

---

**FUNGSI REPRODUKSI DAN GAMBARAN HISTOLOGI ORGAN  
REPRODUKSI MENCIT (*Mus musculus*) BETINA  
PASCA PEMBERIAN KOPI**

**Ananda<sup>1)</sup>, Herbert Sipahutar<sup>2)</sup>, dan Meida Nugrahalia<sup>2)</sup>**

<sup>1</sup>Fakultas Peternakan, Universitas Andalas

<sup>2</sup>Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Medan  
email: ananda@ansci.unand.ac.id

**Abstrak**

*Tujuan penelitian ini untuk mengetahui efek pemberian kopi terhadap fungsi reproduksi dan gambaran histologi organ reproduksi mencit (*Mus musculus*) betina. Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan dua kelompok perlakuan: kelompok kontrol dan kelompok pemberian kopi dengan dosis yang telah dikonversi setara dengan tiga cangkir kopi pada manusia. Pemberian kopi dilakukan selama 21 hari untuk mengukur berat badan, berat uterus, panjang siklus estrus, jumlah folikel primer, jumlah folikel sekunder, diameter pembuluh ovarium, tinggi epitel endometrium, dan ketebalan endometrium. Pemberian kopi dilanjutkan hingga kebuntingan pada hari ke-19 untuk mengukur daya fertilisasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian kopi berpengaruh nyata terhadap jumlah folikel sekunder pada ovarium mencit dan tinggi epitel endometrium mencit, dan tidak berpengaruh terhadap berat badan, berat uterus, panjang siklus estrus, daya fertilitas, folikel primer, diameter pembuluh darah ovarium, dan ketebalan endometrium.*

*Keywords: kopi, fungsi reproduksi, dan gambaran histologi*

## **1. PENDAHULUAN**

Kopi sudah menjadi minuman utama saat bersantai atau menghadapi pekerjaan sehari-hari, dan juga menjadi menu utama rapat atau pertemuan bisnis. Menurut European Coffee Federation (2019) dunia mengonsumsi sekitar 2 miliar cangkir kopi setiap hari. Minuman ini sudah menjadi tradisi dan kebiasaan di hampir semua negara di dunia, terutama di Eropa dan Amerika Serikat, dan sudah menjadi gaya hidup yang sangat populer, sehingga tidak lagi hanya untuk menambah semangat atau mengatasi kantuk semata.

Kopi sering dipandang sebagai minuman maskulin karena sering dikonsumsi oleh pria. Namun, bagi wanita yang bekerja lebih dari delapan jam, telah menjadikan kopi sebagai minuman yang dibutuhkan. Sebagian wanita, baik yang berkarir dengan tingkat

sosialitas yang tinggi seperti pengusaha, artis, *public figure*, dll, mulai menganggap kopi sebagai kebutuhan dalam aktivitas sehari-hari. Garriguet (2009) mengatakan tren konsumsi kopi mencapai puncaknya pada usia 31-50 tahun dimana usia tersebut adalah usia produktif bagi seorang wanita baik dalam bekerja maupun dalam perkembangan fisiologi reproduksinya. Garriguet (2009) juga menambahkan bahwa tren mengonsumsi kopi mulai menurun pada usia 71 tahun dimana kebanyakan wanita tidak produktif pada usia ini.

Ada beberapa efek yang muncul ketika seseorang minum kopi. Efek negatif kopi dapat bermanifestasi sebagai gangguan tidur, penurunan kesuburan, menyebabkan cacat lahir, keguguran, dan migrain. Efek yang menguntungkan adalah mencegah peningkatan kadar asam urat darah dan kadar glukosa serta mengurangi resiko terjadinya sirosis (Ehichioya et al., 2016). Minum kopi juga ditengarai memiliki efek terhadap masalah kesehatan wanita, termasuk kesehatan reproduksi. Kafein yang terkandung pada kopi dapat memengaruhi fungsi ovarium untuk mengatur pelepasan estrogen dan progesteron, menghambat terjadinya fertilisasi, komplikasi endometrium, dan meningkatkan kerentanan sel telur (Qian et al., 2020).

Penulisan yang dilakukan oleh Cappelletti et al. (2015) menyatakan bahwa asupan kafein meningkatkan sirkulasi adenosin monofosfat (cAMP), yang mengganggu perkembangan sel. Selain itu, Cnattingius et al. (2000) sebelumnya juga melaporkan efek kafein pada aborsi spontan dan kerentanan rahim. Studi lain pada hewan laboratorium menunjukkan bahwa kafein merangsang produksi dan peningkatan prostaglandin uterus pada marmot. Kondisi ini memungkinkan bahwa kafein mengambil peran penting terhadap gangguan menstruasi yang dialami oleh beberapa wanita yang rutin mengonsumsi kopi (Naderali & Poyser, 1994). Dorostghoal et al. (2011) menunjukkan bahwa asupan kafein selama kehamilan dan menyusui memengaruhi tahap awal perkembangan folikel ovarium dan mengurangi efisiensi reproduksi pada keturunan tikus Wistar. Sehingga penting dilakukannya suatu studi mengenai efek pemberian kopi secara tunggal untuk mendapatkan gambaran yang lebih

mendalam terhadap fungsi reproduksi dan struktur histologi dengan menggunakan hewan percobaan mencit (*Mus musculus*) betina.

