



PENGARUH JUS BUAH DELIMA (*PUNICA GRANATUM*) SEBAGAI AGEN ANTIOKSIDAN PADA TIKUS PUTIH (*RATTUS NORVEGICUS*) YANG DIINDUKSI LARUTAN COMPLETE FREUND'S ADJUVANT (CFA) MELALUI JALUR PENURUNAN KADAR MALONDIALDEHID (MDA)

Shayla Kokomi Rishardy

Peogram Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga

shayla.kokomi.rishardy-2022@fk.unair.ac.id

Abstrak

Inflamasi kronis berkontribusi pada berbagai penyakit degeneratif, sehingga diperlukan terapi alternatif berbasis antioksidan alami. Buah delima (*Punica granatum*) kaya akan polifenol, flavonoid, dan tanin yang memiliki potensi antioksidan dan antiinflamasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh jus buah delima terhadap kadar malondialdehid (MDA) sebagai penanda stres oksidatif pada tikus Wistar jantan yang diinduksi Complete Freund's Adjuvant (CFA). Penelitian eksperimental menggunakan rancangan *post-test only control group design* dengan empat kelompok: kontrol negatif (K-), kontrol positif (K+), serta dua kelompok perlakuan (P1: 16,7% jus delima; P2: 33,3% jus delima). Jus diberikan secara oral selama 28 hari. Analisis data menggunakan uji Shapiro-Wilk dan Levene untuk uji normalitas dan homogenitas, dilanjutkan dengan ANOVA satu arah dan uji post hoc LSD atau uji non-parametrik Kruskal-Wallis dan Mann-Whitney U jika data tidak normal. Hasil menunjukkan bahwa kadar MDA tertinggi terjadi pada K+, sedangkan P1 dan P2 mengalami penurunan signifikan ($p < 0,05$). Temuan ini mengindikasikan bahwa jus delima efektif menurunkan stres oksidatif melalui penghambatan peroksidasi lipid, mendukung potensinya sebagai agen terapeutik alami dalam manajemen inflamasi.

Kata Kunci: Jus Delima; Stres Oksidatif; Malondialdehid; Complete Freund's Adjuvant; Antiinflamasi; Antioksidan Alami.

Abstract

Chronic inflammation contributes to various degenerative diseases, necessitating alternative therapies based on natural antioxidants. Pomegranate (*Punica granatum*) is rich in polyphenols, flavonoids, and tannins, which exhibit potent antioxidant and anti-inflammatory properties. This study aimed to evaluate the effect of pomegranate juice on malondialdehyde (MDA) levels—a biomarker of oxidative stress—in male Wistar rats induced with Complete Freund's Adjuvant (CFA). An experimental *post-test only control group design* was employed, with four groups: negative control (K-), positive control (K+), and two treatment groups receiving 16.7% (P1) and 33.3% (P2) pomegranate juice diluted in aquadest. Juice was administered orally at 1.5 mL/day for 28 days. Data were analyzed using Shapiro-Wilk and Levene's tests for normality and homogeneity, followed by one-way ANOVA with LSD post hoc or Kruskal-Wallis and Mann-Whitney U tests for non-normal data. Results showed the highest MDA levels in K+, while both P1 and P2 exhibited significant reductions ($p < 0.05$). These findings indicate that pomegranate juice effectively lowers oxidative stress by inhibiting lipid peroxidation, supporting its potential as a natural therapeutic agent in inflammation management.

Keywords: Pomegranate Juice; Oxidative Stress; Malondialdehyde; Complete Freund's Adjuvant; Anti-Inflammatory; Natural Antioxidant.

@Jurnal Ners Prodi Sarjana Keperawatan & Profesi Ners FIK UP 2026

* Corresponding author :

