

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL KULIT JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia*)
TERHADAP JUMLAH IL-6 PADA GINGIVA TIKUS YANG DIINDUKSI *Actinobacillus*
*actinomycetemcomitans***

Prasetyo Adi*, Fidya, Noviana Faradilla Sandi*****

*Departemen Oral Biologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

**Departemen Oral Biologi PSPDG Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

***Mahasiswa PSPDG Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

Email: padi99@gmail.com

Abstrak

Gingivitis merupakan salah satu bentuk inflamasi pada gingiva yang sering terjadi di masyarakat. IL-6 merupakan salah satu mediator penting proinflamasi. Flavonoid yang terkandung dalam kulit jeruk nipis dipercaya mampu menurunkan inflamasi. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap perubahan jumlah ekspresi IL-6 pada gingiva tikus jantan galur wistar yang diinduksi *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (*A.actinomycetemcomitans*). Penelitian ini merupakan penelitian *true experimental laboratoris* yang menggunakan pendekatan *randomized post test controlled group design*. 25 ekor tikus dibagi menjadi lima kelompok, yaitu kelompok kontrol positif (diinduksi *A.actinomycetemcomitans* tanpa pemberian ekstrak etanol kulit jeruk nipis), kelompok kontrol negatif (tanpa diinduksi *A.actinomycetemcomitans* dan tanpa diberi ekstrak etanol kulit jeruk nipis) dan tiga kelompok perlakuan dengan pemberian dosis ekstrak etanol kulit jeruk nipis 1,26 mg/100 g BB, 2,52 mg/100g BB serta 5,04 mg/100g BB setelah sebelumnya diinduksi *A.actinomycetemcomitans*. Pengamatan IL-6 dilakukan dengan pewarnaan imunohistokimia dan analisis statistik menggunakan Oneway ANOVA, Tukey HSD, Uji Korelasi Pearson, dan Uji Regresi. Hasil dari penelitian ini menunjukkan perbedaan jumlah IL-6 yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Pada perlakuan 1 dengan perlakuan 2 dan antara perlakuan 2 dengan perlakuan 3 didapatkan perbedaan yang tidak bermakna sedangkan untuk perlakuan 1 dengan perlakuan 3 didapatkan perbedaan yang bermakna. Kesimpulan dari penelitian ini adalah pemberian ekstrak etanol kulit jeruk nipis dapat menurunkan jumlah ekspresi IL-6 pada gingiva tikus yang diinduksi *A.actinomycetemcomitans*.

Kata Kunci : gingivitis, IL-6, kulit jeruk nipis

Abstract

Gingivitis is a common occurs of inflammation in the community. IL-6 is one of proinflammatory mediators. Flavonoids contained in citrus is believed to reduce inflammation. The purpose of this study was to determine the effect of Citrus Aurantifolia peel ethanolic extract to changes the amount of expression IL-6 at gingival of wistar strain male rat that induced by Actinobacillus actinomycetemcomitans (A.actinomycetemcomitans). This experiment uses the true experimental laboratory approach randomized post test controlled group design. 25 rats were divided into 5 groups, the positive control group (induced A.actinomycetemcomitans without the extract), negative control group (without A.actinomycetemcomitans and extract) and the treatment group with 1.26 mg/100 g BB, 2.52 mg/100g BB, 5.04 mg/100g BB doses of Citrus aurantifolia peel ethanolic extract which have been induced by A.actinomycetemcomitans. Observations of IL-6 used immunohistochemical techniques and analyzed by Oneway ANOVA, Tukey HSD, Pearson, and regression. The results of this experiment show a significant difference in the number of cells between the control group with the treatment group. In the treatment group 1 with treatment group 2 and also between treatment group 2 with treatment group 3 were obtained a non-significant difference. In treatment group 1 with treatment group 3 was found a significant difference. The conclusion of this study is Citrus Aurantifolia peel ethanolic extract is able to decrease the amount of expression IL-6 at gingival of rat that induced by A. actinomycetemcomitans.