## 2. METODE PENELITIAN

### 2.1. Alat dan Bahan

#### 2.1.1. Alat

Alat yang digunakan adalah *gavage*/sonde lambung, spuit 1 ml, *cotton bud*, *object glass*, *cover glass*, pipet tetes, mikroskop, *dissecting set*, bak parafin, botol film, cawan petri, *baker glass*, pinset, *jar*, oven, dan mikrotom.

#### 2.1.2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bubuk kopi robusta, air hangat, larutan Giemsa, formalin-PBS 10% sebagai larutan fiksatif, praplast (titik leleh 56°C) sebagai campuran parafin, alkohol (ethanol) absolut sebagai larutan fiksatif, xylene (*xylol*) sebagai larutan fiksatif, hematoxilin dan eosin sebagai pewarna jaringan, parafin sebagai media jaringan yang di sayat, albumen mayer sebagai perekat, gliserol sebagai larutan fiksatif organ, *canada balsem* untuk melekatkan *cover glass* dan *object glass*, dan aquadest sebagai larutan kontrol.

#### 2.1.3. Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) betina berumur empat bulan dengan berat badan 20-28 gram. Hewan uji dipelihara secara berkelompok (2 ekor per kandang) dalam kandang terbuat dari bahan Non Plastik ukuran 25 x 20 x 9 cm dan botol untuk minum mencit dengan ukuran 500 ml air. Dasar kandang dialasi dengan sekam dengan ketebalan lebih kurang 1 cm. Kondisi penerangan di dalam kandang adalah 12 jam terang (pukul 06.00 sampai dengan pukul 18.00) dan 12 jam gelap (pukul 18.00 sampai dengan pukul 06.00). Selama pemeliharaan, hewan uji diberi pakan berupa *pellet* (202C) dan air minum secara *ad libitum*. Kandang dibersihkan sekali dalam dua hari. Temperatur dan kelembapan rumah hewan dibiarkan pada kondisi alamiah.

## 2.2. Metode Penelitian

### 2.2.1. Penentuan Dosis

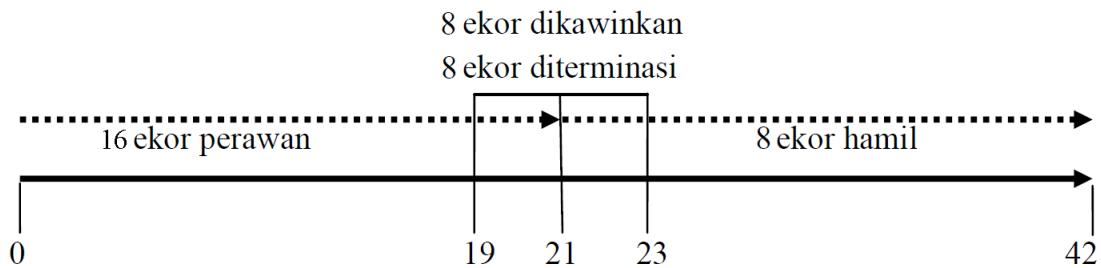
Kopi yang digunakan dalam penelitian ini adalah bubuk kopi robusta varietas biji kopi Sidikalang Sumatera Utara. Penentuan dosis berdasarkan konversi kopi manusia. Menurut *National Coffee Association* (2022), masyarakat Amerika Serikat (US) rata-rata mengonsumsi kopi sebanyak 3 cangkir per hari dengan konsentrasi 7 gram bubuk kopi per cangkir. Berdasarkan tabel perbandingan luas permukaan tubuh hewan coba (Laurance & Bacharach, 1964), konversi larutan untuk mencit adalah 0,0026 kali dosis manusia. Sehingga jika dalam 3 cangkir kopi terdapat 21 gram kopi maka bubuk kopi yang dibutuhkan sebanyak 0,0546 gram yang selanjutnya dilarutkan dalam air mendidih sebanyak 0,5 ml.

### 2.2.2. Pemberian Kopi

Larutan kopi diberikan secara oral setiap hari 0.5ml/ekor dengan menggunakan *sonde/gavage* (ketelitian 1 ml) dan diberikan selama 21 hari, pada pagi hari (pukul 08.00 – 10.00 WIB). Pemberian larutan kopi dilakukan setelah mencit ditimbang. Untuk pengamatan daya fertilisasi, pemberian kopi dilanjutkan hingga hari ke-19 kebuntingan.

### 2.2.3. Rancangan Penelitian

Mencit (*Mus musculus*) betina yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 32 ekor dengan pendistribusian sebanyak 16 ekor kelompok kontrol dan 16 ekor kelompok perlakuan. Kelompok kontrol tidak diberikan kopi dan kelompok perlakuan diberikan kopi yang sudah dikonversikan sebanyak 0,5ml. Pada kelompok perlakuan 16 ekor mencit diberi kopi secara oral selama 21 hari dan dilakukan terminasi pada hari ke-22. Sementara itu sisanya (8 ekor) dikawinkan hingga kebuntingan mencapai hari ke-19. Pembedahan dilakukan untuk mengamati daya fertilisasi dan mengambil sampel histologis.



