

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK JAHE MERAH TERHADAP  
KADAR SERUM TNF- $\alpha$  DAN SERUM MALONDIALDEHIDA**  
(Studi Eksperimental Pada Tikus Jantan Galur Wistar yang Diinfeksi Bakteri  
*Pseudomonas aeruginosa*)

**Tesis**



**Magister Ilmu Biomedik**

**Tari Febri Sari**

**MBK.1914010163**

**PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU BIOMEDIK**

**FAKULTAS KEDOKTERAN**

**UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG**

**SEMARANG**

**2022**

PENELITIAN  
PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK JAHE MERAH TERHADAP KADAR  
TNF- $\alpha$  DAN SERUM MALONDIALDEHIDA

(Studi Eksperimental Pada Tikus Jantan Galur Wistar yang Diinfeksi Bakteri  
*Pseudomonas aeruginosa*)

disusun oleh:

Tari Febri Sari  
MBK.19.14.01.0163

yang akan dipertahankan di depan Tim Penguji

pada Juni 2022

dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima.

Menyetujui,

Pembimbing

Pembimbing I,

Pembimbing II.

  
Dr. dr. H. Setvo Trisnadi, Sp.KF., SII  
NIK. 210199049

  
Dr. Drs. Israhanto Isradji, M.Si  
NIK. 210189027

Mengetahui,

Ketua Program Studi Ilmu Biomedik  
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang

  
Assoc. Prof. Dr. H. Agung Putra, M.Si.Med  
NIK. 210199050

## RIWAYAT HIDUP

### 1. Identitas Diri

Nama : Tari Febri Sari  
 Tempat/ tanggal lahir : Aek Nabara, 08 Februari 1993  
 Agama : Islam  
 Jenis Kelamin : Perempuan

### 2. Riwayat Pendidikan Formal

1. TK Belilas : Lulus tahun 1998  
 2. SDN 20 Nagasaki Kampar, Riau : Lulus tahun 2004  
 3. SMP Negeri 20 Pekanbaru, Riau : Lulus tahun 2007  
 4. SMA Negeri 5 Pekanbaru, Riau : Lulus tahun 2010  
 5. S1 FK Universitas Muhammadiyah Malang : Lulus tahun 2015  
 6. Profesi Dokter FK Universitas Muhammadiyah Malang : Lulus tahun 2018  
 7. Magister Ilmu Biomedik FK UNISSULA : 2019 – sekarang

### 3. Riwayat Keluarga

Nama Orang Tua  
 Ibu : Siti Zubaidah  
 Ayah : Agus Sudarmadi  
 Nama Saudara Kandung  
 Kakak : Putri Aida Novance  
 Adik 1 : Novia Aprilia Rahma  
 Adik 2 : Jihan Rosikha

## KATA PENGANTAR

Segala puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah Subhanahu Wata'ala, atas segala karunia dan ridho-Nya, sehingga tesis dengan judul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Jahe Merah Terhadap Kadar Tnf- $\alpha$  dan Serum Malondialdehida (Studi Eksperimental Pada Tikus Jantan Galur Wistar yang Diinfeksi Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*)” ini dapat diselesaikan.

Tesis ini disusun untuk memenuhi salah satu persyaratan memperoleh gelar Magister Biomedik di program studi Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa hormat dan menghaturkan terima kasih yang sebesar-besarnya, kepada :

1. Rektor Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Bapak Prof Dr. Gunarto SH. M.Hum
2. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Bapak Dr. dr. H. Setyo Trisnadi Sp.KF. SH.
3. Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Assoc. Prof. Dr. dr. Agung Putra, M.Si.Med.
4. Prof. Dr. dr. Taufiqurrachman N, M.Kes, Sp.And (K), Alm atas bimbingan, arahan dan waktu yang telah diluangkan kepada penulis untuk berdiskusi selama menjadi dosen pembimbing.
5. Bapak Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, Sp.KF., SH atas bimbingan, arahan dan waktu yang telah diluangkan kepada penulis untuk berdiskusi selama menjadi dosen pembimbing pertama.
6. Bapak Dr. Drs. Israhnanto Isradji, M.Si selaku dosen pembimbing kedua yang telah memberikan masukan dan saran serta menyempatkan waktu kesibukannya saat bimbingan tesis.
7. Ibu Dr. Ir. Hj. Titiiek Sumarawati, M.Kes selaku penguji pertama yang telah menyempatkan waktu kesibukannya untuk menguji dan membimbing tesis

8. Bapak Dr. dr. H. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes selaku penguji kedua yang telah telah menyempatkan waktu kesibukannya untuk menguji dan membimbing tesis.
9. Ibu Dr. dr. Chodidjah, M.Kes selaku penguji ketiga yang telah memberikan masukan dan saran serta menyempatkan waktu kesibukannya untuk menguji dan membimbing tesis.
10. Seluruh Dosen Program Studi Magister Ilmu Biomedik, yang telah memberikan arahan dan bimbingan untuk mendalami ilmu Biomedik.
11. Keluarga yang selalu ada untuk membantu dan mendukung dalam segala kondisi.
12. Teman yang selalu ada dan sebagai penyemangat saya terima kasih atas segala motivasi, perhatian, dan dukungan yang telah diberikan selama ini.
13. Kepada semua pihak yang telah membantu yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Dengan keterbatasan pengalaman, ilmu maupun pustaka yang ditinjau, penulis menyadari bahwa tesis ini masih banyak kekurangan dan pengembangan lanjut agar benar benar bermanfaat.

Oleh sebab itu, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran agar tesis ini lebih sempurna serta sebagai masukan bagi penulis untuk penelitian dan penulisan karya ilmiah di masa yang akan datang.

Akhir kata, penulis berharap tesis ini memberikan manfaat bagi kita semua terutama untuk pengembangan ilmu pengetahuan yang ramah lingkungan.

Wassalammua'laikum warohmatullahi wabarakatuh

Semarang, Juli 2022



Tari Febri Sari

## DAFTAR ISI

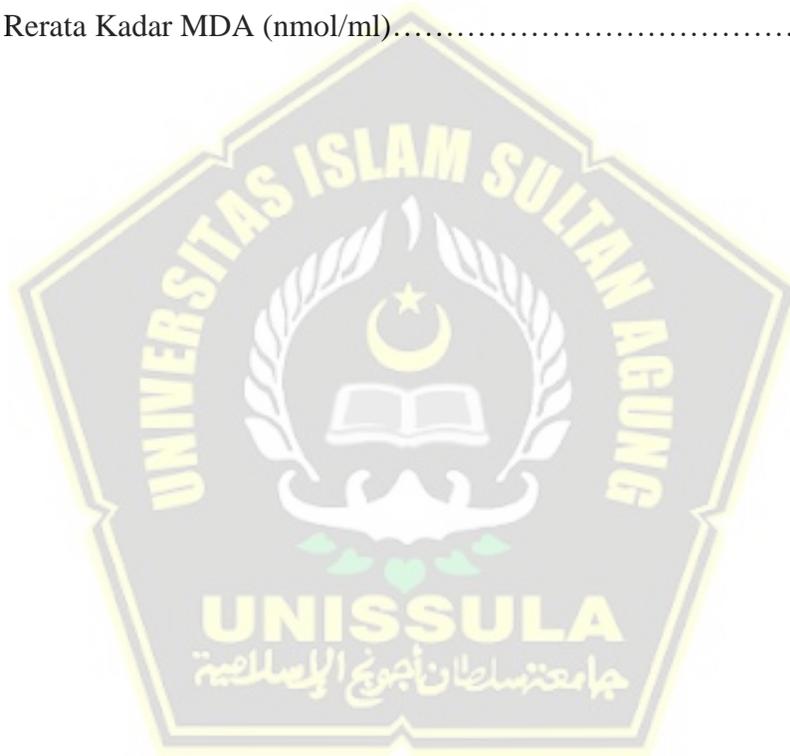
<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PERSETUJUAN .....</b>	<b>ii</b>
<b>RIWAYAT HIDUP .....</b>	<b>iii</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>iv</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>vi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>ix</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>x</b>
<b>DAFTAR SINGKATAN.....</b>	<b>xi</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>xiii</b>
<b>BAB 1 .....</b>	<b>1</b>
<b>PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah .....	4
1.3. Tujuan Umum.....	4
1.4. Tujuan Khusus.....	4
1.5. Manfaat Penelitian.....	5
1.5.1. Manfaat Teoritis .....	5
1.5.2. Manfaat Praktis .....	5
1.6. Originalitas penelitian .....	5
<b>BAB II .....</b>	<b>8</b>
<b>TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>8</b>
2.1. <i>Tumor Necrosis Factor (TNF-<math>\alpha</math>)</i> .....	8
2.2. Malondialdehida (MDA).....	9
2.3. Jahe Merah ( <i>Zingiber officinale Rosc. Var Rubrum</i> ) .....	10
2.3.1. Taksonomi Jahe Merah.....	10
2.3.2. Morfologi.....	11
2.3.4. Jahe Merah dan Kandungannya.....	12
2.4. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	13
2.4.1. Klasifikasi .....	13

2.4.2. Deskripsi .....	13
2.4.3. Patogenesis .....	14
2.4.4. Infeksi <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Terhadap Mediator Inflamasi .....	14
2.4.5. Epidemiologi Infeksi Nosokomial Akibat <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	17
2.4.6. Pengobatan <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	18
2.5. Pengaruh Ekstrak Jahe Merah Terhadap Kadar TNF- $\alpha$ dan MDA .....	18
<b>BAB III.....</b>	<b>21</b>
<b>KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS.....</b>	<b>21</b>
3.1. Kerangka Teori.....	21
3.2. Kerangka Konsep .....	24
3.3. Hipotesis.....	24
<b>BAB IV .....</b>	<b>25</b>
<b>METODE PENELITIAN .....</b>	<b>25</b>
4.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian.....	25
4.2. Populasi Penelitian .....	25
4.3.1. Kriteria Inklusi.....	25
4.3.2. Kriteria Eksklusi .....	26
4.3.3. Drop Out .....	26
4.4. Variabel Penelitian .....	26
4.4.1. Variabel Bebas.....	26
4.4.2. Variabel Tergantung .....	26
4.4.3. Variabel Prakondisi.....	26
4.5. Definisi Operasional.....	26
4.5.1. Ekstrak Jahe Merah.....	26
4.5.2. TNF- $\alpha$ .....	27
4.5.3. Serum MDA.....	27
4.6. Instrumen dan Bahan Penelitian.....	27
4.6.1. Instrumen Penelitian .....	27
4.6.2. Bahan Penelitian.....	28
4.7. Prosedur Penelitian.....	28
4.7.1. Proses adaptasi.....	28

4.7.2. Pembagian dan perlakuan hewan coba .....	29
4.7.3. Pembuatan ekstrak jahe merah .....	30
4.7.4. Penentuan dosis ekstrak jahe .....	30
4.7.5. Pembuatan suspensi bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	31
4.7.6. Infeksi <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	31
4.7.7. Pengambilan sediaan darah tikus .....	31
4.7.8. Prosedur pengukuran kadar TNF- $\alpha$ menggunakan ELISA kit .....	32
4.7.9. Prosedur pengukuran kadar MDA menggunakan spektrofotometer .....	32
4.8. Penelitian Pendahuluan .....	33
4.9. Alur Penelitian .....	36
4.9. Tempat dan Waktu Penelitian .....	37
4.10. Analisis Data .....	37
<b>HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>38</b>
5.1. Hasil Penelitian .....	38
5.1.1. Kadar TNF- $\alpha$ .....	39
5.1.2. Kadar MDA .....	41
5.2. Pembahasan .....	42
5.3. Keterbatasan Penelitian .....	46
<b>BAB VI .....</b>	<b>47</b>
6.1. Kesimpulan .....	47
6.2. Saran .....	48
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>49</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>53</b>

**DAFTAR GAMBAR**

<b>Gambar</b>	<b>Halaman</b>
2.1. Proses pembentukan MDA .....	10
2.2. Jahe merah.....	11
3.1. Kerangka Teori.....	21
3.2. Kerangka Konsep.....	22
4.9. Alur Penelitian.....	34
5.1. Rerata Kadar Tnf- $\alpha$ (pg/ml).....	38
5.2. Rerata Kadar MDA (nmol/ml).....	39



**DAFTAR TABEL**

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
1.1. Originalitas Penelitian .....	6
2.1. Kandungan Nilai Gizi Jahe Merah .....	12
2.2. Kadar Senyawa Gingerol dan Shogaol Ekstrak Jahe Merah .....	13
5.1. Hasil analisis rerata kadar TNF- $\alpha$ dan serum MDA.....	36
5.2. Perbedaan Kadar TNF- $\alpha$ antar 2 kelompok menggunakan uji <i>Tukey</i> .....	38
5.3. Perbedaan Kadar MDA antar 2 kelompok menggunakan uji <i>Tukey</i> .....	40



## DAFTAR SINGKATAN

GCLC	:	<i>Glutamate-cysteine ligase catalytic</i>
GM-CSF	:	<i>Granulocyte Macrophage-Colony Stimulating Factor</i>
HO-1	:	<i>Heme oxygenase-1</i>
ICU	:	<i>Intensive Care Unit</i>
IFN- $\gamma$	:	<i>Interferon-<math>\gamma</math></i>
IL-1 $\beta$	:	<i>Interleukin-1<math>\beta</math></i>
IL-2	:	<i>Interleukin-2</i>
IL-6	:	<i>Interleukin-6</i>
IL-12	:	<i>Interleukin-12</i>
JNK	:	<i>c-Jun NH<sub>2</sub>-terminal kinase</i>
iNOS	:	<i>Inducible Nitrit Oxide Synthase</i>
MDA	:	<i>Malondialdehyde</i>
MKK4	:	<i>Mitogen-activated protein kinase 4</i>
MT1	:	<i>Metallothionein-1</i>
NCoR	:	<i>Nuclear Corepressor</i>
NF- $\kappa$ B	:	<i>Nuclear Factor Kappa B</i>
NK	:	<i>Natural Killer</i>
NNIS	:	<i>Nosocomial Infections Surveillance</i>
NO	:	<i>Nitrit Oxide</i>
Nrf2	:	<i>Erythroid 2-related Factor 2</i>
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	:	<i>Anion Superoxide</i>
OA	:	<i>Osteoarthritis</i>
COX2	:	<i>Cyclooxygenase-2</i>
<i>P.aeruginosa</i>	:	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