Keyword : gingivitis, IL-6, citrus aurantifolia peel

PENDAHULUAN

Dalam bidang kedokteran gigi, gingivitis merupakan bentuk inflamasi pada gingiva yang sering terjadi di masyarakat⁶. Menurut Gehrig and Willmann (2008), prosentase angka kejadian gingivitis pada tahun 2002 pada 100 orang berkulit putih yang berumur 35-45 tahun, didapatkan 50% dari populasi tersebut mengalami perdarahan saat dilakukan probing.

Prosentase angka kejadian tersebut meningkat pada tahun 2003 menjadi 60%. Angka prevalensi penyakit periodontal bertambah seiring dengan bertambahnya usia⁶. Inflamasi merupakan suatu tindakan protektif yang berperan dalam melawan agen penyebab jejas sel dengan cara melarutkan, menghancurkan, dan menetralkan agen patologis¹.

Respon inflamasi dianggap sebagai suatu reaksi yang memiliki kecenderungan merugikan tubuh, namun terdapat juga pandangan lain yang menyatakan bahwa inflamasi merupakan respon protektif tubuh². Gambaran klinis inflamasi akut mencakup rasa sakit, kemerahan, panas, pembengkakan, dan perubahan fungsi².

Beberapa sitokin memiliki peran penting sebagai mediator reaksi inflamasi akut, seperti IL-1, TNF- α , IL-6 dan produk kemokin lainnya⁴. Komponen tersebut muncul apabila jaringan secara langsung terpapar dengan antigen yang berupa mikroorganisme, toksin, bahan kimia yang akan mengaktifkan respon inflamasi⁵. IL-6 merupakan salah satu komponen proinflamasi yang dapat ditemukan pada inflamasi akut maupun inflamasi kronis.

Selain sebagai mediator inflamasi IL-6 juga merupakan *major immune mediator* dan berfungsi sebagai komunikasi antar sel³.

Penanganan gingivitis antara lain dengan melakukan *scalling* dan pemberian obat antiinflamasi, seperti aspirin. Obat tersebut sering menimbulkan efek samping tertentu seperti kenaikan SGPT dan SGOT^{5,7}. Tanaman obat saat ini banyak digunakan oleh masyarakat sebagai alternatif pengobatan karena bahan mudah didapat, harga relatif murah dan efek samping relatif rendah dibandingkan dengan obat-obatan yang disintesis⁸. Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) merupakan salah satu bahan alam yang dapat digunakan untuk menghambat proses inflamasi.

Kandungan di dalam jeruk nipis yang dapat mengobati antiinflamasi adalah flavonoid. Flavonoid pada jeruk nipis terdistribusikan pada daun, buah dan kulit¹⁰.

Pada rongga mulut individu yang sehat didapatkan frekuensi bakteri *A. actinomycetemcomitans* sebesar 17%, sedangkan pada individu yang mengalami masalah periodontal frekuensinya mencapai 90%¹⁴. *A. actinomycetemcomitans* merupakan salah satu bakteri yang terlibat dalam proses patologi jaringan, meliputi inflamasi gingiva dan destruksi ligamen periodontal serta tulang alveolar¹⁴.

Oleh karena itu, peneliti ingin mengetahui apakah terdapat pengaruh pemberian ekstrak etanol kulit jeruk nipis terhadap jumlah IL-6 pada gingiva tikus jantan galur wistar yang diinduksi bakteri *A. actinomycetemcomitans*.

METODE PENELITIAN

Desain Penelitian

Merupakan penelitian dengan *true experimental laboratoris design* yang menggunakan rancangan *randomized post test controlled group design*.

Sampel penelitian menggunakan tikus jantan galur wistar sebanyak 25 ekor. Sampel dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif (tidak diinduksi *A. actinomycetemcomitans* dan tidak diberi ekstrak etanol kulit jeruk nipis), kelompok kontrol positif (diinduksi *A. actinomycetemcomitans* dan tidak diberi ekstrak etanol kulit jeruk nipis), kelompok perlakuan 1 (diinduksi *A. actinomycetemcomitans* dan diberi ekstrak etanol kulit jeruk nipis dengan dosis 1,26 mg/100 gram BB).

kelompok perlakuan 2 (diinduksi *A. actinomycetemcomitans* dan diberi ekstrak etanol kulit jeruk nipis dengan dosis 2,52 mg/100 gram BB).

kelompok perlakuan 3 (diinduksi *A. actinomycetemcomitans* dan diberi ekstrak etanol kulit jeruk nipis dengan dosis 5,04 mg/100 gram BB).