Gambar 2.1. Desain Penelitian

#### 2.2.4. Pengumpulan Data

##### a. Berat Badan

Berat badan diperoleh dengan menggunakan timbangan analitik (Ohaus, ketelitian 0,1 g) yang ditimbang setiap hari selama 21 hari. Penimbangan dilakukan sebelum pemberian perlakuan.

##### b. Pengamatan Siklus Estrus

Pengamatan siklus estrus didapat dari preparat ulas vagina yang dibuat setiap tiga jam per hari selama satu minggu. Panjang siklus estrus dihitung mulai dari penampakan sel epitel vagina tahap estrus akhir hingga estrus awal (Ajayi & Akhigbe, 2020; Goldman et al., 2007). Satuan yang digunakan adalah satuan jam.

##### c. Daya Fertilisasi

Mencit diterminasi pada kebuntingan hari ke-19 dengan cara dislokasi leher. Ovarium dikoleksi dan dihitung jumlah korpus luteum di bawah lensa mikroskop stereo perbesaran 100x. Uterus dikoleksi, dibuka dan difiksasi dengan jarum pentul, kemudian uterus ditetesi dengan larutan *Bouin*, kemudian implantasi dihitung. Ovarium yang didapat kemudian dicuci dengan larutan NaCl 0,9% dan direndam dalam larutan *Bouin* selama 24 jam. Data jumlah corpus luteum dibandingkan dengan jumlah implantasi dan disajikan dalam satuan persen (%).

##### d. Preparasi Histologi

Ovarium dan uterus dikoleksi dan difiksasi dengan menggunakan larutan formalin-PBS 10%, selanjutnya dilakukan pembuatan preparat jaringan dengan metode

histoteknik menggunakan pewarnaan rutin Hematoksilin-Eosin (HE). Pengukuran dilakukan dengan menghitung jumlah folikel primer, folikel sekunder, dan mengukur diameter pembuluh darah ovarium, ketebalan endometrium dan tinggi sel epitel endometrium.

#### 2.2.5. Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan uji statistik t dan ditampilkan secara grafis.

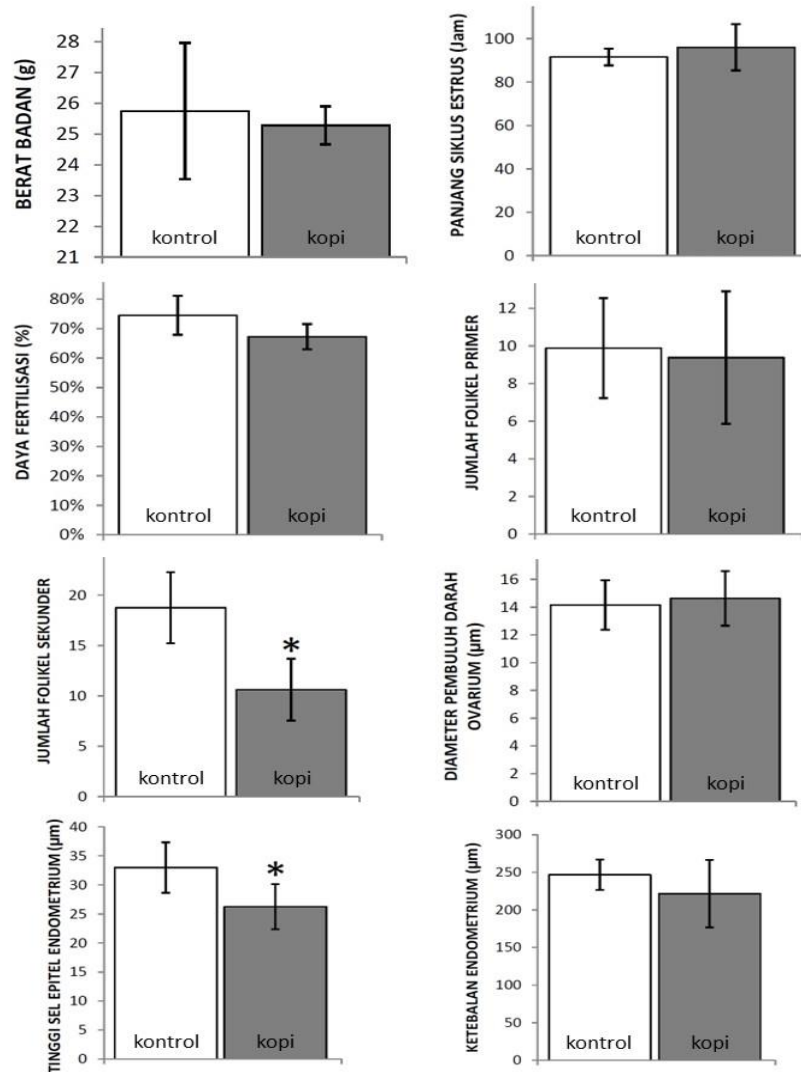
### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perbedaan rerata bobot badan mencit betina selama 21 hari lebih tinggi pada kelompok kontrol ( $25,74 \pm 2,21$ ) dibandingkan dengan kelompok perlakuan ( $25,27 \pm 0,62$ ). Perbedaan nilai rata-rata diduga dikarenakan *sonde* yang digunakan untuk mendistribusikan kopi ke dalam saluran pencernaan dapat menyebabkan stres, meskipun tingkat stres tidak diketahui. Mediasi oleh radikal bebas yang dapat memicu stres akan turut mempengaruhi keadaan patofisiologi, seperti cedera dan kelainan biokimia, yang menyebabkan gangguan metabolisme. Gangguan metabolisme ini menyebabkan terjadinya hambatan sintesis zat yang diperlukan untuk regenerasi (pebelahan sel) dan pematangan sel somatik serta akumulasi simpanan energi tubuh dalam bentuk lemak dan karbohidrat (Gunawan et al., 2007). Namun, penurunan berat badan yang terjadi tidak signifikan. Kafein dalam kopi disinyalir mampu mengaktifkan sistem saraf simpatik dan kelenjar adrenal, menyebabkan hipoglikemia dan meningkatkan nafsu makan. Meskipun kebanyakan orang menganggap kafein dalam kopi sebagai bahan yang dapat menurunkan berat badan, tapi terdapat efek lain dimana terjadi peningkatan kadar kortisol yang keberlanjutannya dapat merangsang nafsu makan (Tabrizi et al., 2019).

