

EFEK KOMBINASI DEKOKTA RIMPANG *Zingiber officinale* var *rubrum* DAN RIMPANG *Imperata cylindrica* TERHADAP KADAR *Superoxide Dismutase* (SOD) SERUM DAN *Malondialdehyde* (MDA) SERUM TIKUS OSTEOARTRITIS

Dedean Fajar Rachman*, Merlita Herbani*, Doti Wahyuningsih*

*Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

Email: dedianfajar@gmail.com

ABSTRAK

Pendahuluan: Osteoarthritis (OA) adalah penyakit degeneratif kronis yang melibatkan peradangan sinovial sendi dimana radikal bebas berperan pada progresifitasnya. Pengobatan OA saat ini hanya untuk mengurangi gejala yang memiliki efek samping dalam jangka panjang sehingga diperlukan alternatif pengobatan yang salah satunya menggunakan herbal. Rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var *rubrum*) dan alang-alang (*Imperata cylindrica*) (RJMA) memiliki efek penangkal radikal bebas. SOD dan MDA merupakan indikator aktifitas radikal bebas, namun penelitian tentang kombinasi RJMA pada tikus OA pada kadar SOD dan MDA belum pernah dilakukan.

Metode: Tikus wistar jantan usia 4 bulan yang dibagi menjadi 5 kelompok (n=5), yaitu: kelompok negatif (KN), kelompok positif (KP), perlakuan 1 (P1) (dosis 9 mg+40 mg), perlakuan 2 (P2) (dosis 18 mg+40 mg) dan perlakuan 3 (P3) (dosis 36 mg+40 mg). KP diinduksi *Complete Freund's Adjuvant* (CFA) 0,1 ml intraartikular pada lutut kanan tikus. Kombinasi RJMA diberikan selama 10 hari sejak munculnya tanda OA. SOD dan MDA serum diperiksa menggunakan metode spektrofotometer. Hasil dianggap signifikan jika $p < 0,05$.

Hasil: Kadar SOD serum KN: $38,58 \pm 1,33$, KP: $19,23 \pm 4,75$, P1: $31,12 \pm 1,27$, P2: $32,91 \pm 1,04$, P3: $37,37 \pm 1,84$. KP berbeda signifikan dengan KN ($p < 0,05$). P1, P2, dan P3 berbeda signifikan dengan KP ($p < 0,05$). Kadar MDA serum KN: $0,07 \pm 0,02$, KP: $0,24 \pm 0,04$, P1: $0,21 \pm 0,02$, P2: $0,16 \pm 0,03$, P3: $0,13 \pm 0,02$. KP, P1, P2, dan P3 berbeda signifikan dengan KN ($p < 0,05$). P2 dan P3 berbeda signifikan dengan KN, KP, dan P1 ($p < 0,05$).

Kesimpulan: Kombinasi dekokta rimpang jahe merah dan alang-alang mampu meningkatkan kadar SOD dan menurunkan MDA serum sehingga dapat menjadi alternatif pengobatan pada osteoarthritis.

Kata Kunci: Osteoarthritis, Rimpang Jahe Merah, Rimpang Alang-Alang, SOD, MDA

THE EFFECTS OF COMBINATION OF RHIZOME *Zingiber officinale* var *rubrum* AND RHIZOME *Imperata cylindrica* DECOCTION ON THE LEVELS OF *Superoxide Dismutase* (SOD) AND *Malondialdehyde* (MDA) SERUM OF OSTEOARTHRITIC RATS

Dedean Fajar Rachman*, Merlita Herbani*, Doti Wahyuningsih*

*Faculty of Medicine, University of Islam Malang

ABSTRACT

Introduction: Osteoarthritis (OA) is a chronic degenerative disease involving synovial inflammation of the joints where free radicals play a role in its progression. Current OA treatment is only reducing the symptoms that have side effects if used in the long term, therefore, alternative treatments are needed, one of which uses herbs. Red ginger (*Zingiber officinale* var *rubrum*) and cogon grass (*Imperata cylindrica*) rhizomes (RGCG) have a free radical scavenger effect. SOD and MDA are indicators of free radical activity, however, the research on the combination of RGCG in OA rats has never been done.

Method: 4-month-old male Wistar rats were divided into 5 groups (n = 5), namely: negative group (KN), positive group (KP), treatment 1 (P1) (dose 9 mg+40 mg), treatment 2 (P2) (dose 18 mg+40 mg), and treatment 3 (P3) (dose 36+40 mg). KP was made by inducing 0.1 ml Intra-articular Complete Freund's Adjuvant in the rat's right knee. Combination of RGCG decoction are given for 10 days from the appearance of OA sign. Serum SOD and MDA were examined using a spectrophotometer method. Results were considered significant if $p < 0.05$.

Results: SOD serum levels KN: 38.58 ± 1.33 , KP: 19.23 ± 4.75 , P1: 31.12 ± 1.27 , P2: 32.91 ± 1.04 , P3: 37.37 ± 1.84 . KP were significantly different from KN ($p < 0.05$). P1, P2, and P3 were significantly different from KP ($p < 0.05$). MDA serum levels KN: 0.07 ± 0.02 , KP: 0.24 ± 0.04 , P1: 0.21 ± 0.02 , P2: 0.16 ± 0.03 , P3: 0.13 ± 0.02 . KP, P1, P2, and P3 were significantly different from KN ($p < 0.05$). P2 and P3 were significantly different from KN, KP, and P1 ($p < 0.05$).

Conclusion: The combination of rhizome red ginger and cogon grass decoction can increase SOD serum levels and reduce MDA serum levels so that it can be an alternative treatment for osteoarthritis.

Keywords: Osteoarthritis, Red Ginger rhizome, Cogon Grass rhizome, SOD, MDA

PENDAHULUAN

Osteoarthritis (OA) adalah penyakit degeneratif yang bersifat kronis yang berkaitan dengan degradasi kartilago pada sendi. Degradasi kartilago yang disertai dengan peradangan sinovial terjadi akibat ketidakseimbangan homeostasis sendi.

Prevalensi osteoarthritis di dunia yaitu sebesar 13% pada wanita dan hanya 10% pada pria¹, sementara di Indonesia pada usia 40 – 60 tahun terdapat 15,5% pada pria dan 12,7% pada wanita². Osteoarthritis dapat menyebabkan nyeri, disabilitas lokomotor, kecacatan dan menurunkan produktivitas sehingga dapat memberikan dampak secara sosial dan ekonomi³. Oleh karena itu diperlukan penatalaksanaan osteoarthritis yang agresif dan sedini mungkin.

OA berkaitan erat dengan inflamasi pada sendi yang meningkatkan pembentukan radikal bebas golongan *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan *Reactive Nitrogen Species* (RNS)⁴⁵. Radikal bebas akan menyebabkan peroksidasi lipid dan menghasilkan Malondialdehid (MDA). MDA dapat membentuk ROS bereaksi dengan komponen asam lemak dari membran sel sehingga terjadi reaksi berantai yang menyebabkan perputusnyarantai asam lemak menjadi berbagai senyawa toksik dan menyebabkan kerusakan pada membran sel⁸⁹.

