

**SITOTOKSISITAS KAFEIN DARI EKSTRAK  
ETANOL KOPI ARABIKA (COFFEA ARABICA)  
TERHADAP SEL KB**

SKRIPSI

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



Disusun Oleh

**AGUSTINUS RUDOLF PHYMA**

**41100087**

FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS KRISTEN DUTA WACANA  
YOGYAKARTA

2014

# LEMBAR PENGESAHAN

Skripsi dengan Judul :

## **SITOTOKSISITAS KAFEIN DARI EKSTRAK ETANOL KOPI ARABIKA (COFFEA ARABICA) TERHADAP SEL KB**

Telah diajukan dan dipertahankan oleh :

**AGUSTINUS RUDOLF PHYMA**

**41100087**

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 2 Juli 2014

### **Nama Dosen**

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

drg. MM.Suryani Hutomo, M.DSc  
(Dosen Pembimbing II)

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

### **Tanda Tangan**

  
\_\_\_\_\_  
  
\_\_\_\_\_  
  
\_\_\_\_\_

**Yogyakarta, 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 :

**SITOTOKSISITAS KAFEIN DARI EKSTRAK ETANOL KOPI ARABIKA**

**(COFFEA ARABICA) TERHADAP 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 didapati bahwa hasil skripsi ini adalah hasil plagiasi atau tiruan dari karya pihak lain, maka saya bersedia dikenai sanksi yakni pencabutan gelar saya.

Yogyakarta, Juli 2014



**AGUSTINUS RUDOLF PHYMA**

41100087

## LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI

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

Nama : AGUSTINUS RUDOLF PHYMA

NIM : 41100087

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 :

SITOTOKSISITAS KAFEIN DARI EKSTRAK ETANOL KOPI ARABIKA  
(*COFFEA ARABICA*) TERHADAP 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, 2 Juli 2014

Yang menyatakan,



Agustinus Rudolf Phyma

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan Yesus Kristus karena atas berkat dan rahmatNya sehingga penulis dapat menyelesaikan karya tulis ilmiah dengan judul sitotoksitas kafein dari ekstrak etanol kopi Arabika (*Coffea arabica*) terhadap sel KB.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini dapat terselesaikan atas bantuan berbagai pihak. Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. dr. Yanti Ivana Suryanto, M.Sc selaku dosen pembimbing I; drg. MM.Suryani Hutomo, M.DSc selaku dosen pembimbing II dan drg. Heni Susilowati, M.Kes., Ph.D selaku dosen penguji yang telah membimbing, mengarahkan, mengoreksi dan memberikan saran sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
2. Ibu Tri Yumarti selaku teknis dan staff LPPT UGM yang mendampingi dan mengarahkan penulis di Laboratorium sehingga penelitian dapat berjalan dengan baik;
3. Para dosen yang telah memberikan bekal dan pengetahuan tentang ilmu kedokteran selama masa perkuliahan;
4. Para staff Fakultas Kedokteran UKDW yang telah banyak membantu penulis;
5. Teman-teman seperjuangan Nadia, Sonia dan Ella yang telah mendampingi dan memberikan semangat kepada penulis;

6. Teman-teman FK angkatan 2010. Terima kasih atas kebersamaan dan kenangan manis selama 4 tahun masa perkuliahan, terutama Gebi, Rossy, Anton dan Andre;
7. Teman-teman KKN Sosromenduran Pika, Vano, Marta, Ferni, Brian dan Yeri yang memberikan semangat kepada penulis dalam mengerjakan skripsi;
8. Sahabat-sahabat terbaik yang selalu menemani penulis dan memberikan semangat kepada penulis Semprot, Mateus, Eki, Rey, Pison dan Zefa;
9. Bapak dan mama tercinta Silvester Mage dan Mami Helina Anggriany yang telah memberikan doa, kasih sayang, semangat, pengertian, kekuatan dan bantuan kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

Akhir kata, penulis sadar bahwa karya tulis ini masih jauh dari kesempurnaan, masih banyak kekurangan oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun. Penulis juga berharap karya tulis ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan.

