

AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL 70% KULIT BUAH DELIMA (*Punica granatum* L.) TERHADAP EKSPRESI PROTEIN CASPASE-3 PADA JARINGAN KANKER KOLON MENCIT

**Skripsi
Untuk Melengkapi Syarat-syarat guna Memperoleh Gelar
Sarjana Farmasi pada Program Studi Farmasi**

**Disusun oleh:
Sri Wahyuni
1404015348**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI DAN SAINS
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA
JAKARTA
2020**

Skripsi dengan Judul

AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL 70% KULIT BUAH DELIMA (*Punica granatum* L.) TERHADAP EKSPRESI PROTEIN CASPASE-3 PADA JARINGAN KANKER KOLON MENCIT

Telah disusun dan dipertahankan di hadapan penguji oleh:
Sri Wahyuni, NIM 1404015348


Tanda Tangan

Tanggal

Ketua

Wakil Dekan I

Drs. apt. Iniding Gusmayadi, M.Si.

 7/10/21

Penguji I

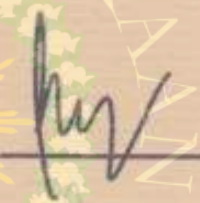
Dr. apt. Siska, M.Farm.



01 November 2020

Penguji II

Dr. H. Priyo Wahyudi, M.Si.



15 Desember 2020

Pembimbing I

Dr. Kusmardi, M.Sc.



19 Desember 2020

Pembimbing II

apt. Numlil Khaira Rusdi, M.Si.



20 Desember 2020

Mengetahui:

Ketua Program Studi

apt. Kori Yati, M.Farm.



6/1.2021

Dinyatakan lulus pada tanggal: **07 Oktober 2020**

ABSTRAK

AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL 70% KULIT BUAH DELIMA (*Punica granatum L.*) TERHADAP EKSPRESI PROTEIN CASPASE-3 PADA JARINGAN KANKER KOLON MENCIT

Sri Wahyuni
1404015348

Pemanfaatan tanaman herbal sebagai agen terapi kanker saat ini telah banyak digunakan oleh masyarakat. Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai antikanker adalah kulit buah delima (*Punica granatum L.*). Kulit buah delima diketahui memiliki kandungan ellagitanin, asam elagat, dan asam galat yang berkhasiat sebagai antikanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas ekstrak etanol 70% kulit buah delima (*Punica granatum L.*) terhadap ekspresi protein caspase-3 pada jaringan kanker kolon mencit sebagai parameter terjadinya apoptosis. Pengujian dilakukan dengan menggunakan teknik pewarnaan imunohistokimia. Persentase sel yang mengekspresikan caspase-3 (tampak sebagai warna coklat) dihitung dengan bantuan *Image-J* dan IHC Profiler selanjutnya dianalisa dengan *one way ANOVA*. Hasil penelitian menunjukkan pada kelompok dosis II yang diberi ekstrak kulit buah delima dosis 480 mg/kgBB/hari dan DSS 2% mampu meningkatkan ekspresi protein caspase-3 lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok dosis I yang diberi ekstrak kulit buah delima dosis 240 mg/kgBB/hari dan DSS 2%.

Kata Kunci: Caspase-3, Imunohistokimia (IHK), Kanker kolon, Kulit Buah Delima.

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim

Alhamdulillah, penulis memanjatkan puji dan syukur ke hadirat Allah SWT karena berkat rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi, dengan judul: **“EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL 70% KULIT BUAH DELIMA (*Punica granatum L.*) TERHADAP EKSPRESI PROTEIN CASPASE-3 PADA JARINGAN KANKER KOLON MENCIT”**.

Penulisan skripsi ini dimaksudkan untuk memenuhi tugas akhir sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana farmasi pada Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. HAMKA, Jakarta.

