

PERUBAHAN MORFOLOGI SEL KB SETELAH PAPARAN EKSTRAK KOPI ARABIKA

SKRIPSI

Untuk Memenuhi Sebagian Syarat
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran
Pada Fakultas Kedokteran
Universitas Kristen Duta Wacana



Disusun Oleh

Nadia Theresia Pardede

41100088

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS KRISTEN DUTA WACANA
YOGYAKARTA**

2015

LEMBAR PENGESAHAN

Skripsi dengan judul:

PERUBAHAN MORFOLOGI SEL KB SETELAH PAPARAN EKSTRAK KOPI ARABIKA

Telah diajukan dan dipertahankan oleh:

NADIA THERESIA PARDEDE

41100088

Dalam ujian skripsi Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Duta Wacana dan dinyatakan DITERIMA untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar sarjana kedokteran pada tanggal 11 Februari 2015

Nama Dosen

1. drg. MM. Suryani Hutomo, M.DSc
(Dosen Pembimbing I)
2. dr. Yanti Ivana Suryanto, M.Sc
(Dosen Pembimbing II)
3. Drg. Heni Susilowati, M.Kes., Ph.D
(Dosen Penguji)

Tanda Tangan







Yogyakarta, _____

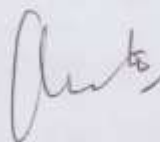
Disahkan Oleh:

Dekan,




Prof. dr. J.W. Siagian, Sp. PA

Wakil Dekan Bidang Akademik,



dr. Sugianto, Sp. S., M.Kes., Ph.D

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Saya menyatakan bahwa sesungguhnya skripsi dengan judul:

PERUBAHAN MORFOLOGI SEL KB SETELAH PAPARAN EKSTRAK KOPI ARABIKA

Yang saya kerjakan untuk melengkapi sebagian syarat untuk menjadi sarjana pada program studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Duta Wacana adalah bukan hasil tiruan atau duplikasi dari karya pihak lain di perguruan tinggi atau instansi manapun, kecuali bagian yang sumber informasinya sudah dicantumkan sebagaimana mestinya.

Jika dikemudian hari didapati bahwa hasil skripsi ini adalah hasil plagiasi atau tiruan dari karya pihak lain, maka saya bersedia dikenai sanksi yakni pencabutan gelar saya.

Yogyakarta, APRIL 2015



NADIA THERESIA PARDEDE
41100088

LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI

Sebagai mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Duta Wacana,
yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : NADIA THERESIA PARDEDE

NIM : 41100088

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Kristen Duta Wacana **Hak Bebas Royalti Non Eksklusif** (*Non Exclusive Royalty-Free Right*), atas karya ilmiah saya yang berjudul:

PERUBAHAN MORFOLOGI SEL KB SETELAH PAPAN EKSTRAK

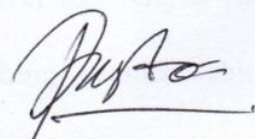
KOPI ARABIKA

Dengan hak bebas royalti non eksklusif ini, Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Duta Wacana berhak menyimpan, mengalih media/formatkan, mengelola dalam bentuk pengkalan data (database), merawat dan mempublikasikan karya tulis ilmiah selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis dan sebagai pemilik hak cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Yogyakarta, APRIL 2015

Yang menyatakan,



Nadia Theresia Pardede

41100088

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur serta terimakasih penulis sampaikan kepada semua pihak-pihak yang telah mendukung dalam pembuatan skripsi ini sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Perubahan Morfologi Sel KB setelah Paparan Ekstrak Kopi Arabika”**. Penulisan skripsi ini bertujuan untuk memenuhi sebagian syarat memperoleh gelar sarjana kedokteran bagi mahasiswa S1 Program Studi Kedokteran Universitas Kristen Duta Wacana Yogyakarta.

