

<https://journal.unram.ac.id/index.php/jfn>
VOLUME 2, NOMOR 2, Desember 2022
<https://doi.org/10.29303/jfn.v2i2.2069>

Pemanfaatan Ampas Kopi Sebagai Sumber Antioksidan untuk Ikan Budidaya: Review

Utilization of Coffee Ground as Antioxidants for Cultured Fish: Review

Wastu Ayu Diamahesa^{1*} dan Nuri Muahiddah¹

¹Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Mataram,
Jalan Pendidikan No 37

*Korespondensi email: wastuayu@unram.ac.id

ABSTRAK

Semakin meningkatnya industri akuakultur diiringi dengan peningkatan produksi budidaya ikan yang intensif. Peningkatan produksi tersebut berdampak terhadap status Kesehatan ikan terutama stress oksidatif pada ikan. Upaya untuk meningkatkan umur simpan dari bahan baku pakan telah dilakukan dengan pemberian antioksidan berupa BHT dan EQ untuk membatasi oksidasi lipid. Namun demikian, aplikasinya sudah dibatasi karena diduga berbahaya bagi keamanan dan Kesehatan ikan. Dalam dua dekade telah dilakukan upaya untuk mencari bahan sumber antioksidan alternatif yang berasal dari hasil samping produk agroindustri. Ampas kopi merupakan salah sumber antioksidan yang telah digunakan dalam penelitian pada beberapa ikan budidaya seperti ikan nila *Oreochromis niloticus*, Olive flounder, dan Ikan White snook *Centropomus viridis* serta terbukti dapat meningkatkan Kesehatan ikan. Tujuan dari Penelitian ini adalah untuk mereview pemanfaatan ampas kopi sebagai sumber antioksidan alternatif untuk meningkatkan status Kesehatan ikan.

Kata Kunci: Budidaya ikan, ampas kopi, antioksidan, polifenol, Kesehatan ikan.

ABSTRACT

The expansion of the aquaculture industry is accompanied by a rise in intensive fish farming. The rise in production affects the health status of fish, namely oxidative stress. Antioxidants in the form of BHT and EQ have been added to feed raw materials to prevent lipid oxidation and enhance their shelf life. Its use has been restricted, however, because it is believed to be harmful to the safety and health of fish. Over the past two decades, attempts have been made to identify alternate sources of antioxidants generated from agro-industrial by-products. Coffee grounds include antioxidants that have been demonstrated to promote the health of numerous farmed fish, including tilapia, Olive flounder, and White snook. The purpose of this study was to review the usage of coffee grounds as an alternate source of antioxidants to improve the health condition of fish.

Keywords: Fish farming, coffee grounds, antioxidants, polyphenols, fish health.

PENDAHULUAN

Akuakultur adalah sumber utama produksi pangan di seluruh dunia dan merupakan salah satu industri tercepat (FAO 2020). Menurut FAO (2016), akuakultur menyumbang sekitar setengah dari produksi ikan yang ditujukan untuk konsumsi manusia. Permintaan tertinggi terletak pada ikan laut dan air tawar, serta krustasea. Semakin banyak permintaan ikan budidaya, semakin tinggi intensif sistem budidaya ikan yang dilakukan. Tentu saja hal ini akan membuat dampak buruk bagi ikan dan menimbulkan stress oksidatif bagi ikan.

Dalam beberapa dekade ini, upaya untuk mempertahankan umur simpan bahan baku pembuatan pakan sudah digunakan seperti butil hidroksitoluena (BHT) dan etoksikuin (EQ), yang biasanya dimasukkan ke dalam tepung ikan untuk membatasi oksidasi lipid (Lundebye et al., 2010). Namun demikian, aplikasi secara langsung antioksidan sintetik ini dibatasi karena pertimbangan keamanannya. Oleh karena itu, telah dilakukan beberapa upaya dari industri pengolahan makanan untuk menghasilkan produk samping yang kaya akan fenolik (sumber antioksidan dan antibakteri yang penting). Beberapa sumber tanaman penghasil antioksidan yang berhasil diekstraksi yaitu seperti biji anggur dan biji manga (Jayaprakasha et al., 2001; Puravankara et al., 2000; dan Chala, 2015).