Secara fisiologis normal peningkatan ROS akan ditekan oleh antioksidan seluler dan salah satunya adalah *superoxide dismutase* (SOD)⁷. SOD merupakan antioksidan yang berperan dalam mengambil radikal anion superoksida (O_2^-)⁶.

Pengobatan OA saat ini salah satunya menggunakan NSAID dan kortikosteroid. Namun, penggunaan jangka panjang dapat menyebabkan gangguan saluran cerna, perubahan metabolisme, dan pengeroposan tulang. Oleh karena itu dibutuhkan pengobatan alternatif yang mampu mengurangi gejala OA dan aman untuk penggunaan jangka panjang¹⁰.

Jahe (*Zingiber officinale* var *rubrum*) memiliki daya antioksidatif yang paling tinggi daripada rempah lainnya. Kandungan *shogaol*, *kurkumin*, dan *gingerol* yang merupakan senyawa fenolik dapat berfungsi sebagai antioksidan^{11, 12}. Alang-alang (*Imperata cylindrica*) dapat berperan sebagai antioksidan karena memiliki senyawa fenolik seperti flavonoid. Radikal bebas dapat diredam dengan baik oleh senyawa flavonoid dengan membantu kerja enzim SOD menetralkan ion superoksida.¹³ Selain itu terdapat senyawa isoeugenin yang secara spesifik menghambat pembentukan iNOS di dalam makrofag⁴³. Apabila pembentukan iNOS dihambat maka NO radikal akan berkurang sehingga tidak bereaksi dengan anion superoxide (O_2^-) dan tidak terjadi pembentukan peroksinitrit yang dapat merusak fosfolipid bilayer kondrosit.

Berdasarkan uraian di atas, penelitian ini mempelajari efek kombinasi dekokta jahe (*Zingiber*

officinale var *rubrum*) dan alang-alang (*Imperata cylindrica*) sebagai antioksidan bagi keadaan stres oksidatif pada tikus wistar model OA dengan mengukur kadar serum SOD dan MDA.

METODE

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratorium secara *in vivo* dengan desain *control group post test only*. Penelitian dilaksanakan di Animal House Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang (FK UNISMA), Laboratorium Terpadu FK UNISMA, Laboratorium Herbal Biomedik FK UNISMA, Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya (FKUB) dan Laboratorium Biosains Universitas Brawijaya (UB). Tanaman herbal diperoleh dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT) Tawangmangu. Penelitian ini telah disetujui oleh Komisi Etik nomor 1055-KEP-UB, tahun 2019.

Subjek Penelitian

Tikus Wistar jantan (*Rattus norvegicus*) usia 4 bulan, berat badan 210-310 gram, diaklimatisasi selama 14 hari, dan diberi makan dan minum *ad libitum*. Pengelompokan sampel terbagi atas 5 kelompok yaitu, Kelompok Negatif (KN) yang hanya diberi makan dan minum *ad libitum*, Kelompok Positif (KP) yang diberi CFA 0,1 ml, Kelompok Perlakuan 1 (P1) yang diberi CFA 0,1 ml dan kombinasi RJMA (9+40) mg, Kelompok Perlakuan 2 (P2) yang diberi CFA 0,1 ml dan kombinasi RJMA (18+40) mg, dan Kelompok Perlakuan 3 (P3) yang diberi CFA 0,1 ml dan kombinasi RJMA (36+40) mg dan masing-masing terdiri dari 5 ekor tikus.

Pembuatan Tikus Model Osteoarthritis

Tikus diinduksi CFA 0,1 ml secara intraartikular (IA) dan dilakukan hanya satu kali. Sebelumnya, tikus dianestesi menggunakan ketamine 0,1 mg/100gBB tikus secara *intramuscular* (IM)

Injeksi CFA 0,1 ml dilakukan pada lutut kanan tikus dengan menekuk kaki kanannya lalu diinjeksikan tepat pada IA sampai terasa menembus kapsul sendi. Tikus dikatakan OA bila terjadi peningkatan diameter sendi lutut yang diukur menggunakan *micrometer screw*. *Scoring* peningkatan diameter sendi ditentukan berdasarkan penelitian Khan, 2012, dimana peningkatan <0,1 mm = 0; 0,1-2mm = 1; 2,1-4mm = 2; 4,1-6mm = 3¹⁴. Pengukuran pertama dilakukan sebelum induksi CFA pada semua kelompok. Pengukuran selanjutnya dilakukan setiap 5 hari sekali.

Kombinasi Dekokta Rimpang Jahe Merah dan Rimpang Alang-Alang (RJMA)

Pembuatan kombinasi dekokta herba dilakukan dengan cara merebus simplisia irisan tipis rimpang jahe merah dan potongan rimpang alang-alang

menggunakan pelarut air selama ± 30 menit pada suhu 90°C . Dosis dekokta rimpang jahe merah dan rimpang alang-alang ditentukan berdasarkan penelitian sebelumnya. Dosis efektif jahe pada manusia sebagai antiinflamasi sebesar 500 mg, 1000 mg, dan 2000 mg²⁶. Dosis tersebut dikonversi menggunakan faktor konversi 0,018²⁷ dikalikan dengan dosis pada manusia sehingga menjadi dosis efektif bagi tikus sebesar 9 mg, 18 mg, dan 36 mg. Dosis alang – alang yang efektif sebesar 40 mg²⁸. Sehingga diperoleh dosis dekokta yang dibagi untuk 3 kelompok perlakuan yaitu, dosis jahe merah 9 mg untukkelompok P1, dosis 18 mg untuk kelompok P2, dan dosis 36 mg untuk kelompok P3 yang masing-masing dalam 1 ml air. Setiap dosis dikombinasikan dengan 40 mg alang-alang dalam 1 ml air, sehingga diperoleh 2 ml hasil dekokta yang akan disondekan sehari sekali ke tikus selama 10 hari.

Pengambilan Sampel SerumTikus

Tikus difiksasi posisi supinasi, kemudian dianastesi menggunakan ketamin dosis 0,1 ml/100gBB tikus secara IM. Pembedahan dilakukan mengikuti *linea mediana* dari arah abdomen menuju toraks, kemudian dilakukan pengambilan darah melalui *intracardiac*¹⁵. Sampel darah kemudian dimasukkan dalam *vacutainer* tanpa EDTA kemudian disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 10 menit untuk mendapatkan serum darah.

Pemeriksaan Kadar *Superoxide Dismutase* (SOD) Serum

Pemeriksaan kadar SOD serum dilakukan dengan sampel serum darah sebanyak 200 μL dalam *ependorf tube* yang kemudian ditambah dengan 2 ml PBS. Setelah itu dihomogenkan dengan vortex dan diambil 0,2 ml homogenatnya. Kemudian ditambah EDTA 200 μL , NBT 100 μL , *xanthine oxidase* 100 μL dan buffer fosfat 1 ml dan larutan diinkubasi pada suhu 38°C selama 30 menit. Larutan disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Supernatan hasil sentrifugasi diambil dan ditambahkan buffer fosfat hingga 3 ml. Kadar SOD dibaca dengan mengukur serapan supernatan pada λ 580 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis¹⁶.

