

## STUDI PUSTAKA SISTEMATIS: PENGARUH DELIMA (*Punica granatum L.*) TERHADAP KADAR OSTEOKLAST PADA OATEOARTHTRITIS

Nurma Aulia Urrohmah<sup>1</sup>, Andri Tilaqza<sup>2</sup>, Doti Wahyuningsih<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang, Jl. MT. Haryono 193, Malang, Jawa Timur, Indonesia

<sup>2</sup>Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang, Jl. MT. Haryono 193, Malang, Jawa Timur, Indonesia

\*E-mail co Author : [dotiwahyuningsih@unisma.ac.id](mailto:dotiwahyuningsih@unisma.ac.id)

**Abstract:** Osteoclasts are bone absorbers and involved in progressive joint disease. Osteoclasts are indirectly involved in cartilage degradation in osteoarthritis through bone resorption. Pomegranate has been proved to have an anti-osteoclastogenesis property to decrease osteoclast. This systematic literature review studies the anti-osteoclastogenesis potency of pomegranate's (*punicalagin, ellagic acid, eriodictol*) bioactive compound on decreasing osteoclast level in osteoarthritis. Method: Systematic literature review. Data were collected from Google Scholar, PubMed Central and Elsvier. By using pomegranate, osteoclast and osteoarthritis as the keyword, a number 327 relevant articles were identified. Screening process of the titles and abstracts resulted 20 relevant articles, 10 of those articles were classified as inclusion criteria. Result: Pomegranate seed oil, pomegranate peel extract, pomegranate juice, and pomegranate bioactive compound (*punicalagin, ellagic acid, eriodictol*) were proven to decrease osteoclasts in osteoarthritis. Pomegranate extract and pomegranate bioactive compound decrease osteoclasts by inhibiting activation of the RANK / RANKL and OPG signaling pathways and downregulating the NF-kB and MAPK / AP-1 signaling pathways through TRAFs. Conclusion: Pomegranate seed oil, pomegranate peel extract, pomegranate juice, and pomegranate bioactive compound (*punicalagin, ellagic acid, eriodictol*) have potency to reduce osteoclast level in osteoarthritis.

**Keywords:** *Pomegranate, Osteoarthritis, Osteoclast*

**Abstrak :** Osteoklas merupakan sel yang berfungsi sebagai *bone-resorbing* dan berperan pada penyakit kerusakan sendi progresif. Osteoklas secara tidak langsung terlibat pada proses degradasi tulang rawan pada keadaan osteoarthritis melalui resorpsi tulang. Delima (*Punica granatum L.*) dilaporkan memiliki potensi anti-osteoklastogenesis yang mampu menurunkan kadar osteoklas. Studi pustaka sistematis ini dilakukan untuk mempelajari potensi delima terhadap kadar osteoklas pada osteoarthritis. Bagian delima yang dipelajari adalah, minyak biji, ekstrak kulit, jus dan senyawa aktif delima ( *punicalagin, ellagic acid, eriodictol*). Metode: Studi pustaka sistematis. Data penelitian dikumpulkan dari *Google Scholar, PubMed Central, dan Elsvier*. Berdasarkan kata kunci *pomegranate* atau *Punica granatum, osteoclast* dan osteoarthritis didapatkan 327 artikel yang relevan. *Screening* awal pada judul dan abstrak didapatkan 20 artikel yang relevan. 10 Judul memenuhi kriteria inklusi yang ditetapkan. Hasil: Buah, minyak biji, ekstrak kulit, jus dan senyawa aktif delima (*punicalagin, ellagic acid, eriodictol*) terbukti mampu menurunkan kadar osteoklas pada keadaan osteoarthritis. Ekstrak delima dan senyawa aktif delima mampu menurunkan osteoklas dengan menghambat aktivasi pensinyalan jalur RANK/RANKL dan OPG serta menurunkan regulasi jalur pensinyalan NF-kB dan MAPK/AP-1 melalui TRAF. Kesimpulan: Ekstrak biji, ekstrak kulit, jus dan senyawa aktif delima ( *punicalagin, ellagic acid, eriodictol*) mampu menurunkan kadar osteoklas pada osteoarthritis.

**Kata kunci:** Delima, Osteoarthritis, Osteoklast

## PENDAHULUAN

Osteoarthritis (OA) merupakan penyakit sendi degeneratif yang paling umum. Penyakit ini ditandai dengan peningkatan degradasi tulang rawan, pertumbuhan tulang yang abnormal, serta inflamasi synovial pada sebagian penderita (Kolasinski dkk., 2020). Penilaian tingkat keparahan penyakit didasarkan pada evaluasi klinis seperti nyeri, kaku sendi dan keterbatasan dalam beraktivitas serta penilaian berdasarkan skala Kellegren dan Lowrence (Petersson dkk., 2014). Faktor resiko terjadinya OA adalah obesitas, jenis kelamin, usia, status nutrisi, riwayat trauma, aktifitas fisik berlebihan dan gaya hidup (Kolasinski dkk., 2020).

Pemberian *Non Steroid Anti-Inflammatory Drugs* (NSAID) dan kortikosteroid merupakan salah satu upaya dalam peningkatan kualitas hidup penderita OA (Kolasinski dkk., 2020). Namun, penggunaan terapi NSAID dalam jangka panjang memiliki efek samping obat (ESO) seperti iritasi pada saluran cerna, kerusakan pada ginjal dan hati terutama bagi penderita dengan gangguan gastrointestinal dan lansia (Makmun, 2009).