Terselesaikannya penelitian dan skripsi ini tidak lepas dari dorongan dan uluran tangan berbagai pihak, terima kasih kepada yang terhormat:

1. Bapak Dr. apt. Hadi Sunaryo, M.Si., selaku Dekan Fakultas Farmasi dan Sains UHAMKA, Jakarta.
2. Bapak Drs. apt. Inding Gusmayadi, M.Si., selaku Wakil Dekan I FFS UHAMKA.
3. Ibu Dra. Sri Nevi Gantini, M.Si., selaku Wakil Dekan II FFS UHAMKA.
4. Ibu apt. Ari Widayanti, M.Farm., selaku Wakil Dekan III FFS UHAMKA.
5. Bapak Anang Rohwiyono, M.Ag., selaku Wakil Dekan IV FFS UHAMKA.
6. Ibu apt. Kori Yati, M.Farm., selaku Ketua Program Studi Farmasi FFS UHAMKA.
7. Ibu apt. Yudi Srifiana, M.Farm., atas bimbingan dan nasihatnya selaku Pembimbing Akademik, dan para dosen yang telah memberikan ilmu dan masukan-masukan yang berguna selama kuliah dan selama penulisan skripsi ini.
8. Bapak Dr. Drs. Kusmardi, M.Sc., selaku pembimbing I yang telah banyak membantu dan mengarahkan penulis sehingga skripsi ini dapat diselesaikan.
9. Ibu apt. Numlil Khaira Rusdi, M.Si., selaku pembimbing II yang telah banyak membantu dan mengarahkan penulis sehingga skripsi ini dapat diselesaikan.
10. Seluruh dosen Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. HAMKA yang telah memberikan begitu banyak ilmu selama perkuliahan dan penulisan skripsi ini.
11. Seluruh staf Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia yang telah membantu selama proses penelitian.
12. Kedua orangtua tercinta atas doa dan dorongan semangatnya kepada penulis, baik moril maupun materi, serta kepada kakak-kakak ku dan seluruh keluarga besar yang banyak memberikan dukungan kepada penulis.
13. Teman-teman angkatan '14 yang tidak dapat disebutkan satu persatu, serta sahabat-sahabatku yang secara langsung maupun tidak langsung telah memberikan bantuan dan dorongan semangatnya.
14. Pimpinan dan seluruh staf kesekretariatan yang telah membantu segala administrasi yang berkaitan dengan skripsi ini dan telah banyak membantu dalam penelitian.

Penulis menyadari bahwa penulisan ini masih memiliki banyak kekurangan karena keterbatasan ilmu dan kemampuan penulis. Untuk itu saran dan kritik dari pembaca sangat penulis harapkan. Penulis berharap skripsi ini dapat berguna bagi semua pihak yang memerlukan.

Jakarta, Oktober 2020

Penulis



DAFTAR ISI

	Hlm.
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
ABSTRAK	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Permasalahan Penelitian	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Landasan Teori	5
1. Kanker	5
2. Kanker Kolon	6
3. Apoptosis Sel	8
4. Caspase-3	10
5. Imunohistokimia (IHK)	12
6. Deskripsi Tanaman Delima	13
7. Kandungan Fitokimia Ekstrak	14
8. Simplisia	15
9. Ekstrak	15
10. Ekstraksi	15
11. <i>Dextran Sodium Sulfate</i> (DSS)	16
12. Aspirin	16
13. Asam Elagat	17
B. Kerangka Berpikir	17
C. Hipotesis	19
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	20
A. Tempat dan Waktu Penelitian	20
1. Tempat Penelitian	20
2. Waktu Penelitian	20
B. Bahan dan Alat Penelitian	20
1. Bahan Penelitian	20
2. Alat Penelitian	20
C. Prosedur Penelitian	20
1. Pembagian Kelompok Perlakuan	20
2. Pewarnaan Imunohistokimia (IHK)	21
3. Pengukuran Ekspresi Protein Caspase-3	22
D. Analisis Data	23
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	24
A. Analisis Ekspresi Protein Caspase-3 pada Jaringan Kanker Kolon Mencit	24
B. Hasil Pengamatan Ekspresi Protein Caspase-3 pada Jaringan Kanker Kolon Mencit	26