Pemeriksaan Kadar *Malondialdehyde* (MDA) Serum

Pemeriksaan kadar MDA dilakukan dengan sampel serum darah sebanyak 2 – 3 ml dalam *ependorf tube*, kemudian ditambahkan 1 ml asam trikloroasetat (TCA) 20%, 0,25 HCl 0,25 N, dan 2 ml asam tiobarbiturat (TBA) 10%. Larutan di homogenkan dengan vortex setelah itu dipanaskan dengan water bath dengan suhu 100°C selama 10 detik kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Setelah itu supernatan hasil sentrifugasi diambil dan kadar MDA dibaca

dengan mengukur serapan supernatan pada λ 530 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis¹⁷.

Teknik Analisa Data

Data yang diperoleh dilakukan uji normalitas dan homogenitas terlebih dahulu. Setelah data dinyatakan terdistribusi normal selanjutnya dilakukan uji statistik *One Way ANOVA* dilanjutkan dengan uji *Post hoc* untuk melihat perbedaan tiap kelompok perlakuan. Hasil dikatakan bermakna bila nilai $p < 0,05$. Semua analisa data dilakukan dengan menggunakan perangkat software statistik SPSS.

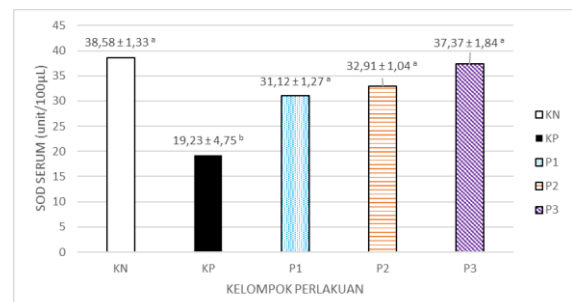
HASIL DAN ANALISA DATA

Karakteristik Sampel

Karakteristik sampel pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 1.

Kadar *Superoxide Dismutase* (SOD) Serum Tikus

Hasil rerata kadar SOD serum dapat dilihat pada Gambar 1. Data tersebut terdistribusi normal dan homogen ($p > 0,05$), sehingga data dianalisa menggunakan uji *Oneway Anova*. Analisa menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$). Selanjutnya dilakukan uji *Post Hoc* untuk mengetahui perbedaan tiap kelompok.



Gambar 1. Histogram Rerata $\pm$ SD Kadar SOD Serum pada Tikus Normal (KN), Tikus OA (KP), Tikus Perlakuan 1 (P1) (9+40mg/tikus/hari), Tikus Perlakuan 2 (P2) (18+40mg/tikus/hari) dan Tikus Perlakuan 3 (P3) (36+40mg/tikus/hari)

Keterangan: Data dalam rerata $\pm$ standar deviasi (SD)
^{a,b} notasi huruf yang tidak sama menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$).

Berdasarkan uji *Oneway Anova* didapatkan perbedaan yang signifikan pada tikus antar kelompok penelitian ($p < 0,05$). Uji *Tukey HSD* pada KP menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) terhadap KN. Induksi CFA menyebabkan penurunan kadar SOD pada KP secara signifikan dibandingkan dengan KN. Kelompok P1, P2, dan P3 menunjukkan perbedaan yang signifikan terhadap KP ($p < 0,05$). Kombinasi dekokta RJMA pada semua kelompok perlakuan meningkatkan kadar SOD hingga tidak berbeda secara bermakna dibandingkan dengan KN ($p > 0,05$). Semakin tinggi dosis RJMA semakin tinggi juga peningkatan kadar SOD. Pada histogram juga menunjukkan tidak

terdapat perbedaan yang signifikan antar tiap kelompok perlakuan ($p > 0,05$).

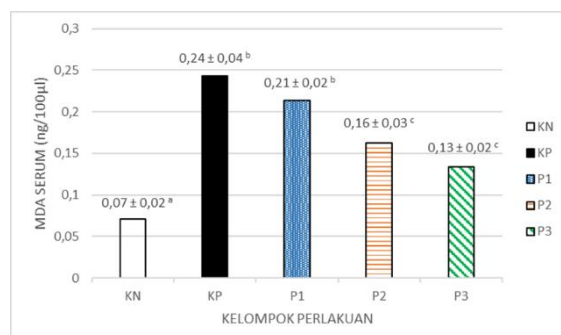
Tabel 1. Karakteristik Sampel

	KN	KP	P1	P2	P3
Hewan coba	Tikus Wistar	Tikus Wistar	Tikus Wistar	Tikus Wistar	Tikus Wistar
Jenis kelamin	Jantan	Jantan	Jantan	Jantan	Jantan
Usia (bulan)	4	4	4	4	4
Aklimatisasi (hari)	14	14	14	14	14
CFA	-	0,1 mL	0,1 mL	0,1 mL	0,1 mL
Pengukuran diameter lutut tikus hari ke-0 (mm)	9,8	10,2	10,3	9,1	9,3
Delta edema hari ke-5 (mm)	0,0±0 ^a	1,1±1,12 ^b	0,5±0,41 ^b	1,3±0,63 ^b	1,8±0,49 ^b
Scoring edema lutut hari ke-5	0	1	1	1	1
Delta edema hari ke-10 (mm)	0,0±0 ^b	1,2±1,09 ^b	0,6±0,40 ^b	1,4±0,65 ^b	2±0,69 ^b
Scoring edema lutut hari ke-10	0	1	1	1	1
Delta edema hari ke-19 (mm)	0,0±0 ^a	0,3±0,51 ^{a,1}	0,02±0,11 ^{a,1}	0,8±0,57 ^{b,1}	0,7±0,41 ^{b,1}
Scoring edema lutut hari ke-19	0	0	0	1	1
Dosis KDRJMA	-	-	(9 + 40) mg	(18+40) mg	(36+40) mg
Jumlah	5	5	5	5	5

Keterangan : Data dalam rerata ± standardeviasi (SD). ^{a,b} Notasi huruf yang tidak sama menunjukkan perbedaan yang signifikan terhadap KN atau KP. ^{1,2} Notasi angka yang tidak sama menunjukkan perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan.

Kadar Malondialdehyde (MDA) Serum Tikus

Pada gambar 2 menunjukkan hasil rerata kadar MDA serum. Data tersebut terdistribusi normal dan homogen ($p > 0,05$), yang kemudian dilanjutkan dengan uji *One Way Anova*. Analisa menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$), Setelah itu dilakukan uji *Post Hoc* untuk melihat perbedaan tiap kelompok.



Gambar 2 Histogram Rerata Kadar MDA serum pada Tikus Normal (KN), Tikus OA (KP), Tikus Perlakuan 1 (P1) (9+40mg/tikus/hari), Tikus Perlakuan 2 (P2) (18+40mg/tikus/hari) dan Tikus Perlakuan 3 (P3) (36+40mg/tikus/hari)

Keterangan: Data dalam rerata ± standardeviasi (SD) ^{a,b,c} Notasi huruf yang tidak sama menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$).

