

Pengaruh Kombinasi Dekokta Rimpang *Zingiber officinale var rubrum* dan *Imperata cylindrica* Terhadap Kadar MMP-9 Serum Tikus Wistar Jantan Model Osteoarthritis

Adam Bregas Regowo, Merlita Herbani, Doti Wahyuningsih*

Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: Osteoarthritis (OA) merupakan kelainan sendi kronis yang disebabkan oleh proses degeneratif dan inflamasi yang menyebabkan kerusakan pada kartilago sendi. Pada penelitian sebelumnya diketahui rimpang jahe merah (*Zingiber officinale var rubrum*) dan rimpang alang-alang (*Imperata cylindrica*) memiliki efek antiinflamasi dan antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi Kombinasi Dekokta Rimpang Jahe Merah (*Zingiber officinale var rubrum*) dan Rimpang Alang-alang (*Imperata cylindrica*) (KDRJMA) dengan cara mengukur *Matrix Metalloproteinase-9* (MMP-9) serum tikus OA. *Matrix Metalloproteinase-9* merupakan enzim yang berperan pada destruksi rawan sendi.

Metode: 25 tikus Wistar jantan berusia 4 bulan dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok kontrol positif (KP), kelompok kontrol negatif (KN), 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 diinduksi dengan *Complete Freund's Adjuvant* (CFA) 0,1 ml/ekor pada intraartikular lutut kanan tikus untuk dibuat model OA. Pemberian KDRJMA diberikan selama 10 hari. Kadar MMP-9 serum dinilai dengan *MMP-9 ELISA Kit*. Analisis data menggunakan *One Way Anova* dilanjutkan dengan uji *Post Hoc*. Hasil dinyatakan signifikan jika $p < 0.05$.

Hasil: Tiga jenis dosis dari Kombinasi Dekokta Rimpang Jahe Merah dan Rimpang Alang-alang (KDRJMA) pada uji post hoc tidak berbeda secara signifikan. perlakuan 1 ($0,85 \pm 0,03$), perlakuan 2 ($0,86 \pm 0,02$) dan perlakuan 3 ($0,84 \pm 0,02$) mampu menurunkan kadar MMP-9 serum secara signifikan ($p < 0,05$).

Kesimpulan: Dosis optimal Kombinasi Dekokta Rimpang Jahe Merah dan Alang-alang (KDRJMA) untuk menurunkan serum MMP-9 adalah dosis 9+40 mg/ekor/hari.

Kata Kunci: Alang-Alang, Jahe Merah, Matriks *Metalloproteinase-9*, Osteoarthritis.

The Effects of Combination of *Zingiber officinale var rubrum* and *Imperata cylindrica* Decoction on the Level of MMP-9 Serum in an Osteoarthritis Male Wistar Rats

Adam Bregas Regowo, Merlita Herbani, Doti Wahyuningsih*

Faculty of Medicine University of Islam Malang

ABSTRACT

Introduction: Osteoarthritis is a damage chronic disorder caused by degenerative process and inflammation that lead to the joint cartilage. Previous research showed that red ginger rhizome (*Zingiber officinale var rubrum*) and cogon grass rhizome (*Imperata cylindrica*) had anti-inflammation and antioxidant effects. This research aimed to know the potencial of the combination of red ginger rhizome (*Zingiber officinale var rubrum*) and cogon grass rhizome (*Imperata cylindrica*) (CRGCG) by measuring the OA rats serum *Matrix Metalloproteinase-9* (MMP-9). *Matrix Metalloproteinase-9* is an enzyme that plays a role in joint cartilage destruction.

Methods: 25 male Wistar rats age 4 months divided into 5 groups namely positive control group (PC), negative control group (NC), treatment group 1 recieved dose 9+40 mg/rat/day (T1), treatment group 2 recieve dose 18+40 mg/rat/day (T2), and treatment group 3 recieve dose 36+40 mg/rat/day(T3). Rats were induced with Complete Freund's Adjuvant (CFA) by 0.1 ml/rat on right knee intraarticular to induce. The administration of CRGCG is given for 10 days. The serum MMP-9 level was assessed by *MMP-9 ELISA Kit*. Data analyzed using *One Way Anova* followed by *Post Hoc* test. The result is significant if $p < 0.05$.

Result: The Combination of Red Ginger Rhizome and Cogon Grass Rhizome (CRGCG) on the first treatment ($0,85 \pm 0,03$), second treatment ($0,86 \pm 0,02$) and third treatment ($0,84 \pm 0,02$) able to decrease the serum MMP-9 level significantly ($p < 0,05$).

