

AKTIVITAS ANTIDOTUM KAFEIN TERHADAP EFEK SEDATIF DIAZEPAM PADA MENCIT PUTIH MENGGUNAKAN METODE *RECOVERY RIGHTING REFLEX*

Chika Ayu Caesaria^{1*}, Denia Egidiayu Bisma Putri², Arryrawanda Bunga Priswanto Putri³, Aulia Intan Putri Wongso⁴, Calista Shafa Maheswari⁵, Ayu Sulis Setiawati⁶, Ayunita Faidah⁷

¹⁻⁷Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Bhakti Hasta Mulia Madiun, Kota Madiun, Indonesia

E-mail: arikhasains2017@gmail.com

Abstract

*Diazepam is a benzodiazepine widely used as an anxiolytic, sedative, and anticonvulsant, but uncontrolled use may cause excessive sedation and even coma. Flumazenil, the standard antidote, has clinical limitations including seizure risk, short duration of action, and limited availability. Caffeine, an adenosine A1 and A2A receptor antagonist, has a mechanism of action opposite to diazepam and is therefore a potential functional antidote. This study aimed to evaluate the antidotal activity of caffeine against the sedative effect of diazepam in white mice (*Mus musculus*) using the Recovery of Righting Reflex (RORR) method. This experimental study used a completely randomized design with five treatment groups: negative control (0.5% CMC-Na), normal control (diazepam 20 mg/kgBW), and three combination groups of diazepam with caffeine at doses of 12.5, 25, and 37.5 mg/kgBW, each with three replications. RORR time data were analyzed using the Kruskal-Wallis test followed by the Mann-Whitney test. The results showed the longest RORR time in the normal control group (24.7 ± 0.6 minutes), while caffeine at doses of 12.5, 25, and 37.5 mg/kgBW accelerated recovery to 17.7 ± 0.6 , 10.7 ± 0.6 , and 5.0 ± 0.0 minutes, respectively, in a dose-dependent manner. The Kruskal-Wallis test showed significant differences among groups ($H = 13.770$; $p = 0.008$), and the Mann-Whitney test confirmed significance in all group pairs ($p < 0.05$). It can be concluded that oral caffeine significantly and dose-dependently reduces the sedative effect of diazepam, supporting its potential as a more economical and accessible functional alternative to flumazenil.*

Keywords: *Caffeine, Diazepam, Antidote, Righting Reflex, Sedation.*

Abstrak

Diazepam merupakan obat golongan benzodiazepin yang banyak digunakan sebagai ansiolitik, sedatif, dan

Article history

Received : Juli 2026

Reviewed: Juli 2026

Published: Juli 2026

Plagiarism checker no 234.8576

Copyright : Author

Publish by : Nutricia



This work is licensed under a [creative commons attribution-noncommercial 4.0 international license](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)

antikonvulsan, namun penggunaannya yang tidak terkontrol dapat menimbulkan sedasi berlebih hingga koma. Flumazenil sebagai antidotum standar memiliki keterbatasan berupa risiko kejang, durasi kerja pendek, dan ketersediaan yang terbatas, sehingga diperlukan alternatif fungsional yang lebih praktis dan mudah diakses. Kafein, sebagai antagonis reseptor adenosin A1 dan A2A, memiliki mekanisme kerja yang berlawanan dengan diazepam sehingga berpotensi sebagai antidotum fungsional. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi aktivitas antidotum kafein terhadap efek sedatif diazepam pada mencit putih (*Mus musculus*) menggunakan metode *Recovery of Righting Reflex* (RORR). Penelitian eksperimental ini menggunakan rancangan acak lengkap dengan lima kelompok perlakuan: kontrol negatif (CMC-Na 0,5%), kontrol normal (Diazepam 20 mg/kgBB), serta tiga kelompok kombinasi Diazepam dengan Kafein dosis 12,5; 25; dan 37,5 mg/kgBB, masing-masing dengan tiga kali replikasi. Data waktu RORR dianalisis menggunakan uji Kruskal-Wallis dan dilanjutkan uji Mann-Whitney. Hasil penelitian menunjukkan waktu RORR terpanjang pada kelompok kontrol normal ($24,7 \pm 0,6$ menit), sedangkan pemberian Kafein dosis 12,5; 25; dan 37,5 mg/kgBB mempercepat pemulihan berturut-turut menjadi $17,7 \pm 0,6$; $10,7 \pm 0,6$; dan $5,0 \pm 0,0$ menit secara dosis-dependen. Uji Kruskal-Wallis menunjukkan perbedaan bermakna antar kelompok ($H = 13,770$; $p = 0,008$), dan uji Mann-Whitney mengonfirmasi signifikansi pada seluruh pasangan kelompok ($p < 0,05$). Dapat disimpulkan bahwa kafein secara oral mampu menurunkan efek sedatif diazepam secara bermakna dan dosis-dependen, mendukung potensinya sebagai alternatif fungsional yang lebih ekonomis dan mudah diakses dibandingkan flumazenil.