Tikus di aklimatisasi selama 7 hari, dan dipuasakan 18 jam sebelum perlakuan. Setelah 24 jam perlakuan, dilakukan dekaputasi pada tikus, dan dilanjutkan difiksasi dalam buffer formalin serta dilakukan dekalsifikasi. Kemudian dilakukan pewarnaan imunohistokimia untuk dapat menghitung jumlah IL-6.

Pembuatan Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Nipis

Kulit jeruk nipis dipisahkan dengan buahnya dan dijemur di bawah sinar matahari secara tidak langsung untuk mempertahankan kandungan zat yang terkandung didalamnya. Masukkan ke dalam oven dengan suhu 60° agar di dapatkan kulit jeruk nipis yang benar-benar kering. Blender lalu ayak untuk mendapatkan bubuk halus jeruk nipis. Bubuk kulit jeruk nipis ditimbang dengan neraca analitik kemudian dibungkus dengan kertas saring dan direndam di dalam tabung yang berisi etanol. Rendaman tersebut dibiarkan beberapa hari sampai ditemukan rendaman yang pekat. Hasil ini selanjutnya dievaporasi untuk memisahkan ekstrak jeruk nipis dengan pelarut etanol²³.

Penginduksian

A.actinomycetemcomitans

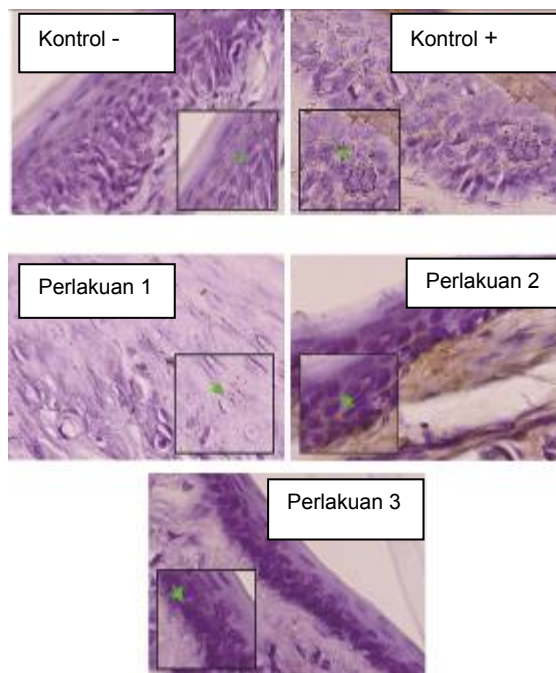
Penginduksian dilakukan dengan cara mengulaskan *A.actinomycetemcomitans* sebanyak 0,1 ml dengan spuit pada gingiva tikus bagian anterior mandibula selama 2 kali sehari selama 2 hari¹⁴.

Prosedur pemberian Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Nipis

Pemberian ekstrak dilakukan dengan cara menggunakan sonde gastric, agar jumlah ekstrak etanol kulit jeruk nipis yang dikonsumsi tikus sesuai dengan dosis yang diinginkan. Pemberiannya dilakukan 2 kali selama 1 hari²⁹.

