

**STUDI PUSTAKA SISTEMATIS:
PENGARUH POLIFENOL DELIMA (*Punica granatum L.*)
TERHADAP KADAR PROSTAGLANDIN E2 DARI SEL
MAKROFAG RAW264.7**

Faizah Dwi Qurrotul Aini¹, Anita Puspa Widiyana², Doti Wahyuningsih^{1*}

¹Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang, Jl. MT. Haryono 193, Malang, Jawa Timur, Indonesia

²Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang, Jl. MT. Haryono 193, Malang, Jawa Timur, Indonesia

*email (co-author): dotiwahyuningsih@unisma.ac.id.

Abstract: Prostaglandin E2 (PGE2) is a compound reported will increase in inflamed tissue and contributed to modulate pain. Pomegranate (*Punica granatum L.*) has been proved to have an anti-inflammatory property and ability to attenuate neurogenic pain. This systematic literature review studies the anti-inflammation potentation of extract and bioactive compound of pomegranate in decreasing PGE2 in RAW264.7 macrophage cell. Method: Systematic literature review. Data were collected from PubMed Central, PubMed, and Google Scholar using pomegranate, inflammation, PGE2, and RAW264.7 macrophage cell as the keyword. Eight articles according to the inclusion criteria were chosen to be reviewed. Result: Pomegranate peel and flower extracts along with pomegranate fruit and peel polyphenols were proven to decrease PGE2 of RAW264.7 macrophages cell. This pomegranate extracts and polyphenols decrease PGE2 by inhibiting; expression of *Toll-Like Receptor 4* (TLR4), *Mitogen-Activated Protein Kinase* (MAPK) pathway, *Nuclear Factor-Kappa B* (NF-κB) trancript factor activation, and expression and regulation of COX-2 enzyme. Accordingly, the data showed polyphenol of pomegranate inhibit PGE2 synthesis dependently. Conclusion: Pomegranate polyphenol has potency to reduce PGE2 in RAW264.7 macrophage cell.

Keywords: *Pomegranate, Inflammation, PGE2, RAW264.7 Macrophage Cell*

Abstrak: *Prostaglandin E2* (PGE2) adalah senyawa yang akan meningkat pada jaringan inflamasi dan berkontribusi memodulasi nyeri. Delima (*Punica granatum L.*) dilaporkan memiliki potensi anti-inflamasi dan anti-nyeri neurogenik. Studi pustaka sistematis (SPS) ini mempelajari potensi anti-inflamasi ekstrak dan senyawa polifenol delima terhadap penurunan kadar PGE2 pada sel makrofag RAW264.7. Metode: Studi pustaka sistematis. Data penelitian dikumpulkan dari *PubMed Central, PubMed, dan Google Scholar* berdasarkan kata kunci *pomegranate* atau *Punica granatum, inflammation, PGE2, dan sel makrofag RAW264.7*. Delapan artikel memenuhi kriteria inklusi dan ditetapkan untuk ditelaah. Hasil: Ekstrak kulit dan bunga delima serta senyawa polifenol dalam buah dan kulit delima terbukti mampu menurunkan kadar PGE2 pada sel makrofag RAW264.7. Aktivitas anti-inflamasi ekstrak kulit dan bunga delima serta senyawa polifenol dalam buah dan kulit delima menurunkan kadar PGE2 melalui hambatan ekspresi *Toll-Like Receptor 4* (TLR4), hambatan aktivasi jalur pensinyalan *Mitogen-Activated Protein Kinase* (MAPK), hambatan aktivasi faktor transkripsi *Nuclear Factor-Kappa B* (NF-κB), serta hambatan ekspresi dan regulasi enzim COX-2. Data menunjukkan bahwa senyawa polifenol delima menghambat sintesis PGE2 secara dependen. Kesimpulan: Senyawa polifenol delima mampu menurunkan kadar PGE2 pada sel makrofag RAW264.7.

Kata kunci: Delima, Inflamasi, PGE2, Sel Makrofag RAW264.7

PENDAHULUAN

Inflamasi atau peradangan merupakan mekanisme imunitas protektif terhadap kerusakan jaringan akibat infeksi, iritasi, maupun injuri dan ditandai dengan munculnya tanda-tanda kardinal tumor (bengkak), kalor (panas), rubor (merah), dolor (nyeri), dan *functio laesa*

(gangguan fungsi) (Medzhitov, 2010; Kawahara dkk, 2015). Pelepasan sitokin proinflamasi *Interleukin-1 β* (IL-1 β) dan *Tumor Necrosis Factor α* (TNF- α) oleh makrofag akan merangsang pembentukan dan sintesis mediator inflamasi *Prostaglandin E2* (PGE2) melalui pemecahan asam arakidonat (Sprague dan Khalil, 2010). Sintesis PGE2 secara signifikan akan meningkat pada jaringan yang mengalami inflamasi dan berkontribusi memodulasi nyeri (Zeilhofer, 2007).

Terapi farmakologi anti-inflamasi yang mampu menghambat sintesis PGE2 dan mengurangi rasa nyeri adalah *Non Steroid Anti-inflammatory Drugs* (NSAIDs). Namun penggunaan NSAIDs dalam jangka panjang dapat menimbulkan efek samping obat (ESO) seperti ulkus peptikum, hiperkalemia, perforasi dan perdarahan saluran gastrointestinal, hipertensi, sindrom nefrotik, hingga gagal ginjal kronis (Wongrakpanich dkk, 2018). Pemanfaatan tanaman herbal dapat menjadi solusi terapi anti-inflamasi alternatif yang dapat digunakan dalam jangka panjang dengan efek samping minimal.