Pengamatan panjang siklus estrus kelompok perlakuan menunjukkan hasil lebih tinggi ( $96 \pm 10,67$ ) dibandingkan dengan kelompok kontrol ( $91,5 \pm 3,87$ ). Hal ini diduga terdapat keterkaitan antara kafein dengan hormon estrogen dan progesteron pada

ovarium. Perkembangan dan kemampuan ovarium untuk menghasilkan estrogen dapat dilihat secara tidak langsung melalui perubahan sitologi pada sel epitel vagina. Menurut Schliep et al. (2012) kandungan kafein pada kopi dapat mempengaruhi regulasi hormon FSH yang fungsinya untuk mengatur pengeluaran estrogen dan progesteron pada ovarium, sehingga dalam hal ini kafein diduga dapat menyebabkan terjadinya pemanjangan waktu siklus estrus pada mencit kelompok perlakuan. Namun, berdasarkan hasil uji-t, kopi terbukti tidak berpengaruh nyata terhadap lamanya siklus estrus pada mencit. Terdapat beberapa faktor yang mungkin dapat mempengaruhi hal ini, antara lain jumlah/dosis kopi yang dikonsumsi dan bagaimana proses metabolisme yang dapat ditoleransi oleh hati sebagai salah satu organ yang terlibat dalam homeostasis dalam tubuh.

Pemberian kopi pada penelitian ini tidak menunjukkan efek yang signifikan terhadap daya fertilisasi. Mencit kelompok kontrol memiliki rata-rata daya fertilisasi lebih tinggi ( $74,48 \pm 0,042$ ) dibandingkan dengan mencit kelompok perlakuan ( $67,72 \pm 0,066$ ). Kafein dalam kopi bersifat xenobiotik dan menyebabkan kerusakan sel dengan cara memprovokasi permeabilitas membran sel, homeostasis osmotik, integritas enzim, dan kofaktor lainnya yang dapat menekan pertumbuhan dan perkembangan sel, sehingga diduga dapat menyebabkan kerusakan dan menyebabkan perubahan morfologi sel (Bode & Dong, 2007). Kuper et al. (2000) menjelaskan bahwa kafein juga dapat menghambat reaksi *poly (ADP-ribosil)asi* siklus sel sehingga keberlanjutannya akan mempengaruhi struktur dan fungsi DNA. Kafein dalam kopi juga dapat mengganggu mitosis sel telur pasca fertilisasi sehingga mengakibatkan kegagalan perkembangan embrio (Supriati et al., 2010).