PPAR $\gamma$	:	<i>Peroxisome Proliferator Activator Receptor</i>
ROS	:	<i>Reactive Oxygen Spesies</i>
RJMA	:	Rimpang Jahe Merah dan Alang-Alang
RSU	:	Rumah Sakit Umum
SEK1	:	<i>Stress-activated protein kinase kinase-1</i>
SOD	:	<i>Superoxide Dismutase</i>
Th1	:	<i>T helper-1</i>
TNF- $\alpha$	:	<i>Tumor Necrosis Factor</i>
WHO	:	<i>World Health Organization</i>



**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK JAHE MERAH TERHADAP KADAR  
TNF- $\alpha$  DAN SERUM MALONDIALDEHIDA  
(Studi Eksperimental Pada Tikus Jantan Galur Wistar yang Diinfeksi Bakteri  
*Pseudomonas aeruginosa*)**

**ABSTRAK**

**Latar Belakang :** *Pseudomonas aeruginosa* adalah patogen utama penyebab infeksi nosokomial di Rumah Sakit, serta dapat menginfeksi luka terbuka, luka bakar hingga pneumonia nekrosis. Beberapa studi tanaman menunjukkan adanya zat antioksidan salah satunya jahe merah. Penelitian menunjukkan ekstrak jahe merah mengandung komponen bioaktif gingerol dan shogaol bersifat antioksidan dan antimikroba. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak jahe merah terhadap kadar TNF- $\alpha$  dan serum malondialdehida pada tikus yang diinfeksi bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

**Metode :** Penelitian ini menggunakan desain penelitian eksperimental dengan rancangan penelitian *Post Test Only Control Group Design*. Subyek penelitian berjumlah 30 ekor tikus wistar yang dibagi acak menjadi 5 kelompok. K (-) kelompok tikus tanpa diinfeksi *P.aeruginosa*. K(+) kelompok tikus yang diinfeksi *P.aeruginosa*  $10^8$  CFU per ekor tanpa diberi ekstrak jahe merah. P1, P2 dan P3 di infeksi *P.aeruginosa* dan diberi ekstrak jahe merah dengan dosis 20mg, 40mg dan 80mg/KgBB/hari selama 7 hari. Hari ke 8 pemeriksaan kadar TNF- $\alpha$  dan MDA.

**Hasil Penelitian :** Hasil uji *One Way Anova* menunjukkan perbedaan yang bermakna pada kadar TNF- $\alpha$  dan kadar MDA dengan nilai  $p=0,000$ . Rerata kadar TNF- $\alpha$  pada kelompok K(-), K(+), P1, P2, P3 adalah 5.76, 17.89, 12.29, 9.03, 7.07 pg/mL dan rerata kadar MDA adalah 1.33, 11.10, 5.09, 3.87, 3.00 mmol/mL. Hasil uji *Tukey* menunjukkan kadar TNF- $\alpha$  antar kelompok memiliki perbedaan yang signifikan pada semua kelompoknya ( $p=0.000$ ) dan perbedaan yang signifikan juga pada kadar MDA ( $P=0,000$ ).

**Kesimpulan :** Ekstrak jahe merah berpengaruh terhadap penurunan kadar TNF- $\alpha$  dan serum MDA pada tikus yang diinfeksi bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

**Kata Kunci :** Jahe merah, *Pseudomonas aeruginosa*, TNF- $\alpha$ , MDA

## THE EFFECT OF RED GINGER EXTRACT ON TNF- $\alpha$ AND SERUM MALONDIALDEHYDE LEVELS

(Experimental Study on Wistar Strain Male Rats Infected with *Pseudomonas aeruginosa* Bacteria)

### ABSTRACT

**Background:** *Pseudomonas aeruginosa* is the main pathogen causing nosocomial infections in hospitals, also can infect open wounds, combustio and necrotizing pneumonia. Several plant studies show the presence of antioxidants, one of them is red ginger. Research shows that red ginger extract contains the bioactive components gingerol and shogaol which have antioxidant and antimicrobial properties. The purpose of this research is determine the effect of red ginger extract on TNF- $\alpha$  and serum malondialdehyde levels in rats infected with *Pseudomonas aeruginosa* bacteria.

**Methods:** This study uses an experimental research design with Post Test Only Control Group Design. The research subjects were 30 wistar rats which were randomly divided into 5 groups. K (-) group of mice without *P. aeruginosa* infection. K(+) group of rats infected with *P. aeruginosa*  $10^8$  CFU per head without red ginger extract. P1, P2 and P3 were infected with *P. aeruginosa* and were given red ginger extract at a dose of 20mg, 40mg and 80mg/KgBB/day for 7 days. Day 8 examination of TNF- $\alpha$  and MDA levels.

**Results :** The results of the One Way Anova test showed a significant difference in TNF- levels and MDA levels with p value = 0.000. The mean levels of TNF- in groups K(-), K(+), P1, P2, P3 were 5.76, 17.89, 12.29, 9.03, 7.07 and the mean MDA levels were 1.33, 11.10, 5.09, 3.87, 3.00. Tukey's test results showed TNF- $\alpha$  levels between groups had a significant difference in all groups (p=0.000) and a significant difference also in MDA levels (P=0.000)

**Conclusion :** Red ginger extract had an effect on decreasing TNF- $\alpha$  and serum MDA levels in rats infected with *Pseudomonas aeruginosa* bacteria.

**Keywords :** Red ginger, *Pseudomonas aeruginosa*, TNF- $\alpha$ , MDA

## BAB 1

### PENDAHULUAN

#### 1.1. Latar Belakang

*Pseudomonas aeruginosa* merupakan patogen utama penyebab infeksi nosokomial di Rumah Sakit.<sup>1</sup> *Pseudomonas aeruginosa* dapat menginfeksi luka terbuka, luka bakar hingga menyebabkan pneumonia nekrosis.<sup>2</sup> Peningkatan insiden infeksi nosokomial oleh *Pseudomonas aeruginosa* pada pasien di Rumah Sakit diikuti peningkatan kejadian resistensi terhadap berbagai antibiotik seperti  $\beta$ -lactam, ciprofloxacin, tobramycin dan colistin.<sup>3</sup> Resistensi terhadap antibiotik dapat menyebabkan lamanya waktu penyembuhan, meningkatkan resiko kematian, memperbanyak *carrier* di masyarakat, memperbanyak bakteri yang resisten dan memperpanjang masa rawat inap di Rumah Sakit.<sup>4</sup> Tubuh memulai fase inflamasi saat terjadi luka, neutrofil dan makrofag akan masuk ke dalam jaringan yang mengalami luka dan sel-sel tersebut akan memproduksi *Reactive Oxygen Spesies (ROS)*. Tingginya ROS akan menyebabkan kondisi stress oksidatif yang berlebihan ditandai dengan adanya Malondialdehida (MDA) yang terbentuk dari proses peroksidasi lipid.<sup>5</sup> *Tumor Necrosis Factor (TNF- $\alpha$ )* merupakan sitokin utama pada respon inflamasi akut.<sup>6</sup> Infeksi yang berat dapat memicu produksi TNF- $\alpha$  dalam jumlah yang besar dan menimbulkan reaksi sistemik.<sup>7</sup> Jahe merupakan tanaman yang mudah didapatkan di Indonesia. Jahe

merah banyak dimanfaatkan sebagai bahan baku obat karena memiliki kandungan oleoresin dan minyak atsiri yang lebih tinggi dibandingkan dengan jahe lainnya.<sup>8</sup> Ekstrak jahe merah mengandung komponen bioaktif gingerol dan shogaol bersifat antioksidan serta antimikroba.<sup>9</sup> Oleh karena itu perlu dibuktikan pengaruh antioksidan dari ekstrak jahe merah terhadap penyembuhan infeksi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan melihat kadar serum MDA dan TNF $\alpha$ .

Survei prevalensi yang dilakukan WHO di 55 rumah sakit dari 14 negara yang mewakili 4 Kawasan WHO (Eropa, Timur Tengah, Asia Tenggara dan Pasifik Barat) menunjukkan rata-rata 8,7% dan Asia Tenggara sebanyak 10,0% pasien rumah sakit mengalami infeksi nosokomial.<sup>1</sup> Data prevalensi dari 10 Rumah Sakit Umum (RSU) pendidikan di Indonesia melaporkan bahwa angka kejadian infeksi nosokomial yaitu 6-16% dengan rata-rata 9,8%.<sup>1</sup> Di Surakarta dilakukan penelitian mengenai angka dan pola kuman pada dinding, lantai, dan udara ruang ICU (*Intensive Care Unit*) RSUD Dr. Moerwadi. Hasil yang didapatkan bahwa pertumbuhan kuman dinding sebesar 4,33%, lantai 15,18% dan udara 80,48%. Pola kuman yang ditemukan pada dinding dan lantai adalah *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus* sp. dan *Bacillus* sp. Sedangkan pola kuman yang ditemukan pada sampel udara adalah *Moraxella lacunata*, *Staphylococcus* sp., *Bacillus* sp., *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli*.<sup>10</sup>

Terdapat beberapa penelitian sebelumnya yang telah memaparkan kandungan dan khasiat jahe merah. Ekstrak jahe merah terbukti pada penelitian yang dilakukan oleh Dewi (2019) dapat berpengaruh signifikan terhadap zona hambat bakteri dan ekstrak jahe merah memiliki daerah hambat tertinggi terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.<sup>11</sup> Penelitian yang dilakukan oleh Arinta pada tahun 2019 menyebutkan bahwa pemberian kombinasi jahe merah dan alang-alang mampu menurunkan kadar TNF- $\alpha$  serum tikus OA, begitupula penelitian yang dilakukan oleh Dedian (2019) kombinasi dekokta rimpang jahe dan alang-alang mampu meningkatkan kadar *Superoxide Dismutase* (SOD) dan menurunkan MDA serum.<sup>12</sup> Berdasarkan penelitian Fadhila (2019), melaporkan bahwa dosis jahe merah 200 mg/KgBB per oral terbukti memiliki efek anti inflamasi yang dibuktikan dengan penurunan kadar TNF- $\alpha$ .<sup>7</sup>

Kandungan bioaktif gingerol dan shogaol pada jahe merah mampu memberikan aktivitas farmakologi, seperti antiinflamasi dan antioksidan.<sup>13</sup> Shogaol dan gingerol merupakan senyawa fenolik yang mampu menekan aktivitas anti-inflamasi dengan cara menekan sitokin proinflamasi yaitu TNF- $\alpha$  dan IL-1 $\beta$ .<sup>14</sup> Senyawa gingerol menghambat sitokin dalam meningkatkan sel radang melalui penekanan ekspresi mediator proinflamasi COX2 secara langsung di mana mediator ini bertanggungjawab dalam peradangan persisten. Gingerol juga menghambat peningkatan NF-kB yaitu salah satu komponen inflamasi.<sup>13</sup> NF-kB merupakan faktor transkripsi yang mengontrol pengeluaran sejumlah gen

penting dalam proses imunitas dan inflamasi diantaranya adalah GM-CSF, IL-6, IL-2 dan TNF- $\alpha$ .<sup>13</sup> Selain itu gingerol mampu menghambat ROS dengan mekanisme penghambatan xantin oxidase sehingga radikal bebas tidak terbentuk. Penurunan radikal bebas menghambat peroksidasi lemak sehingga menurunkan kadar MDA serum.<sup>12</sup>

## 1.2. Rumusan Masalah

Bagaimana pengaruh pemberian ekstrak jahe merah terhadap kadar TNF- $\alpha$  dan serum MDA pada tikus yang diinfeksi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ?

## 1.3. Tujuan Umum

Penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak jahe merah terhadap kadar TNF- $\alpha$  dan serum MDA pada tikus jantan galur wistar yang diinfeksi bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

## 1.4. Tujuan Khusus

- 1.4.1. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak jahe merah dengan dosis 20mg/KgBB/hari terhadap kadar TNF- $\alpha$  dan MDA pada tikus yang diinfeksi bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.
- 1.4.2. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak jahe merah dengan dosis 40mg/KgBB/hari terhadap kadar TNF- $\alpha$  dan MDA pada tikus yang diinfeksi bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

- 1.4.3. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak jahe merah dengan dosis 80 mg/KgBB/hari terhadap kadar TNF- $\alpha$  dan MDA pada tikus yang diinfeksi bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.
- 1.4.4. Untuk mengetahui kadar TNF- $\alpha$  dan serum MDA pada tikus yang diinfeksi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* (kelompok kontrol).
- 1.4.5. Untuk menganalisis perbedaan kadar TNF- $\alpha$  dan serum MDA pada tikus yang diinfeksi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* (kelompok kontrol dan kelompok perlakuan).

## **1.5. Manfaat Penelitian**

### **1.5.1. Manfaat Teoritis**

Dapat menjawab pengaruh pemberian ekstrak jahe merah terhadap kadar TNF- $\alpha$  dan MDA pada tikus jantan galur wistar yang diinfeksi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* sebagai pengembangan ilmu ilmiah.

