

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL KOPI ARABIKA  
(*COFFEA ARABICA*) TERHADAP APOPTOSIS  
SEL KB**

SKRIPSI

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



Disusun oleh :

Devi Chrestella Maheswara

41100058

FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS KRISTEN DUTA WACANA  
YOGYAKARTA

2014

**LEMBAR PENGESAHAN**

Skripsi dengan Judul :

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL KOPI ARABIKA (*COFFEA ARABICA*)  
TERHADAP APOPTOSIS SEL KB**

telah diajukan dan dipertahankan oleh :

**DEVI CHRESTELLA MAHESWARA  
41100058**

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 21 Juli 2014

**Nama Dosen**

**Tanda Tangan**

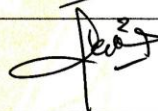
drg. MM. Suryani Hutomo, M. Dsc  
(Dosen Pembimbing I)



dr. Yanti Ivana Suryanto, M. Sc  
(Dosen Pembimbing II)



drg. Hani Susilowati, M. Kes., Ph. D  
(Dosen Penguji)



**Yogyakarta, 21 Juli 2014**

**Disahkan Oleh :**



Dekan,

**(Prof. dr. J. W. Siagian, Sp. PA)**

Wakil Dekan I Bidang Akademik,



**(dr. Sugianto, Sp.S., M.Kes., Ph.D)**

## PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Saya menyatakan bahwa sesungguhnya skripsi dengan judul :

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL KOPI ARABIKA (*COFFEA ARABICA*)**

**TERHADAP APOPTOSIS SEL KB**

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 di kemudian hari terdapat bahwa hasil skripsi ini adalah hasil plagiasi atau tiruan dari karya pihak lain, maka saya bersedia dikenai sanksi yakni pencabutan gelar saya.

Yogyakarta, 21 Juli 2014



**DEVI CHRESTELLA MAHESWARA**

41100058

## LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI

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

Nama : DEVI CHRESTELLA MAHESWARA

NIM : 41100058

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

PENGARUH EKSTRAK ETANOL KOFFEE ARABICA (*COFFEA ARABICA*)

TERHADAP APOPTOSIS SEL KB

Dengan hak bebas royalti non-eksklusif ini, Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Duta Wacana berhak menyimpan, mengalih media / formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan 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, 21 Juli 2014

Yang menyatakan,

Devi Chrestella Maheswara

## KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas berkat dan rahmatnya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian yang berjudul “Pengaruh Ekstrak Etanol Kopi Arabika (*Coffea Arabica*) Terhadap Apoptosis Sel KB”.

Pelaksanaan penelitian dan penulisan skripsi ini tak lepas dari bantuan berbagai pihak. Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada semua pihak yang turut membantu penulis selama ini, yaitu :

1. drg. MM. Suryani Hutomo, M. Dsc selaku dosen pembimbing I yang senantiasa memberikan bimbingan, dukungan, dan masukan dalam pelaksanaan penelitian dan penulisan skripsi.
2. dr. Yanti Iyana Suryanti, M. Sc selaku dosen pembimbing II yang senantiasa memberikan arahan, pendampingan, dan masukan dalam penulisan skripsi sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
3. drg. Heni Susilowati, M. Kes., Ph.D selaku dosen penguji yang bersedia memberikan koreksi serta informasi dan saran yang mendukung terlaksananya penelitian dan penulisan skripsi.
4. Ibu Tri Yuliati, SKM selaku teknisi dan staf LPPT UGM yang senantiasa mendampingi dan mengarahkan penulis dalam penelitian di laboratorium.
5. Seluruh dosen dan staf Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Duta Wacana yang telah membantu proses penulisan skripsi ini dari awal hingga akhir.

6. Kedua orang tua penulis Y. A. Eka Distya, S. H. dan Lucia Maria Widi Nusantari, serta adik penulis Olga Aurora Nandiswara yang senantiasa memberikan doa dan dukungan dalam keadaan apapun. Eyang Sani Santoso, Tante Chika, Budhe Katrin dan Diva yang senantiasa memberikan dukungan.
7. Teman - teman seperjuangan Puji, Sonia, Nadia dan Dyanasti yang selalu mendampingi dan menyemangati.
8. Teman - teman dekat Yoga, Febri, Dhanni, Yanna dan Dito yang selalu mendukung penulis, terima kasih atas kebersamaan dan semangat yang diberikan.
9. Teman - teman Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Duta Wacana angkatan 2010, senang bisa menjadi bagian dari kalian.