Penulis,

2014

## DAFTAR ISI

Halaman Judul.....	i
Lembar Pengesahan .....	ii
Pernyataan Keaslian skripsi .....	iii
Lembar Pernyataan Persetujuan Publikasi .....	iv
Kata pengantar .....	v
Daftar Isi .....	vii
Daftar Gambar .....	ix
Daftar Lampiran .....	x
Abstrak .....	xi
Abstract .....	xii
<b>BAB I. PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
A. Latar Belakang.....	1
B. Permasalahan.....	2
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Manfaat Penelitian.....	3
E. Keaslian Penelitian.....	3
<b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>4</b>
A. Studi Literatur.....	4
1. Kafein.....	4
2. Sel KB.....	9
B. Kerangka Konseptual .....	12

C. Hipotesis .....	12
<b>BAB III. METODE PENELITIAN.....</b>	<b>13</b>
A. Desain Penelitian .....	13
B. Bahan dan Alat.....	13
C. Identifikasi Variabel.....	15
D. Definisi Operasional .....	15
E. Jalannya Penelitian.....	16
F. Alur Penelitian.....	21
G. Analisis Hasil .....	23
<b>BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>24</b>
A. Hasil .....	24
B. Pembahasan .....	27
<b>BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>32</b>
A. Kesimpulan.....	32
B. Saran.....	32
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>33</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>38</b>
<b>DAFTAR RIWAYAT HIDUP .....</b>	<b>55</b>



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Tabel skema pengisian larutan uji ke dalam *microplate*

Gambar 2. Sel KB setelah paparan kafein dari ekstrak etanol kopi Arabika

Gambar 3. Sumuran 96 yang telah diberi MTT dan *overnight culture*

Gambar 4. Grafik persentase kematian sel KB – paparan kafein dari ekstrak etanol kopi Arabika dan doksorubisin.

@UKDWN

## DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1. Surat keterangan kelaikan etik
- Lampiran 2. Surat permohonan izin penelitian
- Lampiran 3. Data pembuatan ekstrak kopi Arabika
- Lampiran 4. Surat keterangan dari LPPT UGM
- Lampiran 5. Hasil pembacaan nilai absorbansi pada ELISA reader sel KB – paparan kafein dari ekstrak etanol kopi Arabika
- Lampiran 6. Perhitungan persentase kematian sel KB – paparan kafein dari ekstrak etanol kopi Arabika
- Lampiran 7. Hasil analisis regresi linear persentase kematian sel KB – paparan kafein dari ekstrak etanol kopi Arabika
- Lampiran 8. Perhitungan nilai  $IC_{50}$  kafein dari ekstrak etanol kopi Arabika
- Lampiran 9. Hasil uji normalitas dan homogenitas absorbansi sel KB – paparan kafein dari ekstrak etanol kopi Arabika
- Lampiran 10. Hasil uji *one way* ANOVA absorbansi sel KB – paparan kafein dari ekstrak etanol kopi Arabika
- Lampiran 11. Hasil pembacaan nilai absorbansi pada ELISA reader sel KB – paparan doksorubisin
- Lampiran 12. Perhitungan persentase kematian sel KB – paparan doksorubisin
- Lampiran 13. Hasil analisis regresi linear persentase kematian sel KB- doksorubisin
- Lampiran 14. Perhitungan nilai  $IC_{50}$  doksorubisin

Lampiran 15. Hasil uji normalitas dan homogenitas absorbansi sel KB-doksorubisin

Lampiran 16. Hasil uji *one way* ANOVA absorbansi sel KB – doksorubisin

@UKDW

## ABSTRAK

Kafein merupakan zat yang terdapat dalam kopi yang dikonsumsi oleh masyarakat setiap hari. Konsumsi kafein mencapai 1-2 mg/kgBB/hari. Kafein dilaporkan memiliki sifat toksik terhadap beberapa sel normal maupun sel kanker. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek sitotoksik kafein terhadap sel KB dan besarnya  $IC_{50}$  kafein. Kafein yang digunakan dalam penelitian ini merupakan hasil ekstraksi kopi Arabika melalui metode maserasi menggunakan pelarut etanol. Sel KB yang digunakan merupakan model representatif epitel oral normal manusia.