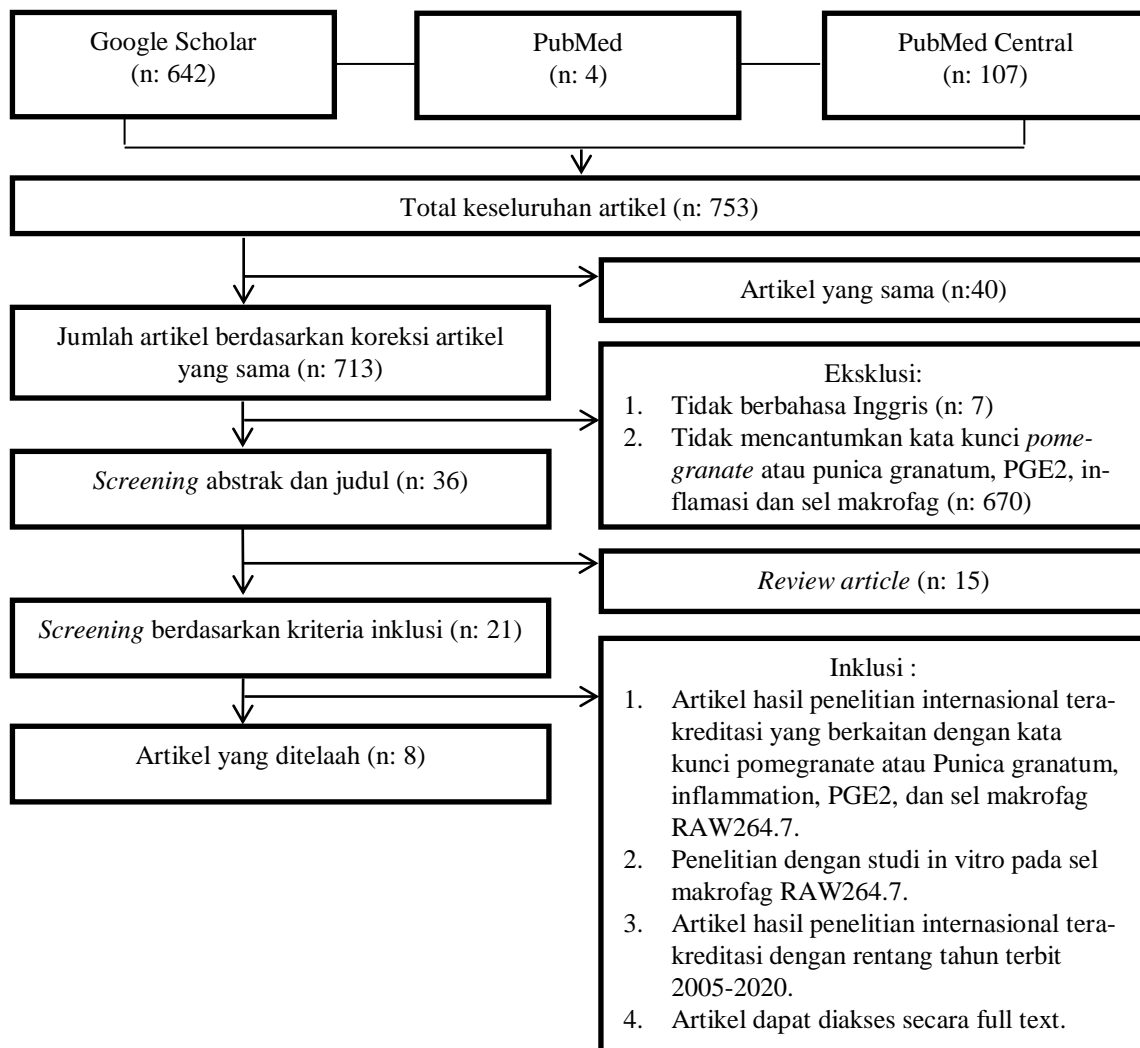
Delima (*Punica granatum L.*) merupakan salah satu buah yang disebutkan dalam Al-Qur'an pada surah al-An'am ayat 99 dan 141 serta pada surah ar-Rahman ayat 68. Buah ini banyak dikonsumsi di seluruh dunia dan banyak dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Delima kaya akan kandungan polifenol, senyawa yang memiliki manfaat sebagai anti-inflamasi serta memiliki khasiat sebagai antioksidan (Akhtar dkk, 2017; Lee dkk, 2010). Buah ini juga dilaporkan dapat mengurangi nyeri neurogenik (Jain dkk, 2013). Senyawa polifenol dalam kulit, buah, biji, dan bunga delima memiliki sifat anti-inflamasi yang mampu menghambat sintesis sitokin proinflamasi (Colombo dkk, 2013). Senyawa polifenol delima seperti *Ellagic Acid*, *Gallic Acid* serta *Punicalagin A* dan *Punicalagin B* juga dilaporkan mampu menekan ekspresi *Cyclooxygenase-2* (COX-2) dan *Inducible Nitric Oxide Synthase* (iNOS), serta menekan pelepasan PGE2 pada sel makrofag yang diinduksi dengan *Lipopolysaccharide* (LPS) (BenSaad dkk, 2017; Xu dkk, 2014; Du dkk, 2018).

Salah satu metode untuk mengevaluasi potensi anti-inflamasi senyawa polifenol delima adalah dengan menggunakan sel makrofag. Makrofag berperan penting dalam kekebalan tubuh manusia dan merupakan mediator seluler pertama respon imun bawaan atau *innate immune response* pada kondisi peradangan (Carralot dkk, 2009; Shi dkk, 2009). Selama proses ini, makrofag menghasilkan berbagai jenis mediator inflamasi seperti IL-1 β , TNF- α , *Nitric Oxide* (NO^{*}), dan prostaglandin (Shi dkk, 2009). Berdasarkan fakta di atas, peneliti ingin melakukan *Systematic Literature Review* (SLR) atau studi pustaka sistematis untuk memberikan gambaran yang jelas dan komprehensif serta mengkaji lebih dalam potensi delima sebagai anti-inflamasi dengan menghambat sintesis PGE2 pada sel makrofag RAW264.7. Studi dilakukan yang hasilnya dapat digunakan sebagai dasar penggunaan delima sebagai terapi anti-inflamasi alternatif yang juga berkhasiat sebagai anti nyeri.

METODE

Pencarian Data

Pencarian data dilakukan melalui sumber penyedia artikel penelitian *PubMed Central*, *PubMed*, dan *Google Scholar*. Berdasarkan judul penelitian, peneliti melakukan pencarian data artikel hasil penelitian dengan kata kunci *pomegranate*, *inflammation*, PGE2, dan sel makrofag RAW264.7 diikuti dengan penggunaan sinonim dan *Medical Subject Headings* (MeSH) sebagai berikut: ("*Pomegranate*" OR "*Punica granatum*" OR "*Punicalagin*" OR "*Punicalin*" OR "*Gallic Acid*" OR "*Ellagic Acid*" OR "*Ellagitannin*" OR "*Granatin*") AND ("*Inflammation*" OR "*Inflammatory*") AND ("*Prostaglandin E2*" OR "*PGE2*" OR "*Dinoprostone*") AND ("*Macrophage*" OR "*Macrophages*" OR "*Macrophage RAW264.7*").



Gambar 1. Diagram Alur Pencarian Data Artikel

Kriteria Inklusi dan Eksklusi

Dalam penelitian ini kriteria inklusi yang ditetapkan adalah sebagai berikut: (1) Artikel hasil penelitian internasional terakreditasi yang berkaitan dengan kata kunci *pomegranate* atau *Punica granatum*, *inflammation*, PGE2, dan sel makrofag RAW264.7. (2) Artikel dengan rentang tahun terbit 2005-2020. (3) Artikel dapat diakses secara *full text*. Kriteria eksklusi yang ditetapkan adalah: (1) Artikel hasil penelitian internasional terakreditasi yang tidak berkaitan dengan kata kunci *pomegranate* atau *Punica granatum*, *inflammation*, PGE2, dan sel makrofag RAW264.7. (2) Artikel hasil penelitian internasional tidak terakreditasi yang berkaitan dengan kata kunci *pomegranate* atau *Punica granatum*, *inflammation*, PGE2, dan sel makrofag RAW264.7. (3) Artikel ulasan atau *review article*. (4) Artikel dengan tahun terbit di bawah tahun 2005. (5) Artikel tidak dapat diakses secara *full text*.

Penilaian Kualitas dan Validitas Data

Kualitas data atau artikel dinilai berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi yang telah ditetapkan sebelumnya. Kriteria eksklusi dapat membatalkan data atau artikel yang didapat untuk dikaji lebih lanjut. Penilaian keabsahan atau validitas artikel hasil penelitian dilakukan pada situs <https://www.scimagojr.com/>.

Ekstraksi Data

Ekstraksi data dilakukan setelah didapatkan sejumlah data artikel hasil penelitian yang sesuai klasifikasi dan terakreditasi. Data artikel hasil penelitian yang diekstraksi meliputi (1)

Jenis sel yang dikultur (2) Perlakuan dan durasi intervensi (3) Agen pencetus inflamasi (4) Efek perlakuan terhadap kadar PGE2 (5) Nama penulis artikel hasil penelitian yang ditelaah.

HASIL

Hasil Pencarian dan Pemilihan Artikel Penelitian

Proses pemilihan literatur berdasarkan metode *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA) *flow diagram* atau diagram alir PRISMA (Liberati dkk, 2009). Proses pencarian awal menghasilkan 753 artikel. Sejumlah 745 artikel diantaranya dikecualikan pada *screening* tahap awal berdasarkan hasil koreksi artikel yang sama; artikel tidak dapat diakses secara *full text*; *review article* atau artikel ulasan; artikel yang tidak mencantumkan kata kunci *pomegranate* atau *Punica granatum*, PGE2, inflamasi, atau sel makrofag; serta artikel yang tidak memenuhi kriteria inklusi setelah dilakukan *screening* tahap akhir berdasarkan judul dan abstraknya (Gambar 1). Hasil ekstraksi karakteristik literatur yang memenuhi kriteria inklusi dirangkum pada tabel 1, tabel 2, tabel 3, tabel 4 dan dikelompokkan berdasarkan bagian delima yang digunakan.