Delima atau *Punica granatum L* (PG) merupakan satu diantara buah-buahan yang memiliki khasiat dalam mengatasi masalah kesehatan yang terjadi di masyarakat, diantaranya sebagai anti-osteoarthritis. PG merupakan salah satu herbal yang dapat digunakan sebagai terapi alternatif OA. PG merupakan salah satu buah yang disebutkan dalam Al-Qur'an pada surah ar-Rahman ayat 68 dan surah al-An'am ayat 99 dan 141. Berbagai penelitian melaporkan efek farmako baik dalam kulit, buah, biji serta senyawa aktif dalam delima terbukti memiliki khasiat sebagai antioksidan, anti-inflamasi, nefroprotektif, hepatoprotektif, neuroprotektif, anti-kanker, meningkatkan sistem kekebalan tubuh dan anti-osteoklastogenesis (Bahtiar dkk., 2014). Pada penelitian sebelumnya dilaporkan delima dapat menghambat penyerapan tulang dan osteoklastogenesis yang diinduksi RANKL melalui penghambatan jalur pensinyalan RANK (Spilmont dkk., 2014).

Osteoklas merupakan sel berinti banyak yang berasal dari sel prekursor hematopietik yang bertanggung jawab atas degradasi tulang rawan dan remodelling tulang (Florencio-Silva dkk., 2015). Osteoklas secara langsung berperan pada proses degradasi tulang rawan pada OA melalui proses resorpsi tulang. Degradasi tulang rawan akan mengakibatkan reaksi inflamasi yang diperantarai oleh sitokin proinflamasi seperti *interleukin-1* (IL-1), *tumor necrosis factor- $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ) *interleukin-6* (IL-6) yang akan mempengaruhi proses *remodelling* tulang (Shaw dan Gravallesse, 2016). Proses inflamasi pada OA mengakibatkan peningkatan aktivitas sel osteoklas yang berperan dalam resorpsi tulang. Dengan pemberian delima, diharapkan aktivitas sel osteoklas akan menurun, sehingga proses pembentukan tulang baru akan semakin cepat (Zhu dkk., 2019).

Penderita OA cenderung memiliki BMD lebih tinggi, namun memiliki risiko kejadian patah tulang lebih tinggi dibandingkan dengan mereka yang tidak OA. Secara tidak langsung didapatkan keterkaitan antara OA dan osteoporosis dimana terjadi ketidak seimbangan proses metabolisme pada tulang diakibatkan peningkatan *bone resorption* yang diperantarai oleh sel osteoklas. Dalam ulasan ini peneliti ingin melakukan studi pustaka sistematis atau *Systematic Literature Review* (SLR) untuk mengkaji lebih dalam potensi delima sebagai anti-osteoklastogenesis pada OA. Studi dilakukan pada berbagai artikel hasil penelitian yang relevan sebagai dasar penggunaan delima sebagai terapi alternatif anti-osteoklastogenesis dan anti-inflamasi pada OA

## METODE

### Pencarian Data

Penelitian studi pustaka sistematis atau *Systematic Literature Review* (SLR) ini dilakukan dengan menggunakan metode PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-analyses) secara sistematis dengan berbagai tahapan. Tujuan dari tinjauan ini adalah untuk secara sistematis mengidentifikasi, menilai dan mensintesis bukti terbaik yang

tersedia tentang efektivitas delima dalam mempengaruhi osteoklas pada osteoarthritis. Penelitian ini mencakup studi yang dilakukan pada berbagai manfaat delima baik biji, kulit, buah dan senyawa aktif delima pada hewan dan manusia dengan osteoarthritis yang diterbitkan sejak tahun 2010.

Strategi pencarian dilakukan dalam tiga tahap dalam mengidentifikasi literatur yang relevan dalam bahasa Inggris. Pencarian dilakukan melalui database penyedia artikel penelitian terkait yaitu *Google Scholar*, *PubMed* dan *Elsivier*. Pencarian dilakukan pada berbagai database dan mesin pencari dengan kata kunci / istilah pencarian awal diikuti dengan penggunaan sinonim dan *Medical Subject Headings* (MeSH) sebagai berikut: ("*Pomegranate*" OR "*Punica granatum*") AND ("*Osteoclast*" OR "*Osteoclastogenesis*") AND ("*Oateoarthritis*"). Studi yang dilakukan pada hewan dan manusia menggunakan berbagai agen penginduksi OA, artikel dengan tujuan dan metodologi yang jelas dan hanya menggunakan artikel yang diterbitkan dalam bahasa Inggris. Penilaian kredibilitas dan validitas artikel dinolai melalui situs <https://www.scimagojr.com/>.

### **Kriteria Inklusi dan Eksklusi**

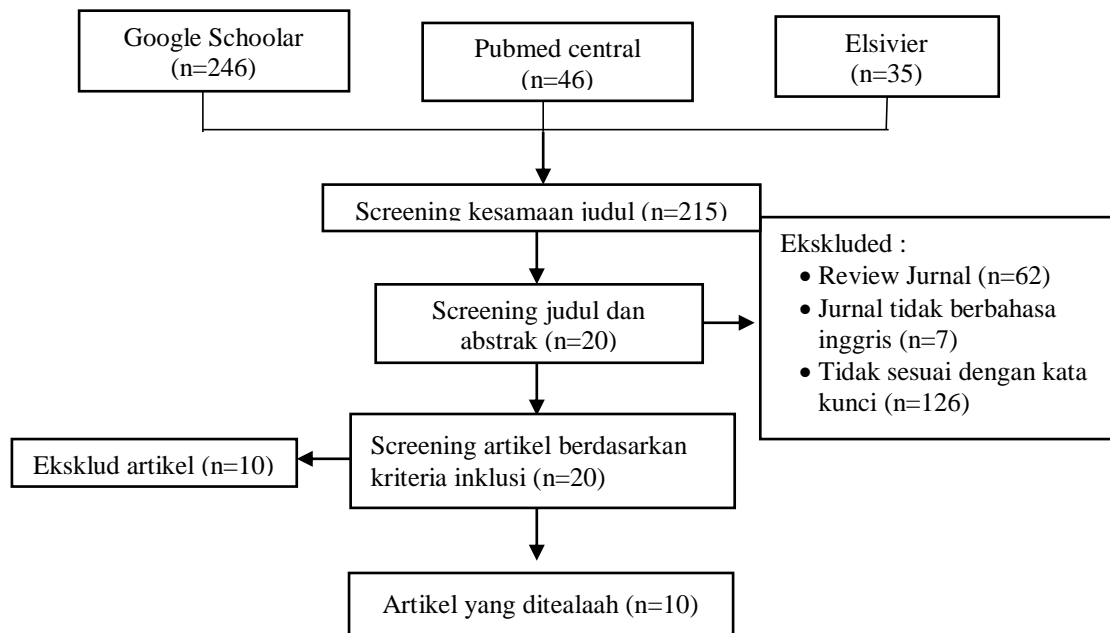
Dalam penelitian ini kriteria inklusi yang ditetapkan adalah sebagai berikut: (1) Artikel hasil penelitian internasional terakreditasi yang berkaitan dengan kata kunci *pomegranate* atau *Punica granatum*, *Osteoarthritis* dan *osteoclast*. (2) Artikel dengan rentang tahun terbit 2010-2020. (3) Artikel dapat diakses secara *full text*. Kriteria eksklusi yang ditetapkan adalah: (1) Artikel hasil penelitian internasional tidak terakreditasi (2) Artikel hasil penelitian internasional tidak berbahasa inggris. (3) Artikel review.