Uji sitotoksitas terhadap sel KB dilakukan dengan uji MTT. Konsentrasi kafein dari ekstrak etanol kopi Arabika yang digunakan adalah 800, 400, 200, 100 dan 50  $\mu\text{g/ml}$ . Kontrol positif menggunakan doksorubisin dan sebagai kontrol negatif sel KB ditumbuhkan dalam media kultur tanpa diberi perlakuan. Perhitungan  $IC_{50}$  kafein dari ekstrak etanol kopi Arabika dilakukan dengan persamaan regresi linear. Data absorbansi sel KB setelah paparan berbagai konsentrasi kafein dari ekstrak etanol kopi Arabika diuji dengan metode statistik *one way ANOVA*. Hasil analisis regresi linear dan uji *one way ANOVA* menunjukkan kafein dari ekstrak etanol kopi Arabika menyebabkan kematian sel KB secara signifikan dengan nilai  $p = 0,005$  dan  $0,000$  ( $P < 0,05$ ). Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa kafein dari ekstrak etanol kopi Arabika memiliki efek sitotoksik terhadap sel KB dengan nilai  $IC_{50}$  370,19  $\mu\text{g/ml}$ .

Kata kunci : Kafein, Sel KB, Sitotoksitas, Uji MTT,  $IC_{50}$

## ABSTRACT

Caffeine is one of chemical substance in coffee consumed everyday by people. Caffeine consumption is about 1-2 mg/kg/day. Caffeine has been reported to have cytotoxicity effect to both normal and cancer cells. The main purpose of this research is to determine the cytotoxicity effect and  $IC_{50}$  value of caffeine to KB cell line. Caffeine was obtained by maceration extraction technique using ethanol (solvent). KB cell line is used as a representative model to human oral epithel. Cytotoxicity test was conducted using MTT assay. The concentrations of caffeine from Arabica coffee ethanol extract which are used are 800, 400, 200, 100 and 50  $\mu\text{g/ml}$ . Doxorubicin is used as positive control and KB cell line in medium without exposure is used as negative control.  $IC_{50}$  value was measured by regression linear. KB cell line absorbance values after exposure of all caffeine from Arabica coffee ethanol extract concentrations were analyzed by one way ANOVA. Linear regression and one way ANOVA analysis exhibit that caffeine from Arabica coffee ethanol extract kills KB cell line significantly with p value 0,005 and 0,000( $p < 0,05$ ). From this research could be concluded that caffeine has cytotoxic effect to KB cell line with  $IC_{50}$  value 370,19  $\mu\text{g/ml}$ .

Keywords : caffeine, KB cell, cytotoxicity, MTT assay,  $IC_{50}$

# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Kafein merupakan zat yang terdapat dalam minuman yang biasa dikonsumsi oleh masyarakat sehari-hari. Zat ini terkandung dalam kopi, teh, coklat, dan minuman bersoda. Zat yang dikenal dengan struktur kimia 1, 3, 7-*trimethylxanthine* ini merupakan derivat *xanthine* yang dikonsumsi hampir oleh seluruh masyarakat di dunia. Kandungan terbanyak kafein terdapat pada kopi (Chou, 1992). Kandungan kafein dalam kopi adalah sebesar 40-180 mg/cangkir tergantung metode penyeduhan. Konsumsi kopi di dunia mengalami peningkatan 1,2 % per tahun sejak tahun 1990 hingga lebih dari 2 % pada tahun 2010 (*International Coffee Organization*, 2010). Menurut survei yang dilakukan Barone dan Robert pada tahun 1996, konsumsi kafein di dunia sehari-hari mencapai 1-2 mg/kg/hari. Konsumsi tersebut setara dengan 70-140 mg kafein pada individu dengan berat badan 70 kg (Nehlig, 2004). Menurut badan Pengawas Obat dan Makanan (POM), batas maksimum konsumsi kafein adalah sebesar 150 mg/hari (Tika, 2011).

