

**EFEK PEMBERIAN KAFEIN TERHADAP JUMLAH DAN MORFOLOGI
LEUKOSIT MENCIT (*Mus musculus* L) SWISS WEBSTER**

SKRIPSI

**Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains Bidang Studi Biologi**



Oleh:

Meika Fuspita Sari

09053140013

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
NOVEMBER 2009**

S
613.840 7
sar
C-071673

**EFEK PEMBERIAN KAFEIN TERHADAP JUMLAH DAN MORFOLOGI
LEUKOSIT MENCIT (*Mus musculus L*) SWISS WEBSTER**

SKRIPSI
Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains Bidang Studi Biologi



Oleh:

Meika Puspita Sari

09053140013

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
NOVEMBER 2009**

LEMBAR PENGESAHAN

**EFEK PEMBERIAN KAFEIN TERHADAP JUMLAH DAN MORFOLOGI
LEUKOSIT MENCIT (*Mus musculus* L) SWISS WEBSTER**

SKRIPSI

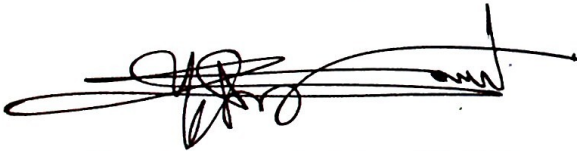
**Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains Bidang Studi Biologi**

Oleh :

Meika Puspita Sari

09053140013

Pembimbing II



Drs. Arwingsyah Arka, M. Kes
NIP. 19581010 198703 1 004

Indralaya, 19 November 2009
Pembimbing I



Drs. Erwin Nofyan, M.Si
NIP. 19561111 198603 1 002

Mengetahui :
Ketua Jurusan Biologi




Dr. Zazili Hanafiah, M.Sc
NIP. 19590909 198703 1 004

LEMBAR PERSEMBAHAN

Orang biasanya menunggu kesempatan datang pada mereka, tetapi orang yang kuat, pintar, dan siaga akan mencari dan mengejar kesempatan (BC Forbes)

Pemenang sejati dalam hidup ini adalah mereka yang melihat pada tiap keadaan dengan harapan mereka dapat menghadapi keadaan tersebut atau membuatnya menjadi lebih baik (Barbara Pletcher)

Kupersembahkan karya ini kepada:

♥ *Kedua orang tuaku, Bapak (Ir. A. Fattah, HZ, M.S) dan mama (Dra. A. Pipin Dari)*

♥ *Adikku tercinta, Dwinta Fitrianty*

♥ *Kakek dan Nenekku (H.Zawawi dan Siti aisyah)*

serta (Husaini Sidik dan Alm Setiamah)

♥ *Almamaterku*

KATA PENGANTAR

Dengan memanjatkan puji syukur kehadirat Allah SWT, karena berkat rahmat dan karunia-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“EFEK PEMBERIAN KAFEIN TERHADAP JUMLAH DAN MORFOLOGI LEUKOSIT MENCIT (*Mus musculus*) SWISS WEBSTER”** yang merupakan syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains Bidang Biologi di Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya.

Dalam kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada kedua dosen pembimbing yaitu Bapak Drs Erwin Nofyan, M.Si dan Bapak Drs Arwinsyah Arka, M.Kes yang telah membantu, meluangkan waktu dan pikiran dalam memberikan dorongan, pengarahan, dan nasehat guna menyelesaikan skripsi ini dari awal hingga akhir.