Ampas kopi yang terbuat dari hasil samping dari proses penyeduhan kopi merupakan sumber polifenol dan antioksidan (Belščak-Cvitanović et al., 2017). Polifenol yang paling melimpah dalam kopi yaitu asam klorogenat yang merupakan ester asam kuanat yang terikat pada asam asam hidroksisinamat, seperti asam caffeic, ferulic dan p-coumaric, untuk membentuk berbagai senyawa terkonjugasi yang dikenal sebagai asam caffeoylquinic, feruloylquinic dan p-coumaroylquinic (Arai et al., 2015). Penggunaan ampas kopi sebagai sumber senyawa polifenol telah dilakukan dalam beberapa studi sebelumnya. Namun hanya ditemukan beberapa studi mengenai pengaruh ampas kopi sebagai sumber polifenol atau antioksidan terhadap Kesehatan ikan (Leyva-Lopez et al., 2021; Rahimnejad et al., 2015; Van Doan et al., 2022). Oleh karena itu, penulis melakukan studi literatur ini untuk mengkaji dan merangkum perkembangan mengenai penggunaan ampas kopi sebagai salah satu sumber antioksidan terhadap status Kesehatan ikan budidaya.

PEMBAHASAN

1. Ampas Kopi

Untuk mendapatkan ampas kopi, perlu dilakukan ekstraksi dengan menggunakan bubuk kopi dan air panas, dan hasilnya memiliki partikel yang masih kasar, kadar air tinggi, dan berwarna coklat tua (Murthy dan Naidu, 2012; Alives et al. (2017)). Produksi kopi instan dan produksi kopi secara mandiri menghasilkan sekitar 6 juta ton ampas kopi per tahun. Rata-rata, sebanyak 1 ton kopi menghasilkan sekitar 650 kg ampas kopi, dan sekitar 2 kg ampas kopi basah diperoleh untuk setiap kg kopi larut yang diproduksi (Murthy et al., 2012). Selain itu, Ballesteros et al. (2014) menyatakan bahwa secara fisik, ampas kopi merupakan bahan granular yang memiliki porositas rendah dan dihasilkan dari ekstraksi sebagian penyusunnya dengan air panas atau uap untuk pembuatan kopi instan. Menurut Alives et al. (2017), ampas kopi memiliki tekstur kasar, kelembapan tinggi, serta berwarna coklat. Dari 1 kg kopi instan, dihasilkan 2 kg ampas kopi. Banyaknya komponen nutrisi dalam ampas kopi seperti serat, asam amino, polifenol, karbohidrat, dan asam lemak telah

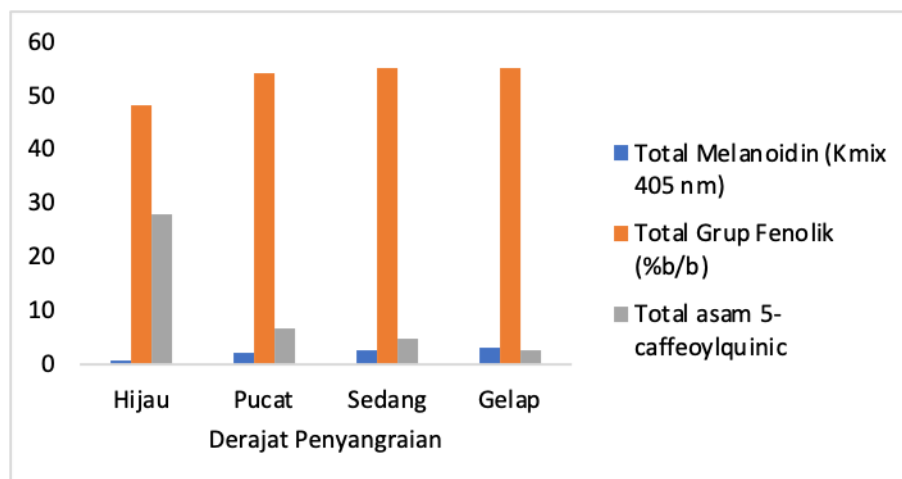
menarik perhatian komunitas ilmiah dan medis (Campos-Vega et al., 2014; Adam and Doughan, 1987; Poufarzard et al., 2013).

