

AKTIVITAS ANTIARTRITIS KOMBINASI EKSTRAK ETANOL BATANG BROTOWALI (*Tinospora cordifolia* W) DAN TANAMAN CIPLUKAN (*Physallis angulata* L) TERHADAP TIKUS YANG DIINDUKSI COMPLETE FREUND'S ADJUVANT (CFA)

Milda Rianty Lakoan¹, Gunawan Pamudji W¹, Rina Herowati¹

¹Universitas Setia Budi
Jl. Letjen Sutoyo, Mojosongo, Surakarta 57127

ABSTRAK

Arthritis adalah istilah umum bagi peradangan (inflamasi) dan pembengkakan di daerah persendian. *Rheumatoid arthritis* merupakan penyakit autoimun (penyakit yang terjadi pada saat tubuh diserang oleh sistem kekebalan tubuhnya sendiri) yang mengakibatkan peradangan dalam waktu lama pada sendi. Batang brotowali dan tanaman ciplukan diduga mempunyai khasiat sebagai antiarthritis. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efek antiarthritis ekstrak etanol batang brotowali, ekstrak etanol tanaman ciplukan dan kombinasi kedua tanaman ini pada tikus putih jantan.

Pengujian efek antiarthritis dibagi dalam 5 kelompok perlakuan, tiap kelompok diinduksi *Complete freund's adjuvant*. Kelompok pertama diberi perlakuan ekstrak batang brotowali (40 mg/200 g BB), kelompok kedua diberi ekstrak tanaman ciplukan (50 mg/200 g BB), kelompok ketiga diberi kombinasi ekstrak batang brotowali dan tanaman ciplukan (0,5:0,5), kelompok keempat diberi triamsinolon (0,072 mg/200 g BB), dan kelompok kelima diberi CMC 1 %. Parameter yang digunakan dalam penelitian ini adalah peningkatan berat badan dan penurunan volume edema yang diukur dari hari ke-0 sampai hari ke-7, parameter lain yang digunakan adalah dengan melihat adanya penurunan jumlah leukosit dan uji histopatologi yang diamati pada hari ke-12, dimana hewan uji dikorbankan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak batang brotowali, ekstrak tanaman ciplukan dan kombinasi ekstrak batang brotowali dan tanaman ciplukan memberikan efek antiarthritis bila dibandingkan dengan kontrol negatif. Kelompok kombinasi ekstrak batang brotowali dan tanaman ciplukan yang paling efektif sebagai antiarthritis ditunjukkan dengan parameter penurunan volume edema, penurunan jumlah leukosit dan adanya perbaikan profil histopatologi. Berdasarkan uji statistik ANOVA dua jalan aktivitas antiarthritis yang ditunjukkan sebanding dengan efek triamsinolon ($P > 0,05$).

Kata kunci : *Tinospora cordifolia* W, *Physallis angulata* L, ekstrak, anti-arthritis

PENDAHULUAN

Arthritis atau rematik adalah suatu penyakit sistematis yang ditandai dengan peradangan pada jaringan. Penyakit ini dapat ditemukan pada semua usia, tetapi kebanyakan dijumpai pada orang lanjut usia, penyakit ini dapat juga menyerang semua jenis kelamin tetapi kebanyakan diderita oleh wanita terutama dalam masa subur berkaitan dengan adanya hormon (Price & Wilson 1985).

Karena tingginya prevalensi pengobatan penyakit arthritis yang dapat menimbulkan peningkatan ekonomi yang meliputi biaya kesehatan, baik biaya pengobatan dan tindakan penunjang medis lainnya, serta biaya penurunan produktivitas kerja (Dipiro *et al* 2008) dan tanpa disadari penggunaan obat antiarthritis yang tidak tepat bisa menyebabkan efek samping kerusakan lambung atau saluran cerna (Makmun 2009). Hal ini memicu usaha pencarian obat yang lebih efektif dan

aman, sehingga obat tradisional menjadi salah satu terapi alternatif untuk penyakit arthritis (Long *et al* 2001).