Penulis menyadari bahwa tulisan ini masih memiliki banyak kekurangan, oleh karena itu penulis sangat mengharapkan masukan maupun kritik yang dapat menyempurnakan tulisan ini. Akhir kata, penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi masyarakat dan kemajuan ilmu pengetahuan.

Yogyakarta, 21 Juli 2014

Penulis

## DAFTAR ISI

|   |     |
|---|-----|
| Halaman Judul .....                           | i   |
| Lembar Pengesahan .....                       | ii  |
| Pernyataan Keaslian Skripsi .....             | iii |
| Lembar Pernyataan Persetujuan Publikasi ..... | iv  |
| Kata Pengantar .....                          | v   |
| Daftar Isi .....                              | vii |
| Daftar Tabel .....                            | ix  |
| Daftar Gambar .....                           | x   |
| Daftar Lampiran .....                         | xi  |
| Abstrak/ <i>Abstract</i> .....                | xii |
| <b>BAB I. PENDAHULUAN</b>                     |     |
| A. Latar Belakang .....                       | 1   |
| B. Rumusan Masalah .....                      | 3   |
| C. Tujuan Penelitian .....                    | 3   |
| D. Manfaat Penelitian .....                   | 3   |
| E. Keaslian Penelitian .....                  | 4   |
| <b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA</b>               |     |
| A. Studi Literatur .....                      | 5   |
| 1. Kafein .....                               | 5   |
| 2. Apoptosis .....                            | 8   |

|                                       |           |
|---------------------------------------|-----------|
| 3. Sel KB .....                       | 14        |
| B. Kerangka Konseptual .....          | 15        |
| C. Hipotesis .....                    | 15        |
| <b>BAB III. METODOLOGI PENELITIAN</b> |           |
| A. Desain Penelitian .....            | 16        |
| B. Alat dan Bahan .....               | 16        |
| C. Identifikasi Variabel .....        | 18        |
| D. Definisi Operasional .....         | 18        |
| E. Jalannya Penelitian .....          | 20        |
| G. Alur Penelitian .....              | 24        |
| H. Analisis Hasil .....               | 26        |
| <b>BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN</b>   |           |
| A. Hasil .....                        | 26        |
| B. Pembahasan .....                   | 29        |
| <b>BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN</b>    |           |
| A. Kesimpulan .....                   | 32        |
| B. Saran .....                        | 32        |
| <b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>           | <b>33</b> |



## DAFTAR TABEL

|   |    |
|---|----|
| Tabel 1. Rerata persentase apoptosis, nekrosis dan sel hidup setelah inkubasi selama 24 jam dan 48 jam dengan kafein dan doksorubisin ..... | 27 |
|---|----|

@UKDW

## DAFTAR GAMBAR

|  |    |
|--|----|
| Gambar 1. Skema perubahan morfologi sel pada nekrosis dan apoptosis.....               | 10 |
| Gambar 2. Kerangka konseptual .....  | 15 |
| Gambar 3. Skema pengisian <i>microplate</i> untuk uji apoptosis .....                  | 22 |
| Gambar 4. Skema jalannya penelitian .....  | 24 |
| Gambar 5. Sel KB yang diwarnai <i>etidium bromide</i> dan <i>acridine orange</i> ..... | 26 |
| Gambar 6. Grafik hubungan antara kelompok perlakuan .....                              | 27 |

@UKDW

## DAFTAR LAMPIRAN

|  |    |
|--|----|
| Lampiran 1. Surat keterangan kelaikan etik .....   | 36 |
| Lampiran 2. Surat keterangan penelitian .....  | 37 |
| Lampiran 2. Hasil uji normalitas dan homogenitas kelompok perlakuan kafein..             | 38 |
| Lampiran 3. Hasil uji normalitas dan homogenitas kelompok perlakuan<br>doksorubisin..... | 39 |
| Lampiran 4. Hasil uji Kruskal Wallis kelompok perlakuan kafein.....                      | 40 |
| Lampiran 5. Hasil uji Kruskal Wallis kelompok perlakuan doksorubisin.....                | 41 |