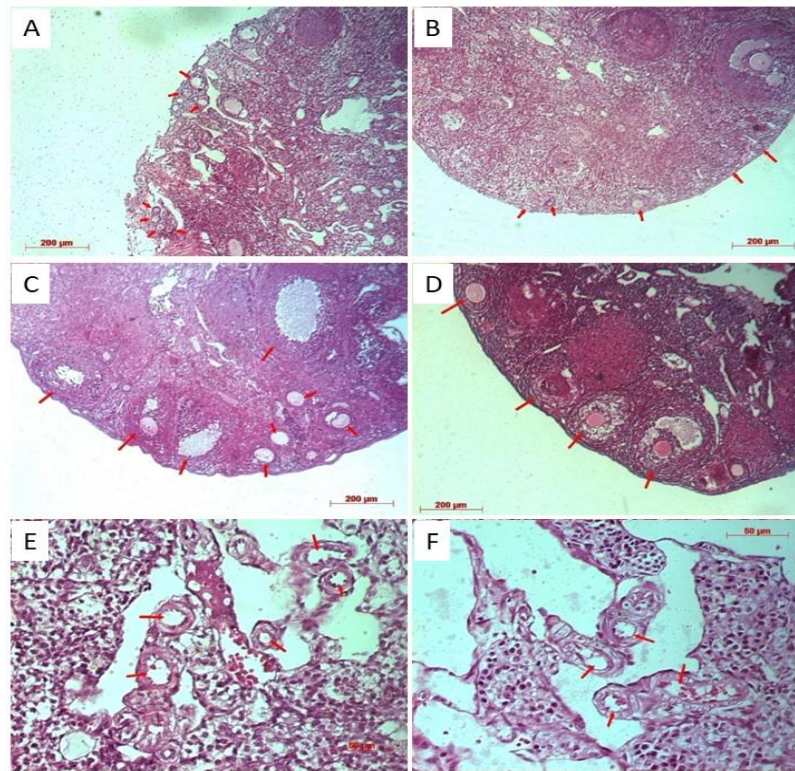
Gambar 1. Grafik efek pemberian kopi terhadap fungsi reproduksi mencit (*Mus musculus*) betina

Sebuah studi yang dilakukan oleh Dixon et al. (2011) menemukan bahwa terjadi peningkatan kadar cAMP sitosol dikarenakan kafein dalam kopi bekerja dengan cara menghambat PDEs (*Phosphodiesterase*). Saat hiperpolarisasi, membran potensial mengalami pergeseran dan juga membuka kanal  $Ca^{2+}$  sehingga terjadi relaksasi. Hiperpolarisasi yang menyebabkan aktivasi kanal KATP tersebut menyebabkan penghambatan kontraksi otot tuba fallopi secara spontan yang merupakan mekanisme penting untuk menghantar sel telur sepanjang tuba fallopi, sehingga dengan kata lain



implantasi gagal terjadi karena sel telur gagal mencapai uterus.

Analisis gambaran histologi ovarium pada mencit yang diberi kopi selama 21 hari menunjukkan jumlah folikel primer pada masing-masing kelompok tidak berpengaruh signifikan, hal ini diduga disebabkan karena folikel primer sudah terbentuk sejak fetus. Perlakuan kopi diberikan setelah hewan betina memasuki masa pubertas sehingga tidak memengaruhi jumlah folikel primer yang terkandung dalam ovarium. Setelah hewan memasuki masa pubertas hingga dewasa, folikel primer akan berkembang menjadi folikel sekunder yang ditandai dengan pertumbuhan sel-sel yang mengelilinginya. Sel-sel tersebut membentuk lapisan teka folikuli yang keberlanjutannya akan terjadi pemisahan teka folikuli menjadi teka eksterna dan teka interna (Heffner & Schust, 2008).

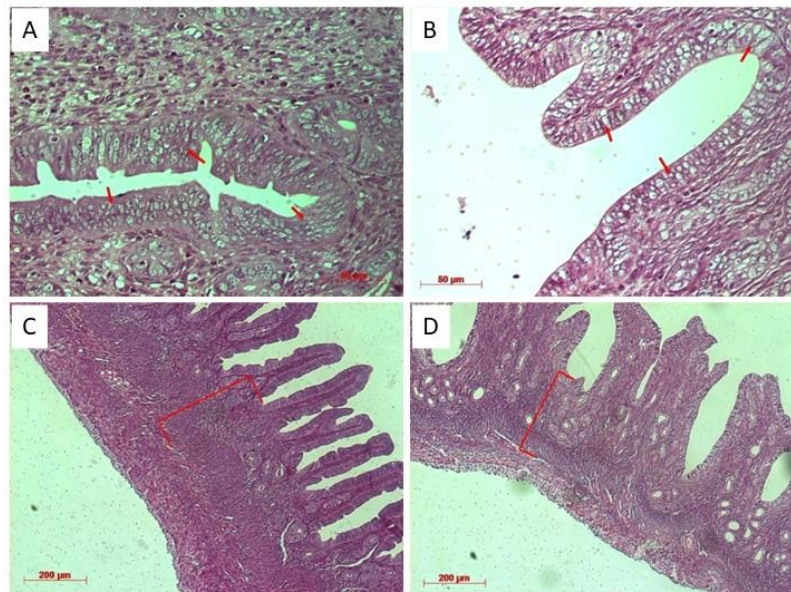


Gambar 2. Gambaran histologi ovarium mencit (*Mus musculus*) betina pasca pemberian kopi: A. folikel primer pada kelompok kontrol; B. folikel primer pada kelompok perlakuan; C. folikel sekunder kelompok kontrol; D. folikel sekunder kelompok perlakuan; E. Diameter pembuluh darah ovarium kelompok kontrol; F. Diameter pembuluh darah ovarium kelompok perlakuan.