Kafein mempunyai beberapa efek terhadap tubuh manusia. Kafein dapat menstimulasi otak dan mempengaruhi *mood* (Nehlig, 2004), meningkatkan kemampuan berpikir (Fredholm *et al.*, 1999), menunda onset tidur (Snel *et al.*, 2004), meningkatkan aliran pembuluh darah koroner, produksi urin, sekresi lambung dan metabolisme basal (Louisa & Dewoto, 2007). Konsumsi kafein

juga dapat menurunkan faktor resiko penyakit Parkinson (Liu *et al.*, 2012), menurunkan densitas mineral tulang femur pada pria usia lanjut (Hallström *et al.*, 2010), serta menyebabkan *intrauterine growth retardation* (IUGR) dan berat badan lahir rendah pada bayi (Bracken *et al.*, 2002). Kafein juga mempunyai efek langsung terhadap sel. Paparan kafein terhadap osteoblas menunjukkan adanya efek sitotoksitas yang diakibatkan oleh apoptosis sehingga konsumsi kafein dapat menjadi faktor resiko terhadap osteoporosis (Tsuang *et al.*, 2006).

Pada penelitian ini digunakan sel KB sebagai model epitel oral, karena epitel oral adalah bagian dari tubuh yang berkontak langsung pertama kali dengan kafein. Beberapa penelitian menggunakan Sel KB sebagai model epitel oral. Sel KB digunakan untuk menguji respon epitel oral terhadap invasi *Porphyromonas gingivalis* (Lourbakos *et al.*, 2004). Selain itu, sel KB juga digunakan untuk menguji efek sitotoksik dari material *aenture base* (Huang *et al.*, 2001). Paparan ekstrak *Alpinia pruri* (Yan *et al.*, 2008), *resveratrol* (Kim *et al.*, 2011), *cordycepin* (Lee *et al.*, 2011), *capsaicin* (Lin *et al.*, 2013) pada sel KB diketahui bersifat sitotoksik.

## **B. Permasalahan**

Berdasarkan latar belakang di atas maka dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

1. Apakah kafein dari ekstrak etanol kopi Arabika mempunyai efek sitotoksik terhadap sel KB ?
2. Berapakah besarnya konsentrasi kafein dari ekstrak etanol kopi Arabika yang bersifat sitotoksik pada sel KB berdasarkan  $IC_{50}$  ?

### **C. Tujuan**

1. Untuk mengetahui efek sitotoksik kafein dari ekstrak etanol kopi Arabika terhadap sel KB.
2. Untuk menentukan besarnya konsentrasi kafein dari ekstrak etanol kopi Arabika yang menyebabkan kematian sel KB sebesar 50 %.

### **D. Manfaat**

Dari penelitian ini diharapkan :

1. Hasil penelitian dapat memberikan informasi ilmiah mengenai respon sel KB terhadap paparan kafein dari ekstrak etanol kopi Arabika secara *in vitro*.
2. Hasil penelitian dapat digunakan sebagai dasar informasi ilmiah untuk mengkaji lebih lanjut mengenai efek kafein dari ekstrak etanol kopi Arabika terhadap sel KB secara *in vitro*.

### **E. Keaslian Penelitian**

Penelitian untuk mengetahui sitotoksitas kafein sudah pernah dilakukan terhadap beberapa sel seperti sel neuroblastoma (Jang *et al.*, 2002), osteoblas (Tsuang *et al.*, 2006) dan sel kanker hepar (Kawano *et al.*, 2012). Hal-hal yang membedakan penelitian ini dengan penelitian lainnya adalah penggunaan sel KB sebagai model epitel oral dan kafein yang berasal dari ekstrak biji *Coffea arabica* dari Temanggung, Jawa Tengah.



## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### A. Kesimpulan

1. Kafein dari ekstrak etanol kopi Arabika bersifat toksik terhadap sel KB.
2. Besarnya konsentrasi kafein dari ekstrak etanol kopi Arabika yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan 50 % sel KB adalah 370,19 µg/ml.