Kata Kunci: Kafein, Diazepam, Antidotum, *Righting Reflex*, Sedasi.

PENDAHULUAN

Diazepam merupakan obat golongan benzodiazepin yang pertama kali disintesis pada tahun 1955 dan telah digunakan secara luas dalam praktik klinis selama lebih dari setengah abad (Goldschen-Ohm, 2023). Diazepam masih termasuk dalam Daftar Obat Esensial WHO dan diresepkan secara luas sebagai ansiolitik, sedatif, antikonvulsan, dan relaksan otot (Engin, 2023; WHO, 2023). Obat ini bekerja sebagai agonis alosterik positif pada reseptor GABA-A, meningkatkan frekuensi pembukaan kanal klorida sehingga menyebabkan hiperpolarisasi

membran neuron dan menimbulkan efek sedasi, ansiolitik, relaksasi otot, serta antikonvulsan (Zhu et al., 2022; Olsen & Sieghart, 2022; Engin, 2023).

Penggunaan diazepam yang tidak terkontrol dapat menimbulkan kondisi berbahaya berupa sedasi berlebihan, penurunan kesadaran, gangguan koordinasi, hingga hilangnya refleks tubuh, bahkan stupor sampai koma pada kasus berat (Kang et al., 2023; Brunetti et al., 2021). Data global menunjukkan peningkatan angka kematian akibat overdosis benzodiazepin; pada tahun 2023 tercatat 10.870 kematian akibat overdosis obat yang melibatkan benzodiazepin di Amerika Serikat (NIDA, 2024). Penanganan overdosis diazepam umumnya menggunakan Flumazenil sebagai antagonis kompetitif reseptor GABA-A, namun antidotum ini memiliki keterbatasan klinis berupa risiko kejang, durasi kerja yang pendek (1-2 jam), serta ketersediaan yang terbatas di fasilitas kesehatan, terutama di daerah terpencil (Kang et al., 2023; Zamani et al., 2022). Kondisi ini mendorong perlunya eksplorasi antidotum alternatif yang lebih praktis, aman, dan mudah diakses.

Kafein (1,3,7-trimetilxantin) adalah alkaloid metilxantin yang dikenal luas sebagai stimulan susunan saraf pusat (SSP) dan merupakan zat psikoaktif yang paling banyak dikonsumsi di dunia (Jacobson et al., 2022; Song et al., 2023). Kafein bekerja sebagai antagonis kompetitif nonselektif pada reseptor adenosin sub tipe A1 dan A2A, sehingga meningkatkan pelepasan dopamin, glutamat, dan asetilkolin serta eksitabilitas neuron (Ferré, 2022; Malviya et al., 2023); selain itu kafein juga menghambat enzim fosfodiesterase yang meningkatkan akumulasi cAMP intraseluler dan aktivitas neuronal (Ribeiro & Sebastião, 2021; Song et al., 2023). Mekanisme kerja kafein yang berlawanan dengan diazepam menjadikannya kandidat potensial sebagai antidotum fungsional (Fox et al., 2020; Malviya et al., 2023). Berbeda dengan Flumazenil, kafein tidak berikatan langsung dengan reseptor GABA-A, melainkan bekerja secara fungsional melawan efek depresi SSP yang diinduksi diazepam melalui jalur antagonisme adenosin (Engin, 2023; Goldschen-Ohm, 2023). Penelitian Fox et al. (2020) pada mencit menunjukkan bahwa kafein mampu membalikkan ketidaksadaran akibat anestesi isofluran ringan, dengan mencit yang diberi kafein pulih pada konsentrasi isofluran yang lebih tinggi dibandingkan kontrol.