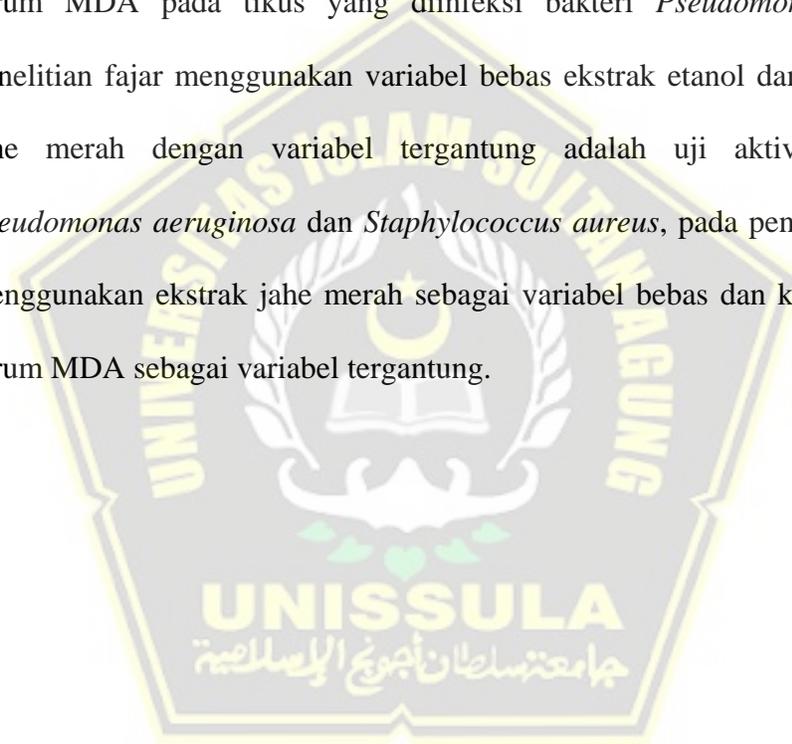
### **1.5.2. Manfaat Praktis**

Mengembangkan pemanfaatan ekstrak jahe merah sebagai antibakteri untuk terapi infeksi *Pseudomonas aeruginosa*.

## **1.6. Originalitas penelitian**

Originalitas penelitian ini menyajikan perbedaan penelitian yang akan dilakukan dengan penelitian sebelumnya. Dedian pada penelitian sebelumnya menggunakan kombinasi ekstrak jahe merah dan alang-alang sebagai variabel

bebasnya sedangkan pada penelitian ini menggunakan ekstrak jahe merah saja, variabel tergantunya adalah kadar serum SOD dan kadar MDA tikus osteoarthritis, sedangkan penelitian ini menggunakan TNF- $\alpha$  dan serum MDA yang diinfeksi bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Penelitian Arinta dengan variabel bebas yaitu kombinasi ekstrak jahe merah dan alang-alang sedangkan pada penelitian ini hanya menggunakan ekstrak jahe merah, variabel tergantunya adalah TNF- $\alpha$  serum tikus OA, pada penelitian ini TNF- $\alpha$  dan serum MDA pada tikus yang diinfeksi bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Penelitian fajar menggunakan variabel bebas ekstrak etanol dan fraksi rimpang jahe merah dengan variabel tergantunya adalah uji aktivitas antibakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*, pada penelitian ini hanya menggunakan ekstrak jahe merah sebagai variabel bebas dan kadar TNF- $\alpha$  dan serum MDA sebagai variabel tergantunya.



Tabel 1.1. Originalitas Penelitian

Peneliti	Judul Penelitian	Metode Penelitian	Hasil Penelitian
Arinta Maipa Diapati Merlita Herbani, Doti Wahyuningsih 2019	Pengaruh Kombinasi Dekokta <i>Zingiber officinale var rubrum</i> dan <i>Imperata cylindrica</i> Terhadap Kadar TNF- $\alpha$ Serum Tikus Osteoarthritis	Penelitian eksperimental dengan desain control group post test only	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- $\alpha$ serum tikus OA.
Dedian Fajar Rachman, Merlita Herbani, Doti Wahyuningsih 2019	Efek Kombinasi Dekokta Rimpang <i>Zingiber officinale var rubrum</i> dan Rimpang <i>Imperta clindrica</i> Terhadap Kadar <i>Superoxide Dismutase</i> (SOD) Serum dan <i>Malondialdehyde</i> (MDA) serum Tikus Osteoarthritis	Penelitian eksperimental dengan rancangan <i>Control Group Post Test Only</i>	Kombinasi ekstrak jahe merah dan alang-alang pada dosis 18+40 mg dan 36+40 mg dapat menurunkan kadar MDA serum tikus OA
Fajar Jamaluddin Sandhori 2018	Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i> Dari Ekstrak Etanol dan Fraksi Rimpang Jahe Merah ( <i>Zingiber officinale var. Rubrum</i> )	Penelitian eksperimental dengan rancangan <i>The Post Test Only Control Group Design</i>	Ekstrak etanol dan fraksi rimpang jahe merah ( <i>Zingiber officinale var. Rubrum</i> ) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Pseudomonas aeruginosa</i>

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. *Tumor Necrosis Factor (TNF- $\alpha$ )*

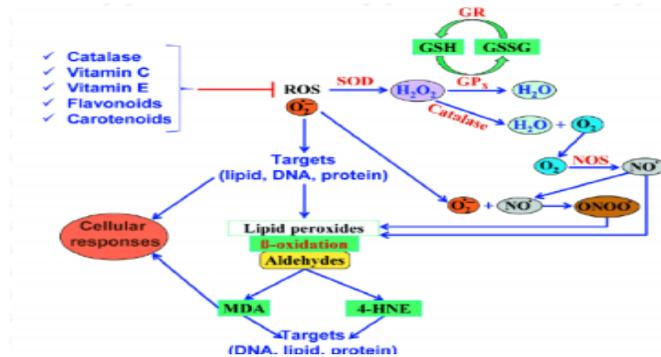
TNF- $\alpha$  adalah protein 17kDa yang pada awalnya ditemukan sebagai molekul yang terkait dengan nekrosis tumor tikus. TNF- $\alpha$  merupakan faktor proinflamasi penting yang memberikan kontribusi berbagai patologi. Pemberian sistemik TNF- $\alpha$  menghasilkan manifestasi yang sangat mirip dengan sepsis termasuk hipotensi, asidosis metabolik, infiltrasi paru difus, perdarahan paru dan gastrointestinal, nekrosis tubular dan kematian.<sup>15</sup>

TNF- $\alpha$  berperan dalam pertahanan pejamu untuk melawan infeksi bakteri, virus dan parasit. TNF- $\alpha$  diproduksi makrofag dan diaktifkan oleh sel T limfosit, antigen, sel NK, dan sel mast. TNF- $\alpha$  sering tidak terdeteksi pada individu sehat namun ditemukan dalam kondisi inflamasi serta infeksi dalam serum. TNF- $\alpha$  bekerja terhadap leukosit dan endotel, menginduksi inflamasi akut pada kadar yang rendah karena TNF- $\alpha$  merupakan pirogen yang kuat. TNF- $\alpha$  berperan pada inflamasi sistemik pada kadar yang sedang. TNF- $\alpha$  menimbulkan kelainan patologis berupa syok septik pada kadar tinggi, sebab TNF- $\alpha$  memiliki sifat sitotoksik.<sup>15</sup>

## 2.2. Malondialdehida (MDA)

Malondialdehida (MDA) adalah senyawa kristal higroskopis yang berwarna putih dan terbentuk dari hidrolisis asam 1,1,3,3-tetraethoxypropane. MDA merupakan produk akhir peroksida lipid dalam tubuh dan produk dekomposisi dari asam amino, karbohidrat kompleks, pentose dan heksosa. Selain itu malondialdehida adalah produk yang dihasilkan oleh radikal bebas melalui reaksi ionisasi didalam tubuh dan produk samping biosintesis prostaglandin yang merupakan produk akhir dari oksidasi lipid membran, sehingga kadar malondialdehida menjadi salah satu penanda atau biomarker yang sering digunakan untuk mengetahui level peroksidasi lipid total.<sup>16</sup>

Tingginya ROS menyebabkan kondisi stress oksidatif dalam tubuh yang akan ditandai dengan adanya Malondialdehida (MDA) yang terbentuk melalui proses peroksidasi lipid.<sup>5</sup> Sebagaimana pada gambar dibawah ini, kerusakan sel pertama dimulai dengan adanya pembentukan ROS, yaitu dilepaskannya superoksida sehingga mengakibatkan kerusakan pada membrane lipid, DNA dan protein. Dari hasil kerusakan tersebut akan dihasilkan lipid peroksida yang akan dimetabolisme oleh  $\beta$ -oksidasi ke jalur MDA. Produksi dari MDA ini menjadi indikator kerusakan dari sel maupun jaringan.<sup>17</sup>



Gambar 2.1. Proses pembentukan MDA<sup>18</sup>

### 2.3. Jahe Merah (*Zingiber officinale Rosc. Var Rubrum*)

#### 2.3.1. Taksonomi Jahe Merah

Jahe merah merupakan tanaman jenis rimpang-rimpangan yang dapat tumbuh pada dataran rendah hingga daerah pegunungan dengan ketinggian 0 hingga 1500 meter dari permukaan air laut.<sup>9</sup> Menurut Tjitrosoepomo (1991) Klasifikasi tanaman jahe merah sebagai berikut:<sup>19</sup>

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledonae
Ordo	: Zingiberales
Famili	: Zingiberaceae
Genus	: Zingiber
Spesies	: <i>Zingiber officinale Rosc. Var. Rubrum</i>



Gambar 2.2 Jahe Merah<sup>20</sup>

Jahe tumbuh didaerah tropis pada ketinggian antara 0-1.700 meter di atas permukaan laut. Jahe membutuhkan suhu tinggi dan curah hujan yang cukup pada masa pertumbuhan. Suhu tanah ideal untuk penanaman jahe adalah 25-30°C. Agar mendapatkan hasil rimpang yang bagus, tanah dikondisikan dalam keadaan gembur sehingga memberikan kesempatan pada akar untuk berkembang dengan normal. Tanaman jahe ini tidak tahan dengan genangan air sehingga irigasinya harus sering diperhatikan.<sup>21</sup>

### 2.3.2. Morfologi

Jahe merah memiliki struktur kecil beruas rata, bewarna kecoklatan dan berkulit kemerahan. Rimpangnya berlapis dengan serat yang agak kasar, batangnya agak keras, serta bentuknya bulat kecil bewarna hijau kemerahan dan diselubungi oleh pelepah daun. Panjang akar jahe merah 17,03-24,06 cm, diameter akarnya 5,36-5,46 mm, panjang rimpang jahe 12,33-12,60 cm, tinggi rimpang 5,86-7,03 cm, berat rimpang 0,29-1,17 kg, dan tinggi tanaman 14,05-48,23 cm.<sup>22</sup> Daun jahe merah berselang-seling teratur, warna daun lebih hijau (gelap) dibandingkan dengan jahe gajah. Luas daunnya 32,55-51,18 mm,

panjang daun 24,30-24,79 cm, lebar daun 2,79-31,18 cm, dan lebar tajuk 7,97-44,9 cm.<sup>23</sup>

#### 2.3.4. Jahe Merah dan Kandungannya

Jahe merah lebih banyak digunakan sebagai obat sebab kandungan minyak atsiri dan oleoresinnya paling tinggi dibandingkan jahe lainnya, sehingga lebih ampuh menyembuhkan berbagai penyakit. Kandungan atsiri jahe merah bekisar 2,58-3,72% (bobot kering), jahe emprit 1,5-3,3% sedangkan jahe gajah 0,82-1,68%. Kandungan oleoresin jahe merah juga lebih tinggi dibandingkan lainnya, yaitu 3% dari bobot kering.<sup>12</sup> Jahe merah mengandung campuran minyak atsiri dan resin yaitu oleoresin dan flavonoid. Minyak atsiri mempunyai efek antimikrobal dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen.<sup>24</sup> Fenol yang terdapat pada oleoresin dan flavonoid memiliki efek sebagai antiinflamasi untuk menghambat keluarnya enzim siklooksigenase dan lipoksigenase.<sup>24</sup> Kandungan dari nilai gizi jahe merah disajikan pada tabel berikut :

Tabel 2.1. Kandungan Nilai Gizi Jahe Merah<sup>25</sup>

Jenis Zat Gizi	Nilai Gizi per 100 g
Energi	99 kkal
Karbohidrat	17,86 g
Serat	3,60 g
Protein	3,57 g
Sodium	14 mg
Zat besi	1,15 g
Potassium	33 mg
Vitamin C	7,7 mg

Tabel 2.2. Kadar Senyawa Gingerol dan Shogaol Ekstrak Jahe Merah<sup>26</sup>

	Kandungan	Ppm	Kadar (mg/g)
Jahe Merah dengan pelarut etanol 30% metode maserasi	6-gingerol	11,83	1,68
	8-gingerol	0,79	0,12
	6-shogaol	0,63	0,09
	10-gingerol	0,50	0,07
Jahe Merah dengan pelarut etanol 70% metode maserasi	6-gingerol	54,63	5,85
	8-gingerol	11,18	1,19
	6-shogaol	4,32	0,46
	10-gingerol	12,46	1,33
Jahe Merah dengan pelarut etanol 96% metode maserasi	6-gingerol	174,51	35,36
	8-gingerol	39,65	8,03
	6-shogaol	15,15	3,07
	10-gingerol	56,13	11,37

#### 2.4. *Pseudomonas aeruginosa*

##### 2.4.1. Klasifikasi

Klasifikasi dari bakteri *Pseudomonas aeruginosa* sebagai berikut: <sup>27</sup>

Kingdom : Bacteria  
 Phylum : Proteobacteria  
 Class : Gamma Proteobacteria  
 Order : Pseudomonadales  
 Family : Pseudomonadaceae  
 Genus : *Pseudomonas*  
 Spesies : *Pseudomonas aeruginosa*

##### 2.4.2. Deskripsi

*Pseudomonas* merupakan kelompok bakteri yang tersebar luas dalam tanah dan air. *Pseudomonas aeruginosa* merupakan salah satu kelompok pseudomonas dan tergolong kelompok patogen besar yang menyerang manusia dapat membentuk koloni dalam tubuh manusia. Bakteri ini merupakan

patogen nosokomial yang paling penting. Pasien dengan daya tahan tubuh yang rendah dapat terinfeksi oleh *Pseudomonas aeruginosa* bersifat invasif dan toksigenik.<sup>28</sup>