Perubahan yang terjadi pada regulasi hormon ovarium yang dinyatakan oleh Heffner & Schust (2008) diduga juga memiliki keterkaitan dengan kadar kolesterol yang merupakan prekursor utama hormon steroid. Hormon steroid disintesis oleh beberapa organ seperti adrenal, testis, ovarium, plasenta, dan pada tingkat tertentu disintesis di beberapa jaringan perifer. Kolesterol merupakan prekursor hormon steroid yang dihasilkan melalui sintesis *denovo* atau melalui ambilan dari *Low Density Lipoprotein* (LDL). Kolesterol ini dilepaskan melalui stimulasi esterase kolesterol ketika organ penghasil kolesterol dirangsang. Kolesterol ini berikutnya akan terlibat dalam pembentukan hormon steroid atau steroidogenesis (Ping et al., 2012). Ovarium merupakan salah satu organ penghasil hormon steroid dengan sistem dua sel. Pada ovarium, lapisan terluar pada folikel yang disebut sel teka akan menginduksi pembentukan androgen setelah mendapatkan rangsangan dari FSH-LH. LH menyebabkan sel teka akan meningkatkan pembentukan sejumlah reseptor LDL dan kemudian membuka jalan untuk mengambil kolesterol. Androgen yang dihasilkan selanjutnya akan berdifusi ke lapisan sel yang berada dibawahnya, yaitu lapisan sel granulosa untuk selanjutnya mengubah androgen menjadi estrogen. FSH akan memicu peningkatan aktivitas enzim aromatase di dalam sel granulosa. Androgen yang berdifusi ke dalam sel granulosa akan mengalami metabolisme oleh enzim aromatase menjadi estrogen. Konsentrasi estrogen dalam darah akan mengendalikan produksi LDL sehingga profil LDL akan selalu berada di bawah ambang batas (Sumoked et al., 2016). Penelitian yang dilakukan oleh (Lane et al., 1994) menemukan bahwa konsumsi kafein akan meningkatkan konsentrasi LDL dalam darah, dengan artian bahwa konsumsi kafein diduga telah menurunkan fungsi ovarium dalam menghasilkan estrogen yang ditandai dengan meningkatnya konsentrasi LDL dalam darah.

Pengamatan pada diameter pembuluh darah pada ovarium menunjukkan bahwa pemberian kopi tidak berpengaruh signifikan terhadap diameter pembuluh darah ovarium. Meskipun sedikit, namun tetap terjadi peningkatan diameter pembuluh darah pada ovarium. Hal ini diduga dikarenakan metabolisme kafein menjadi theobromin

dapat menyebabkan pelebaran pada pembuluh darah (Echeverri et al., 2010). Kafein diketahui dapat menyebabkan meningkatnya efek vasodilatasi arteri (Lelyana, 2008). Echeverri et al. (2010) juga mengungkapkan bahwasanya kafein yang telah dimetabolisme menjadi bentuk xantin dalam tubuh memiliki banyak efek dan mekanisme yang berkaitan dengan jaringan vaskular. Dalam sel endothelium, xantin mampu meningkatkan kadar kalsium dengan menstimulasi produksi Nitrit Oksida. Nitrit Oksida yang diproduksi akan berdifusi dalam jaringan vaskular yang mengakibatkan pelebaran pembuluh darah (vasodilatasi). Mekanisme ini selanjutnya akan memblokir reseptor adenosin yang berfungsi untuk melakukan vasokonstriksi, dalam artian konsumsi kafein dalam dosis tertentu berpotensi meningkatkan pelebaran pembuluh darah.



Gambar 3. Gambaran histologi uterus mencit (*Mus musculus*) betina pasca pemberian kopi: A. tinggi sel epitel endometrium pada kelompok kontrol; B. tinggi sel epitel endometrium pada kelompok perlakuan; C. ketebalan endometrium pada kelompok kontrol; D. ketebalan endometrium pada kelompok perlakuan.

Hasil analisis gambaran histologi uterus mencit yang telah diberi perlakuan kopi selama 21 hari diketahui bahwa pemberian kopi berpengaruh nyata terhadap tinggi sel epitel endometrium dan tidak berpengaruh nyata terhadap ketebalan endometrium. Namun, rata-rata ketebalan endometrium mencit pada kelompok perlakuan

memperlihatkan penurunan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Kafein yang terkandung pada kopi telah diketahui dapat memengaruhi sekresi hormon estradiol yang diduga bertanggung jawab atas perubahan yang terjadi pada struktur histologi uterus kelompok perlakuan. Perubahan yang terjadi pada ovarium juga turut mempengaruhi perubahan yang terjadi pada uterus. Uterus berubah secara berkala selama siklus ovarium berlangsung secara normal (Sari, 2011). Selama fase praovulasi siklus reproduksi, sel-sel endometrium berproliferasi hebat dibawah pengaruh estrogen (Heffner & Schust, 2008), hal ini diperkuat dari hasil penelitian Ananda et al. (2019) dimana sel-sel endometrium mengalami perkembangan ketika diberikan asupan estrogen secara *in vitro*. Gangguan hormonal yang terjadi pada ovarium seperti yang telah diuraikan sebelumnya diduga juga turut memengaruhi tampilan histologi uterus termasuk ketinggian sel epitel endometrium. Selain itu efek kafeinisme berupa kecemasan juga cenderung akan mengacaukan kadar LH, dan menyebabkan peningkatan konsentrasi prolaktin. Konsentrasi prolaktin yang tinggi dapat menghambat sekresi LH yang merupakan hormon gonadotropin. Terjadinya penekanan sekresi gonadotropin menyebabkan penurunan produksi FSH dan LH di pituitari anterior dan menyebabkan rendahnya konsentrasi estrogen dalam darah (Senger, 2005) sehingga menyebabkan terjadinya perubahan pada histologi uterus seperti penurunan tinggi sel epitel endometrium, ketebalan endometrium, dan ketebalan miometrium.