Berdasarkan uji *Oneway Anova* didapatkan perbedaan yang signifikan antar kelompok penelitian ($p < 0,05$). Uji *Tukey HSD* pada KP menunjukkan peningkatan kadar MDA yang signifikan dibandingkan dengan KN ($p < 0,05$). Kombinasi dekokta RJMA pada kelompok perlakuan 2 dan 3 mampu menurunkan kadar MDA serum secara signifikan dibandingkan dengan KP ($p < 0,05$), sedangkan pada kelompok perlakuan 1 juga mampu menurunkan kadar MDA namun tidak signifikan dibandingkan KP ($p > 0,05$). Semua kelompok perlakuan mengalami penurunan kadar MDA namun masih berbeda secara bermakna dibandingkan dengan KN ($p < 0,05$).

Hasil Korelasi Kadar SOD dengan kadarMDA Serum

Hasil analisis korelasi menggunakan uji statistik *Pearson* menunjukkan hubungan negatif sedang antara SOD dan MDA yang dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Korelasi antara SOD dan MDA

Correlations		SOD	MDA
SOD	Pearson Correlation	1	-.697**
	Sig. (2-tailed)		.000
	N	25	25
MDA	Pearson Correlation	-.697**	1
	Sig. (2-tailed)	.000	
	N	25	25

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).



Keterangan: Tabel 2 menunjukkan korelasi antara SOD dan MDA pada penelitian ini. Data diuji dengan uji korelasi *Pearson*.

Berdasarkan **Tabel 2** didapatkan korelasi antara SOD dan MDA serum yang signifikan. Hal ini dapat dilihat dari hasil *Sig. (2-tailed)* <0,05 serta *Pearson Correlation* yaitu nilai *r* hitung > *r* tabel (*r* hitung > 0,505) dan bernilai negatif sehingga dapat disimpulkan bahwa kadar SOD memiliki korelasi berlawanan yang signifikan terhadap kadar MDA.

PEMBAHASAN

Karakteristik Sampel

Penelitian ini menggunakan tikus *Rattus norvegicus* galur wistar jantan sebagai hewan coba karena banyak digunakan sebagai penelitian dan memiliki 98% kesamaan DNA, ekspresi gen, dan metabolisme dengan manusia serta mudah untuk didapat dan mudah perawatannya¹⁸. Tikus galur wistar memiliki kerentanan mengalami artritis pada model *Adjuvant Induced Arthritis* (AIA)^{19,20}. Tikus berjenis kelamin jantan dipilih karena tidak dipengaruhi oleh faktor hormonal seperti estrogen²¹. Estrogen dapat memengaruhi metabolisme osteoblas dan osteoklas serta dapat menyebabkan hipokalsemia karena reabsorpsi di ginjal yang mengakibatkan peningkatan hormon paratiroid. Osteoarthritis dapat terjadi karena meningkatnya resorpsi tulang yang disebabkan oleh peningkatan hormon paratiroid²². Estrogen juga dapat menurunkan radikal bebas dengan meningkatkan regulasi antioksidan²³.

Pada penelitian ini digunakan tikus berusia 4 bulan sesuai dengan koversi usia manusia ke tikus. Berdasarkan penelitian Djari pada tahun 2008 disebutkan bahwa 10 tahun kurun waktu manusia sama dengan 1 bulan kurun waktu tikus sehingga dapat disimpulkan bahwa usia 4 bulan pada tikus sama dengan usia 40 tahun pada manusia dimana sudah memasuki fase degeneratif yang menjadi faktor risiko utama penyebab osteoarthritis²⁴. Tikus yang digunakan memiliki berat 210 – 310 gram

agar dapat mengevaluasi dengan mudah daerah genu tikus.

Pemberian makan dan minum hewan coba secara *adlibitum* dengan kebutuhan makan tikus perhari yaitu 10 gram per 100 gram berat badan tikus⁴⁴. Hewan coba dikelompokkan secara acak dengan jumlah 5 ekor pada setiap kelompok dan diletakkan dalam kandang yang berisi 1 ekor tikus untuk menghindari perkawinan antar hewan coba. Penggantian sekam dan pembersihan kandang dilakukan setiap dua hari sekali.

Pada penelitian ini digunakan dua kelompok kontrol yaitu kontrol negatif (KN) dan kontrol positif (KP). Kelompok kontrol negatif (KN) adalah kelompok yang berisi hewan coba normal yang tidak diberi induksi CFA dan tidak diberi kombinasi rimpang jahe merah dan rimpang alang – alang serta hanya diberi makan dan minum terstandar secara *adlibitum*. Sedangkan kelompok kontrol positif (KP) adalah kelompok yang berisi hewan coba yang diinduksi CFA 0,1 ml / ekor, namun tanpa pemberian kombinasi dekokta rimpang jahe merah dan rimpang alang – alang dan diberi makan dan minum terstandar secara *adlibitum*.

Penelitian ini merupakan penelitian pendahuluan sebagai pengobatan alternatif untuk penderita osteoarthritis dengan menggunakan kombinasi rimpang jahe merah dan rimpang alang – alang masing – masing perlakuan 1 (P1) (9 + 40 mg / tikus / hari), perlakuan 2 (P2) (18 + 40 mg / tikus / hari), dan perlakuan 3 (P3) (36 + 40 mg / tikus / hari).

Derajat Inflamasi Karena Induksi CFA

Peningkatan ukuran edema lutut tikus yang dikonversi dengan scoring pada hari ke-5 dan ke-10 pasca injeksi CFA dibandingkan hari pertama perlakuan pada KP, P1, P2, dan P3 dapat disebabkan oleh inflamasi karena pemberian CFA. Hal ini terjadi karena kandungan *inactive mycobacterium* pada CFA mampu meningkatkan pengeluaran sitokin dan mediator inflamasi yang menimbulkan tanda-tanda inflamasi seperti pembengkakan dan penurunan fungsi bagian tubuh yang mengalami jejas sehingga tikus berjalan pincang. *Inactive mycobacterium* akan dikenali oleh antigen presenting cell (APC). Antigen tersebut melalui perantara MHC2 akan berinteraksi langsung mengaktifkan CD4+ dan terjadi aktivasi T-helper²⁹. T-helper akan merangsang pelepasan sitokin proinflamasi dan mediator inflamasi sehingga timbul tanda inflamasi, salah satunya pembengkakan yang dapat diukur menggunakan micrometer screw. Selain itu tikus terlihat berjalan pincang sebagai gambaran adanya *functio laesa*³. Pada penelitian Robin pada tahun 2016 menjelaskan bahwa terjadinya pembengkakan secara bertahap dimulai pada hari ke-7 pasca injeksi CFA.

Pemberian kombinasi dekokta RJMA mulai diberikan pada hari ke-10 pasca injeksi,

setelah muncul tanda inflamasi. Pemberian kombinasi dekokta RJMA dilakukan selama 10 hari atau sampai hari ke-19 pasca induksi CFA. Penentuan lama pemberian kombinasi dekokta ini dilakukan berdasarkan efek kerja CFA yang mulai berkurang pada minggu ke-3⁴⁵. Pada penelitian ini, gejala klinis pada tikus mulai membaik pada hari ke-19 pasca injeksi CFA. Tikus mulai menggunakan kaki kanannya kembali dan diameter edema yang mulai berkurang, sehingga tidak didapatkan perbedaan yang signifikan antara tikus KP dan P1 terhadap KN ($p > 0,05$).