Tabel 1. Potensi Anti-inflamasi Ekstrak dan Senyawa Polifenol Buah Delima

Jenis Sel	Perlakuan	Pencetus Inflamasi	Efek terhadap Kadar PGE2	Artikel Penelitian
Sel Makrofag RAW264.7	PC (25, 50, 100 μ M) Sebagai <i>pretreatment</i> selama 1 jam. Inkubasi dengan LPS selama 24 jam.	LPS 1 μ g/mL	\downarrow PGE2 PC 25&50 μ M p<0,05 PC 100 μ M p<0,01	Xu dkk, 2014*
Sel Makrofag RAW264.7	PC (2.5, 5, 7.5, 10 μ M) Inkubasi dengan LPS.	LPS 0.1 μ g/mL	\downarrow PGE2 PC \geq 7.5 μ M p<0,05	Berköz & Allahverdiyev, 2017*
Sel Makrofag RAW264.7	EA, GA, PC A&B dari hasil isolasi ekstrak etanol 80% buah delima dengan dosis 50, 100, 150, 200 μ g/mL tiap perlakuan. Inkubasi dengan LPS selama 24 jam.	LPS 1 μ g/mL	\downarrow PGE2 EA, GA, PC A&B p<0,001	BenSaad dkk, 2017*

Catatan: \downarrow : Menurunkan; EA: *Ellagic Acid*; GA: *Galic Acid*; LPS: Lipopolisakarida; PC: *Punicalagin*; PC A&B: *Punicalagin A&B*; PGE2: *Prostaglandin E2*.

Berdasarkan hasil penelitian Xu dkk, (2014)*; Berköz & Allahverdiyev, (2017)*; dan BenSaad dkk, (2017)*, pemberian senyawa polifenol *Punicalagin*, *Ellagic Acid*, *Galic Acid* serta *Punicalagin A* dan *Punicalagin B* dari buah delima terbukti mampu menurunkan kadar PGE2 pada sel makrofag RAW264.7 secara *in vitro* (Tabel 1).

Tabel 2. Potensi Anti-inflamasi Ekstrak dan Senyawa Polifenol Kulit Delima

Jenis Sel	Perlakuan	Pencetus Inflamasi	Efek terhadap Kadar PGE2	Artikel Penelitian
Sel Makrofag RAW264.7	PC, PUN, Strictinin A, dan Granatin B dari hasil isolasi ekstrak aseton 70% kulit delima (100 μ M) Inkubasi dengan LPS 8 jam.	LPS 500 ng/mL	\downarrow PGE2 oleh Granatin B p<0,001	Lee dkk, 2010*
Sel Makrofag RAW264.7	PC, PUN, Strictinin A, dan Granatin B dari dari hasil isolasi ekstrak aseton 70% kulit delima (50 μ M) Inkubasi dengan HKP 18 jam.	*HKP 100 μ g/mL	\downarrow PGE2 oleh PC dan Granatin B. Inhibisi sebesar 50%	Lee dkk, 2017*

Catatan: *HKP: Pencetus respon inflamasi pada kondisi *Acne Vulgaris*; \downarrow : Menurunkan; LPS: Lipopolisakarida; HKP: *Heat-Killed P. Acnes*; PC: *Punicalagin*; PUN: *Punicalin*; PGE2: *Prostaglandin E2*.

Tabel 3. Lanjutan

Jenis Sel	Perlakuan	Pencetus Inflamasi	Efek terhadap Kadar PGE2	Artikel Penelitian
Sel Makrofag RAW264.7	Ekstrak etanol 60% kulit delima (1, 10, 100 µM), PC dan EA dengan dosis 1, 10, 50 µM tiap perlakuan sebagai <i>pretreatment</i> selama 1 jam. Inkubasi dengan LPS 24 jam.	LPS 1 µg/mL	↓ PGE2 EKD 10 µM p<0,01; 100 µM p<0,001 PC 1 µM p<0,05; 10 µM p<0,01; 50 µM p<0,001 EA 10 µM p<0,01; 50 p<0,001	Du dkk, 2018*
Sel Makrofag RAW264.7	Ekstrak etanol 60% kulit delima (100 µM), PC 50 µM dan EA 50 µM sebagai <i>pretreatment</i> selama 1 jam. Inkubasi dengan LPS 24 jam.	LPS 1 µg/mL	↓ PGE2 EKD, PC, EA p<0,001	Du dkk, 2019*

Catatan: ↓: Menurunkan; EA: *Ellagic Acid*; EKD: Ekstrak Kulit Delima; LPS: Lipopolisakarida; PC: *Punicalagin*; PUN: *Punicalin*; PGE2: *Prostaglandin E2*.

Berdasarkan hasil penelitian Lee dkk, (2010)*; Lee dkk, (2017)*; Du dkk, (2018)*; dan Du dkk, (2019)*, pemberian senyawa polifenol *Punicalagin*, *Punicalin*, *Strictinin A*, *Granatin B*, dan *Ellagic Acid* dari kulit delima serta pemberian ekstrak kulit delima terbukti mampu menurunkan kadar PGE2 pada sel makrofag RAW264.7 secara *in vitro* (Tabel 2 dan 3).

Tabel 4. Potensi Anti-inflamasi Ekstrak Bunga Delima

Jenis Sel	Perlakuan	Pencetus Inflamasi	Efek terhadap Kadar PGE2	Artikel Penelitian
Sel Makrofag RAW264.7	Ekstrak etanol 70% bunga delima (Mengandung EA, EAR, Granatin A&B) (10, 25, 50, 100 µg/mL) Sebagai <i>pretreatment</i> selama 1 jam). Inkubasi dengan LPS 18 jam.	LPS 1 µg/mL	↓ PGE2 10 µg/mL p<0,05 ≥25 µg/mL p<0,01	Xu dkk, 2017*

Catatan: ↓: Menurunkan; EA: *Ellagic Acid*; EAR: *Ellagic Acid Rhamnoside*; LPS: Lipopolisakarida; PGE2: *Prostaglandin E2*.

Berdasarkan hasil penelitian Xu dkk, (2017)*, pemberian ekstrak bunga delima dengan kandungan *polifenol Ellagic Acid*, *Ellagic Acid Rhamnoside*, *Granatin A* dan *Granatin B* terbukti mampu menurunkan kadar PGE2 pada sel makrofag RAW264.7 secara *in vitro* (Tabel 4).

Metode Perolehan Ekstrak dan Senyawa Polifenol Delima

Pemberian ekstrak delima dan senyawa polifenol delima sebagai perlakuan pada tiap penelitian diperoleh dari hasil ekstraksi serta dari hasil pembelian senyawa murni. Hasil ini dapat dilihat pada tabel 5.

Pada penelitian Xu dkk, (2014)* dan Berköz & Allahverdiyev (2017)*, senyawa *Punicalagin* yang digunakan sebagai perlakuan diperoleh dari hasil pembelian senyawa murni. Pada penelitian BenSaad dkk, (2017)* proses ekstraksi buah delima dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 80%. Metode maserasi mampu melarutkan senyawa fitokimia dalam delima melalui difusi pelarut ke dalam dinding sel tumbuhan (Handa dkk, 2008). Metode ini dilakukan dengan merendam bahan tanaman dalam bentuk kasar maupun halus dengan pelarut yang memiliki polaritas yang sesuai. Prosesnya dilakukan dalam wadah tertutup pada suhu ruangan (Azwanida, 2015). Pada penelitian Lee dkk, (2010)* dan Lee dkk, (2017)*, proses ekstraksi bubuk kulit delima dilakukan dengan menggunakan pelarut aseton 70%. Pada penelitian Xu dkk, (2017)* proses ekstraksi bunga delima kering dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol 70%. Penggunaan pelarut etanol 80%, aseton

70% dan etanol 70% yang bersifat polar pada ketiga penelitian mampu melarutkan senyawa polifenol delima oleh adanya kesesuaian polaritas antar keduanya. Menurut Harborne (1987), “suatu bahan akan ikut larut dalam pelarut dengan polaritas yang sama”.