BAB V SIMPULAN DAN SARAN	32
A. Simpulan	32
B. Saran	32
DAFTAR PUSTAKA	33
LAMPIRAN	38



DAFTAR GAMBAR

	Hlm.
Gambar 1. Pohon Delima	13
Gambar 2. Buah Delima	13
Gambar 3. Histogram Rata-rata Ekspresi Protein Caspase-3	25
Gambar 4. Gambaran Ekspresi Protein Caspase-3 pada Jaringan Kanker Kolon Mencit	27



DAFTAR LAMPIRAN

	Hlm.
Lampiran 1. Skema Penelitian	38
Lampiran 2. Analisa Statistik Ekspresi Protein Caspase-3	39
Lampiran 3. Hasil Pengamatan Mikroskop Tiap Kelompok Perlakuan	43
Lampiran 4. Proses Penghitungan Sel dengan Menggunakan <i>Image-J</i>	44
Lampiran 5. Bahan-bahan Penelitian	45
Lampiran 6. Alat-alat Penelitian	46
Lampiran 7. Gambar Pohon Delima dan Buah Delima	48
Lampiran 8. Hasil Skor Histologi (<i>H-Score</i>) Ekspresi Protein Caspase-3	49
Lampiran 9. Tampilan IHC Profiler	53



BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kanker ialah penyakit yang disebabkan oleh pertumbuhan sel-sel tubuh yang tidak terkendali atau abnormal serta berpotensi untuk merusak atau bermetastasis ke bagian tubuh yang lain. Sampai saat ini, kanker masih menjadi masalah kesehatan dunia yang diperkirakan jumlahnya akan terus meningkat. Pada tahun 2018, WHO melaporkan bahwa jumlah penderita kanker di dunia mencapai 18,1 juta kasus baru dengan angka kematian sebesar 9,6 juta (WHO, 2018). Sedangkan angka kejadian penyakit kanker di Indonesia (136.2/100.000 penduduk) berada pada urutan ke 8 di Asia Tenggara dan urutan ke-23 di Asia. Dari hasil data Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) diketahui bahwa prevalensi kanker di Indonesia menunjukkan adanya peningkatan dari 1,4 per 1000 penduduk di tahun 2013 menjadi 1,79 per 1000 penduduk pada tahun 2018 (Kemenkes RI, 2019).

Kanker kolon merupakan kanker yang sering menyerang manusia diantara jenis kanker lainnya dan penyakit ini sering terjadi di negara maju maupun negara berkembang. Kanker kolorektal adalah keganasan yang berasal dari jaringan usus besar, terdiri dari kolon (bagian terpanjang dari usus besar) dan atau rektum (bagian kecil terakhir dari usus besar sebelum anus) (Kemenkes RI, 2018). Menurut American Cancer Society, kanker kolon merupakan kanker ketiga terbanyak dan kanker penyebab kematian ketiga terbanyak pada pria dan wanita di Amerika Serikat (Kemenkes RI, 2018). American Cancer Society memperkirakan bahwa pada tahun 2018 di U.S Amerika kasus baru kanker kolon yang didiagnosa terjadi sebanyak 97.220 dan sebanyak 50.630 kasus kematian yang diperkirakan akan terjadi akibat kanker ini (*American Cancer Society*, 2018). Di Indonesia, kanker kolorektal sekarang menempati urutan nomor 3 dengan angka kejadian kanker kolorektal yaitu sebanyak 12,8 per 100.000 penduduk usia dewasa, dengan tingkat kematian 9,5% dari seluruh kasus kanker (Kemenkes RI, 2018).

Pengobatan terapi yang komprehensif untuk mengatasi kanker sangat diperlukan untuk menekan jumlah kematian penderita. Pengobatan kanker dapat dilakukan dengan cara konvensional yaitu berupa kemoterapi, pembedahan dan

radiasi (Dipiro, 2015). Akan tetapi, pengobatan dengan cara konvensional ini belum mampu memberikan hasil yang efektif dan dapat menimbulkan berbagai macam efek samping seperti rambut rontok, mual, muntah, kehilangan berat badan (Setiawan, 2015). Oleh sebab itu, diperlukan terapi alternatif lain untuk mengobati penyakit kanker dengan mengembangkan obat yang aman dan efektif dari tanaman herbal. World Health Organization (WHO) merekomendasikan penggunaan obat tradisional termasuk obat herbal sebagai upaya pemeliharaan kesehatan masyarakat, pencegahan penyakit, pengobatan penyakit, terutama untuk penyakit degeneratif, penyakit kronis dan kanker (Sumayyah dan Salsabila, 2017).

Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat adalah *Punica granatum L.* atau lebih dikenal dengan buah delima. Delima pada umumnya ditanam di pekarangan sebagai tanaman hias dan obat-obatan yang bermanfaat bagi kesehatan. Buah delima memiliki khasiat terapeutik antara lain sebagai anti bakteri, anti virus, anti kanker, dan antiinflamasi (Jurenka, 2008). Buah delima terkenal memiliki kandungan antioksidan yang kuat, sumber ellagitanin yang tinggi, dan antosianin. Sebagian besar kandungan dari buah delima adalah senyawa polifenol (flavonoid) dan tanin (ellagitanin, asam galat, asam elagat) (Jahromi-Bassiri, 2018). Berdasarkan penelitian Deng *et al.* (2017) membuktikan bahwa ekstrak kulit buah delima dapat menyebabkan apoptosis sel kanker prostat, yang disertai dengan peningkatan ekspresi caspase-3. Hasil penelitian yang didapatkan Hernawati *et al.* (2013) menunjukkan bahwa pemberian ekstrak buah delima mampu meningkatkan ekspresi p53 dengan memicu aktivitas Bax (pro apoptosis). Selanjutnya jurnal yang ditulis oleh Sepehr *et al.* (2014) melaporkan bahwa berbagai macam senyawa alami yang terdapat pada buah delima menunjukkan sifat sitotoksik dan kemopreventif yang signifikan, banyak di antaranya bertindak sebagai pemicu terjadinya apoptosis terhadap sel kanker fibrosarkoma (WEHI-164). Menurut penelitian Kusmardi *et al.* (2017) menunjukkan bahwa kulit buah delima memiliki sifat antiinflamasi dengan menghambat COX2 & iNOS. Selain itu ekstrak etanol kulit buah delima memiliki efektivitas yang sama dengan aspirin dan asam elagat. Selain buahnya yang berkhasiat sebagai obat, bagian lain dari tanaman delima yang dapat berkhasiat untuk pengobatan antikanker adalah kulit buah delima. Salah satu kandungan

yang terdapat pada kulit buah delima di antaranya yaitu ellagitanin, asam elagat, dan asam galat (Jahromi-Bassiri, 2018). Berdasarkan hasil penelitian tentang buah delima tersebut, diasumsikan bahwa kulit buah delima juga memiliki kandungan fitokimia yang tidak jauh berbeda dengan buah delima terutama senyawa-senyawa yang berpotensi sebagai antikanker.

Pengamatan yang bisa diamati untuk melihat terjadinya kanker adalah dengan melihat sel abnormal. Salah satunya yaitu ditandai dengan adanya sinyal proliferasi secara terus-menerus dan tidak adanya proses kematian sel atau apoptosis (Hanahan dan Weinberg, 2011). Apoptosis adalah suatu kematian sel secara alami dan terprogram. Apoptosis dapat terjadi jika sel mengalami suatu kerusakan yang tidak dapat diperbaiki lagi diakibatkan oleh terinfeksi virus, kerusakan DNA, kematian sel, dan radikal bebas (Astawa, 2018). Proses kematian sel atau apoptosis tentunya sangat diperlukan untuk mengatur kehidupan sel dalam individu. Apoptosis yang berjalan dengan normal tentunya sangat diperlukan dalam menyingkirkan sel yang tidak sehat dalam tubuh. Jika proses apoptosis dalam tubuh tidak berjalan dengan normal, maka berbagai penyakit dapat muncul salah satunya yaitu kanker (Astawa, 2018). Salah satu upaya yang dilakukan untuk melakukan proses kematian sel kanker yaitu dengan cara mengaktifkan jalur apoptosis yang ditandai dengan pengaktifan caspase (Astawa, 2018).

