

PENGARUH KOMBINASI DEKOKTA *Zingiber officinale var rubrum* DAN *Imperata cylindrica* TERHADAP KADAR TNF- α SERUM TIKUS OSTEOARTRITIS

Arinta Maipa Diapati*, Merlita Herbani*, Doti Wahyuningsih*

*Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

Email koresponden: doti.wahyuningsih@gmail.com

ABSTRAK

Pendahuluan: Osteoarthritis (OA) merupakan penyakit sendi kronik dan degeneratif yang menyebabkan kerusakan tulang rawan persendian. Kerusakan sendi pada pasien OA terjadi akibat peningkatan sitokin proinflamasi, sitokin proinflamasi utama yang berperan dalam patogenesis OA adalah *tumor necrosis factor alpha* (TNF- α). Pengobatan OA saat ini hanya untuk mengurangi gejala yang memiliki efek samping dalam jangka panjang sehingga diperlukan alternatif pengobatan yang salah satunya menggunakan herbal. Jahe merah (*Zingiber officinale var rubrum*) dan alang-alang (*Imperata cylindrica*) (RJMA) memiliki efek antiinflamasi dan antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi kombinasi RJMA sebagai terapi OA dengan mengukur TNF- α serum tikus OA yang menerima RJMA.

Metode: Tikus Wistar jantan usia 4 bulan dibagi menjadi 5 kelompok (N=5) yaitu kelompok kontrol negatif (KN), kelompok kontrol positif (KP), kelompok perlakuan 1 dosis 9+40 mg/ekor/hari (P1), kelompok perlakuan 2 dosis 18+40 mg/ekor/hari (P2), dan kelompok perlakuan 3 dosis 36+40 mg/ekor/hari (P3). Tikus model OA dibuat dengan induksi *Complete Freund's Adjuvant* (CFA) 0,1 ml/ekor secara intraartikular lutut kanan. Kombinasi dekokta RJMA diberikan selama 10 hari sejak munculnya tanda OA. Tikus dibedah lalu darah diambil tepat di jantung tikus, darah disimpan lalu dimasukkan pada alat *centrifuge* untuk mendapat serum darah. Kadar TNF- α serum diukur dengan *TNF- α ELISA Kit*. Analisis data menggunakan *One Way Anova* dilanjutkan dengan uji *Post Hoc*. Hasil dinyatakan signifikan jika $p < 0.05$.

Hasil: Kombinasi dekokta RJMA pada kelompok perlakuan 1 ($0,28 \pm 0,0$), perlakuan 2 ($0,28 \pm 0,01$) dan kelompok perlakuan 3 ($0,27 \pm 0,0$) mampu menurunkan kadar TNF- α serum secara signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan dengan KP, tanpa didapatkan efek dosis dependen.

Kesimpulan: Pemberian kombinasi dekokta RJMA pada dosis 9+40 mg/ekor/hari (P1), 18+40 mg/ekor/hari (P2) dan 36+40 mg/ekor/hari (P3) mampu menurunkan kadar TNF- α serum tikus OA.

Kata Kunci: Osteoarthritis, Jahe Merah, Alang-Alang, TNF- α .

THE EFFECTS OF COMBINATION OF *Zingiber officinale var rubrum* AND *Imperata cylindrica* DECOCTION ON THE LEVEL OF TNF- α IN OSTEOARTHRITIC RATS

Arinta Maipa Diapati*, Merlita Herbani*, Doti Wahyuningsih*

*Faculty of Medicine, University of Islam Malang

Corresponding email: doti.wahyuningsih@gmail.com

ABSTRACT

Introduction: Osteoarthritis (OA) is a chronic and degenerative joint disease due to damage of cartilage in the joints. Joint damage in OA patients occurs due to an increase in proinflammatory cytokines, *tumor necrosis factor alpha* (TNF- α) is a major pro-inflammatory cytokine that plays a role in the pathogenesis of inflammation in OA. Current OA drugs have side effects if are used long term. Therefore, alternative treatments are needed. Red ginger (*Zingiber officinale var rubrum*) and cogon grass (*Imperata cylindrica*) have anti-inflammation and antioxidant effects. This research aimed to know the potential of the combination of RGCG as OA therapy by measuring serum TNF- α of OA rats.