Selain memengaruhi kesadaran, Diazepam juga menimbulkan efek relaksasi otot rangka melalui peningkatan inhibisi GABAergik pada interneuron spinal, yang secara klinis bermanfaat sebagai relaksan otot namun dapat menjadi masalah ketika terjadi kelemahan otot berlebih akibat overdosis. Secara global, kafein juga dikenal luas memengaruhi fungsi otot rangka; *International Society of Sports Nutrition* (Guest et al., 2021) melaporkan bahwa suplementasi kafein memberikan manfaat terhadap daya tahan otot, kecepatan gerak, dan kekuatan otot pada dosis 3-6 mg/kgBB. Meskipun data epidemiologis spesifik mengenai interaksi kafein terhadap efek relaksasi otot akibat benzodiazepin masih terbatas, tingginya prevalensi konsumsi kafein bersamaan dengan terapi benzodiazepin di populasi umum dilaporkan mencapai 88% pengguna benzodiazepin turut mengonsumsi kafein dalam 24 jam (Cooper et al., 2004) mengindikasikan bahwa interaksi farmakodinamik antara kedua zat ini berpotensi terjadi luas di masyarakat, sehingga pemahaman mekanistik mengenai pengaruh kafein terhadap efek relaksan otot Diazepam menjadi penting untuk digali lebih lanjut. Penelitian oleh Simeon et al. (2020) menggunakan metode *hind-limb parting test* menunjukkan penurunan waktu yang bermakna secara dosis-dependen pada kelompok yang menerima kafein untuk mengembalikan posisi kaki belakang tikus yang direntangkan ke posisi normal setelah pemberian Diazepam,

dengan antagonisme yang diduga melibatkan penghambatan reseptor adenosin A2A pada level neuromuskular. Temuan ini memperkuat dasar ilmiah bahwa efek antagonistik kafein terhadap Diazepam tidak hanya terbatas pada pemulihan kesadaran, tetapi juga mencakup pemulihan kekuatan otot yang melemah akibat efek sedatif-relaksan Diazepam.

Metode *Recovery of Righting Reflex* (RORR) merupakan parameter standar untuk menilai pemulihan kesadaran pada hewan coba dan satu-satunya metode yang berkorelasi langsung dengan hilangnya kesadaran pada manusia (Teng *et al.*, 2024). *Righting reflex* adalah kemampuan bawaan hewan mempertahankan orientasi tubuh terhadap gravitasi, yang hilang saat hewan mengalami sedasi dalam akibat depresi SSP dan pulih seiring pemulihan kesadaran (Teng *et al.*, 2024; Fox *et al.*, 2020).

Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi bahwa kafein dapat menurunkan efek sedasi dari diazepam pada mencit putih (*Mus musculus*) menggunakan parameter waktu pemulihan *righting reflex* (RORR), guna memberikan data ilmiah mengenai potensi kafein sebagai alternatif fungsional yang lebih mudah diakses dan ekonomis.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan acak lengkap (RAL/*Completely Randomized Design*), dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi Program Studi S1 Farmasi, Universitas Bhakti Hasta Mulia Madiun. Hewan uji yang digunakan adalah mencit putih (*Mus musculus*) jantan dengan berat badan 27-30 gram dan usia 6-8 minggu, sejumlah 6 ekor (5 ekor untuk 5 kelompok perlakuan dan 1 ekor cadangan), dengan tiga kali replikasi pada setiap kelompok. Sebelum perlakuan, mencit diaklimatisasi selama 7 hari, kemudian dipuasakan selama 4-6 jam (akses air minum tetap tersedia) untuk menyeragamkan kondisi absorpsi saluran cerna (Kennard, *et al.* 2022).

Bahan yang digunakan meliputi tablet Diazepam (Valisanbe 5 mg), serbuk obat Kafein, CMC-Na 0,5%, dan pakan standar mencit. Seluruh pemberian bahan uji dilakukan secara oral menggunakan sonde lambung. Kelompok perlakuan terdiri atas kontrol negatif (CMC-Na 0,5%), kontrol nor (Diazepam 20 mg), serta tiga kelompok Kafein dosis bertingkat (Diazepam 20 mg/kgBB + Kafein 12,5; 25; atau 37,5 mg/kgBB).