Selesainya skripsi ini tidak luput dari bantuan berbagai pihak sehingga dalam kesempatan ini penulis dengan penuh hormat mengucapkan terimakasih kepada semua pihak yang telah memberikan dukungan umum, teknis, dan dana baik secara langsung maupun tidak langsung dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah Sarjana, terutama kepada:

1. drg. MM Suryani Hutomo, M. DSc selaku dosen pembimbing skripsi I; dr. Yanti Ivana Suryanto M. Sc selaku dosen pembimbing skripsi II; drg. Heni Susilowati, M. Kes., Ph. D selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik, bimbingan, koreksi dan saran yang membangun sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
2. Bapak/Ibu pimpinan, teknisi dan staff Lembaga Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) dan Laboratorium Histologi Universitas Gajah Mada Yogyakarta yang telah mendampingi dan membimbing penulis sehingga penelitian dapat berjalan dengan baik.

3. Drs. Jong Jek Siang, M. Sc sebagai Wakil Dekan I Sistem Informasi yang telah memberikan bimbingan dan saran dalam pengolahan data sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
4. Bapak/Ibu dosen dan staff Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Duta Wacana yang telah memberikan ilmu dan pengetahuan selama masa perkuliahan.
5. Teristimewa kepada orangtua penulis T. Pardede dan M. br. Siahaan yang memberikan motivasi dan dukungan moral maupun materi serta Corry Kalica Pardede sebagai saudara yang selalu memberikan motivasi dan dukungan.
6. Teman-teman Fakultas Kedokteran UKDW 2010
7. Terimakasih kepada semua pihak-pihak yang telah membantu penyusunan skripsi ini sehingga tidak dapat disebutkan satu-persatu.

Akhir kata, penulis menyadari bahwa dalam pembuatan skripsi ini masih terdapat banyak kekurangan sehingga penulis merasa terbuka untuk menerima kritik dan saran yang membangun untuk kesempurnaan skripsi ini. Penulis berharap skripsi ini dapat berguna dan bermanfaat bagi kita semua dan menjadi bahan masukan dalam perkembangan ilmu pengetahuan.

Penulis,

2014

DAFTAR ISI

Halaman Judul	i
Lembar Pengesahan	ii
Pernyataan Keaslian Skripsi	iii
Lembar Pernyataan Publikasi	iv
Kata Pengantar	v
Daftar Isi	vii
Daftar Gambar	ix
Daftar Lampiran	x
Abstrak	xi
<i>Abstract</i>	xi
BAB I: PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Permasalahan	3
C. Tujuan	3
D. Manfaat	3
E. Keaslian Penelitian	4
BAB II: TINJAUAN PUSTAKA	
A. Studi Literatur	5
1. Kafein	5
2. Kematian Sel	8
3. Sel KB	11

4. Pengecatan HE	12
B. Kerangka Konsep	13
C. Hipotesis	13
BAB III: METODOLOGI PENELITIAN	
A. Desain Penelitian	14
B. Tempat Penelitian	14
C. Identifikasi Variabel	14
D. Definisi Operasional	14
E. Materi Penelitian	15
F. Pelaksanaan Penelitian	18
G. Analisis Data	19
H. Skema Jalannya Penelitian	20
BAB IV: HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Hasil	21
B. Pembahasan	23
BAB V: KESIMPULAN DAN SARAN	
A. Kesimpulan	27
B. Saran	27
DAFTAR PUSTAKA	28
LAMPIRAN	31
RIWAYAT HIDUP	36

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1 : Sel nekrosis dan apoptosis	10
Gambar 2 : Kerangka konsep	13
Gambar 3 : Skema penelitian	20
Gambar 4 : Morfologi sel KB	22
Gambar 5 : Grafik jumlah sel KB	22

@UKDWN

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat keterangan kelaikan etik	33
Lampiran 2. Surat permohonan izin penelitian	34
Lampiran 3. Data pembuatan ekstrak kopi Arabika	35
Lampiran 4. Surat keterangan dari LPPT UGM	36

@UKDWN

ABSTRAK

Kafein yang terkandung dalam kopi adalah derivat metilxantin yang merupakan komponen aktif pada biji *Coffea arabica*. Kafein dilaporkan dapat menginduksi kematian sel. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui tipe kematian sel KB yang diinduksi oleh kafein. Sel KB digunakan sebagai model representatif epitel oral manusia. Kafein dalam penelitian ini diambil dari ekstrak *Coffea arabica* dengan metode maserasi menggunakan pelarut alkohol.