#### 4. KESIMPULAN DAN SARAN

##### 4.1 Kesimpulan

Pemberian kopi berpengaruh terhadap terhadap jumlah folikel sekunder ovarium dan tinggi epitel endometrium mencit (*Mus musculus*). Namun, tidak berpengaruh terhadap berat badan, panjang siklus estrus, daya fertilisasi, jumlah folikel primer, diameter pembuluh darah ovarium, dan ketebalan endometrium mencit (*Mus musculus*).

##### 4.2 Saran

Penelitian yang lebih spesifik dengan menggunakan kafein tunggal perlu dilakukan untuk menemukan pengaruh yang nyata terhadap kesehatan reproduksi dengan mengukur profil-profil hormon reproduksi dalam darah.

## 5. REFERENSI

- Ajayi, A. F., & Akhigbe, R. E. (2020). Staging of the estrous cycle and induction of estrus in experimental rodents: an update. *Fertility Research and Practice*, 6(1), 1–15. <https://doi.org/10.1186/s40738-020-00074-3>
- Ananda, Kaiin, E. M., Karja, N. W. K., & Setiadi, M. A. (2019). Perkembangan Sel Endometrium Domba setelah Inkubasi dalam Kolagenase dan Dikultur In Vitro dengan Estradiol dan Progesteron. *Jurnal Veteriner*, 20(3), 298. <https://doi.org/10.19087/jveteriner.2019.20.3.298>
- Bode, A. M., & Dong, Z. (2007). The enigmatic effects of caffeine in cell cycle and cancer. *Cancer Letters*, 247(1–2), 26–39. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2006.03.032>
- Cappelletti, S., Daria, P., Sani, G., & Aromatario, M. (2015). Caffeine: Cognitive and Physical Performance Enhancer or Psychoactive Drug? *Current Neuropharmacology*, 13(1), 71–88. <https://doi.org/10.2174/1570159x13666141210215655>
- Cnattingius, S., Signorello, L. B., Annerén, G., Clausson, B., Ekblom, A., Ljunger, E., Blot, W. J., McLaughlin, J. K., Petersson, G., Rane, A., & Granath, F. (2000). Caffeine Intake and the Risk of First-Trimester Spontaneous Abortion. *Obstetric and Gynecologic Survey*, 343(25), 259–260. <https://doi.org/10.1097/00006254-200105000-00006>
- Dixon, R. E., Hwang, S. J., Britton, F. C., Sanders, K. M., & Ward, S. M. (2011). Inhibitory effect of caffeine on pacemaker activity in the oviduct is mediated by cAMP-regulated conductances. *British Journal of Pharmacology*, 163(4), 745–754. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2011.01266.x>
- Dorostghoal, M., Mahabadi, M. K., & Adham, S. (2011). Effects of maternal caffeine consumption on ovarian follicle development in Wistar rats offspring. *Journal of Reproduction and Infertility*, 12(1), 15–22.
- Echeverri, D., Montes, F. R., Cabrera, M., Galán, A., & Prieto, A. (2010). Caffeine's vascular mechanisms of action. *International Journal of Vascular Medicine*, 2010. <https://doi.org/10.1155/2010/834060>
- Ehichioya, D. E., Oyesola, T. O., Ogbonna, R. C., Oyesola, O. A., & Ajiboye, K. I. (2016). Habitual caffeine Consumption and Its Influence on Myocardial Fibers, Blood Pressure and Oxidative Status in Pregnant Albino Wistar Rats. *International Journal of Advanced Research*, 4(10), 1845–1854. <https://doi.org/10.21474/ijar01/1994>
- European Coffee Federation. (2019). *European Coffee Report 2018/2019*. European Coffee Federation. <https://www.ecf-coffee.org/wp-content/uploads/2020/09/European-Coffee-Report-2018-2019.pdf>
- Garriguet, D. (2009). Beverage consumption of Canadian adults. *Statistics Canada*, 19(4), 1–53. [http://www5.statcan.gc.ca/access\\_acces/archive.action?loc=/pub/82-003-](http://www5.statcan.gc.ca/access_acces/archive.action?loc=/pub/82-003-)