HASIL PENELITIAN

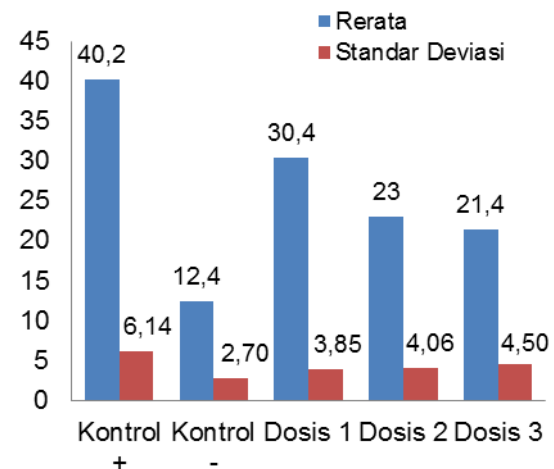
Gambaran Mikroskopis



Gambar 1. Gambaran Mikroskopis Gingiva Tikus dengan Pengecatan Imunohistokimia dan Pembesaran 400 x insert 1000 x

Gambaran mikroskopis pada kelompok kontrol negatif, terlihat ekspresi IL-6 paling sedikit dibandingkan dengan kelompok kontrol positif serta kelompok perlakuan 1, 2 dan 3. Hal ini dapat terlihat dari inti yang memiliki sitoplasma yang berwarna kecoklatan sangat sedikit sedangkan untuk kelompok kontrol positif dapat terlihat ekspresi IL-6 paling banyak. Pada perlakuan 1 terlihat ekspresi IL-6 yang lebih sedikit dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Gambaran mikroskopis kelompok perlakuan 2 terlihat ekspresi IL-6 lebih sedikit dibandingkan dengan perlakuan 1, sedangkan untuk perlakuan 3 pada gambaran mikroskopis tersebut dapat terlihat jumlah ekspresi IL-6 paling sedikit dibanding perlakuan 2 dan 3.

Analisis Data



Gambar 2. Diagram Rerata dan Standar Deviasi Jumlah IL-6 Pada Gingiva Tikus Jantan Galur Wistar

Hasil pengamatan jumlah ekspresi IL-6 pada sel epitel gingiva tikus dianalisis dengan menggunakan program SPSS 16 *for windows* dengan taraf kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$). Uji statistik yang digunakan adalah Oneway ANOVA, Uji Post Hoc Multiple Comparison Tukey HSD, Uji Korelasi Pearson dan Uji Regresi.

Uji Oneway ANOVA

Bertujuan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan yang bermakna jumlah IL-6 pada kelompok tersebut. Didapatkan nilai $p = 0,000$, sehingga didapatkan perbedaan yang bermakna pada kelompok tersebut.

Uji Post Hoc Multiple Comparison

Uji ini bertujuan untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda bermakna dan kelompok mana yang tidak berbeda bermakna. Uji Post Hoc Multiple comparison yang digunakan adalah metode Tukey HSD. Perlakuan 1, 2

dan 3 mengalami perbedaan jumlah IL-6 yang bermakna dibandingkan jumlah IL-6 pada kelompok kontrol positif. Kelompok kontrol negatif juga mengalami perbedaan yang bermakna dibandingkan dengan kelompok kontrol positif.

Untuk kelompok tikus yang diberikan perlakuan 1, 2 dan 3 didapatkan perbedaan jumlah IL-6 yang bermakna dibandingkan jumlah IL-6 pada kelompok kontrol negatif. Hasil penelitian pada perlakuan 1 didapatkan perbedaan jumlah IL-6 yang tidak bermakna dibandingkan jumlah IL-6 pada kelompok tikus yang diberikan perlakuan 2. Tikus yang diberikan perlakuan 1 didapatkan perbedaan jumlah IL-6 yang bermakna dibandingkan jumlah IL-6 pada kelompok perlakuan 3 sedangkan pada kelompok perlakuan 2 didapatkan perbedaan yang tidak bermakna dibandingkan dengan perlakuan 3.

Uji Korelasi Pearson

Uji Korelasi Pearson ini bertujuan untuk membuktikan korelasi antara peningkatan dosis ekstrak etanol kulit jeruk nipis terhadap jumlah IL-6, didapatkan kekuatan korelasi (r) = 0,621 dengan demikian dapat dikatakan terdapat korelasi yang kuat antara dosis ekstrak etanol kulit jeruk nipis dengan jumlah IL-6. Arah korelasi yang didapatkan adalah negatif sehingga semakin besar dosis ekstrak etanol kulit jeruk nipis yang diberikan maka semakin turun jumlah ekspresi IL-6.

