

**PENGARUH KOMBINASI DEKOKTA *Zingiber officinale* var *rubrum* DAN *Imperata cylindrica*
TERHADAP KADAR SERUM TGF - β DARI TIKUS OSTEOARTRITIS YANG DIINDUKSI
COMPLETE FREUND'S ADJUVANT**

Nabila Salsabill Putri, Dhanti Erma Widiyasi, Doti Wahyuningsih*

*Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: Osteoarthritis (OA) adalah peradangan sendi yang disebabkan adanya degradasi pada tulang yang tidak diimbangi dengan sintesis tulang tawar, sehingga terjadi perubahan pada struktur tulang. Saat ini belum ada obat yang mampu menyembuhkan penyakit OA dengan sempurna. Rimpang jahe merah dan alang-alang (RJMA) memiliki sifat antiinflamasi serta antioksidan. Jahe merah dipercaya memiliki senyawa yang mampu meningkatkan kadar TGF- β , sedangkan alang-alang mampu menekan radikal bebas. Dalam penelitian ini akan melaporkan efek kombinasi kedua herbal tersebut pada tikus model OA melalui pemeriksaan TGF- β .

Metode: Penelitian *invivo*, menggunakan desain *control group post test only*. Dengan hewan coba tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*) usia 4 bulan. 25 ekor hewan coba dikelompokkan menjadi 5 kelompok, yaitu kontrol negatif (KN), kontrol positif (KP), kelompok perlakuan 1 (P1), kelompok perlakuan (P2), kelompok perlakuan (P3). Tikus wistar jantan dibuat model OA dengan induksi *Complete Freund's Adjuvant* (CFA) yang diinjeksikan secara intraartikular (IA) pada lutut kanan tikus pada KP, P1, P2, dan P3. Selanjutnya, diberikan dekokta RJMA satu kali sehari secara per oral selama 10 hari pada P1 (9+40) mg/hari, P2 (18+40) mg/hari, P3 (36+40) mg/hari. TGF- β diperiksa menggunakan TGF- β ELISA Assay Kit. Analisa data menggunakan uji *One Way Anova* dilanjutkan dengan uji *post hoc* ($p < 0,05$).

Hasil: Kombinasi dekokta RJMA secara statistik dapat meningkatkan kadar serum TGF- β pada kelompok perlakuan 1 (0,53+0,00) ng/ml namun tidak signifikan ($p > 0,05$). Kadar serum TGF- β menurun pada kelompok perlakuan 2 (0,53+0,00) ng/ml dan kelompok perlakuan 3 (0,53+0,00) ng/ml yang sama-sama tidak signifikan ($p < 0,05$).

Kesimpulan: Kombinasi dekokta RJMA tidak meningkatkan kadar serum TGF- β .

Kata Kunci: Osteoarthritis, *Zingiber officinale* var *rubrum*, *Imperata cylindrica*, TGF- β .

*Korespondensi: Dr. dr. Doti Wahyuningsih, M. Kes; Jl. MT Haryono 193, Dinoyo, Lowokwaru, Malang; (0341) 578920; doti.wahyuningsih@gmail.com

**THE EFFECTS OF A COMBINATION OF *Zingiber officinale* var *rubrum* AND *Imperata cylindrica*
DECOCTA ON THE LEVELS OF TGF - β SERUM OF OSTEOARTHRITIS RATS INDUCED BY
COMPLETE FREUND'S ADJUVANT**

Nabila Salsabill Putri, Dhanti Erma Widiyasi, Doti Wahyuningsih*

*Medical Faculty of Malang Islamic University

ABSTRACT

Introduction: Osteoarthritis (OA) is inflammation of the joints caused by degradation of the bone without enough compensation of cartilage synthesis, resulting in bone structure changes. Currently there is no medicine that can cure OA. The rhizome of red ginger and cogon grass (RRGCG) have anti-inflammatory and antioxidant properties. Red ginger is believed to have compounds that can increase TGF- β levels, meanwhile cogon grass can suppress free radicals. In this study we will report the effects of these two herbs combination on OA rats through TGF- β examination.

Method: In vivo study, using control group post-test only design. Samples used were male 4-months old wistar (*Rattus norvegicus*) rats. 25 animals were divided into 5 groups, namely negative control (KN), positive control (KP), treatment group 1 (P1), treatment group 2 (P2), and treatment group 3 (P3). Rats were made an OA model by induction of Complete Freund's Adjuvant (CFA) which was injected intraarticularly (IA) in the rats' right knees. Furthermore, RJMA decocta was given once a day orally for 10 days in P1 (9+40) mg/day, P2 (18+40) mg/day, P3 (36+40) mg/day. TGF- β was examined using TGF- β ELISA Assay Kit. Data were analyzed by One Way Anova test followed by post hoc test ($p < 0.05$).