Methods: Male Wistar rats aged 4 months divided into 5 groups (N=5), namely negative control group (KN), positive control group (KP), first treatment with dose 9+40 mg/rat/day (P1), second treatment with dose 18+40 mg/rat/day (P2), and third treatment with dose 36+40 mg/rat/day (P3). Rats were induced with Complete Freund's Adjuvant (CFA) 0.1 ml/rat intraarticular on the right knee. The administration of the combination of RGCG is given for 10 days. Rats were dissected then blood was taken in the rat's heart, the blood was stored then put in a centrifuge to get blood serum. The serum TNF- α level was assessed by TNF- α ELISA Kit. Data analyzed using One Way ANOVA followed by the Post Hoc test. The result is significant if $p < 0.05$.

Result: Combination of RGCG at dose ($0,28 \pm 0,01$), second treatment dose 18+40 mg/rat/day ($0,28 \pm 0,01$) and third treatment dose 36+40 mg/rat/day ($0,27 \pm 0,01$) are able to decrease the serum TNF- α level significantly ($p < 0,05$) compared with KP, without dependent dose effect.

Conclusion: The given doses of the combination of Red Ginger Rhizome and Cogon Grass dose 9+40 mg/rat/day (T1), 18+40 mg/rat/day (T2) and 36+40 mg/rat/day (T3) are able to decrease the serum TNF- α level of OA rats.

Keywords: Osteoarthritis, Red Ginger, Cogon Grass, TNF- α .

PENDAHULUAN

Osteoarthritis (OA) merupakan penyakit kronis degeneratif yang menyebabkan kerusakan kartilago sendi terutama pada sendi lutut dan panggul karena proses degeneratif sehingga terjadi perubahan patologi struktur sendi¹. Prevalensi penderita OA di Indonesia sebanyak 24,7% dari jumlah penduduk^{1,2}, kerusakan sendi pada pasien OA terjadi akibat peningkatan sitokin proinflamasi, sitokin utama yang berperan dalam patogenesis inflamasi pada OA adalah *tumor necrosis factor alpha* (TNF- α)³. TNF- α mempunyai beberapa fungsi dalam proses inflamasi⁴, yaitu dapat merangsang molekul adhesi dari sel leukosit serta menginduksi sel endotel pembuluh darah, sehingga dapat ditemukan TNF- α dalam darah^{4,5}.

Terapi OA saat ini hanya dapat mengurangi nyeri, memperbaiki fungsi gerak dan sendi bukan menyembuhkan. Selama ini obat-obatan seperti NSAID dan kortikosteroid sering digunakan. Penggunaan jangka panjang obat tersebut memiliki efek samping seperti ulkus peptikum, osteoporosis, eritema, dan nyeri kepala⁶. Oleh karena itu, diperlukan alternatif pengobatan lain dengan memanfaatkan keanekaragaman hayati yang banyak terdapat di Indonesia diantaranya jahe merah dan alang-alang.

Jahe merah (*Zingiber officinale* var *rubrum*) mengandung senyawa fenolik yaitu *shogaol* dan *6-gingerol*, Zat ini dapat menghambat TNF- α secara langsung maupun menghambat peningkatan *nuclear factor kappa B* (NF-KB) yang berhubungan dengan pembentukan sitokin proinflamasi^{7,8}. Sedangkan Alang-alang (*Imperata cylindrica*) memiliki kandungan senyawa fenolik seperti isoguenin, asam ferulat, asam p-coumaric, genistein dan flavonoid, kandungan isoguenin pada alang-alang dapat mengurangi ekspresi dari TNF- α ⁹. Menurut Pochazkova *et al* (2015) kandungan flavonoid yaitu flavonol pada alang-alang dapat meredam radikal bebas. Radikal bebas yang turun akan mencegah terjadinya stres oksidatif akibat *Reactive Oxygen Species* (ROS)¹⁰, selain itu genistein yang merupakan senyawa isoflavon pada alang-alang juga terbukti dapat menghambat produksi TNF- α ¹¹.

Sampai saat ini belum ada penelitian yang melaporkan efek kombinasi kedua herbal tersebut terhadap pengobatan OA. Oleh sebab itu, peneliti ingin melakukan penelitian mengenai potensi kombinasi rimpang jahe merah dan alang-alang sebagai terapi OA dengan mengamati TNF- α serum tikus.

METODE

Desain, Tempat, dan Waktu Penelitian

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. 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, pada tanggal 8 Januari 2019.