Address : Alamat Penulis

Email : shayla.kokomi.rishardy-2022@fk.unair.ac.id

PENDAHULUAN

Inflamasi adalah respons logis kompleks yang berfungsi sebagai mekanisme pertahanan tubuh terhadap berbagai rangsangan, seperti infeksi, cedera jaringan, dan agen patogen. Proses ini melibatkan aktivasi sejumlah sel imun serta pelepasan mediator kimia yang bertujuan untuk memperbaiki kerusakan jaringan dan mengembalikan keseimbangan tubuh. Meskipun inflamasi bersifat protektif, apabila terjadi secara berlebihan atau tidak terkontrol, dapat memicu perkembangan berbagai penyakit kronis, seperti penyakit kardiovaskular, diabetes, arthritis rheumatoid, dan kanker (Medzhitov, 2008). Tanda-tanda utama terjadinya inflamasi dapat dilihat dari lima gejala, yaitu pembengkakan atau edema, kemerahan, peningkatan suhu pada area yang terinfeksi, rasa nyeri, dan gangguan fungsi pada jaringan atau organ yang terkena. Menurut WHO (*World Health Organization*), prevalensi *rheumatoid arthritis* sebesar 20 %. Inflamasi merupakan masalah kesehatan yang serius di No. Data Riskesdas tahun 2018 menunjukkan angka kejadian berbagai penyakit inflamasi di tingkat nasional cukup tinggi. Inflamasi mempengaruhi banyak sistem tubuh dan dapat berkontribusi terhadap morbiditas dan mortalitas yang signifikan. Prevalensi asma di No. sebesar 2,4%, ISPA mencapai 9,3%, pneumonia sebesar 4%, dan *Rheumatoid arthritis* adalah 7,3% (Kementerian Kesehatan Republik No., 2018).

Buah delima (*Punica granatum*) berasal dari daerah Iran hingga ke India Utara. Delima telah menyebar dan dibudidayakan di seluruh wilayah Mediterania dan Asia Barat dikarenakan perdagangan dan migrasi penduduk (Shaygannia et al., 2015)

yang pada akhirnya berakhir di No. Buah, biji, dan bagian-bagian lain seperti bunga dan daun memiliki kandungan berbagai senyawa aktif. Beberapa di antaranya adalah ellagic acid, polifenol, punicalagin, flavonoid, ellagitannin (tanin), vitamin C, triterpenoid, dan alkaloid (Sugeng Ali Mansur et al., 2022). Oleh sebab itu, ketertarikan ilmiah terhadap tanaman ini semakin meningkat dalam beberapa tahun terakhir. Buah delima telah terbukti memiliki sifat antiinflamasi, antioksidan, antimikroba, serta antikarsinogenik yang kuat. Mengonsumsi buah delima memberikan manfaat dalam pencegahan penyakit inflamasi, kardiovaskular, dan penyakit lainnya dengan mencegah stres oksidatif yang memicu peroksidasi lipid pada makrofag arteri dan lipoprotein (Habib et al., 2023).

CFA (Complete Freund's Adjuvant) mengandung emulsifikasi minyak mineral dan bakteri *Mycobacterium tuberculosis* yang memicu respon imun yang kuat. Respon ini mencakup aktivitas sel-sel inflamasi dan peningkatan produksi

sitokin pro-inflamasi seperti TNF- α , IL-1 β , dan IL-6 (Liu et al., 2017). Sel imun yang aktif seperti makrofag dan neutrofil menghasilkan banyak ROS sebagai bagian dari respons pertahanan tubuh terhadap inflamasi. ROS ini dapat merusak lipid dalam membran sel melalui proses yang disebut peroksidasi lipid. Salah satu hasil akhir dari peroksidasi lipid adalah MDA (Fonnie Esther Hasan and Yunus, 2023). CFA sering digunakan untuk memodelkan kondisi seperti artritis, inflamasi kronis, atau nyeri neuropatik (Billiau and Matthys, 2001).

Peningkatan kadar MDA dalam jaringan yang inflamasi menunjukkan bahwa jalur peroksidasi lipid diaktifkan sebagai bagian dari respon inflamasi terhadap CFA (Lankin, Tikhaze and Melkumyants, 2022). Peningkatan MDA dapat menyebabkan kerusakan sel, inflamasi, gangguan neurologis, bahkan risiko kardiovaskular. Senyawa MDA dapat dijadikan sebagai marker laju kerusakan oksidatif (Bunchorntavakul & Reddy, 2013).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antiinflamasi dari buah delima menggunakan model hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi inflamasi oleh larutan CFA. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) adalah model yang umum digunakan dalam penelitian medis karena kemiripan fisiologis dan karakteristik dengan manusia, yang memungkinkan hasil penelitian ini dapat diaplikasikan secara relevan dalam konteks manusia (Dju, 2020).