### **Ekstraksi Data.**

Ekstraksi data dilakukan setelah didapatkan sejumlah data artikel hasil penelitian yang sesuai klasifikasi dan terakreditasi. Data artikel hasil penelitian yang diekstraksi meliputi referensi artikel, bagian delima (kulit, buah, biji dan senyawa aktif), objek penelitian, penginduksi OA, efek perlakuan terhadap kadar osteoklas, dan hasil penelitian.

### **HASIL**

Sebanyak 327 artikel diperoleh dalam pencarian literature dari database. Ditemukan sejumlah 112 artikel dengan judul yang sama. Evaluasi awal dilakukan dengan meninjau judul dan abstrak didapatkan 195 artikel dikecualikan. 20 artikel yang tersisa untuk dievaluasi secara terperinci. Pada screening ketiga, 10 artikel dikecualikan. 10 artikel yang tersisa dilakukan penilaian kritis terkait kriteria inklusi. Gambar 1 Menunjukkan alur pencarian data artikel yang disertakan dalam ulasan ini.



**Gambar 1.** Diagram Alur Pencarian Data

Sebanyak 327 artikel diperoleh dalam pencarian *literature* dari database. Ditemukan sejumlah 112 artikel dengan judul yang sama. Evaluasi awal dilakukan dengan meninjau judul dan abstrak didapatkan 195 artikel dikecualikan. 20 artikel yang tersisa untuk dievaluasi secara terperinci. Pada screening ketiga, 10 artikel dikecualikan. 10 artikel yang tersisa dilakukan penilaian kritis terkait kriteria inklusi

**Tabel 1** Potensi Delima Terhadap Osteoklas pada Osteoarthritis

Artikel Penelitian	Bagian Tanaman	Dosis	Objek penelitian	Sampel Penelitian	Penginduksi	Metode Penelitian	Hasil penelitian
Allam dkk., 2016	senyawa aktif EA delima	EA: 700 mg / kgBB secara intraperitoneal selama 4 minggu	Tikus MF1jantan	Tulang rawan artikular sendi tibiofemoral	CFA 0,02 ml subkutan	Pemeriksaan histologi kondrosit tulang rawan tikus	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>↓ OK (p &lt; 0.01)</b></li> <li>• Marker penelitian lain: ↓ IL-1β, IL-10, IL-17, TNF-α, dan TGF-β dan ↑ IFN-γ</li> </ul>
Wang dkk., 2018	senyawa aktif ED delima	ED: 6.25, 12.5 & 25 μM	Sel kondrosit penderita OA dengan operasi penggantian lutut total	Sel ondrosit tulang rawan articular	Inkubasi IL-1β 10 mg/ml selama 24 jam	ELISA	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>↓ OK (p&lt;0,05)</b></li> <li>• Merker penelitian lain: ↓ iNOS, COX-2, TNF-α, IL-6, IL-8 secara signifikan</li> </ul>
Xu dkk., 2020	senyawa aktif EA delima	EA: 1–8 μM Selama 20 menit	Sel	RAW 264,7 tikus	RANKL 50 ng / mL) selama 5 hari	Pewarnaan TRAP	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>↓ OK (p&lt;0.001 )</b></li> <li>• Marker penelitian lain: ↓ TRAP, c-Src, and cathepsin K secara signifikan</li> </ul>
Rasheed,Akhtar dan Haqqi., 2010	Ektrak Delima	PE 6.25 to 100 μg/ml selama 1-2 jam	Sel kondrosit penderita OA dengan operasi penggantian lutut total	Sel kondrosit tulang rawan artikular	IL-1β (10 ng/ml) selama 5-120 menit	RT-PCR	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>↓ OK (p&lt;0.05)</b></li> <li>• Marker penelitian lain: ↓ MKK6 dan MKK3</li> </ul>
Ghoochani dkk., 2016	Jus buah delima	JD 200 ml/hari secara oral selama 5 minggu	Manusia (30-80 thn)	Serum darah	-	ELISA	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>↓MMP (p&lt;0,02)</b></li> <li>• Marker penelitian lain: ↓ penurunan skor OA, glutathione peroxidase,</li> </ul>
Choi dkk., 2020	Pomegranate Concentrate Powder	PCP: 50,100, 200 mg/Kg/hari selama 56 hari, 5 minggu pasca operasi OA	Kelinci	Serum darah vena cava saat eutanasia	Transeksi ligament cruciatum dan partial medial maniscectomy	ELISA	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>↓ CTX (p&lt;0.01)</b></li> <li>• Marker penelitian lain: ↓ MMP-3, IL-1β, TNF-α</li> </ul>
Akhtar dkk., 2017	Ekstrak kulit delima	EKD 34mg/kg/hari selama 8 minggu ad libitum	Kelinci NZW dewasa	Plasma/synovial sendi	Transeksi ligament cruciatum anterior	RT-PCR	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>↓MMP 87-92%( P &lt;0,05)</b></li> <li>• Marker penelitian lain: ↓ IL-6, PGE2, collagen type II</li> </ul>