Subjek Penelitian

Tikus Wistar jantan (*Rattus norvegicus*) berusia 4 bulan dengan berat badan 210-310 gram. Tikus dipilih secara acak dan dikelompokkan menjadi 5 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif (KN, n=5), kelompok kontrol positif (KP, n=5), kelompok perlakuan 1 dosis 9+40 mg (P1, n=5), kelompok perlakuan 2 dosis 18+40 mg (P2, n=5), kelompok perlakuan 3 dosis 36+40 mg (P3, n=5). Sebelum diberi perlakuan, tikus diaklimatisasi selama 14 hari dan diberi makan dan minum *ad libitum*.

Pembuatan Tikus Model Osteoarthritis

Tikus dianastesi terlebih dahulu menggunakan ketamin 0,1 ml/gBB secara intramuskular, lalu diinduksi CFA 0,1 ml/tikus secara intraartikular pada lutut kanan tikus hingga menembus kapsul sendi.

Adanya peningkatan diameter sendi lutut menunjukkan adanya inflamasi diukur dengan menggunakan *micrometer screw* satuan milimeter. *Scoring* peningkatan diameter sendi ditentukan berdasarkan penelitian Khan *et al* (2012) dimana peningkatan <0,1mm=0; 0,1mm-2mm= 1; 2,1mm-4mm=2; 4,1mm-6mm=3¹².

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

Dekokta herbal dibuat dengan cara merebus simplisia rimpang jahe merah dan alang-alang pada wadah yang berbeda dengan suhu 90°C selama 30 menit dan kemudian disaring. Dosis efektif jahe pada manusia sebagai antiinflamasi sebesar 500 mg, 1000 mg, dan 2000 mg¹³, dosis tersebut dikonversi menggunakan faktor konversi 0,018¹⁴, 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 mg¹⁵. Kombinasi RJMA diberikan pada 3 kelompok dosis perlakuan yaitu dosis 1 (9+40 mg/ekor/hari), dosis 2 (18+40 mg/ekor/hari), dosis 3 (36+40 mg/ekor/hari) yang akan disondekan sehari sekali ke tikus selama 10 hari setelah gejala muncul pasca injeksi CFA.

Pengambilan Sampel Serum Tikus

Sebelum dilakukan pembedahan, tikus diinjeksi ketamin 0,1ml/100gBB secara intramuskular. Keempat ekstremitas tikus difiksasi dengan jarum dan dibedah dengan *scalpel* diawali dari *linea mediana* abdomen menuju toraks, sampai seluruh bagian terbuka seluruhnya, kemudian darah diambil dengan menggunakan spuit tepat di jantung tikus (*intracardiac*)¹⁶. Darah disimpan dalam tabung tanpa *Ethylenediaminetetraacetic acid* (EDTA) untuk

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 RJMA	-	-	(9 + 40) mg	(18+40) mg	(36+40) mg
Jumlah	5	5	5	5	5

Keterangan : Data dalam rerata ± standar deviasi (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 perlakuan³⁴.

kemudian dimasukkan pada alat *centrifuge* dengan putaran 3000 rpm selama 10 menit untuk mendapat serum darah.

Pemeriksaan Kadar TNF- α Serum

Pemeriksaan kadar TNF- α serum menggunakan Rat TNF- α ELISA Kit dari Bioassay Technology Laboratory, China. Serum yang didapat dari *centrifuge* dibaca menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 450 nm.

Teknik Analisa Data

Analisa normalitas menunjukkan data yang normal dan homogen sehingga 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.

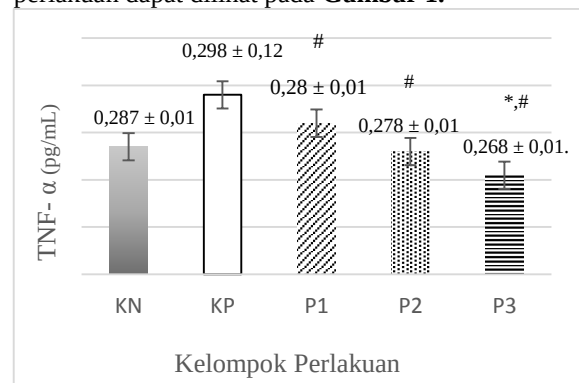
HASIL PENELITIAN

Karakteristik Sampel

Penelitian ini menggunakan hewan coba *Rattus norvegicus* galur Wistar jantan berusia 4 bulan dengan berat badan 210-310 gram yang diinduksi *Complete Freund's Adjuvant* (CFA). Karakteristik sampel dapat dilihat pada **Tabel 1**.