## ABSTRAK

Kafein adalah bahan farmakoaktif yang terkandung dalam kopi dan teh, dan biasa dikonsumsi oleh masyarakat. Beberapa penelitian membuktikan bahwa kafein dapat menyebabkan apoptosis pada sel kanker sehingga berpotensi dikembangkan sebagai alternatif obat anti-kanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan kafein dalam menginduksi apoptosis pada sel KB dan membandingkan jumlah sel apoptosis dengan sel nekrosis. Kafein yang digunakan pada penelitian ini berasal dari biji kopi Arabika yang diekstrak menggunakan etanol dengan metode maserasi. Penelitian dilakukan dengan memaparkan tiga seri konsentrasi kafein (400 µg/mL, 200 µg/mL, dan 100 µg/mL) dan tiga seri konsentrasi doxorubisin (0,125 µg/mL, 0,0625 µg/mL, dan 0,03125 µg/mL) kepada sel KB, kemudian sel diinkubasi selama 24 jam dan 48 jam. Uji apoptosis dilakukan dengan metode *double staining etidium bromide – acridine orange* dan diamati menggunakan mikroskop fluoresen. Hasil dari penelitian ini dianalisis menggunakan uji Kruskal Wallis untuk melihat signifikansi perbedaan persentase apoptosis setelah pemberian kafein. Hasil uji Kruskal Wallis menunjukkan pemberian kafein dapat meningkatkan persentase apoptosis secara signifikan ( $p < 0,05$ ) pada pengamatan 24 jam dan 48 jam. Apoptosis yang disebabkan kafein bersifat *dos dependent* dimana peningkatan konsentrasi kafein berbanding lurus dengan peningkatan persentase sel apoptosis. Perbandingan jumlah sel apoptosis dan nekrosis berturut-turut pada kafein konsentrasi 400 µg/mL, 200 µg/mL, dan 100 µg/mL adalah 32,6% : 7,6%, 28% : 7,2%, 18,4% : 5,6% pada pengamatan 24 jam, dan 34,4% : 24,5%, 31,5% : 15,2%, 20% : 11,2% pada pengamatan 48 jam. Dari hasil di atas dapat disimpulkan bahwa kafein dapat menginduksi apoptosis pada sel KB dengan persentase apoptosis lebih besar dibandingkan nekrosis.

Kata kunci : kafein, apoptosis, nekrosis, sel KB, anti-kanker

## ABSTRACT

Caffeine is farmacoactive agent that widely consumed and commonly contained in coffee and tea. Several studies proved that caffeine could induce apoptosis in cancer cell lines, which meant caffeine has the potential for being developed as an alternative anti-cancer drugs. This study aimed to observe the potential of caffeine to induce apoptosis in KB cells and to compare percentage of the apoptotic cells to the necrotic cells. Caffeine that is used in this study derived from Arabica coffee beans which is extracted using ethanol with maceration method. The study was performed by exposing three caffeine concentration series (400 mg/mL, 200 mg/mL, and 100 mg/mL) and three doxorubicin concentration series (0,125 mg/mL, 0,0625 mg/mL, and 0,03125 mg/mL) to KB cells. In addition, the cells were incubated for 24 hours and 48 hours. The apoptosis test was performed using *double staining ethidium bromide – acridine* method and observed using fluorescence microscope. The results of this study were analyzed using Kruskal Wallis to observe the significant differences of apoptosis percentages after adding caffeine. This study showed that caffeine was able to increase the apoptosis percentages significantly ( $p < 0.05$ ) in the 24-hour and 48-hour observations. Apoptosis which was caused by caffeine tended to be dose-dependent in which the increase of caffeine concentration was directly propotional to the increase of apoptosis cell percentages. The comparison of the apoptotic and necrotic cell amount in a row on the caffeine concentration of 400 mg/mL, 200 mg/mL, and 100 mg/mL was 32,6% : 7,6%, 28% : 7,2%, 18,4% : 5,6% in the 24-hour observations, and 51,4% : 24,5%, 31,5% : 15,2%, 20% : 11,2% in the 48-hour observations. This study suggests that caffeine is able to induce apoptosis in KB cells with a greater percentage of apoptosis than necrosis.

Key word : caffeine, apoptosis, necrosis, KB cell, anti-cancer.