Conclusion: The optimal dose from Combination of Red Ginger Rhizome and Cogon Grass Rhizome (CRGCG) to reduce serum MMP-9 level is dose 9+40 mg/rat/day.

Keywords: Cogon Grass, *Matrix Metalloproteinase-9*, Osteoarthritis, Red Ginger.

*Correspondence to:

Doti Wahyuningsih

Faculty of Medicine, University of Islam Malang

Jl. MT Haryono 193 Malang City, East Java, Indonesia, 65145

E-mail: doti.wahyuningsih@gmail.com

PENDAHULUAN

Osteoarthritis (OA) merupakan sindroma klinis dari kegagalan sendi dengan berbagai tingkat nyeri sendi, disebabkan oleh kerusakan tulang rawan artikular pada sendi sinovial¹. Riset Kesehatan Dasar tahun 2013 menunjukkan prevalensi penyakit sendi di Indonesia sebesar 24,7%. Prevalensi pada usia 45-54 tahun sebesar 37%². *American College of Rheumatology* menyebutkan bahwa proses degeneratif dan inflamasi berperan pada patogenesis OA³. Sitokin proinflamasi berupa IL-1, IL-17 dan TNF α akan merespon makrofag untuk memicu Pro-MMP, kemudian berubah menjadi *Matrix Metalloproteinase-9* (MMP-9) yang dapat menyebabkan kerusakan pada matriks ekstrasel kondrosit⁴.

Penatalaksanaan OA saat ini hanya bersifat simptomatik yaitu mengurangi nyeri, meningkatkan kualitas hidup dan memperbaiki fungsi sendi⁵. Banyaknya pilihan terapi dan kombinasi terapi pada OA dapat beresiko menimbulkan peningkatan interaksi dan efek samping obat seperti ulkus peptikum, osteoporosis, eritema, dan nyeri kepala⁶. Oleh karena itu, diperlukan terapi yang aman dan memiliki efek samping ringan untuk terapi jangka panjang. Salah satu alternatifnya menggunakan bahan alam.

Pada penelitian sebelumnya Rimpang jahe (*Zingiber officinale*) mengandung zat aktif gingerol yang dapat menghambat terbentuknya sitokin proinflamasi⁷. Penelitian lain pada hewan coba menyebutkan bahwa Isoeugenin pada alang-alang merupakan spesifik *enzim inducible nitric oxide synthetase* (iNOS) yang akan menghambat terbentuknya *Nitric Oxide* (NO) dan mencegah terbentuknya *peroxynitrite* dan kerusakan kartilago⁸. Selain itu terdapat juga kandungan flavonoid yang dapat menghambat sitokin proinflamasi seperti IL-1 dan TNF α ⁹.

Berdasarkan fakta diatas, penelitian tentang pengaruh kombinasi dekokta rimpang jahe merah (*Zingiber officinale var rubrum*) dan alang-alang (*Imperata cylindrica*) (KDRJMA) terhadap kadar MMP-9 serum dari tikus Wistar OA karena induksi *Complete Freund's Adjuvant* (CFA) perlu dilakukan.

METODE

Desain, Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan desain *control group post test only*. Penelitian dilaksanakan di *Animal House* FK Unisma sebagai tempat pemeliharaan hewan coba, Lab. Biokimia FK Unisma untuk pembuatan dekoktasi herbal dan injeksi CFA pada lutut kanan tikus dan Laboratorium *Bioscience* FK UB untuk pembedahan hewan coba dan pemeriksaan kadar MMP-9 serum. Penelitian ini dimulai pada bulan Maret hingga April 2019. Penelitian ini telah dinyatakan lulus kaji etik

oleh Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya berdasarkan penerbitan Surat Keterangan Kelaikan Etik "*Ethical Clearance*" No:1055-KEP-UB tanggal 8 Januari 2019.

Objek Penelitian

Penelitian ini menggunakan 25 tikus *Wistar* jantan (*Rattus norvegicus*) berusia 4 bulan dengan berat badan 210-310 gram. Tikus dibagi menjadi 5 kelompok yang dipilih secara acak yaitu kelompok kontrol negatif (KN, n=5), kelompok kontrol positif (KP, n=5), kelompok perlakuan 1 (KP 1, n=5), kelompok perlakuan 2 (KP 2, n=5), dan kelompok perlakuan 3 (KP 3, n=5). Tikus diaklimatisasi terlebih dahulu selama 14 hari dengan pemberian makan dan minum terstandar.