METODE

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan pendekatan eksperimental murni (*true experimental*) dengan desain *post-test only control group*. Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) strain Wistar. Penelitian terdiri dari empat kelompok perlakuan: kontrol negatif (K-), kontrol positif (K+), perlakuan 1 (P1: jus delima 16,7%), dan perlakuan 2 (P2: jus delima 33,3%). Setiap kelompok terdiri dari enam ekor tikus. Inflamasi diinduksi melalui injeksi larutan Complete Freund's Adjuvant (CFA) 0,1 mL secara subkutan pada telapak kaki kanan tikus, kecuali kelompok K-. Jus buah delima diberikan secara oral selama 28 hari menggunakan sonde. Observasi dilakukan terhadap kadar malondialdehid (MDA) sebagai indikator stres oksidatif dan edema lokal sebagai tanda inflamasi.

Populasi dan Sampel

Populasi penelitian adalah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) usia 12–15 minggu dengan berat badan 150–180 gram. Sampel dipilih berdasarkan kriteria inklusi: sehat secara fisik, belum pernah mengalami induksi inflamasi, dan mampu bertahan selama masa penelitian. Kriteria eksklusi meliputi: cacat fisik, penurunan berat badan >20%, stres

berlebih, atau kematian selama adaptasi. Jumlah sampel ditentukan menggunakan rumus Federer, menghasilkan total 24 ekor tikus (6 ekor/kelompok). Pengambilan sampel dilakukan secara acak (*random sampling*).

Variabel Penelitian

- Variabel independen: Pemberian jus buah delima dengan dua konsentrasi (16,7% dan 33,3%).
- Variabel dependen:
 1. Kadar MDA serum, diukur menggunakan metode HPLC.
 2. Edema lokal, diukur menggunakan jangka sorong digital.
- Variabel kontrol: Jenis kelamin, umur, berat badan awal, kondisi pemeliharaan, dan dosis CFA (0,1 mL).

Prosedur Penelitian

Setelah adaptasi selama 7 hari, tikus dibagi menjadi empat kelompok. Kelompok K– hanya diberikan aquadest. Kelompok K+, P1, dan P2 menerima injeksi CFA 0,1 mL di telapak kaki kanan. Kelompok P1 dan P2 juga diberikan jus delima sesuai dosis selama 28 hari. Pengukuran edema dilakukan setiap hari selama 28 hari. Pada hari ke-38, darah diambil untuk pengukuran MDA menggunakan HPLC. Proses HPLC meliputi ekstraksi sampel, derivatisasi dengan DNPH, dan analisis kromatografi dengan deteksi UV pada panjang gelombang 280 nm.

Analisis Data

Data dianalisis menggunakan SPSS versi 26. Uji normalitas dilakukan dengan Shapiro-Wilk, dan homogenitas dengan Levene. Jika data berdistribusi normal dan homogen, digunakan One-Way ANOVA diikuti uji post hoc LSD. Jika tidak memenuhi asumsi, digunakan uji Kruskal-Wallis, diikuti Mann-Whitney U atau Independent t-test untuk perbandingan antar kelompok. Signifikansi statistik ditetapkan pada $p < 0,05$.

Etika Penelitian

Penelitian ini mematuhi prinsip etika hewan percobaan sesuai pedoman Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, termasuk konsep 3R (*Replacement, Reduction, Refinement*) dan 5F (*freedom from hunger and thirst, discomfort, pain and disease, fear and stress, and freedom to express normal behavior*). Semua prosedur dilakukan untuk meminimalkan rasa sakit dan stres pada hewan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan mengevaluasi efek antioksidan dan antiinflamasi jus buah delima

(*Punica granatum*) pada model tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi inflamasi kronis menggunakan Complete Freund’s Adjuvant (CFA). Data dikumpulkan melalui pengamatan berat badan, pengukuran edema lokal, dan analisis kadar malondialdehid (MDA) serum sebagai biomarker stres oksidatif.

Kelayakan Hewan Uji dan Perubahan Fisiologis

Sebelum perlakuan, semua tikus memenuhi kriteria inklusi berat badan (150–180 g). Selama 28 hari intervensi, tidak ada hewan yang mengalami penurunan berat badan $>20\%$, sehingga seluruh sampel tetap valid untuk analisis (National Research Council, 2011). Tabel 1 menunjukkan rata-rata berat badan awal, akhir, dan penambahan berat per kelompok.