2. Kandungan Senyawa Bioaktif dan Antioksidan dalam Ampas Kopi

Ampas kopi kaya akan polisakarida, polimer yang dapat digunakan sebagai serat makanan, selain itu juga memiliki aktivitas imunostimulasi (Oliveira and Franca et al., 2016). Oleh sebab itu, terdapat beberapa peneliti yang telah melakukan studi mengenai ekstraksi gula polimer dari ampas kopi. Zhang et al. (2021) dengan bantuan *ultrasound*, telah melakukan ekstraksi polifenol dan polisakarida dari ampas kopi menggunakan air. Desain komposit sentral digunakan oleh penelitiannya untuk memaksimalkan hasil polisakarida dan polifenol. Wongsiridetchai et al. (2021) telah melakukan karakterisasi manooligosakarida yang didapatkan dari ampas kopi, kemudian dievaluasi sifat prebiotiknya. Pada penelitian tersebut, ampas kopi diberi perlakuan alkali atau basa dengan menggunakan NaOH kemudian diberi enzim mannase (yang berasal dari *Bacillus subtilis* GA2). Dari hasil penelitian tersebut, ampas kopi yang diberi perlakuan basa terdiri dari manosa, mannobiosa, mannotriosa, dan mannopentosa. Hasil penelitian tersebut mengkonfirmasi potensi ampas kopi sebagai agen prebiotik karena campuran manno-oligosakarida mempromosikan pertumbuhan bakteri asam laktat, toleransi dalam kondisi gastrointestinal, dan penghambatan pertumbuhan patogen). Selain itu, mannan termasuk galactomannan dan arabinogalactomannan merupakan bagian besar kandungan yang terdapat dalam ampas kopi. Seperti yang telah disebutkan di atas bahwa ampas kopi sebagai agen prebiotik. Hal ini dikuatkan oleh pernyataan Vázquez-Sánchez et al. (2018) bahwa fermentasi kolon dapat terjadi untuk menghasilkan perunahan kecil dalam produksi asam lemak rantai pendek yang secara langsung mendukung efek anti-inflamasi pada usus besar.

Antioksidan merujuk kepada senyawa ataupun molekul yang dapat memperlambat oksidasi molekul lain dan menangkal radikal bebas. Banyak penelitian mempromosikan sifat antioksidan kopi (Campos-Vega et al., 2014), yang telah dikaitkan dengan adanya zat alami dan yang dihasilkan selama pemanggangan (Jiménez-Zamora et al., 2015).

Campos-Vega et al. (2014) menyatakan bahwa kapasitas antioksidan ampas kopi dikaitkan dengan kandungan fenoliknya, serta anto sianin, sedangkan Esquivel dan Jiménez, (2012) menyatakan bahwa kapasitas antioksidan ampas kopi dikaitkan dengan kandungan katekin, dan senyawa aktif lainnya seperti asam nikotinat, trigonelline, asam kuinolinat, asam tanat, asam pirogalat, kafein. Terlebih lagi Jiménez-Zamora et al. (2015) menambahkan bahwa selama proses penyangraian kopi, terbentuk senyawa melanoidin dengan berat molekul tinggi. Gambar 1 menunjukkan perubahan kandungan senyawa Melanoidin, fenolik, dan total asam 5-caffeoylquinic pada bahan seduhan kopi yang dibuat pada derajat penyangraian yang berbeda.



Gambar 1. Kandungan senyawa fenolik, melanoidin, dan total asam 5-caffeoylquinic pada bahan seduhan kopi yang dibuat pada derajat penyangraian yang berbeda.

Sumber: Presentasi data dimodifikasi dari Bekedam et al. (2008)

Dari Gambar 1, dapat dilihat bahwa semakin tinggi derajat penyangraian dari hijau menjadi gelap, maka semakin tinggi pula kadar melanoidin, begitu pula dengan kadar total grup fenolik. Namun hal ini berbeda dengan kadar total asam 5-caffeoylquinic yang memiliki hasil berbanding terbalik. Biasanya kapasitas penyangraian kopi dapat dievaluasi dengan menggunakan 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS) dan uji 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Ormaza et al., 2018).