Identifikasi tipe kematian sel menggunakan analisis perubahan morfologi sel. Sel KB dipaparkan kafein dengan konsentrasi 200 µg/ml selama 24 jam dan 48 jam. KB sel dicat dengan pewarnaan HE dan dihitung dalam sepuluh lapang pandang. Kesimpulan penelitian ini adalah kafein dari ekstrak *Coffea Arabica* sebanyak 200 µg/ml dapat menginduksi kematian sel KB dengan perubahan morfologi berupa pengerutan sel dan penggelapan warna nukleus, serta pembengkakan ukuran sel dan pengecilan nukleus.

Kata kunci: Kafein, sel KB, morfologi, HE

ABSTRACT

Caffeine in coffee is a methylxantine derivate, the most active component of *Coffea arabica* beans. Caffeine has been reported to induce cell death. This study focused on the identification of types of cell death of KB cell induced by caffeine. KB cell line is used as a representative model of human oral epithel. Caffeine in this study obtained by macerating roasted *Coffea arabica* beans in alcohol solvent.

Type of cell death defined by morphological criteria. KB cells were exposed to caffeine (200 µg/ml) for 24 hours and 48 hours. KB cells were stained with hematoxylineosin and counted in 10 random fields of view. This study showed that caffeine from *Coffea arabica* extract (200 µg/ml) induced cell morphological changes in the form of cell shrinkage and darker color of nuclei and in the form of cell swelling and downsizing of nuclei.

Key words: Caffeine, KB cells, morphology, HE

ABSTRAK

Kafein yang terkandung dalam kopi adalah derivat metilxantin yang merupakan komponen aktif pada biji *Coffea arabica*. Kafein dilaporkan dapat menginduksi kematian sel. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui tipe kematian sel KB yang diinduksi oleh kafein. Sel KB digunakan sebagai model representatif epitel oral manusia. Kafein dalam penelitian ini diambil dari ekstrak *Coffea arabica* dengan metode maserasi menggunakan pelarut alkohol.

Identifikasi tipe kematian sel menggunakan analisis perubahan morfologi sel. Sel KB dipaparkan kafein dengan konsentrasi 200 µg/ml selama 24 jam dan 48 jam. KB sel dicat dengan pewarnaan HE dan dihitung dalam sepuluh lapang pandang. Kesimpulan penelitian ini adalah kafein dari ekstrak *Coffea Arabica* sebanyak 200 µg/ml dapat menginduksi kematian sel KB dengan perubahan morfologi berupa pengerutan sel dan penggelapan warna nukleus, serta pembengkakan ukuran sel dan pengecilan nukleus.

Kata kunci: Kafein, sel KB, morfologi, HE

ABSTRACT

Caffeine in coffee is a methylxantine derivate, the most active component of *Coffea arabica* beans. Caffeine has been reported to induce cell death. This study focused on the identification of types of cell death of KB cell induced by caffeine. KB cell line is used as a representative model of human oral epithel. Caffeine in this study obtained by macerating roasted *Coffea arabica* beans in alcohol solvent.

Type of cell death defined by morphological criteria. KB cells were exposed to caffeine (200 µg/ml) for 24 hours and 48 hours. KB cells were stained with hematoxylineosin and counted in 10 random fields of view. This study showed that caffeine from *Coffea arabica* extract (200 µg/ml) induced cell morphological changes in the form of cell shrinkage and darker color of nuclei and in the form of cell swelling and downsizing of nuclei.

Key words: Caffeine, KB cells, morphology, HE

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kafein adalah zat yang terkandung dalam kopi, teh, minuman ringan, minuman berenergi, cokelat, permen, dan obat-obatan tertentu (Mayo Clinic, 2013). Kafein merupakan derivat xantin yang terdapat pada *Coffea arabica*, *Thea sinensis* dan *Theobroma cacao* (Louisa *et al.*, 2007).