Kadar TNF- α Serum Tikus Wistar Jantan Model Osteoarthritis

Hasil rerata kadar TNF- α serum terhadap pemberian kombinasi dekoka RJMA pada tikus OA karena induksi CFA pada kelompok kontrol dan perlakuan dapat dilihat pada **Gambar 1**.



Gambar 1. Rerata Kadar TNF- α Serum Tikus Wistar Jantan Sehat (KN), Tikus OA (KP), dan Tikus OA Yang Menerima Kombinasi Dekoka RJMA (P1, P2, P3).

Keterangan : Hasil rerata ± standar deviasi (SD) kadar TNF- α serum kelompok kontrol negatif (KN) 0,287 ± 0,01 ; kelompok kontrol positif (KP) 0,298 ± 0,12 ; Perlakuan 1 (P1) 0,280 ± 0,01 ; Perlakuan 2 (P2) 0,278 ± 0,01 ; dan Perlakuan 3 (P3) 0,268 ± 0,01. Notasi * menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan dengan KN, notasi # menunjukkan perbedaan signifikan dibandingkan dengan KP.

Induksi CFA dapat meningkatkan kadar TNF- α serum tetapi tidak signifikan ($p>0,05$). Perbedaan yang signifikan ($p<0,05$) terjadi pada P3 terhadap KN. Pemberian kombinasi dekokta RJMA pada kelompok P1, P2, dan P3 menunjukkan bahwa KP mampu menurunkan kadar TNF- α secara signifikan ($p<0,05$) dibandingkan dengan KN. Dan tidak didapatkan perbedaan signifikan antara kelompok perlakuan P1, P2, dan P3.

PEMBAHASAN

Karakteristik sampel

Penelitian ini menggunakan tikus *Rattus novvergicus* 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 perawatannya¹⁷. Tikus galur wistar memiliki kerentanan mengalami artritis pada model *Adjuvant Induced Arthritis* (AIA)^{18,19}. Tikus berjenis kelamin jantan dipilih karena tidak dipengaruhi oleh faktor hormonal seperti estrogen²⁰. Estrogen berpengaruh pada osteoblas dan sel endotel. Apabila terjadi penurunan estrogen maka TGF- β yang dihasilkan osteoblas dan *nitric oxide* (NO) yang dihasilkan sel endotel akan menurun juga, sehingga menyebabkan diferensiasi dan maturasi osteoklas meningkat. Estrogen juga berpengaruh pada *bone marrow stroma cell* dan sel mononuklear yang dapat menghasilkan TNF- α , IL-6 dan M-CSF sehingga dapat terjadi OA karena mediator inflamasi ini²¹.

Penelitian ini menggunakan tikus berusia 4 bulan. Menurut Djari (2008) konversi usia manusia ke tikus yaitu 10 tahun kurun waktu manusia sama dengan 1 bulan kurun waktu tikus²². Sehingga kurun waktu 4 bulan pada tikus sama dengan 40 tahun usia manusia. 40 tahun merupakan usia produktif dan sudah memasuki fase degeneratif yang merupakan faktor resiko utama penyebab OA²³. Tikus wistar dengan berat badan 210-310 gram dipilih dengan tujuan untuk mendapatkan genu tikus yang besar sehingga mudah untuk dievaluasi.

Pengaruh Induksi CFA terhadap Kadar TNF- α

Pada Gambar 1 terlihat bahwa kadar TNF- α serum kelompok kontrol positif (KP) mengalami peningkatan dibandingkan kelompok kontrol negatif (KN) namun tidak signifikan ($p>0,05$). Peningkatan TNF- α pada kelompok kontrol positif (KP) dapat disebabkan karena proses injeksi CFA. Hal ini seperti yang diungkapkan Ogura and Kondoh (2014) yang menunjukkan bahwa injeksi CFA dapat meningkatkan kadar TNF- α pada serum dan cairan sinovial tikus²⁴. Injeksi CFA 0,1 ml mengandung 0,1 mg *Mycobacterium inaktive* yang dapat dikenali oleh makrofag, yang mampu memproduksi sitokin proinflamasi salah satunya *Tumor Necrosis Factor alpha* (TNF- α)²⁵. Selain itu, banyak sitokin yang diyakini berperan pada inisiasi destruksi sendi dihasilkan sebagai suatu produk aktivasi lokal limfosit T dan makrofag, limfosit T menghasilkan

berbagai sitokin yang dapat mendorong proliferasi dan diferensiasi sel B menjadi sel pembentuk antibodi²⁶.