Menurut Iriondo-DeHond et al. (2019), sifat fitokimia hasil ekstraksi, aktivitas antioksidan dan stabilitasnya bergantung pada beberapa faktor, seperti pH, suhu, adanya inhibitor atau peningkat penyerapan, adanya enzim, inang, matriks makanan, dan faktor lainnya. Secara fisiologis, aktivitas antioksidan dari ampas kopi ini dapat memberikan efek lokal pada usus besar orang dewasa, dan melalui sel epitel penyerapannya dapat lebih besar dan memberikan manfaat unik untuk kesehatan sistemik di berbagai jaringan dan organ tubuh (Campos-Vega et al. 20145).

3. Penggunaan ampas kopi terhadap Kesehatan ikan budidaya

Dampak dari stres oksidatif pada organisme akuatik dapat menekan sistem kekebalan tubuh (imun) dan menyebarkan penyakit menular (Leyva-Lopez et al., 2021). Salah satu upaya untuk menjaga sistem imun pada ikan adalah dengan memberikan pakan yang berkualitas. Beberapa peneliti telah membuktikan bahwa ampas kopi mengandung senyawa antioksidan (Campos-Vega et al., 201; Jiménez-Zamora et al., 2015) yang dapat meningkatkan sistem kekebalan imun pada ikan. Beberapa penelitian yang telah dilakukan dengan membuktikan efektifitas penambahan ampas kopi dalam pakan ikan terhadap Kesehatan ikan, ditampilkan dalam Tabel 1 di bawah ini.

Tabel 1. Penggunaan ampas kopi (*Spent Coffee Ground*) terhadap Kesehatan ikan budidaya

Ikan (Spesies)	Metode	Hasil	Referensi
<i>White Snook</i> (<i>Centropomus viridis</i>)	Ekstraksi senyawa polifenol dari ampas kopi untuk mengkarakterisasi sel otak ikan <i>White Snook</i>	Polifenol dalam ampas kopi memberikan efek perlindungan antioksidan terhadap stress oksidatif pada sel otak ikan <i>White Snook</i>	Leyva-Lopez et al., 2021
Olive flounder (<i>Paralichthys olivaceus</i>)	Pakan dengan dosis 50 sampai dengan 150 g/kg selama 10 minggu	Dosis 100 g/kg dapat digunakan dalam budidaya ikan <i>Olive flounder</i> tanpa memberikan dampak buruk pada aktivitas enzim antioksidan	Rahimnejad et al., 2015
Ikan Nila (<i>Oreochromis niloticus</i>)	Pemberian pakan dengan dosis 10 sampai dengan 80 g/kg selama 8 minggu dengan sistem biflok	Dosis 10 g/kg dapat digunakan sebagai imunostimulan dalam budidaya ikan nila	Van Doan et al., 2022

Berdasarkan Leyva-Lopez et al. (2021), polifenol yang ditemukan dalam ekstrak ampas kopi dapat memberikan efek perlindungan antioksidan terhadap stres oksidatif pada sel otak *C. viridis* dengan merangsang aktivitas SOD (*Superoxide Dismutase*) dan CAT (*Catalase Activity Assay*). Mereka menginvestiagi efek perlindungan ekstrak polifenol ampas kopi bekas terhadap stres oksidatif yang diinduksi oleh H₂O₂ pada sel otak *C. viridis* melalui secara in vitro. Selanjutnya, ekstraksi ampas kopi yang dilakukan secara hidrofilik kaya akan asam quinic, ferulic dan caffeic dan menunjukkan kapasitas antioksidan dalam pengujian DPPH, ORAC dan FRAP. Berikutnya, perlakuan awal sel otak *C. viridis* dengan ekstrak polifenol dari ampas kopi (230 dan 460 µg/mL) selama 24 jam sebelum paparan 100 µM H₂O₂ (1 jam) secara signifikan meningkatkan aktivitas enzim antioksidan (superoksida dismutase dan katalase) dan mengurangi lipid peroksidasi (diukur dengan kadar MDA). Hasil ini menunjukkan bahwa polifenol yang ditemukan dalam ekstrak ampas kopi memberikan efek perlindungan antioksidan terhadap stres oksidatif pada sel otak *C. viridis* dengan merangsang aktivitas SOD dan CAT.