Dalam kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Bapak Dr. Zazili Hanafiah, M.Sc., selaku Ketua Jurusan Biologi Universitas Sriwijaya
2. Ibu Yuanita Windusari, S.Si, M.Si sebagai dosen pembahas dan dosen penguji
3. Bapak Drs Mustafa Kamal, M.Si sebagai dosen pembahas dan penguji
4. Bapak Dr. Salni, M.Si sebagai dosen pembahas dan penguji
5. Ibu Dra. Muharni, M.Si sebagai dosen tamu dan penguji

6. Bapak Arum Setiawan, S.Si, M.Si, terima kasih atas bimbingan dan kesabarannya serta diskusinya yang sangat bermanfaat buat penulis
7. Seluruh staf pengajar Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Sriwijaya atas bimbingan, pengarahan dan ilmu pengetahuan yang telah diajarkan selama ini.
8. Seluruh staf administrasi Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Sriwijaya (Pak Nanang dan Bu Yeni) atas bantuan dan kemudahan yang diberikan.
9. Keluargaku tercinta (Bapak, mama dan adikku) atas dukungan, kasih sayang, bantuan serta do'a dan cintanya.
10. Sahabat – sahabat selama menyelesaikan tugas akhir: ecy, belle, joa, andiri, dan teman – teman yang setia bersama dan memberikan semangat.

Dalam penyusunan Laporan Tugas Akhir ini penulis menyadari masih banyak terdapat kekurangan sehingga diperlukan kritik dan saran dari berbagai pihak. Penulis berharap Laporan Tugas akhir ini nantinya dapat berguna bagi kita semua. Amin

Palembang, November 2009

THE EFFECT OF GIVING CAFFEINE TO LEUKOCYTE NUMBER AND LEUKOCYTE MORPHOLOGY OF MICE (*Mus musculus* L) SWISS WEBSTER

By:

MEIKA PUSPITA SARI
09053140013

ABSTRACT

The aims of this research were to study the effects of giving caffeine in different concentration to leukocyte number dan leukocyte morphology. For these purposes, caffeine was treated orally to mice (*Mus musculus* L.) within a month. This research has been done on September to November 2009 in Zoology Laboratory, Mathematics and Science Faculty of Sriwijaya University, Indralaya. In this research, Complete Random Design with 4 experimental categories i.e.: 0,1 ml aquadest/10g body weight as the control, 0,25 mg caffeine/10 g body weight, 0,50 mg caffeine/10 g body weight, and 0,75 mg caffeine/10 g body weight was used in this experiment. The data resulted were analyzed by Analysis of Variance. Morphology of leukocyte was analyzed qualitatively. The result showed that the treatment of caffeine in 0,50 mg/10 g body weight's dosages increased leukocyte number highly in third week; 0,25 mg/10 g body weight's dosages increased leukocyte number but sooner in every week; 0,75 mg/10g body weight's increased leukocyte number at the first and second time of treatment but decreased in third and fourth week.

Key words: caffeine, mice (*Mus musculus* L.), Leukocyte Number, Leukocyte morphology



EFEK PEMBERIAN KAFEIN TERHADAP JUMLAH DAN MORFOLOGI LEUKOSIT MENCIT(*Mus musculus L*) SWISS WEBSTER

Oleh:

MEIKA PUSPITA SARI

09053140013

ABSTRAK

Penelitian mengenai efek pemberian kafein terhadap jumlah dan morfologi leukosit mencit (*Mus musculus L.*) Swiss Webster telah dilakukan pada bulan September sampai dengan November 2009, bertempat di Laboratorium Zoologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, Indralaya. Pada penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan yaitu, 0,1 ml/10 g BB sebagai kontrol, 0,25 mg/10 gBB, 0,50 mg/10 gBB, dan 0,75 mg/10 gBB. Parameter yang diamati adalah jumlah dan morfologi leukosit. Data yang didapatkan akan dianalisa dengan ANAVA. Morfologi leukosit dianalisis secara kualitatif dengan membandingkan pada sediaan apus. Dari hasil pengamatan yang dilakukan, diketahui bahwa peningkatan jumlah kafein yang paling tinggi terjadi pada dosis 0,50 mg/10 gBB pada pengamatan minggu ke-3. Untuk dosis perlakuan 0,25 mg/10 gBB, peningkatan leukosit terjadi setiap minggu pengamatan tetapi masih berada dalam kisaran normal, dosis 0,75 mg/10 gBB, pada minggu ke-1 dan ke-2 terjadi peningkatan tetapi menurun pada minggu ke-3 dan ke-4. Dapat disimpulkan bahwa pemberian kafein dosis 0,50 mg/10g BB mengakibatkan kenaikan jumlah leukosit meskipun tidak berpengaruh nyata.