Caspase merupakan akronim dari cysteine aspartate-specific protease, yaitu kelompok enzim protease sistein yang berperan penting dalam mengatur dan mengeksekusi kematian sel secara apoptosis (Utami, 2007). Di antara 14 caspase yang ada, caspase-3 merupakan gen pengeksekusi utama pada apoptosis yang dipicu oleh berbagai stimulus (Hutomo *et al.*, 2014). Caspase-3 termasuk dalam golongan caspase eksekutor yang sebelumnya telah diaktifkan oleh caspase inisiator, misalnya caspase 8 dan caspase 9. Pada penelitian ini digunakan protein caspase-3 karena caspase-3 memiliki aktivitas katalitik yang lebih tinggi dibandingkan dengan caspase efektor lainnya, sehingga menyebabkan caspase-3 lebih berpengaruh dalam mengeksekusi terjadinya perubahan morfologis sel yang akan mengalami apoptosis (Putra *et al.*, 2011). Untuk mendeteksi dan menilai aktivitas ekspresi protein caspase-3 dapat dilakukan dengan menggunakan teknik

pewarnaan imunohistokimia. Imunohistokimia merupakan suatu proses untuk mengidentifikasi protein spesifik pada jaringan atau sel dengan menggunakan antibodi. Tempat pengikatan antara antibodi dengan protein spesifik diidentifikasi dengan menggunakan marker yang biasanya dilekatkan pada antibodi dan bisa divisualisasikan atau digambarkan secara langsung (CCRC, 2012).

Berdasarkan latar belakang di atas maka pada penelitian ini dilakukan penelitian lanjutan tentang aktivitas ekstrak etanol kulit buah delima sebagai antikanker kolon terhadap peningkatan ekspresi caspase-3 sebagai penanda terjadinya apoptosis pada jaringan kanker kolon mencit dengan menggunakan teknik pewarnaan imunohistokimia. Pemberian ekstrak etanol kulit buah delima diharapkan dapat mencegah terjadinya kanker, dengan meningkatkan ekspresi caspase-3 pada jaringan kanker kolon mencit.

B. Permasalahan Penelitian

Berdasarkan uraian tersebut dapat dirumuskan permasalahan apakah pemberian ekstrak etanol 70% kulit buah delima (*Punica granatum* L.) mampu meningkatkan ekspresi protein caspase-3 pada jaringan kanker kolon mencit sehingga menjadi penanda terjadinya apoptosis pada jaringan kolon?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui aktivitas ekstrak etanol 70% kulit buah delima (*Punica granatum* L.) dalam meningkatkan ekspresi protein caspase-3 pada jaringan kanker kolon mencit.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan mampu memberikan sumber informasi dan pengetahuan kepada masyarakat mengenai aktivitas kulit buah delima (*Punica granatum* L.) dalam meningkatkan ekspresi protein caspase-3 pada jaringan kanker kolon mencit dengan menggunakan teknik pewarnaan imunohistokimia. Sehingga nantinya dapat digunakan dalam bidang kesehatan.