Results: The combination of RRGCG decocta could statistically increase the levels of TGF- β serum in treatment group 1 (0,53+0,00) ng/ml but was not significant ($p > 0,05$). The levels of TGF- β serum decreased in treatment group 2 (0,53+0,00) ng/ml and treatment group 3 (0,53+0,00) ng/ml which are equally not significant.

Conclusion: The combination of RRGCG decocta could not increase the levels of TGF- β serum.

Keywords: Osteoarthritis, *Zingiber officinale* var *rubrum*, *Imperata cylindrica*, TGF- β .

*Correspondence: Dr. dr. Doti Wahyuningsih, M. Kes; Jl. MT Haryono 193, Dinoyo, Lowokwaru, Malang; (0341) 578920; doti.wahyuningsih@gmail.com

PENDAHULUAN

Osteoarthritis (OA) adalah peradangan pada sendi yang melibatkan tulang rawan, sinovial, dan tulang. Adanya OA ditandai dengan nyeri sendi, nyeri tekan, efusi, dan pada akhirnya hilangnya fungsi pada persendian¹. Seiring bertambahnya usia maka semakin besar prevalensi penderita OA, data Riset kesehatan dasar tahun 2013 menyatakan bahwa prevalensi penderita OA dengan umur 15-35 tahun adalah 7%-16,1%, Sedangkan prevalensi penderita OA dengan rentang umur diatas 55 tahun dapat mencapai 54,8%². Padahal, usia produktif banyak dimiliki oleh penduduk di kelompok usia 20-60 tahun sehingga dapat berdampak pada sosio-ekonomi negara³.

Awalnya OA diakibatkan karena adanya gangguan pada struktur, anatomi, dan fisiologis seperti degradasi tulang rawan, remodeling tulang rawan, dan lain lain. Selain itu, adanya kelainan metabolisme dan kelainan autoimun dapat menyebabkan OA. Degradasi pada tulang ini tidak diimbangi dengan sintesis tulang rawan, sehingga terjadi perubahan pada struktur tulang⁴. Selain itu umur, jenis kelamin, kebiasaan merokok, obesitas, riwayat trauma, aktifitas fisik yang berat, serta kebiasaan olahraga juga dapat mempengaruhi terjadinya OA⁵.

Inflamasi pada OA terjadi karena adanya peningkatan tajam pada sitokin katabolik seperti Interleukin-1 (IL-1) dan *Tumor Necrosis Factor- α* (TNF- α), selain itu terjadi pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS), ketiga komponen ini nantinya akan menghambat *Transforming Growth Factor- β* (TGF- β) dalam melakukan fungsinya^{1,6}. Dalam penelitian sebelumnya, TGF- β diekspresikan dalam tingkat tinggi pada tulang rawan normal namun tidak pada kartilago OA¹. TGF- β merupakan penginduksi kuat dalam menstimulasi sintesis matriks ekstrasel kartilago dan penolak yang sangat kuat dari aktivitas IL-1 dan TNF- α ⁷. Pada kartilago normal TGF- β memainkan peran penting dalam mengatur proliferasi sel, produksi kolagen dan agrekanase, dimana kolagen dan agrekanase adalah komponen utama matriks ekstraseluler⁸. Sedangkan pada kartilago OA terjadi degradasi kartilago yang disebabkan oleh adanya inflamasi, namun produksi TGF- β ikut menurun sehingga memperparah terjadinya osteoarthritis⁷.

Tata laksana OA yang telah dilakukan pada umumnya bersifat simptomatik, seperti pengendalian faktor resiko, intervensi fisioterapi, terapi farmakologis, dan jika OA fase lanjut sering diperlukan pembedahan seperti *arthroscopic debridement*, dekompresi tulang, dan lain lain⁹. Terapi farmakologis yang biasanya dipakai adalah *Non-Steroid Anti-Inflammatory Drugs* (NSAIDs) oral atau injeksi kortikosteroid, dan biasanya obat ini digunakan untuk mencegah terjadinya kerusakan permanen, berfokus mengurangi nyeri namun tidak menyembuhkan¹⁰. Padahal, penggunaan NSAIDs dan kortikosteroid memiliki efek samping yang

berat bagi penderita seperti terjadinya penurunan laju pembentukan tulang¹¹. Sehingga diperlukan terapi lain yang dapat mencegah terjadinya kerusakan permanen OA serta aman untuk penggunaan jangka panjang.