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah dosis Kafein (12,5; 25; dan 37,5 mg/kgBB), variabel terikat meliputi waktu onset tidur, durasi sedasi, dan waktu RORR, sedangkan variabel terkontrol meliputi jenis kelamin, berat badan, usia, kondisi pemeliharaan hewan uji, serta dosis dan rute pemberian diazepam. Data waktu RORR dianalisis secara deskriptif dan inferensial menggunakan uji Kruskal-Wallis. Apabila diperoleh hasil signifikan ($p < 0,05$), analisis dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney untuk mengetahui pasangan kelompok yang berbeda bermakna.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil PENELITIAN

Penelitian dilakukan terhadap 5 kelompok mencit putih dengan 3 kali replikasi pada masing-masing kelompok. Seluruh mencit bertahan hidup hingga akhir pengamatan tanpa menunjukkan efek toksik akut yang serius selain efek sedasi yang memang menjadi parameter penelitian. Hasil pengukuran waktu *Recovery Righting Reflex* (RORR) pada setiap kelompok disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Pengukuran Waktu RORR (menit)

Kelompok	T1 (menit)	T2 (menit)	T3 (menit)	Rata-rata $\pm$ SD
K-	0	0	0	0.0 $\pm$ 0.0
KN	25	24	25	24,7 $\pm$ 0,6
P1	18	17	18	17,7 $\pm$ 0,6
P2	11	10	11	10,7 $\pm$ 0,6
P3	5	5	5	5,0 $\pm$ 0,0

Keterangan :

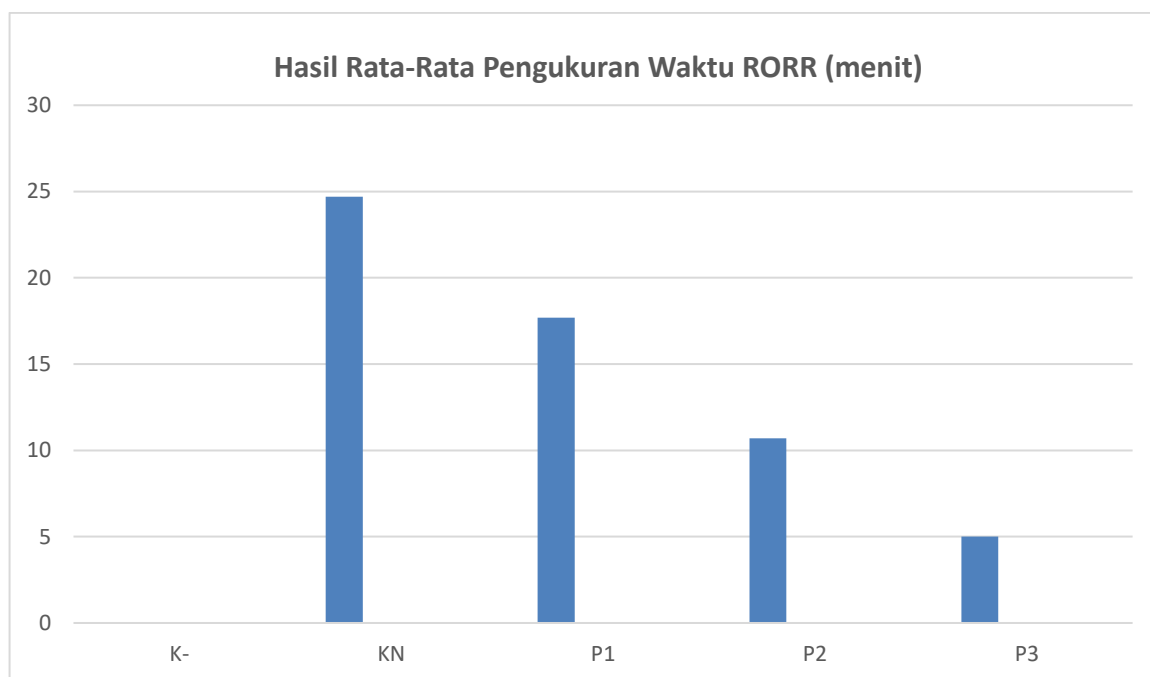
K- = Kontrol negative (CMC-Na 0,5%)