Kata kunci: kafein, mencit (*Mus musculus L.*), jumlah leukosit dan morfologi



DAFTAR ISI



	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
LEMBAR PERSEMBAHAN DAN MOTTO.....	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
ABSTRACT.....	v
ABSTRAK.....	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	viii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR LAMPIRAN.....	x
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penulisan.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
1.5 Hipotesis.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Kafein.....	4
2.2 Metabolisme Kafein.....	5
2.3 Efek Kafein.....	7
2.4 Tinjauan Darah.....	9
2.5 Tinjauan Leukosit.....	9

2.5.1	Neutrofil.....	10
2.5.2	Eosinofil.....	11
2.5.3	Basofil.....	12
2.5.4	Monosit dan Limfosit.....	13
2.6	Tinjauan Umum Mencit.....	15
 BAB III METODOLOGI PENELITIAN		
3.1	Waktu dan Tempat.....	16
3.2	Alat dan Bahan.....	16
3.3	Cara Kerja.....	17
3.3.1.	Persiapan.....	17
3.3.2.	Persiapan Larutan.....	11
3.3.3.	Tahap Perlakuan.....	18
3.3.4.	Pemeriksaan Jumlah Leukosit.....	18
3.3.5.	Pemeriksaan Morfologi Leukosit.....	19
3.4.	Analisa Data.....	20
 BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		
4.1.	Hasil.....	21
4.1.1.	Jumlah Leukosit Darah Mencit.....	21
4.1.2.	Morfologi Leukosit.....	26
 BAB V KESIMPULAN DAN SARAN		
5.1.	Kesimpulan.....	32
5.2.	Saran.....	33
 DAFTAR PUSTAKA.....		34
 LAMPIRAN		

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Struktur Kimia Kafein.....	7
Gambar 2. Metabolisme kafein dalam tubuh manusia.....	7
Gambar 3. Neutrofil Normal pada manusia.....	12
Gambar 4. Eosinofil Normal.....	13
Gambar 5. Basofil Normal pada manusia.....	14
Gambar 6. Limfosit dan Monosit.....	16
Gambar 7. Kurva hubungan perlakuan dengan rata-rata jumlah leukosit.....	23
Gambar 8. Pengamatan Minggu ke-1.....	27
Gambar 9. Pengamatan minggu ke-2.....	28
Gambar 10. Pengamatan minggu ke-3.....	29
Gambar 11. Pengamatan minggu ke-4.....	30

DAFTAR TABEL

Gambar	Halaman
Tabel 1. Jumlah kafein yang diperlukan.....	18
Tabel 2. Rata-rata jumlah leukosit darah mencit.....	21
Tabel 3. Hasil ANAVA tiap waktu pengamatan.....	23

DAFTAR LAMPIRAN

Gambar	Halaman
Tabel 1. Data jumlah leukosit mencit.....	38
Tabel 2. Rata-rata peningkatan jumlah leukosit mencit.....	40
Tabel 3. Hasil analisis sidik ragam pengaruh perlakuan.....	40

BAB I PENDAHULUAN



1.1. Latar Belakang

Dalam kehidupan sehari – hari, kita tidak terlepas dari zat toksik yang masuk ke dalam tubuh, baik yang berasal dari makanan, minuman atau obat – obatan yang sering kita konsumsi. Kafein merupakan salah satu zat toksik yang terdapat dalam makanan dan minuman seperti kopi, kola, dan minuman penambah energi. Kafein berperan sebagai stimulan yang dipercaya dapat mengembalikan kesegaran tubuh, membuat kita lebih fokus dan segar. Kafein banyak dikonsumsi oleh para pekerja malam dan mereka yang membutuhkan energi ekstra, karena itulah kafein sering dikonsumsi secara berlebihan. Konsumsi kafein yang berlebihan inilah yang nantinya akan menyebabkan timbulnya berbagai efek negatif pada tubuh.