### 2.4.3. Patogenesis

*Pseudomonas aeruginosa* bersifat opportunistik, invasif dan toksigenik. Beberapa kasus kejadian penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Pseudomonas aeruginosa* seperti infeksi saluran kemih, infeksi saluran pernapasan, peradangan pada kulit, infeksi saluran pencernaan dan beberapa kasus kejadian luka bakar.<sup>29</sup> Bakteri ini menjulurkan pilinya untuk melekat pada sel epitel inang ketika akan menginvasi luka terbuka. Setelah itu bakteri ini mengeluarkan protein *leukosidin* yang dapat menghancurkan leukosit dari beberapa spesies, termasuk manusia sehingga akan memperlambat proses penyembuhan luka ketika terjadi inflamasi.<sup>30</sup> Ketika bakteri *Pseudomonas aeruginosa* diinokulasikan pada peritoneal tikus, maka bakteri tersebut memiliki kemampuan untuk bertahan hidup dari serangan imun tubuh manusia karena memiliki kandungan protease dan rhamnolipids. Rhamnolipids akan melindungi *Pseudomonas aeruginosa* dari sistem imun tubuh manusia.<sup>31</sup>

### 2.4.4. Infeksi *Pseudomonas aeruginosa* Terhadap Mediator Inflamasi

*Pseudomonas aeruginosa* dalam proses perlekatannya dengan sel host membutuhkan reseptor *pilus-associated protein PilY1* yang terjadi pada

permukaan basolateral.<sup>3</sup> Kemampuan *P.aeruginosa* untuk masuk ke dalam jaringan bergantung pada produksi enzim ekstraselular dan toksin yang menyebabkan pertahanan *physical barriers* bisa ditembus, merusak sel host, Exotoxin A (ETA), dan empat *type III* (T3), *secreted effectors exoenzyme S* (ExoS), *exoenzyme T* (ExoT), *exoenzyme U* (ExoU), dan *exoenzyme Y* adalah beberapa faktor virulensi yang disekresi *P. Aeruginosa* (ExoY)].<sup>32</sup>

Pada kasus luka bakar dimana diinokulasikan *P.aeruginosa* ke daerah luka, menyebabkan patogenesis bakteri ini melalui kontribusi dari ETA dan sistem T3. Pasien dengan immunosupresan khususnya pada penderita neutropenia akan menyebabkan bakteri ini menginfeksi dan menyebabkan sepsis. ETA merupakan sitotoksik terhadap neutrofil dan makrofag, toksis ini akan menghambat presentasi antigen, produksi sitokin dan fagositosis sehingga toksis ini dapat bekerja pada sistem imun *innate* dan *adaptive*. Sehingga bakteri ini dapat menyebabkan kerusakan organ (khususnya kerusakan hati). ETA disekresi di dalam ekstraselular dan ditransport ke seluruh host dengan target jaringan dan organ. ETA berikatan dengan sel mammalian melalui *reseptor alpha 2-macroglobulin receptor/ LRP* protein, dimana internalisasi ETA melalui reseptor yang diperantarai oleh endositosis.<sup>3</sup>

ETA memfasilitasi *P. aeruginosa* untuk masuk ke dalam sel host. Produksi ETA sebagai pro-enzim yang diaktifkan pada permukaan sel oleh furin memfasilitasi mekanisme untuk memberikan toksin selama proses

transport ke seluruh sel. Toksik ETA menyebabkan kerusakan hati yang berat dan menyebabkan kematian. Selain itu, toksin ETA dapat menghambat sintesis protein aktivasi sel T sehingga menghasilkan produksi TNF- $\alpha$ .<sup>3</sup>

Infeksi ExoU secara khusus berkontribusi dalam luka pada epitel paru-paru, menyebarkan infeksi sehingga menyebabkan kematian pada neonatal dan hewan coba dewasa yang menderita pneumonia. ExoS berkontribusi dalam kolonisasi bakteri pada paru-paru dan menyebar luaskan infeksi ke daerah limfa pada hewan coba dengan pneumonia akut. Sedangkan ExoT memiliki efek yang kurang jika dibandingkan ExoS dan ExoU pada penderita pneumonia dan ExoY tidak memberikan efek jika dibandingkan ExoU, ExoS, dan ExoT pada hewan coba dengan pneumonia dan hewan yang memiliki imunitas rendah. Namun ExoY mencegah pembentukan endotel paru-paru setelah infeksi pada pneumonia akut. Hasil penelitian menunjukkan ExoS dan ExoU menghambat produksi interleukin-1 $\beta$  melalui *in vivo*, yaitu komponen utama pada respon inflamasi dan dapat berkontribusi dalam pemusnahan bakteri. Sel-sel sistem imun seperti neutrofil, monosit, dan makrofag adalah target utama pada toksin T3SS untuk mengawali infeksi.<sup>32</sup>

*P.aeruginosa* juga memproduksi berbagai molekul kecil yang secara langsung dapat menghambat sel-sel imun. *Pyocyanin* adalah sebuah *redox-active phenazine* memicu apoptosis neutrofil secara *in vitro* dan *in vivo*. Cara kerjanya ialah siklus redok ini melibatkan *pyocyanin* dan NADPH pada sel host

sehingga menghasilkan oksidatif yang tinggi (ROS dan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), sehingga terjadi nekrosis. Ikatan ini menyebabkan aktivasi Rac yang merupakan keluarga dari GTPase. Fungsi dari Rac adalah meningkatkan perpindahan komponen sitosolik ke membran, sehingga mengaktifkan oksidasi NADPH. Reaksi oksidasi NADPH dapat menyebabkan peningkatan kebutuhan oksigen oleh sel dimana dikenal dengan *respiratory burst*. Sehingga akan menghasilkan *anion superokside* yang terdapat di dalam lumen fagolisosom dan dibentuk oleh *superoxide dismutase* (SOD) menjadi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Melalui proses kimia dan reaksi enzimatik H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> akan memproduksi ROS (*reactive oxygen species*), *the hydroxyl radical* (\*OH), *hypochlorite* (OCL<sup>-</sup>) dan *hypobromite* (OBR<sup>-</sup>).<sup>33</sup>

#### **2.4.5. Epidemiologi Infeksi Nosokomial Akibat *Pseudomonas aeruginosa***

*Pseudomonas aeruginosa* merupakan patogen nosokomial, dan metode pengendalian infeksi bakteri ini menyerupai metode pengendalian infeksi nosokomial lainnya. Perhatian khusus harus ditujukan pada bak cuci, bak air, pancuran air, bak mandi air panas (*hot tub*), dan tempat – tempat basah lainnya karena bakteri ini akan tumbuh baik di lingkungan yang lembab. Untuk tujuan epidemiologis, tipe galur dapat ditentukan dengan menggunakan teknik molekuler.<sup>30</sup>

Beberapa rumah sakit melakukan penelitian deskriptif mengenai bakteri penyebab infeksi nosokomial. Penelitian yang dilakukan di RSUP Dr. R. D. Kandou Manado pada ruang perawatan intensif anak untuk melihat infeksi

nosokomial. Hasil yang didapatkan terdapat 2 bakteri utama penyebab infeksi nosokomial, yaitu *Staphylococcus* sp. dan *Pseudomonas* sp. Pada bakteri *Pseudomonas* sp. didapatkan 25% dari hasil identifikasi peralatan medis dan 3,33% dari hasil identifikasi dalam ruangan perawatan intensif anak.<sup>1</sup> Di RSUD Dr. Moewardi Surakarta juga dilakukan penelitian mengenai angka dan pola kuman pada dinding, lantai, dan udara ruang ICU (*Intensive Care Unit*). Hasil yang didapatkan berupa pertumbuhan kuman dinding sebesar 4,33%, lantai 15,18% dan udara 80,48%. Pola kuman yang ditemukan pada dinding dan lantai adalah *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus* sp. dan *Bacillus* sp. Sedangkan pola kuman yang ditemukan pada sampel udara adalah *Moraxella lacunata*, *Staphylococcus* sp., *Bacillus* sp., *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli*.<sup>10</sup>

#### **2.4.6. Pengobatan *Pseudomonas aeruginosa***

Infeksi *Pseudomonas aeruginosa* yang telah terbentuk sulit untuk diobati. Infeksi *Pseudomonas aeruginosa* tidak diobati dengan terapi tunggal, karena keberhasilan terapi tunggal cukup rendah sehingga bakteri dapat dengan cepat menjadi resisten. Penisilin yang bekerja aktif terhadap *Pseudomonas aeruginosa* seperti tiasiklin, mezlosilis, dan piperasilim dikombinasikan dengan aminoglikosida, biasanya gentamisin, tobramisin atau amikasin. Obat lain yang aktif terhadap *Pseudomonas aeruginosa* antara lain aztreonam, imipenem, kuinolon baru, seftazidim dan siprofloksasin. Sefalosporin generasi

baru, seftazidim yang digunakan secara primer untuk infeksi *Pseudomonas aeruginosa* dan sefoperakson aktif melawan *Pseudomonas aeruginosa*.<sup>34</sup>

## 2.5. Pengaruh Ekstrak Jahe Merah Terhadap Kadar TNF- $\alpha$ dan MDA

Terdapat beberapa penelitian sebelumnya yang telah memaparkan kandungan dan khasiat jahe merah. Penelitian yang dilakukan oleh Dewi (2019) menyimpulkan bahwa ekstrak jahe merah dapat berpengaruh signifikan terhadap zona hambat bakteri dan ekstrak jahe merah memiliki daerah hambat tertinggi terhadap *Pseudomonas aeruginosa*.<sup>11</sup> Jahe merah (*Zingiber officinale var rubrum*) mengandung senyawa fenolik yaitu shogaol dan 6- gingerol, Zat ini dapat menghambat TNF- $\alpha$  secara langsung maupun menghambat peningkatan *nuclear factor kappa B* (NF-KB) yang berhubungan dengan pembentukan sitokin proinflamasi.<sup>14</sup>

Infeksi *Pseudomonas aeruginosa* secara langsung maupun tidak langsung akan merangsang makrofag melepaskan IL-12. Interleukin-12 berperan dalam pembentukan sel Th1. Selanjutnya bekerjasama dengan IL-1 dan TNF- $\alpha$  merangsang sel T dan sel NK menghasilkan IFN- $\gamma$ . Interferon- $\gamma$  tersebut akan mengaktifkan makrofag alveolar untuk memproduksi berbagai macam substansi, diantaranya adalah *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan memicu terjadinya peroksidasi lipid pada membran sel yang akan menghasilkan *Malondialdehyde* (MDA). Stress oksidatif ditandai dengan adanya peningkatan kadar MDA.<sup>6</sup> Senyawa shogaol dan gingerol merupakan senyawa yang

memiliki cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil yang berfungsi sebagai antioksidan, kemampuannya dalam menstabilkan radikal bebas yaitu dengan memberikan atom hidrogen secara cepat kepada radikal bebas.<sup>35</sup>

Ekstrak jahe merah memiliki kandungan aktif yaitu shogaol dan gingerol. Kedua jenis zat ini dapat menghambat TNF- $\alpha$  lewat dua mekanisme yang berbeda. Shogaol akan bertindak sebagai zat yang dapat menghambat TNF- $\alpha$  karena memiliki fungsi sebagai agonis dari Peroxisome Proliferator Activator Receptor (PPAR $\gamma$  agonist). Aktivasi PPAR  $\gamma$  akan menyebabkan rekrutment nuclear corepressor (NCoR) sehingga akan terjadi inhibisi NF- $\kappa$ B dan inhibisi produksi sitokin pro inflamasi.<sup>36</sup> Penurunan sitokin pro inflamasi ini menyebabkan penurunan respon inflamasi sehingga terjadi pula penurunan produksi sitokin anti inflamasi dalam hal ini adalah TNF- $\alpha$ . Sedangkan pada zat gingerol mempunyai efek inhibisi terhadap TNF- $\alpha$  lewat mekanisme inhibisi pada jalur c-Jun NH<sub>2</sub>-terminal kinase (JNK). Gingerol akan menghambat jalur JNK saat terjadi aktivasi dari SEK1/MKK4.<sup>37</sup>

Ekstrak jahe merah memiliki efek antioksidan dan mengurangi produksi ROS dan peroksidasi lipid. Shogaol akan bertindak sebagai zat antioksidan lewat jalur nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) signaling pathway. Shogaol akan menginduksi ekspresi dari beberapa sel pada jalur Nrf2 seperti MT1, HO-1 dan GCLC sehingga dapat menekan peroksidasi lipid sehingga dapat menekan peroksidasi lipid dan menurunkan kadar MDA.<sup>38</sup>