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **A. Latar Belakang**

Kafein adalah bahan farmakoaktif yang paling umum dikonsumsi dan paling banyak didapatkan pada kopi, teh dan minuman bersoda (Chou, 1992; Cook *et al.*, 1996; Somogyi, 2010). Menurut data dari FDA (*Food and Drug Administration*) tahun 2010, kafein dikonsumsi dari banyak sumber oleh berbagai kelompok umur, termasuk anak-anak (2 -13 tahun), remaja (14 – 21 tahun) dan wanita usia produktif (16 – 45 tahun). Jumlah rata-rata konsumsi harian kafein adalah 300 mg per hari.

Tingginya angka konsumsi kafein tersebut menyebabkan banyak penelitian dilakukan untuk mengetahui efek kafein terhadap kesehatan (Nawrot *et al.*, 2010). Selain efek utamanya dalam memstimulasi sistem saraf pusat, kafein juga memiliki berbagai macam efek terhadap kesehatan. Salah satu efek positif kafein adalah kemampuan kafein dalam menginduksi apoptosis pada berbagai sel kanker, misalnya pada HCC, HeLa, MCF7, dan OVG1 *cell line* (Jha *et al.*, 2000; Kawano *et al.*, 2011). Efek negatif kafein diduga dapat meningkatkan resiko penyakit kardiovaskular (Chou, 1992).

Efek kafein dalam menginduksi apoptosis diperlihatkan melalui penelitian yang dilakukan pada tiga *cell line* kanker (HeLa, MCF7, dan OVG1) dan tiga *cell line* normal (Jha *et al.*, 2000). Penelitian tersebut menunjukkan kafein cenderung memberi efek apoptosis lebih besar pada sel kanker dan hanya memberi efek kecil

pada sel normal. Dari hasil penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa kafein relatif aman digunakan dalam terapi kanker. Kafein dapat dipertimbangkan sebagai obat anti-kanker maupun pendamping kemoterapi karena efek sampingnya minimal dan efektivitasnya tinggi, oleh karena itu perlu dilakukan penelitian mengenai efek kafein terhadap berbagai sel kanker untuk mendasarinya.

Apoptosis yang dipicu kafein pada sel kanker akan disertai oleh nekrosis, keduanya merupakan jalur kematian sel yang berbeda namun dapat saling menyertai. Perbandingan jumlah sel apoptosis dan nekrosis dapat digunakan untuk membuktikan keamanan kafein dalam penggunaannya sebagai terapi kanker. Apoptosis lebih aman dibandingkan nekrosis karena nekrosis dapat memicu proses peradangan yang menyebabkan kematian sel di sekitarnya (Kumar *et al.*, 2010). Pada uji laboratorium sel apoptosis dapat diidentifikasi dengan berbagai metode, diantaranya adalah pengamatan morfologi sel dan pengecatan DNA. Metode pengecatan DNA yang umum digunakan adalah *double staining etidium bromide – acridine orange*. Pada pengecatan ini sel apoptosis akan berwarna oranye (Attari, 2009).

Hingga saat ini belum ada penelitian yang dilaporkan mengenai efek kafein pada kopi terhadap sel karsinoma epitel rongga mulut. Hal tersebut mendasari pemilihan sel KB sebagai model karsinoma epidermal mulut (MeSH, 2007). Pada penelitian mengenai efek kopi dan teh terhadap kanker mulut (Galeone *et al.*, 2010), kopi terbukti lebih berpengaruh terhadap penurunan angka kejadian kanker mulut dibandingkan teh. Pada penelitian ini digunakan kafein yang diekstrak dari biji kopi karena kopi sudah terbukti menurunkan angka kejadian kanker mulut.

## **B. Rumusan Masalah**

Berdasarkan uraian diatas, timbul pertanyaan penelitian sebagai berikut :

1. Bagaimana efek pemberian kafein terhadap apoptosis sel KB secara *in vitro*?
2. Bagaimana perbandingan jumlah sel KB yang mengalami apoptosis dan nekrosis setelah pemberian kafein?

## **C. Tujuan Penelitian**

1. Mengetahui efek pemberian kafein terhadap apoptosis pada sel KB secara *in vitro*.
2. Mengetahui perbandingan jumlah sel KB yang mengalami apoptosis dan nekrosis setelah pemberian kafein.