#### B. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai respon epitel oral terhadap kafein secara *in vivo*.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai tipe dan mekanisme kematian sel KB akibat paparan kafein yang berasal dari ekstrak kopi Arabika.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai sitotoksitas kafein terhadap sel epitel oral dengan menggunakan ekstrak kopi jenis lainnya.
4. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai sitotoksitas kafein terhadap sel KB dengan menggunakan pelarut aqua destilata.
5. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai sitotoksitas kafein terhadap sel KB dengan menggunakan pelarut pengencer kafein selain DMSO

## DAFTAR PUSTAKA

- ATCC. (2012) KB Culture method. Available from: [www.atcc.org/products/all/ccl-17.aspx#culturemethod](http://www.atcc.org/products/all/ccl-17.aspx#culturemethod)[Accessed 12 June 2013]
- ATCC. (2012) KB specifications. Available from :[www.atcc.org/products/all/ccl-17.aspx#specifications](http://www.atcc.org/products/all/ccl-17.aspx#specifications)[Accessed 12 June 2013]
- Baguley, B.C., Hicks, K.O., Wilson, W.R. (2001). Tumor cell cultures in drug development. In: Baguley, B.C & Kerr, J.D.ed. *Anticancer Drug Development*. California: Academic Press.
- Bracken, M.B., Triche, E.W., Belanger, K., Helzlsouer, K., Leaderer, B.P. (2002) Association of maternal caffeine consumption with decrements in fetal growth. *American Journal Of Epidemiology*. 155 (5).
- Bode, A.M. & Dong, Z. (2007) The enigmatic effects of caffeine in cell cycle and cancer. *Cancer Letters*. 247:26-39.
- Chou,T. (1992) Wake Up and Smell the coffee - Caffeine,coffee and the medical consequences. *The Western Journal of Medicine*. 157 : 544-553.
- Daly, J.W. & Fredholm, B.B. (2001) Mechanism of action of caffeine on the nervous system. In: Nehlig, A. ed. *Coffee, tea, chocolate, and the brain*. Florida : CRC press, pp.11-15.
- Fredholm ,B.B., Battig, K., Holmen, J., Nehlig, A & Zwartav, E. (1999) Actions of caffeine in the brain with special reference to factors that contribute to its widespread use. *Pharmacological Reviews*, 51, 83-133. available from: [phrmrev.aspetjournals.org/content/51/1/83.long](http://phrmrev.aspetjournals.org/content/51/1/83.long) [Accessed 1 July 2013]
- Goldstein, E.R., Ziegenfuss, T., Kalman, D., Kreider, R., Campbell, B., Wilborn, C., Taylor, L., Willoughby, D., Stout, J., Graves, B.S., et al. (2010) International society of sports nutrition position stand: caffeine and performance. *Journal Of International Society Of Sport Nutrition* 2010, 7:5.
- Hallström, H., Melhus, H., Glynn, A., Lind, L., Sylvanen, A.C., Micahelsson , K. (2010) Coffee consumption and CYP1A2 genotype in relation to bone mineral density of the proximal femur in elderly men and women: a cohort study. *Nutrition And Metabolism* 2010, 7:12.
- Heneen, W.H. (1976) Hella cells and their possible contamination of other cell lines: kariotype studies. *Hereditas*. 82. Pp. 217-248.

Hill, G.M., Moriarty, D.M., Setzer, W.N. (2011) Attenuation of cytotoxic natural product DNA intercalating agents by caffeine. *Scientia Pharmaceutica*. 2011;79. Pp. 729-747.

Hseu, Y.C., Chen, S.C., Wang, S.Y. (2009) 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.

Huang, F.M., Tai, K.W., Hu, C.C., Chang, Y.C. (2001) Cytotoxic effects of denture base materials on a permanent human oral epithelial cell line and on primary human oral fibroblast in vitro. *The International Journal Of Prosthodontics*. Vol.14.No.5.

Itharat, A., B, Ooraikul. (2007) Research on Thai medicinal Plants for cancer treatment. *Advances In Medicinal Plant Research*.

International Coffee Organization. (2010) *Coffee*. Available from : [www.ico.org/caffeine.asp?section=About\\_Coffee](http://www.ico.org/caffeine.asp?section=About_Coffee) [accessed 1 July 2013].

International Coffee Organization. (2010) *World coffee trade*. Available from : [www.ico.org/trade\\_e.asp](http://www.ico.org/trade_e.asp) [Accessed 1 July 2013].