Metode ekstraksi yang diterapkan pada penelitian Du dkk, (2018)* dan Du dkk, (2019)* adalah *Ethanol-ultrasonic extraction* dengan menggunakan pelarut etanol 60%. Metode ini dilakukan dengan memanfaatkan efek gelombang ultrasonik yang dapat mempercepat difusi pelarut ke dalam dinding sel tumbuhan untuk memfasilitasi pelepasan senyawa fitokimia (Lee dan Lin, 2007). Penggunaan pelarut etanol 60% yang bersifat polar pada proses ekstraksi, mampu melarutkan senyawa polifenol delima oleh adanya kesesuaian polaritas antar keduanya. Menurut prinsip *like dissolves like*, pelarut akan melarutkan senyawa dengan polaritas yang sama (Mariana dkk, 2018).

Uji fitokimia dengan teknik kromatografi dilakukan untuk mengisolasi senyawa polifenol dari ekstrak delima. Xu dkk, (2017)* dalam uji fitokimia melaporkan, ekstrak etanol 70% bunga delima menghasilkan isolasi senyawa *Ellagic Acid*, *Ellagic Acid Rhamnosid*, *Granatin A&B*, *Galloyl-HHDP-glucoside*, *Digalloyl-glucoside* serta beberapa senyawa bioaktif lainnya. Pada penelitian BenSaad dkk, (2017)* hasil uji fitokimia ekstrak etanol 80% menghasilkan isolasi senyawa *Ellagic Acid*, *Gallic Acid* dan *Punicaligin A&B*. Pada penelitian Lee dkk, (2010)* dan Lee dkk, (2017)*, uji fitokimia ekstrak aseton 70% kulit delima menghasilkan isolasi senyawa *Punicaligin*, *Punicalin*, *Strictinin A* dan *Granatin B*. Hasil isolasi senyawa polifenol pada penelitian BenSaad dkk, (2017)*, Lee dkk, (2010)* dan Lee dkk, (2017)* digunakan sebagai perlakuan dalam penelitian.

Tabel 5. Metode Perolehan Ekstrak dan Senyawa Polifenol Delima

Jenis Ekstrak dan Senyawa Polifenol Delima	Metode Perolehan Ekstrak dan Senyawa Polifenol Delima	Artikel Penelitian
<i>Punicaligin</i>	Hasil pembelian senyawa murni	Jumlah artikel penelitian (1) : Xu dkk, 2014*
<i>Punicaligin</i>	Hasil pembelian senyawa murni	Jumlah artikel penelitian (1) : Berköz & Allahverdiyev, 2017*
<i>Ellagic Acid</i> , <i>Gallic Acid</i> , <i>Punicaligin A</i> dan <i>Punicaligin B</i>	Hasil isolasi senyawa polifenol ekstrak etanol 80% buah delima (<i>whole fruits</i>) melalui uji fitokimia	Jumlah artikel penelitian (1) : BenSaad dkk, 2017*
<i>Punicaligin</i> , <i>Punicalin</i> , <i>Strictinin A</i> , dan <i>Granatin B</i>	Hasil isolasi senyawa polifenol ekstrak aseton 70% kulit delima melalui uji fitokimia	Jumlah artikel penelitian (2) : 1. Lee dkk, 2010* 2. Lee dkk, 2017*
Ekstrak etanol 60% kulit delima, <i>Punicaligin</i> dan <i>Ellagic Acid</i>	Hasil ekstraksi etanol 60% kulit delima dan hasil isolasi senyawa polifenol ekstrak etanol 60% kulit delima melalui uji fitokimia	Jumlah artikel penelitian (2) : 1. Du dkk, 2018* 2. Du dkk, 2019*
Ekstrak etanol 70% bunga delima	Hasil ekstraksi etanol 70% bunga delima	Jumlah artikel penelitian (1) : Xu dkk, 2017*

Metode Induksi Model Inflamasi

Berdasarkan telaah pada 8 artikel hasil penelitian, 7 penelitian menggunakan *Lipopolysaccharide* (LPS) dan 1 penelitian menggunakan *Heat-Killed P. acnes* (HKP) sebagai agen pencetus inflamasi pada sel makrofag RAW264.7 (Tabel 1-4). Kadar PGE2 yang disintesis oleh sel makrofag RAW264.7 pada tiap penelitian diukur dengan metode *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA).

Metode Pemberian Ekstrak dan Senyawa Polifenol Delima Sebagai Anti-inflamasi

Perlakuan terapi anti-inflamasi ekstrak dan senyawa polifenol delima pada sel makrofag RAW264.7 dilakukan dengan cara inkubasi. Inkubasi dilakukan secara bersamaan dengan agen pencetus inflamasi LPS atau HKP. Konsentrasi ekstrak dan senyawa polifenol delima

yang diberikan dan durasi inkubasi yang dilakukan pada tiap penelitian berbeda-beda. Hal ini berdasarkan ketentuan yang telah ditetapkan oleh tiap peneliti pada saat penelitian (Tabel 1-4).

PEMBAHASAN

Pengaruh Induksi Agen Pencetus Inflamasi terhadap Kadar PGE2

Uji aktivitas anti-inflamasi pada tiap artikel dilakukan secara *in vitro* dengan metode kultur sel makrofag RAW264.7. Model inflamasi pada sel makrofag RAW264.7 dicetuskan dengan induksi LPS atau dengan induksi HKP. Induksi LPS dan HKP pada sel makrofag RAW264.7 terbukti mampu menyebabkan peningkatan kadar PGE2 pada sel makrofag RAW264.7. Induksi agen pencetus inflamasi LPS dan HKP pada sel makrofag RAW264.7 menyebabkan aktivasi jalur MAPK dan aktivasi faktor transkripsi NF- κ B melalui ikatan LPS dengan *Toll-Like Receptor 4* (TLR4) dan ikatan HKP dengan *Toll-Like Receptor 2* (TLR2) (Han dkk, 2014; Liu dkk, 2017; Kim dkk, 2015; Lee dkk, 2019). Aktivasi kedua jalur pensinyalan ini akan menginduksi produksi dan sintesis PGE2 melalui pemecahan asam arakidonat yang dikeluarkan oleh makrofag (Kawasaki dan Kawai, 2014; Ricciotti dan FitzGerald, 2011).

Lipopolysaccharide (LPS) atau disebut juga sebagai endotoksin merupakan unsur utama membran sel bakteri gram negatif yang terdiri atas lipid A dan polisakarida atau oligosakarida (Rhee, 2014). Amersfoort dkk, (2003) menyebutkan bahwa “sistem imunitas dapat diaktifkan secara nonspesifik melalui induksi bakteri maupun komponen pembentuknya secara langsung”. *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*) merupakan bakteri gram positif yang berperan penting dalam mekanisme inflamasi pada kondisi *acne vulgaris*. Draing dkk, (2006) menyebutkan, “bakteri gram positif mampu menginduksi respon inflamasi melalui interaksi TLR2 dengan *Lipoteichoic Acids* (LTA) yang terdapat dalam dinding sel bakteri gram positif”.