Adapun terapi alternatif yang digunakan di Indonesia salah satunya yaitu pemakaian herbal Jahe merah Merah (*Zingiber officinale var rubrum*) dan Alang-alang (*Imperata cylindrica*) untuk terapi OA. Senyawa aktif shogaol pada jahe merah merah mampu menstimulasi fungsi osteoblast lewat TGF-beta sehingga diharapkan *bone formation* dapat meningkat kembali, dan senyawa gingerol yang mampu menekan sitokin katabolik pro-inflamasi^{12,13}. Sedangkan rimpang alang-alang memiliki kandungan isoeugenin yang dapat menjadi anti-inflamasi dengan cara menurunkan *inducible nitric oxide synthase* (iNOS), *cyclooxygenase-2* (COX-2), dan sitokin proinflamasi¹⁴. Adapun senyawa lain seperti Flavonoid yang mampu menekan *Reactive Oxygen Species* (ROS)¹⁵. Diharapkan kombinasi jahe merah dan alang-alang juga dapat meningkatkan aktivitas sitokin anabolik yaitu TGF- β sehingga dapat menstimulasi produksi matriks ekstrasel yang berpotensi baik untuk intervensi terapeutik pada OA.

METODE

Penelitian dilaksanakan secara studi eksperimental laboratorik in vivo dengan desain penelitian *control group post test only* menggunakan hewan coba tikus galur wistar model osteoarthritis (OA) yang diberi perlakuan dengan induksi *Complete Freund's Adjuvant* (CFA).

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek kombinasi RJMA yang berpotensi untuk meningkatkan kadar TGF- β . Penelitian dilaksanakan di *Animal House* Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang (FK UNISMA), Lab Herbal Biomedik FK UNISMA, Lab Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, dan pengambilan simplisa di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional Tawangmangu (B2P2TOOT) dengan estimasi waktu penelitian selama kurang lebih 3 minggu. Penelitian ini telah disetujui secara etik oleh Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya dan diterbitkan pada tanggal 8 Januari 2019 dengan nomor 1055-KEP-UB.

Subjek Penelitian

Tikus jenis *Rattus norvegicus* berjenis kelamin jantan dengan berat badan 210-310 gram dengan usia 4 bulan sebanyak 25 ekor dilakukan aklimatisasi selama 2 minggu di laboratorium, diberi makan dan minum secara *Ad libitum*. Pembagian kelompok dilakukan dengan *random sampling* (n=5) yang terbagi menjadi kelompok negatif (KN), kelompok positif (KP), kelompok perlakuan 1 (P1), kelompok perlakuan 2 (P2), dan kelompok perlakuan 3 (P3).

Tikus Model Osteoarthritis

Hewan coba dianestesi menggunakan ketamin 0,1ml/100grBB selanjutnya diinduksi *Complete Freund's Adjuvant* (CFA) 0,1mL pada intraartikular (IA) kaki kanan tikus dengan spuit injeksi. Injeksi dilakukan dengan cara menekuk kaki kanan tikus hingga lutut terlihat kemudian injeksikan CFA secara IA^{16,17,18}. Edema merupakan salah satu gejala klinis OA yang akan nampak pada hari ke-7¹⁹.

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

Simplisia yang digunakan adalah rimpang dari tumbuhan jahe merah dan alang-alang yang telah dideterminasi oleh B2P2TOOT. Selanjutnya dibuat dengan cara dekoktasi yaitu rimpang jahe merah merah dan alang-alang direbus dengan pelarut air selama ± 30 menit pada suhu 90°C. Dosis jahe merah merah yang digunakan yaitu 9 mg/ekor tikus dalam 1 ml air (P1), dosis 18 mg/ekor tikus dalam 1 ml air (P2), dan dosis 36 mg/ekor tikus dalam 1 ml air (P3). Sedangkan dosis alang-alang yang dipakai yaitu 40 mg/ekor tikus dalam 1 ml air. Selanjutnya kedua rimpang tersebut dikombinasikan sehingga diperoleh 2 ml yang berikan sehari sekali ke tikus selama 10 hari yang diberikan secara peroral dengan menggunakan sonde dan spuit.

Pembedahan Hewan Coba dan Pengambilan Sampel Serum

Pembedahan dimulai dengan injeksi ketamin 0,1 ml/100mg/gBB pada hewan coba. Kemudian lakukan pembedahan secara vertikal mengikuti garis tengah atau linea mediana dari arah abdomen menuju thorak dengan gunting terbuka seluruhnya. Kemudian pengambilan darah menggunakan spuit ditusuk secara *intracardiac*. Setelah itu, darah disimpan dalam *vacutainer* tanpa EDTA untuk kemudian disentrifugasi pada kecepatan 4000 rpm selama 15 menit untuk

mendapatkan serum darah kemudian disimpan pada suhu -20°C.

Sampel darah dan jaringan disentrifugasi. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan kadar serum TGF- β menggunakan TGF- β ELISA Assay Kit. Pembacaan hasil kadar TGF- β menggunakan *microplate reader* dengan panjang gelombang 450 nm²⁰.