Jahromy dan Kermani 2010	Jus biji buah delima	JD: 4, 10, 20 mL / Kg 2x1. P.O diberikan sehari pasca injeksi MIA selama 2 minggu	Tikus jantan (20-25 gr)	tulang rawan artikular sendi tibiofemoral	MIA (0.1 mg) intra-artikular melalui intrapatella ligament lutut kiri	Pemeriksaan histologi tulang rawan	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ↓ <b>OK (p&lt;0.01) dengan pemberian JD 20 ml/kg terkait dengan kerusakan kondrosit</b></li> <li>• Marker penelitian lain: ↓ sel inflamamsi</li> </ul>
Lee dkk., 2018	Ekstrak 70% aseton kulit delima	EKD: 150 mg/Kg selama 28 hari	Tikus Wistar( BB: 300 g)	Tulang rawan lutut tikus	Kolagenase tipe II (4 mg/kg)	x-ray dengan melihat celah sendi	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ↓ <b>OK (p&lt;0.01)</b></li> <li>• Marker penelitian lain: ↓ iNOS, COX-2, PGE</li> </ul>
Wang dan Zheng., 2019	Minyak biji delima	MBD: 5%, 10%, 20% dalam pakan melalui pompa implant osmotic selama 6 minggu	Tikus SD betina (BB: 300-400g)	Darah dari vena kava inferior, tulang rawan kondilus femoralis	OVX dan obesitas	ELISA	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ↓ <b>CTx, CTR (p&lt;0,05) (p&gt;0,1)</b></li> <li>• Marker penelitian lain: ↓ ITGB3, ↑ gene osteoblast secara signifikan</li> </ul>

↓: Menurunkan; ↑: Peningkatan; EA: *Ellagic acid*; ED: *Eriodictyol*; CFA: Complete Freund's Adjuvant; IL-1β: Interleukin 1β; ELISA: *Linked Immunosorbent Assays*; RANKL: *Receptor Activator of Nuclear factor Kappa B Ligdan*; MIA: *Mono-iodoacetate*; EKD: ekstrak kulit delima; JD: Jus Delima; PE: pomegranate extract P.O: per oral; PCP: Pomegranate Concentrate Powder; CTX: *Crosslink Telopectida C-Terminal* ; RT-PCR: *Reverse transcription PCR*; MMP: Matrix Metalloproteinases; MBD: Minyak Biji Delima; OVX: *ovarietomi*; CTR: *Calcitonin Receptor*.

## PEMBAHASAN

### Pengaruh Delima Terhadap Osteoklas pada Osteoarthritis

Osteoarthritis merupakan penyakit sendi progresif dimana terjadi gangguan pada fungsi kondrosit yang akan memicu proses patogenik OA. Kondrosit akan mensintesis komponen seperti proteoglikan, kolagen dan sebagainya yang diperlukan dalam pembentukan tulang rawan sendi (Rasheed, 2016). OA dipengaruhi oleh berbagai faktor inflamasi yang mendorong terjadinya proses degradasi kartilago yang dipengaruhi oleh ketidak seimbangan metabolisme tulang (Kolasinski dkk., 2020). Salah satunya adalah terjadinya peningkatan resorpsi tulang yang diperantai oleh sel osteoklas.

Delima memiliki senyawa kimia yang berbeda termasuk vitamin, polisakarida, mineral, fitoestrogenik, dan polifenol (Parisi dkk., 2020). Beberapa penelitian telah membuktikan efek pemberian delima baik berupa ekstrak, jus, dan senyawa aktif dalam delima dapat mempengaruhi osteoklas pada OA melalui berbagai jalur penghambatan. Berdasarkan penelitian Spilmont dkk (2015) pada osteoporosis pemberian ekstrak kulit delima dapat secara langsung memodulasi diferensiasi sel tulang yang mengarah pada peningkatan rasio resorpsi / pembentukan bersama dengan anti-inflamasi dan efek anti-oksidatif. Peningkatan osteoklas pada OA dipengaruhi adanya sitokin proinflamasi yang berperan pada proses osteoklastogenesis melalui peningkatan ekspresi RANKL atau RANK dan menghambat OPG yang mengakibatkan peningkatan osteoklastogenesis (Zhu dkk., 2019).

Pada penelitian Allam *et al.*, (2016) pemberian *ellagic acid* dengan dosis 700 mg / kgbb dalam 3 kali perminggu selama empat minggu pada tikus jantan MF1 yang di induksi CFA 0.02 ml mampu menurunkan osteoklas secara signifikan ( $p < 0.01$ ). Induksi *Complete Freund's Adjuvant* (CFA) 0,02 akan mengakibatkan gangguan fungsional sendi yang mirip dengan OA pada manusia. CFA mengandung *Mycobacterium inaktif* yang dapat menstimulasi Myeloid Progenitor Cell (MPC)/sel dendritik (DC) sebagai *Antigen Presenting Cell* (APC) yang menginduksi pengeluaran beberapa sitokin proinflamasi yang dapat menyebabkan terjadinya inflamasi (Khan dkk., 2012). Adanya sitokin pro-inflamasi seperti *interleukin-1* (IL-1), *tumor necrosis factor- $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ) *interleukin-6* (IL-6) akan meningkatkan aktivitas sel osteoklas pada OA melalui jalur RANKL-RANK pada proses pembentukan osteoklas. Pemberian *ellagic acid* (EA) mampu menurunkan kadar osteoklas melalui penghambatan sintesis IL-6, TNF- $\alpha$ , MMPs yang mengakibatkan penurunan regulasi RANKL-RANK dan peningkatan OPG sebagai reseptor penyeimbang dengan mengikat RANKL untuk tidak berikatan dengan RANK yang mengakibatkan penurunan pembentukan osteoklas dan resorpsi tulang (Allam dkk., 2016).