Menurut Ighodaro et al. (2018), enzim SOD dan CAT berperan penting dalam mencegah kerusakan sel oksidatif. SOD mendimetasi ion superoksida (O₂⁻) menjadi H₂O dan oksigen, sedangkan CAT mengurai H₂O₂ menjadi H₂O dan oksigen untuk melindungi sel dari stres oksidatif. Oleh sebab itu Leyva-Lopez et al. (2021) mengukur aktivitas SOD dan CAT sebagai indikasi sistem pertahanan antioksidan enzimatik pada sel otak selama stres oksidatif. Hasil yang didapatkan adalah terjadi peningkatan yang signifikan dari aktivitas SOD dan CAT yang diamati pada sel otak *C. viridis* yang terpapar H₂O₂ yang sebelumnya telah diberi perlakuan pemberian ampas kopi dengan dosis 230 µg/mL dan 460 µg/mL. Hal ini sejalan dengan yang dilakukan oleh Taqvi et al. (2021) yang mendemonstrasikan bahwa asam fenolik dan asam vanilat, memberikan efek antioksidan terhadap stres oksidatif yang diinduksi H₂O₂ dalam sel D. Mel-2. Sel yang terpapar H₂O₂ secara signifikan meningkatkan peroksidasi lipid dan mengurangi aktivitas SOD, CAT, dan GPx. Selanjutnya, mereka menemukan bahwa asam vanilat (0,25%) yang diberikan kepada Sel D. Mel-2 yang

diobati dapat mengurangi peroksidasi lipid dan meningkatkan aktivitas enzim antioksidan.

Sebagai penginduksi stres oksidatif pada model seluler, Prosedur H₂O₂ sangat umum dilakukan secara *in vitro* (Ransy et al., 2020). Menurut Bienert et al. (2007), hidrogen peroksida adalah oksidan kuat yang berdifusi dengan mudah baik melintasi sel membran atau dengan translokasi oleh aquaporin (peroksiaporin). H₂O₂ berfungsi sebagai molekul pensinyalan dengan mengatur beberapa faktor transkripsi dan meningkatkan laju translasinya ke nukleus; seperti kasus antara lain AP-1, HIF-1 α , Nrf2 dan NF κ B (Marinho et al., 2014). Menurut Ighodaro et al. (2018), Nrf2 merupakan faktor yang terkait faktor-eritroid 2 dapat dikaitkan dengan upregulasi ekspresi gen enzim antioksidan, seperti SOD, CAT dan GPx. Akan tetapi, Rojo et al. (2008) telah menemukan bahwa gen enzim antioksidan dapat dipengaruhi ketika sel saraf mengalami kerusakan oksidatif, seperti paparan konsentrasi H₂O₂ yang tinggi, penghambatan translokasi Nrf2.

Rahimnejad et al., 2015 menggunakan ampas kopi dalam pakan dengan beberapa dosis yaitu sebanyak 0,50, 100, dan 150 g/kg. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa, ikan *Olive flounder* yang diberikan ampas kopi pada dosis 100 g/kg tidak memberikikan dampak buruk pada aktivitas enzim antioksidan. Menurut Halliwell, (2006), enzim antioksidan SOD, CAT dan GPx merupakan baris pertama pertahanan antioksidan enzimatik. SOD mengkatalisis dismutasi radikal superoksida menjadi hidrogen peroksida dan oksigen, dan CAT mengkatalisis pemecahan hidrogen peroksida menjadi air dan molekul oksigen. GPX merupakan enzim yang bergantung pada selenium dan menguraikan peroksida menggunakan peptida glutathione sebagai co-substrat.

Kopi mengandung kafein, asam klorogenat (CGA), kafestol, trigonelin, dan kahweol diyakini memiliki potensi signifikan sebagai antioksidan dan penangkal radikal bebas. Menurut del Castillo et al. (2005), proses penyangraian berpengaruh terhadap sifat antioksidan kopi karena dengan meningkatnya suhu dan durasi penyangraian membuat aktivitas antioksidan total menurun. Tingkat polifenol berkurang sebanyak 10%, sedangkan klorogenat (CGA) menurun dari 15% menjadi 5% dalam penyangraian hingga *dark* (sangria lama) dibandingkan dengan *light* (sangrai sebentar) (Cammerer dan Kroh, 2006). Di sisi lain Daglia et al. (2000) menyatakan bahwa dua produk dengan massa molekul rendah, CGA dan kafein, tetap berada dalam dark roast dan tetap memiliki efek protektif. Del Castillo et al. (2002) menyatakan bahwa telah terjadi degradasi CGA yang dipengaruhi oleh tingkat penyangraian dan hal ini tentu saja mempengaruhi penurunan aktivitas antioksidan kopi. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Nebesny dan Budryn, (2003), suhu dan lama pemanggangan serta metode yang digunakan dalam pemanggangan akan mempengaruhi aktivitas antioksidan. Sehingga, perlu dilakukan penelitian lebih jauh lagi untuk menguji aktivitas antioksidan ampas kopi pada spesies ikan lainnya.