Teknik Analisa Data

Analisa data dilakukan memakai perangkat software statistik SPSS 16. Data yang diperoleh dilakukan uji normalitas dan homogenitas, kemudian didapatkan hasil data terdistribusi normal selanjutnya dilakukan uji statistik *One Way ANOVA* yang dilanjutkan dengan uji *Post hoc*, namun jika data tidak terdistribusi normal dilakukan uji statistik *Kruskal-Wallis* yang dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney*. Hasil dikatakan bermakna bila $p < 0,05$.

HASIL DAN ANALISA DATA

Karakteristik Sampel

Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus wistar (*Rattus norvegicus*) dengan jenis kelamin jantan berumur sekitar 4 bulan yang memiliki berat badan awal sekitar 210-310 g. Kemudian tikus ini diinduksi dengan *Complete Freund's Adjuvant* (CFA)

Setiap kelompok berjumlah 5 ekor tikus yang diaklimatisasi selama 14 hari. Kelompok kontrol normal (KN) tidak diberi injeksi CFA 0,1 ml dan pada KN serta kelompok kontrol positif (KP) tidak diberikan kombinasi herbal. **Tabel 1.**

Efek Pemberian Induksi CFA pada Lutut Tikus OA

Untuk melihat efek pemberian induksi CFA dilakukan penilaian pada lutut tikus wistar jantan, yaitu dari penurunan aktivitas dan edema lutut. Pada hari ke-tiga pasca injeksi CFA, tikus tidak dapat menggunakan kaki kanannya untuk berjalan dan aktivitas tikus mulai menurun. Pada penelitian ini dilakukan 4 kali pengukuran.

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
Scoring edema lutut hari ke-5	0	1	1	1	1
Scoring edema lutut hari ke-10	0	1	1	1	1
Delta edema lutut hari ke-19	0	1	0	1	1
Dosis KDRJMA	-	-	(9 + 40) mg	(18+40) mg	(36+40) mg
Jumlah	5	5	5	5	5

Keterangan : Data dalam mean $\pm$ SD. Kelompok Kontrol Negatif (KN); Kelompok Kontrol Positif (KP); Perlakuan Dosis 1 (0,9+40)mg (P1); Perlakuan Dosis 2 (1,8+40)mg (P2); Perlakuan Dosis 3 (3,6+40)mg (P3).

Pengukuran pertama dilakukan sebelum injeksi CFA sebagai acuan normal diameter lutut tikus. Setelah 5 hari injeksi CFA dilakukan pengukuran kedua, hasilnya terdapat peningkatan diameter lutut pada KP, P1, P2, dan P3 sekitar 0,1-2 mm dengan skor edema 1.

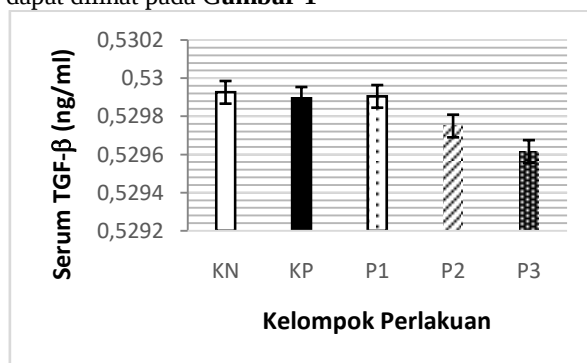
Adapun beberapa sampel mengalami peningkatan diameter 2,1-4 mm dengan skor edema 2. Kemudian pengukuran ketiga dilakukan 10 hari setelah injeksi CFA atau setelah pemberian herba pada KP, P1, P2, dan P3 didapatkan peningkatan diameter dengan skor 1-2. Kemudian pada hari ke-15 setelah induksi CFA diameter lutut pada tikus mulai menurun, sehingga tidak didapatkan perbedaan yang signifikan terhadap tikus KN. Dilihat dari pengukuran edema lutut tikus wistar jantan pada yang kemudian dimasukkan ke dalam uji statistik Kruskal-wallis yang selanjutnya dilanjutkan dengan uji Man-Whitney.

Berdasarkan data kelompok didapatkan bahwa pada pengukuran diameter lutut tikus hari ke-5 terjadi peningkatan diameter lutut tikus pada KP, P1, P2, P3 dibandingkan dengan KN. Begitu pula pada pengukuran diameter lutut tikus hari ke-10 terjadi peningkatan diameter lutut tikus pada KP, P1, P2, P3 dibandingkan dengan KN. Sedangkan pada hari ke-19, diameter lutut tikus pada P1 dan P2 mengalami peningkatan dibandingkan dengan KP. Sedangkan P1 menurun dibandingkan dengan KP.

Selain itu, efek klinis yang dapat dilihat yaitu dengan foto rontgen genu AP tikus wistar jantan pada kelompok kontrol normal (KN) ditemukan perbedaan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif (KP). Pada KP terlihat adanya penyempitan celah sendi serta terdapat gambaran opaque (putih) yang menyerupai osteofit. Kemudian dilakukan pemeriksaan histopatologi lutut dengan pewarnaan *hematoxyline eosin* (HE) yang menunjukkan adanya kerusakan jaringan sinovial pada KP dibandingkan dengan KN (Data tidak dipublikasi).

