

AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL 70% KULIT BUAH DELIMA (*Punica granatum L.*) TERHADAP EKSPRESI PROTEIN MMP-1 PADA JARINGAN KANKER KOLON MENCIT

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

**Disusun oleh:
Syintia Kharismawarni
1404015358**



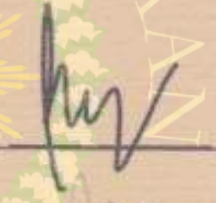





**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI DAN SAINS
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA
JAKARTA
2020**

Skripsi dengan Judul

AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL 70% KULIT BUAH DELIMA (*Punica granatum L.*) TERHADAP EKSPRESI PROTEIN MMP-1 PADA JARINGAN KANKER KOLON MENCIT

Telah disusun dan dipertahankan di hadapan penguji oleh:
Syintia Kharismawarni, NIM 1404015358

	Tanda Tangan	Tanggal
Ketua <u>Wakil Dekan I</u> Drs. apt. Inding Gusmayadi, M.Si.		<u>7/10/21</u>
<u>Penguji I</u> Dr. apt. Siska, M.Farm.		<u>01 November 2020</u>
<u>Penguji II</u> Dr. H. Priyo Wahyudi, M.Si.		<u>15 Desember 2020</u>
<u>Pembimbing I</u> Dr. Kusmardi, M.Sc.		<u>19 Desember 2020</u>
<u>Pembimbing II</u> apt. Numlil Khaira Rusdi, M.Si.		<u>20 Desember 2020</u>
Mengetahui:		<u>6/11/2021</u>
Ketua Program Studi apt. Kori Yati, M.Farm.		

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

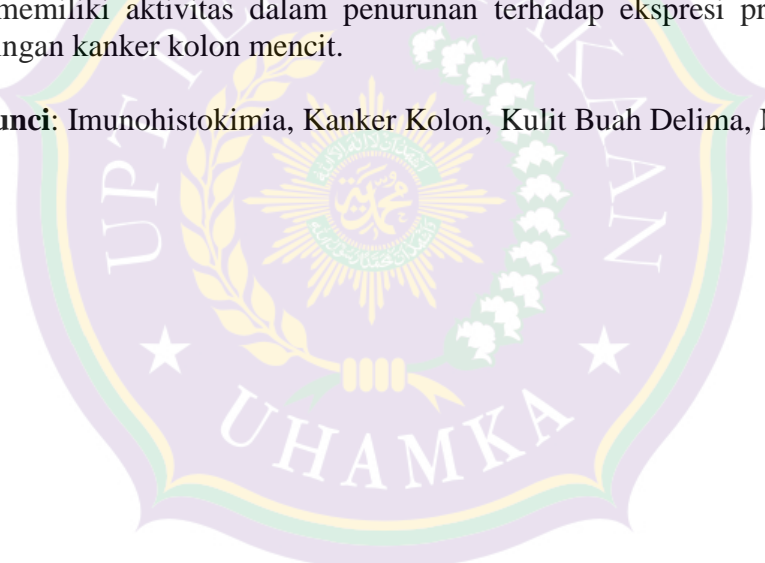
ABSTRAK

AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL 70% KULIT BUAH DELIMA (*Punica granatum L.*) TERHADAP EKSPRESI PROTEIN MMP-1 PADA JARINGAN KANKER KOLON MENCIT

Syintia Kharismawarni
1404015358

Kulit buah delima (*Punica granatum L.*) merupakan salah satu tanaman obat yang berpotensi sebagai antikanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas ekstrak kulit delima mampu menghambat ekspresi protein MMP-1 pada jaringan kanker kolon mencit sebagai parameter terjadinya metastasis. Pengujian dilakukan dengan menggunakan teknik pewarnaan imunohistokimia, persentase sel MMP-1 dinyatakan dengan warna coklat yang dihitung dengan menggunakan IHC *Profiler* dan dianalisa dengan ANOVA (*One Way*). Hasil penelitian ini menunjukkan tidak adanya perbedaan bermakna antara kelompok dosis 480 mg/kgBB/hari dan DSS 2% dengan kelompok aspirin dan kelompok asam elagat. Pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol 70% kulit buah delima memiliki aktivitas dalam penurunan terhadap ekspresi protein MMP-1 pada jaringan kanker kolon mencit.