KN = Kontrol Normal (Diazepam)

P1 = Diazepam+kafein 12,5 mg/kkBB

P2 = Diazepam+kafein 25 mg/kkBB

P3 = Diazepam+kafein 37,5 mg/kkBB



Gambar 1. Grafik Rata-Rata Waktu RORR Tiap Kelompok

Tabel 2. Hasil Uji Kruskal-Wallis

Test Statistics^{a,b}

Hasil

Pengukuran

waktu RORR

Chi-Square	13,770
df	4
Asymp. Sig.	,008

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: perlakuan dosis kafein

Tabel 3. Hasil Uji Mann-Whitney

No.	Perlakuan	Nilai P	α	Keterangan
1	KN (Diazepam) - K- (CMC - Na 0,5%)	0,034	0,05	Terdapat nilai signifikan
2	KN (Diazepam) - P1 (12,5 mg)	0,034	0,05	Terdapat nilai signifikan
3	KN (Diazepam) - P2 (25 mg)	0,034	0,05	Terdapat nilai signifikan
4	KN (Diazepam) - P3 (37,5 mg)	0,025	0,05	Terdapat nilai signifikan
5	K- (CMC - Na 0,5%) - KN (Diazepam)	0,034	0,05	Terdapat nilai signifikan
6	K- (CMC - Na 0,5%) - P1 (12,5 mg)	0,043	0,05	Terdapat nilai signifikan
7	K- (CMC - Na 0,5%) - P2 (25 mg)	0,043	0,05	Terdapat nilai signifikan
8	K- (CMC - Na 0,5%) - P3 (37,5 mg)	0,034	0,05	Terdapat nilai signifikan
9	P1 (12,5 mg) - K- (CMC - Na 0,5%)	0,034	0,05	Terdapat nilai signifikan
10	P1 (12,5 mg) - KN (Diazepam)	0,034	0,05	Terdapat nilai signifikan
11	P1 (12,5 mg) - P2 (25 mg)	0,043	0,05	Terdapat nilai signifikan
12	P1 (12,5 mg) - P3 (37,5 mg)	0,034	0,05	Terdapat nilai signifikan
13	P2 (25 mg) - K- (CMC - Na 0,5%)	0,043	0,05	Terdapat nilai signifikan
14	P2 (25 mg) - KN (Diazepam)	0,034	0,05	Terdapat nilai signifikan
15	P2 (25 mg) - P1 (12,5 mg)	0,043	0,05	Terdapat nilai signifikan
16	P2 (25 mg) - P3 (37,5 mg)	0,034	0,05	Terdapat nilai signifikan
17	P3 (37,5 mg) - K- (CMC - Na 0,5%)	0,034	0,05	Terdapat nilai signifikan
18	P3 (37,5 mg) - KN (Diazepam)	0,025	0,05	Terdapat nilai signifikan
19	P3 (37,5 mg) - P1 (12,5 mg)	0,034	0,05	Terdapat nilai signifikan
20	P3 (37,5 mg) - P2 (25 mg)	0,034	0,05	Terdapat nilai signifikan

Pembahasan

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian Kafein secara oral berhasil mempersingkat waktu *Recovery of Righting Reflex* (RORR) mencit yang telah diinduksi Diazepam secara bermakna dan bersifat dosis-dependen. Kelompok kontrol normal (Diazepam tanpa Kafein) menunjukkan waktu RORR terpanjang ($24,7 \pm 0,6$ menit), sedangkan penambahan Kafein pada dosis 12,5; 25; dan 37,5 mg/kgBB secara berurutan mempercepat pemulihan righting reflex menjadi $17,7 \pm 0,6$; $10,7 \pm 0,6$; dan $5,0 \pm 0,0$ menit. Pola penurunan waktu RORR yang konsisten seiring peningkatan dosis Kafein mengindikasikan adanya hubungan dosis-respons antara Kafein dan pemulihan kesadaran, sejalan dengan konsep antagonisme farmakodinamik yang bersifat kuantitatif terhadap efek sedatif Diazepam.