Konsumsi kopi per kapita di dunia setiap tahun cukup tinggi yaitu 11,7 kg di Finlandia; 9,4 kg di Norwegia; 8,9 kg di Denmark; 8,1 kg di Swedia; 7,4 kg di Swiss; 6,8 kg di Jerman dan Austria; 6,4 kg di Belgia; 6,3 kg di Belanda; 5,6 kg dan 5,4 kg di Italia dan Perancis (International Coffee Organization, 2012). Asupan kafein di Amerika rata-rata sebanyak 300 mg per orang per hari (FDA, 2012). Konsumsi kopi penduduk Indonesia per tahun adalah 950 gram per kapita (AEKI, 2013).

Kafein dapat menurunkan kepadatan tulang dan meningkatkan risiko patah tulang panggul tetapi tidak memberi pengaruh signifikan selama konsumsi kalsium cukup dipertahankan. Penelitian menggunakan osteoblas dari tengkorak bayi tikus Wistar menunjukkan kafein dengan konsentrasi 0,1mM-100mM yang dipaparkan selama 24 jam, 3 hari, 7 hari dan 14 hari memiliki potensi mengganggu viabilitas osteoblas dan meningkatkan laju apoptosis osteoblas. Viabilitas osteoblas, pembentukan *Alkaline Phosphatase* (ALP) dan pembentukan nodul mineral pada kultur menurun secara signifikan oleh konsentrasi kafein

sebanyak 10mM. Apoptosis osteoblas yang diinduksi oleh kafein dapat menjadi faktor meningkatnya osteoporosis (Tsuang *et al.*, 2006).

Deposisi kalsium meningkat secara bertahap selama proses osteogenesis namun menurun setelah dipaparkan kafein dengan konsentrasi 0,1-1 mM selama 48 jam. Kafein menyebabkan nekrosis pada sel stroma mesenkimal sumsum tulang tikus dan menyebabkan apoptosis pada sebagian kecil sel (Zhou *et al.*, 2010). Kafein 500 μ M juga menghambat angiogenesis melalui apoptosis yang terkait peningkatan ekspresi TSP-1 pada aktivasi reseptor adenosin A_{2B} (Li *et al.*, 2013).

Kontak awal dari konsumsi kafein adalah kontak langsung dengan sel-sel pada rongga mulut. Sel KB yang berasal dari sel epitel karsinoma skuamosa oral non keratin pada kanker lidah digunakan dalam penelitian ini sebagai model representatif sel epitel oral normal. Sel KB digunakan pada berbagai penelitian, antara lain pada penelitian yang menggunakan ekstrak *Alpinia pricei* yang menunjukkan penghambatan langsung viabilitas dan pertumbuhan sel KB dengan memicu apoptosis melalui jalur apoptosis yang tergantung mitokondria. *Alpinia pricei* menekan proliferasi sel KB (Yang *et al.*, 2008). Sel KB juga digunakan pada penelitian menggunakan asam tolfenamik yang menunjukkan penghambatan proliferasi sel melalui apoptosis (Kim *et al.*, 2010).

Penelitian menunjukkan kafein dengan konsentrasi 10mM menyebabkan perubahan morfologi sel otak manusia (SK-N-MC) dengan karakter apoptosis berupa pembentukan badan apoptosis, *cytoplasmic blebbing*, kondensasi kromatin, penyusutan nukleus, dan ketidakteraturan bentuk (Baik *et al.*, 2002).

Kafein dilaporkan mempengaruhi fungsi siklus sel, menginduksi apoptosis dan mengganggu siklus regulasi protein sel kunci. Meskipun efek dari kafein telah banyak diteliti, banyak data penelitian mengenai efek kafein pada siklus sel dan proliferasi tampak ambigu. Kafein dengan konsentrasi tinggi mungkin terlalu beracun bagi manusia. Kafein dengan toksisitas rendah dapat berguna untuk mengobati kanker (Bode *et al.*, 2007). Induksi apoptosis adalah mekanisme regulasi homeostasis jaringan yang paling berpotensi baik untuk mengeliminasi sel kanker (Sun *et al.*, 2004).