Pada delta edema kelompok P2 dan P3 setelah pemberian herbal pada hari ke-19 tidak terdapat penurunan diameter lutut dan scoring. Hal ini dapat disebabkan karena lambatnya remodeling pada tahap awal osteoarthritis serta sinoviositis dan kondrosit yang masih memproduksi sitokin proinflamasi⁴⁹. Otero dan Goldring pada tahun 2011 juga menyebutkan bahwa mekanisme yang menghubungkan antara peningkatan pembengkakan dan cedera sendi dengan aktifitas biologis tidak dapat dievaluasi dari waktu ke waktu⁴⁸. Pada paparan jangka panjang, sitokin proinflamasi juga dapat menyebabkan disfungsi mitokondria pada kondrosit osteoarthritis dan sel sinovial yang menghambat rantai pernafasan mitokondria⁴⁸. Penggunaan micrometer screw dalam pengukuran edema, dipilih karena pengukuran menggunakan alat tersebut mudah dilakukan dan terjangkau¹⁴. Pengukuran edema sebaiknya menggunakan weight bearing balance (WBB) atau micrometer screw digital agar mendapatkan hasil yang lebih akurat sehingga mengurangi bias.

Induksi CFA Menyebabkan OA

Penelitian sebelumnya membuktikan bahwa injeksi CFA secara intraartikular pada lutut tikus sebanyak 0,125 ml dapat menyebabkan arthritis pada tikus²⁵. Penelitian ini menggunakan dosis 0,1 ml CFA yang diinjeksikan secara intraartikular dan menimbulkan penambahan diameter sendi pada hari ke-5.

Hal ini didukung dengan foto rontgen genu AP pada tikus wistar jantan normal (KN) dibandingkan dengan tikus yang diinduksi CFA (KP) ditemukan perbedaan, pada lutut tikus KP tampak penyempitan sendi dan gambaran opaque pada celah sendi yang menyerupai osteofit. Sedangkan pada KN tidak ditemukan kelainan (Data tidak dipublikasi). Selain itu, dilakukan pengamatan histologi jaringan sinovial menggunakan pewarnaan Hematoxyline-Eosin (HE) dan ditemukan adanya kerusakan jaringan sinovial pada KP. Pada KN tidak didapatkan kerusakan sendi pada tikus (Data tidak dipublikasi).

Pengaruh Induksi CFA terhadap Kadar SOD Serum

Penurunan kadar SOD serum dapat disebabkan karena proses injeksi CFA yang mengakibatkan

terjadinya proses inflamasi dan peningkatan ROS. Peningkatan ROS yang berlebihan yang tidak diimbangi dengan antioksidan akan menyebabkan keadaan stres oksidatif yang mengakibatkan menurunnya jumlah SOD dalam darah.

Injeksi CFA 0,1 ml yang mengandung 0,1 mg *Inactive Mycobacterium* akan menstimulasi sel – sel Myeloid Progenitor Cell (MPC) / sel dendritik (DC) dalam darah yang bekerja sebagai Antigen Presenting Cell (APC). T-helper akan teraktivasi oleh antigen tersebut dan menginduksi keluarnya sitokin pro-inflamasi seperti IL-1, IL-6, TNF- α dan β dan IFN yang akan menyebabkan terjadinya inflamasi.^{29 3}. Sitokin ini akan menginduksi langsung aktifitas makrofag yang selama inflamasi akan melakukan proses fagositosis. Proses tersebut mengakibatkan keadaan *respiratory burst* yang akan menghasilkan *reactive oxygen species* (ROS). Jumlah radikal bebas secara berlebihan akan menyebabkan stres oksidatif dimana SOD sudah tidak mampu menahan atau menangkap radikal bebas yang terlalu banyak dalam tubuh. Akibatnya aktifitas SOD akan turun secara signifikan^{30 31}.

Superoxide dismutase (SOD) merupakan *metalloenzyme* yang membutuhkan kofaktor logam untuk aktifitasnya dan merupakan antioksidan paling kuat dalam sel yang bertindak sebagai pertahanan lini pertama terhadap spesies oksigen reaktif (ROS). Meningkatnya ROS akibat inflamasi akan menyebabkan ketidakseimbangan antara antioksidan dengan prooksidan dan menyebabkan menurunnya kadar SOD dalam darah³².

Efek Pemberian Kombinasi Dekokta RJMA terhadap Kadar SOD serum pada Tikus OA

Peningkatan SOD secara signifikan pada setiap kelompok perlakuan menunjukkan bahwa kombinasi dekokta rimpang jahe dan alang – alang mempunyai efek antiinflamasi dan antioksidan yang dapat meningkatkan kadar SOD serum.

Rimpang jahe akan mencegah produksi radikal bebas dan menetralkan radikal bebas yang ada didalam tubuh. Flavonoid pada jahe yaitu *gingerol* dan *shogaol* dapat meningkatkan aktifitas enzim antioksidan seperti superoxide dismutase dan glutathione peroxidase. Gingerol juga menurunkan produksi sitokin proinflamasi dengan menghambat cyclooxygenase (COX) dan PGE2^{33 34}.

Rimpang alang-alang memiliki kandungan senyawa fenolik seperti flavonoid yang meredam radikal bebas dengan memberi satu elektronnya kepada radikal bebas. Radikal bebas yang turun akan mencegah terjadinya stres oksidatif akibat *Reactive Oxygen Species* (ROS) sehingga inaktivasi SOD akan dapat dicegah. Hal itu yang membuat kadar SOD menjadi meningkat³⁵. Flavonoid tersebut juga berperan sebagai antioksidan dengan membantu kerja enzim SOD menetralkan O2⁻ sehingga dapat menghindari rusaknya protein SOD akibat terlalu sering berinteraksi dengan radikal bebas sehingga penurunan aktifitas pun dapat dihindari¹³. Selain itu juga kandungan isoeugenin

pada alang-alang juga dapat meredam pembentukan iNOS sehingga dapat mencegah pembentukan NO. NO apabila bertemu dengan anion superoksida (O_2^-) akan menjadi peroksinitrit yang bersifat radikal⁴³.

Tidak terdapat perbedaan yang signifikan ($p>0,05$) pada setiap variasi dosis P1, P2, dan P3 yang diduga dapat disebabkan karena respon maksimal yang sudah dicapai oleh seluruh reseptor sudah terikat dengan senyawa herbal.

Pengaruh Induksi CFA terhadap Kadar MDA Serum

Peningkatan kadar MDA dapat disebabkan karena proses injeksi CFA yang dapat menyebabkan inflamasi. Inflamasi yang terjadi akan menyebabkan keadaan stres oksidatif. Radikal bebas akan memisahkan atom hidrogen pada ikatan tidak jenuh rantai karbon dan menghasilkan radikal bebas lipid. Proses ini disebut proses peroksidasi lipid yang salah satu produknya adalah MDA³⁶.