Tanaman brotowali (*Tinospora cordifolia* W) memiliki efek farmakologis yang dapat menyembuhkan berbagai jenis penyakit yaitu bersifat sebagai analgetik, anti-inflamasi, antikoagulan, tonikum, antiperiodikum, diuretikum, dan dalam penelitian sebelumnya juga telah diteliti ekstrak etanol batang brotowali menunjukkan adanya aktivitas antiarthritis yang signifikan (Kresnady 2003; Paval *et al* 2001).

Sumber bahan obat alam lain yang dimiliki Indonesia, salah satunya adalah tanaman ciplukan (*Physallis angulata* L.) yang berkhasiat sebagai obat. Tanaman ciplukan telah diteliti sebelumnya dengan menggunakan ekstrak etanol daun ciplukan menyatakan adanya aktivitas sebagai antiarthritis dan anti-inflamasi karena adanya kandungan steroid, flavonoid dan alkaloid dengan adanya penghambatan terhadap denaturasi protein (Kumar *et al* 2011).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak tunggal batang brotowali dan ekstrak tunggal tanaman ciplukan sebagai antiarthritis dan juga pemberian kombinasi ekstrak batang brotowali dan ekstrak tanaman ciplukan yang diharapkan mempunyai aktivitas antiarthritis yang lebih baik pada kaki tikus yang ditunjukkan dengan peningkatan berat badan, persen penurunan volume edema, penurunan jumlah leukosit dan adanya perbaikan profil histopatologi.

METODE PENELITIAN

Populasi dan Sampel

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah batang brotowali dan tanaman ciplukan yang diperoleh dari pasar Gede, Surakarta, Jawa Tengah. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah batang brotowali dan tanaman ciplukan

yang diperoleh dalam kondisi kering, bersih dan tidak busuk dari salah satu toko di pasar Gede, Surakarta, Jawa Tengah.

Bahan dan Alat

Bahan penelitian ini adalah ekstrak etanol batang brotowali dan ekstrak etanol tanaman ciplukan. Bahan uji dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan dengan berat badan 180-200 gram. Bahan kimia dalam penelitian ini adalah etanol 96% sebagai pelarut untuk maserasi bahan sampel, CFA digunakan sebagai penginduksi arthritis, formal saline 10 %, alkohol 70 %, alkohol 80 %, alkohol 90 %, alkohol 95 %, alkohol 100 %, alkohol 96 %, xylol I-III, parafin, ammonium oksalat 5 %, HCl pekat, balsam kanada, aquadest, larutan *Von Ebner's*, hematoksilin dan eosin (HE) yang digunakan untuk uji histopatologi dan EDTA dan larutan hayem digunakan untuk uji leukosit.

Alat pembuatan ekstrak etanol batang brotowali dan ekstrak etanol tanaman ciplukan yaitu oven, mesin penggiling, blender, pengayak, timbangan listrik AEG-120 *Shidmadzu*, bejana maserasi, kain flanel, gelas kaca kecil, batang pengaduk, evaporator, dan *waterbath*. Alat untuk menghitung jumlah total leukosit adalah bilik hitung *neubauer chamber*. Peralatan untuk uji farmakologi yaitu timbangan tikus, jarum suntik, dan alat untuk mengukur volume edema adalah *plethysmograph*. Peralatan untuk uji histopatologi *magnetic stirrer*, dek gelas, objek gelas, mikroskop binokuler, dan mikrotom.

Jalannya Penelitian

1. Pembuatan ekstrak etanol batang brotowali dan tanaman ciplukan

Serbuk batang brotowali dan tanaman ciplukan yang sudah jadi ditimbang lalu dimaserasi dengan etanol 96 % lalu disimpan dalam botol dan kemudian ditutup, didiamkan selama 5 hari dan sering dikocok. Setelah 5 hari rendamannya diperas lalu ampasnya dibilas lagi dengan

2,5 bagian dari etanol. Hasil maserat dipekatkan dengan evaporator pada suhu dibawah 50° C sampai dihasilkan ekstrak kental.

2. Identifikasi kandungan kimia

Identifikasi flavonoid. Identifikasi dengan menggunakan kromatografi lapis tipis, fase diam silika gel GF 254 dan fase geraknya n-butanol:asam asetat:air (4:1:5). Dideteksi di bawah sinar UV 254 nm berwarna gelap dan di bawah sinar UV 366 nm berwarna biru, kuning atau ungu. Pereaksi semprot yang digunakan uap amoniak dan sitro borat (Harbone 1987).