Efek Pemberian Kombinasi Dekokta RJMA Terhadap Kadar Serum TGF- β Tikus OA karena CFA

Data hasil kadar serum TGF- β tikus OA dapat dilihat pada Gambar 1



Gambar 1 Histogram Kadar TGF- β Tikus OA karena induksi CFA dan Diberi Kombinasi Dekokta RJMA

Keterangan : Gambar 1 menunjukkan rerata $\pm$ standar deviasi (SD) kadar serum TGF- kelompok kontrol normal (KN) 0,53 $\pm$ 0,00; kelompok kontrol positif (KP) 0,53 $\pm$ 0,00; kelompok perlakuan 1 (P1) 0,53 $\pm$ 0,00; kelompok perlakuan 2 (P2) 0,53 $\pm$ 0,00; dan kelompok perlakuan 3 (P3) 0,53 $\pm$ 0,00.

Karena data terdistribusi normal dan homogen, sehingga dianalisa dengan uji statistik One Way Anova dan menunjukkan perbedaan yang signifikan. Dilanjutkan dengan uji Post Hoc untuk mengetahui perbedaan antar dua kelompok. Dari uji tersebut, menunjukkan bahwa kadar TGF- β serum tikus wistar jantan pada KP menurun namun tidak signifikan ($p > 0,05$) dibandingkan dengan KN. Pemberian kombinasi dekokta RJMA pada P1 (0,9+40)mg mampu meningkatkan kadar TGF- β serum namun tidak signifikan ($p > 0,05$) dibandingkan dengan KP. Pada P2 (1,8+40)mg terjadi penurunan kadar nitrat serum, namun tidak signifikan ($p > 0,05$) dibandingkan dengan KP. Pada P3 (3,6+40)mg penurunan juga tidak signifikan ($p > 0,05$) dibandingkan dengan KP.

Pada perlakuan 1 mengalami penurunan yang signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan P3. Sedangkan P2 dibandingkan dengan P1 dan P3 mengalami penurunan yang tidak signifikan ($p > 0,05$).

PEMBAHASAN

Karakteristik Sampel

Hewan coba yang digunakan adalah tikus *Rattus norvegicus* galur wistar jantan, dengan berat badan 210-310 gram dengan usia 4 bulan yang diinduksi dengan *Complete Freund's Adjuvant* (CFA). Penelitian ini menggunakan tikus wistar karena mudah didapat dan pemeliharaannya tidak sulit. Tikus wistar (*Rattus norvegicus*) digunakan karena berdasarkan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa tikus putih ini merupakan tikus yang memiliki kerentanan mengalami artritis dengan model Adjuvant Induced Arthritis (AIA)²¹. Selain itu tikus wistar memiliki ukuran badan yang relatif besar sehingga dapat dengan mudah diamati perubahan edema pada lutut tikus. Pemilihan tikus ini juga disebabkan karena tikus jenis ini memiliki struktur DNA yang mirip manusia dan cepat beradaptasi dengan kondisi laboratorium²². Penelitian ini menggunakan tikus dengan jenis kelamin jantan karena tikus betina memiliki hormon estrogen mampu mempengaruhi metabolisme osteoblas dan osteoklas, dimana penurunan estrogen dapat meningkatkan osteoklas sehingga terjadi degradasi tulang²³.

Penelitian ini menggunakan tikus dengan usia 4 bulan, jika dikonversikan ke usia manusia menjadi 40 tahun. Hal ini berdasarkan konversi usia manusia ke tikus dimana 10 tahun kurun waktu manusia sama dengan 1 bulan kurun waktu tikus²⁴. Dimana usia 40 tahun merupakan usia produktif

pada manusia yang telah memasuki fase degeneratif yang merupakan faktor risiko utama etiologi OA²⁵.

Menurut penelitian sebelumnya dosis 0,1 ml CFA dapat memberikan efek arthritis pada tikus Sprague-Dawley yang diinjeksikan secara intraartikular pada lutut¹⁶. Penilaian kondisi osteoarthritis pada hewan coba dilakukan dengan pengukuran edema yang terjadi pada lutut kanan tikus menggunakan *micrometer screw* dalam satuan milimeter²⁶. Pada penelitian ini, gejala klinis arthritis mulai tampak pada hari ke-5 pasca injeksi CFA. Tikus juga mengalami penurunan fungsi pada kaki kanannya untuk berjalan dan aktivitas tikus mulai menurun. Selain itu dilakukan juga foto rontgen genu dextra AP untuk membuktikan terjadinya OA pada lutut kanan tikus.