Xu dkk (2020) menilai osteoklas melalui pengamatan pada TRAP yang merupakan gen protein spesifik osteoklas pada tikus dengan pemberian *ellagic acid* (EA) 1–8  $\mu$ M yang diinduksi RANKL 50 mg / mL. *Ellagic acid* terbukti mampu menekan diferensiasi osteoklas yang diinduksi RANKL dengan memblokir interaksi RANKL-RANK dan menekan osteoklastogenesis. Pemberian induksi RANKL akan mengakibatkan ketidak seimbangan metabolisme tulang pada OA (Xu dkk., 2020)

Jahromy dan Kermani (2010) membuktikan pemberian pomegranate jus (PJ) terhadap tikus jantan secara oral dengan induksi MIA 0,1mg dapat mempengaruhi aktivitas osteoklas. Injeksi MIA akan mengakibatkan hilangnya kondrosit secara progresif dengan menghambat

aktivitas *glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase* yang mengakibatkan gangguan glikolisis dan kematian sel kondrosit (Cournil dkk., 2001). Pada pemeriksaan histopatologi tulang rawan artikular didapatkan penurunan resorpsi tulang, perbaikan kondrosit, peningkatan jumlah sel osteoblast, serta tidak ditemukannya sel inflamasi atau proliferasi cairan synovial dengan pemberian PJ dengan dosis 20mg/kg. Penelitian ini membuktikan efek antiinflamasi PJ mampu melindungi kondrosit dengan menghambat ekspresi metalloproteinase matriks dengan menghambat aktivitas MAP kinase dan *NF-kappa B* yang secara langsung akan menghambat jalur pensinyalan RANKL yang berperan dalam proses osteoklastogenesis (Jahromy dan Kermani., 2010).

Pada penelitian Lee dkk (2018) pemberian ekstrak etanol 70% kulit buah delima sebanyak 150mg/kg pada tikus wistar OA yang diinduksi kolagenase tipe II 4mg/kg dapat menurunkan osteoklas. Pemberian kolagenase tipe II akan menginduksi kerusakan tulang rawan lutut yang mengakibatkan OA hal ini diamati melalui adanya peradangan pada sendi. Adanya peningkatan sitokin proinflamasi seperti PGE2 akibat pemberian kolagenase tipe II akan merangsang pembentukan osteoklas yang berhubungan dengan degradasi tulang rawan. Pemberian ekstrak etanol 70% kulit delima mampu melemahkan diferensiasi osteoklas, meringankan kerusakan matriks tulang rawan dan menurunkan diferensiasi hal ini dikarenakan pada kulit delima mengandung senyawa *punicallagin* yang memiliki efek antiinflamasi dan *antinococeptive*. Penghambatan produksi sitokin proinflamasi akan menghambat jalur pensinyalan RANKL yang akan menekan pembentukan osteoklas (Singh dkk., 2018; Ismail dkk., 2012).

Ghoochani dkk (2016) melakukan studi terkait efek antiinflamasi dan antioksidan pomegranate jus (PJ) pada penderita OA terhadap serum yang dianalisa menggunakan ELISA kit. Pemberian 200ml jus delima selama 6 minggu mampu menurunkan osteoklas yang diamati pada enzim pemecah tulang rawan. PJ mampu meningkatkan status antioksidan, meningkatkan fungsi fisik penderita OA. Sitokin proinflamasi pada OA akan mempengaruhi ekspresi gen MMP pencetus peningkatan resorpsi tulang osteoklastik. MMP merupakan salah satu marker pemeriksaan osteoklas. Efek antiinflamasi PJ mampu melindungi kondrosit dengan menghambat ekspresi MMP dengan menghambat aktivitas MAP kinase dan *NF-kappa B* yang secara langsung akan menghambat jalur pensinyalan RANKL. Penghambatan RANKL akan mengakibatkan penghambatan jalur pembentukan osteoklas.

Wang dkk (2018) melaporkan pemberian *eriodictyol* 6.25, 12, 25  $\mu$ M yang diinduksi IL-1 $\beta$  mampu menurunkan osteoklas. *Eriodictyol* merupakan senyawa flavonoid dalam delima yang memiliki sifat antioksidan dan anti inflamasi. *Eriodictyol* dilaporkan dapat menghambat aktivasi RANKL yang berperan penting dalam menginduksi diferensiasi dan fungsi osteoklas. Induksi IL-1 $\beta$  menyebabkan ekspresi sebagai sitokin proinflamasi yang mampu merangsang kondrosit untuk mensintesis enzim degeneratif *matrixmetalloproteinase* dan meningkatkan regulasi RANKL. *Eriodictyol* adalah flavonoid yang memiliki sifat antioksidan dan anti inflamasi. *Eriodictyol* dilaporkan dapat menghambat aktivasi RANKL berperan penting dalam menginduksi diferensiasi dan fungsi osteoklas. Pada penelitian lain Rasheed dkk (2010) melaporkan pemberian ekstrak delima pada kondrosit manusia yang diinduksi IL-1 $\beta$  mampu menurunkan p38a-MAPK. Efek anti inflamasi pada ekstrak delima dapat menghambat isoform p38a-MAPK serta aktivitas pengikatan DNA dari faktor transkripsi RUNX-2 yang berperan dalam proses osteoklastogenesis (Takayanagi dkk., 2007). Penghambatan p38a-MAPK secara selektif akan mengurangi resorpsi tulang, penurunan jumlah osteoklas yang dipengaruhi oleh



jalur pensinyalan RANKL. Hal ini membuktikan pemberian delima baik senyawa aktif *eriodictyol* dan ekstrak delima dapat menurunkan kadar osteoklas melalui penghambatan sitokin pr inflamasi pada OA yang diinduksi IL-1 $\beta$  (Rasheed dkk., 2010).