CFA 0,1 ml yang diinduksikan mengandung 0,1 mg *inactive mycobacterium* akan menstimulasi sel – sel Myeloid Progenitor Cell (MPC) / sel dendritik (DC) dalam darah yang akan bekerja sebagai *Antigen Presenting Cell* (APC). T-helper akan teraktivasi oleh antigen tersebut dan menginduksi keluarnya sitokin pro inflamasi seperti IL-1, IL-6, TNF α dan β dan IFN yang dapat menyebabkan terjadinya inflamasi^{3 29}. Sitokin ini merangsang pembentukan *Colony Stimulating Factors* (CSFs) yang merangsang monosit dan plasminogen untuk mendegradasi tulang rawan sendi³. Sitokin tersebut mampu menginduksi langsung aktifitas makrofag. Makrofag akan memproduksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang bersifat radikal. Selain itu, selama proses inflamasi juga terjadi peningkatan iNOS pada makrofag yang dapat menginduksi peningkatan NO radikal. Apabila NO dan ROS yang berlebihan bertemu dapat saling bereaksi dan membentuk senyawa yang lebih radikal yaitu peroxynitrite ($ONOO^-$). Peroksinitrit dapat merusak fosfolipid bilayer kondrosit dan mengakibatkan destruksi sendi yang memperparah kondisi OA³⁷³⁸.

Efek Pemberian Kombinasi Dekokta RJMA terhadap Kadar MDA Serum pada Tikus OA

Semua kelompok perlakuan mengalami penurunan kadar MDA serum. Penurunan kadar MDA serum yang signifikan terdapat pada kelompok perlakuan 2 (P2), dan kelompok perlakuan 3 (P3) dibandingkan dengan kontrol positif (KP) ($p<0,05$). Hal ini disebabkan oleh kandungan jahe merah yaitu *shogaol* dan *gingerol* berfungsi sebagai antioksidan dengan mekanisme penghambatan *xantin oxidase* sehingga radikal bebas tidak terbentuk. Penurunan radikal bebas menghambat peroksidasi lemak sehingga menurunkan kadar MDA serum³⁹. Alang – alang memiliki aktifitas biologis senyawa fenolik seperti flavonoid. Kandungan flavonoid tersebut akan berperan sebagai scavenger *anion superoxide* dan radikal hidroksil. Flavonoid juga menghambat

proses inisiasi sehingga mencegah pembentukan radikal lipid yang tidak stabil karena hilangnya satu atom hidrogen (H) dari molekul lipid akibat radikal hidroksil (OH^-). Penghambatan proses inisiasi akan mencegah proses propagasi sehingga radikal bebas tidak akan bereaksi dengan PUFA melalui penghambatan reaksi oksidasi dan akan menurunkan kadar MDA³¹.

Kelompok perlakuan 1 (P1) mengalami penurunan kadar MDA serum namun tidak signifikan dibandingkan dengan kontrol positif (KP) ($p>0,05$). Hal ini diduga karena kurangnya pemberian dosis sehingga dibutuhkan pemberian dosis yang lebih tinggi yang dapat meningkatkan aktifitas biologis zat aktif pada masing – masing herbal³⁹. Pada penelitian Arianti pada tahun 2012 menyebutkan bahwa alang – alang tidak bersifat toksik pada hewan uji. Nilai LD_{50} tidak dapat ditentukan karena hingga dosis tertinggi yaitu 2000 mg/KgBB tidak menyebabkan kematian pada hewan uji⁴⁶. Sedangkan jahe merah dengan metode brine shrimp lethality test (BSLT) memperoleh nilai LC_{50} sebesar 3821,89 ppm yang artinya tidak toksik⁴⁷.

Perlakuan 1, 2, dan 3 mengalami penurunan, namun masih berbeda secara bermakna dibandingkan dengan kadar normal MDA pada tikus KN. Hal ini diduga karena peningkatan dan penurunan MDA dapat dipengaruhi juga oleh faktor lain secara endogen dan eksogen. Faktor endogen yang dapat memengaruhi tingginya kadar MDA antara lain proses autooksidasi dan proses enzimatis⁴¹. Selain itu juga diduga karena kurangnya pemberian dosis.

Didapatkan perbedaan yang signifikan ($p<0,05$) pada variasi dosis P1 terhadap P2 dan P3. Hal ini diduga terjadi karena rentang pemberian dosis sudah mencukupi untuk memberikan perbedaan efek, namun bukan efek toksik melainkan efek yang lebih efektif. Namun, tidak didapatkan perbedaan yang signifikan antara variasi dosis P2 dan P3. Kondisi ini dapat disebabkan karena dosis P2 diduga sudah optimal untuk menurunkan kadar MDA. Reseptor yang mengikat zat aktif dari herbal RJMA diduga responnya sudah dicapai secara optimal pada dosis P2 sehingga tidak berbeda signifikan dengan P3.

Hubungan SOD Serum dengan MDA Serum

Pada penelitian ini berdasarkan uji korelasi Pearson, didapatkan nilai p sebesar 0,000 dan nilai r sebesar -0,697 yang menunjukkan adanya korelasi negatif yang kuat antara kadar SOD serum dengan kadar MDA serum tikus wistar. Korelasi negatif ini menunjukkan bahwa semakin tinggi kadar MDA serum maka semakin rendah kadar SOD serum. Hal ini sesuai dengan penelitian Kristina dkk (2016) bahwa aktifitas MDA berlawanan dengan aktifitas SOD⁴⁰. Peningkatan atau penurunan SOD dapat dipengaruhi oleh ketersediaan kofaktorpembentukan SOD didalam tubuh berupa mikronutrien golongan logam (Fe, Zn, dan Mn)⁴¹.

Ketidakseimbangan antioksidan dengan prooksidan akan menyebabkan kondisi stres oksidatif. MDA terbentuk akibat kerusakan oksidatif dan terbentuk dari peroksidasi lipid pada membran sel, yaitu reaksi antara PUFA dengan radikal bebas. Penurunan SOD mengakibatkan anion superoxide O₂⁻ akan mengalami penggabungan dengan radikal lipid yang selanjutnya akan mengalami reaksi inisiasi, terminasi, dan propagasi dan pada akhirnya meningkatkan kadar MDA yang merupakan produk utama hasil oksidasi PUFA^{31 42}.