Hasil uji Kruskal-Wallis menunjukkan perbedaan waktu RORR di antara kelima kelompok bermakna secara statistik ($H = 13,770$; $df = 4$; $p = 0,008$), yang mengindikasikan bahwa terdapat setidaknya satu kelompok yang berbeda signifikan dari kelompok lainnya. Uji lanjut Mann-Whitney memperkuat temuan tersebut, di mana seluruh pasangan kelompok yang dibandingkan

menunjukkan nilai $p < 0,05$, termasuk perbandingan antar dosis Kafein (P1 terhadap P2, P2 terhadap P3, dan P1 terhadap P3). Hal ini mengonfirmasi bahwa efek penurunan waktu RORR tidak hanya terjadi antara kelompok yang diberi Kafein dengan kelompok kontrol, tetapi juga bersifat dosis-dependen di antara ketiga dosis Kafein yang diujikan, sehingga memperkuat validitas hubungan dosis-respons yang teramati pada Tabel 1.

Secara farmakologis, temuan ini sejalan dengan mekanisme kerja Kafein sebagai antagonis kompetitif nonselektif pada reseptor adenosin A1 dan A2A (Jacobson *et al.*, 2022), yang secara fungsional berlawanan dengan mekanisme kerja Diazepam sebagai agonis alosterik positif pada reseptor GABA-A (Zhu *et al.*, 2022; Olsen & Sieghart, 2022). Diazepam menimbulkan efek sedasi melalui peningkatan frekuensi pembukaan kanal klorida yang menyebabkan hiperpolarisasi membran neuron, sedangkan Kafein memblokir reseptor adenosin yang secara fisiologis berperan menghambat pelepasan neurotransmitter eksitatorik seperti dopamin, glutamat, dan asetilkolin. Blokir reseptor adenosin oleh Kafein juga meningkatkan akumulasi cAMP intraseluler akibat penghambatan enzim fosfodiesterase (Ribeiro & Sebastião, 2020; Song *et al.*, 2023), sehingga secara neto meningkatkan eksitabilitas neuron dan melawan efek depresi susunan saraf pusat yang diinduksi Diazepam. Dengan demikian, percepatan pemulihan righting reflex pada kelompok perlakuan Kafein diduga bukan disebabkan oleh interaksi langsung pada reseptor GABA-A, melainkan oleh antagonisme fungsional pada jalur neurokimia yang berlawanan, sebagaimana telah dikemukakan sebelumnya (Fox *et al.*, 2020; Malviya *et al.*, 2023).

Hasil penelitian ini memperkuat temuan Fox *et al.* (2020) yang melaporkan bahwa Kafein mampu membalikkan ketidaksadaran akibat anestesi isofluran ringan pada mencit, dengan kelompok yang diberi Kafein pulih pada konsentrasi isofluran yang lebih tinggi dibandingkan kontrol. Meskipun agen penginduksi sedasi berbeda (isofluran dibandingkan Diazepam), kesamaan pola percepatan pemulihan kesadaran oleh Kafein pada kedua penelitian menunjukkan bahwa efek antagonisme Kafein terhadap depresi SSP relatif konsisten terlepas dari mekanisme induksi sedasi yang mendasarinya. Selain itu, pola dosis-dependen pada penelitian ini juga sejalan dengan hasil Simeon *et al.* (2020) yang menggunakan metode *hind-limb parting test* dan melaporkan penurunan waktu pemulihan posisi kaki belakang tikus secara dosis-dependen setelah pemberian Kafein pascainduksi Diazepam. Kesesuaian pola dosis-respons pada dua parameter yang berbeda tersebut righting reflex yang mencerminkan pemulihan kesadaran dan *hind-limb parting* yang mencerminkan pemulihan tonus otot mengindikasikan bahwa efek antagonistik Kafein terhadap Diazepam bersifat multidimensi, mencakup baik pemulihan kesadaran maupun pemulihan kekuatan otot yang melemah akibat efek sedatif-relaksan Diazepam.