Pengaruh Pemberian *Punicalagin* Buah Delima terhadap Kadar PGE2

Data hasil penelitian Xu dkk, (2014)* dan Berköz & Allahverdiyev, (2017)* menunjukkan bahwa pemberian senyawa *Punicalagin* murni mampu menurunkan kadar PGE2 pada sel makrofag RAW264.7 yang diinduksi dengan LPS (Tabel 1). Hasil inhibisi PGE2 terbaik pada penelitian Xu dkk, (2014)* ditunjukkan oleh senyawa *Punicalagin* pada konsentrasi 100 μ M, sedangkan pada penelitian Berköz & Allahverdiyev, (2017)*, hasil inhibisi PGE2 terbaik ditunjukkan pada konsentrasi 7.5 dan 10 μ M. Perbandingan dosis *Punicalagin* dan LPS 1:10 (10 μ M *Punicalagin* dengan 0,1 μ g/mL LPS : 100 μ M *Punicalagin* dengan 1 μ g/mL LPS) antar kedua penelitian menunjukkan bahwa pemberian dosis *Punicalagin* berbanding lurus dengan dosis LPS yang diinduksikan. Berdasarkan hasil analisa dapat diambil kesimpulan bahwa semakin tinggi paparan LPS maka konsentrasi *Punicalagin* yang dibutuhkan juga semakin banyak.

Berköz & Allahverdiyev, (2017)* dalam penelitiannya menjelaskan, sintesis PGE2 pada sel makrofag RAW264.7 dihambat oleh sifat anti-inflamasi senyawa *Punicalagin* melalui hambatan ekspresi enzim COX-2. Hal ini dibuktikan dengan adanya penurunan ekspresi enzim COX-2 sebesar 32.01%, 40.84%, 48.65% dan 55.68% pada sel makrofag RAW264.7 terhadap pemberian senyawa *Punicalagin* dengan konsentrasi 2,5, 5, 7,5 dan 10 μ M secara berturut-turut (Berköz & Allahverdiyev, 2017)*. Penghambatan sintesis PGE2 oleh sifat anti-inflamasi senyawa *Punicalagin* secara lebih rinci dapat dipelajari dari hasil penelitian Xu dkk, (2014)*. Pemberian senyawa *Punicalagin* pada penelitian Xu dkk, (2014)* dilaporkan menyebabkan hambatan sitokin proinflamasi IL-1 β dan TNF- α , hambatan ekspresi COX-2, hambatan jalur pensinyalan NF- κ B dan MAPK, serta hambatan ekspresi TLR4 pada sel makrofag RAW264.7. *Toll-Like Receptor 4* (TLR4), yang diekspresikan pada berbagai sel

proinflamasi, merupakan faktor penting dalam pengaturan *innate immune system*. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa TLR4 adalah reseptor pensinyalan utama dalam respon inflamasi oleh induksi LPS yang berperan mengatur aktivitas jalur MAPK dan NF- κ B (Nyati dkk, 2017). Hambatan ekspresi TLR4 oleh sifat anti-inflamasi senyawa *Punicalagin* pada penelitian Xu dkk, (2014)* menyebabkan hambatan aktivasi jalur pensinyalan MAPK dan NF- κ B sebagai regulator pelepasan mediator dan sitokin proinflamasi yang memediasi penurunan kadar PGE2. Berdasarkan hasil penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa penghambatan ekspresi TLR4 merupakan mekanisme utama yang mendasari hambatan sintesis PGE2 oleh senyawa *Punicalagin* pada sel makrofag RAW254.7 dengan induksi dengan LPS. Sehingga dapat ditarik kesimpulan lain bahwa senyawa *Punicalagin* merupakan modalitas terapi anti-inflamasi potensial yang mampu menghambat reseptor respon inflamasi utama.

Pengaruh Pemberian Senyawa Polifenol *Ellagic Acid*, *Gallic Acid*, dan *Punicalagin A&B* Ekstrak Etanol 80% Buah Delima (*Whole Fruit*) terhadap Kadar PGE2

Hasil penelitian BenSaad dkk, (2017)* menunjukkan, pemberian *Ellagic Acid*, *Gallic Acid*, dan *Punicalagin A&B* dari hasil isolasi ekstrak etanol 80% buah delima (*whole fruit*) terbukti menurunkan kadar PGE2 pada sel makrofag RAW264.7 yang diinduksi dengan LPS. Hasil inhibisi PGE2 terbaik oleh keempat senyawa tersebut ditunjukkan pada konsentrasi 200 μ M (Tabel 1).

BenSaad dkk, (2017)* melaporkan, sifat anti-inflamasi *Ellagic Acid*, *Gallic Acid*, dan *Punicalagin A&B* menghambat sintesis PGE2 secara independen. Hal ini dibuktikan dengan pemberian *Ellagic Acid*, *Gallic Acid*, dan *Punicalagin A&B* pada sel makrofag RAW264.7 yang diinduksi LPS tidak menurunkan ekspresi enzim COX-2. Hasil ini bertentangan dengan beberapa hasil laporan penelitian lain yang menunjukkan hasil sebaliknya. Olajide dkk, (2014) dalam penelitiannya melaporkan, pemberian senyawa *Punicalagin* terbukti memediasi penghambatan produksi PGE2 pada sel mikroglia yang diinduksi dengan LPS melalui hambatan ekspresi dari enzim COX-2 (Olajide dkk, 2014). Data hasil penelitian Karlsson dkk, (2010) juga menunjukkan adanya hambatan ekspresi enzim COX-2 oleh sifat anti-inflamasi senyawa *Ellagic Acid* yang memediasi penurunan sintesis PGE2 pada sel monosit manusia dengan induksi LPS. Namun belum ada penelitian yang melaporkan sifat anti-inflamasi senyawa *Gallic Acid* dalam menghambat COX-2.

Faktor lain yang diduga mempengaruhi hambatan enzim COX-2 adalah durasi inkubasi yang dilakukan. Pada penelitian Bensaad dkk, (2017)* inkubasi *Punicalagin*, *Ellagic Acid* dan *Gallic Acid* dengan LPS dilakukan selama 24 jam. Diduga ketiga senyawa tersebut tidak berhasil menurunkan ekspresi COX-2 dipengaruhi oleh lamanya inkubasi yang dilakukan. Lee dkk, (2010)* menyebutkan bahwa penghambatan enzim COX-2 terjadi pada fase *early stage* atau inkubasi LPS selama 8 jam.

Pengaruh Pemberian Senyawa Polifenol Ekstrak Aseton 70% Kulit Delima terhadap Kadar PGE2 oleh Induksi LPS

Berdasarkan hasil penelitian Lee dkk, (2010)* secara *in vitro*, pemberian senyawa *Punicalagin*, *Punicalin* dan *Strictinin A* yang diisolasi dari ekstrak aseton 70% kulit delima pada sel makrofag RAW264.7 yang diinduksi LPS tidak menurunkan kadar PGE2. Namun pemberian senyawa *Granatin B* yang diisolasi dari ekstrak aseton 70% kulit delima secara signifikan menurunkan kadar PGE2 pada sel makrofag RAW264.7 (Tabel 2).

Granatin B merupakan senyawa derivat *Ellagitannin* dengan unit *Dehydrohexahydroxydiphenoyl* (DHHDP), Feldman dalam penelitiannya menyebutkan bahwa senyawa *Hydrolysable Tannin* dengan unit DHHDP memiliki efek anti-inflamasi dan antioksidan yang cukup tinggi (Feldman, 2005). Senyawa *Granatin B* secara dependen mampu menghambat sintesis PGE2 melalui hambatan ekspresi enzim COX-2. Hal ini dibuktikan dengan adanya hambatan enzim COX-2 pada sel makrofag RAW264.7 yang

diinduksi LPS oleh pemberian *Granatin B*. Aktivitas anti-inflamasi senyawa *Granatin B* terhadap hambatan ekspresi enzim COX-2 dan hambatan sintesis PGE2 terjadi pada fase *early stage*, yakni pada inkubasi dengan LPS selama 8 jam, dan tidak memberikan pengaruh pada fase *late stage*, yakni pada inkubasi dengan LPS selama 18 jam (Lee dkk, 2010)*.