Identifikasi glikosida. Identifikasi dengan menggunakan kromatografi lapis tipis, fase diam silika gel GF 254 nm dan fase geraknya benzene P-etanol 95% (7:3). Semprot kromatogram pertama dengan anisaldehyd-asam sulfat LP Amati dengan sinar UV 254 nm dan UV 366 nm. Muncul bercak biru menandakan adanya glikosida. Semprot kromatogram kedua dengan asam perklorat. Amati dengan sinar UV 254 nm dan UV 366 nm. Tidak adanya fluoresensi menandakan adanya glikosida (Ariasih *et al* 2009).

Identifikasi steroid. Uji ini menggunakan pereaksi *Lieberman-Buchard*. Untuk mengetahui adanya senyawa steroid maka dilakukan identifikasi dengan menggunakan kromatografi lapis tipis, fase diam silika gel GF 254 nm dan fase gerak dengan tiga sistem eluen yaitu eluen kloroform:n-Heksan (9:1), n-Heksan:etilasetat (7:3), kloroform:etilasetat (5:5). Dideteksi di bawah sinar UV 254 nm dan di bawah sinar UV 366 nm berwarna hijau (Harbone 1987).

Identifikasi alkaloid. Identifikasi alkaloid dilakukan dengan menggunakan kromatografi lapis tipis, fase diam silika gel GF 254 nm dan fase gerak campuran metanol-kloroform (0,5:9,5). Amati dibawah sinar UV 254 dan UV 366 dengan pereaksi Dragendorff untuk mendeteksi bercak

coklat jingga yang menunjukkan adanya alkaloid. (Harbone 1987).

3. Penetapan dosis

Dosis ekstrak brotowali. Pembuatan larutan stok, digunakan volume larutan 2 ml dan diperoleh 2,0 gram ekstrak batang brotowali tiap 100 ml larutan stok yang setara dengan dosis 40 mg/200 g BB tikus. Hal ini didapat dari:

$$\text{Larutan stok} = \frac{40 \text{ mg}}{2 \text{ ml}} \times 100 \text{ ml} \\ = 2000 \text{ mg} = 2,0 \text{ g}/100 \text{ ml}$$

Dosis ekstrak tanaman ciplukan. Pembuatan larutan stok, digunakan volume larutan 2 ml dan diperoleh 2,5 gram ekstrak tanaman ciplukan tiap 100 ml larutan stok yang setara dengan dosis 50 mg/200 g BB tikus. Hal ini didapat dari:

$$\text{Larutan stok} = \frac{50 \text{ mg}}{2 \text{ ml}} \times 100 \text{ ml} \\ = 2500 \text{ mg} = 2,5 \text{ g}/100 \text{ ml}$$

Dosis triamsinolon. Dosis triamsinolon asetonid dihitung berdasarkan faktor konversi sebesar 0,018. Dosis lazim triamsinolon asetonid pada manusia adalah 4 mg, sehingga jika diberikan ke tikus menjadi sebesar 0,072 mg/200 g BB (0,36 mg/kg BB) tikus.

4. Pengujian aktivitas antiarthritis dengan CFA

Sejumlah 0,2 ml CFA diinjeksikan pada permukaan plantar kaki belakang tikus kemudian diamati derajat pembengkakan yang terjadi. Jika telah terjadi edema pada kaki tikus tersebut dan belum diberi perlakuan ekstrak uji disebut sebagai hari ke-0 ($T_{untreated}$) sedangkan pemberian ekstrak uji dilakukan pada hari ke-1 sampai hari ke-7 ($T_{treated}$). Dari hari ke-0 hingga hari ke-7, berat badan tiap tikus ditimbang dan derajat pembengkakan kaki tiap tikus diukur dengan alat *plethysmograph*.