Uji Regresi

Uji Regresi bertujuan untuk mengetahui prediksi pengaruh ekstrak etanol kulit jeruk

nipis terhadap jumlah IL-6. Didapatkan $Y = 31,200 - 2,132 X$. Dari persamaan tersebut dapat diinterpretasikan menjadi $a=31,200$ artinya IL-6 rerata sebesar 31,200 jika tidak ada variabel X_1 (Dosis Ekstrak) dan $b=-2,132$ artinya jumlah IL-6 akan menurun sebesar 2,132 untuk setiap tambahan satu mg x (dosis ekstrak). Hasil (R square) R^2 sebesar 0,385 hal ini berarti bahwa 38,5% jumlah IL-6 dipengaruhi oleh variabel bebas yaitu dosis ekstrak etanol kulit jeruk nipis sedangkan sisanya 61,5% dipengaruhi oleh variabel yang tidak dihitung dalam penelitian ini.

PEMBAHASAN

Pada sebuah penelitian yang dilakukan oleh Garlet (2008), dikatakan telah ditemukannya ekspresi dari sitokin proinflamasi pada jaringan periodontal. Ekspresi tersebut nampak setelah terjadi infeksi bakteri *A. actinomycetemcomitans* dari tahap awal infeksi¹⁵. Lipopolisakarida (LPS) dari bakteri *A. actinomycetemcomitans* akan mengaktifasi NF- κ B yang akan memodulasi naiknya salah satu sitokin proinflamasi, yaitu IL-6¹⁶. LPS bakteri *A. actinomycetemcomitans* dapat memodulasi inflamasi, mampu menyebabkan kerusakan jaringan, serta mampu menghambat perbaikan jaringan¹⁴.

Selama terjadinya proses inflamasi ditemukan beberapa sitokin proinflamasi antara lain IL-1, TNF- α dan IL-6, yang merupakan sitokin pada fase akut yang paling penting. Sitokin ini dihasilkan oleh leukosit dan berfungsi sebagai respon terhadap leukosit. Pelepasan sitokin ini dilepaskan secara sistemik. IL-6 dapat terekspresikan setelah 30-60 menit pasca

infeksi, kemudian akan meningkat selama 4-6 jam serta akan dipertahankan selama 48-72 jam¹⁸. Penurunan inflamasi yang terjadi didukung dengan sebuah penelitian yang mengatakan bahwa flavonoid yang terkandung dalam kulit jeruk nipis dapat berfungsi sebagai antiinflamasi¹⁸.

Berdasarkan sebuah penelitian in-vitro, naringin merupakan salah satu flavonoid yang dapat mengurangi pertumbuhan bakteri *A. actinomycetemcomitans* secara signifikan dalam waktu 3 jam dan tidak ditemukannya lagi koloni bakteri yang terbentuk setelah 24 jam¹⁹. Beberapa hal yang terjadi pada proses inflamasi seperti kemerahan dan bengkak terjadi oleh karena pelepasan mediator kimia seperti amina vasoaktif, protease plasma serta metabolit asam arakhidonat²⁰. Sitokin inflamasi dalam keadaan normal mempunyai kadar yang rendah, apabila terjadi infeksi, sitokin proinflamasi akan meningkat bersama mediator lain yang berperan dalam inflamasi¹⁷.

Hasil pada penelitian ini menunjukkan perbedaan yang bermakna pada jumlah ekspresi IL-6 gingiva tikus jantan galur wistar yang diinduksi *A. actinomycetemcomitans* dan diberikan ekstrak etanol kulit jeruk nipis dosis, dosis 2, dan dosis 3 jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif dan juga dengan kelompok kontrol negatif. Hal ini sesuai dengan penelitian Widowati (2011), mengenai pengaruh ekstrak daun jeruk nipis sebagai antipiretik. Pada dosis 1,26 mg/100g BB, vasodilatasi pembuluh darah sudah dapat dihambat dan permeabilitas kapiler menurun, sehingga suhu tubuh akan menurun, proses

tersebut juga dapat dikaitkan dengan proses penurunan inflamasi²¹. Mekanisme antiinflamasi pada flavonoid ini terjadi melalui efek penghambatan aktivitas enzim COX atau lipooksigenase, penghambatan akumulasi leukosit, penghambatan degranulasi netrofil, dan juga penghambatan pelepasan histamin²².