s/2005000/pdf/9087-eng.pdf&archive=1

- Goldman, J. M., Murr, A. S., & Cooper, R. L. (2007). The rodent estrous cycle: Characterization of vaginal cytology and its utility in toxicological studies. *Birth Defects Research (Part B)*, 80, 84–97. <https://doi.org/10.1002/bdrb.20106>
- Gunawan, Setiatin, E. T., Rosadi, B., Hine, T. M., & Parakkasi, A. (2007). Performansi Reproduksi Tikus Betina dengan Pemberian Lendir Lidah Buaya. *Jurnal Kedokteran Hewan*, 1(1), 1–6. <https://doi.org/10.21157/j.ked.hewan.v1i1.3101>
- Heffner, L. J., & Schust, D. J. (2008). *The Reproductive System at a Glance* (Second Ed.). Erlangga.
- Kuper, H., Titus-Ernstoff, L., Harlow, B. L., & Cramer, D. W. (2000). Population based study of coffee, alcohol and tobacco use and risk of ovarian cancer. *International Journal of Cancer*, 88, 313–318. [https://doi.org/10.1002/1097-0215\(20001015\)88:2<313::AID-IJC26>3.0.CO;2-5](https://doi.org/10.1002/1097-0215(20001015)88:2<313::AID-IJC26>3.0.CO;2-5)
- Lane, J. D., Pieper, C. F., Barefoot, J. C., Williams, R. B., & Siegler, I. C. (1994). Caffeine and Cholesterol : Interactions With Hostility Despite more than two decades of research , there is still no conclusive answer to the question of whether coffee drinking increases the risk of coronary heart disease ( CHD ). Initial studies from. *Psychosomatic Medicine*, 266, 260–266. <https://doi.org/0.1097/00006842-199405000-00013>
- Laurance, D. R., & Bacharach, A. L. (1964). *Evaluation of Drug Activities* (D. R. Laurance & A. L. Bacharach (eds.); 1st ed.). Academic Press. <https://www.elsevier.com/books/evaluation-of-drug-activities/laurance/978-1-4832-2845-7>
- Lelyana, R. (2008). Pengaruh Kopi Terhadap Kadar Asam Urat Darah Studi Eksperimen Pada Tikus Rattus Norwegicus Galur Wistar [Universitas Diponegoro]. In *Universitas Diponegoro*. [http://eprints.undip.ac.id/19270/1/Rosa\\_Lelyana.pdf](http://eprints.undip.ac.id/19270/1/Rosa_Lelyana.pdf)
- Naderali, E. K., & Poyser, N. L. (1994). The effect of caffeine on prostaglandin output from the guinea-pig uterus. *British Journal of Pharmacology*, 113(1), 103–110. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1994.tb16180.x>
- National Coffee Association. (2022). *Coffee consumption hits two-decade high - Spring 2022 National Coffee Data Trends report*. National Coffee Association. <https://www.ncausa.org/Newsroom/Coffee-consumption-hits-two-decade-high-2022-NCDT>
- Ping, J., Lei, Y. Y., Liu, L., Wang, T. T., Feng, Y. H., & Wang, H. (2012). Inheritable stimulatory effects of caffeine on steroidogenic acute regulatory protein expression and cortisol production in human adrenocortical cells. *Chemico-Biological Interactions*, 195(1), 68–75. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2011.11.001>

- Qian, J., Chen, Q., Ward, S. M., Duan, E., & Zhang, Y. (2020). Impacts of Caffeine during Pregnancy. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 31(3), 218–227. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2019.11.004>
- Sari, R. M. (2011). *Pengaruh Pemberian Ekstrak dan Fraksi daun Katuk (Sauropus androgynus (L.) Merr) Terhadap Proses Involusi Uterus Tikus Putih (Rattus norvegicus)*. Institut Pertanian Bogor.
- Schliep, K. C., Schisterman, E. F., Mumford, S. L., Pollack, A. Z., Zhang, C., Ye, A., Stanford, J. B., Hammoud, A. O., Porucznik, C. A., & Wactawski-Wende, J. (2012). Caffeinated beverage intake and reproductive hormones among premenopausal women in the BioCycle Study. *American Journal of Clinical Nutrition*, 95, 488–497. <https://doi.org/10.3945/ajcn.111.021287>
- Senger, P. (2005). Pathways to Pregnancy and Parturition. In *Curent Conception, Inc.* (Second Rev). Washington State University Research & Technology Park.
- Sumoked, P. D. D., Tendean, H. M. M., & Suparman, E. (2016). Profil Lipid Wanita Menopause di Panti Werdha Damai Manado Universitas Sam Ratulangi, Manado. *E-CliniC*, 4(1), 405–411.
- Tabrizi, R., Saneei, P., Lankarani, K. B., Akbari, M., Kolahehdooz, F., Esmailzadeh, A., Nadi-Ravandi, S., Mazoochi, M., & Asemi, Z. (2019). The effects of caffeine intake on weight loss: a systematic review and dose-response meta-analysis of randomized controlled trials. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(16), 2688–2696. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1507996>
- Utami, E. T., Fitrianti, R., Mahriani, & Fajariyah, S. (2009). Efek Kondisi Hiperglikemik terhadap Struktur Ovarium dan Siklus Estrus Mencit ( *Mus musculus* L). *Jurnal Ilmu Dasar*, 10(2), 219–224.