5. Uji histopatologi persendian

Tahap pewarnaan Hematoksin-Eosin (HE). Slide yang siap diwarnai (maksimal 15 slide) dan telah melalui proses deparafinasi yang diatur dalam *staining* jaringan, dimasukkan larutan hematoksin 75 ml ke dalam *staining* dan tunggu selama 3-5 menit. Larutan hematoksin dituang ke dalam botol penyimpanan dan dicuci dengan aquades 3 kali selama 1 menit (setiap kali pencucian, aquades dibuang). Setelah pencucian, alkohol asam dimasukkan ke dalam *staining* jaringan dan didiamkan selama 30 detik. Kemudian alkohol asam tersebut dituang ke dalam botol penyimpanan dan dicuci dengan air mengalir selama 3-5 menit, sebanding dengan inkubasi di dalam hematoksin, lalu dibilas kembali dengan aquades 1 kali.

Selanjutnya dimasukkan larutan eosin 1 % ke dalam *staining* jaringan, lalu didiamkan selama 1-2 menit tergantung jenis jaringan. Setelah itu, larutan eosin dituang ke dalam botol penyimpanan dan *slide* dibilas dengan aquades 3 kali. Setiap kali pencucian aquades dibuang.

Tahap pembacaan sampel. Tahap ini mengamati letak kerusakan jaringan sendi dan menginterpretasikan parameter perubahan histologi jaringan sendi pada preparat uji yang meliputi masuknya sel-sel inflamasi, hiperplasia cairan sinovial, akumulasi sel *monomorphonuclear* dan *polymorphonuclear* di daerah antar persendian (SOP Laboratorium Histologi & Biosel UGM 2011).

ANALISA DATA

Data dianalisis secara statistik dengan uji *Kolmogorov-Smirnov*, apabila data terdistribusi secara normal dilanjutkan

uji *Anova Two way* ($p < 0,05$) dilanjutkan dengan uji parametrik *Tukey HSD* (*Honestly Significant Difference*) dan *Post Hoc Test* menggunakan program SPSS for Windows Release 17.0.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN Hasil pembuatan ekstrak batang brotowali dan tanaman ciplukan

Masing-masing serbuk diambil sebanyak 200 gram kemudian dilarutkan dalam 1500 etanol 96% dan dimaserasi selama 5 hari. Data rendemen ekstrak dari masing-masing tanaman dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Rendemen ekstrak batang brotowali dan ciplukan

Simplisia	Berat serbuk (g)	Berat ekstrak kental (g)	Rendemen (%)
Batang brotowali	200	9,8	3,9
Tanaman ciplukan	200	7,8	4,9

Identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak batang brotowali secara kromatografi

Setelah didapatkan ekstrak etanol hasil dari maserasi, selanjutnya diperiksa kandungan kimianya menggunakan metode KLT untuk mengetahui ada tidaknya senyawa flavonoid dan glikosida.

Identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak tanaman ciplukan secara kromatografi

Setelah didapatkan ekstrak etanol, hasil ekstraksi dari metode maserasi kemudian diperiksa kandungan kimianya menggunakan metode KLT untuk mengetahui ada tidaknya kandungan

Tabel 2. Hasil identifikasi senyawa utama batang brotowali dengan metode KLT

Senyawa	Sinar tampak	Hasil		Pereaksi	Hasil setelah disemprot	Rf
		254 nm	366 nm			
Flavonoid	Kuning kecoklatan	Ungu	Ungu	Uap amoniak dan sitro borat	Kuning kecoklatan	0,75
Glikosida	Coklat	Hijau	biru	Anisa aldehid	Coklat	0,80

Tabel 3. Hasil identifikasi senyawa utama tanaman ciplukan dengan metode KLT

Senyawa	Sinar tampak	Hasil		Pereaksi	Hasil setelah disemprot	Rf
		254 nm	366 nm			
Alkaloid	Coklat jingga	Coklat jingga	Coklat Jingga	Dragendorff	Coklat Jingga	0,87
Flavonoid	Kuning kecoklatan	Kuning dan biru	Ungu	Uap amoniak dan sitro borat	Kuning kecolatan	0,89
Steroid	Hijau kecoklatan	Hijau	Hijau	Lieberman-Buchard	Hijau kecoklatan	0,86