Kata Kunci: Imunohistokimia, Kanker Kolon, Kulit Buah Delima, MMP-1.



KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim

Alhamdulillahirabbil'alamin. Segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya yang tiada henti mengalir dalam kehidupan ini sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi ini. Selawat serta salam semoga senantiasa tercurah kepada nabi Muhammad SAW beserta keluarga, sahabat dan para pengikutnya hingga akhir zaman. Skripsi dengan judul **“AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL 70% KULIT BUAH DELIMA (*Punica granatum L.*) TERHADAP EKSPRESI PROTEIN MMP-1 PADA JARINGAN KANKER KOLON MENCIT”** ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana Farmasi di Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA, Jakarta.

Dalam penelitian dan penyusunan skripsi ini, penulis menemui beberapa kesulitan dan hambatan. Namun berkat bimbingan, bantuan dan semangat yang begitu besar dan berharga dari berbagai pihak semua dapat dilalui dengan baik. Dalam kesempatan kali ini, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu penelitian hingga penyusunan skripsi ini, di antaranya kepada:

1. Bapak Dr. apt. Hadi Sunaryo, M.Si., selaku Dekan Fakultas Farmasi Dan Sains UHAMKA.
2. Bapak Drs. Inding Gusmayadi, M.Si., selaku Wakil Dekan I Fakultas Farmasi Dan Sains UHAMKA.
3. Ibu Dra. Apt. Sri Nevi Gantini, M.Si., selaku Wakil Dekan II Fakultas Farmasi Dan Sains UHAMKA.
4. Ibu apt. Ari Widayanti, M.Farm., selaku Wakil Dekan III Fakultas Farmasi Dan Sains UHAMKA.
5. Bapak Anang Rohwiyono, M.Ag., selaku Wakil Dekan IV Fakultas Farmasi Dan Sains UHAMKA.
6. Ibu apt. Kori Yati, M.Farm., selaku Ketua Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi Dan Sains UHAMKA.
7. Ibu apt. Numlil Khaira Rusdi, M.Si., selaku dosen pembimbing akademik atas bimbingan dan nasehat untuk penulis selama masa perkuliahan.
8. Bapak Dr. Drs. Kusmardi, M.Sc., selaku dosen pembimbing pertama yang senantiasa memberikan bimbingan, arahan, motivasi dan dukungan dalam penyusunan skripsi, sehingga skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik.
9. Ibu apt. Numlil Khaira Rusdi, M.Si., selaku dosen pembimbing kedua yang senantiasa memberikan bimbingan, arahan, motivasi dan dukungan dalam penyusunan skripsi, sehingga skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik.

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

Jakarta, Oktober 2020

Penulis

DAFTAR ISI

	Hlm.
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
ABSTRAK	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Permasalahan Penelitian	4
C. Tujuan Penelitian	5
D. Manfaat Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
A. Landasan Teori	6
1. Kanker.....	6
2. Kanker Kolon.....	7
3. Metastasis.....	8
4. Protein MMP-1	9
5. Imunohistokimia (IHK)	10
6. Deskripsi Tanaman Delima	11
7. Kandungan Fitokima Ekstrak	13
8. Simplisia	13
9. Ekstrak	14
10. Ekstraksi.....	14
11. <i>Dextrane Sodium Sulfate</i> (DSS)	14
12. Aspirin	15
13. Asam Elagat.....	15
B. Kerangka Berpikir.....	16
C. Hipotesis	17
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	18
A. Tempat dan Waktu Penelitian	18
1. Tempat Penelitian	18
2. Waktu Penelitian.....	18
B. Alat dan Bahan Penelitian.....	18
1. Alat Penelitian.....	18
2. Bahan Penelitian	18
C. Prosedur Penelitian	18
1. Pembagian Kelompok Perlakuan.....	18
2. Prosedur Pewarnaan Imunohistokimia	18
3. Pengukuran Ekspresi MMP-1	20
D. Analisis Data	21
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	22
A. Pengukuran Ekspresi MMP-1.....	22
B. Hasil Pengamatan Ekspresi MMP-1	25
BAB V SIMPULAN DAN SARAN	28
A. Simpulan.....	28