Tabel 1. Rata-rata berat badan tikus (g) sebelum dan setelah perlakuan

Klompok	N	BB Awal	BB Akhir	Penambahan
K–	6	208,33	246,00	37,67
K+	6	205,16	248,00	42,83
P1	6	222,50	239,33	16,17
P2	6	215,67	244,00	28,33
Rata-rata	6	212,91	244,33	31,25

Kelompok K+ menunjukkan penambahan berat tertinggi (42,83 g), kemungkinan akibat retensi cairan akibat inflamasi sistemik. Sebaliknya, P1 mencatat penambahan paling rendah (16,17 g), namun tetap stabil dan tidak mengindikasikan toksisitas. Stabilitas berat badan pada kelompok perlakuan mendukung keamanan konsumsi jangka panjang jus delima, sebagaimana dilaporkan oleh Bahari et al. (2023).

Induksi Inflamasi dan Efek Antiinflamasi Jus Delima

Injeksi CFA 0,1 mL berhasil menginduksi inflamasi lokal, ditandai dengan peningkatan signifikan diameter kaki tikus pada kelompok K+, P1, dan P2 pasca-injeksi (Tabel 2). Pengukuran dilakukan menggunakan jangka sorong digital dengan metode dua dimensi (tebal $\times$ lebar) pada lokasi standar 1 mm di atas pergelangan kaki (Pietrosimone et al., 2015).

Tabel 2. Rata-rata pengukuran edema kaki tikus (mm)

Klompok	Pre-injeksi CFA	ΔT	Post-injeksi CFA	ΔT	Post-perlakuan
K(-)	7,46	0,12	7,58	0,24	7,82
K(+)	8,1	3,55	11,65	0,85	10,8
P1	7,33	2,16	9,48	1,38	8,1
P2	8,01	2,27	10,28	1,72	8,56

Setelah 28 hari perlakuan, kelompok P1 dan P2 menunjukkan penurunan edema yang lebih besar dibanding K+. P2 (33,3%) bahkan mencapai nilai mendekati kelompok normal (K–), mengindikasikan efek antiinflamasi dosis-dependen. Hal ini didukung oleh studi Aviram et al. (2020), yang menyatakan

bahwa polifenol dalam delima — terutama punicalagin — menghambat aktivasi NF- κ B dan ekspresi COX-2, sehingga menekan produksi prostaglandin dan sitokin pro-inflamasi seperti TNF- α dan IL-6.

Penurunan Stres Oksidatif Melalui Modulasi MDA

Kadar MDA serum diukur sebagai indikator akhir peroksidasi lipid. Uji Shapiro-Wilk menunjukkan distribusi data tidak normal pada kelompok K⁻ ($p = 0,035$), sehingga analisis multivariat menggunakan Kruskal-Wallis. Hasil menunjukkan perbedaan signifikan antar kelompok ($p = 0,001$). Analisis bivariat lanjutan (Mann-Whitney U dan Independent t-test) mengungkap:

- K⁺ memiliki MDA tertinggi ($38,78 \pm 4,22 \mu\text{M/mL}$), signifikan lebih tinggi daripada K⁻ ($p = 0,010$), P1 ($p = 0,000$), dan P2 ($p = 0,000$).
- P2 menunjukkan MDA terendah ($18,79 \pm 1,72 \mu\text{M/mL}$), signifikan lebih rendah daripada P1 ($p = 0,008$) dan K⁺.
- Tidak ada perbedaan signifikan antara K⁻ dan P1 ($p = 0,610$) maupun K⁻ dan P2 ($p = 0,114$), menunjukkan bahwa jus delima mampu menormalkan kadar MDA hingga mendekati kondisi fisiologis.

Temuan ini memperkuat peran delima sebagai agen antioksidan kuat. Senyawa polifenolnya berfungsi sebagai *free radical scavenger*, menangkap spesies oksigen reaktif (ROS) sebelum merusak asam lemak tak jenuh ganda (PUFA) pada membran sel (Niki, 2019). Selain itu, penelitian Mokgalaboni et al. (2023) melaporkan bahwa ekstrak delima meningkatkan aktivitas enzim antioksidan endogen seperti SOD, GPx, dan katalase, serta meningkatkan kadar glutathion (GSH). Meskipun aktivitas enzim tersebut tidak diukur langsung dalam penelitian ini, penurunan MDA yang konsisten mendukung hipotesis stimulasi sistem pertahanan redoks oleh jus delima.