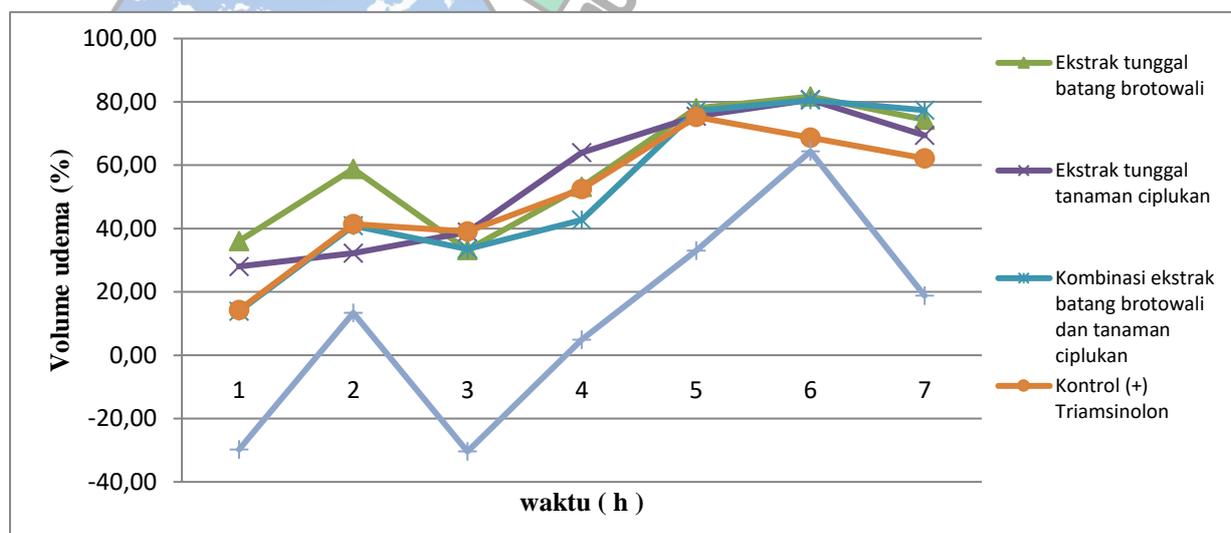
senyawa Alkaloid, flavonoid dan steroid. Hasil identifikasi kandungan senyawa ekstrak etanol tanaman ciplukan dapat dilihat pada tabel 3.

Hasil penelitian menunjukkan berat badan tikus mengalami fluktuasi, artinya berat badan tikus tidak menentu setiap harinya. Pada kondisi treatment terjadi penurunan berat badan tikus dari kelompok

sediaan uji dan kelompok kontrol positif yang dibandingkan dengan kontrol negatif, kondisi ini bisa disebabkan karena pemulihan kapasitas penyerapan usus mungkin tidak berlangsung dengan baik yang mungkin disebabkan berbagai faktor yang mempengaruhi kondisi berat badan dari masing-masing hewan uji seperti kondisi lingkungan, cuaca, pakan dan

Tabel 4. Berat badan tikus dari masing-masing perlakuan setiap hari

Kelompok	Berat badan tikus (Kg)							
	Hari 0	Hari 1	Hari 2	Hari 3	Hari 4	Hari 5	Hari 6	Hari 7
Tunggal batang brotowali	194 ± 23,02	208 ± 13,04	198 ± 13,04	196 ± 25,10	200 ± 20,00	194 ± 19,49	192 ± 10,95	192 ± 13,04
Tunggal tanaman ciplukan	200 ± 14,4	212,50 ± 18,39	187,50 ± 15,00	185,00 ± 10,00	185,00 ± 17,32	187,50 ± 9,57	180 ± 18,26	187,50 ± 9,57
Kombinasi brotowali dan ciplukan	212 ± 23,87	212 ± 24,90	212 ± 24,90	206 ± 29,66	200 ± 25,50	200 ± 25,50	190 ± 33,91	190 ± 38,08
Kontrol positif	212,50 ± 32,03	235 ± 26,46	212,50 ± 28,72	202,50 ± 29,86	197,50 ± 38,62	200 ± 40,82	195 ± 43,59	200 ± 32,66
Kontrol negative	207,50 ± 18,93	212,50 ± 15,00	211,25 ± 8,54	207,50 ± 15,00	200 ± 8,16	210 ± 11,55	202,50 ± 9,57	207,50 ± 9,57



Gambar 1. Grafik persen penurunan volume udema masing-masing perlakuan

minuman yang diberikan, sedangkan berat badan yang stabil terjadi pada kelompok kontrol negatif kemungkinan dikarenakan efek dari volume edema yang tetap karena tidak diobati.