B. Permasalahan

Berdasarkan uraian pada latar belakang, maka didapatkan rumusan masalah sebagai berikut: bagaimana tipe kematian sel berdasarkan perubahan morfologi pada sel KB setelah diinduksi oleh kafein dari ekstrak etanol kopi arabika?

C. Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah:

Mengidentifikasi perubahan morfologi sel KB setelah diinduksi oleh kafein dari ekstrak etanol kopi arabika melalui analisis perubahan morfologi sel dengan melihat perubahan ukuran sel dan nukleus.

D. Manfaat

Manfaat yang didapat dari penelitian ini adalah:

1. Dapat mengidentifikasi tipe kematian sel KB setelah diinduksi kafein dari ekstrak etanol kopi arabika

2. Mengembangkan penelitian sebelumnya dan sebagai perbandingan untuk penelitian selanjutnya.
3. Dapat menjadi informasi untuk pengembangan penelitian agen anti kanker menggunakan kafein.

E. Keaslian Penelitian

Penelitian mengenai apoptosis dan nekrosis yang diinduksi oleh kafein sudah banyak dilakukan. Yang membedakan penelitian ini dengan penelitian lain adalah penggunaan sel KB sebagai model representatif dari sel epitel oral dan penggunaan kafein dari ekstrak etanol biji *Coffea arabica* yang ditanam di Temanggung, Jawa Tengah, Indonesia.

Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa kafein dengan konsentrasi 10mM menyebabkan perubahan morfologi apoptosis sel otak manusia (SK-N-MC) berupa pembentukan badan apoptosis, cytoplasmic blebbing, kondensasi kromatin, penyusutan nukleus, dan ketidakteraturan bentuk (Baik *et al.*, 2002). Sel osteoblast yang dikultur dengan kafein menunjukkan perubahan morfologi berupa apoptosis (Tsuang *et al.*, 2006). Kafein dengan konsentrasi 0.1 mM tidak menunjukkan terjadinya apoptosis ataupun nekrosis pada sel BMSC. Kafein dengan konsentrasi 1 mM memicu terjadinya apoptosis dan kafein pada kelompok konsentrasi lebih tinggi menyebabkan terjadinya nekrosis pada sel BMSC (Zhou *et al.*, 2010).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan, maka penulis dapat menyimpulkan bahwa kafein dari kopi Arabika yang ditanam di Temanggung, Jawa Tengah, Indonesia dengan konsentrasi 200µl/ml dapat menginduksi dua tipe perubahan morfologi sel KB dengan ciri pengerutan sel dan penggelapan warna nukleus, serta pembengkakan ukuran sel dan pengecilan nukleus.

B. Saran

Saran pada penelitian ini adalah:

1. Dilakukan penelitian lanjutan mengenai perubahan morfologi sel KB yang diinduksi oleh kafein dengan konsentrasi kafein yang berbeda.
2. Dilakukan penelitian lanjutan mengenai perubahan morfologi sel KB yang diinduksi oleh kafein dengan jumlah sampel yang lebih besar.
3. Dilakukan penelitian lanjutan mengenai perubahan morfologi sel KB yang diinduksi oleh kafein dengan metode pengecatan lain.
4. Dilakukan penelitian kafein sebagai agen anti-kanker.