Tikus Model Osteoarthritis

Pembuatan tikus model OA dilakukan dengan menginjeksikan CFA 0,1 ml/tikus secara *intraarticular* ada lutut kanan tikus¹⁰. Sebelum diinduksi CFA, tikus dianestesi terlebih dahulu menggunakan ketamin 0,1 mL/100 g/BB secara *intramuscular* (im).

Pengamatan artritis pada tikus OA karena induksi CFA dilakukan dengan mengukur edema sendi lutut kanan tikus menggunakan *micrometer screw*. *Scoring* peningkatan edema ditentukan berdasarkan penelitian Khan (2012), dimana peningkatan <0,1mm=0; 0,1mm-2 mm= 1; 2,1mm - 4mm=2; 4,1mm-6mm=3¹¹.

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

Simplisia jahe merah irisan tipis dan potongan alang-alang direbus pada wadah terpisah dengan suhu 90°C selama 30 menit kemudian disaring. Pemberian KDRJMA dibagi dalam 3 kelompok dosis perlakuan. Dosis jahe merah yang diberikan yaitu 9 mg/tikus/hari (P1) dalam 1 ml air, 18 mg/tikus/hari (P2) dalam 1 ml air dan 36 mg/tikus/hari (P3) dalam 1 ml air. Penentuan dosis jahe berdasarkan dosis efektif jahe pada manusia sebesar 500 mg¹², 1000 mg¹³ dan 2000 mg yang dikonversikan ke dosis tikus¹⁴. Setiap dosis perlakuan (P1, P2, dan P3) dikombinasi dengan alang-alang sebanyak 40 mg/tikus/hari dalam 1 ml air¹⁵. Sehingga diperoleh 2 ml hasil kombinasi dekokta jahe merah dan alang-alang yang akan diberikan selama 10 hari.

Pengambilan Sampel Darah

Metode yang digunakan untuk mengambil darah adalah *Intracardiac Puncture*. Tikus dianestesi menggunakan ketamine dengan dosis 0,1 ml/100 g/BB secara *intra peritoneal* (ip). Tikus difiksasi dengan posisi supinasi dan dilakukan pembedahan mengikuti *linea mediana* dari abdomen menuju *thorax*. dilakukan pengambilan darah secara *intracardiac*. Fiksasi spuit dengan posisi tegak lurus dan tarik spuit

dengan hati-hati. Darah disimpan dalam tabung untuk kemudian disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 10 menit untuk mendapatkan serum darah dan disimpan pada suhu 4°C.

Pengukuran kadar MMP-9 serum

Sampel darah yang sudah *disentrifuge* kemudian dilakukan pemeriksaan kadar MMP-9 serum menggunakan MMP-9 ELISA Kit. Pembacaan hasil kadar MMP-9 serum menggunakan *microplate reader* dengan panjang gelombang 450 nm¹⁶.

Teknik Analisa Data

Uji normalitas dan homogenitas didapatkan hasil bahwa data normal dan homogeny kemudian dilakukan uji *One-way ANOVA* dan dilanjutkan uji *Post Hoc LSD*.

Tabel 1. Karakteristik Sampel²¹

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

Keterangan:

Data *scoring*. 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).

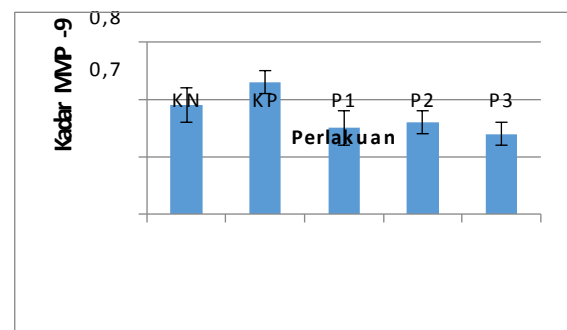
Kadar MMP-9 Serum Tikus Wistar Jantan Model Osteoarthritis

Data yang didapatkan terdistribusi normal dan homogen ($p>0,05$), data dianalisis menggunakan uji *One Way ANOVA*. Hasil rerata kadar MMP-9 serum terhadap pemberian KDRJMA pada tikus OA karena induksi CFA pada kelompok kontrol dan perlakuan dapat dilihat pada **Gambar 1**.

HASIL PENELITIAN

Karakteristik Sampel

Penelitian ini menggunakan hewan coba *Rattus novergicus* 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**.