## BAB III

### KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS

#### 3.1. Kerangka Teori

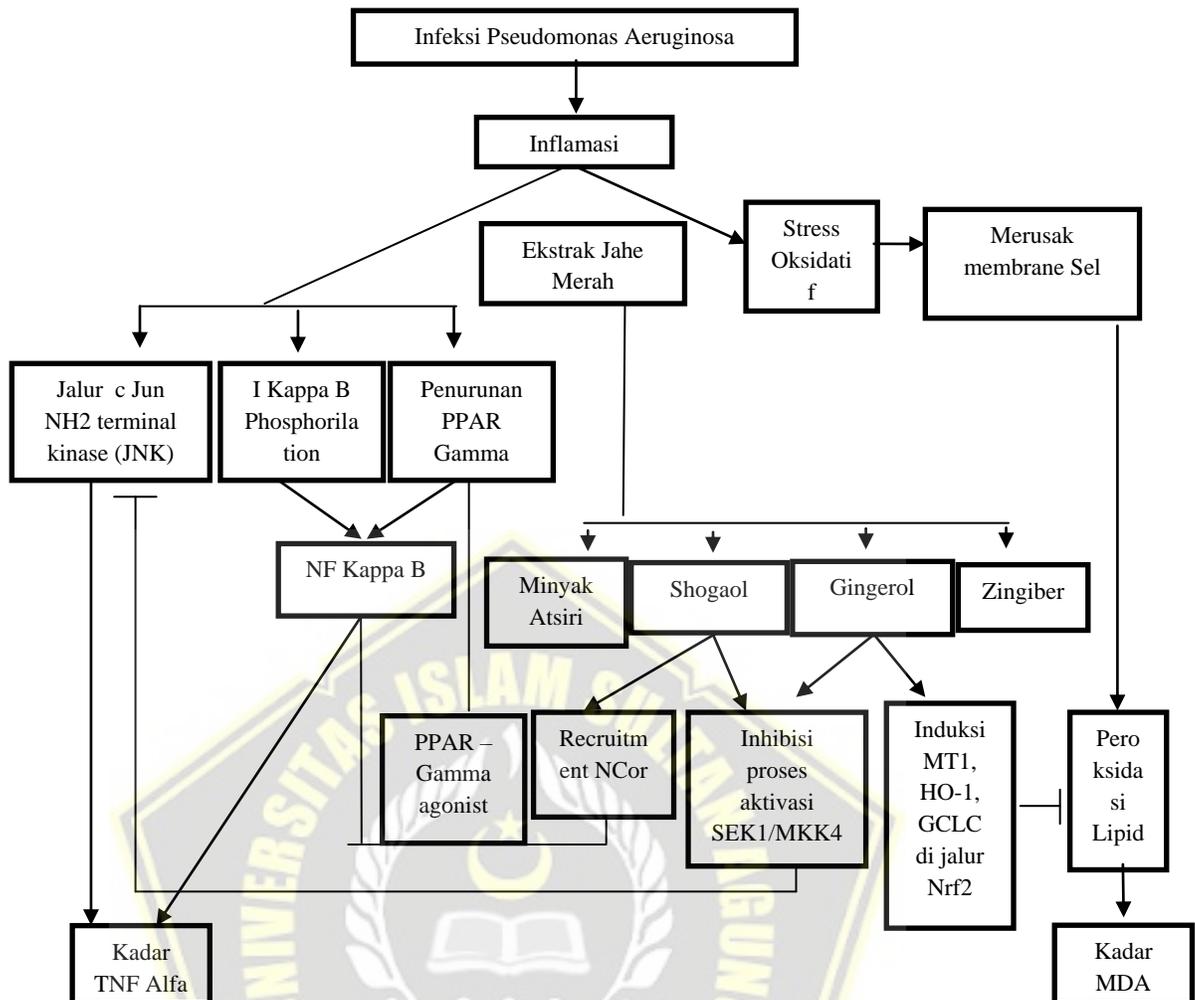
Infeksi *Pseudomonas Aeruginosa* dapat menyebabkan timbulnya reaksi inflamasi pada tubuh. Inflamasi tersebut akan mengaktifkan beberapa mekanisme jalur yang akan meningkatkan kadar TNF- $\alpha$  seperti jalur C Jun NH2 terminal kinase (JNK), Kappa B Phosphorilation, dan PPAR Gamma. Selain itu inflamasi juga akan meningkatkan stress oksidatif sehingga merusak membran sel dan mengakibatkan terjadi peroksidasi lipid dan meningkatkan kadar MDA.

Jahe merah merupakan tanaman jenis rimpang-rimpangan yang dapat tumbuh pada dataran rendah hingga daerah pegunungan. Kandungan zat yang terdapat pada Jahe Merah seperti shogaol dan gingerol dapat menurunkan kadar TNF- $\alpha$  dan MDA pada proses inflamasi.

Shogaol dapat mengaktifasi PPAR- $\gamma$  yang akan menyebabkan rekrutment nuclear corepressor (NCoR) sehingga akan terjadi inhibisi NF- $\kappa$ B dan inhibisi produksi sitokin pro inflamasi menginhibisi jalur C jun NH2 Kinase (JNK) dan akan merekrutmen Ncor yang akan berakibat turunnya NF Kappa B sehingga proses pembentukan TNF- $\alpha$  akan terganggu sehingga kadar TNF- $\alpha$  akan berkurang.

Gingerol merupakan zat yang memiliki efek menurunkan kadar MDA. Gingerol akan bekerja lewat jalur nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) signaling pathway. Gingerol akan menginduksi ekspresi dari beberapa sel pada jalur Nrf2 seperti MT1, HO-1 dan GCLC sehingga dapat menekan peroksidasi lipid dan menurunkan kadar MDA



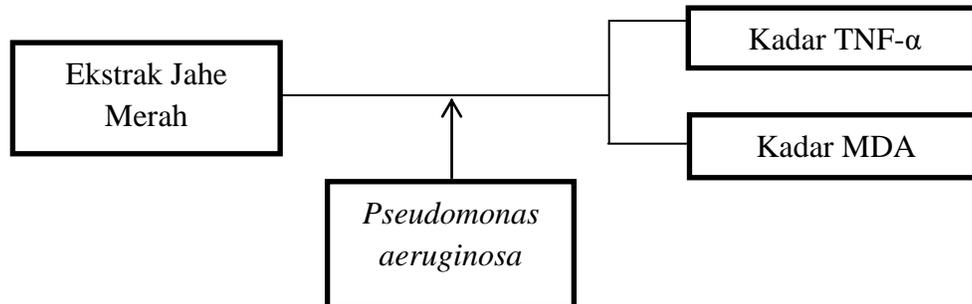


Gambar 3.1. Kerangka Teori

Keterangan :

- : Diteliti       $\rightarrow$  : Menyebabkan  
 : Tidak diteliti

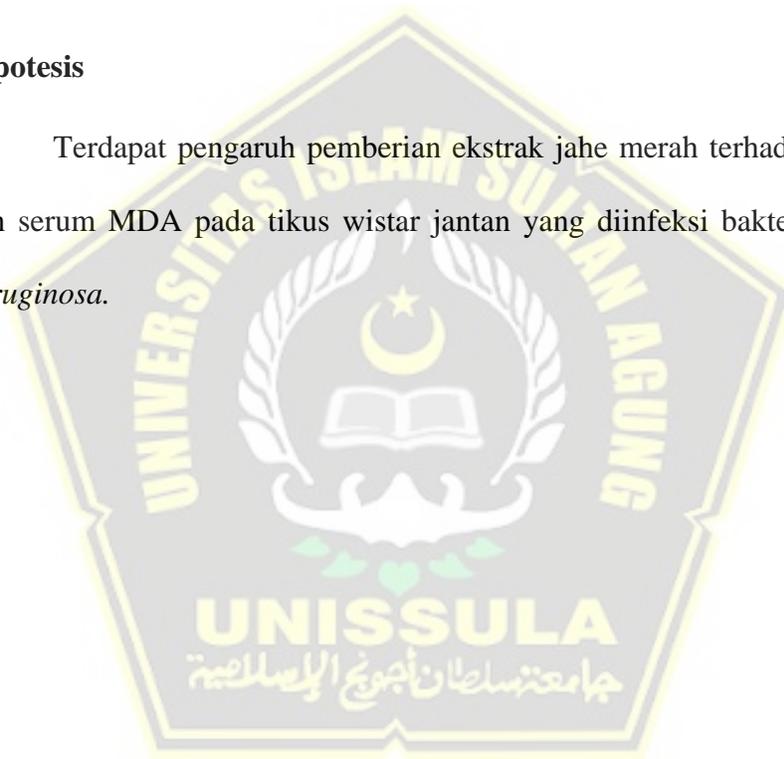
### 3.2. Kerangka Konsep



Gambar 3.2. Kerangka Konsep

### 3.3. Hipotesis

Terdapat pengaruh pemberian ekstrak jahe merah terhadap kadar TNF- $\alpha$  dan serum MDA pada tikus wistar jantan yang diinfeksi bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.



## BAB IV

### METODE PENELITIAN

#### 4.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain penelitian eksperimental dengan rancangan penelitian *Post Test Only Control Group Design*.

#### 4.2. Populasi Penelitian

Populasi pada penelitian ini menggunakan tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) strain Wistar berumur 8-12 minggu, dengan berat badan tikus antara 150-200 gram, yang diperoleh dari Laboratorium PSPG Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada.

#### 4.3. Sampel Penelitian

Sampel penelitian yang digunakan adalah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) strain Wistar yang memenuhi kriteria inklusi, dan eksklusi. Teknik pengambilan yaitu *simple random sampling*. Besar sampel menurut WHO minimal 5 ekor perkelompok dengan cadangan 10% (1 ekor). Sehingga jumlah keseluruhan sampel yang digunakan sebanyak 25 ekor dan 5 ekor cadangan, yaitu 30 ekor sampel.

##### 4.3.1. Kriteria Inklusi

- a. Tikus dalam keadaan aktif, sehat, tingkah laku dan aktivitas normal

#### 4.3.2. Kriteria Eksklusi

- a. Kelainan anatomi

#### 4.3.3. Drop Out

- a. Tikus yang mati pada saat penelitian

### 4.4. Variabel Penelitian

#### 4.4.1. Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah dosis ekstrak jahe merah 20 mg/KgBB, 40 mg/KgBB, 80 mg/KgBB per hari

#### 4.4.2. Variabel Tergantung

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah kadar TNF- $\alpha$  dan serum MDA.

#### 4.4.3. Variabel Prakondisi

Tikus putih jantan strain wistar yang diinfeksi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* secara intraperitoneal sebanyak  $10^8$  cfu dengan volume 0,2 mL.

### 4.5. Definisi Operasional

#### 4.5.1. Ekstrak Jahe Merah

Ekstrak jahe merah yang digunakan dalam penelitian ini adalah jahe merah yang diambil dari petani jahe merah yang berlokasi di Desa Banteran, Kabupaten Banyumas. Diekstrak dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Dosis ekstrak adalah 20mg/KgBB/hari, 40mg/KgBB/hari dan 80mg/KgBB/hari. Skala data ordinal (kategorik).

#### 4.5.2. TNF- $\alpha$

TNF- $\alpha$  merupakan salah satu sitokin pro inflamasi yang berperan dalam regulasi sistem imun. Pengambilan sampel darah dari jantung tikus. Diukur pada hari ke-8. Pengukuran menggunakan alat ukur *Human TNF- $\alpha$  Immunoassay Quantikine Elisa kit* dengan hasil ukur berupa penurunan kadar TNF- $\alpha$  dalam satuan pg/ml. Skala data rasio (numerik).

#### 4.5.3. Serum MDA

MDA merupakan penanda terjadinya kondisi stress oksidatif yang terbentuk dari proses peroksidasi lipid. Pengambilan sampel darah dari jantung tikus. Diukur pada hari ke-8. Pengukurannya menggunakan metode TBARS (*Test Thiobarbituric Acid-reactive Substance*) dengan spektrofotometer dalam satuan nmol/mg. Skala data rasio (numerik).

### 4.6. Instrumen dan Bahan Penelitian

#### 4.6.1. Instrumen Penelitian

- a. Alat perlakuan tikus : kandang tikus berukuran 25 X 25 X 25 cm, botol air, timbangan *electrical scale*, spuit 3 cc, *handscoon*
- b. Alat pembuatan ekstrak jahe merah : oven, inkubator, *rotary evaporator*, kertas saring Whatman nomor 2, blender, pisau, dan pengaduk
- c. Alat pembuatan suspensi bakteri : *beaker glass*, tabung reaksi, bunsen, mikropipet, inkubator, jarum ose, cawan petri, dan pengaduk.

- d. Pengukuran kadar TNF- $\alpha$  dan MDA : kuvet, spektrofotometri, mortar, tabung *ependorf*, pipet tetes, mikropipet, *microtube*, lemari pendingin, seperangkat alat sentrifugasi (tabung sentrifugasi, alat sentrifugasi), inkubator, *vortex*, *tissue*, ELISA kit.

#### 4.6.2. Bahan Penelitian

- a. Bahan perlakuan tikus : Tikus putih jantan galur Wistar usia 2-3 bulan dengan berat badan 150-200 gr, pakan standar (pakan BR-594 *Pokhpand*), aquades, suspensi *Pseudomonas aeruginosa*, ekstrak jahe.
- b. Bahan pembuatan ekstrak jahe merah : etanol 96%, aquades dan jahe merah.
- c. Bahan suspensi bakteri : bakteri murni *Pseudomonas aeruginosa*, *Nutrien Agar*, *Nutrien Broth*, BaCl<sub>2</sub> 1%, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1%, sabun cuci tangan, dan spiritus.
- d. Bahan pengukuran MDA : PBS-azida 1%, larutan stok MDA (*malondyaldehyde tetrabutylammonium salt*) dan 8  $\mu\text{m/ml}$ , 100  $\mu\text{m/ml}$  TCA 10%, 250  $\mu\text{l}$  HCL 1 N, Na-Thio 1%.

#### 4.7. Prosedur Penelitian

##### 4.7.1. Proses adaptasi

Tikus diadaptasikan selama 7 hari, kemudian dilakukan pengelompokan secara random menjadi 5 kelompok. Adaptasi bertujuan agar tikus menyesuaikan terlebih dahulu dengan lingkungan baru.

#### 4.7.2. Pembagian dan perlakuan hewan coba

Dipilih 30 ekor tikus berumur 8-12 minggu dengan berat 150-200 gram dan dibagi menjadi 5 kelompok. Kelompok kontrol negatif, kontrol positif, dan tiga kelompok perlakuan, dimana masing-masing kelompok terdiri atas 6 ekor tikus. Kelompok kontrol negatif digunakan untuk mengetahui kadar normal TNF- $\alpha$  dan MDA.

<b>Kelompok Tikus</b>	<b>Perlakuan</b>	<b>Keterangan</b>
<b>Kontrol Negatif K (-)</b>	Tikus kontrol negatif (sehat)	Kelompok tikus tanpa diberikan perlakuan infeksi <i>P.aeruginosa</i> dan ekstrak jahe merah
<b>Kontrol Positif K (+)</b>	Tikus kontrol positif (sakit)	Perlakuan tikus yang diinfeksi <i>P.aeruginosa</i> 10 <sup>8</sup> CFU/ml per ekor
<b>Perlakuan 1 P (1)</b>	Pemberian ekstrak jahe merah 20 mg/KgBB/hari pada tikus.	Perlakuan tikus yang diinfeksi <i>P.aeruginosa</i> 10 <sup>8</sup> CFU/ml per ekor dan diberikan ekstrak jahe merah selama 7 hari secara peroral menggunakan sonde lambung.
<b>Perlakuan 1 P (2)</b>	Pemberian ekstrak jahe merah 40 mg/KgBB/hari pada tikus	Perlakuan tikus yang diinfeksi <i>P.aeruginosa</i> 10 <sup>8</sup> CFU/ml per ekor dan diberikan ekstrak jahe merah selama 7 hari secara peroral menggunakan sonde lambung.
<b>Perlakuan 1 P (3)</b>	Pemberian ekstrak jahe merah 80 mg/KgBB/hari pada tikus	Perlakuan tikus yang diinfeksi <i>P.aeruginosa</i> 10 <sup>8</sup> CFU/ml per ekor dan diberikan ekstrak jahe merah selama 7 hari secara peroral menggunakan sonde lambung.