Jang, M.H., Shin, M.C., Kang, J.S., Baik, H.H., Cho, Y.H., Chu, J.P., Kim, E.H., Kim, C.J. (2002) Caffeine induces apoptosis in human neuroblastoma cell line SK-N-MC. *Journal Of The Korean Academy Of Medical Sciences* 2002; 17: 674-8.

Kawano, Y., Nagata, M., Kohno, T., Ichimiya, A., Iwakiri, T., Okumura, M., Arimori, K. (2002) Caffeine increase the antitumor effect of cisplatin in human hepatocellular carcinoma cells. *Biological And Pharmaceutical Bulletin* 35(3) 400—407.

Kim, J.H., Jung, J.Y., Shim, J.H., kim, J., Choi, K.H., Shin, J.A., et al (2010). Apoptotic effect of tolfenamic acid in KB human oral cancer cells: possible involvement of p38 MAPK pathway. *Journal Of Clinical Biochemistry And Nutrition*.,47,74-80,july 2010.

Kim, S.H., Kim, H.J., Lee, M.H., Yu, S.K., Kim, C.S., Keuk, J.K., et al (2011). Resveratrol induce apoptosis of KB human oral cancer cells: *Journal Of The Korean Society For Applied Biological Chemistry* 54(6), 966-971 (2011).

Konje, J.C. (2008) maternal caffeine intake during pregnancy and risk of fetal growth restriction: a large prospective observational study. *British Medical Journal*. 2008;337:a2332.

Kuhlmann, W., Fromme, H.G., Heege, E.M., Ostertag, W. (1968) The mutagenic action of caffeine in higher organism. *Cancer Research* 28; 2375-2389.

Kuwayama, H. (2012) Arachidonic acid enhances caffeine-induced cell death via Caspace-independent cell death. *Scientific Reports*,2:557.

Lee, J.H., Hong, S.M., Sun, J.Y., Myoung, H., Kim, M.J. (2011) Anticancer effects of cordycepin on oral squamous cell carcinoma proliferation and apoptosis in vitro. *Journal Of Cancer Therapy*, 2011, 2,224-234.

Li, H.,Jin, S.Y., Son, H.J., Seo, J.H., Jeong, G.B. (2013) caffeine- induced endothelial cell death and the inhibition of angiogenesis. *Anatomy And Cell Biology* 2013;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.

Liu, R., Guo, X., Park, Y., Huang, X., Sinha, R., Freedman, N.D., Hollenbeck, A.R.,et al (2012) Caffeine Intake ,smoking and risk of Parkinson disease in men and women.*American Journal Of Epidemiology* 175(11) pp 1200-1207.

Loomans, E.M., Hoffland. L., Stelt, O.D.V., Wal, J.F., Koot, H.M., Bergh, B.R., et al (2012) Caffeine intake during pregnancy and risk of problem behavior in 5 to 6 year old children. *Pediatrics* 2012, 130.e305 DOI:10.1542/pods.2011-3361.

Louisa, M. & Dewoto, H.P. (2007) Perangsang susunan saraf pusat. In: Gunawan,S. ed. *Farmakologi dan Terapi* edisi 5. Jakarta : Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

Lourbakos, A., Potempa, J., Travis, J., D'Andrea, M.R., Gordon, P.A., Santolli, R., et al (2001) Arginine specific protease from Porphyromonas gingivalis activates protease-activated receptors on human oral epithelial cells and induces interleukin-6-secretion. *Infection And Immunity*. Vol.69, No.8.p.5121-5130.

MESH. KB cells. Available form :[www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/?term=kb+cells](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/?term=kb+cells)[Accessed 12 june 2013].

Meyer, B.N., Ferrigni, N.R., Putnam, J.E., Jacobson, L.B., Nichols, D.E., McLaughlin, J.L. (1982). Brine Shrimp; A convenient General Bioassay for Active Plant constituent. *Journal Of Medicinal Plant Research*. 45 :31-34.