Kelompok batang brotowali, kelompok tanaman ciplukan, kelompok kombinasi batang brotowali dan tanaman ciplukan, kontrol positif menunjukkan adanya persen penurunan volume edema yang dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif.

Kelompok kombinasi dari batang brotowali dan tanaman ciplukan memberikan efek penurunan volume edema yang sebanding dengan triamsinolon, tapi efek yang ditunjukkan tidak memberikan efek penurunan volume edema yang lebih baik dari kelompok

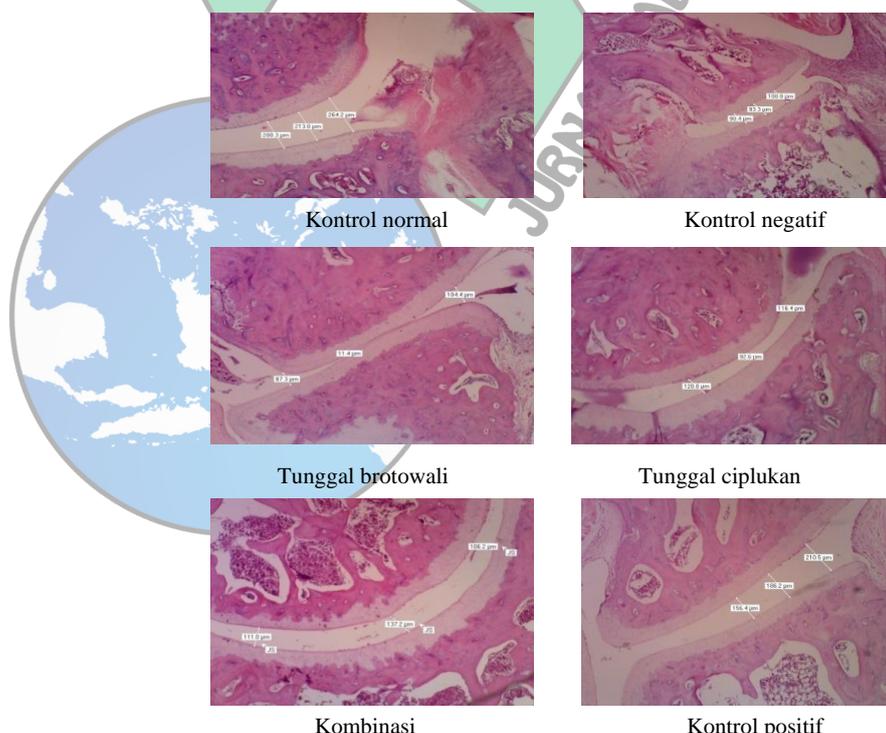
batang brotowali dan tanaman ciplukan, hal ini bisa dikarenakan kombinasi dari kedua tanaman ini tidak menunjukkan efek aditif.

Perhitungan Leukosit

Tabel 5 menunjukkan jumlah leukosit dari masing-masing perwakilan kelompok. Kelompok yang menunjukkan adanya penurunan jumlah leukosit dengan perbandingan kisaran jumlah leukosit normal (5000-25000 sel/l) dan kontrol positif, terlihat pada kelompok batang brotowali, kelompok kombinasi batang brotowali dan tanaman ciplukan yang dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Penurunan jumlah leukosit terendah ditunjukkan pada kelompok tunggal brotowali, artinya kelompok ini memberikan efek penurunan leukosit yang lebih baik

Tabel 6. Rata-rata *joint space* dari masing-masing perlakuan

Kelompok	Rata-rata <i>joint space</i> (μm)
Batang brotowali	25,60 \pm 9,20
Tanaman ciplukan	109,7 \pm 14,9
Kombinasi batang brotowali dan tanaman ciplukan	118,2 \pm 16,7
Kontrol positif	184,4 \pm 27,1
Kontrol negative	94,80 \pm 5,40
Kontrol normal	225,8 \pm 33,8



Gambar 2. Analisis histopatologi persendian kaki tikus

dari keempat perlakuan lainnya.