Kafein merupakan senyawa yang bersifat toksik yang dapat menimbulkan efek sistemik apabila dikonsumsi dalam jumlah yang berlebihan. Efek sistemik ini terjadi pada jalan masuk toksikan kemudian bahan toksikan dicerna lalu diserap dan didistribusi hingga sampai pada organ target. Efek toksisitas yang sistemik, target utamanya adalah sistem saraf pusat kemudian sistem sirkulasi dan sistem hematopoietik, organ viseral dan kulit (Mukono 2005: 8).

Kadar kafein yang berlebihan yang masuk ke dalam tubuh dapat mengganggu sistem hematopoietik atau sistem pembentukan darah terutama terhadap morfologi dan jumlah leukosit. Fluktuasi dari leukosit dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti, stres, aktivitas fisiologis, umur serta respon tubuh terhadap zat toksik, peradangan dan infeksi (Dellman & Brown 1999: 115). Apabila sistem pembentukan darah terganggu

tentunya akan berpengaruh terhadap fungsi darah sebagai sistem pengangkut nutrisi, oksigen, sistem pertahanan tubuh/antibodi, serta sistem pembekuan darah. Fungsi darah dapat terganggu apabila parameter darah tidak normal, akibatnya terjadi gangguan atau penyakit pada darah dan fungsi darah yang pada gilirannya akan menyebabkan gangguan pada organ lain.

Konsumsi kafein yang berlebihan dapat merangsang hipotalamus pada sistem saraf pusat untuk mensekresikan beberapa hormon, yaitu epinefrin (adrenal), dopamin, kortisol, dan noradrenalin. Hormon epinefrin berpotensi meningkatkan tekanan darah serta detak jantung yang banyak dilaporkan menjadi penyebab dari timbulnya rasa stres yang mengakibatkan terjadinya kenaikan jumlah dari neutrofil, sementara hormon kortisol akan menekan sistem imun dengan menyebabkan produksi limfosit dan eosinofil berkurang (Anonim^e 2009: 4).

Kajian tentang efek – efek negatif kafein telah banyak dilakukan, seperti pada penelitian Manalu (2004) melaporkan bahwa kafein dapat menyebabkan menurunnya kadar protein dan berat sereblum otak mencit jantan. Hotmaidah (2007) melaporkan bahwa pemberian kafein dapat meningkatkan kadar glukosa dan berat badan mencit dengan pemberian dosis 0,25 mg – 1,0 mg/10 g BB. Informasi tentang efek negatif kafein terhadap jumlah dan morfologi leukosit belum diketahui, maka perlu dilakukan penelitian mengenai pengaruh kafein terhadap jumlah dan morfologi leukosit mencit.

1.2. Perumusan Masalah

Keberadaan kafein yang terkandung pada berbagai jenis makanan dan minuman seperti kopi, cola, dan minuman berenergi serta obat – obatan jika dikonsumsi oleh manusia secara berlebihan dapat menyebabkan gangguan pada sistem saraf pusat dengan sekresi hormon epinefrin yang berlebihan, peningkatan sekresi hormon tersebut akan menekan sistem kekebalan tubuh, maka dapat dibuat suatu perumusan masalah: Bagaimana pengaruh pemberian kafein terhadap jumlah dan morfologi leukosit mencit (*Mus musculus*) Swiss Webster?

1.3. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk melihat peningkatan dan perubahan yang terjadi pada leukosit selama pemberian kafein.

1.4. Manfaat Penelitian

Diharapkan hasil penelitian ini dapat memberikan informasi bagi pengguna kafein bahwa akibat pemberian perlakuan kafein pada mencit dapat menyebabkan gangguan pada jumlah dan morfologi dari leukosit untuk diwaspadai karena berkemungkinan dapat terjadi pada manusia.