## **D. Manfaat Penelitian**

1. Manfaat Bidang Kedokteran

Dengan penelitian ini diharapkan peneliti dapat menyumbang gagasan bagi ilmu kedokteran bahwa kafein memiliki efek sitotoksik terhadap sel kanker KB, dimana efek sitotoksik tersebut dapat berupa kematian sel secara apoptosis maupun nekrosis.

2. Manfaat Klinis

Penelitian ini diharapkan dapat memberikaan manfaat klinis berupa gagasan bahwa kafein lebih banyak menyebabkan apoptosis dibandingkan nekrosis. Hal tersebut dapat memicu penelitian lebih lanjut mengenai penggunaan kafein sebagai alternatif obat anti-kanker atau sebagai kombinasi untuk meningkatkan efektivitas



kemoterapi.

### **E. Keaslian Penelitian**

Penelitian mengenai apoptosis terhadap berbagai sel normal maupun sel kanker yang disebabkan oleh kafein sudah banyak dilakukan, namun penelitian untuk melihat efek kafein terhadap apoptosis pada KB *cell line* belum pernah dilakukan. Penelitian mengenai apoptosis sel HeLa, MCF7 dan O<sup>6</sup>Me yang diinduksi oleh kafein dilakukan oleh Jha *et al.* pada tahun 2000. Penelitian mengenai kafein dalam meningkatkan efek anti-tumor cisplatin pada *Human Hepatocellular Carcinoma Cells* dilakukan oleh Kawano *et al.* pada tahun 2011. Penelitian mengenai apoptosis sel endotelial yang diinduksi oleh kafein dilakukan oleh Li *et al.* pada tahun 2013. Hasil akhir dari empat penelitian diatas membuktikan bahwa kafein dapat menginduksi apoptosis.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **B. Kesimpulan**

Kesimpulan dari penelitian ini adalah :

1. Kafein dapat menginduksi apoptosis pada sel KB.
2. Perbandingan persentase sel apoptosis lebih besar dibandingkan sel nekrosis setelah pemberian kafein.

#### **B. Saran**

Penelitian ini memerlukan penelitian lanjutan mengenai mekanisme apoptosis yang terjadi pada sel KB secara molekuler dan efek kafein terhadap sel KB secara *in vivo*. Kemampuan kafein dalam menginduksi apoptosis juga perlu diteliti pada jenis sel kanker lain. Penelitian serupa mengenai efek kafein dalam menginduksi apoptosis pada sel KB bisa dilakukan dengan metode yang berbeda sebagai pembandingan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Attari, F., Sepheri, H., Delphi, L., Goliaei, B. (2009) *Apoptotic and Necrotic Effects of Pectic Acid on Rat Pituitary GH3/B6 Tumor Cells*. Iranian Biomedical Journal 13, 229-236.
- Bode, A. M. & Dong, Z. (2007) *The Enigmatic Effects of Caffeine in Cell Cycle and Cancer*. Cancer Letters 247: 26-39.
- Cancer Chemoprevention Research Center Farmasi UGM. (2009) *Prosedur Tetap Pengamatan Apoptosis dengan Metode Double Staining*. Yogyakarta: UGM, CCRC-02-011-00.
- Chang, M., C., Uang, B., J., Wu, H., L., Hahn, J., J., & Jeng, H., J. (2002) *Inducing The Cell Cycle Arrest and Apoptosis of Oral KB Carcinoma Cells by Hydroxychavicol: Roles of Glutathione and Reactive Oxygen Species*. British Journal of Pharmacology 135(3), 619-630.
- Chou, Tony. (1992) *Wake Up and Smell the Coffee: Caffeine, Coffee, and the Medical Consequences*. Western Journal of Medicine 157, 544-553.
- Cook, D. G., Peacock, J. L., Feyerehend, C., Carey, I. M., Jarvis, M. J., Anderson, H. R., & Bland, M. T. (1996) *Relation of Caffeine Intake and Blood Caffeine Concentrations During Pregnancy to Fetal Growth: Prospective Population Based Study*. British Medical Journal 313, 1358-62.
- Elmore, S. (2007) *Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death*. Journal of Toxicologic Pathology 35, 495.
- Galeone, C., Tavani, A., Pelucchi, C., et al. (2010) *Coffee And Tea Intake And Risk of Head and Neck Cancer: Pooled Analysis in The International Head and Neck Cancer Epidemiology Consortium*. American Association for Cancer Research Journal 2010; 19: 1723-1736.
- Gunawan, Gan. (2009) *Farmakologi dan Terapi*. Jakarta: FKUI.
- Hseu, Y., C., Chen, C., H., & Wang, S., Y. (2011) *Alpinia pricei Rhizome Extracts Induce Cell Cycle Arrest in Human Squamous Carcinoma KB Cells and Suppress Tumor Growth in Nude Mice*. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine Volume 2011 Article ID 123815.
- Jha, M. N., Bamburg, J. R., Bernstein B. W., Bedford J. S. (2000) *Caffeine*