DAFTAR PUSTAKA

- Alberts, B. Johnson, A. Lewis, J. Raff, M. Roberts, K. Walter, P. (2008) *Moleccular Biology of The Cell 5th Ed.* UK: Garland Science
- Anderson, James. (2011) An introduction to routine and special staining: *Leica Biosystem*
- Avwioro, Godwin. (2011) Histochemical uses of haematoxylin-a review. *Journal of Physics and Chemistry of Solids Vol 1* pp. 24-34
- Altogen Biosystem. *KB Transfection Reagen (Mouth Epidermal Carcinoma)*.
- Baik, H.H. Kang, I.S. Cho, Y.H. Jang M.H. Shin, M.C. Chu, J.P. Kim, E.H. Kim, CJ. (2002) Caffeine induces apoptosis in human neuroblastoma cell line SK-N-MC. *Journal of Korean Medical Science* 17:674-8
- Belizario, J.E. Sherwood, S. Becak, W. (1999) Induction of apoptosis in cancer cells by tumor necrosis factor and butyrolactone, an inhibitor of cyclin-dependen kinases. *Brazilian Journal of Medical and biological Research Vol.32(4)* pp. 473-482
- Bode, A.M. Dong, Z. (2007) the enigmatic effects of caffeine in cell cycle and cancer: *Cancer Letters*, pp. 26-39
- Bortner, C.D. Cidlowski, J.A. (2002) apoptotic volume decrease and the incredible shrinking cell. *Cell Death and Differentiation* 9 pp.1307-1310
- Caffeine content for coffee, tea, soda and more. Available from: <http://www.mayoclinic.org/caffeine/art-20049372> [Accessed 12 September 2013].
- Chan, W.H. Lu, P.Z. Lai, CY. (2008) Caffeine induces cell death via activation of apoptotic signal and inactivation of survival signal in human osteoblasts. *International Journal of Molecular Sciences* 9 pp. 698-718
- Corti, A. & Ghezzi, P. eds. (2006) *Methods in Molecular Medicine Vol. 98: Tumor Necrosis Factor*. Totowa: Humana Press Inc.
- Elmore S. (2007) Review of programmed cell death: *Toxicologic Pathologic* pp. 495-516.
- Galluzzi, L. Vitale, I. Abrams, J.M. Alnemri, E.S. Baehrecke, E.H. Blagosklonny M.V. Dawson, T.M. Dawson, V.L. El-Deiry, W.S. Fulda, S. Gottlieb, E. Green, D.R. Hengartner, M.O. Kepp, O. Knight, R.A. Kumar, S. Lipto, S.A.

- Lu, X. Madeo, F. Malorni, W. Mehlen, P. Nunez, G. Peter, M.E. Piacentini, M. Rubinsztein, D.C. Shi, Y. Simon, H.U. Vandenabeele, P. White, E. Yuan, J. Zhivotovsky, B. Melino, G. Kroemer, G. (2012) Molecular definitions of cell death subroutines: *recommendations of The Nomenclature Committee ON Cell Death 2012. Cell Death and Differentiation* pp. 107-20
- Gewies, Andreas. (2003) Apo Review-Introduction to Apoptosis pp. 1-26
- Hallstrom, H. Wolk, A. Glynn, A. Michaelsson, K. (2006) Coffee, tea and caffeine consumption in relation to osteoporotic fracture risk in a cohort of Swedish women. *Osteoporosis International* pp. 1055-1-64
- Hayashi, K. Tsuchiya, H. Yamamoto, N. Shirai, T. Yamauchi, K. Takeuchi, A. Kawahara, M. Miyamoto, K. Tomita, K. (2009) Impact of serum caffeine monitoring on adverse effects and chemotherapeutic responses to caffeine-potentiated chemotherapy for osteosarcoma. *Journal of Orthopaedic Science* pp. 253-258
- Heneen, W.H. (1976) Hella cells and their possible contamination of other cell lines: *karyotype studies. Hereditas* pp. 217-248
- International Coffee Council 109th Session, 2012. London (2012) *Trends in coffee consumption in selected importing countries*. London.
- Karam, Jose A. (2009) *Apoptosis in Carcinogenesis and Chemotherapy*. Netherlands: Springer.
- Kawano, Y. Nagata, M. Kohno, T. Ichimiya, A. Iwakiri, T. Okumura, M. Arimori, K. (2011) Caffeine increases the antitumor effect of cisplatin in human hepatocellular carcinoma cells. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* pp. 400-407.
- Keisari, Yona. ed. (2013) *Tumor Ablation: Effects on Systemic and Local Anti-Tumor Immunity and on Other Tumor-Microenvironment Interactions*. London: Springer
- Kim J.H. Jung, J.Y. Shim, J.H. Kim, J. Choi, K.H. Shin, J.A. (2010) Apoptotic effect of tolafenamic acid in kb human oral cancer cells: *possible involvement of p38 MAPK pathway. Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition.*, (2010) 47 pp. 74-80
- Konsumsi kopi domestik (2013). Asosiasi Eksportir dan Importir Kopi Indonesia. Available from: <http://www.aeki-aice.org/page/konsumsi-kopi-domestik/id> [Accessed 5 September 2013]