Pada keadaan normal atau tidak terjadi inflamasi, limfosit bergerak bebas di sepanjang dinding endotel, sedangkan pada keadaan inflamasi berbagai mediator turunan endotel dan faktor komplemen menyebabkan adesi leukosit ke dinding endotel. Hal tersebut menyebabkan leukosit menjadi tidak bergerak bebas lagi dan menstimulasi degranulasi neutrofil. Flavonoid dapat menghambat degranulasi netrofil, menurunkan adesi leukosit di endotel, menurunkan jumlah leukosit yang yang tidak bergerak sehingga secara langsung juga dapat mengurangi pelepasan asam arakhidonat oleh netrofil dan akhirnya mengurangi inflamasi²³.

Radikal bebas memiliki kemampuan untuk menarik berbagai mediator inflamasi. Efek flavonoid sebagai antioksidan secara tidak langsung juga mendukung efek antiinflamasi. Flavonoid dapat menstabilkan *Reactive Oxygen Species (ROS)* dengan cara bereaksi dengan senyawa reaktif dari radikal, sehingga radikal menjadi inaktif dan inflamasi dapat menurun²³. Efek antiinflamasi flavonoid juga didukung oleh aksinya sebagai antihistamin. Proses pelepasan histamin distimulasi oleh pemompaan kalsium di dalam sel. Flavonoid mampu menghambat pelepasan histamin dari sel mast serta menghambat enzim c-AMP

fosfodiesterase sehingga dapat menyebabkan kadar c-AMP dalam sel mast meningkat. Kadar c-AMP dalam sel mast yang meningkat dapat mencegah kalsium masuk ke dalam sel, sehingga pelepasan histamin pun dapat dicegah²².

Flavonoid mampu menurunkan jumlah ekspresi IL-6²⁴. Hal ini didukung pula bahwa IL-6 berperan penting dalam mengatur fungsi sistem imun dan IL-6 diproduksi pada saat terjadi infeksi. Sirkulasi IL-6 akan menstimulasi sistem imun melalui fase akut, sehingga reaksi ini akan mendorong diproduksinya fase akut protein yang merupakan suatu antibodi. Produksi antibodi ini menyebabkan peningkatan proses fagositosis, yaitu suatu proses dimana sel imun akan menetralkan bakteri atau patogen lainnya dan inflamasi dapat mereda²⁵.

Hasil penelitian pada kelompok yang diberi ekstrak etanol kulit jeruk nipis dosis 1 didapatkan perbedaan jumlah IL-6 yang tidak bermakna terhadap kelompok perlakuan yang diberikan dosis 2. Pada kelompok perlakuan dosis 2 didapatkan perbedaan jumlah IL-6 yang tidak bermakna terhadap kelompok perlakuan 3. Menurut penelitian Dewi (2010), mengenai ekstrak flavonoid dari kulit jeruk siam sebagai desinfektan, pada setiap 1 gram ekstrak mengandung 2,02 mg flavonoid, sehingga pada dosis 1,26 mg/100g BB didapatkan kadar flavonoid sebesar 0,003 mg, dosis 2,52 mg/100g BB didapatkan kadar flavonoid sebesar 0,005 mg dan pada dosis 5,04 mg/100g BB didapatkan kadar flavonoid sebesar 0,010 mg²⁷. Selisih kadar flavonoid antara 0,002-0,005 mg yang menyebabkan