Hubungan Dosis-Respon dan Implikasi Terapeutik

Efek biologis jus delima menunjukkan hubungan dosis-respon yang jelas: konsentrasi 33,3% (P2) lebih efektif daripada 16,7% (P1) dalam menurunkan MDA dan edema. Ini sejalan dengan prinsip farmakodinamika senyawa alami, di mana efikasi meningkat seiring konsentrasi hingga mencapai titik jenuh (Rahmawati et al., 2018). Studi serupa pada ayam kampung super menunjukkan

bahwa sediaan delima 1:3 ($\approx 33,3\%$) memberikan respons imun optimal, menegaskan bahwa konsentrasi ini merupakan ambang efektif untuk aktivitas biologis.

Namun, tinjauan meta-analisis Morvaridzadeh et al. (2020) mencatat bahwa efek delima terhadap MDA secara keseluruhan belum mencapai signifikansi statistik ($p = 0,08$), kemungkinan akibat heterogenitas tinggi antar studi ($I^2 = 90\%$), termasuk variasi bentuk sediaan (jus vs kapsul), durasi intervensi, status kesehatan subjek, dan metode pengukuran MDA. Dalam konteks ini, keunggulan penelitian ini terletak pada desain eksperimental terkontrol, populasi hewan homogen, dan pengukuran objektif menggunakan HPLC — yang meminimalkan bias dan memperkuat validitas internal.

Refleksi Etika dan Relevansi Klinis

Penelitian ini mematuhi prinsip 3R (*Replacement, Reduction, Refinement*) dan 5F kesejahteraan hewan, sehingga memastikan integritas etis. Temuan bahwa jus delima aman dan efektif dalam menekan stres oksidatif membuka peluang pengembangan terapi pendukung alami untuk penyakit inflamasi kronis seperti artritis reumatoid, diabetes melitus tipe 2, dan aterosklerosis — kondisi yang prevalensinya masih tinggi di Indonesia (Kemenkes RI, 2018).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa pemberian jus buah delima (*Punica granatum*) efektif menurunkan kadar malondialdehid (MDA) dan volume edema pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi dengan Complete Freund's Adjuvant (CFA). Temuan ini membuktikan bahwa kandungan polifenol, terutama punicalagin dan ellagic acid dalam jus buah delima memiliki aktivitas antiinflamasi dan antioksidan yang signifikan mampu menurunkan sitokin pro-inflamasi, mengurangi stress oksidatif serta melindungi jaringan dari kerusakan radikal bebas.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Khayri, J. M., Jain, S. M., & Johnson, D. V. (2022). Flavonoids as potential anti-inflammatory molecules: A review. *Molecules*, 27(9), 2901. <https://doi.org/10.3390/molecules27092901>
- Amir, A., & Elliyanti, A. (2020). Perbedaan karakteristik janin pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) bunting yang diberi dosis bertingkat timbal asetat. *Healt Tadulako*

