasarkan hasil uji regresi linier, didapatkan persamaan  $y = 5,86 - 4,56x$  seperti pada gambar 1, dengan koefisien determinasi 0,051. Nilai ini menunjukkan bahwa dosis seduhan kopi robusta berpengaruh sebesar 55,1% terhadap penurunan kadar asam laktat mencit.

Setelah ingesti, kafein akan cepat diserap dari saluran cerna masuk ke dalam system sirkulasi. Puncak konsentrasi kafein plasma terjadi pada 15-120 menit setelah konsumsi, bergantung pada perbedaan setiap individu dan waktu pengosongan lambung. Kafein yang berada di dalam darah akan terdistribusi luar ke jaringan tubuh, termasuk melintasi sawar darah (25).

Potensi efek kafein pada sel terjadi melalui tiga mekanisme, yaitu antagonis reseptor adenosine, terutama di system saraf

pusat, mobilisasi simpanan kalsium intrasel, dan inhibisi fosfodiesterase (25)(26). Dalam sel otot, kafein dapat menginduksi pelepasan kalsium dari reticulum sarkoplasma. Peningkatan kalsium intrasel akan mengaktivasi eNOS untuk menghasilkan nitric oxide yang merupakan vasodilator (25). Hal ini akan meningkatkan aliran darah ke otot dan meningkatkan ambilan laktat oleh hati, jantung, dan otot rangka sehingga laktat dapat di metabolisme kembali membentuk energi melalui siklus krebs (6). pembentukan asam laktat merupakan proses yang reversibel, laktat yang telah terbentuk dapat dikonversi kembali menjadi piruvat selanjutnya memasuki siklus kreb untuk dimetabolisme atau digunakan dalam glukoneogenesis (26). Laktat melalui aliran darah juga akan masuk ke hati. Di dalam hati, laktat akan diubah kembali menjadi glukosa melalui mekanisme glukoneogenesis. Glukosa kembali masuk ke dalam darah yang selanjutnya akan digunakan di dalam otot. Di dalam otot, glukosa diubah kembali menjadi glikogen. Hal tersebut dikenal dengan siklus asam laktat atau siklus Cori (26).



**KESIMPULAN**

Pemberian seduhan kopi robusta (*Coffea canephora*) mengurangi kadar asam laktat darah mencit (*Mus musculus L*) pasca aktivitas fisik *endurance* menggunakan rotarod. Dosis seduhan kopi robusta (*Coffea canephora*) yang mulai menyebabkan penurunan signifikan terhadap kadar asam laktat darah mencit adalah dosis 0,2 ml/20gBB.

**DAFTAR PUSTAKA**

1. Hill JO, Melby C, Johnson SL, Peters JC. Physical Activity and Energy Requirements. Am J Clin Nutr. 1995;62(December):1059S-66S.
2. Sherwood L. Human Physiology From Cells to System. 7th ed. Belmont: Yolanda Cossio; 2010.
3. Reece JB, Urry LA, Cain ML, Wasserman SA, Minorsky P V, Jackson RB. Campbell Biology. 9th ed. Wilbur B, editor. San Francisco: Pearson Benjamin Cummings; 2009.
4. Graner DK, Murray RK. Biokimia Harper. 29th ed. Jakarta: EGC; 2012.
5. Brooks GA. Review The Science and Translation of Lactate Shuttle Theory. Cell Metab [Internet]. 2018;27(4):757–85. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2018.03.008>
6. Widiyanto. Latihan Fisik dan Asam Laktat. MEDIKORA. 2007;III(1):61–79.
7. Wan J, Qin Z, Wang P, Sun Y, Liu X. Muscle fatigue : general understanding and treatment. Exp Mol Med [Internet]. 2017;49(10):e384-11. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/emm.2017.194>
8. Reyes CM, Cornelis MC. Caffeine in the Diet : Country-Level Consumption and Guidelines. Nutrients. 2018;10.
9. Tucker CM. Coffee Culture: Local Experiences, Global Connections. 2nd ed. New York: Routledge; 2017.
10. Indonesia KPR. Prundingan Kopi Internasional-International Coffee Organization (ICO) [Internet]. Available from: <http://ditjenppi.kemendag.go.id/index.php/apec-oi/organisasi-komoditi-internasional/ico>
11. Solikatun, Kartono DT, Demartoto A. Perilaku Konsumsi Kopi Sebagai Budaya Masyarakat Konsumsi: Studi Fenomenologi Pada Peminum Kopi Di Kedai Kopi Kota Semarang. J Anal Sociol. 2015;4(1):60–74.
12. Gumulya D, Helmi IS. Kajian budaya