kedua dosis tersebut tidak berbeda bermakna, sedangkan pada pemberian dosis 1 dan dosis 3 didapatkan perbedaan jumlah IL-6 yang bermakna. Hal tersebut disebabkan oleh karena didapatkan selisih kadar flavonoid yang semakin besar, yaitu 0,007 mg. Dengan bertambahnya selisih kadar flavonoid menjadi 0,007 mg tersebut, maka sudah mampu memberikan perbedaan yang bermakna. Faktor lain yang dapat mempengaruhi adalah kondisi tikus itu sendiri, dimana respon terhadap suatu senyawa yang diberikan dapat memberikan hasil berbeda. Respon tersebut dapat dikarenakan perbedaan dalam metabolisme suatu senyawa dan juga mekanisme imunologi, sehingga mempengaruhi tingkat absorpsi kandungan zat aktif pada ekstrak etanol kulit jeruk nipis²⁷. Pada hasil penelitian ini didapatkan penurunan jumlah ekspresi IL-6 dengan bertambahnya dosis ekstrak etanol kulit jeruk nipis yang diberikan, karena semakin besar dosis ekstrak etanol kulit jeruk nipis yang diberikan maka semakin kuat efeknya sebagai anti inflamasi. Hal ini disebabkan semakin tinggi dosis yang diberikan, jumlah zat aktif seperti flavonoid yang terkandung di dalam ekstrak tersebut juga semakin tinggi, sehingga kemampuannya dalam menghambat inflamasi juga semakin besar²⁸. Hasil penelitian ini sesuai dengan hipotesa bahwa ekstrak etanol kulit jeruk nipis dapat bekerja untuk menurunkan jumlah ekspresi IL-6 pada inflamasi yang ditandai dengan menurunnya jumlah ekspresi IL-6 pada kelompok tikus jantan galur wistar yang diberi ekstrak etanol

kulit jeruk nipis yang diinduksi *A. Actinomycetemcomitans*.

KESIMPULAN

Pemberian ekstrak etanol kulit jeruk nipis dapat menurunkan jumlah ekspresi IL-6 pada gingiva tikus yang diinduksi *A. actinomycetemcomitans*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kumar, V., Abbas, A.K., Fausto, N., Mitchell R.N. 2007. *Robbins Basic Pathology*. Saunders Elsevier. Philadelphia. p.37-41,53-5.
2. Mitchell, R.N., Kumar, V., Abbas, A.K., Fausto, N. 2006. *Pocket Companion to Robbins and Cotran Pathologic Basic of Disease, 7th ed*. Elsevier Inc. New York. p.29-30, 44-51
3. Mycek, M.J., Harvey, R.A., dan Champe C.C. 2001. *Farmakologi Ulasan Bergambar. Azwar Agus (Penerjemah)*. Widya Medika. Jakarta. hal.259.
4. Feghali, Carol A., Wright, Timothy M. 1997. *Cytokines in Acute and Chronic Inflammation*. Frontiers in Bioscience, 1(1):12,14.
5. Purba, J.S. 2009. *Nyeri Dan Sistem Imun : Sejauh Mana Keterkaitannya*. Majalah Kedokteran Indonesia, 2009, Volume 22 No. 1.
6. Carranza, F.A., Newman, M.G., Takei, H.H., Klokkevold, P.R. 2012. *Caranza's Clinical Periodontology, 11th ed*. Elsevier Saunders Company. London.p.12-13.
7. Gehrig, J.S.N., Willmann, D.E. 2008. *Foundations of Periodontic for The Dental Hygienist, 2th ed*. Wolters Kluwer. United States of America.
8. Katzung, B. G. 2002. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Salemba Medika. Jakarta, Indonesia.hal. 456,454, 449.
9. Santoso, H.B. 1998. *Toga 2*, Cetakan 1. Kaninus. Yogyakarta. Hal. 6.
10. Utami, T.U., Kuncoro, R.A., Hutami, I.R., Sari, Finsa, T.S., Handajani, J. 2011. *Efek Antiinflamasi Ektrak Daun Sembukan (Paederia scandens) Pada Tikus Wistar*. Majalah Obat Tradisional. 16(2), 95 – 100.
11. Lee, Do-Hoon. 2011. *Flavonoids Isolated from Korea Citrus aurantium L. Induce G2/M Phase Arrest and Apoptosis in Human Gastric Cancer AGS Cells*. Evid Based Complement Alternat Med. USA. 1(1) : 1-11.
12. Pussinen P.J., Alfthan G., Rissanen H., Reunanen A., Asikainen S., X., Kolltveit K.M., Tronstad L., Olsen I. 2000. *Systemic disease caused by oral infection*. Clinical Microbiology Reviews. Vol. 13 No. 4; 547-558.
13. Amalina, Rizki. *Perbedaan Jumlah Actinobacillus Actinomycetemcomitans Pada Periodontitis Agresif Berdasarkan Jenis Kelamin*. 2011. Majalah Sultan Agung. Vol 59, hal.124.
14. Henderson, B., Wilson, M., Sharp, L., Ward, J.M. 2002. *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Journal of Medical Microbiology, Vol. 51 (2002), 1013–1020.
15. Garlet P.G., Compos, M.J.A., Milanezi, C.M., Ferriera, B.R., Silvia, J.S. 2005.