B. Saran	28
DAFTAR PUSTAKA	29
LAMPIRAN	33



DAFTAR GAMBAR

	Hlm.
Gambar 1. Pohon Delima	11
Gambar 2. Buah Delima	11
Gambar 3. Histogram Rata-rata Ekspresi Protein MMP-1	22
Gambar 4. Gambaran Ekspresi MMP-1 pada Jaringan Kanker Kolon Mencit dengan Pewarnaan Imunohistokimia pada Masing-masing Kelompok Perlakuan Perbesaran 400x	26



DAFTAR LAMPIRAN

	Hlm.
Lampiran 1. Skema Penghitungan Sel dengan Menggunakan <i>ImageJ</i>	33
Lampiran 2. Skema Penelitian	34
Lampiran 3. Tanaman Delima (<i>Punica granatum L.</i>)	35
Lampiran 4. Hasil H-Score Ekspresi Protein MMP-1	36
Lampiran 5. Hasil Pengamatan Mikroskop Tiap Kelompok Perlakuan	42
Lampiran 6. Hasil Analisa Statistika Ekspresi Protein MMP-1	43
Lampiran 7. Hasil Penghitungan Sel dengan Menggunakan <i>ImageJ</i>	47
Lampiran 8. Dokumentasi Penelitian	48



BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kanker adalah penyakit yang menyerang bagian tubuh manusia dan disebabkan oleh pertumbuhan sel-sel yang abnormal. Istilah lain yang digunakan untuk kanker adalah tumor. Salah satu tanda umum yang terjadi pada kanker adalah pertumbuhan sel-sel yang lebih cepat dari pertumbuhan sel normal, kemudian sel kanker dapat menyerang bagian tubuh yang berdekatan atau menyebar ke organ lain, proses terakhir disebut sebagai metastasis. Metastasis adalah penyebab utama kematian akibat kanker. Kasus kanker yang paling banyak menyebabkan kematian adalah: kanker paru-paru (1,76 juta kasus kematian), kanker kolorektal (862.000 kematian), kanker perut (783.000 kematian), kanker hati (782.000 kematian), kanker payudara (627.000 kematian). (WHO, 2018).

Kanker kolon merupakan salah satu jenis kanker yang terjadi pada permukaan usus besar, dimana penyakit ini mempunyai angka morbiditas dan mortalitas yang tinggi. Menurut data WHO pada tahun 2013, kanker kolon menempati peringkat ketiga didunia dengan total kematian 495.000 orang. Sedangkan di Indonesia, kanker kolon masuk dalam sepuluh besar kanker yang banyak diderita pada urutan ke-6, dan pada umumnya penderita kanker kolon berusia diatas 40 tahun, namun pada tahun 2003 – 2007 jumlah pasien kanker kolon menjadi dibawah usia 40 tahun yang rata-rata mencapai 28,17%. Di Indonesia, kanker kolon sekarang menempati urutan nomor tiga (Kemenkes RI, 2017).

Pengobatan terapi untuk mengatasi kanker sangat diperlukan untuk mengurangi jumlah kematian penderita. Pengobatan kanker dapat dilakukan dengan cara pembedahan, kemoterapi, dan radiasi (Dipiro, 2015). Namun dengan cara tersebut masih memberikan efek samping sehingga pengobatan dengan menggunakan bahan alami sebagai obat tradisional menjadi salah satu pilihan pengobatan alternaif (Cancer Council, 2016).

Salah satu tumbuhan alami yang berpotensi sebagai antikanker adalah Kulit Buah Delima (*Punica granatum L.*). Delima (*Punica granatum L.*), merupakan tanaman semak dan perdu. Diperkirakan tanaman ini berasal dari Himalaya yang

terletak di selatan India. Saat ini delima dibudidayakan diseluruh dunia dengan daerah iklim subtropis dan tropis. Di Indonesia terdapat tiga macam delima yaitu delima merah, delima putih, dan delima ungu atau hitam. Dari ketiga macam delima tersebut yang paling banyak dimanfaatkan sebagai obat adalah delima putih (Pusat Studi Biofarmaka, 2014). Menurut penelitian yang dilakukan American Jurnal of Clinical Nutrition, buah delima mengandung senyawa polifenol yang berfungsi sebagai antioksidan dapat dimanfaatkan untuk mencegah beberapa penyakit (Aviram *et al.*, 2008).