Penelitian terbaru yang dilakukan oleh Van Doan et al. (2022) pada ikan nila yang diberi ampas kopi dengan dosis berbeda (10, 20, 40, 80 g/kg) menghasilkan bahwa dosis 10 g/kg merupakan dosis terbaik digunakan sebagai imunostimulan dalam pakan ikan. Elemen penting dalam sistem kekebalan ikan yang pertama adalah lender kulit (Magnado ttir 2006; Lazado, 2019; Guardiola et al., 2014; Koshio, 2016). Hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Van Doan et al. (2022) menunjukkan bahwa pakan yang mengandung ampas kopi dapat meningkatkan respon imun mukosa kulit. Temuan ini juga sejalan dengan hasil-hasil penelitian sebelumnya pada ikan mas *Cyprinus carpio* (Hoseinifar et al., 2020; 2021), Ikan Zebra *Danio rerio* (Hu et al., 2021) dan European Seabass *Dicentrarchus labrax* (Serradell et al. (2020).

KESIMPULAN

Ampas kopi mengandung antioksidan dan berpotensi sebagai imunostimulan untuk meningkatkan Kesehatan dan imun ikan, jika digunakan dengan dosis yang sesuai kebutuhan ikan. Perlu dilakukan penelitian lebih dalam mengenai manfaat ampas kopi pada berbagai spesies ikan lainnya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Nuri Muwahiddah atas kerjasamanya dalam penyusunan artikel ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Adams, M. R., and Dougan, J. (1987). Coffee technology. *Waste products, London, New York, 2*, 57-89.
- Alves, R.C. F. Rodrigues, M. Antónia Nunes, A.F. Vinha, M.B.P.P. Oliveira, State of the Art in Coffee Processing By-Products, Elsevier Inc, 2017.
- Arai, K.; Terashima, H.; Aizawa, S.; Taga, A.; Yamamoto, A.; Tsutsumiuchi, K.; Kodama, S. Simultaneous determination of trigonelline, caffeine, chlorogenic acid and their related compounds in instant coffee samples by HPLC using an acidic mobile phase containing octanesulfonate. *Anal. Sci.* 2015, 31, 831–835.
- Ballesteros, L.F.; Teixeira, J.A.; Mussatto, S.I. Chemical, functional, and structural properties of spent coffee grounds and coffee silverskin. *Food Bioprocess. Technol.* 2014, 7, 3493–3503.
- Belščak-Cvitanović, A.; Komes, D. Chapter 4—Extraction and formulation of bioactive compounds. In *Handbook of Coffee Processing By-Products*, 1st ed.; Galanakis, C.M., Ed.; Academic Press: Cambridge, MA, USA, 2017; pp. 93–140.
- Bienert, G.P.; Møller, A.L.B.; Kristiansen, K.A.; Schulz, A.; Møller, I.M.; Schjoerring, J.K.; Jahn, T.P. Specific aquaporins facilitate the diffusion of hydrogen peroxide across membranes *. *J. Biol. Chem.* 2007, 282, 1183–1192.
- Cämmerer B and Kroh LW. 2006. Antioxidant activity of coffee brews. *Eur Food Res Technol* 223, 469-474.
- Campos-Vega, R., Vázquez-Sánchez, K., López-Barrera, D. et al. (2015). Simulated gastrointestinal digestion and in vitro colonic fermentation of spent coffee (*Coffea arabica* L.): bioaccessibility and intestinal permeability. *Food Research International* 77 (2): 156–161.
- Chala G (2015) Review on potential use of fruit and vegetables by-products as a valuable source of natural food additives. *Food Sci Qual Manag* 45:57–58
- Daglia, M.; Papetti, A.; Gregotti, C.; Berte, F.; Gazzani, G. *In Vitro* antioxidant and *ex Vivo* protective activities of green and roasted coffee. *J. Agric. Food Chem.* 2000, 48, 1449-1454.
- del Castillo MD, Ames JM and Gordon MH. 2002. Effect of roasting on the antioxidant activity of coffee brews. *J Agric Food Chem* 50, 3698-3703.
- del Castillo MD, Gordon MH and Ames JM. 2005. Peroxyl radicalscavenging activity of coffee brews. *Eur Food Res Technol* 221, 471-477.
- Esquivel, P. and Jiménez, V. (2012). Functional properties of coffee and coffee by-products. *Food Research International* 46 (2): 488–495.