Variabel yang digunakan pada penelitian ini adalah pengukuran diameter lutut dan TGF- β . Pengukuran diameter lutut adalah pengukuran pada lutut yang mengalami pembengkakan khususnya lutut kanan tikus yang dapat mendeteksi keberhasilan induksi CFA dalam menimbulkan arthritis. Foto rontgen pada tikus dilakukan dengan cara membandingkan tikus yang diberi induksi CFA dan tikus yang tidak diberi induksi CFA, dimana akan ditemukan penyempitan celah sendi serta penonjolan osteofit pada tikus yang sakit yaitu pada tikus yang diinduksi CFA. Sedangkan TGF- β adalah sitokin anabolik yang diperiksa menggunakan metode ELISA.

Efek Pemberian Induksi CFA

Induksi CFA menimbulkan efek pada tikus wistar dilihat dari edema, penurunan fungsi, serta foto rontgen. Injeksi CFA secara intraartikular sebanyak 0,125 ml mampu menyebabkan arthritis pada tikus. Pada tikus kami, peningkatan diameter sendi terjadi pada hari ke-5 setelah penginjeksian dosis 0,1 ml CFA. Pengukuran diameter lutut tikus menggunakan *micrometer screw* dalam satuan milimeter²⁴.

Adanya peningkatan diameter lutut kanan pada tikus disebabkan karena adanya pembengkakan yang merupakan salah satu tanda inflamasi. Pembengkakan ini diperoleh dari mycobacterium pada CFA yang mampu menstimulasi pengeluaran sitokin inflamasi¹⁴. Selain itu tanda inflamasi lainnya pada tikus ini adanya penurunan fungsi, yaitu penurunan aktivitas penggunaan kaki kanan tikus setelah diinjeksi CFA yang kemudian membaik setelah hari ke-15.

Pada penelitian sebelumnya, pembengkakan bertahap terjadi pertama kali pada hari ke-7 setelah injeksi CFA. Dan setelah hari ke-21 tidak didapatkan perbedaan tanda klinis pada kelompok kontrol normal dan kontrol positif¹⁹.

Selain itu dilakukan foto rontgen setelah hari ke-15 induksi CFA atau pemberian dekokta hari ke-6 untuk melihat terjadinya degradasi sendi pada tikus. Terjadinya degradasi ini disebabkan oleh antigen dari CFA yaitu mycobacterium yang kemudian dikenali oleh APC (antigen presenting

cell) yaitu myeloid progenitor cell (MPC)/ sel dendritik (DC) dan sel natural killer (NK). Selanjutnya antigen akan mengaktifkan CD4+ sehingga T-helper aktif. Kemudian T-helper akan mengaktifkan makrofag yang akan menghasilkan sitokin pro-inflamasi seperti IL-1 dan TNF- β yang akan meningkatkan terjadinya degradasi sendi^{28,29}. Produksi sitokin anabolik seperti TGF- β ditekan sehingga jumlahnya menurun, yang menyebabkan produksi matriks ekstraseluler juga menurun. Dimana hal ini makin memperparah degradasi sendi³¹. Hal ini didukung dengan hasil foto rontgen genu dextra AP pada tikus yang sakit terlihat adanya penyempitan celah sendi serta adanya penonjolan osteofit sedikit dan ditemukan kerusakan pada gambaran histologi jaringan sinovial (Data tidak dipublikasi). Penelitian sebelumnya menyatakan penyempitan celah sendi adalah salah satu tanda terjadinya osteoarthritis³⁰.

Pengaruh Induksi CFA terhadap TGF- β Serum

Penurunan TGF- β pada kelompok kontrol positif dapat disebabkan karena adanya proses induksi CFA yang menyebabkan terjadinya inflamasi pada kartilago lutut tikus sehingga menyebabkan adanya kerusakan pada kartilago, dimana terjadi bersama dengan penurunan reseptor TGF- β pada kartilago tikus yang sudah berumur yang menyebabkan terjadinya perkembangan OA¹⁶.

0,1 ml CFA mengandung 0,1 mg Mycobacterium yang mampu menstimulasi sitokin pro-inflamasi seperti IL-1, TNF- β , dan PGE2 yang kemudian akan memicu terjadinya degradasi²⁷. Namun, reseptor sitokin anabolik seperti TGF- β menurun pada kartilago tikus yang sudah berumur. Selain itu, pada penelitian sebelumnya menunjukkan tikus yang sudah berumur mengalami penurunan yang kuat pada ekspresi reseptor TGF- β bersamaan dengan penurunan sinyal TGF- β pada tikus model OA¹.

Penurunan yang tidak signifikan ini dapat disebabkan karena dosis CFA yang rendah, yaitu hanya 0,1 ml CFA padahal seharusnya diperlukan dosis 0,5 ml CFA untuk mendapatkan gejala inflamasi yang lebih kuat¹⁴. Sehingga induksi minimal mampu menurunkan serum TGF- β namun tidak terlalu berbeda dengan KN. Hal ini juga dapat disebabkan karena waktu pemeriksaan kadar serum TGF- β dilakukan pada minggu ke-3, dimana efek pemberian CFA sudah mulai menurun.