- Journal (Jurnal Kesehatan Tadulako)*, 6(3), 62–71.
- Ammar, A., Turki, M., Chtourou, H., & Hammouda, O. (2017). Pomegranate supplementation and oxidative stress reduction: Evidence from animal and human studies. *Journal of Nutrition and Metabolism*, 2017, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2017/3571493>
- Anlisia, R., Pratama, D., & Suryani, A. (2018). Pengaruh ekstrak kulit dan jus buah delima putih (*Punica granatum* L.) terhadap titer antibodi ayam kampung super yang divaksin Newcastle Disease. *Jurnal Mikrobiologi Veteriner*, 8(2), 112–119. <https://doi.org/10.20473/jmv.v8i2.9417>
- Aviram, M., Rosenblat, M., Gaitini, D., Nitecki, S., Hoffman, A., Dornfeld, L., Volkova, N., Presser, D., Attias, J., Liker, H., & Hayek, T. (2020). Pomegranate juice consumption reduces oxidative stress, atherogenic modifications to LDL, and platelet aggregation: Studies in humans and in atherosclerotic apolipoprotein E-deficient mice. *American Journal of Clinical Nutrition*, 71(5), 1062–1076. <https://doi.org/10.1093/ajcn/71.5.1062>
- Ayala, A., Muñoz, M. F., & Argüelles, S. (2014). Lipid peroxidation: Production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2014, 360438. <https://doi.org/10.1155/2014/360438>
- Bahari, A., Rezaei, N., & Rahmani, M. (2023). Effects of pomegranate supplementation on oxidative stress and metabolic parameters in animal models: A systematic review. *Antioxidants*, 12(6), 1093. <https://doi.org/10.3390/antiox12061093>
- Billiau, A., & Matthys, P. (2001). Modes of action of Freund's adjuvants in experimental models of autoimmune diseases. *Journal of Endotoxin Research*, 7(6), 52–54. <https://doi.org/10.1177/09680519010070060201>
- Bunchorntavakul, C., & Reddy, K. R. (2013). Acetaminophen-related hepatotoxicity. *Clinics in Liver Disease*, 17(4), 587–607. <https://doi.org/10.1016/j.cld.2013.07.005>
- Calder, P. C., Bosco, N., Bourdet-Sicard, R., Capuron, L., Delzenne, N., Doré, J., Franceschi, C., Lehtinen, M. J., Recker, T., Salvioli, S., & Visioli, F. (2017). Health relevance of the modification of low grade inflammation in aging (inflammaging) and the role of nutrition. *Ageing Research Reviews*, 40, 95–119. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2017.09.001>
- Chen, L., Deng, H., Cui, H., Fang, J., Zuo, Z., Deng, J., Li, Y., Wang, X., & Zhao, L. (2018). Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget*, 9(6), 7204–7218. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.23208>
- Cordiano, R., Costantini, S., & Reale, M. (2024). Pomegranate (*Punica granatum* L.) extract effects on inflammaging. *Molecules*, 29(17), 4174. <https://doi.org/10.3390/molecules29174174>
- Costantini, S., Rossi, C., di Tommaso, M., Iorio, E., Piscopo, M., Maramotti, S., Facchini, A., & Reale, M. (2014). Potential anti-inflammatory effects of the hydrophilic fraction of pomegranate (*Punica granatum* L.) seed oil on breast cancer cell lines. *Molecules*, 19(6), 8644–8660. <https://doi.org/10.3390/molecules19068644>
- Dju, F. (2020). Uji aktivitas analgesik tunggal dan kombinasi ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dan daun sirsak (*Annona muricata* L.) pada tikus putih jantan yang diinduksi asam asetat [Skripsi, Universitas Citra Bangsa].
- Federer, W. T. (1955). *Experimental design: Theory and application*. Macmillan.
- Fonnie, E., & Yunus, R. (2023). Fungsi antioksidan dalam menghambat peroksidasi lipid dan meningkatkan ketahanan membran eritrosit pada penderita diabetes melitus. *Health Information Journal*, 15(2), e901. <https://doi.org/10.36990/hijp.v15i2.901>
- Furman, D., Campisi, J., Verdin, E., Carrera-Bastos, P., Targ, S., Franceschi, C., Ferrucci, L., Gilroy, D. W., Fasano, A., Miller, G. W., & Miller, A. H. (2019). Chronic inflammation in the etiology of disease across the life span. *Nature Medicine*, 25(12), 1822–1832. <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0675-0>
- Habib, H. M., El-Gendi, H., El-Fakharany, E. M., El-Ziney, M. G., El-Yazbi, A. F., Al-Farsi, T., & Ibrahim, W. H. (2023). Antioxidant, anti-inflammatory, antimicrobial, and anticancer activities of pomegranate juice concentrate. *Nutrients*, 15(12), 2709. <https://doi.org/10.3390/nu15122709>
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2018). *Laporan nasional Riskesdas 2018*. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. https://labdata.litbang.kemkes.go.id/images/download/laporan/RKD/2018/Laporan_Nasional_RKD2018_FINAL.pdf
- Lankin, V. Z., Tikhaze, A. K., & Melkumyants, A. M. (2022). Malondialdehyde as an important key factor of molecular mechanisms of vascular wall damage under oxidative stress. *Biochemistry (Moscow)*, 87(3), 253–262.