DAFTAR PUSTAKA

- American Cancer Society. 2018. Cancer Facts & Figures 2018. Tersedia online <https://www.cancer.org/content/dam/cancer-org/research/cancer-facts-and-statistics/annual-cancer-facts-and-figures/2018/cancer-facts-and-figures-2018.pdf>.
- Astawa INM. 2018. *Dasar-dasar Patobiologi Molekuler Apoptosis dan Onkogenesis*. Airlangga University Press. Surabaya. Hlm. 183 - 184, 193, 203 - 204, 211.
- Bancroft JD, Gamble M. 2008. *Theory and Practice of Histological Techniques: Immunohistochemical Techniques*. United State. Churchill Livingstone Elsevier. Hlm. 433 - 53.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia (BPOM RI). 2019. Peraturan BPOM Nomor 32 Tahun 2019 Persyaratan Keamanan dan Mutu Obat Tradisional. *Badan Pengawas Obat dan Makanan*. Hlm. 3.
- CCRCUGM C. 2012. Prosedur Pengecatan Imunohistokimia. *Prosedur Tetap*. Hlm. 1 - 4.
- Ceci C, Lacal PM, Tentori L, Martino MGD, Miano R, Graziani G. 2018. Experimental Evidence of the Antitumor, Antimetastatic and Antiangiogenic Activity of Ellagic Acid. *Nutrients*. **1**: 1 - 23.
- Chen J, Stark LA. 2017. Aspirin Prevention of Colorectal Cancer: Focus on NF- κ B Signalling and the Nucleolus. *Biomedicines*. **5(3)**: 19 - 23.
- Choi BH, Chakraborty G, Baek K, Yoon HS. 2013. Aspirin-induced Bcl-2 Translocation and its Phosphorylation in the Nucleus Trigger Apoptosis in Breast Cancer Cells. *Experimental and Molecular Medicine*. **45(10)**: e47 - 9.
- Deng Y, Li Y, Yang F, Zeng A, Yang S, Luo Y, Zhang Y, Xie Y, Ye T, Xia Y, Yin W. 2017. The Extract from *Punica granatum* (pomegranate) Peel Induces Apoptosis and Impairs Metastasis in Prostate Cancer Cells. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. **93**: 976 - 984.
- Departemen Kesehatan RI. 2009. Buku Saku Kanker 2009. Pdf. Hlm. 1.
- Dipiro CV. 2015. *Oncologic Disorders*. In: Dipiro JT, Wells BG, Dipiro CV, Schiwinghammer TL. *Pharmacotherapy Handbook 9th Edition*. Mc Graw Hill Companies. Inc New York. Hlm. 632.
- Duan WR, Garner DS, Williams SD, Funckes-shippy CL, Spath IS, Blomme EAG. 2003. Comparison of Immunohistochemistry for Activated Caspase-3 and Cleaved Cytokeratin 18 with the TUNEL Method for Quantification of Apoptosis in Histological Sections of PC-3 Subcutaneous Xenografts. *Journal of Pathology*. **19**: 221 - 228.

- Farrugia G, Balzan R. 2013. The Proapoptotic Effect of Traditional and Novel Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs in Mammalian and Yeast Cells. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. Hlm. 4 - 9.
- Garcia-Nino WR, Zazueta C. 2015. Ellagic acid: Pharmacological Activities and Molecular Mechanisms Involved in Liver Protection. *Pharmacol Res.***97**: 84 – 103.
- Hanahan D, Weinberg RA. 2011. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell*. **144(5)**: 646 – 674.
- Hanani E. 2016. *Analisis Fitokimia*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. Hlm. 13-14, 69, 87, 103, 115, 155, 235.
- Hernawati S, Rantam FA, Sudiana IK, Rahayu RP. 2013. Efek Ekstrak Buah Delima (*Punica granatum* L.) Terhadap Ekspresi Wild p53 pada Sel Ganas Rongga Mulut Mencit Strain Swiss Webster. *Dental Journal (Majalah Kedokteran Gigi)*. **46(3)**: 148.
- Hongmei Z. 2012. *Extrinsic and Intrinsic Apoptosis Signal Pathway Review*. Tersedia online <https://www.intechopen.com/books/apoptosis-and-medicine/extrinsic-and-intrinsic-apoptosis-signal-pathway-review>.
- Hutomo S, Suryanto YI, Susilowati H, Rudolf Phym A, Maheswara DC. 2014. Ekspresi Caspase-3 pada Sel Epitel Rongga Mulut (Kb Cell Line) setelah Paparan Ekstrak Kopi. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*. **21(2)**: 122.
- Jager R, Zwacka RM. 2015. The Engimatic Roles of Caspases in Tumor Development. *Cancers*. **2**: 1952 - 1979.
- Jahromi-Bassiri S. 2018. *Punica granatum* (Pomegranate) Activity in Health Promotion and Cancer Prevention. *Oncology Reviews*. **12(1)**: 1 – 7.
- Jurenka J. 2008. Therapeutic Applications of Pomegranate (*Punica granatum* L.): A review. *Alternative Medicine Review*. **13(2)**: 128 – 144.
- Kementerian Kesehatan RI. 2019. Artikel Hari Kanker Sedunia 2019. *Kemendes RI*. <https://www.depkes.go.id/article/view/19020100003/hari-kanker-sedunia-2019.html> (diakses pada 25 Agustus 2019).
- Kementerian Kesehatan RI. 2018. *Pedoman Nasional Pelayanan Kedokteran Tata Laksana Kanker Kolorektal*. Jakarta. Hlm. 9 - 20.
- Kementerian Kesehatan RI Badan Penelitian dan Pengembangan. 2018. Hasil Utama Riset Kesehatan Dasar. *Kemendagri Kesehatan Republik Indonesia*. Hlm. 51 - 54.
- Kim DH, Sung B, Chung HY, Kim ND. 2014. Modulation of Colitis-associated Colon Tumorigenesis by Baicalein and Betaine. *Journal of Cancer Prevention*. **19(3)**: 152 – 160.