Gambar 1. Histogram Rerata Kadar MMP-9 Serum Tikus Wistar Jantan Model Osteoarthritis yang Diberi Kombinasi Dekokta Rimpang Jahe Merah dan Alang-Alang.

Keterangan: Hasil rerata ± standar deviasi (SD) kadar serum MMP-9 kelompok kontrol normal (KN) 0,8900±0,0300; kelompok kontrol positif (KP) 0,9360±0,0270; kelompok perlakuan 1 (P1) 0,8580±0,0334; kelompok perlakuan 2 (P2) 0,8680±0,0228; dan kelompok perlakuan 3 (P3) 0,8460±0,0279. Notasi a,b,c = huruf berbeda menunjukkan perbedaan signifikan ($p<0,05$).

Dari gambar 1 didapatkan bahwa menunjukkan bahwa kadar MMP-9 serum tikus wistar jantan pada

KP terjadi peningkatan secara signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan dengan KN. Pemberian KDRJMA pada P1 (9+40)mg mampu menurunkan kadar MMP-9 serum dan signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan dengan KP. Pada P2 (18+40)mg terjadi penurunan kadar MMP-9 serum namun signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan dengan KP. Pada P3 (36+40)mg penurunan signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan dengan KP.

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)¹⁷. Selain itu tikus wistar memiliki ukuran badan yang relatif besar sehingga dapat dengan mudah diamati perubahan edema pada lutut tikus. Pemilihan tikus ini disebabkan juga karena tikus jenis ini memiliki struktur DNA yang mirip manusia dan cepat beradaptasi dengan kondisi laboratorium¹⁸. Penelitian ini menggunakan tikus dengan jenis kelamin jantan karena tikus betina memiliki hormon estrogen yang mampu mempengaruhi metabolisme osteoblas dan osteoklas, dimana penurunan estrogen dapat meningkatkan osteoklas sehingga terjadi degradasi tulang¹⁹.

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 tikus²⁰. Dimana usia 40 tahun merupakan usia produktif pada manusia yang telah memasuki fase degeneratif yang merupakan faktor resiko utama etiologi OA²¹.

Menurut penelitian sebelumnya dosis 0,1 ml CFA dapat memberikan efek artritis pada tikus *Sprague-Dawley* yang diinjeksikan secara intraartikular pada lutut¹⁷. Penilaian kondisi osteoarthritis pada hewan coba dilakukan dengan pengukuran edema yang terjadi pada lutut kanan tikus menggunakan *micrometer screw* dalam satuan millimeter²². Pada penelitian ini, gejala klinis artritis 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. Foto rontgen pada tikus dilakukan dengan cara membandingkan KN dan KP, dimana

akan ditemukan penyempitan celah sendi serta penonjolan osteofit pada KP²³.

Pengukuran diameter lutut adalah pengukuran pada lutut yang mengalami pembengkakan khususnya lutut kanan tikus yang dapat mendeteksi keberhasilan induksi CFA dalam menimbulkan artritis. Variabel yang digunakan pada penelitian ini adalah MMP-9.

Efek Pemberian Induksi CFA terhadap kondisi klinis

Induksi CFA menimbulkan efek pada tikus wistar dilihat dari edema, penurunan fungsi, serta foto rontgen yang membandingkan KN dan KP. Menurut Sung Tae Koo *et al*, 2013, injeksi CFA secara intraartikular sebanyak 0,125 ml mampu menyebabkan artritis pada tikus. Pada tikus kami, peningkatan diameter sendi terjadi pada hari ke-5 setelah penginjeksian dosis 0,1 ml CFA.

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 inflamasi. 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. Setelah hari ke-21 tidak didapatkan perbedaan tanda klinis pada kelompok kontrol normal (KN) dan kontrol positif (KP)²⁴. Oleh karena itu untuk mengurangi bias dari penelitian maka lebih baik jika CFA diberikan secara *booster* dengan tujuan agar edema karena induksi dari CFA tersebut lebih lama, dengan demikian dampak dari pemberian herbal bisa dibandingkan dengan baik. Didapatkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) pada P2 dan P3 terhadap KN. Hal ini dapat disebabkan karena bias dari hasil pengukuran edema dengan menggunakan *micrometer screw*, pengukuran edema dan pengamatan terjadinya artritis dapat dilakukan dengan menggunakan *micrometer digital* atau *weight bearing balance* (WBB) agar mendapatkan hasil yang akurat.