Pada penelitian Akhtar dkk (2017) pemberian ekstrak buah delima 34 mg/kg/hari pada tikus dengan ovariektomi mampu menurunkan kadar osteoklas melalui menghambat aktivitas NF-kB dan aktivasi c-Jun-N-terminal kinases (JNKs). Penambatan jalur tersebut akan mempengaruhi jalur pensinyalan RANKL-RANK dalam proses osteoklastogenesis. Pada penelitian lain, Choi dkk (2020) membuktikan pemberiaan ekstrak buah delima 50 mg/kg pada kelinci dapat mempengaruhi osteoklas terbukti dengan didapatkan penurunan kadar *Crosslink Telopeptida C-Terminal* (CTX) osteoklas. *Crosslink Telopeptida C-Terminal* merupakan salah satu biomarker pemeriksaan osteoklas terkait dengan penanda fungsi osteoklas. Selain itu pemberiaan ekstrak buah delima juga dapat menurunkan kadar MMP. Pada penelitian ekstrak buah delima memiliki efek antiinflamasi yang dapat menurunkan kadar IL-1 $\beta$  dan TNF- $\alpha$  yang dapat menurunkan jalur pensinyalan RANKL pada proses osteoklastogenesis (Christgau dkk., 2004; Oestergaard dkk., 2006).

### **Pengaruh Pemberian Minyak Biji Delima Terhadap Osteoklas pada Osteoarthritis**

Minyak biji delima terbukti mampu mempengaruhi metabolisme tulang rawan tikus dengan OA. Wang dan Zheng (2019) pemberian minyak biji delima 20% pada tikus betina dengan ovariektomi terbukti mampu menurunkan kadar CTR osteoklas 20% dan secara signifikan melemahkan penyerapan tulang dan kerusakan tulang melalui regulasi gen osteoklas. Ovariektomi (OVX) merupakan prosedur yang ditetapkan untuk mensimulasikan kondisi hormon estrogen pascamenopause namun juga dapat digunakan sebagai induksi OA. Defisiensi estrogen dapat meningkatkan baik jumlah maupun aktivitas osteoklas. Pada beberapa penelitian OVX dapat mempengaruhi kerusakan tulang rawan, fibrosis atau erosi permukaan tulang rawan (Kuppasamy dkk., 2020). Secara tidak langsung OVX dapat mempengaruhi degradasi kartilago (Christgau dkk., 2004)

*Calcitonin Receptor* (CTR) merupakan salah satu transkripsi gen penanda osteoklas. Regulasi gen osteoklas diaktifasi oleh adanya jalur pensinyalan RANKL dengan RANK yang akan menginduksi TRAF6 yang akan mengaktifasi NFkB dan MAPKs yang berperan penting dalam diferensiasi osteoklas (Kuppasamy dkk., 2020). NFkB dan MAPKs akan menginduksi regulasi sejumlah gen osteoklas seperti CTR, *cathepsin K*, TRAP melalui aktivasi NFkB yang berperan penting dalam proses osteoklastogenesis. Minyak biji delima mengandung senyawa fitoestrogen yang mampu menghambat kerja osteoklas dalam meresorpsi tulang dan meningkatkan kerja osteoblast. Minyak biji delima akan mempengaruhi turunan ekspresi RANKL-RANK dan penanda osteoklas, meningkatkan alkali fosfatase, mineralisasi matriks melalui jalur pensinyalan Wnt/ $\beta$ -catenin sehingga mampu mempengaruhi proses osteoklastogenesis (Kini dan Nandeesh, 2012).

Minyak biji delima memiliki efek sebagai fitoestrogen. Perlakuan OVX pada tikus mengakibatkan penurunan estrogen, secara langsung fitoestrogen pada minyak biji delima akan mengikat reseptor estrogen untuk menggantikan estrogen. Efek fitoestrogen mampu meningkatkan regulasi TGF- $\beta$  yang akan menghambat resorpsi tulang yang secara langsung bekerja menghambat aktivitas osteoklas dan meningkatkan apoptosis osteoklas. *Eriodictiol*

turun berperan dalam penghambatan sitokin proinflamasi yang berperan dalam proses osteoklastogenesis (Song *et al.*, 2016)

### **Pengaruh Induksi Agen Pencetus OA terhadap Osteoklas**

Mono-iodoacetate (MIA) merupakan penghambat *gliseraldehida-3- aktivitas fosfat dehidrogenase* dan oleh karena itu MIA terbukti dapat menghambat glikolisis yang menginduksi kematian kondrosit secara *in vitro* (Cournil dkk., 2001). Pada penelitian Jahromy dan Kermani (2020) dilakukan induksi MIA 0,1mg secara intra-artikular. MIA akan menginduksi kematian kondrosit pada tulang rawan artikular. Pemberian MIA pada hewan uji seperti pada hewan coba akan mengakibatkan lesi tulang rawan yang ditandai dengan hilangnya matriks proteoglikan dan gangguan sendi fungsional yang mirip dengan OA manusia (Janusz dkk., 2001). Pada tulang rawan, lesi ditandai dengan nekrosis kondrosit, fibrilasi, hilangnya matriks proteoglikan, dan erosi dengan eksposur tulang subkondral. Lesi tulang yang dilaporkan termasuk remodeling dan sklerosis tulang subchondral dengan pembentukan osteofit.

Pada penelitian Allam dkk., (2016) dengan memberikan *Complete Freund's Adjuvant* (CFA) 0,02 ml subkutan sebagai agen penginduksi OA. CFA mengandung *Mycobacterium inaktif* yang dapat menstimulasi Myeloid Progenitor Cell (MPC)/sel dendritik (DC) yang akan bekerja sebagai Antigen Presenting Cell (APC) sehingga menginduksi pengeluaran beberapa sitokin proinflamasi yang dapat menyebabkan terjadinya inflamasi (Khan dkk., 2012). Pada penelitian lain induksi dengan CFA secara intraarticular ada lutut tikus akan mengakibatkan gangguan fungsional sendi yang mirip dengan OA pada manusia (Sung, 2013). Adanya sitokin pro-inflamasi seperti *interleukin-1* (IL-1), *tumor necrosis factor- $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ) *interleukin-6* (IL-6) akan meningkatkan aktivitas sel osteoklas pada OA (Yokota., 2017).