#### 4.7.3. Pembuatan ekstrak jahe merah

Ekstrak jahe merah didapatkan dengan metode maserasi. Rimpang jahe merah ditimbang sebanyak 1 kg lalu dibersihkan kemudian dipotong setebal 1-2 mm lalu dikeringkan. Rimpang jahe yang sudah kering dihaluskan dengan cara ditumbuk untuk memperoleh serbuk (simplisia) sebesar 300 g. Serbuk jahe merah dimasukkan ke dalam toples kaca, ditambahkan pelarut etanol 96% sebesar 1,5 liter. Diamkan selama 24 jam dengan temperatur kamar dan diaduk setiap 2 jam. Kemudian ekstrak jahe merah disaring hingga diperoleh filtrat jahe merah. Semua maserat dikumpul dan diuapkan menggunakan *vacum rotatory evaporator* pada suhu 50-60°C.

#### 4.7.4. Penentuan dosis ekstrak jahe

Berdasarkan penelitian Fadhila melaporkan bahwa dosis jahe merah 200 mg/KgBB per oral pada tikus terbukti memiliki efek anti inflamasi yang dibuktikan dengan penurunan kadar TNF- $\alpha$ . Pemilihan dosis menggunakan dosis dari 200 mg/kgBB, setengahnya dan dua kali lipatnya dengan alasan untuk mengetahui apakah dosis jahe merah tersebut tetap memiliki efek. Sehingga dosis yang digunakan dalam penelitian ini adalah 20 mg/KgBB/hari, 40 mg/KgBB/hari, dan 80 mg/KgBB/hari.

#### 4.7.5. Pembuatan suspensi bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

*Pseudomonas aeruginosa* dibiakkan pada media *Phenol Red Mannitol Broth* (PRMB). Dari larutan stok satu ose kultur *P.aeruginosa* diinokulasikan ke dalam media PRMB, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam di dalam inkubator. *Pseudomonas aeruginosa* yang tumbuh pada media PRMB dipindahkan ke dalam *Blood Agar* (BA), diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Dari media BA diambil 1-2 koloni secara aseptis, dimasukkan ke dalam tabung yang berisi larutan NaCl 0,9% sebanyak 2 mL, diaduk dengan kapas lidi steril, sehingga diperoleh kekeruhan yang sama dengan standar kekeruhan larutan 0,5 Mc Farland.

#### 4.7.6. Infeksi *Pseudomonas aeruginosa*

Infeksi *Pseudomonas aeruginosa* dilakukan dengan cara menyuntikkan bakteri secara intraperitoneal pada tikus, diinjeksikan sebanyak 1 kali. Dosis bakteri yang diberikan pada tikus adalah  $10^8$  cfu sebanyak 0,2 ml berdasarkan penelitian pendahuluan kemudian ditunggu dalam 24 jam.

#### 4.7.7. Pengambilan sediaan darah tikus

Pengambilann sediaan darah tikus dilakukan dengan cara *cardiac puncture* (tusuk jantung) untuk mendapatkan darah dalam volume besar. Ukuran jarum yang dipakai untuk *cardiac puncture* adalah 20-21 G pada jantung bagian ventrikel. Tikus dianastesi secara inhalasi dengan kloroform

terlebih dahulu. Jarum disisipkan dibawah tulang rawan *xyphoid* sedikit ke kiri dari garis tengah. Jarum maju dengan sudut 20°-30° dari sumbu horizontal sternum masuk ke jantung. Aspirasi ringan saat bergerak maju dan darah ditarik secara perlahan-lahan.

#### 4.7.8. Prosedur pengukuran kadar TNF- $\alpha$ menggunakan ELISA kit

Untuk mengukur kadar TNF- $\alpha$  dilakukan metode *Enzim Linked Immunosorbent Assay* (ELISA). Prosedurnya sebagai berikut:

1. Darah tikus dimasukan didalam tabung tanpa *Ethylenediaminetetraacetic* (EDTA) untuk dimasukkan kedalam *centrifuge* dengan putaran 3000 rpm selama 10 menit untuk memperoleh serum darah
2. Selanjutnya serum yang telah didapat dilakukan pemeriksaan dengan ELISA yang bertujuan menentukan tingkat TNF- $\alpha$  menggunakan *Human TNF- $\alpha$  Immunoassay Quantikine ELISA kit* dan dibaca menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 450 nm.

#### 4.7.9. Prosedur pengukuran kadar MDA menggunakan spektrofotometer

Pemeriksaan kadar MDA dilakukan dengan cara:

1. Sampel serum darah diambil sebanyak 2 – 3 ml dalam *eppendorf tube*,

2. Ditambahkan 1 ml asam trikloroasetat (TCA) 20%, 0,25 HCl 0,25 N, serta 2 ml asam tiobarbiturat (TBA) 10%.
3. Larutan di homogenkan dengan *vortex* dan dipanaskan dengan *water bath* pada suhu 100° C selama 10 detik kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit
4. Supernatan hasil sentrifugasi diambil dan kadar MDA dibaca dengan mengukur serapan supernatan pada  $\lambda$  530 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis

#### 4.8. Penelitian Pendahuluan

Dikarenakan model penelitian tikus wistar yang diinfeksi *P.aeruginosa* secara intraperitoneal belum pernah dilakukan sebelumnya, maka harus dilakukan penelitian pendahuluan dengan tujuan mengetahui jumlah kadar bakteri *P.aeruginosa* yang mampu benar-benar menginfeksi tikus secara intraperitoneal.

##### 4.8.1. Pembuatan suspensi bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

*Pseudomonas aeruginosa* dibiakkan pada media *Phenol Red Mannitol Broth* (PRMB). Dari larutan stok satu ose kultur *P.aeruginosa* diinokulasi ke dalam media PRMB, selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam di

dalam inkubator. *Pseudomonas aeruginosa* yang tumbuh pada media PRMB dipindahkan ke dalam *Blood Agar* (BA), diinkubasi 24 jam pada suhu 37°C. Dari media BA diambil 1-2 koloni secara aseptis, dimasukkan ke dalam tabung yang berisi larutan NaCl 0,9% 2 mL, diaduk dengan kapas lidi steril, sehingga diperoleh kekeruhan yang sama dengan standar kekeruhan larutan 0,5 Mc Farland.

#### 4.8.2. Infeksi *Pseudomonas aeruginosa*

Infeksi *Pseudomonas aeruginosa* dilakukan dengan cara menyuntikkan bakteri secara intraperitoneal pada tikus, diinjeksikan sebanyak 1 kali. Berdasarkan penelitian terdahulu yang dilakukan Tjahjani (2015) injeksi intraperitoneal bakteri *Staphylococcus aureus* sebanyak  $10^8$  cfu dapat menginfeksi mencit. Pada penelitian pendahuluan ini dosis bakteri yang diberikan pada tikus adalah  $10^8$  cfu dibagi menjadi 5 kelompok, dimana 1 kelompok terdiri dari 2 ekor tikus,

kelompok 1: diinjeksikan *P.aeruginosa* sebanyak 0,1 ml,  
kelompok 2: diinjeksikan *P.aeruginosa* sebanyak 0,2 ml,  
kelompok 3: diinjeksikan *P.aeruginosa* sebanyak 0,4 ml,  
kelompok 4: diinjeksikan *P.aeruginosa* sebanyak 0,5 ml,  
kelompok 5: diinjeksikan *P.aeruginosa* sebanyak 1 ml.

### 4.8.3. Uji bakterimia

Uji bakterimia dilakukan 24 jam setelah tikus diinokulasikan *P.aeruginosa*. Preparat berupa darah diambil melalui sinus orbita tikus sebanyak  $\pm 50 \mu\text{L}$  dan ditampung dalam tabung eppendorf steril, kemudian ditambah dengan  $450 \mu\text{L}$  NaCl 0,9%. Darah yang tercampur NaCl 0,9% kemudian ditanam pada media Blood Agar Plate (BAP), diinkubasi pada suhu  $37^\circ\text{C}$  selama 24 jam. Koloni yang tumbuh pada media BAP ditanam dalam media Heart Infusion Broth (HIB) dalam tabung reaksi dan diinkubasi pada *shaker incubator* dengan suhu  $37^\circ\text{C}$ , 120 rpm, selama 36 jam. Setelah dilakukan inkubasi, maka dilakukan penanaman pada media Kligler Iron Agar (KIA) dengan cara ditusukkan menggunakan ose steril. Selanjutnya dilakukan inkubasi pada suhu  $37^\circ\text{C}$  selama 18-24 jam. Bakteri *P.aeruginosa* dapat mengubah warna media dari merah menjadi kuning pada daerah tusukan.<sup>39</sup>

Kelompok 1: didapatkan hasil, 1 ekor tikus positif terinfeksi, 1 ekor negatif

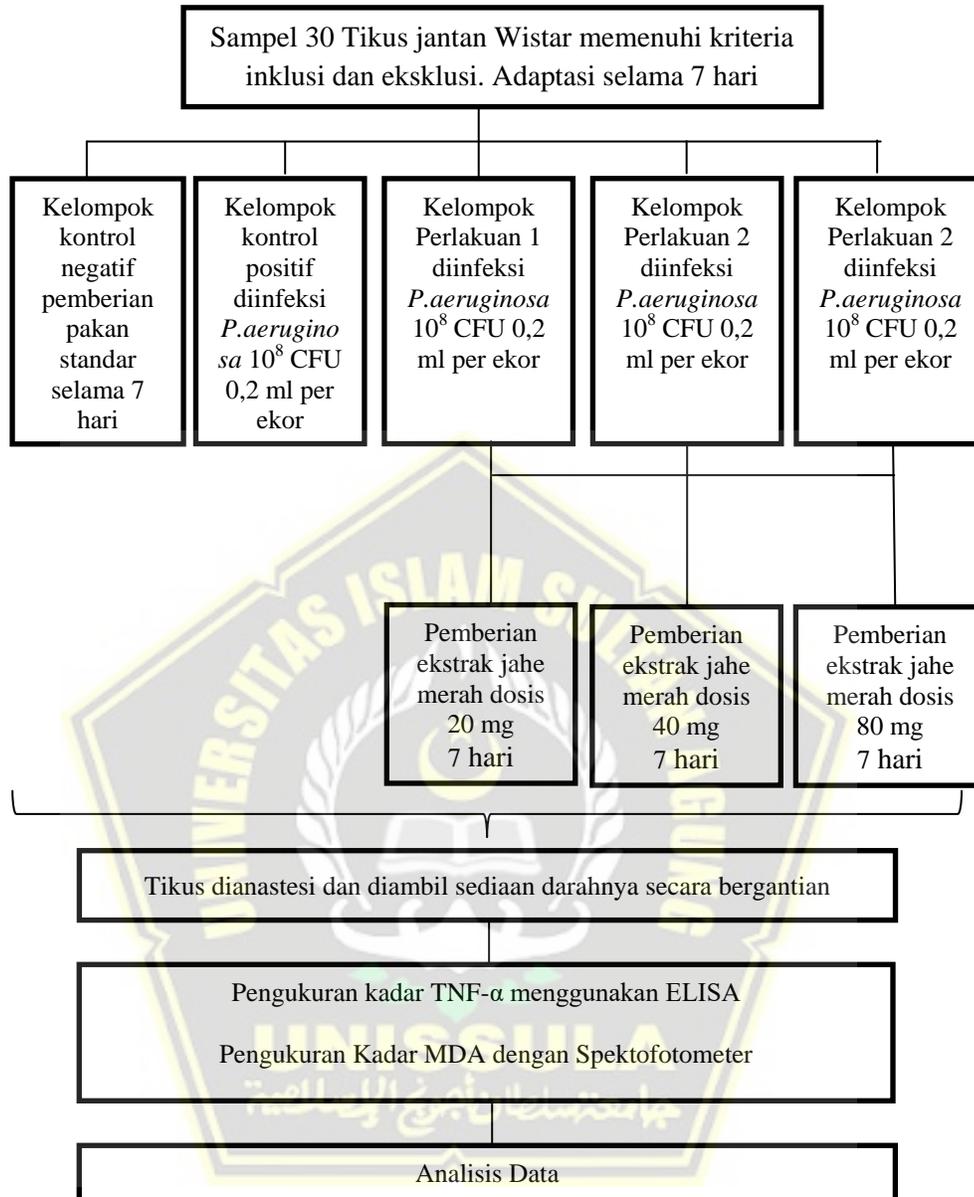
Kelompok 2: didapatkan hasil, 2 ekor tikus terinfeksi

Kelompok 3: didapatkan hasil, 2 ekor tikus terinfeksi

Kelompok 4: didapatkan hasil, 2 ekor tikus terinfeksi

Kelompok 5: didapatkan hasil, 2 ekor tikus terinfeksi

#### 4.9. Alur Penelitian



#### 4.9. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April 2022. Pembuatan ekstrak jahe merah dilakukan di Laboratorium PSPG Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Pemeliharaan hewan coba dilaksanakan di Laboratorium PSPG Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Suspensi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* didapatkan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Pemeriksaan kadar TNF- $\alpha$  dan MDA dilakukan di Laboratorium PSPG Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

#### 4.10. Analisis Data

Data rerata kadar TNF- $\alpha$  dan MDA disajikan secara deskriptif dalam bentuk tabel dan grafik. Kemudian data dilakukan uji normalitas dengan uji *Shapiro Wilk* dan uji homogenitas dengan uji *Lavene test*. Distribusi data kadar TNF- $\alpha$  dan MDA didapatkan hasil normal dan homogen, sehingga dilanjutkan uji *One Way Anova* ( $p < 0,05$ ) kemudian dilanjut dengan uji post hoc dengan uji *Tukey*.