Moriguchi, T., Toyoshima, F., Gotoh, Y., Iwamatsu, A., Irie, K., Mori, E.,et al (1996) Purification and identification of a major activator for p38 from osmotically shocked cells. Activation of mitogen activated protein kinase-kinase 6 by osmotic shock, tumor necrosis factor-alpha, and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *The Journal Of Biological Chemistry*. Available from : [www.wikigenes.org/e/ref/e/8900984](http://www.wikigenes.org/e/ref/e/8900984)[Accessed 8 July 2014].

Nehlig, A. (2004) Dependence upon coffee and caffeine: an update. In: Nehlig A. ed. *Coffee, Tea, Chocolate, and the brain*. Florida : CRC press, p. 138.

Nehlig, A. (2004) Effects of coffee on the central nervous system. In: Illy, E.& Pizano,D.ed. *Proceedings of the International seminar on coffee and health new 40<sup>th</sup> anniversary meeting of the ICO Cartagena,Columbia,15 september 2003*.Chincina:The commodities press.pp.20-27.

Nelson, D.L. & Cox, M.M. (2004) *Lehninger principles of biochemistry, fourth edition*. Pdf.

Niknafz, B. (2011) Induction of apoptosis and non apoptosis in human breast cancer cell line (MCF-7) by cisplatin and caffeine. *Iranian Biomedical Journal* 15 (4): 130-133 (October 2011).

PharmGkb. (2014) *Doxorubicin Pathway*. Available from : [www.pharmgkb.org/pathway/PA165292163](http://www.pharmgkb.org/pathway/PA165292163)[Accessed 1 June 2014]

Prayong, P., Barusrux, S., Weerapreeyathai,N. (2008) cytotoxic activity screening of some indigenous Thai plants. *Fitoterapia*. 75 : 588-601.

Quentmeier, H., Osborn, M., Reinhardt, J., Zaboriski, M., Drexler, H.G. (2001) Immunocytochemical analysis of cell lines derived from solid tumors. *Journal Of Histochemistry And Cytochemistry* Vol49. (11):1369-1378.

Saetung,A., Itharat, A., dechsukun, C., Keawpradub, K., Wattanapiromsakul, C., Ratanasuwan, P. (2005) Cytotoxic activity of Thai medicinal plants for cancer treatment. *Songklanakarajournal Of Science And Technology*. 27 : 469-478.

Shen, J., Huang, C., Jiang, L., Guo, F., Wang, Z., Zhang, Y., et al (2007) Enhancement of cisplatin induced apoptosis by suberoylanilide hydroxamic acid in human oral squamous cell carcinoma cell lines. *Biochemical Pharmacology* 73 (2007) 1901-1909.

Snel, J., Tieges, Z., Lorist, M.M. (2004) effects of caffeine on sleep and wakefulness: an update. In: Nehlig A. ed. *Coffee, Tea, Chocolate, and the brain*. Florida : CRC press, p.22.

Sukohar, A., Setiawan., Wirakusuma, F.F., Sastramihardja, H.S. (2011) Isolasi dan Karakterisasi senyawa sitotoksik kafein dan asam klorogenat dari biji kopi Robusta Lampung. *Jurnal Medika Planta*. Vol 1. No.4. Oktober 2011.

Syahfitri, N. (2009) Pengaruh berat dan waktu penyeduhan terhadap kadar kafein dari bubuk teh. Medan: Universitas Sumatera Utara.

Thorn, C.F., A, Eleni., McDonagh, E.M., Klein, T.E., Altman, R.B. (2012) PharmGKB summary:caffeine pathway. *Pharmacogenet Genomics*. 2012 May ; 22(5): 389–395.

Tika (2011). Hal-hal yang perlu diwaspadai untuk menghindari keracunan kafein dalam minuman. Available from : [lk.pom.go.id/wp-content/uploads/2011/11/waspada-keracunan-kafein-dalam-minuman-berenergi.pdf](http://lk.pom.go.id/wp-content/uploads/2011/11/waspada-keracunan-kafein-dalam-minuman-berenergi.pdf) [Accessed : 1 July 2013].

Tsuang, H.Y., Sun, J.S., Chen, L.T., Sun, S.C.K., Chen, S.C. (2006) Direct effects 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.

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* 46 (2008) 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* 161 (2010) 1542–1552.

@UKDM