Pengaruh Pemberian Senyawa Polifenol Ekstrak Aseton 70% Kulit Delima terhadap Kadar PGE2 oleh Induksi HKP

Penelitian lanjutan dilakukan Lee dkk, (2017)* untuk menguji efek anti-inflamasi senyawa *Punicalagin*, *Punicalin*, *Strictinin A* dan *Granatin B* pada sel makrofag RAW264.7 dengan induksi HKP terhadap kadar PGE2. Hasil penelitian menunjukkan adanya penurunan kadar PGE2 secara signifikan pada sel makrofag RAW264.7 oleh senyawa *Punicalagin* dan *Granatin B* (Tabel 2).

Propionibacterium acnes (*P. acnes*) merupakan bakteri gram positif yang berperan penting dalam mekanisme inflamasi pada kondisi *acne vulgaris*. Induksi *Heat-Killed P. acnes* (HKP) pada penelitian Lee dkk, (2017)* mencerminkan respon inflamasi pada kondisi *acne vulgaris* yang secara signifikan menyebabkan peningkatan PGE2 pada sel makrofag RAW264.7. *Acne vulgaris* atau jerawat merupakan penyakit kulit inflamatorik yang umum terjadi pada remaja dengan ketidakseimbangan hormon (Aydemir, 2014; Sutaria dkk, 2020). Empat patogenesis utama yang mendasari munculnya jerawat adalah: meningkatnya produksi sebum, bakteri *P. acnes* dan *S. aureus*, retensi hiperkeratosis yang menghambat pori-pori kulit, serta respon inflamasi pada kulit (Williams dkk, 2012). Sintesis PGE2 pada kondisi *acne vulgaris* menyebabkan hiperplasia kelenjar subbasea yang menyebabkan peningkatan produksi sebum sehingga memperburuk kondisi *acne vulgaris* (Bakry dkk, 2017).

Dalam penelitian ini tidak dijelaskan mekanisme penghambatan PGE2 oleh senyawa *Punicalagin* dan *Granatin B* pada kondisi *acne vulgaris*. Namun berdasarkan hasil penelitian Lee dkk, (2010)*, dapat diketahui bahwa penghambatan sintesis PGE2 oleh senyawa *Granatin B* dimediasi oleh penghambatan enzim COX-2. Sedangkan penghambatan PGE2 oleh senyawa *Punicalagin* secara dependen diperantarai oleh hambatan ekspresi TLR4, hambatan aktivasi jalur MAPK, hambatan aktivasi faktor transkripsi NF- κ B, hambatan sintesis sitokin proinflamasi IL-1 β dan TNF- α , serta hambatan ekspresi enzim COX-2 (Xu dkk, 2014)*.

Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol 60% Kulit Delima, Senyawa *Punicalagin* dan *Ellagic Acid* Kulit Delima terhadap Kadar PGE2

Uji aktivitas anti-inflamasi ekstrak etanol 60% kulit delima, serta senyawa hasil isolatnya yakni *Punicalagin* dan *Ellagic Acid* dilakukan pada penelitian Du dkk, (2018)* dan Du dkk, (2019)*. Dalam penelitiannya, Du dkk, (2018)* dan Du dkk, (2019)* melaporkan bahwa pemberian ekstrak etanol 60% kulit delima serta senyawa *Punicalagin* dan *Ellagic Acid* hasil isolatnya mampu menurunkan kadar PGE2 pada sel makrofag RAW264.7 yang diinduksi LPS (Tabel 3). Penggunaan dosis pada penelitian Du dkk, (2019)* didasari oleh hasil penelitian Du dkk, (2018)* yang melaporkan bahwa ekstrak etanol 60% konsentrasi 100 μ M serta *Punicalagin* dan *Ellagic Acid* dengan konsentrasi masing-masing 50 μ M menunjukkan hasil inhibisi PGE2 terbaik.

Hasil penelitian ini memperbaharui temuan Lee dkk, (2010)* yang melaporkan bahwa senyawa *Punicalagin* ekstrak kulit delima tidak menunjukkan aktivitas anti-inflamasi terhadap sel makrofag RAW264.7 yang diinduksi dengan LPS. Du dkk, (2018)* dan Du dkk, (2019)* dalam penelitiannya menyebutkan, pemberian *Punicalagin* ekstrak kulit delima dilakukan sebagai *pretreatment* 1 jam sebelum induksi LPS. Perlakuan *pretreatment* pada penelitian menunjukkan gambaran aktivitas anti-inflamasi *Punicalagin* ekstrak kulit delima yang lebih baik terhadap penghambatan PGE2 pada sel makrofag RAW264.7. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas anti-inflamasi *Punicalagin* ekstrak kulit delima bekerja lebih efektif sebagai terapi pencegahan atau terapi profilaksis.

Dalam penelitiannya, Du dkk, (2018)* dan Du dkk, (2019)* turut melaporkan bahwa sifat anti-inflamasi dari ketiga perlakuan yang diberikan lebih dominan ditunjukkan oleh senyawa *Punicalagin* diikuti oleh ekstrak etanol 60% kulit delima dan senyawa *Ellagic Acid*. Dalam kulit delima, tanin terhidrolisis terutama ditemukan dalam bentuk *Punicalagin* dan terhitung sekitar 85% dari total tanin (Bar-Ya'akov dkk, 2019). Li dkk, (2009) menyebutkan, “*Punicalagin* adalah polifenol utama dalam pemurnian ekstrak kulit delima dengan deteksi *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC)”. Hasil temuan Du dkk, (2018)* dan Du dkk, (2019)* memberikan penjelasan baru bahwa senyawa *Punicalagin* dari kulit delima menunjukkan aktivitas anti-inflamasi yang lebih dominan dan lebih kuat dengan penggunaan dosis yang minimal jika dibandingkan dengan hasil analisa perbandingan dosis antara penelitian Xu dkk, (2014)* dan Berköz & Allahverdiyev, (2017)* yang menunjukkan bahwa dosis pemberian *Punicalagin* berbanding lurus dengan paparan LPS.

Fokus penelitian Du dkk, (2018)* dan Du dkk, (2019)* ditujukan untuk mengetahui kemampuan dan mekanisme anti-inflamasi kulit delima dan senyawa isolatnya dalam respon inflamasi. Induksi LPS pada sel makrofag RAW264.7 menyebabkan aktivasi sel makrofag melalui ikatan dengan TLR4 sehingga memicu aktivasi jalur pensinyalan MAPK dan aktivasi faktor transkripsi NF- κ B yang mengatur sejumlah besar gen yang terlibat dalam respon inflamasi salah satunya adalah COX-2 (Liu dkk, 2017). Norregaard dkk, (2015) menyebutkan, enzim COX-2 adalah jalur pengkatalis utama konversi asam arakidonat menjadi prostaglandin (PG). Du dkk, (2018)* melaporkan, ekstrak etanol 60% kulit delima serta senyawa *Punicalagin* dan *Ellagic Acid* terbukti mampu menghambat ekspresi enzim COX-2, menghambat sintesis sitokin proinflamasi IL-1 β , TNF- α dan *Interleukin-6* (IL-6), serta menghambat aktivasi jalur MAPK melalui hambatan fosforilasi ERK, JNK dan p38 pada sel makrofag RAW264.7 dengan induksi LPS. Temuan ini diperjelas oleh hasil penelitian Du dkk, (2019)* yang melaporkan adanya hambatan aktivasi jalur NF- κ B dan inhibisi ekspresi TLR4 oleh perlakuan yang sama. Berdasarkan temuan tersebut dapat disimpulkan bahwa penghambatan PGE2 oleh ketiga perlakuan utamanya diperantarai oleh hambatan ekspresi gen TLR4. Dalam penelitian juga dijelaskan bahwa, daya hambat senyawa *Punicalagin* terhadap terhadap TLR4 mirip dengan daya hambat TAK-242 yang merupakan inhibitor dari TLR4 (Du dkk, 2019)*.

Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol 70% Bunga Delima terhadap Kadar PGE2

Uji aktivitas anti-inflamasi ekstrak etanol 70% bunga delima dilakukan pada penelitian Xu dkk, (2017)*. Pemberian ekstrak etanol 70% bunga delima dengan kandungan *Ellagic Acid* dan *Granatin A&B* terbukti mampu menurunkan kadar PGE2 pada sel makrofag RAW264.7 yang diinduksi dengan LPS. Hasil inhibisi PGE2 terbaik ditunjukkan pada konsentrasi 100 μ M (Tabel 4). Berdasarkan dosis dan konsentrasi LPS yang diinduksikan, temuan Xu dkk, (2017)* mencerminkan hasil analisa temuan Xu dkk, (2014)* dan Berköz & Allahverdiyev, (2017)* yang menyebutkan bahwa dosis perlakuan berbanding lurus dengan paparan LPS yang diinduksikan.

Lee dkk, (2017)* melaporkan, hambatan sintesis PGE2 pada sel makrofag RAW264.7 diperantarai oleh hambatan ekspresi enzim COX-2. Hal ini dibuktikan dengan hambatan ekspresi enzim COX-2 oleh perlakuan yang sama. Ekstrak etanol 70 % delima dalam penelitian juga dilaporkan menekan produksi sitokin pro-inflamasi TNF- α , IL-1 β dan IL-6, serta menghambat degradasi I κ B α dan translokasi nukleus NF- κ B p65. Aktivasi NF- κ B diperantarai oleh fosforilasi I κ B α melalui aktivasi jalur pensinyalan MAPK. Respon inflamasi akut akan menyebabkan aktivasi jalur pensinyalan MAPK dan aktivasi faktor transkripsi NF- κ B yang dimediasi oleh makrofag (Lloberas dkk, 2016; Ivashkiv, 2011). Jalur pensinyalan MAPK dan faktor transkripsi NF- κ B memegang peran utama dalam penginduksian sejumlah besar gen inflamasi seperti IL-1 β , TNF- α , dan COX-2 yang meregulasi produksi PGE2 (Wang dkk, 2017). Pada penelitian ini turut dilaporkan hambatan gen ERK, p38 dan JNK

yang merupakan subunit dari jalur pensinyalan MAPK. Berdasarkan pernyataan di atas, dapat disimpulkan bahwa penghambatan aktivasi jalur pensinyalan MAPK dan hambatan aktivasi faktor transkripsi NF- κ B merupakan faktor utama yang memediasi hambatan PGE2 oleh ekstrak etanol 70% bunga delima pada sel makrofag RAW264.7 yang diinduksi dengan LPS.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil telaah terhadap 8 artikel hasil penelitian dapat ditarik kesimpulan bahwa, secara *in vitro* ekstrak kulit dan bunga delima (*Punica granatum L.*) serta senyawa polifenol dalam buah dan kulit delima, antara lain *Punicalagin*, *Punicalagin A&B*, *Ellagic Acid*, *Gallic Acid*, dan *Granatin B*, terbukti mampu menurunkan kadar *Prostaglandin E2* (PGE2) pada sel makrofag RAW264.7 pada kondisi inflamasi.

Dugaan mekansime kerja sifat anti-inflamasi ekstrak kulit dan bunga delima dalam menurunkan kadar PGE2 pada sel makrofag RAW264.7 disebabkan oleh kandungan senyawa polifenol yang terkandung di dalamnya.

Mekanisme penghambatan PGE2 oleh aktivitas anti-inflamasi senyawa *Punicalagin* murni, senyawa *Punicalagin* dan *Ellagic Acid* dari hasil isolasi ekstrak kulit delima diperantarai oleh hambatan enzim COX-2, IL-1 β , TNF- α NF- κ B dan MAPK serta hambatan jalur TLR-4. Mekanisme penghambatan PGE2 oleh aktivitas anti-inflamasi senyawa *Granatin B* diperantarai oleh hambatan COX-2. Penghambatan sintesis PGE2 secara dependen dilaporkan oleh aktivitas anti-inflamasi senyawa *Ellagic Acid*, *Gallic Acid*, *Punicalagin A&B* dari ekstrak buah delima.

DAFTAR RUJUKAN

- Akhtar, N., Khana, N. M., Ashrufa, O., dan M. Haqq, Tariq. 2017. Inhibition of cartilage degradation and suppression of PGE2 and MMPs expression by Pomegranate Fruit Extract in a model of Post-Traumatic Osteoarthritis. *Nutrition*, 33: 1-13.
- Amersfoort, E. S. V., Van Berkel, T. J. C., dan Kuiper, J. 2003. Receptors, Mediators, and Mechanisms Involved in Bacterial Sepsis and Septic Shock. *Clinical Microbiology Reviews*, 16(3), 379–414.
- Aydemir, E. H. 2014. Acne vulgaris. *Turk pediatri arsivi*, 49(1): 13–16.
- Azwanida, N, N. 2015. A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. *Medicinal & Aromatic Plants: 04(03)*.
- Bakry, O. A., El Farargy, S. M., El Kady, N., dan Dawy, H. 2017. Immunohistochemical Expression of Cyclo-oxygenase 2 and Liver X Receptor- α in Acne Vulgaris. *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR*, 11(9): WC01–WC07.
- Bar-Ya'akov, I., Tian, L., Amir, R., & Holland, D. 2019. Primary Metabolites, Anthocyanins, and Hydrolyzable Tannins in the Pomegranate Fruit. *Frontiers in plant science*, 10, 620.
- BenSaad., L. A., Kim., K. H., Quah., C. C., Kim, W. R., dan Shahimi, M. 2017. Anti-inflammatory potential of ellagic acid, gallic acid and punicalagin A&B isolated from *Punica granatum*. *BMC complementary and alternative medicine*, 17(1): 47.
- Berkoz, M., dan Allahverdiyev, O. 2017. Punicalagin isolated from *Punica granatum* husk can decrease the inflammatory response in RAW 264.7 macrophages. *Eastern Journal Of Medicine*, 22: 57-64.
- Carralot, J.-P., Kim, T.-K., Lenseigne, B., Boese, A. S., Sommer, P., Genovesio, A., dan Brodin, P. 2009. Automated High-Throughput siRNA Transfection in Raw 264.7 Macrophages: A Case Study for Optimization Procedure. *Journal of Biomolecular Screening*, 14(2): 151–160.
- Colombo, E., Sangiovanni, E., Dell'agli, M. 2013. A review on the anti-inflammatory activity of pomegranate in the gastrointestinal tract. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013(2): 247145.