Pada penelitian Zeng dkk., (2019) dilakukan ovariektomi (OVX) sebagai penginduksi OA. Ovariektomi merupakan prosedur yang ditetapkan untuk mensimulasikan kondisi hormon wanita pascamenopause namun juga dapat digunakan sebagai induksi OA. Pada beberapa penelitian OVX dapat mempengaruhi kerusakan tulang rawan, fibrosis atau erosi permukaan tulang rawan (Parker dkk., 2003). OVX secara tidak langsung dapat mempengaruhi degradasi kolagen tipe II dengan mengukur kadar CTX II urin (Christgau dkk., 2004. Oestergaard dkk., 2006). Sehingga dapat disimpulkan bahwa OVX dapat menyebabkan perubahan secara histologi dan biomekanis tulang rawan articular. Pada penelitian lain, pemberian kolagenase tipe II akan menginduksi kerusakan tulang rawan lutut yang mengakibatkan OA. Hal ini diamati melalui adanya peradangan pada sendi dimana kolagenase tipe II akan merangsang pembentukan osteoklas yang berhubungan dengan degradasi tulang rawan (Lee dkk., 2018).

Penelitian Ghoochani dkk., (2015) dan Wang dkk., (2018) dilakukan dengan induksi IL-1 $\beta$  yang merupakan sitokin pro-inflamasi. IL-1 $\beta$  mampu merangsang kondrosit untuk mensintesis enzim degeneratif *matrixmetalloproteinase* (MMP) dan meningkatkan regulasi receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand (RANKL). RANKL akan berikatan dengan RANK sebagai proses awal destruksi tulang. RANKL-RANK akan menginduksi TNF-reseptor associated factor 6 (TRAF 6) yang mengaktifasi nuclear factor- $\kappa$ B (NF $\kappa$ B) dan mitogen-activated kinases (MAPKs) sebagai diferensiasi osteoklas. NF $\kappa$ B dan MAPKs kemudian akan menginduksi faktor NFATc1 dengan adanya activator protein 1 (AP1) yang berperan penting dalam proses osteoklastogenesis (Takayanagi., 2007)

## KESIMPULAN

Ekstrak buah, biji, kulit dan senyawa aktif dalam delima (*Punica granatum L.*) seperti *punicalagin*, *ellagic acid*, dan *eriodictyol* terbukti mampu menurunkan kadar osteoklas pada berbagai marker pemeriksaan osteoklas ( sel osteoklas, CTx, CTR, MMP ) pada osteoarthritis melalui penghambatan jalur osteoklastogenesis. Mekanisme penghambatan pembentukan osteoklas oleh delima pada OA di perantarai oleh adanya penghambatan jalur pensinyalan osteoklas melalui efek antiinflamasi, antioksidan, antiosteoklastogenesis pada berbagai dosis pemberian. Mekanisme menghambatan pembentukan osteoklas oleh delima juga menghambat berbagai sitokin proinflamasi yang meregulasi pembentukan osteoklas melalui jalur pensinyalan RANKL-RANK, NFkB dan MAPKs.

## DAFTAR PUSTAKA

- Akhtar, N., Khan, N. M., Ashruf,. dkk. (2017) Inhibition of cartilage degradation and suppression of PGE2 and MMPs expression by pomegranate fruit extract in a model of posttraumatic osteoarthritis', *Nutrition*. Elsevier Ltd, 33, pp. 1–13. doi: 10.1016/j.nut.2016.08.004.
- Allam, G., Mahdi, E. A., Alzahrani, A. M. dkk. (2016) 'Ellagic acid alleviates adjuvant induced arthritis by modulation of pro- and antiinflammatory cytokines', *Central European Journal of Immunology*, 41(4), pp. 339–349. doi: 10.5114/ceji.2016.65132.
- Bahtiar, A., Arifin Sunarmi., Razalifha, A. dkk (2014). Polar Fraction of *Punica granatum L.* peel extract increased osteoblast number on ovariectomized rat bone. *International Journal of Herbal Medicine*, 2(1), pp. 65–70
- Christgau, L.B. Tanko, P.A. Cloos, U. Mouritzen, C. Christiansen, J.M. Delaisse, dkk. (2004). *Suppression of elevated cartilage turnover in postmenopausal women and in ovariectomized rats by estrogen and a selective estrogen-receptor modulator (SERM) Menopause*, 11, pp. 508-518,
- Choi BR, Kang SJ, Kim JL, Lee YJ, Ku SK dkk. (2020). Effects of Pomegranate Concentrate Powder: *Eucommiae Cortex: Achyranthis Radix 5:4:1 (w/w) Mixed Formula* on Monosodium Iodoacetate-Induced Osteoarthritis in Rats. *Natural Product Communications*, 15(3), p. 1934578X2090772. doi: 10.1177/1934578x20907725
- Florencio-Silva, R. dkk. (2015) 'Biology of Bone Tissue: Structure, Function, and Factors That Influence Bone Cells', *Immuno-analyse et biologie specialisee*, 7(6), pp. 17–24. doi: 10.1016/S0923-2532(05)80182-6.
- Cournil C, Liagre B, Grosin L, Vol C, Abid A (2001). *Overexpression and induction of heat shock protein (Hsp) 70 protects in vitro and in vivo from mono-iodoacetate (MIA)-induced chondrocytes death*. *Arthritis Res* 3(Suppl 1): P41
- Ghoochani, N., Karandish, M., Mowla, K., dkk. (2016). The effect of pomegranate juice on clinical signs, matrix metalloproteinases and antioxidant status in patients with knee osteoarthritis. *Journal of the science of food and agriculture*, 96(13), pp. 4377–4381. doi: 10.1002/jsfa.7647.
- Janusz MJ, Hookfin EB, Heitmeyer SA, W, dkk. (2001). *Moderation of iodoacetate-induced experimental osteoarthritis in rats by matrix metalloproteinase inhibitors Osteoarthritis Cartilage* 9: 751–760
- Khan, H.M., Ashraf, M., Hashmi, A. S., Ahmad, M.U.D., & Anjum, A. A. (2012). *Clinical assessment of experimentally induced osteoarthritis rat model in relation to time*. *Journal of Animal and Plant Sciences*. 22 (4), 960-965.
- Kini U, Nandeesh BN. (2012). *Physiology of bone formation, remodeling, and metabolism*. Springer, Verlag Berlin Heidelberg