KESIMPULAN

Berdasarkan analisa data dan pembahasan pada penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa :

1. Kombinasi ekstrak Jahe Merah (*Zingiber officinale* var *rubrum*) dan Alang-alang (*Imperata cylindrica*) pada semua dosis dapat meningkatkan kadar SOD serum tikus OA dan tidak ada perbedaan efek yang bermakna antar variasi dosis
2. Kombinasi ekstrak Jahe Merah (*Zingiber officinale* var *rubrum*) dan Alang-alang (*Imperata cylindrica*) pada dosis 18+40 mg dan 36+40 mg dapat menurunkan kadar MDA serum tikus OA

SARAN

Berdasarkan hasil penelitian di atas, untuk pengembangan lebih lanjut peneliti menyarankan :

1. Melakukan penelitian untuk mengetahui efektifitas kombinasi dekokta RJMA pada peningkatan kadar SOD menggunakan dosis yang lebih rendah pada tikus OA.
2. Melakukan penelitian untuk mengetahui efektifitas kombinasi dekokta RJMA pada penurunan kadar MDA menggunakan dosis yang lebih tinggi pada tikus OA karena CFA.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada IOM dan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang yang telah mendanai penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

1. Zhang, Y., Jordan, M. Epidemiology of Osteoarthritis. **Clin Geriatr Med.** 2010. Agustus ; 26(3): 355 -369.
2. Perhimpunan Reumatologi Indonesia (IRA). Diagnosa Dan Penatalaksanaan Osteoarthritis. Rekomendasi IRA Untuk Diagnosis Dan Penatalaksanaan Osteoarthritis. Hal 2-3. 2014
3. Soeroso, J., Isbagio, H., Kalim. H., Broto, R., Pramudiyo, R. Osteoarthritis. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. Perhimpunan Dokter*

- Spesialis Penyakit Dalam Indonesia.* Jilid Iii Ed-Iv. Hal 3199-3200. Interna Publishing. 2014.
4. Winarsi, H. Antioksidan Alami Dan Radikal Bebas. Potensi Dan Aplikasinya Dalam Kesehatan. Cetakan Ke-4. Yogyakarta. Penerbit Kanisius. 2010
5. Bhattacharya, I., Saxena, R., Gupta, V. Efficacy Of Vitamin E In Knee Osteoarthritis Management Of North Indian Geriatric Population. **Therapeutic Advances In Musculoskeletal Disease.** (2012) 4(1) 11–19
6. Regan, E., Flannelly, J., Bowfer, R., Tran, K., Nicks, M., Carbone, BD, *et al.* Extracellular Superoxide Dismutase And Oxidant Damage In Osteoarthritis. **Arthritis Rheum.** 2009 November;52(11):3479–3491.
7. Yulianti, BA., Sumarsono, SH., Ridwan, A., Yusuf, AT. Hubungan Reactive Oxygen Species (ROS) dan Superoxide Dismutase (SOD) Dengan Protein α -Sinuklein-larut Air Pada Batang Otak Tikus Yang Diinduksi Rotenon. **Global Medical and Health Communication.** Hal 83-92. Vol.3 No.2. September 2015
8. Yunus, M. Pengaruh Antioksidan Vitamin C Terhadap MDA Eritrosit Tikus Wistar Akibat Latihan Anaerobik. **Jurnal Pendidikan Jasmani.** 2001 (1): 9-16.
9. Rahardjani, B.K. 2010. Hubungan Antara Malondialdehyde (MDA) Dengan Hasil Luaran Sepsis Neonatorum. Bagian Ilmu Kesehatan Anak, Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro, Rsup Dr. Kariadi Semarang. **Sari Pediatri.** Hal 82-87. Vol. 12, No. 2, Agustus 2010
10. Sella, D. A., Sahrudin, & Ibrahim, K. Hubungan Intensitas Sholat, Aktivitas Olahraga dan Riwayat Kebiasaan Mandi Malam dengan Penyakit Osteoarthritis Pada Lansia di Panti Sosial Tresna Werdha Minaula Kota Kendari Tahun 2017. **Jurnal Mahasiswa Kesehatan Masyarakat.** 2017. 2(6), 1–9.
11. Zuhud, E. A., M. Ekarelawan Dan S. Riswan. Hutan Tropika Indonesia Sebagai Sumber Keanekaragaman Plasma Nutraf Tumbuhan Obat. **Jurnal Pelestarian Pemanfaatan Keanekaragaman Tumbuhan Obat Hutan Tropika Indonesia.** Jurusan Konservasi Hutan, Fakultas Kehutanan IPB Dan Lembaga Alam Tropika Indonesia, Bogor. 1994.
12. Wresdiyati, T., Astawan, M., Adnyane, IKM. Aktivitas Anti Inflamasi Oleoresin Jahe (*Zingiber Officinale*) Pada Ginjal Tikus Yang Mengalami Perlakuan Stres. **Jurnal. Teknol. Dan Industri Pangan,** Vol. Xiv, No. 2 Th. 2003.
13. Dhianawaty, D., Ruslin. Kandungan Total Polifenol Dan Aktivitas Antioksidan Dari