- FAO. *The State of World Fisheries and Aquaculture 2020—Sustainability in Action*; Food and Agriculture Organization of the United Nations: Rome, Italy, 2020; p. 224.
- FAO. *The State of World Fisheries and Aquaculture 2016—Contributing to Food Security and Nutrition for All*; Food and Agriculture Organization of the United Nations: Rome, Italy, 2016; p. 200.
- Guardiola, F.A., A. Cuesta, M. Arizcun, J. Meseguer, M.A. Esteban, Comparative skin mucus and serum humoral defence mechanisms in the teleost gilthead seabream (*Sparus aurata*), *Fish Shellfish Immunol.* 36 (2) (2014) 545–551.
- Hu, C., Z. Huang, M. Liu, B. Sun, L. Tang, L. Chen, Shift in skin microbiota and immune functions of zebrafish after combined exposure to perfluorobutanesulfonate and probiotic *Lactobacillus rhamnosus*, *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 218 (2021) 112310.
- Ighodaro, O.M.; Akinloye, O.A. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alex. J. Med.* 2018, 54, 287–293. [CrossRef]
- Iriondo-DeHond, A.; Aparicio García, N.; Fernandez-Gomez, B.; Guisantes-Batan, E.; Velázquez Escobar, F.; Blanch, G.P.; San Andres, M.I.; Sanchez-Fortun, S.; del Castillo, M.D. Validation of coffee by-products as novel food ingredients. *Innovative Food Sci. Emerging Technol.* 2019, 51, 194–204.
- Hoseinifar, S.H., M.A. Jahazi, R. Mohseni, M. Raeisi, M. Bayani, M. Mazandarani, M. Yousefi, H. Van Doan, M. Torfi Mozanzadeh, Effects of dietary fern (*Adiantum capillus-veneris*) leaves powder on serum and mucus antioxidant defence, immunological responses, antimicrobial activity and growth performance of common carp (*Cyprinus carpio*) juveniles, *Fish Shellfish Immunol.* 106 (2020) 959–966.
- Hoseinifar, S.H., M.A. Jahazi, R. Mohseni, M. Yousefi, M. Bayani, M. Mazandarani, H. Van Doan, E.R. El-Haroun, Dietary apple peel-derived pectin improved growth performance, antioxidant enzymes and immune response in common carp, *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758), *Aquaculture* 535 (2021) 736311.
- Jayaprakasha GK, Singh RP, Sakariah KK (2001) Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models in vitro. *Food Chem* 73:285–290.
- Jiménez-Zamora, A., Pastoriza, S., and Rufián-Henares, J.A. (2015). Revalorization of coffee by-products. Prebiotic, antimicrobial and antioxidant properties. *LWT Food Science and Technology* 61 (1): 12–18.
- Koshio, S. Immunotherapies targeting fish mucosal immunity – current knowledge and future perspectives, *Front. Immunol.* 6 (643) (2016).
- Lazado, C.C., P.V. Skov, Secretory proteins in the skin mucus of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) are modulated temporally by photoperiod and bacterial endotoxin cues, *Fishes* 4 (4) (2019) 57.
- Leyva-López, N., Peraza-Arias, M., Avalos-Soriano, A., Hernández, C., Lizárraga-Velázquez, C. E., & Heredia, J. B. (2021). Polyphenolic Extracts from Spent Coffee Grounds Prevent H₂O₂-Induced Oxidative Stress in *Centropomus viridis* Brain Cells. *Molecules*, 26(20), 6195.
- Lundebye AK, Hove H, Måge A, Bohne VJ, Hamre K (2010) Levels of synthetic antioxidants (ethoxyquin, butylated hydroxytoluene and butylated hydroxyanisole) in fish feed and commercially farmed fish. *Food Addit Contamin: part A* 27:1652–1657. <https://doi.org/10.1080/19440049.2010.508195>