1.5. Hipotesis

Diduga pemberian konsentrasi kafein 0,50 mg/10 g BB meningkatkan jumlah dan menyebabkan perubahan pada leukosit mencit (*Mus musculus*) Swiss Webster.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim^a. 1995. Kafein. Diakses dari: <http://www.republika.co.id>. Pada tanggal:11 mei 2009.
- Anonim^b. 2002. Influence of caffeine on Lysozime Activity in The Blood Serum of Mice. Diakses dari <http://www.republika.co.id>. Pada tanggal:11 mei 2009
- Anonim^c. 2009. Kafein dan Wanita. Diakses dari: <http://www.republika.co.id>. Pada tanggal:11 mei 2009.
- Anonim^d. 1997. Gizi dan Kesehatan Kafein. Diakses dari: http://web.ipb.ac.id/~tpg/de/pubde_ntrtnhlth_teh.php
- Anonim^e.2009. Efek Kesehatan Kopi dan Kafein pada Stres. Diakses dari <http://teecino.com>. Pada tanggal: 18 Oktober 2009.
- Anonim^f. 2001. Pengaruh Stres Akibat Cemas Ujian Semester Terhadap Jumlah Leukosit *Jurnal immunology*. http://www.m3undip.org/ed2/artikel_03_full_text_02.htm (Juli 2009)
- Asthon, C.H. 1987. Caffeine & Health. *British Medical Journal* 295 6609 : 1293- 1294.
- Bishop NC, Fitzgerald C, Porter PJ, Scanlon GA, Smith AC (2005). Effect of caffeine ingestion on lymphocyte counts and subset activation *in vivo* following strenuous cycling. *Eur J Appl Physiol* 93:606–13.
- Burkitt, H.G., B. Young, dan J.W. Heath. 1995. *Histologi Fungsional*. Edisi 3. Penerjemah: Tambajong, J. Jakarta: EGC Penerbit Buku Kedokteran
- Cannon, M. E.; Cooke, C. T.; McCarthy J. S. (2001) Caffeineinduced cardiac arrhythmia: an unrecognised danger of healthfood products. *Medical Journal of Australia* 174, 520–521.
- DAN, G. and S.B. LALL. 1998. Neuroendocrine modulation of immune system. *Ind. J. Pharmacol.* 30: 129-140.
- Dellman & Brown. 1999. *Histologi Dasar*. Jilid I. Yogyakarta. UGM-Press
- Elieser. 2007. Pengaruh Pemberian Kafein terhadap berat testis, Diameter dan tebal ephitel tubulus seminiferus testis Tikus putih (Rattres norvegicus strain wistar). Diakses dari:<http://adln.lib.unair.ac.id/go.php?id+jiptunair-gdl-S2-2007-elieser-57&PHPSESSID=6036ece4b7bf436e0e0085fc6cd1fa7b>. pada tanggal: 21 oktober 2007.