- Ekstrak Metanol Akar Imperata Cylindrica (L) Beauv. (Alang-Alang). Departemen Biokimia Dan Biomolekular Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran Bandung. 2005. **MKB**, Volume 47 No. 1, Maret.
14. Khan, HM., Ashraf, M., Hashmi, AS., Ahmad, MUD., Anjum, AA. Clinical Assessment Of Experimental Induced Osteoarthritis Rat Model In Relation To Time. **Journal of Animal and Plant Sciences**. 2012. 22(4), 960-965.
 15. Juneja, SC., Ventura, M., Jay, GD., Veillette, C.A less Invasive Approach of Medial Meniscectomy in Rat: a model to target early or less severe human osteoarthritis. **Journal of Arthritis**. 2016. 5:2
 16. Kusumaningrum, AG., Prijadi, B., Widodo, MA. Efek Ekstrak Kacang Tunggak (Vigna unguiculate) Terhadap Kadar Superoksida Dismutase (SOD) Serum Tikus Galur Wistar (Rattus norvegicus) Yang Dipapar Dengan Asap Mesin Berbahan Bakar Bensin. **Majalah Kesehatan FKUB**. Vol 4, No.1. Maret. 2017
 17. Adi, R., Aulanniam, Sasangka, P. Potensi Ekstrak Rumput Laut Coklat (Sargassum prismaticum) untuk meningkatkan aktifitas Superoxide Dismutase (SOD) dan gambaran histologi jaringan hepar tikus (Rattus norvegicus) diabetes melitus tipe I. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Brawijaya. **Kimia Student Journal**. 2013;5(3) : 414 – 420
 18. Widiartini, W., Siswati, E., Setiyawati, A., Rohmah, IM., Prasetyo, E. Pengembangan Usaha Produksi Tikus Putih (Rattus Norvegicus) Tersertifikasi Dalam Upaya Memenuhi Kebutuhan Hewan Laboratorium. Fakultas Peternakan Dan Pertanian. Universitas Diponegoro. 2013; 1-8
 19. Kim, EY., Moudgil, KD. The Determinants Of Susceptibility / Resistance To Adjuvant Arthritis In Rats. **Arthritis Research & Therapy**. 2009. 11(4), pp. 1-9
 20. Kuyinu, EL., Narayanan, G., Nair, LS., Laurencin, CT. Animal Models Of Osteoarthritis : Classification, Update, And Measurement Of Outcomes. **Journal Of Orthopaedic Surgery And Research** (2016) 11:19
 21. Andini, AN., Ardiana, M. Pengaruh Pemberian Kombinasi Minyak Rami Dan Minyak Wijen Terhadap Kadar Trigliserida Pada Tikus Sprague Dawley Dislipidemia. **Journal of Nutrition College**. 2016. Vol 5 No.4(5), p.557
 22. Ganong, William F. Fisiologi Kedokteran Ed. 22. Jakarta. Penerbit Buku Kedokteran EGC. 2008.
 23. Ventura-Clapier, R., Moulin, M., Piquereau, J., Lemaire, C., Mericskay, M., Veksler, V., Garnier, A. Mitochondria: a central target for sex differences in pathologies. **Clinical Science**. 2017. 131:806
 24. Djari, P. Pengaruh Pemberian Antioksidan Likopen, Karoten, dan Vitamin C Dalam Melawan Sinar UV. **Artikel Penelitian Biokimia UMM**. Malang. 2008.
 25. Koo, S.T., Lee, C.H., Choi, H., Shin, Y., Il, Ha, K. T., Ye, H., Shim, HB. The Effects Of Pressure On Arthritic Knees In a Rat Model Of CFA-Induced Arthritic. **Pain Physician**. 2013. 16(2), E95-102.
 26. Khushtar M, Kumar V, Javed K, Bhandari, U. Protective Effect Of Ginger Oil On Aspirin And Pylorus Ligation-Induced Gastric Ulcer Model In Rats. **Indian J Pharmsci**. Sep; 2009. 71 (5) : 554-8.
 27. Laurence, D.R., and A.L., Bacharach. Evaluation of drug activities: pharmacometrics, 1th ed. **Academic Press**. London. 1964.
 28. Jaya, A.S. Efek Antipiretik Infusum Batang Alang-alang (Imperata cylindrical (L) Beauv.): Penelitian Laboratorium Pada Tikus Putih (Rattus norvegicus). **Skripsi Thesis**. Universitas Airlangga. 2007.
 29. Flesch, I.E., Hess, J.H., Huang, S., Aguet, M., Rothe, J., Bluethmann, H. And kaufmann, S.H. Early interleukin 12 production by macrophages in response to mycobacterial infection depends on interferon gamma and tumor necrosis factor alpha. **The Journal of experimental medicine**. 1995. 181(5), pp 1615-1621.
 30. Arief, Sjamsul. Radikal Bebas. Bagian/Smf Ilmu Kesehatan Anak Fk Unair/Rsu Dr. Soetomo. Surabaya. 2006.
 31. Avisena, A.F. Efek Kombinasi Ekstrak Daun Pegagan, Akar Alang – Alang, Dan Daun Kumis Kucing Terhadap Kadar Sod Dan Mda Serum Tikus Model Hipertensi. **SKRIPSI**. Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang. 2014.
 32. Ighodaro, O.M., Akinloye, O.A. First Line Defence Antioxidants-Superoxide Dismutase (Sod), Catalase (Cat) And Glutathione Peroxidase (Gpx): Their Fundamental Role In The Entire Antioxidant Defence Grid. **Alexandria Journal of Medicine**. 2018. 54 (2018) 287–293.
 33. Hwang, Y.-H., Kim, T., Kim, R., & Ha, H. The Natural Product 6-Gingerol Inhibits Inflammation-Associated Osteoclast Differentiation via Reduction of Prostaglandin E2 Levels. **International Journal of Molecular Sciences**. 2018. 19(7), 2068.
 34. Mohammed, R.S. Review Article : Herbal Sources As A Remedy For Rheumatoid Arthritis. **International Journal Of Pharmtech Research**. 2016.
 35. Lukiati, B. The Effects of Curcuma heyneana Ethanolic Extract on the Superoxide

- Dismutase Activity and Histological Pancreas of Type I Diabetes Mellitus Rats. **International Journal of Basic & Applied Sciences IJBAS-IJENS**. 2012. 12 (2): 22-30.
36. Anggraeni, S., Setyaningrum, T., Listiawan, M.Y. Perbedaan Kadar Malondialdehid (MDA) Sebagai Pertanda Stres Oksidatif Pada Berbagai Derajat Akne Vulgaris. **Berkala Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin – Periodical of Dermatology and Venereology**. Vol. 29 / No. 1 / April 2017. Departemen/Staf Medik Fungsional Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/Rumah Sakit Umum Daerah Dr. Soetomo Surabaya.
 37. Pochazkova, D., Wilhelmova, N., & Pavlik, M. Reactive Nitrogen Species and Nitric Oxide. Nitric Oxide Action in Abiotic Stress Responses in Plants, (January), vii–ix. 2015.
 38. Institutional Animal Care and Use Committee Policy, Guidelines, and S. O. P. Administering Complete Freund's Adjuvant (CFA) and other Adjuvant, 1–6. 1997.
 39. Santoso, T. Potensi Sari Biji Kedelai (Glycine max), Rimpang Jahe (Zingiber officinale) dan Kombinasinya Terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) Serum Dan Ketebalan Dinding Aorta Pada Tikus Model Diabetes. **SKRIPSI**. Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang. 2018.
 40. Kristina Heni., Sartono Nurmasari., Rusdi. Kadar Peroksida Lipid dan Aktivitas Superoksida Dismutase Serum Darah pada Penderita Diabetes Mellitus Tipe-2. **BIOMA**. 2016. Vol. 12, No. 1.
 41. Fadlilawati, L. Pengaruh Frekuensi Stres Fisik Terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) dan Superoxide Dismutase (SOD) Jantung Tikus Wistar Betina. **SKRIPSI**. Program Studi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang. 2019.
 42. Siswonoto, S. Hubungan Kadar Malondialdehid Plasma Dengan Keluaran Klinis Stroke Iskemik Akut. **TESIS**. Program Pasca Sarjana Magister Ilmu Biomedik Dan Program Pendidikan Dokter Spesialis Ilmu Penyakit Saraf Universitas Diponegoro Semarang. 2008.
 43. An, H. J., Nugroho, A., Song, B. M., & Park, H. J. Isoeugenin, a novel nitric oxide synthase inhibitor isolated from the rhizomes of *imperata cylindrica*. **Molecules**. 2015. 20(12), 21336–21345.
 44. Sengupta, P. The Laboratory Rat: Relating Its Age with Human's. **International Journal of Preventive Medicine**. 2013. 4(6).
 45. Robin, D.M.C. Establishment of a Rat Model of Temporomandibular Joint Osteoarthritis Using Intrarticular Injection of Complete Freund's Adjuvant. **Proceeding ICMHS**. 2016.
 46. Arianti, R. 2 Aktivitas Hepatoprotektor dan Toksisitas Akut Ekstrak Akar Alang-Alang (*Imperata cylindrica*). **Skripsi**. Bogor : Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor. 2012. Hal. 5-7.
 47. Kaban, N.A., Daniel, Saleh, C. Uji Fitokimia, Toksisitas Dan Aktivitas Antioksidan Fraksi N-Heksan Dan Etil Asetat Terhadap Ekstrak Jahe Merah (*Zingiber Officinale* Var. *Amarum*) **Jurnal Kimia Mulawarman**. 2010. Vol 14 No.1. hal 24–28.
 48. Goldring, M.B., Otero, M. 2011. Inflammation in Osteoarthritis. **Curr Opin Rheumatol**. 23(5): 471-478
 49. Grover, A.K., Samson S.E., 2016. Benefits of antioxidant supplements for knee osteoarthritis: Rational and Reality. **Nutrition Journal**. 15:1