Berbagai penyakit yang telah menjadi target penelitian untuk mengetahui manfaat delima adalah berbagai jenis penyakit inflamasi, antioksidan, penyakit degeneratif, berbagai jenis kanker dan regulasi proses fibrosis (Jurenka, 2008). Kulit buah delima telah terbukti memiliki aktivitas antioksidan dan antikanker. Farmakologi dan fitokimia sebagian besar komponen zat aktif delima memiliki aplikasi terapi dan pencegahan terhadap kanker atau penyakit lain yang disebabkan oleh rekasi inflamasi kronis (Lansky dan Newman, 2007). Buah delima memiliki aktivitas antioksidan lebih kuat, menstimulasi terjadinya apoptosis, menghambat reaksi inflamasi, mencegah metastasis, dan invasi sel kanker dan mampu menurunkan resistensi (Seeram *et al.*, 2005).

Kemampuan dan aktivitas antioksidan dan anti inflamasi yang dimiliki delima disebabkan karena adanya kandungan polifenol yang sangat tinggi, seperti ellagic acid (EA), gallotannis dan antocyanins dan flavonoid (Seeram *et al.*, 2005). Luteolin adalah senyawa flavonoid nontoksik yang telah digunakan dalam obat tradisional untuk mengobati berbagai patologi, luteolin dapat bertindak sebagai inhibitor MMP, melemahkan ekspresi MMP dengan menekan ERK/NF-kB jalur atau secara langsung menghambat aktivitasnya (Amrutha *et al.*, 2014) dan (Pandurangan *et al.*, 2014). Ekstrak delima diduga memiliki efek yang lebih baik, karena merupakan gabungan dari beberapa zat aktif yang membentuk suatu formulasi yang saling sinergis, sehingga membentuk efek yang lebih baik dibandingkan dengan pemberian satu bahan aktifnya saja (Seeram *et al.*, 2005). Berdasarkan penelitian yang dilakukan Kusmardi *et al.*, pada tahun 2017 tentang Potensi ekstrak etanol kulit buah delima (*Punica granatum* L.) sebagai agen anti inflamasi pada kolon mencit yang diinduksi oleh Dextran Sodium Sulfate: fokus

pada ekspresi cyclooxygenase-2 dan iNOS, selain itu ekstrak etanol kulit buah delima memiliki efektivitas yang sama dengan aspirin dan asam elagat. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Liu H. (2017) dalam penelitian tersebut pomegranate fruit juice (PFJ), ellagic acids (EA) dan luteolin (L) dapat menghambat metastasis sel kanker ovarium dengan menurunkan ekspresi MMP. Hasil menunjukkan potensi besar menggunakan berbagai jenis alami produk seperti yang dilaporkan dalam penelitian untuk meningkatkan prognosis kanker ovarium. Pada penelitian yang telah dilakukan oleh Kurniawan (2014) menunjukkan hasil bahwa ekstrak buah delima dapat memberikan efek penyembuhan luka pada mukosa tikus putih (galur wistar).

Untuk melihat adanya penurunan metastasis sel kanker dapat menggunakan protein Matriks metalloproteinase (MMP) yang merupakan enzim yang memerlukan adanya logam untuk aktivitasnya. Enzim-enzim ini berperan penting dalam sel-sel fagosit, seperti leukosit dan makrofag. Matriks metalloproteinase (MMP) dapat diklasifikasikan ke dalam kelompok subkelompok yang dapat mendegradasi komponen makromolekul mayor pada matriks ekstraseluler yaitu kolagen, proteoglikan, fibronektin dan laminan. Salah satu protein yang digunakan adalah Matriks metalloproteinase-1 (MMP-1) yang dapat berperan dalam degradasi kolagen 1 yang merupakan struktur utama stroma. Matriks ekstraseluler merupakan barrier utama yang harus dilewati sel kanker untuk menimbulkan suatu invasi dan metastasis. Matriks metalloproteinase-1 (MMP-1) adalah sejenis kolagen yang dimiliki oleh kelompok MMP dan secara khusus menurunkan kolagen I, II, dan III. Matriks metalloproteinase-1 (MMP-1) ditemukan sebagai faktor risiko penuh untuk metastasis hematogen, sebanding dengan keadaan invasi tumor. Ekspresi MMP-1 ditemukan pada karsinoma sel basal, kanker tiroid, kerongkongan, lambung, paru-paru, payudara, hati, kepala dan leher, dan usus besar (Meteoglu *et al.*, 2015).