- Li, H. Jin, S.Y. Son, H.J. Seo, J.H. Jeong, G.B. (2013) caffeine-induced cell death via caspase-independent cell death. *Scientific Reports*,2:557
- Louisa, M. Dewoto, H.R (2007) *Farmakologi dan Terapi: Perangsang Susunan Saraf Pusat*. Jakarta: Universitas Indonesia
- Medical Subject Headings. *National Center for Biotechnology Information*. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/?term=kb+cells> [Accessed 5 September 2013]
- Melnik, M. Sprusansky, O. Musil, P. (2014) Bio-medical aspects of purine alkaloids. *Scientific Research* pp. 274-280.
- Nawrot, P. Jordan, S. Eastwood, J. Rotstein, J. Hugenholtz, A. Feeley, M. (2003) Effects of caffeine on human health: *Food Additives and Contaminants* Vol.20 (1) pp. 1-30.
- O'neill, I.D. (2009) Continued misrepresentation of KB cells as being of oral cancer phenotype requires action. *Oral Oncology* pp. 117-118.
- Phan T.T.D. Kuban, V. Kracmar, S. (2012) Determination of caffeine contents of coffee brands in the vietnamese market: *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences* 2012: February Special Issue) pp. 995-1002
- Pollard, K.M. ed. (2006) *Autoantibodies and Autoimmunity: Molecular Mechanisms in Health and Disease*. Weinheim: Wiley-VCH
- Rapuri, P.B. Gallagher, JC. Nawazb, Z. (2007) Caffeine decreases vitamin D receptor protein expression and 1,25(OH)₂D₃ stimulated alkaline phosphatase activity in human osteoblast cells: *Journal of Steroid and Biochemistry & Molecular Biology* 103 (2007) pp. 368-371
- Ribeiro, J.A. Sebastiao, A.M. (2010) Caffeine and adenosin. *Journal of Alzheimer's Disease* 20(2010)S3-S15
- Saiki S. Sasazawa, Y. Imamichi, Y. Kawajiri, S. Fujimaki, T. Taida, I. Kobayashi H. Sato, F. Sato, S. Ishikawa, K.I. Imoto M. Hattori, N. (2011) Caffeine induces apoptosis by enhancement of autophagy via PI3K/Akt/mTOR/p70S6K inhibition. *Autophagy* Vol 7 pp. 176–187.
- Somogyi L.P; The Food and Drug Administration. (2009) Caffeine intake by the U.S population.
- Tsuang, H.Y. Sun, J.S. Chen, L.T. Sun, S.C.K. Chen, S.C. (2006) Direct effect of caffeine on osteoblastic cells metabolism: *the possible causal effect of*

caffeine on the formation of osteoporosis. Journal of Orthopaedic Surgery and Research 2006, 1:7

Wanyika, H.N. Gatebe, E.G. Gitu, L.M. Ngumba, E.K. Maritim, C.W. (2010) Determination of caffeine content of tea and instant coffee brands found in the Kenyan market: *African Journal of Food Science* Vol.4 pp. 353-358

Warnakulasuriya, S. (2009) Global epidemiology of oral and oropharyngeal cancer. *Oral Oncology* pp. 309-316

Yang, H.L. Chen, S.C. Chen, C.S. Wang, S.Y. Hseu, Y.C. (2008) alpinia pricei rhizome extracts induce apoptosis of human carcinoma KB cells via a mitochondria-dependent apoptotic pathway. *Food and Chemical Toxicology* pp. 3318-1324

Zhou, Y. Guan, X.X. Zhu, Z.L. Guo, J. Huang, Y.C. Hou, W.W. Yu, H.Y. (2010) caffeine inhibits the viability and osteogenic differentiation of rat bone marrow-derived mesenchymal stromal cells. *British Journal of Pharmacology* pp. 1542-1552.

@UKD