- minum kopi indonesia. Dimensi. 2017;13(2):153–72.
13. Wahyudian, Sumarwan U, Hartoyo. Analisis Faktor-faktor yang Mempengaruhi Konsumsi Kopi dan Analisis Pemetaan Beberapa Merk Kopi dan Implikasinya Pada Pemasaran Kopi. *J Manag Agribisnis*. 2004;1(1):55–68.
14. Aditya IW, Nocianitri KA, Yusasrini NLA. Kajian Kandungan Kafein Kopi Bubuk, Nilai pH Dan Karakteristik Aroma dan Rasa Seduhan Kopi Jantan ( Pea Berry Coffee ) dan Betina ( Flat Beans Coffee ) Jenis Arabika dan Robusta. *J ITEPA*. 2016;5(1):1–12.
15. Farhaty N, Muchtaridi. Tinjauan Kimia dan Aspek Farmakologi Senyawa Asam Klorogenat pada Biji Kopi: Review. *Farmaka*. 2016;14(1):214–27.
16. Moreno AG. Caffeine and its ergogenic effect in sport ( second part ). *Arch Med Deport*. 2016;33(4):259–66.
17. Stevani H. Modul Bahan Ajar Cetak Farmasi: Praktikum Farmakologi. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia; 2016.
18. Committee on Military Nutrition Research. *Pharmacology of Caffeine*. In: *Caffeine for the Sustainment of Mental Task Performance: Formulations for Military Operations* [Internet]. Washington: National Academy Press; 2001. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK223808/>
19. The University of Queensland. *Standard Operating Procedures Laboratory Animal Research: Rotarod Test for Rodents* [Internet]. Queensland; 2015. Available from: [https://research.uq.edu.au/files/17429/sop\\_aht\\_21\\_rotarod\\_test\\_for\\_rodents.pdf](https://research.uq.edu.au/files/17429/sop_aht_21_rotarod_test_for_rodents.pdf)
20. F FS, Ilyas EI, Sadikin M. Peran H + dalam Menimbulkan Kelelahan Otot : Pengaruhnya pada Sediaan Otot Rangka Rana Sp. *Maj Kedokt Indon* [Internet]. 2010;60(4):178–80. Available from: [http://staff.ui.ac.id/system/files/users/ermmita.isfandiary/publication/pearn\\_h\\_dalam\\_menimbulkan\\_kelelahan\\_mki\\_vol\\_60\\_april\\_2010.pdf](http://staff.ui.ac.id/system/files/users/ermmita.isfandiary/publication/pearn_h_dalam_menimbulkan_kelelahan_mki_vol_60_april_2010.pdf)
21. Theofilidis G, Bogdanis GC, Koutedakis Y, Karatzaferi C. Monitoring Exercise-Induced Muscle Fatigue and Adaptations: Making Sense of Popular or Emerging Indices and Biomarkers. *Sports*. 2018;6(153):1–15.

22. Herwana E, Pudjiadi LL, Wahab R, Nugroho D, Hendrata T, Setiabudy R. Efek pemberian minuman stimulan terhadap kelelahan pada tikus. *Universa Med.* 2005;24(1):8–14.
23. Purnomo M. Asam Laktat dan Aktivitas SOD Eritrosit pada Fase Pemulihan Setelah Latihan Submaksimal. *J Media Ilmu Keolahragaan Indones.* 2011;1:2088–6802.
24. Khakim L. Efek pemberian kopi terhadap glukosa darah dan laktat darah selama dan sesudah aktifitas fisik submaksimal. *J Sport Sci.* 2015;4(3):162–5.
25. Martínez-lópez S, Sarriá B, Baeza G, Mateos R, Bravo-clemente L. Pharmacokinetics of caffeine and its metabolites in plasma and urine after consuming a soluble green / roasted coffee blend by healthy subjects. *Food Res Int [Internet].* 2014;64:125–33. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2014.05.043>
26. Schurr A. Lactate : the ultimate cerebral oxidative energy substrate ? *J Cereb Blood Flow Metab.* 2006;26:142–52.