Efek Pemberian Kombinasi Dekokta RJMA Terhadap Kadar Serum TGF- β pada Tikus Wistar yang Diinduksi CFA

Adanya peningkatan kadar serum TGF- β pada kelompok perlakuan 1 menunjukkan bahwa kandungan zat aktif shogaol pada jahe merah mampu meningkatkan produksi TGF- β . Produksi TGF- β ini dapat menghambat produksi IL-1 dan TNF- α , juga dapat meningkatkan produksi matriks ekstraseluler. Peningkatan yang tidak signifikan

pada kelompok perlakuan 1 terjadi karena pemeriksaan kadar TGF- β dilakukan pada minggu ke-3. Pada penelitian sebelumnya dijelaskan bahwa efek CFA akan menurun pada minggu ke-3, sehingga kadar TGF- β pada KP sudah mulai sembuh sehingga P1 meningkat namun tidak signifikan³¹. Jika menggunakan induksi lain seperti MIA (*Monosodium Iodo-Asetat*) atau yang lainnya, kemungkinan perubahan kadar TGF- β menjadi signifikan karena patofisiologi OA terjadi lebih lama tanpa perlu dilakukan *booster*³¹.

Sedangkan, terjadinya penurunan TGF- β pada kelompok perlakuan 2 dan kelompok perlakuan 3 dapat disebabkan karena kerusakan yang terjadi sudah permanen, hal ini disebabkan karena tikus sudah berumur sehingga mengalami penurunan pada ekspresi reseptor TGF- β serta penurunan sinyal TGF- β ³². Selain itu, TGF- β merupakan penolak kuat sitokin pro-inflamasi seperti IL-1 dan TNF- α ¹. Hal ini didukung oleh data hasil penelitian pada mediator inflamasi pada penelitian ini berupa IL-1 dan TNF- α yang mengalami penurunan, sehingga TGF- β tidak mengalami peningkatan karena IL-1 dan TNF- α sudah mampu ditekan oleh kombinasi dekokta RJMA (data tidak dipublikasi).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan pada penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa kombinasi dekokta RJMA tidak mampu meningkatkan kadar serum TGF- β tikus OA yang diinduksi CFA. Namun, kombinasi dekokta RJMA dapat menjadi salah satu pilihan terapi OA pada individu yang sudah tidak mampu memproduksi TGF- β .

SARAN

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

1. Melakukan penelitian lanjutan dengan mengevaluasi metode penelitian menggunakan *pre test post test control group design*.
2. Melakukan penelitian lain model OA dengan injeksi selain CFA seperti *Monosodium Iodo-Asetate* (MIA).

UCAPAN TERIMAKASIH

Peneliti mengucapkan terimakasih kepada IOM dan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang yang telah memberikan dana penelitian, dan tim penelitian yang telah membantu pada penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Blaney Davidson EN, Vitters EL, van der Kraan PM, van den Berg WB. Expression of TGF-beta and the TGF-beta signaling molecule SMAD-2P in spontaneous and instability-induced osteoarthritis Role in