- Marinho, H.S.; Real, C.; Cyrne, L.; Soares, H.; Antunes, F. Hydrogen peroxide sensing, signaling and regulation of transcription factors. *Redox Biol.* 2014, 2, 535–562.
- Murthy, P.S.; Naidu, M.M. Sustainable management of coffee industry by-products and value addition—A review. *Resour. Conserv. Recycl.* 2012, 66, 45–58.
- Magnadóttir, B. Innate immunity of fish (overview), *Fish Shellfish Immunol.* 20 (2) (2006) 137–151.
- Nebesny E and Budryn G. 2003. Antioxidative activity of green and roasted coffee beans as influenced by convection and microwave roasting methods and content of certain compounds. *Eur Food Res Technol* 217, 157-163.
- Oliveira, L.S.; Franca, A.S. Potential of spent coffee grounds as sources of dietary fiber with antioxidant activity. In *Food Waste: Practices, Management and Challenges*; Riley, G.L., Ed.; Nova Publishers: New York, NY, USA, 2016; pp. 51–70.
- Ormaza, A., Díaz, F., and Rojano, B. (2018). Efecto del añejamiento del café (*Coffea arabica* L. var. Castillo) sobre la composición de fenoles totales, flavonoides, ácido clorogénico y la actividad antioxidante. *Información Tecnológica* 29 (3): 187–196.
- Puravankara D, Boghra V, Sharma RS (2000) Effect of antioxidant principles isolated from mango (*Mangifera indica* L.) seed kernels on oxidative stability of buffalo ghee (butterfat). *J Sci Food Agric* 80:522–526.
- Pourfarzad, A.; Mahdavian-Mehr, H.; Sedaghat, N. Coffee silverskin as a source of dietary fiber in bread-making: Optimization of chemical treatment using response surface methodology. *LWT Food Sci. Technol.* 2013, 50, 599–606.
- Rahimnejad, S., Choi, J., & Lee, S. M. (2015). Evaluation of coffee ground as a feedstuff in practical diets for olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *Fisheries and aquatic sciences*, 18(3), 257-264.
- Ransy, C.; Vaz, C.; Lombès, A.; Bouillaud, F. Use of H₂O₂ to cause oxidative stress, the catalase issue. *Int. J. Mol. Sci.* 2020, 21, 9149.
- Rajo, A.I.; Sagarra, M.R.D.; Cuadrado, A. GSK-3 β down-regulates the transcription factor Nrf2 after oxidant damage: Relevance to exposure of neuronal cells to oxidative stress. *J. Neurochem.* 2008, 105, 192–202.
- A. Serradell, S. Torrecillas, A. Makol, V. Valdenegro, A. Fernández-Montero, F. Acosta, M.S. Izquierdo, D. Montero, Prebiotics and phytochemicals functional additives in low fish meal and fish oil based diets for European sea bass (*Dicentrarchus labrax*): effects on stress and immune responses, *Fish Shellfish Immunol.* 100 (2020) 219–229.
- Van Doan, H., Lumsangkul, C., Hoseinifar, S. H., Jaturasitha, S., Tran, H. Q., Chanbang, Y., ... and Stejskal, V. 2022. Influences of spent coffee grounds on skin mucosal and serum immunities, disease resistance, and growth rate of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) reared under biofloc system. *Fish & Shellfish Immunology*, 120, 67-74.
- Vázquez-Sánchez, K., Martínez-Saez, N., Rebollo-Hernanz, M. et al. (2018). In vitro health promoting properties of antioxidant dietary fiber extracted from spent coffee (*Coffea arabica* L.) grounds. *Food chemistry* 261: 253–259.
- Zhang, S.; Yang, J.; Wang, S.; Rupasinghe, H.P.; He, Q. Experimental exploration of processes for deriving multiple products from spent coffee grounds. *Food Bioprod. Process.* 2021, 128, 21–29.

Wongsiridetchai,C.;Jonjaroen,V.;Sawangwan,T.;Charoenrat,T.;Chantorn,S.Evaluati
onofprebioticmannooligosaccharides obtained from spent coffee grounds for
nutraceutical application. *LWT* 2021, 148, 111717