Pengaruh Induksi CFA terhadap MMP-9 Serum

Injeksi CFA 0,1 ml yang mengandung 0,1 mg *Mycobacterium* inaktif yang dapat menstimulasi *Myeloid Progenitor Cell* (MPC)/sel dendritik (DC) yang akan bekerja sebagai *Antigen Presenting Cell* (APC) sehingga menginduksi pengeluaran beberapa sitokin yang dapat menyebabkan terjadinya inflamasi²⁵. Produksi sitokin pro-inflamasi seperti IL-1, IL-17 dan TNF- α akan menyebabkan peningkatan dari MMP-9, dimana hal ini makin memperparah degradasi sendi.

Pada gambar 1 terlihat bahwa kadar MMP-9 kelompok kontrol positif (KP) mengalami peningkatan dibandingkan kelompok kontrol negatif (KN) disebabkan karena Induksi CFA mengandung *inactive mycobacterium* yang akan dikenali oleh *antigen presenting cell* (APC) yaitu makrofag maupun *dendritic cell*. Kemudian *mycobacterium* akan dipresentasikan dan akan membuat CD_4^+ aktif dan akan memicu terbentuknya *T-Helper*. Karena ada induksi dari *T-Helper* akan menyebabkan timbulnya sitokin pro-inflamasi seperti IL-1, IL-17, TNF α dan TGF β yang akan merangsang pembentukan radikal bebas pada jaringan. Makrofag akan merespon antigen dengan mensekresikan sitokin TNF α dan IL-1 yang dapat merangsang Pro-MMP untuk berubah menjadi lebih dari 23 jenis MMP, salah satunya MMP-9 yang melisis kolagen tipe IV (elastin dan gelatin) sehingga terjadi peningkatan MMP-9⁴.

Efek Pemberian KDRJMA Terhadap Kadar Serum MMP-9 pada Tikus Wistar yang Diinduksi CFA

Pada gambar 1 menunjukkan bahwa semua kelompok perlakuan mengalami penurunan MMP-9 serum. Perlakuan dosis 9+40 mg/ekor/hari (P1), 18+40 mg/tikus/hari dan 36+40 mg/ekor/hari (P3) mampu menurunkan kadar MMP-9 serum secara signifikan ($p < 0,05$) jika dibandingkan dengan kontrol positif (KP). Hal ini terjadi karena rimpang jahe mempunyai zat aktif gingerol yang dapat menghambat sitokin proinflamasi. Pengeluaran sitokin proinflamasi seperti *Nitric Oxide* (NO), *Interleukin-1* (IL-1), dan *Tumor Necrosis Factor* (TNF) disebabkan karena terjadinya proses degenerasi tulang rawan sendi pada OA¹⁴.

Penghambatan sitokin proinflamasi oleh zat aktif gingerol pada jahe secara tidak langsung mampu menurunkan kadar MMP-9 serum. Hal ini didukung oleh data hasil penelitian pada mediator inflamasi pada penelitian ini berupa IL-1 β dan TNF- α yang mengalami penurunan signifikan terhadap pemberian KDRJMA²⁶.

Rimpang alang-alang memiliki kandungan senyawa fenolik seperti flavonoid yang dapat menghambat akumulasi leukosit sehingga dapat menjadi anti-inflamasi dan mempunyai zat aktif berupa Isoleugenin yang secara spesifik mampu menghambat pembentukan enzim *inducible nitric oxide synthetase* (iNOS) sehingga menyebabkan penurunan *Nitric Oxide* (NO) sehingga NO tidak berikatan dengan *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang akan membentuk *peroxynitrite* dan menyebabkan destruksi kartilago²⁷.

KESIMPULAN

Dosis optimal Kombinasi Dekokta Rimpang Jahe Merah dan Alang-alang (KDRJMA) dalam menurunkan serum MMP-9 adalah dosis 9+40 mg/ekor/hari.