*Eliminates Gamma-Ray-Induced G2-Phase Delay in Human Tumor Cells But Not in Normal Cells.* British Journal of Cancer 83(3), 346-353.

- 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 & Pharmaceutical Bulletin 35 (3), 400-407.
- Kim, C., Moon I., Park, J., Shin W., Chun, H., Lee, S., Kook, J., Kim, H., Park, J. C., Endou, H., Kanai, Y., Lee, B., & Kim, D. (2010) *Inhibition of L-Type Amino Acid Transporter Modulates The Expression of Cell Cycle Regulatory Factors in KB Oral Cancer Cells.* Biological & Pharmaceutical Bulletin 33 (7), 1117-1121.
- Kumar, V., Abbas, A., Fausto, N., Aster J. (2010) *Pathologic Basis of Disease.* Philadelphia: Saunders.
- Li, H., Jin, S., Son, H., Seo, J., & Jeong G. (2013) *Caffeine-induced Endothelial Cell Death and The Inhibition of Angiogenesis.* Anatomy and Cell Biology Journal 46, 57-67.
- Lin, C., H., Lu, W., C., Wang, C., W., Chan, Y., C., & Chen, M., K. (2013) *Capsaicin Induces Cell Cycle Arrest and Apoptosis in Human KB Cancer Cells.* BMC Complementary and Alternative Medicine 2013, 13:46
- Locksley, R. M., Kishimoto, N., Lenardo, M. J. (2001) *The TNF and TNF Receptor Superfamilies: Integrating Mammalian Biology.* Cell Press Journal 104 (4), 487-501.
- Martin, D., Lenardo, M. (2003) *Morphological, Biochemical, and Flow Cytometric Assays of Apoptosis.* USA: Current Protocols in Molecular Biology John Wiley & Sons, Inc. Available from: <http://geguchadze.com/PDF/protocols/CPonline/Doc/18166-18166.html> [Accessed 28 Juni 2014].
- Masters, John R. (2002) *Hela Cells 50 Years on: The Good, The Bad and The Ugly.* Nature Reviews Cancer 2, 315-319. Available from: [http://www.nature.com/nrc/journal/v2/n4/box/nrc775\\_BX1.html](http://www.nature.com/nrc/journal/v2/n4/box/nrc775_BX1.html) [Accessed 21 November 2013].
- MeSH. (2007) *KB Cells.* Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh?Db=mesh&term=KB+Cells> [Accessed

21 November 2013].

- Nawrot, P., Jordan, P., Eastwood, J., Rostein, J., Hugenholtz, A., & Feeley, M. (2010) *Effects of Caffeine on Human Health*. Taylor & Francis Online. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/0265203021000007840> [Accessed 21 November 2013].
- Saelens, X., Fetsjens, N., Vande Walle, L., Van Gurp, M., Van Loo, G., & Vandenabeele, P. (2004) *Toxic Proteins Released from Mitochondria in Cell Death*. *Oncogene* 23, 2861-2874.
- Somogyi, P., Laszlo. (2010) *Caffeine Intake by The U. S. Population*. The Food and Drug Administration: Oakridge National Laboratory.
- Sundquist, T., Moravec, R., Niles, A., O'Brien, M., Ross, T. (2006) *Timing Your Apoptosis Assays*. *Cell Notes* 16, 18-21. Available from: <https://worldwide.promega.com/resources/pubhub> [Accessed 5 Juli 2014].
- Tortora, G. J., Derrickson, B. (2009) *Principles of Anatomy and Physiology*. John Wiley & Sons, Inc: USA.
- Zeiss, C. J. (2003) *The Apoptosis-Necrosis Continuum : Insights from Genetically Altered Mice*. *Veterinary Pathology* 40, 481-95.