Protein MMP-1 dapat diamati dengan melihat adanya penyebaran metastasis. Metastasis adalah hasil akhir dari proses perubahan sel kanker dimana sel kanker tersebar dan menjadi interaksi. Sel-sel kanker tersebut akan memasuki dan berkembang di jaringan yang baru sehingga menyebabkan disfungsi organ bahkan kematian (Chiang dan Massague 2008). Metastasis juga disebut sebagai

akibat ketidakstabilan dari sel tumor mengakibatkan sel tersebut memiliki sifat untuk meyebar ke jaringan lain (Marino *et al.*, 2013). Untuk dapat menyebar ke berbagai jaringan, sel tumor yang terlepas dari masa tumor primer harus mampu mencapai pembuluh darah (intravasi) dan mampu bertahan hidup dalam sirkulasi. Sel yang bertahan hidup dalam sirkulasi juga harus dapat menempel dan menembus lapisan sel endotel pada dinding pembuluh darah (ekstravasi). Setelah mampu menembus pembuluh darah perifer (mikrovaskuler), sel kemudian menuju ke jaringan target. Untuk dapat bertahan pada organ yang jauh dari tempat asalnya, sel tumor harus dapat menempel dan beradaptasi dengan jaringan yang baru (Astawa, 2018).

Protein Matriks metalloproteinase-1 (MMP-1) akan terekspresi dengan menggunakan metode imunohistokimia. Imunohistokimia adalah suatu metode untuk mendeteksi suatu molekul yang ada dalam jaringan dengan menggunakan antibodi poliklonal atau monoklonal terhadap molekul yang akan dideteksi dan dapat mengetahui gambaran kualitatif dari intensitas warna yang terbentuk maupun gambaran kuantitatif. Teknik imunohistokimia ini dapat digunakan untuk mempelajari suatu distribusi enzim yang spesifik pada struktur normal ataupun lengkap, mendeteksi komponen sel, biomakromolekul seperti protein dan karbohidrat (Balqis *et al.*, 2011).

Berdasarkan latar belakang yang sudah dibahas maka penelitian ini dilakukan pengembangan aktivitas ekstrak etanol 70% kulit buah delima (*Punica granatum* L.) sebagai antikanker kolon terhadap penurunan ekspresi protein Matriks metalloproteinase-1 (MMP-1) sebagai penanda terjadinya metastasis pada jaringan kolon dengan menggunakan teknik pewarnaan imunohistokimia yang dimana diharapkan untuk memberikan efek penurunan pada ekspresi Matriks metalloproteinase 1 (MMP-1) terhadap sel kanker kolon mencit.

B. Permasalahan Penelitian

Apakah ekstrak etanol kulit buah delima (*Punica granatum* L.) memiliki aktivitas penurunan terhadap ekspresi protein Matriks metalloproteinase-1 (MMP-1) secara *in vivo* pada jaringan kolon mencit?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas ekstrak etanol kulit buah delima (*Punica granatum L.*) terhadap penurunan ekspresi protein Matriks metalloproteinase-1 (MMP-1) secara in-vivo pada jaringan kolon mencit.

D. Manfaat Penelitian

Hasil yang diperoleh dapat memberikan informasi lebih lanjut kepada masyarakat mengenai aktivitas kulit buah delima (*Punica granatum L.*) dalam penurunan ekspresi MMP-1 pada jaringan kolon mencit. Sehingga nantinya dapat digunakan dalam bidang kesehatan.