TNF- α mampu mengerahkan leukosit menyebabkan destruksi sinovial, destruksi synovial menyebabkan endotel-endotel pada pembuluh darah yang ada di daerah sendi dapat menginduksi pengeluaran TNF- α , yang menyebabkan terjadinya peningkatan TNF- α di dalam darah²⁷.

CFA telah banyak digunakan sebagai model eksperimental artritis, dalam penelitian Darwish (2013) ditemukan bahwa injeksi CFA menginduksi edema kaki yang signifikan, skor artritis yang tinggi dan peningkatan jaringan NF- κ B dan TNF- α yang signifikan dibandingkan dengan kelompok normal²⁸. Pada penelitian ini kadar TNF- α serum KP mengalami peningkatan dibandingkan kelompok kontrol negatif KN namun tidak signifikan dapat dipengaruhi oleh berbagai macam faktor seperti, dosis induksi CFA yang kurang, disebutkan pada dosis CFA 0,5 ml mampu membuat OA yang lebih bermakna dibandingkan pemberian dosis 0,1 ml²⁹, hal tersebut juga dapat disebabkan karena waktu pemeriksaan serum TNF- α dilakukan pada minggu ke 3 setelah pembedahan dan pengambilan serum, dimana telah terjadi penurunan efek CFA³⁰.

Efek Pemberian Kombinasi Dekokta RJMA Terhadap Kadar TNF- α Serum dari Tikus Wistar yang Diinduksi CFA

Penurunan kadar TNF- α serum didapatkan pada setiap kelompok perlakuan. Pada kelompok perlakuan 1 (P1), kelompok perlakuan 2 (P2) dan kelompok perlakuan 3 (P3) didapatkan perbedaan yang signifikan dibandingkan dengan kontrol positif (KP) ($p<0,05$). Penurunan kadar TNF- α serum didapatkan pada pada dosis terendah yaitu pada kelompok P1 (9+40) mg, maka dosis tersebut sudah dapat menurunkan kadar TNF- α serum.

Penurunan kadar TNF- α serum disebabkan oleh kandungan jahe merah yaitu *shogaol* dan *gingerol* yang merupakan senyawa fenolik yang menekan aktivitas anti-inflamasi⁷. Zat ini menekan sitokin proinflamasi yaitu TNF- α dan IL-1 β . Dalam *synoviocytes*, senyawa ini menurunkan TNF- α yang diinduksi ekspresi TNF- α mRNA dan protein⁸. Senyawa-senyawa penting ini juga menekan sintesis prostaglandin dan leukotrien dengan menghambat jalur *cyclooxygenase-2* (COX-2) dan *lipoxigenase* (LX), yang terlibat dalam mekanisme inflamasi^{31,32}.

Alang – alang memiliki kandungan senyawa fenolik seperti isoguenin, asam ferulat, asam p-coumaric, asam caffeic, dan flavonoid. Kandungan isoguenin pada alang-alang dapat mengurangi ekspresi TNF- α ⁹. Menurut Pochazkova *et al* (2015) kandungan flavonoid pada alang-alang dapat meredam radikal bebas dengan memberi satu elektronnya kepada radikal bebas. Radikal bebas yang turun akan mencegah terjadinya stres oksidatif akibat *Reactive Oxygen Species* (ROS)¹⁰. Selain itu, genistein yang merupakan senyawa isoflavon pada alang-alang terbukti menghambat produksi TNF- α ¹¹.

Pada penelitian ini didapatkan perbedaan yang tidak signifikan ($p > 0,05$) pada variasi dosis P1 terhadap P2 dan P3. Pada kelompok P3 juga didapatkan penurunan yang signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kontrol negatif (KN). Hal ini dapat disebabkan karena perbedaan respon maksimal reseptor yang terikat dengan senyawa herbal³³. Pada penelitian ini terbukti bahwa semakin tinggi dosis herbal maka TNF- α akan semakin menurun. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Santoso (2018) bahwa semakin tinggi dosis maka terdapat peningkatan aktivitas biologis zat aktif dari setiap herbal³⁴.