- Actinobacillus actinomycetemcomitans-induced periodontal disease in mice: patterns of cytokine, chemokine, and chemokine receptor expression and leukocyte migration*. Elsevier. Microbes and Infection, 7 (2005) 738-747.
16. Gosh, Shankar and Karin, Michael. 2007. *Missing Pieces in The NF- κ B Puzzle*. Cell, Vol. 109, S81-S96.
 17. Umar, Nazzarudin. 2010. *Pengaruh Pemberian ACTH Pro -Gly-Pro (MEHFPGP) Intranasal dengan waktu yang Berbeda terhadap faktor perdarahan dan Proteksi Otak Pada Tikus Model Cedera Otak Traumatik*. Disertasi. Program pascasarjana Universitas Padjajaran. Bandung.
 18. Gattuso, G., Barreca, D., Gargiulli, C., Leuzzi, U., Caristi, C. 2007. *Flavonoid Composition of Citrus Juices*. Molecules, 2007, 12, 1641-1673.
 19. Tsui V.W., Wong R.W., Rabie A.B. 2008. *The Inhibitory Effects Of Naringin On The Growth Of Periodontal Patogens In Vitro*. (Abstract). *Phytother Res*. 2008 Mar ; 22(3):401-406.
 20. Robbins. 1999. *Dasar Patologi Penyakit*. EGC. Jakarta.
 21. Widowati, Amelia Kartika dkk. 2011. *Efek Antipiretik Ekstrak Daun Jeruk Nipis (Citrus aurantifolium). Pada Tikus Putih (Rattus norvegicus)*. Abstrak. Universitas Sebelas Maret.
 22. Hidayati, Nur A., Listyawati, S., Setyawan, Dwi S. 2008. *Kandungan Kimia dan Uji Antiinflamasi Ekstrak Etanol Lantana camara L. pada Tikus Putih (Rattus norvegicus L.) Jantan*. Bioteknologi, 2008 Mei, 5 (1) : 10-17.
 23. Nijveldt, R. J., E, van Nood, D., E.C. van Hoorn, P., G. Boelens, K., van Norren, P., A.M. van Leeuwen. 2001. *Flavonoids : a review of probable mechanisms of action and potential applications*. American Journal of Clinical and Nutrition 74 : 418-425.
 24. Gallego, G., Campos, S. 2007. *Anti-Inflammatory Properties Of Dietary Flavonoids*. 2007. Nutricion Hospitalaria, 22(3) : 93-287.
 25. Maier, Karyn. 2003. What is Interleukin 6, (online), (<http://www.wisegeek.com/what-is-nterleukin-6.htm>), diakses tanggal 20 November 2011).
 26. Dewi, Isselia Kurnia. 2010. *Ekstraksi Flavonoid Dari Kulit Jeruk Siam (Citrus nobilis) Sebagai Bahan Desinfektan*. Thesis. Universitas Gajah Mada. Yogyakarta.
 27. Katzung, B. G. 2002. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Salemba Medika. Jakarta, Indonesia. hal. 456, 454, 449.
 28. Rustam, E., Atmasari, I., Yanwirasti. 2007. *Efek Antiinflamasi ekstrak etanol Kunyit (Curcuma domesticaVal.) Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar*. Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi, Vol 12, No. 2, 2007 : 112-115.