DAFTAR PUSTAKA

- Amrutha K, Nanjan P, Shaji SK, Sunilkumar D, Subhalakshmi K, Rajakrishna L, Banerji A. 2014. Discovery of lesser known flavones an inhibitor of NF-kB signaling in MDA-MB-231 breast cancer-cell- A SAR study. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letter* 24(19): 4735 - 4742.
- Astawa INM. 2018. *Dasar-dasar Patobiologi Molekuler Apoptosis dan Onkogenesis*. Airlangga University Press. Surabaya. Hlm. 231 - 232
- Aviram M, Volkova N, Coleman R, Dreher M, Reddy MK, Ferreira D, Rosenblat M. 2008. Pomegrante Phenolics from The Peels, Arilis and Flowers are Antiatherogenic: Studies in Vivo Atherosclerosis Apolipoprotein E-Deficient (EO) Mice and in Vitro in Cultured Macrophages and Lipoproteins. *J. Agric Food Chem* 56(3): 56 - 53.
- Balqis U, Darmawi E, Handharyani, Hambal M. 2011. Deteksi Keberadaan Antigen Pada Kutikula *Ascaridia galii* dengan Imunoglobulin Yolk Melalui Metode Imunohistokimia. *Proceeding: CheSA*. FT Unsyiah Banda Aceh.
- Boutaud, O. 2016. Inhibition of the Biosynthesis of Prostaglandin E2 By Low-Dose Aspirin: Implications for Adenocarcinoma Metastasis. *Cancer Prev Res (Phila)*. 9:11: 855-65
- Cancer Council. 2016. *Optimal Care Pathway for People with Colorectal Cancer*. Cancer Council Australia. Australia. Hlm. 20 - 21.
- Chiang AC, Massague J. 2008. Molecular Basis of Metastasis. *New England Journal of Medicine* 359 (26): 2814-23.
- Departemen Kesehatan RI. 2002. *Buku Panduan Teknologi Ekstraks*. Direktorat Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI 2008. *Farmakope Herbal Indonesia Jilid IX Departemen Kesehatan Republik Indonesia*. Jakarta. Hlm.170 - 174.
- 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.
- Febriani A, Furqon A. 2018. Metastasis Kanker Paru. Departemen Pulmonologi dan Ilmu Kedokteran Respirasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga/RSUD Dr. Soetomo. *Jurnal Respirasi* Vol. 4 No. 3 September 2018.
- Hanani E. 2016. *Analisis Fitokimia*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. Hlm. 10 - 11.

- Harbone JB. 2006. *Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, terjemahan : Padmawinata K, soediro I, penerbit ITB. Bandung, Hlm. 47 - 238.
- Harling VN. 2018. Penentuan Kadar Asam Elagat Ekstrak Metanol Kulit Buah Delima (*Punica granatum L.*). *SOSCIED* Vol 1(2), ISSN: 2622-8866
- Harling VN. 2019. Aktivitas Penangkap Radikal Bebas Ekstrak Metanol Kulit Buah Delima dan Biji Buah Delima (*Punica granatum L.*). *SOSCIED* Vol 2 (2), ISSN: 2622-8866
- Indrawati L, Simbolon Y. 2018. *Bunga Rampai Saintifika FK UKI (Nomor 7)*. Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Indonesia. Jakarta. Hlm: 91 - 95.
- Indrawati M. 2009. *Bahaya Kanker Bagi Wanita dan Pria*. Jakarta: Av Publisher. Hlm: 1.
- Jurenka J. 2008. Therapeutic Applications of Pomegranate (*Punica granatum L.*): A review. *Alternative Medicine Review*. 13(2): 128–144.
- Kementerian Kesehatan RI Badan Penelitian dan Pengembangan. 2017. Hasil Utama Riset Kesehatan Dasar. *Kementerian Kesehatan Republik Indonesia*.
- Khairi N. 2019. Penghambatan Penuaan Kulit Dini dari Krim Ekstrak Klika Faloak (*Sterculia populifolia DC*) pada Mencit (*Mus musculus*) yang diPapar Sinar Ultraviolet B (Kajian Stabilitas Formula Krim, Antioksidan, SPF, Ekspresi mRNA MMP-1 dan Histopatologi Kulit). Disertasi. Makassar: Universitas Hasanuddin.
- Kim DH, Sung B, Chung HY, Kim ND. 2014. Modulation of Colitisassociated Colon Tumorigenesis by Baicalein and Betaine. *Journal of Cancer Prevention*, 19(3): 152–160.
- Kurniawan J, Edrizal, Desnita E. 2014. Efektifitas Ekstrak Buah Delima (*Punica granatum*) secara Topikal dalam Proses Penyembuhan Luka Mukosa pada Tikus Putih (*galur wistar*). *Jurnal B-Dent*, Vol 1(2): 126-133.
- 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.
- Langley RE, Burdett S, Tierney JF, Cafferty F, Parmar MKB, Venning G. 2011. Aspirin and cancer: has aspirin been overlooked as an adjuvant therapy?. *British Journal of Cancer* 105, 1107 – 1113. doi:10.1038/bjc.2011.289.
- Lansky EP, Newman RA. 2007. *Punica granatum* (Pomegranate) and its Potential for Prevention and Treatment of Inflammation and Cancer. *J.Ethnopharmacol*; 109: 177-206.