KESIMPULAN

Pemberian kombinasi ekstrak Jahe Merah (*Zingiber officinale var rubrum*) dan Alang-alang (*Imperata cylindrica*) pada dosis P1 (9+40) mg, P2 (18+40) mg, P3 (36+40) mg dapat menurunkan kadar TNF- α serum tikus OA secara signifikan, tanpa didapatkan efek dosis dependen.

SARAN

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

1. Melakukan penelitian untuk mengetahui efektifitas kombinasi dekokta RJMA pada penurunan kadar TNF- α menggunakan dosis CFA yang lebih tinggi ($> 0,1$ ml) pada tikus OA.
2. Melakukan penelitian untuk mengetahui efektifitas kombinasi dekokta RJMA pada peningkatan kadar TNF- α menggunakan dosis RJMA yang lebih rendah pada tikus OA.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada Ikatan Orang Tua Mahasiswa (IOM) FK UNISMA untuk pendanaan penelitian, semua pihak yang telah terlibat serta membantu dalam pelaksanaan penelitian ini, dan kepada dr. Rahma Triliana, M.Kes, PhD sebagai *peer reviewer* pada naskah ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Perhimpunan Reumatologi Indonesia (IRA). *Diagnosa dan Penatalaksanaan Osteoarthritis. Rekomendasi IRA Untuk Diagnosis Dan Penatalaksanaan Osteoarthritis*. 2014. Hal 2-3.
2. Soeroso , Joewono, dkk. Osteoarthritis. Sudoyo AW, Setiyohadi B, Alwi I, Simadibrata M, Setiati S, editors. *Buku ajar ilmu penyakit dalam*. 4th ed. **Jakarta: Pusat Penerbitan Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Indonesia**. 2006.
3. Kapoor, M., Martel-Pelletier, J., Lajeunesse, D., Pelletier, J-P., Fahmi, H. *Role of proinflammatory cytokines in the pathophysiology of osteoarthritis*. **Nature Reviews Rheumatology**. 2011. 7: p.33-42
4. Martel-Pelletier, J., Lajeunesse, D. & Pelletier, J. P. *Arthritis and Allied Conditions. A Textbook of Rheumatology 15th edn* (eds Koopman, W. J. & Moreland, L. W.) **Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, USA**. 2005. p. 2199–2226
5. Soeroso , Admadi. *Sitokin*. **Jurnal Oftalmologi Indonesia**. 2007. Hal 172-180.
6. Gunawan, S.G. Eds. 2012. *Farmakologi dan terapi*. Edisi 5 . **Jakarta: Badan Penerbit FKUI**. 2007. p. 232.
7. Mashhadi, N.S., Reza Ghiasvand, Gholamreza Askari, Mitra Hariri, Leila Darvishi, and Mohammad R.M. 2013. *Anti-Oxidative and Anti-Inflammatory Effects of Ginger in Health and Physical Activity: Review of Current Evidence*. **International Journal of Preventif Medicine**. 2007;14:123- 8 .
8. Grzanna R, Lindmark L, Frondoza CG. Ginger: *An herbal medicinal product with broad anti-inflammatory actions*. **Journal of Medical Food**. 2005 ;8:125- 32.
9. An, H.J., Agung Nugroho , Byong-Min Song and Hee-Juhn Park. *Isoeugenin, a novel nitric oxide synthase inhibitor isolated from the rhizomes of imperata cylindrica*. **Molecules**. 2015. 20: p.21336–21345
10. 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.
11. Damayanti, D. *Buku Pintar Tanaman Obat*. **Jakarta: Agromedia 156**. 2008.
12. 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
13. 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 Journal Pharmaceutical Sciences**. Sep; 2009. 71: 554-8.
14. Laurence, D.R., and A.L., Bacharach. *Evaluation of drug activities: pharmacometrics, 1th ed*. **Academic Press**. London. 1964.
15. Jaya, A.S. *Efek Antipiretik Infusum Batang Alang-alang (Imperata cylindrical (L) Beauv.) Penelitian Laboratorius Pada Tikus Putih (Rattus norvegicus)*. **Skripsi Thesis**. Universitas Airlangga. 2007.
16. 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: p.2
17. Widiartini, W., Siswati, E., Setiyawati, A., Rohmah, I.M., dan Prastyo, E. *Pengembangan Usaha Produksi Tikus Putih (Rattus Novergicus) Tersertifikasi Dalam Upaya Memenuhi Kebutuhan Hewan Laboratorium*.

- Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro.** 2013.
18. Kim, EY., Moudgil, KD. *The Determinants Of Susceptibility / Resistance To Adjuvant Arthritis In Rats.* **Arthritis Research & Therapy.** 2009. **11:** p. 1-9
 19. Kuyinu, E. L., Ganesh, N., Lakshmi S. N., and Cato T. L. *Animal models of osteoarthritis : classification, update, and measurement of outcomes.* **Journal of Orthopaedic Surgery and Research.** 2016. p.1–27
 20. Andini, AN., Ardriaria, M. Pengaruh Pemberian Kombinasi Minyak Rami Dan Minyak Wijen Terhadap Kadar Trigliserida Pada Tikus Sprague Dawley Dislipidemia. **Journal of Nutrition College.** 2016. 5: p.557
 21. Ganong, William F. *Fisiologi Kedokteran Ed. 22.* **Jakarta. Penerbit Buku Kedokteran EGC.** 2008.
 22. Djari, P. Pengaruh Pemberian Antioksidan Likopen, Karoten, dan Vitamin C Dalam Melawan Sinar UV. **Artikel Penelitian Biokimia UMM.** Malang. 2008.
 23. Handajani, Roosihermatie, Maryani. Faktor-faktor yang Berhubungan dengan Pola Kematian pada Penyakit Degeneratif di Indonesia, 2010. **3:** Hal. 42-53.
 24. Ogura N, Kondoh T. *Molecular Aspects In Inflammatory Events of Temporomandibular Joint: Microarray-Based Identification of Mediators.* **Japanese Dental Sciences Review.** 2015. **51:** 10-24
 25. Roitt, IM. *Imunologi, essential immunology. Edisi 8.* **Jakarta. Widya medika.** 2003. Hal. 308-311
 26. Baratawidjaja KG, Rengganis I. *Imunologi dasar. Edisi 9.* **Jakarta. Balai penerbit FKUI.** 2010. Hal. 371-385
 27. Lipsky, B.A., Berendt, A.R., Cornia, P.B., Pile, J.C., Peters, E.J.G., et al. *Infectious Diseases Society of America Clinical Practice Guideline for the Diagnosis and Treatment of Diabetic Foot Infections.* **Clinical Infectious.** 2010. **54:** p.132-173.
 28. Samar F. Darwish, Wesam M. El-Bakly, Hossam M.Arafa, Ebtehal.El- Demerdash. *Targeting TNF-a and NF-kB Activation by Bee Venom: Role in Suppressing Adjuvant Induced Arthritis and Methotrexate Hepatotoxicity in Rats.* **Pharmacology and Toxicology Department.** 2013. p. 13.
 29. Institutional Animal Care and Use Committee Policy, Guidelines, and S. O. P. *Administering Complete Freund's Adjuvant (CFA) and other Adjuvant.* 1997. p.1–6.
 30. Robin, D.M.C. *Establishment of a Rat Model of Temporomandibular Joint Osteoarthritis Using Intrarticular Injection of Complete Freund's Adjuvant.* **Proceeding ICMHS.** 2016.
 31. Tjendraputra E, Tran VH, Liu- Brennan D, Roufogalis BD, Duke CC. *Effect of ginger constituents and synthetic analogues on cyclooxygenase- 2 enzyme in intact cells.* **Bioorganic Chemistry.** 2001. **29:** p.156- 63.
 32. Hwang, Y. H. Taesoo Kim, Rajeeong Kim and Hyunil Ha. *The natural product 6-gingerol inhibits inflammation-associated osteoclast differentiation via reduction of prostaglandin E2 levels.* **International Journal of Molecular Sciences.** **19.** 2018.
 33. Ahsan, Andi M. Efek sari biji kedelai (Glycine max), Rimpang jahe (Zingiber officinale) dan Kombinasinya terhadap Kadar Tumor Necrosis Factor Alfa (TNF- α) serum dan diameter lumen aorta tikus model Diabetes Melitus. SKRIPSI. Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang. 2018.
 34. 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.
 35. Rahman, Dedian, F. *Efek kombinasi dekokta rimpang zingiber officinale var rubrum dan imperata cylindrica terhadap kadar SOD serum dan MDA serum tikus osteoarthritis.* SKRIPSI. Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang. 2019.