- Kim YS, Ho SB. 2010. *Intestinal Goblet Cells and Mucins in Health and Disease : Recent Insights and Progress*. Hlm. 319 – 330.
- Kusmardi K, Hermanto D, Estuningtyas A, Tedjo A, Priosoeryanto BP. 2017. The Potency of Indonesia's Pomegranate Peel Ethanol Extract (*Punica granatum* Linn.) as Anti-inflammatory Agent in Mice Colon Induced by Dextran Sodium Sulfate: Focus on Cyclooxygenase-2 and Inos Expressions. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. **10(12)**: 370 – 375.
- Latief A. 2012. *Obat Tradisional*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. Hlm. 67 - 69.
- Leake R, Barnes D, Pinder S, Ellis I, Anderson L, Anderson T, Adamson R, Rhodes T, Miller K, Walker R, Building D. 2000. Immunohistochemical detection of steroid receptors in breast cancer : a working protocol. *J Clin Pathol*. **53**: 634 – 635.
- Lee CS, McNamara D, O'Morain CA. 2012. Aspirin as a Chemoprevention Agent for Colorectal Cancer. *Current Drug Metabolism*. **13(9)**: 1313 – 1322.
- Lumongga F. 2008. *Apoptosis*. Fakultas Kedokteran. Universitas Sumatera Utara. Medan. Hlm. 2 - 12.
- Marzouk MM. 2016. Flavonoid Constituents and Cytotoxic Activity of *Erucaria hispanica* (L.) Druce Growing Wild in Egypt. *Arabian Journal of Chemistry*. **9**: 411 - 415.
- Meiyanto E, Susidarti RA, Handayani S. 2008. Ekstrak Etanolik Biji Buah Pinang (*Areca catechu* L.) Mampu Menghambat Proliferasi dan Memacu Apoptosis Sel MCF-7. *Majalah Farmasi Indonesia*. **19(1)**: 12 – 19.
- Mitchell RN, Kumar V, Abbas AK, Fausto N. 2008. *Buku Saku Dasar Patologis Penyakit* Robbins and Cotran. *Edisi 7*. Terjemahan: Hartono A, Tania I, Muttaqin H, Dwijyanthi L, Mahode AA, Dany F, Susanto D, Nughroho AW. EGC. Jakarta. Hlm. 5 - 32.
- Olsson M, Zhivotovsky B. 2011. Caspases and Cancer. *Cell Death and Differentiation*. **18(9)**: 1441 – 1449.
- Putra A, Tjahjono, Winarto. 2011. Ekstrak Keladi Tikus (*Typhonium flagelliforme*) Fraksi Diklorometanolik dan Ekspresi Caspase-3 dan p21 Cell-Line Kanker Payudara MCF-7. *Media Medika Indonesia*. **45(2)**: 96.
- Ramos-Vara JA. 2005. Technical Aspects of Immunohistochemistry. *Vet.Pathol*. **42**: 405 - 426.
- Rantam FA. 2003. *Metode Immunologi*. Airlangga University Press. Surabaya. Hlm. 3 - 88.
- Rios JL, Giner RM, Marin M, Recio MC. 2018. A Pharmacological Update of Ellagic Acid. *Planta Med*. Hlm. 12 - 14.