Dosis Kafein tertinggi yang diujikan (37,5 mg/kgBB) memberikan efek antagonisme paling besar, dengan penurunan waktu RORR sekitar 80% dibandingkan kelompok kontrol normal. Besarnya efek pada dosis tersebut relevan untuk dicermati mengingat tingginya prevalensi konsumsi Kafein bersamaan dengan terapi benzodiazepin di masyarakat, yang menurut Cooper, Safran, dan Eberhardt (2004) mencapai 88% pengguna benzodiazepin turut mengonsumsi Kafein dalam 24 jam. Interaksi farmakodinamik antara kedua zat ini yang teramati pada penelitian ini, meskipun berasal dari kondisi eksperimental terkontrol yang berbeda dari pola konsumsi Kafein harian pada manusia, mengindikasikan potensi penurunan efektivitas terapi Diazepam pada pasien yang turut mengonsumsi Kafein dalam jumlah tertentu, sehingga edukasi mengenai

interaksi ini penting disampaikan kepada pasien yang menjalani terapi benzodiazepin.

Dari perspektif klinis, temuan ini memberikan bukti ilmiah awal mengenai potensi Kafein sebagai antidotum fungsional yang lebih ekonomis, mudah diakses, dan praktis dibandingkan Flumazenil dalam mengatasi sedasi berlebih akibat Diazepam, khususnya pada fasilitas kesehatan dengan keterbatasan sumber daya (Kang *et al.*, 2023; Zamani *et al.*, 2022). Berbeda dengan Flumazenil yang berikatan langsung secara kompetitif pada reseptor GABA-A dan berisiko menimbulkan kejang akibat penghentian mendadak inhibisi GABAergik (Zamani *et al.*, 2022), Kafein bekerja melalui jalur antagonisme adenosin yang tidak berinteraksi langsung dengan reseptor GABA-A, sehingga secara teoretis berpotensi memiliki profil keamanan yang berbeda. Meskipun demikian, potensi ini masih memerlukan kajian farmakokinetik dan keamanan lebih lanjut sebelum dapat dipertimbangkan untuk diaplikasikan secara klinis.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, pemberian kafein secara oral terbukti mampu menurunkan efek sedatif diazepam pada mencit putih (*Mus musculus*) secara bermakna dan bersifat dosis-dependen, sebagaimana ditunjukkan oleh pemendekan waktu *Recovery of Righting Reflex* (RORR) pada kelompok yang diberi kafein dibandingkan kelompok kontrol normal. Waktu RORR menurun secara berurutan dari $24,7 \pm 0,6$ menit pada kelompok kontrol normal (diazepam tanpa kafein) menjadi $17,7 \pm 0,6$; $10,7 \pm 0,6$; dan $5,0 \pm 0,0$ menit pada kelompok yang diberi kafein dosis 12,5; 25; dan 37,5 mg/kgBB, dengan dosis 37,5 mg/kgBB memberikan efek antagonisme paling besar (penurunan sekitar 80% terhadap kontrol normal). Hasil uji Kruskal-Wallis ($H = 13,770$; $df = 4$; $p = 0,008$) dan uji lanjut Mann-Whitney ($p < 0,05$ pada seluruh pasangan kelompok) mengonfirmasi bahwa perbedaan tersebut signifikan secara statistik dan konsisten, termasuk di antara ketiga dosis kafein yang diujikan.

Temuan ini mendukung hipotesis bahwa kafein bekerja sebagai antagonis fungsional terhadap efek sedatif diazepam melalui jalur antagonisme reseptor adenosin A1 dan A2A yang berlawanan dengan mekanisme kerja diazepam pada reseptor GABA-A, serta memberikan bukti ilmiah awal mengenai potensi kafein sebagai alternatif fungsional yang lebih ekonomis, mudah diakses, dan praktis dibandingkan flumazenil dalam mengatasi sedasi berlebih akibat diazepam.

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penelitian serta penyusunan naskah jurnal ini dapat diselesaikan dengan baik. Penulis menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Ibu Apt. Arikha Ayu Susilowati, S. Farm., M.Farm., selaku dosen pembimbing yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran untuk memberikan bimbingan, arahan, serta masukan yang sangat berharga sejak tahap perencanaan hingga penyelesaian penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Brunetti, P., Pirani, F., Carlier, J., Giorgetti, R., Busardò, F. P., & Lo Faro, A. F. (2021). Pharmacology and toxicology of novel benzodiazepines. *Current Pharmaceutical Design*, 27(31), 3382-3390.
- Cooper, M., Safran, M., & Eberhardt, M. (2004). Caffeine consumption among adults on benzodiazepine therapy: United States 1988-1994. *Psychological Reports*, 95(1), 183-191.