SARAN

1. Melakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui terjadinya OA pada tikus karena induksi CFA dengan mengevaluasi edema secara rutin menggunakan *Micrometer screw* digital atau *Weight Bearing Balance* (WBB).
2. Melakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui efek pemberian CFA untuk membuat tikus model OA dengan mengevaluasi pemberian dosis yang lebih besar atau menggunakan *booster* injeksi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada IOM FK UNISMA untuk pendanaan penelitian dan semua pihak yang telah terlibat serta membantu dalam pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Cooper, C., Adachi, J. D., Bardin, T., Berenbaum, F., Jonsson, H., Kanis, J. A., ... Lems, W. F. *How to define responders in osteoarthritis*. 2013. 29(6), 719–729.
<https://doi.org/10.1185/03007995.2013.792793>.
[How](#)
2. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI. Riset Kesehatan Dasar 2007. Jakarta: Kemenkes RI. 2013
3. Khairani, Y. Hubungan Umur, Jenis Kelamin, IMT, dan Aktivitas Fisik Dengan Kejadian Osteoarthritis Lutut. 2013. Artikel Ilmiah. Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Jambi.
4. Soeroso, J., Isbagio, H., Kalim, H., Broto, R., Pramudiyo, R. Osteoarthritis. Ilmu Penyakit Dalam. Interna Publishing. Jakarta. Indonesia. 2015
5. Guideline for the non-surgical management of hip and knee osteoarthritis. The Royal Australian College of General Practitioners. 2009.
6. Fadhilah, R.N. Studi Penggunaan Obat Pada Pasien Osteoarthritis. Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. Departemen Farmasi Klinik Surabaya. 2016. hal 5-6.
7. Haghighi M, Khalvat A, Toliati T, Jallaei S. Comparing the Effects of Ginger (*Zingiber Officinale*) Extract and Ibuprofen on Patients with Osteoarthritis. Arch Iranian Med, 2006. 8(4): 267 – 271.
8. An, H.J. Isoleugenin, a Novel Nitric Oxide Synthase Inhibitor Isolated from the Rhizomes of *Imperata cylindrica*. Molecules, 2015. 20 (12): PP. 21336-21345.
9. Leyva-López N, Gutierrez-Grijalva EP, Ambríz-Pérez DL, Basilio Heredia J. Flavonoids as cytokine modulators: A possible therapy for inflammation-related diseases. Int J Mol Sci. 2016;17(6).

10. Sung, Tae koo. The Effects of Pressure on Arthritic Knees in a Rat Model of CFA-Induced Arthritis, 2013. 16:E95-E102.
11. Khan, H.M., Ashraf, M., Hashmi, A. S., Ahmad, M.U.D., & Anjum, A. A. Clinical assessment of experimentally induced osteoarthritis rat model in relation to time. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 2012. 22 (4), 960-965.
12. Farshid Rayati, Fatemeh Hajmanouchehri, Elnaz Najafi. Comparison of anti-inflammatory and analgesic effects of Ginger powder and Ibuprofen in postsurgical pain model: A randomized, double-blind, case-control clinical trial. 2017. *Dental Research jurnal* vol 14
13. Hossein Imani., Hadi Tabibi., Iraj Najafi., Shahnaz Atabak., Mehdi Hedayati., Leila Rahmani. Effects of ginger on serum glucose, advanced glycation end products, and inflammation in peritoneal dialysis patients. *Nutrition* 31 (2015) 703–707
14. 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 Pharm Sci.* 2009. Sep;71(5):554-8.
15. 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
16. Biovision. Rat Matrix Metalloproteinase-9 ELISA KIT. China : Bioassay Technology Laboratory. 2019.
17. Chondrex. Protocol for Adjuvant-Induced Arthritis (AIA) in Rats. 2017.
18. 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.
19. Ganong, William F. Fisiologi Kedokteran. Edisi 22. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. 2008.
20. Djari P. Pengaruh Pemberian Antioksidan Likopen, Karetan dan Vitamin C dalam Melawan Sinar UV. Artikel Penelitian Bagian Biokimia UMM. Malang (ID): UMM Press. 2008.
21. Pay Y.C., Rymer W.Z., Chang R.W., et al. Effect of Age and Osteoarthritis on Knee Proprioception. *Arthritis Rheumatology*. 40 : 2260 – 2265. 1997
22. Khan, H. M., Ashraf, M., Hashmi, A. S., Ahmad, M. U. D., & Anjum, A. A. Clinical assessment of experimentally induced osteoarthritis rat model in relation to time. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 22(4), 960–965. 2012.
23. Juneja et al. A less Invasive Approach of Medial Meniscectomy in Rat: A Model to Target Early or Less Severe Human Osteoarthritis. 5:2.2016.
24. Robin DMC. ESTABLISHMENT OF A RAT MODEL OF TEMPOROMANDIBULAR JOINT OSTEOARTHRITIS USING INTRAARTICULAR INJECTION OF COMPLETE FREUND'S ADJUVANT. P.190–3. 2016.
25. 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.
26. Unpublished Data
27. Phaniendra. Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Disease. *Literatur Review*. 2013. 30(1):11-26.