- Draing, C., Pfitzenmaier, M., Zummo, S., Mancuso, G., Geyer, A., Hartung, T., von Aulock S. 2006. Comparison of lipoteichoic acid from different serotypes of *Streptococcus pneumoniae*. *J Biol Chem*, 10;281(45):33849-59.
- Du, L., Li, J., Zhang, X., Wang, L., dan Zhang, W. 2018. Pomegranate peel polyphenols inhibits inflammation in LPS-induced RAW264.7 macrophages via the suppression of MAPKs activation. *Journal of Functional Foods*, 43: 62-69.
- Du, L., Li, J., Zhang, X., Wang, L., Zhang, W., Yang, M., dan Hou, C. 2019. Pomegranate peel polyphenols inhibits inflammation in LPS-induced RAW264.7 macrophages via the suppression of TLR4/NF- κ B pathway activation. *Food & Nutrition Research*, 63: 3392.
- Feldman, K. S. 2005. Recent progress in ellagitannin chemistry. *Phytochemistry*, 66: 1984–2000.
- Han, S., Chen, Z., Han, P., Hu, Q., dan Xiao, Y. 2014. Activation of Macrophages by Lipopolysaccharide for Assessing the Immunomodulatory Property of Biomaterials. *Tissue Engineering Part A*, 23(19-20): 1100-1109.
- Handa, S, S., Khanuja, S, P, S., Longo, G., Rakesh, D, D. 2008. *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*, Ed. 1st, no. 66. Italy: United Nations Industrial Development Organization and the International Centre for Science and High Technology.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia*. Edisi ke-2. Padmawinata K, Soediro I. Institut Teknologi Bandung: Bandung.
- Ivashkiv, L. B. 2011. Inflammatory signaling in macrophages: Transitions from acute to tolerant and alternative activation states. *European Journal of Immunology*, 41(9), 2477–2481. doi:10.1002/eji.201141783
- Jain, V., Pareek, A., Bhardwaj, Y.R. 2013. Attenuating effect of standardized fruit extract of *Punica granatum* L in rat model of tibial and sural nerve transection induced neuropathic pain. *BMC Compl and Alt Med*, 13:274.
- Karlsson, S., Nånberg, E., Fjaeraa, C., Wijkander, J. 2010. Ellagic acid inhibits lipopolysaccharide-induced expression of enzymes involved in the synthesis of prostaglandin E2 in human monocytes. *Br J Nutr*, 103(8): 1102-9.
- Kawahara, K., Hohjoh, H., Inazumi, T., Tsuchiya, S., dan Sugimoto, Y. 2015. Prostaglandin E2-induced inflammation: Relevance Of Prostaglandin E Receptors. *Biochim Biophys Acta*, 1851(4): 414-21.
- Kawasaki, T., dan Kawai, T. 2014. Toll-like receptor signaling pathways. *Frontiers in immunology*, 5: 461.
- Kim, J.-Y., Lee, W.-R., Kim, K.-H., An, H.-J., Chang, Y.-C., Han, S.-M., et al. 2015. Effects of bee venom against *Propionibacterium acnes*-induced inflammation in human keratinocytes and monocytes. *International Journal of Molecular Medicine*, 35(6): 1651-1656.
- Lee, C.-J., Chen, L.-G., Liang, W.-L., & Wang, C.-C. 2017. Multiple Activities of *Punica granatum* Linne against *Acne Vulgaris*. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(1): 141.
- Lee, C.J., Chen, L.G., Liang, W.L., Wang, C.C. 2010. Antiinflammatory effects of *Punica granatum* Linne invitro and invivo. *Food Chem*, 118(2): 315-22.
- Lee, E. H., Shin, J. H., Kim, S. S., Joo, J. H., Choi, E., dan Seo, S. R. 2019. Suppression of *Propionibacterium acnes*-Induced Skin Inflammation by *Laurus nobilis* Extract and Its Major Constituent Eucalyptol. *International journal of molecular sciences*, 20(14): 3510.
- Li, J. K., Li, G. X., Zhao, Y H, Yu, C. Z. 2009. Composition of pomegranate peel polyphenols and its antioxidant activities. *Scientia Agricultura Sinica*, 42, 4035–4041. (in Chinese).
- Liberati, A., Altman, D. G., Tetzlaff, J., Mulrow, C., Gøtzsche, P. C., Ioannidis, J. P. A., dkk. 2009. The PRISMA Statement for Reporting Systematic Reviews and Meta-Analyses of Studies That Evaluate Health Care Interventions: Explanation and Elaboration. *PLoS*

- Medicine, 6(7), e1000100.
- Liu, T., Zhang, L., Joo, D., dan Sun, S. C. 2017. NF- κ B signaling in inflammation. *Signal transduction and targeted therapy*, 2, 17023–.
- Lloberas, J., Valverde-Estrella, L., Tur, J., dkk. 2016. Mitogen-Activated Protein Kinases and Mitogen Kinase Phosphatase 1: A Critical Interplay in Macrophage Biology. *Frontiers in molecular biosciences*, 3: 28.
- Mariana, E., Cahyono, Edi., Rahayu, Endah Fitriani., Nurcahyo, Bowo. 2018. Validasi Metode Penetapan Kuantitatif Metanol dalam Urin Menggunakan Gas Chromatography-Flame Ionization Detector. *Indo. J. Chem. Sci*, 7(3): 278-284.
- Medzhitov, R. 2010. Inflammation 2010: New Adventures of an Old Flame. *Cell*, 140(6): 771–776.
- Nørregaard, R., Kwon, T. H., dan Frøkiær, J. 2015. Physiology and pathophysiology of cyclooxygenase-2 and prostaglandin E2 in the kidney. *Kidney research and clinical practice*, 34(4), 194–200. <https://doi.org/10.1016/j.krcp.2015.10.004>
- Nyati, K. K., Masuda, K., Zaman, M. M., Dubey, P. K., Millrine, D., Chalise, J. P., Higa, M., Li, S., Standley, D. M., Saito, K., Hanieh, H., dan Kishimoto, T. 2017. TLR4-induced NF- κ B and MAPK signaling regulate the IL-6 mRNA stabilizing protein Arid5a. *Nucleic acids research*, 45(5), 2687–2703
- Olajide, O. A., Kumar, A., Velagapudi, R., Okorji, U. P., dan Fiebich, B. L. 2014. Punicalagin inhibits neuroinflammation in LPS-activated rat primary microglia. *Molecular Nutrition & Food Research*, 58(9): 1843-1851.
- Rhee, S. H. 2014. Lipopolysaccharide: Basic Biochemistry, Intracellular Signaling, and Physiological Impacts in the Gut. *Intestinal Research*, 12(2): 90.
- Riccioti, Emanuela., dan FitzGerald, G. A. 2011. Prostaglandin and inflammation. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 31(5): 986-1000.
- Shi, C., Yuan, S., Zhang, H., Zhang, T., Wang, L., Xu, Z. 2009. Cell-mediated immune responses and protective efficacy against infection with mycobacterium tuberculosis induced by Hsp65 and hIL-2 fusion protein in mice. *Scand J Immunol*. 69:140–149.
- Sprague, A. H., dan Khalil, R. A. 2010. Inflammatory Cytokines In Vascular Dysfunction and Vascular Disease. *Biochemical Pharmacology*, 78(6): 539-552.
- Sutaria AH, Masood S, Schlessinger J. Acne Vulgaris. [Updated 2020 Aug 8]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459173/>
- Wang, J., Huang, J., Wang, L., Chen, C., Yang, D., Jin, M., Bai, C., dan Song, Y. 2017. Urban particulate matter triggers lung inflammation via the ROS-MAPK-NF- κ B signaling pathway. *Journal of thoracic disease*, 9(11), 4398–4412,
- Williams, H.C., Dellavalle R.P., dan Garner S. 2012. Acne vulgaris. *Lancet*, 379(9813): 361–372.
- Wongrakpanich, S., Wongrakpanich, A., Melhado, K., dan Rangaswami, J. 2018. A Comprehensive Review of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drug Use in The Elderly. *Aging and Disease*, 9(1): 143-150.
- Xu, J., Zhao, Y., dan Aisa, H. A. 2017. Anti-inflammatory effect of pomegranate flower in lipopolysaccharide (LPS)-stimulated RAW264.7 macrophages. *Pharmaceutical Biology*, 55(1): 2095-2101.
- Xu, X., Yin, P., Wan, C., dkk. 2014. Punicalagin inhibits inflammation in LPS-induced RAW264.7 macrophages via the suppression of TLR4-mediated MAPKs and NF- κ B activation. *Inflammation*, 37(3): 956-965.
- Zeilhofer, Hanns U. 2007. Prostanoids in Nociception and Pain. *Biochemical Pharmacology*. Elsevier, 165-174.