- cartilage degradation, chondrogenesis and osteophyte formation. *Ann Rheum Dis*. 2006.
2. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI. Riset Kesehatan Dasar 2013. Jakarta : Kemenkes RI. P.94-99. 2013.
3. Badan Pusat Statistik [BPS]. Statistik Indonesia Tahun 2016. Jakarta Pusat : Badan Pusat Statistik. P.75-117. 2016.
4. Cooper C, Adachi JD, Bardin T, Berenbaum F, Flamion B, Jonsson H, *et al*. How to define responders in osteoarthritis. *Curr Med Res Opin*. 2013. 29:719-729. 2013.
5. Maharani, Eka Prawati. Faktor-Faktor Risiko Osteoarthritis Lutut [Tesis]. Semarang (ID): Program Studi Magister Epidemiologi. Universitas Diponegoro. 2007.
6. Helfrich, Y.R., Sachs, D.L. and Voorhees, J.J. Overview of Skin Aging and Photoaging. *Dermatology Nursing*, 20, 177-183. 2008.
7. Blaney Davidson EN, van der Kraan PM, van den Berg WB. TGF- β and osteoarthritis. Osteoarthritis and Cartilage. *Osteoarthritis Research Society International*. P. 597-604. 2007.
8. Yamanishi, Y., Boyle, D. L., Clark, M., Maki, R. A., Tortorella, M. D., Arner, E. C., *et al*. Expression and Regulation of Aggrecanase in Arthritis: The Role of TGF- β . *J immunol*. 168:1405-1412. 2002
9. Imayati, P., Kambayana, G. Laporan Kasus Osteoarthritis. Denpasar. Universitas Udayana. Kementerian Tenaga Kerja dan Transmigrasi. 2012.
10. Brandt, Kenneth D. Diagnosis and Nonsurgical Management of Osteoarthritis. United States of America: Medical Publishing Company. 2005.
11. Yao S, McCarthy PL, Dunford LM, Roy DM, Brown K, Paplham P, *et al*. High prevalence of early-onset osteopenia/osteoporosis after allogeneic stem cell transplantation and improvement after bisphosphonate therapy. *Bone Marrow Transplant*. 41:393–398. 2008.
12. Haghighi, M., Khalvat, A., Toliati, T., dan Jallaei, S., Comparing The Effects Of Ginger (*Zingiber Officinale*) Extract And Ibuprofen On Patients With Osteoarthritis. *Archives of Iranian Medicine*. 8: 267 – 71. 2005.
13. Chen CY, Cheng KC, Chang AY, Lin YT, Hseu YC, Wang HM. 10-Shogaol, an Antioxidant from *Zingiber officinale* for Skin Cell Proliferation and Migration Enhancer. *International Jurnal of Molecular Scienses*. 13. pp.1763-1777. 2012.
14. An HJ, Nugroho A, Song BM, Park HJ. Isoeugenin, a novel nitric oxide synthase inhibitor isolated from the rhizomes of *imperata cylindrica*. *Molecules*. 20. pp. 21336–21345. 2015.
15. 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. Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang. 2018.
16. Koo ST, Lee CH, Choi H, Shin YI, Ha KT, Ye H, *et al.* The effects of pressure on arthritic knees in a rat model of CFA-induced arthritis. *Pain Physician*, 16, E95-102. 2013.
 17. Institutional Animal Care and Use Committee Policy, Guidelines, and S. O. P. Administering Complete Freund's Adjuvant (CFA) and other Adjuvant, 1–6. 1997.
 18. Lewis, H. R., & Strain, R. Protocol for Adjuvant-Induced Arthritis (AIA) in Rats, 344, 2–5. 2017.
 19. Robin DMC. Establishment of a Rat Model of Temporomandibular Joint Osteoarthritis Using Intraarticular Injection of Complete Freund's Adjuvant. P.190–3. 2016.
 20. Bioassay Technology Laboratory. Rat Transforming Growth Factor Beta 1 ELISA. 2019.
 21. Kohashi O, Pearson CM, Beck FW, Alexander M. Effect of oil composition on both adjuvant-induced arthritis and delayed hypersensitivity to purified protein derivative and peptidoglycans in various rats strains. *Infect Immun* 1977;17:244-9.
 22. Udin, M. F. Pengaruh Pemberian Vaksin LDL yang Dioksidasi Kombinasi dengan Adjuvan TT terhadap Immunoglobulin-G Arteri Renalis. Tesis Program Studi Biomedik Kekhususan Immunologi Universitas Brawijaya. Malang. 2005.
 23. Ganong, William F. Fisiologi Kedokteran. Edisi 22. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. 2008.
 24. Djari P. Pengaruh Pemberian Antioksidan Likopen, Kareton dan Vitamin C dalam Melawan Sinar UV. Artikel Penelitian Bagian Biokimia UMM. Malang (ID): UMM Press. 2008.
 25. Pay Y.C., Rymer W.Z., Chang R.W., Sharma L. Effect of Age and Osteoarthritis on Knee Proprioception. *Arthritis Rheumatology*. 40 : 2260 – 2265. 1997
 26. Khan, H. M., Ashraf, M., Hashmi, A. S., Ahmad, M. U. D., dan Anjum, A. A. Clinical assessment of experimentally induced osteoarthritis rat model in relation to time. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 22, 960–965. 2012.
 27. 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. 5:2.2016.
 28. Flesch, I.E., Hess, J.H., Huang, S., Aguet, M., Rothe, J., Bluethmann, H. dan 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*. 181. pp 1615-1621. 1995.
 29. Billiau, A and matthys, P., Modes of action of Freund's adjuvants in experimental models of autoimmune diseases. *Journal of leukocyte biology*. 70,pp.849-860. 2001.
 30. Kellgren, J.H., Lawrence, J.S. Radiological Assesment of Osteoarthritis. *Ann rheum dis*. 16:494-502. 1957.
 31. Fernihough J, Gentry C, Malcangio M, Fox A, Rediske J, Pellas T, *et al.* Pain related behaviour in two models of osteoarthritis in the rat knee. *Pain*;112:83–93. 2004.
 32. Blaney Davidson EN, Scharstuhl A, Vitters EL, van der Kraan PM, van den Berg WB. Reduced transforming growth factor-beta signaling in cartilage of old mice: role in impaired repair capacity. *Arthritis Res Ther*. 7:R1338e47. 2005.