## BAB V

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 5.1. Hasil Penelitian

Penelitian pemberian ekstrak jahe merah terhadap kadar TNF- $\alpha$  dan serum MDA pada tikus jantan galur wistar yang diinfeksi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang telah dilakukan selama 7 hari. Hasil penelitian tersebut tertera pada tabel 5.1.

Hasil analisis rerata kadar TNF- $\alpha$  dan serum MDA setelah perlakuan tertera pada tabel 5.1.

Table 5.1. Hasil analisis rerata kadar TNF- $\alpha$  dan serum MDA

Variabel	Kelompok					Sig.(p)
	K (-) N=5 Mean	K (+) N=5 Mean	P1 N=5 Mean	P2 N=5 Mean	P3 N=5 Mean	
<b>Kadar TNF-<math>\alpha</math></b>	5.7650	17.8983	12.2950	9.0300	7.0700	
Std. deviasi	.28290	.39398	.31628	.73640	.39870	
Shapiro Wilk	.506*	.883*	.570*	.349*	.849*	
Levene Test						.070**
One Way Anova						.000***
<b>Kadar MDA</b>	1.3333	11.1017	5.0983	3.8733	3.0000	
Std. deviasi	.17224	.45159	.24244	.33476	.23983	
Shapiro Wilk	.954*	.561*	.534*	.577*	.667*	
Levene Test						.147**
One Way Anova						.000***

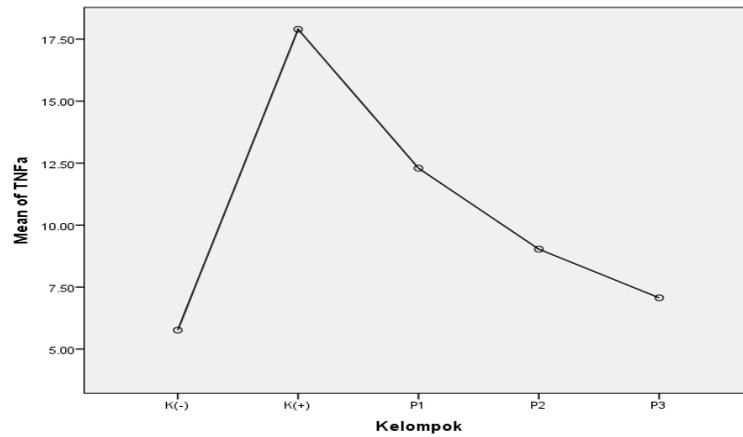
**Keterangan:** \*Normal P>0,05 \*\*Homogen p>0,05 \*\*\*Signifikan p<0,05

Rerata kadar TNF

### 5.1.1. Kadar TNF- $\alpha$

Gambar 5.1. menunjukkan bahwa rerata kadar TNF-  $\alpha$  terendah yaitu pada kelompok kontrol K(-), kemudian berturut-turut diikuti oleh kelompok perlakuan ketiga (P3), kelompok perlakuan kedua (P2), kelompok perlakuan satu (P1), dan kelompok kontrol K (+). Kelompok perlakuan (P3) mendapatkan rerata kadar TNF-  $\alpha$  terendah. Berdasarkan uji *Shaphiro Wilk* seluruh kelompok kadar TNF-  $\alpha$  menunjukkan data berdistribusi normal ( $P > 0,05$ ) dan uji homogenitas menggunakan *Levene Test* hasilnya homogen ( $p > 0,05$ ) maka analisis data menggunakan uji *One Way Anova*. Hasil uji *One Way Anova* menunjukkan perbedaan bermakna antar kelompok ( $p = 0.000$ ). Untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda bermakna dilakukan uji *post Hoc* dengan uji *Tukey* seperti yang disajikan pada table 5.2.

Hasil uji *Tukey* pada tabel 5.2. menunjukkan kadar TNF- $\alpha$  antar kelompok memiliki perbedaan yang signifikan pada semua kelompoknya ( $p = 0.000$ ). berdasarkan data diatas dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak jahe merah dengan dosis 20mg/KgBB/Hari, 40mg/KgBB/Hari, 80mg/KgBB/Hari berpengaruh secara signifikan terhadap penurunan kadar TNF- $\alpha$  pada tikus wistar jantan yang diinjeksi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* sehingga pernyataan hipotesis dapat diterima.



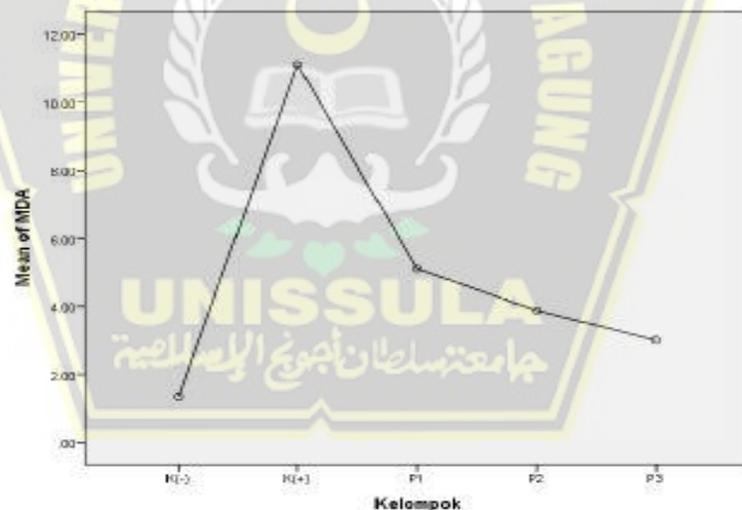
Gambar 5.1. Rerata Kadar Tnf- $\alpha$  (pg/ml)

Tabel 5.2. Perbedaan Kadar TNF- $\alpha$  antar 2 kelompok menggunakan uji *Tukey*

	Kelompok	Sig.
K(-)	K(+)	.000*
	P1	.000*
	P2	.000*
	P3	.000*
K(+)	K(-)	.000*
	P1	.000*
	P2	.000*
	P3	.000*
P1	K(-)	.000*
	K(+)	.000*
	P2	.000*
	P3	.000*
P2	K(-)	.000*
	K(+)	.000*
	P1	.000*
	P3	.000*
P3	K(-)	.000*
	K(+)	.000*
	P1	.000*

### 5.1.2. Kadar MDA

Gambar 5.2. menunjukkan bahwa rerata kadar MDA terendah yaitu pada kelompok kontrol K(-), kemudian berturut-turut diikuti oleh kelompok perlakuan ketiga (P3), kelompok perlakuan kedua (P2), kelompok perlakuan satu (P1), dan kelompok kontrol K (+). Kelompok perlakuan (P3) mendapatkan rerata kadar TNF-  $\alpha$  terendah. Berdasarkan uji *Shaphiro Wilk* seluruh kelompok kadar TNF- $\alpha$  menunjukkan data berdistribusi normal ( $P > 0,05$ ) dan uji homogenitas menggunakan *Levene Test* hasilnya homogen ( $p=0.147$ ) maka analisis data menggunakan *OneWay Anova* dan menunjukkan perbedaan bermakna antar kelompok ( $p= 0.000$ ). Untuk mengetahui kelompok mana yang bermakna dilakukan uji *post Hoc* dengan uji *Tukey* seperti yang disajikan pada table 5.2.



Gambar 5.2. Rerata Kadar MDA (nmol/ml)

Tabel 5.3. Perbedaan Kadar MDA antar 2 kelompok menggunakan uji *Tukey*

	Kelompok	Sig.
K(-)	K(+)	.000*
	P1	.000*
	P2	.000*
	P3	.000*
K(+)	K(-)	.000*
	P1	.000*
	P2	.000*
	P3	.000*
P1	K(-)	.000*
	K(+)	.000*
	P2	.000*
	P3	.000*
P2	K(-)	.000*
	K(+)	.000*
	P1	.000*
	P3	.000*
P3	K(-)	.000*
	K(+)	.000*
	P1	.000*
	P2	.000*

Hasil uji *Tukey* pada tabel 5.3. menunjukkan kadar MDA antar kelompok memiliki perbedaan yang signifikan disemua kelompoknya ( $p=0.000$ ). Berdasarkan data diatas dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak jahe merah dengan dosis 20mg/ekor/hari, 40mg/ekor/hari, 80mg/ekor/hari berpengaruh secara signifikan terhadap penurunan kadar MDA pada tikus wistar jantan yang diinjeksi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* sehingga pernyataan hipotesis dapat diterima.

## 5.2. Pembahasan

Hasil yang diperoleh dari penelitian dapat dilihat pada tabel 5.1. yang menunjukkan kadar TNF- $\alpha$  dan MDA tikus pada kelompok kontrol negatif adalah 5.7650 pada kadar TNF- $\alpha$  serta 1.333 pada kadar MDA. Sedangkan terlihat adanya

peningkatan kadar TNF- $\alpha$  dan MDA tikus pada kelompok kontrol positif (setelah tikus diinfeksi bakteri *Pseudomonas aeruginosa*) yaitu 17.8983 pada kadar TNF- $\alpha$  dan 11.1017 pada kadar MDA. Perbedaan kadar TNF- $\alpha$  dan MDA pada kelompok kontrol negatif dan kelompok kontrol positif diduga karena adanya perlakuan pada tikus yang diinfeksi bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan Tjahjani (2015), namun pada mencit yang diinfeksi bakteri *Staphylococcus aureus*, 24 jam kemudian terjadi peningkatan kadar TNF- $\alpha$  dibandingkan tikus yang tidak diinfeksi *Staphylococcus aureus*.<sup>15</sup> Al-Husseini *et al* (2020) pada penelitian tikus yang diinfeksi oleh bakteri *Pseudomonas aeruginosa* memberikan hasil berupa peningkatan kadar TNF- $\alpha$  dan MCP-1 yang signifikan pada plasma dan jaringan organ dibandingkan kelompok tikus kontrol negatif<sup>40</sup>.

Infeksi *Pseudomonas aeruginosa* akan mengsekresi toksin ETA (exotoxin A) yang dapat menghambat sintesis protein aktivasi sel T sehingga menghasilkan TNF- $\alpha$ , sejalan dengan penelitian ini bahwa dengan adanya inokulasi bakteri *P.aeruginosa* kepada tikus maka terjadi peningkatan kadar TNF- $\alpha$ .<sup>3</sup> Peningkatan TNF- $\alpha$  dikaitkan juga dengan aktivitas transkripsi faktor nuklir-kappaB (NF-kB) serta penghambatan ekspresi PPAR- $\gamma$ .<sup>41</sup> Infeksi *Pseudomonas aeruginosa* akan merangsang makrofag melepaskan IL-12 baik secara langsung maupun tidak langsung. Interleukin-12 berperan dalam pembentukan sel Th1. Selanjutnya bekerjasama dengan IL-1 dan TNF- $\alpha$  merangsang sel T dan sel NK menghasilkan IFN- $\gamma$ . Interferon- $\gamma$  tersebut akan mengaktifkan makrofag alveolar untuk memproduksi berbagai macam substansi,

diantaranya adalah *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan memicu terjadinya kerusakan membran sel kemudian mengganggu peroksidasi lipid pada membran sel yang akan menghasilkan *Malondialdehyde* (MDA). Peningkatan MDA dijadikan sebagai penanda terjadinya stress oksidatif.<sup>6</sup>

Hasil pengamatan uji pada tabel 5.1. menunjukkan bahwa kadar TNF- $\alpha$  kelompok perlakuan P1, P2 dan P3 yang diinfeksi *P.aeruginosa* lebih rendah dibanding kelompok kontrol positif. Penelitian sebelumnya tentang ekstrak jahe merah terbukti dapat menurunkan sel-sel radang termasuk TNF- $\alpha$  pada gambaran histopatologi pankreas tikus putih yang diinduksi aloksan.<sup>13</sup> Hal ini sesuai dengan teori bahwa ekstrak jahe merah memiliki kandungan aktif yaitu shogaol dan gingerol. Shogaol menghambat TNF- $\alpha$  karena memiliki fungsi sebagai agonis dari Peroxisome Proliferator Activator Receptor (PPAR $\gamma$  agonist, sedangkan gingerol menghambat TNF- $\alpha$  lewat mekanisme inhibisi jalur c-Jun NH<sub>2</sub>-terminal kinase (JNK).<sup>37</sup> Shogaol dan gingerol dapat menurunkan kadar TNF- $\alpha$  pada kelompok perlakuan P1, P2, dan P3. Kelompok P3 dengan dosis 80mg/KgBB/hari bahkan dapat menurunkan kadar TNF- $\alpha$  mendekati kadar kelompok K (-). Jahe merah (*Zingiber officinale var rubrum*) mengandung senyawa fenolik yaitu shogaol dan 6- gingerol, Zat ini dapat menghambat TNF- $\alpha$  secara langsung maupun menghambat peningkatan *nuclear factor kappa B* (NF-KB) yang berhubungan dengan pembentukan sitokin proinflamasi.<sup>14</sup>

Ekstrak jahe merah terbukti pada penelitian yang dilakukan oleh Dewi (2019) dapat berpengaruh signifikan terhadap zona hambat bakteri dan ekstrak jahe merah memiliki daerah hambat tertinggi terhadap *Pseudomonas aeruginosa*.<sup>11</sup> Penelitian ini selaras dengan penelitian terdahulu yang menggunakan kombinasi ekstrak jahe merah dan alang-alang pada dosis 18+40 mg dan 36+40 mg dapat menurunkan kadar MDA serum tikus OA<sup>12</sup>. Sesuai dengan teori bahwa shogaol akan bertindak sebagai zat antioksidan lewat jalur *nuclear factor erythroid 2-related factor 2* (Nrf2) signaling pathway, menginduksi ekspresi dari beberapa sel pada jalur Nrf2 seperti MT1, HO-1 dan GCLC sehingga dapat menekan peroksidasi lipid dan menurunkan kadar MDA.<sup>39</sup> Hasil pemeriksaan MDA yang peneliti lakukan menunjukkan adanya penurunan kadar MDA pada tikus yang diinfeksi *P.aeruginosa* dan diberi ekstrak jahe merah selama 7 hari. Data hasil uji menunjukkan bahwa kadar MDA kelompok perlakuan P1, P2 dan P3 yang diinfeksi *P.aeruginosa* dan diberi ekstrak jahe merah lebih rendah dibanding kelompok kontrol positif. Ekstrak jahe merah memiliki efek antioksidan dan mengurangi produksi ROS dan peroksidasi lipid. Peroksidase lipid sendiri akan menghasilkan zat yang dinamakan Malondialdehyde (MDA).<sup>39</sup>

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh dan kajian teoritik yang telah peneliti uraikan diatas, maka hipotesis pemberian ekstrak jahe merah dapat menurunkan kadar MDA dan TNF- $\alpha$  pada tikus yang diinfeksi bakteri *P.aeruginosa* telah terbukti.