- Kolasinski, S. L., Neogi, T., Hochberg, M. C., dkk (2020). *2019 American College of Rheumatology/Arthritis Foundation Guideline for the Management of Osteoarthritis of the Hand, Hip, and Knee. Arthritis & Rheumatology*. doi:10.1002/art.41142
- Kuppasamy, S., Buripad, G. and Hallur, R. L. S. (2020) 'Evaluation of antiosteoporosis activity of ethanolic extract of', 14(1), pp. 8–11.
- Lee, C. J., Chen, L.-G., Liang, W.-L dkk. (2018). Inhibitory effects of punicalagin from *Punica granatum* against type II collagenase-induced osteoarthritis. *Journal of Functional Foods*. Elsevier, 41(December 2017), pp. 216–222. doi: 10.1016/j.jff.2017.12.026.
- Makmun. (2009). Obat Rematik Merusak lambung. diunduh dari <http://www.dechacare.com/Obat-Rematik-Merusak-Lambung-1219-1.html>. (diakses 9 Juli 2020).
- Oestergaard, B.C. Sondergaard, P. Hoegh Andersen, K. Henriksen, P dkk. (2006). Effects of ovariectomy and estrogen therapy on type II collagen degradation and structural integrity of articular cartilage in rats: implications of the time of initiation *Arthritis Rheum*, 54, pp. 2441–2451
- Parisi, V., Vassallo, A., Pisano, C., Signorino, G., dkk. (2020). A Herbal Mixture from Propolis, Pomegranate, and Grape Pomace Endowed with Anti-Inflammatory Activity in an In Vivo Rheumatoid Arthritis Model.
- Petersson I. F., Boegard T., Saxne T., dkk. (2014). *Radiographic osteoarthritis of the knee classified by the Ahlback and Kellgren & Lawrence system for the tibiofemoral joint in people aged 35-54 years with chronic knee pain*. *Annals of the Rheumatic Diseases*; 56: 493–496. Dipublikkan oleh group.bmj.com
- Rasheed, Z. (2016). Intake of pomegranate prevents the onset of osteoarthritis: Molecular evidences. *International Journal of Health Science*, 10(2), pp. V–VIII. doi: 10.12816/0048807.
- Rasheed, Z., Akhtar, N. and Haqqi, T. M. (2010). Pomegranate extract inhibits the interleukin-1 $\beta$ -induced activation of MKK-3, p38 $\alpha$ -MAPK and transcription factor RUNX-2 in human osteoarthritis chondrocytes. *Arthritis Research and Therapy*, 12(5), pp. 1–13. doi: 10.1186/ar3166.
- Shaw, A. T. and Gravallesse, E. M. (2016). *Mediators of inflammation and bone remodeling in rheumatic disease*, *Seminars in Cell and Developmental Biology*. Elsevier Ltd, 49, pp. 2–10. doi: 10.1016/j.semcdb.2015.10.013.
- Spilmont, M., Léotoing, L., Davicco, M.-J., Lebecque, P., dkk. (2014) 'Pomegranate and its derivatives can improve bone health through decreased inflammation and oxidative stress in an animal model of postmenopausal osteoporosis', *European Journal of Nutrition*, 53(5), pp. 1155–1164. doi: 10.1007/s00394-013-0615-6.
- Sung, Tae koo. (2013). The Effects of Pressure on Arthritic Knees in a Rat Model of CFA-Induced Arthritis. 16:E95-E102.
- Takayanagi H. (2007). *Osteoimmunology: Shared Mechanism and Crosstalk Between The Immune and Bone Systems*. Vol. 7. Published on April. Tokyo: Nature Publishing Group. Pp 292302.
- Wang, Y. dkk. (2018). Eriodictyol inhibits IL-1 $\beta$ -induced inflammatory response in human osteoarthritis chondrocytes. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. Elsevier, 107(May), pp. 1128–1134. doi: 10.1016/j.biopha.2018.08.103.
- Wang, Z. and Zheng, L. (2019). Impact and Molecular Mechanism Research of Pomegranate Seed oil on Cartilage Metabolism in Rats with Osteoarthritis. XXIX, pp. 1854–1862.
- Xu, H., Chen, F., Liu, T. dkk. (2020). Chemico-Biological Interactions Ellagic acid blocks RANKL – RANK interaction and suppresses RANKL-induced osteoclastogenesis by

- inhibiting RANK signaling pathways', *Chemico-Biological Interactions*. Elsevier B.V., 331(September), p. 109235. doi: 10.1016/j.cbi.2020.109235.
- Yokota, K. (2017). Inflammation and osteoclasts. *Japanese Journal of Clinical Immunology*, 40(5), pp. 367–376. doi: 10.2177/jsci.40.367.
- Zhu, S., Zhu, J., Zhen G, dkk (2019). Subchondral bone osteoclasts induce sensory innervation and osteoarthritis pain. *Journal of Clinical Investigation*, 129(3), pp. 1076–1093. doi: 10.1172/JCI121561.