Tabel 5. Jumlah leukosit dari masing-masing perlakuan

Kelompok	Jumlah leukosit (mm^3)
Batang brotowali	17.600
Tanaman ciplukan	53.000
Kombinasi batang brotowali dan tanaman ciplukan	19.400
Kontrol positif	23.000
Kontrol negative	33.600

Uji Histopatologi

Pada penelitian ini diamati ada tidaknya perbaikan histopatologi pada persendian kaki tikus yang ditandai dengan adanya *joint space* yang mengalami hipertropi akibat artritis. Pengukuran *joint space* dari masing-masing perlakuan diambil tiga titik dan kemudian dirata-rata, uji histopatologi dari masing-masing perlakuan diambil salah satu hewan uji sebagai perwakilan untuk dikorbankan. Rata-rata pengukuran *joint space* dapat dilihat pada tabel 6.

Gambar 2 menunjukkan perubahan histologi pada sendi dari masing-masing kelompok perlakuan. Kontrol positif, kelompok tanaman ciplukan dan kelompok kombinasi menunjukkan adanya perbaikan *joint space* dan lapisan sinovial diantara dua kartilago artikular yang dibandingkan dengan *joint space* pada kontrol normal. Bagian rongga sendi tikus artritis menunjukkan proliferasi dengan jaringan granulasi yang berdekatan dengan tulang rawan artikular menjadi rusak. Bagian *joint space* pada tikus artritis (kontrol negatif) menunjukkan infiltrasi sel mononuklear. Bagian rongga sendi pada kelompok kombinasi batang brotowali dan tanaman ciplukan menunjukkan adanya pelebaran *joint space* antara kedua kartilago yang lebih baik dibanding ekstrak tunggal masing-masing tanaman, yang dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif dan kontrol normal.

Pada kelompok tunggal brotowali tidak menunjukkan pelebaran *joint space* antar kedua kartilago yang dibandingkan dengan kontrol negatif, artinya kelompok perlakuan ini tidak memberikan efek untuk memperbaiki kerusakan pada jaringan sendi tikus.

KESIMPULAN

Ekstrak tunggal batang brotowali mempunyai aktivitas antiartritis yang ditunjukkan dengan penurunan jumlah leukosit ($17.600 mm^3$) dan memberikan total aktivitas efek persen penurunan volume edema (378,15).

Ekstrak tunggal tanaman ciplukan mempunyai aktivitas antiartritis yang ditunjukkan dengan total aktivitas efek persen penurunan volume edema (353,95) dan menunjukkan adanya perbaikan profil histopatologi pada kaki tikus (109,7 μm).

Kombinasi ekstrak batang brotowali dan ekstrak tanaman ciplukan mempunyai aktivitas antiartritis yang lebih baik dibanding kandungan ekstrak tunggal dari masing-masing tanaman tersebut yang ditunjukkan dengan total aktivitas efek persen penurunan volume edema (327,39), adanya penurunan jumlah leukosit ($19.400 mm^3$), dan menunjukkan adanya perbaikan profil histopatologi pada kaki tikus (118,2, μm).

DAFTAR PUSTAKA

- Ariasih *et al.* 2009. *Jurnal Praktikum Farmakognosi*. Bali: Fakultas Farmasi dan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana Jimbaran.
- DiPiro JT *et al.* 2008. *Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach*. Ed. VII. McGraw-Hill, New York.
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia; Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Terbitan ke-2. Padmawinata K, Soediro I, penerjemah; Bandung: ITB.

Terjemahan Dari: *Phytochemical Methods*.

Kresnady B. 2003. *Khasiat dan Manfaat Brotowali si-Pahit yang Menyembuhkan*. Jakarta: PT Agromedia Pustaka.

Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. 1992. Disorders of the immune system: Rheumatoid arthritis. *Basic Pathology*. Ed. V. London: W.B. Saunders & Co.

Long L, Soeken K, Ernst E. 2001. Herbal medicine for treatment of osteoarthritis: a systematic review. *Rheumatology*40:779-793.

Makmun. 2009. *Obat Rematik Merusak Lambung*. Diunduh dari: <http://www.dechacare.com/Obat-Rematik-Merusak-Lambung-1219.html>.

Price SA, Wilson LM. 1985. *Patofisiologi konsep klinik proses-proses penyakit*. Edisi II. Buku kedokteran. Jakarta.