- Latief A. 2012. Obat tradisional. *Penerbit buku kedokteran EGC*. Jakarta. Hlm: 67 - 69.
- Leake R, Barner D, Pinder S, Ellis I, Anderson L, Anderson T, Adamson R, Rhodes T, Miller K, Walker R. 2000. Immunohistochemical detection of steroid receptors in breast cancer: a Working Protocol. *J Clin Pathol* 2000;53:634-635
- Liu H, Zheng Z, Wang S. 2017. Main components of pomegranate, ellagic acid and luteolin, inhibit metastasis of ovarian cancer by down-regulating MMP-2 and MMP-9. *Cancer Biology & Therapy*. 18:12, 990-999, doi: 10.1080/15384047.2017.1394542
- Marino N, Stephan W, Reed LT, Joji N, Musa M, Maria W, Patricia S. 2013. Breast Cancer Metastasis: Issue for the Personalization of Its Prevention and Treatment. *American Journal of Pathology* 183 (4): 1084-95.
- 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.
- Meteoglu I, Erdogdu IH, Tuncyurek P, Coskun A, Culhaci N, Erkus M, Baruta S. 2015. Nuclear Factor Kappa B, Matrix Metalloproteinase-1, p53, and Ki-67 Expression in the Primary Tumors and the Lymph Node Metastases of Colorectal Cancer Cases. *Gastroenterol Res Prac*: 1-9
- Nurhidayat. 2002. *Deteksi Bahan Aktif dengan Metode Imunohistokimia*. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya
- Panduragan AK, Dharmaligam P, Sadagopan SK, Ganapasam S. 2014. Luteolin Inhibits Matrix Metalloproteinase 9 and 2 in Azoxymethane-induced Colon Carcinogenesis. *Human & Experimental Toxicology*; 33(11): 1176-85.
- Pusat Studi Biofarmaka LPPM IPB & Gagas Ulung. 2014. *Sehat Alami dengan Herbal 250 Tanaman Herbal Berkhasiat Obat*. Ed ke-1. Jakarta: Gramedia: 122-3.
- Ramos Vara JA. 2005. Technical Aspects of Immunohistochemistry. *Vet. Pathol.* Vol 42: 405-426
- Rantam FA. 2003. *Metode Imunologi*. Airlangga Universitas Press. Surabaya. Hlm: 3 - 88
- Sastrosudarmo WH. 2011. *Kanker The Silent Killer Edisi I*. Graha Media. Jakarta. Hlm: 22-24, 33, 108-110.
- Seeram NP, Adam LS, Henning SM., Niu Y. 2005. In Vitro Antiproliferative, Apoptotic and Antioxidant Activities of Punicalagin, Ellagic Acid and Total

Pomegranate Tannin Extract are Enhanced in Combination with other Polyphenols as Found in Pomegranate Juice. *Journal of Nutrition Biochemical*; 16: 360-367.

Seeram NP, Schulma D. 2006. *Pomegranate Ancient Roots to Modern Medicine*. I Ed Taylor and Feancis Group, New York: 2-99.

Siswandono. 2016. *Kimia Medisinal*. Edisi II. Airlangga University Press Surabaya. Hlm 185 - 217.

Sreekumar S, Sithul H, Muraleedharan P, Azeez JM, Sreeharshan S. 2014. *Pomegranate Fruti as a Rich Source Biologically Active Compounds*. *Biomed Res. Int*: 1 - 12

Sudjijo. 2014. *Sekilas Tanaman Delima dan Manfaatnya*. Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika. Sumatra Barat. Hlm: 40 - 43

Tjitrosoepomo G. 2002. *Taksonomi tumbuhan (Spermatophyta)*. Cetakan VII. Gajah Mada University press. Yogyakarta.

Wang Q, Jin J, Dai N, Han N. 2016. Science Direct 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*. 4 - 10.

World Health Organization (WHO). 2018. Cancer. Diambil dari: <http://www.who.int/madiacentre/factsheets/fs297/en/>. Diakses pada tanggal 3 Mei 2019.