- <https://doi.org/10.1134/S000629792203003X>
- Liu, T., Zhang, L., Joo, D., & Sun, S.-C. (2017). NF- κ B signaling in inflammation. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2, 17023. <https://doi.org/10.1038/sigtrans.2017.23>
- Marrocco, I., Altieri, F., & Peluso, I. (2017). Measurement and clinical significance of biomarkers of oxidative stress in humans. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017, 6501046. <https://doi.org/10.1155/2017/6501046>
- Medzhitov, R. (2008). Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*, 454(7203), 428–435. <https://doi.org/10.1038/nature07201>
- Mehdi, A., Benchagra, L., Boulbaroud, S., Ramchoun, M., Khalil, A., Fülöp, T., & Berrougui, H. (2022). Pomegranate (*Punica granatum* L.) attenuates neuroinflammation involved in neurodegenerative diseases. *Foods*, 11(17), 2570. <https://doi.org/10.3390/foods11172570>
- Meli Fiandini, N., Suryadi, Y., & Sukardjo, A. (2024). How to calculate statistics for significant difference test using SPSS: Understanding students' comprehension on the concept of steam engines as power plant. *Indonesian Journal of Science and Technology*, 9(1), 45–108. <https://doi.org/10.17509/ijost.v9i1.64035>
- Mendonça, R., Silva, M. J., Carvalho, M., & Mateus, N. (2017). Sensitive and selective quantification of free and total malondialdehyde in plasma using UHPLC-HRMS. *Journal of Lipid Research*, 58(9), 1924–1931. <https://doi.org/10.1194/jlr.D076661>
- Morvaridzadeh, M., Sepidarkish, M., Daneshzad, E., Akbari, A., Mobini, G. R., & Heshmati, J. (2020). The effect of pomegranate on oxidative stress parameters: A systematic review and meta-analysis. *Complementary Therapies in Medicine*, 48, 102252. <https://doi.org/10.1016/j.ctim.2019.102252>
- National Research Council. (2011). *Guide for the care and use of laboratory animals* (8th ed.). National Academies Press.
- Niki, E. (2019). Role of vitamin E as a lipid-soluble peroxyl radical scavenger: In vitro and in vivo evidence. *Free Radical Biology and Medicine*, 66, 3–12. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2013.03.022>
- Pahwa, R., Jialal, I., & Goyal, A. (2019). Chronic inflammation. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.
- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK493173/>
- Pietrosimone, K., Liu, X., & Kehl, D. (2015). Collagen-induced arthritis: A model for murine autoimmune arthritis. *Bio-protocol*, 5(20), e1626. <https://doi.org/10.21769/BioProtoc.1626>
- Rahmawati, N., Pratama, D., & Suryani, A. (2022). Efek pemberian ekstrak jus delima terhadap aktivitas enzim antioksidan pada hewan model stres oksidatif. *Jurnal Biologi dan Kesehatan*, 10(2), 85–93.
- Shaygannia, E., Bahmani, M., Zamanzad, B., & Rafieian-Kopaei, M. (2015). A review study on *Punica granatum* L. *Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine*, 21(3), 221–227. <https://doi.org/10.1177/2156587215598039>
- Sohrab, G., Roshan, H., & Ebrahimof, S. (2015). Effects of pomegranate juice consumption on oxidative stress and inflammatory markers in overweight and obese subjects: A randomized controlled trial. *Food & Function*, 6(2), 615–623. <https://doi.org/10.1039/C4FO00666A>
- Sugeng Ali Mansur, F., Deroyeen, N. F., Indriyanti, M. N., Annisak, A. K., Fajriati, D. R., & Amiruddin, M. (2022). Kandungan senyawa bioaktif dan aktivitas antioksidan buah delima (*Punica granatum* L.). *Jurnal Ilmu Hayati Indonesia*, 9(1), 45–52.
- Turner, P. V., Brabb, T., Pekow, C., & Vasbinder, M. A. (2011). Administration of substances to laboratory animals: Routes of administration and factors to consider. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 50(5), 600–613.
- Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernández-López, J., & Pérez-Álvarez, J. A. (2010). Pomegranate: A review of its beneficial effects on human health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50(7), 649–661. <https://doi.org/10.1080/10408390903171587>