<https://doi.org/10.2466/pr0.95.1.183-191>

- Engin, E. (2023). GABAA receptor subtypes and benzodiazepine use, misuse, and abuse. *Frontiers in Psychiatry*, 13, 1060949. doi:10.3389/fpsy.2022.1060949
- Fox, A. P., Wagner, K. R., Towle, V. L., Xie, K. G., & Xie, Z. (2020). Caffeine reverses the unconsciousness produced by light anesthesia in the continued presence of isoflurane in rats. *PLoS ONE*, 15(11), e0241818. doi:10.1371/journal.pone.0241818
- Goldschen-Ohm, M. P. (2023). Benzodiazepine modulation of GABAA receptors: A mechanistic perspective. *Biomolecules*, 13(1), 178. doi:10.3390/biom13010178
- Guest, N. S., VanDusseldorp, T. A., Nelson, M. T., Grgic, J., Schoenfeld, B. J., Jenkins, N. D. M., Arent, S. M., Antonio, J., Stout, J. R., Trexler, E. T., Smith-Ryan, A. E., Goldstein, E. R., Kalman, D. S., & Campbell, B. I. (2021). International society of sports nutrition position stand: Caffeine and exercise performance. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 18(1), 1. <https://doi.org/10.1186/s12970-020-00383-4>
- Jacobson, K. A., Matricon, P., & Carlsson, J. (2022). Caffeine as an adenosine receptor antagonist: A structural perspective. *British Journal of Pharmacology*, 179(14), 3491-3510. doi:10.1111/bph.15103
- Kang, M., Galuska, M. A., & Ghassemzadeh, S. (2023). *Benzodiazepine toxicity*. In StatPearls. StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482238/>
- Kennard, M. R., Nandi, M., Chapple, S., & King, A. J. (2022). The glucose tolerance test in mice: Sex, drugs and protocol. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 24(11), 2241-2252. <https://doi.org/10.1111/dom.14811>
- Malviya, A. K., Saranlal, A. M., Mulchandani, M., & Gupta, A. (2023). Caffeine - Essentials for anaesthesiologists: A narrative review. *Journal of Anaesthesiology Clinical Pharmacology*, 39(4), 528-538. doi:10.4103/joacp.joacp_285_22
- National Institute on Drug Abuse. (2024). Benzodiazepines and opioids. NIDA.
- Nehlig, A. (2022). Interindividual differences in caffeine metabolism and factors driving caffeine consumption. *Pharmacological Reviews*, 70(2), 384-411.
- Olsen, R. W., & Sieghart, W. (2022). GABA-A receptor subtypes: Classification and pharmacology revisited. *British Journal of Pharmacology*, 179(8), 1780-1801.
- Ribeiro, J. A., & Sebastião, A. M. (2020). Caffeine and adenosine. *Journal of Alzheimer's Disease*, 20(s1), S3-S15.
- Simeon, J. O., Builders, M., & Tosin, J. O. (2020). Effect of caffeine on diazepam-induced sedation and hypnosis in Wister rat. *Global Scientific Journal*, 8(9), 451-466.
- Song, X., Kirtipal, N., Lee, S., Maly, P., & Bharadwaj, S. (2023). Current therapeutic targets and multifaceted physiological impacts of caffeine. *Phytotherapy Research*, 37(12), 5558-5598. doi:10.1002/ptr.8000
- Teng, M. Z., Merenick, D., Jessel, A., Ganshorn, H., & Pang, D. S. J. (2024). Consistency in reporting of loss of righting reflex for assessment of general anesthesia in rats and mice: A systematic review. *Comparative Medicine*, 74(1), 1-12. doi:10.30802/AALAS-CM-23-000063
- World Health Organization. (2023). WHO model list of essential medicines. WHO.
- Zamani, N., Hassanian-Moghaddam, H., & Zahed, M. (2022). Flumazenil in benzodiazepine overdose: A clinical review. *Clinical Toxicology*, 60(4), 425-434.

Zhu, S., Sridhar, A., Teng, J., Howard, R. J., Lindahl, E., & Hibbs, R. E. (2022). Structural and dynamic mechanisms of GABAA receptor modulators with opposing activities. *Nature Communications*, 13(1), 4582. doi:10.1038/s41467-022-32212-4