- Emon, W. 2005. *Coffee and The Side effect*. ([Http://www.Yahoo.com](http://www.Yahoo.com), diakses 8 Januari 2009).
- Foye, W.O. 1995. *Prinsip – pirinsip Kimia Medisinal*. Edisi 2. Alih Bahasa: Raslim Rasyid, dkk. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Friedman, LS. 1992. Peptic Ulcer and related disorders in Fanci AS, Braundwald, E, Isselbacheret KJ.et.al. Harison's Principle of Internal Medicine (14th ed), (Page 154-1616). Mc.Graw-Hill, New York.
- Gandasoebrata. 1992. *Penuntun Laboratorium Klinik*. Jakarta : PT Dian Rakyat.
- Ganiswara, Sulistia G. 1995. *Farmakologi dan terapi*. Edisi 4. Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran. Jakarta: Universitas Indonesia.
- GUPTA, B.B.P. and K. LALCHHANDAMA. 2002. Molecular mechanisms of glucocorticoid action. *Curr. Sci.* 83: 1103-1111.
- HILLMAN, P.E., N.R. SCOT and A.V. TIENHOVEN. 2000. Physiological responses and adaptations to hot and cold environments. *In: Stress Physiology in Livestock*. M.K. YOUSEF (Ed.). Vol 3 Poultry. CRC Press. Florida. pp. 1-71.
- Horrigan LA, Kelly JP, Connor TJ (2006). Immunomodulatory effects of Efek Immunomodulatory caffeine: friend or foe? *Pharmacol Ther* 111:877–92. kafein: teman atau musuh? *Pharmacol Ther* 111:877-92.
- Hoffbrand, A.V dan J.E. Pettit. 1987. *Kapita Selekta Haematologi*. Edisi 2. Penerjemah: Darmawan, I. Jakarta: EGC Penerbit Buku Kedokteran.
- Ikrawan, Yusep. 2005. *Dampak Kafein Untuk Kesehatan*. Diakses dari: <http://www.pikiran-rakyat.com/cetak/2005/0205/-3/cakrawala/info02.htm>.
- Jacobson, M.F., Goldman, A.S., & Syme, R.H. 1981. Coffe & birth defect. *Lancet* 1 : 1415-16. Kaufmann, M.H. 1992.
- Jacobs I, Pasternak H, Bell DG. 2003. Effects of ephedrine, caffeine, and their combination on muscular endurance. *Med Sci Sports Exerc.*;35:987-994.
- Kage, W. 1995. *Principles of Meditational Chemistry*. Jilid I. Edisi 2. UGM Press. Yogyakarta
- Lu, F.C. 1995. *Toksikolog Dasar, Asas, Organ sasaran dan peneltian Resiko*. Alih Bahasa. Edi Nugroho, dkk. Jakarta: UI-Press.

- Manalu, Ita Romantika. 2004. Pengaruh Pemberian berbagai Kadar kafein terhadap Kadar Protein Total pada Otak Mencit jantan (*Mus musculus*) swiss Webster. *Skripsi S1*: Palembang. Fakultas Matematika dan Ilmu pengetahuan Alam. Universitas Sriwijaya.
- Mukono, H.J. 2005. *Toksikologi Lingkungan*. Airlangga University Press. Surabaya: xvii+247
- Ngatijan. 1991. *Metode Laboratorium dalam Toksikologi*. Petunjuk Laboratorium, PAU Bioteknologi UGM, Yogyakarta.
- Pearce, E. 2002. *Anatomi dan Fisiologis Untuk Paramedis*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta: vii+333 hlm
- Pollard, I. Increase in plasma concentration of steroid in rat after of caffeine: Comparison in plasma disposition of caffeine. *J. Endocrinol.* 119.
- Price & Wilson. 2006. *Patofisiologi*. Edisi 6. EGC. Jakarta: hal 374 – 375.
- Rugh, R. 1968. *The Mouse it's Reproduction and Development*. Radiology Departemen. Columbia University. Burgess Publishing Company.
- Sakamoto, M.K., Mima, S., Kihara, T., Matsuo, T., Yasuda, Y., & Tanimura, T. 1993. Development toxicity of caffeine in the larvae of *Xenopus laevis*. *Teratology* 47 : 189-201.
- Sawynok, J. & Yaksh, T.L. 1993. Caffeine as an analgesic adjuvant : A review of pharmacology & mechanism of action. *Pharmacological Reviews* 45 1: 45-46.
- SCOPE, A, T. FILIP, C. GABLER and F. RESCH. 2001. The influence of stress from transport and handling on hematologic and clinical chemistry blood parameters of racing pigeons (*Columba livia domestica*). *Avian Dis.* 46: 224-229.
- Sunaryo, R. 1995. *Farmakologi dan terapi*. Edisi 4, hal 229. Penerbit FKUI, Jakarta, Indonesia.
- Taylor, P. 1986. *Practical teratology*, Academic Press, New York.
- Triyanti, Jeffi. 2004. Efek kafein Terhadap Morfologi dan Histologi hati dan Ginjal Fetus Mencit (*Mus musculus*) Swiss Webster. *Skripsi S1*: Palembang. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sriwijaya.
- Ulrich, B. 1958. *Coffee and Caffeine*. Bristol, J. Wright and Sons Ltd.,