- Sastrosudarmo WH. 2011. *Kanker The Silent Killer Edisi I*. Jakarta: Graha Media. Hlm. 33, 108.
- Sepehr KS, Baradaran B, Mazandarani M, Yousefi B, Alitappeh MA, Khori V. 2014. Growth-inhibitory and Apoptosis-inducing Effects of *Punica Granatum* L. Var. *Spinosa* (apple punice) on Fibrosarcoma Cell Lines. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*. **4(2)**: 583 – 590.
- Setiawan D. 2015. The Effect of Chemotherapy in Cancer Patient To Anxiety. *Jurnal Majority*. **4(4)**: 9 – 99.
- Siswandono. 2016. *Kimia Medisinal*. Edisi II. Airlangga University Press. Surabaya. Hlm. 185 - 217.
- Skrovankova S, Sumczynski D, Mlcek J, Jurikova T, Sochor J. 2015. Bioactive Compounds and Antioxidant Activity in Different Types of Berries. *International Journal of Molecular Science*. **16**: 24673 – 24706.
- Solomon L, Mansor S, Mallon P, Donnelly E, Hoper M, Loughrey M, Kirk S, Gardiner K. 2010. The Dextran Sulphate Sodium (DSS) Model of Colitis : an Overview. *Comp Clin Pathol*. **19**: 235 – 239.
- Sumayyah S, Salsabila N. 2017. Obat Tradisional: Antara Khasiat dan Efek Sampingnya. Dalam: *Majalah Farmasetika*. **2(5)**: 2.
- Tjitrosoepomo G. 1991. *Taksonomi Tumbuhan Spermatophyta*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. Hlm. 90 - 99.
- Umesalma S, Nagendraprabhu P. 2015. *Ellagic Acid Inhibits Proliferation and Induced Apoptosis Via the Akt Signaling Pathway in HCT-15 Colon Adenocarcinoma Cells*. Hlm. 303 – 313.
- Utami S. 2007. Peran Kaspase pada Apoptosis sebagai Salah Satu Usaha dalam Kemoterapi Kanker. *Jkm*. **7**: 91 – 97.
- Wang Q, Jin J, Dai N, Han N. 2016. ScienceDirect Anti-inflammatory Effects, Nuclear Magnetic Resonance Identification, and High-performance Liquid Chromatography Isolation of the Total Flavonoids from *Artemisia frigida*. *Journal of Food and Drug Analysis*. Hlm. 4 – 10.
- Wang ZH, Hu ZS. 2018. Catalpol Inhibits Migration and Induces Apoptosis in Gastric Cancer Cells and in Athymic Nude Mice. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. **103**: 1708 – 1719.
- World Health Organization (WHO). 2018. Cancer Burden Rises to 18.1 Million New Cases and 9.6 Million Cancer Deaths in 2018. *International Agency for Research on Cancer*. **1**: 1 - 3.
- Xu X, Li T, Man C, Fong V, Chen X, Chen X, Wang Y, Huang M, Lu J. 2016. *Saponins from Chinese Medicines as Anticancer Agents*. Hlm. 1 – 27.

- Yayasan Kanker Indonesia (YKI). 2018. Harapan Terpadu World Cancer Day 2018. *Buletin YKI*. **2**: 1 – 54.
- Zhang H, Zhao L, Li H, Xu H, Chen W, Tao L. 2014. *Research Progress on the Anticarcinogenic Actions and Mechanisms of Ellagic Acid*. Hlm. 92 – 100.
- Zhao Y, Jing Z, Lv J, Zhang Z, Lin J, Cao X, Zhao Z, Liu P, Mao W. 2017. Berberine Activates Caspase-9/cytochrome C-mediated Apoptosis to Suppress Triple-negative Breast Cancer Cells in Vitro and in Vivo. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. **95**: 18 – 24.