### 5.3. Keterbatasan Penelitian

- Pada penelitian yang peneliti lakukan hanya berfokus pada MDA dan ekspresi TNF- $\alpha$ , sedangkan kandungan flavonoid pada jahe merah memiliki sifat imunomodulator yang dapat mengeliminasi pathogen dan dapat diperiksa sebagai variabel tambahan.



## BAB VI

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 6.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan mengenai pengaruh pemberian ekstrak jahe merah terhadap kadar TNF- $\alpha$  dan serum MDA pada tikus yang diinfeksi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* selama 7 hari, dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak jahe merah mampu menurunkan kadar TNF- $\alpha$  dan serum MDA pada tikus jantan galur wistar yang diinfeksi bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

- 6.1.1. Pemberian ekstrak jahe merah dengan dosis 20 mg/KgBB/hari, berpengaruh terhadap kadar TNF- $\alpha$  dan serum MDA pada tikus wistar jantan yang diinfeksi *Pseudomonas aeruginosa*.
- 6.1.2. Pemberian ekstrak jahe merah dengan dosis 40 mg/KgBB/hari, berpengaruh terhadap kadar TNF- $\alpha$  dan serum MDA pada tikus wistar jantan yang diinfeksi *Pseudomonas aeruginosa*.
- 6.1.3. Pemberian ekstrak jahe merah dengan dosis 80 mg/KgBB/hari, berpengaruh terhadap kadar TNF- $\alpha$  dan serum MDA pada tikus wistar jantan yang diinfeksi *Pseudomonas aeruginosa*.
- 6.1.4. Terjadi peningkatan kadar TNF- $\alpha$  dan serum MDA pada tikus yang diinfeksi bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.
- 6.1.5. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa kadar TNF- $\alpha$  kelompok perlakuan P1, P2 dan P3 yang diinfeksi *P.aeruginosa* lebih rendah dibanding kelompok

kontrol positif. Begitupula dengan kadar MDA, kelompok perlakuan P1, P2 dan P3 lebih rendah dibanding kelompok kontrol positif.

## 6.2. Saran

- Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut yang mendalami efek imunomodulator yang dihasilkan oleh kandungan flavonoid jahe merah.



## DAFTAR PUSTAKA

- 1 Baharutan, Anastashia. Pola Bakteri Penyebab Infeksi Nosokomial pada Ruang Perawatan Intensif Anak di BLU RSUP Prof. Dr. R. D. Kandou Manado. Universitas Samratulangi Manado. 2015
- 2 Melinda, Clara Rosa. Karakterisasi dan uji aktivitas antibakteri dari fungi endofit daun Afrika (*Vernonia amygdalina*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Universitas Katolik Widya Mandala: Surabaya. 2019
- 3 Ervina, Waode Fifin., Widodo, Agung Dwi Wahyu., Dahlan, Yoes Prijata. Pengaruh Pemberian +dalethyne Terhadap Jumlah Ekspresi IL-1 $\beta$  Pada Tikus yang Diinfeksi *Pseudomonas aeruginosa*. Jurnal Biosains Pascasarjana Vol. 19. Universitas Airlangga. Surabaya. 2017
- 4 Utami, R.E. Antibiotika, Resistensi dan Rasionalitas Terapi. Malang: Fakultas Saintek Universitas Islam Negri Maulana Malik. Halaman 124-138. 2012
- 5 Ali IR, Lestari, Rosaria D, Andriana D. Perbandingan Efek Perasan Lidah Buaya (*Aloe vera*) dengan *Povidone Iodine* Terhadap Kadar Superoxide Dismutase dan Malondialdehid Serum Tikus Wistar dengan Luka Sayat. Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang. 2019
- 6 Fardila, Duanti Rahma. Terapi Salep Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* Linn.) Terhadap Ekspresi TNF- $\alpha$  dan Jumlah Sel Radang Pada Tikus (*Rattus novergicus*) Model Luka Insisi yang Diinfeksi *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Fakultas keokteran Hewan Universitas Brawijaya. Malang. 2018
- 7 Fadilah, Mentari Nur. Pengaruh Ekstrak Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. *rubrum*) Terhadap Kadar TNF- $\alpha$  Pada Tikus Putih Jantan (*Rattus novergicus* strain wistar) Yang Diinduksi Etambutol, Pirazinamid dan Levofloksasin. Undergraduate (S1) thesis, University of Muhammadiyah Malang. 2019
- 8 Sadikim, Rahel Yuana., Sandhika, Willy., Saputro, Iswinarno Doso. Pengaruh Pemberian Ekstrak Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. *rubrum*) terhadap Jumlah Sel Makrofag fan Pembuluh Darah pada Luka Bersih Mencit (*Mus musculus*) Jantan (Penelitian pada Hewan Coba). Jurnal Periodical of Dermatology and Venerology Vol.30 No.2. Fakultas Kedokteran Universitas Air Langga. 2018
- 9 Nafisyah, Ludfatun. Uji Sensitivitas Ekstrak Jahe (*Zingiber officinale*) Terhadap Bakteri *Pseudomonas fluorescens* Secara In Vitro. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya. 2017

- 10 Oktarini, Mustika. Angka dan Pola Kuman pada Dinding, Lantai dan Udara di Ruang ICU RSUD Dr. Moewardi Surakarta [Skripsi], Surakarta, Universitas Muhammadiyah Surakarta. 2013
- 11 Dewi, Dea Intania. Kemampuan Ekstrak n-heksan Jahe Merah (*Zingiber officinale rose var rubrum*) terhadap Bakteri Streptococcus mutans. Repository Universitas Muhammadiyah Semarang: Semarang. 2019
- 12 Rachman, Dedian Fajar, Merlita Herbani, Doti Wahyuningsih. Efek Kombinasi Dekokta Rimpang *Zingiber officinale var rubrum* dan Rimpang *Imperta clindrica* Terhadap Kadar *Superoxide Dismutase* (SOD) Serum dan *Malondialdehyde* (MDA) serum Tikus Osteoarthritis. Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang. Malang. 2019
- 13 Riduan, Ria Janita. Pengaruh Pemberian Ekstrak Jahe Merah Terhadap Gambaran Histopatologi Pankreas yang Diinduksi Aloksan. Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Majority Volume 4 Nomor 8. 2015
- 14 Diapeti, Arinta Maipa, Herbani Merlita, Wahyuningsih Doti. Pengaruh Kombinasi Dekokta *Zingiber officinale var rubrum* dan *Imperata clyindrica* Terhadap Kadar TNF- $\alpha$  Serum Tikus Osteoarthritis. Fakultas Kedokteran Universitas Malang. 2019
- 15 Tjahjani, Nur Patria. Efektivitas Ekstrak Daun Ungu untuk Menurunkan Kadar TNF- $\alpha$  dan NO. Tesis. Universitas Diponegoro:Semarang. 2015
- 16 Fajeria, Aida Latifatul. Pengaruh Preventif Ekstrak Daun Dewandaru (*Eugenia uniflora. L*) Terhadap Kaadar *Malondialdehyde* (MDA) dan Histopatologi Duodenum Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Model Gastroenteritis Hasil Induksi *Escherichia coli*. Fakultas Kdokteran Hewan Universitas Brawijaya. Malang; 2017
- 17 Widyaningsih, Indah. Pengaruh Ekstrak Etanol Kulit Manggis Terhadap Perbaikan Jaringan Paru Pada Tikus Tuberkulosis yang Diberi Inh dengan Indikator IL 10, TNF- $\alpha$ ,MDA, Jumlah Koloni. Doctor Thesis Universitas Brawijaya. Malang. 2019
- 18 Kwiecien S, Jasnos K, Magierowski M, Sliwowski Z, Padjo R, Brzozowski B, Mach T, Wojcick D, Brzozowski T. Lipid Peroxidation, Reactive Oxygen Species And Antioxidative Factors In The Pathogenesis Of Gastic Mucosal Lession And Mechanism Of Protection Against Oxidative Stress – Induced Gastric Injury. Jagiellonian University Medical College, Cracow, Poland; 2014
- 19 Tjitrosoepomo, Gembong. Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta). Gadjah Mada University Press; Yogyakarta. 1991. 152-155, 443-445.

- 20 Hapsoh., Hasanah Yaya., Julianti Elisa. *Budidaya dan Teknologi Pascapanen Jahe*. Medan: USU Press. 2010.
- 21 Permana, Yudha. *Penetapan Kadar Minyak Atsiri Rimpang Jahe Gajah (Zingiber officinale Roscoe var. officinale) dan Rimpang Jahe Merah (Zingiber officinale Roscoe var. amarum) Menggunakan Alat Stahl*. Medan. 2012
- 22 Rukmana, R., dan Yudirachman, H. *Budidaya & Pascapanen Tanaman Obat Unggulan*. Yogyakarta: Farm Bigbook. 2016
- 23 Handrian, Prasetyo. Uji Antibakteri Ekstrak Jahe Merah *Zingiber officinale var. rubrum* Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Journal of Research and Technologies: Akademi Farmasi Surabaya*. Surabaya. 2016
- Holt, J.G et al., 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Ninth Ed. A Wolters Kluwer Company. Philadelphia. Hal 562-570
- 24 Sandhori, Fajar Jamaluddin. Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* Dari Ekstrak Etanol dan Fraksi Rimpang Jahe Merah (*Zingiber officinale var. Rubrum*). Universitas Jember: Jember. 2018
- 25 Aryanta, I Wayan Redi. Manfaat Jahe untuk Kesehatan. *E-Jurnal Widya Kesehatan*, Vol 1 No 2 Oktober 2019. Universitas Hindu Indonesia. 2019
- 26 Rahmadani, Santi., Sa'diah , Siti., Wrdatun, Sri. *Optimasi Ekstrak Jahe Merah (Zingiber officinale RosceaI Dengan Metode Maserasi*. Bandung Institute Pertanian Bogor. 2018
- 27 Bergey DH, Holt Jhon G. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Ninth Ed. A Wolters Kluwer Company. Philadelphia. Hal 562-570. 1994
- 28 Sinulingga, Indra Sapta Dharma. Efektivitas Antibakterial Madu In Vitro terhadap *Pseudomonas Aeruginosa* ATCC 27853. Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret. Surakarta. 2015
- 29 Ananto, Farizky Jati. Pengaruh Gel Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Terhadap Penutupan Luka Infeksi *Pseudomonas aeruginosa* Pada Tikus Putih Jantan Wistar (*Rattus novergicus*). Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Malang. 2017
- 30 Brooks, G.F., Carroll, K.C., Butel, J.S., Morse, S.A., Mietzner, T.A. *Mikrobiologi kedokteran*. Edisi 25. Penerjemah E. Nugroho dan R.F. Maulany. Jakarta: EGC.2014
- 31 Christensen, Louise D. Synergistic antibacterial efficacy of early combination treatment with tobramycin and quorum-sensing inhibitors against *Pseudomonas aeruginosa* in an intraperitoneal foreign-body infection mouse model. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy: Copenhagen*. 2012

- 32 Alouf, Joseph; Daniel dan Michael. The Comprehensive Sourcebook of Bacterial Protein Toxins. Elsevier. 2015
- 33 Murphy Kenneth, Weaver Casey. Janeway's Immunobiology Edisi 9. Garland Science. New York and London. 2017
- 34 Putri, Rasyidia Laksmi. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* secara in vitro. 2016
- 35 Susanti, Tika Mei Indah. Analisis Antioksidan, Total Fenol dan Kadar Kolesterol pada Kuning Telur Asin dengan Penambahan Ekstrak Jahe. Journal of Nutrition College: Vol 4 No 2: Semarang. 2015
- 36 Hidayat Rakhmat. Peroxisome Proliferator Activator Receptor (PPAR)  $\gamma$  Agonis Menurunkan Kadar Sitokin Anti Inflamasi TGF- $\beta$  dan IL-10 pada Tikus Putih Wistar Model Inflamasi Vaskular. Jurnal Kedokteran dan Kesehatan: Palembang. 2015.
- 37 Isa Yasuka, Miyakawa Yuri, Yanagisawa Masayoshi. 6-Shogaol and 6-gingerol, the pungent of ginger, inhibit TNF- $\alpha$  mediated downregulation of adiponectin expression via different mechanisms in 3T3-L1 adipocytes. Biochemical and Biophysical Research Communications: Jepang. 2008
- 38 Purnama WB, Indrayudha P, Munawaroh R. *Aktivitas antibakteri glukosa terhadap bakteri Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Bacillus subtilis, dan Escherichia coli* (Doctoral dissertation, Universitas Muhammadiyah Surakarta). 2013
- 39 Mao Qian-qian, Xu Xiao-Yu, Cao Shi-Yu, Gan Ren-You, Corke Harold, Beta Trust, Li Hua-Bin. Bioactive Compounds and Bioactivities of Ginger (*Zingiber officinale Roscoe*). Foods: Guangdong, China. 2019
- 40 Al-Huseini Ala MH, Mohammed Ghaidaa Jihadi, Kliaf Saba Falah. Study of the Correlation between Levels of TNF- $\alpha$  and MCP-1 in Plasma and Tissues of Rats Infected with *Pseudomonas aeruginosa*. Iraq. 2020
- 41 Bhullar Amritpal S, Putman Charles T, Mazurak Vera C. Potential Role of Omega-3 Fatty Acids on The Myogenic Program of Satellite Cells: Journal of Nutrition and Metabolic Insights. Canada. 2016