

Artikel Penelitian

Efek Oktil Galat Sintetik terhadap *Interleukin-1 Beta* dan *Interleukin-1 Receptor Antagonist* pada Tikus Model Endometriosis

Arleni Bustami,^{1*} Cicilia F. Hayuningrum,² Wahyu P. Lestari,² Heri Wibowo,^{1,3} Puspita E. Wuyung,⁴ R. Muharam Natadisastra⁵

¹Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta

²Program Magister Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta

³Departemen Parasitologi, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta

⁴Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta

⁵Departemen Obstetri dan Ginekologi, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia-RSUPN dr. Cipto Mangunkusumo, Jakarta

*Penulis korespondensi: arleni.ab@gmail.com

Diterima 9 Desember 2019; Disetujui 2 September 2020

DOI: 10.23886/ejki.8.11291.

Abstrak

Endometriosis merupakan penyakit imun-inflamasi kronik yang ditandai dengan pertumbuhan jaringan endometrial di luar rongga uterus. Pada endometriosis terjadi peningkatan kadar IL-1 β sedangkan kadar IL-1Ra menurun atau tidak terdeteksi; ketidakseimbangan tersebut menginduksi pertumbuhan dan perkembangan lesi endometriosis. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis efek oktil galat (OG) terhadap kadar IL-1 β dan IL-1Ra dari supernatan homogenat jaringan tikus model endometriosis. Penelitian eksperimental dilakukan di Animal Research Facilities Indonesia Medical Education and Research Institute, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia pada bulan Juni 2018-Mei 2019. Sebanyak 30 tikus wistar betina dibagi menjadi tiga kelompok. Kelompok I dilakukan operasi sham, sedangkan kelompok II dan III diautotransplantasi endometriosis. Kelompok II diinduksi carboxymethyl cellulose sodium Na-CMC dan kelompok III diberikan suspensi 20 mg OG dalam Na-CMC per oral selama satu bulan. Seluruh hewan coba dieutanasia, jaringan endometrium dari kelompok I serta endometriosis dari kelompok II dan III diambil untuk dihomogenasi. Kadar IL-1 β dideteksi dengan metode Luminex, sedangkan IL-1Ra dengan ELISA. Rerata kadar IL-1Ra pada kelompok III (243,601 \pm 92,505 ng/mgP) lebih tinggi dibandingkan kelompok II (178,058 \pm 87,545 ng/mgP). Uji beda proporsi kadar IL-1Ra kategori tinggi pada kelompok III (33,3%) secara signifikan lebih tinggi dibandingkan kelompok II (12,5%). Induksi OG pada tikus model endometriosis meningkatkan kadar IL-1Ra, namun tidak menekan kadar IL-1 β .

Kata kunci: endometriosis, inflamasi kronik, oktil galat, interleukin-1 beta (IL-1 β), interleukin-1 receptor antagonist (IL-1Ra).

The Effect of Octyl Gallate Synthetic to *Interleukin-1 Beta* and *Interleukin-1 Receptor Antagonist* in Rat Endometriosis Model

Abstract

Endometriosis is a chronic immune-inflammatory disease characterized by the growth of endometrial tissue outside the uterine cavity. There is an increase of IL-1 β levels while IL-1Ra levels are decreased or not detected in endometriosis. This imbalance induces the growth and development of endometriotic lesions. This study aims to analyze the effect of octyl gallate (OG) on the levels of IL-1 β and IL-1Ra from homogenate supernatant of the mouse tissue endometriosis model. Experimental research was carried out at the Animal Research Facilities Indonesia Medical Education and Research Institute, Faculty of Medicine, Universitas Indonesia in June 2018-May 2019. A total of 30 female wistar rats were divided into three groups. Group I underwent sham surgery, while groups II and III had autotransplantation for endometriosis. Group II was induced by carboxymethyl cellulose sodium Na-CMC and group III was given a suspension of 20 mg OG in Na-CMC orally for one month. All experimental animals were euthanized, endometrial tissue from the group I and endometriosis from groups II and III were taken to be homogenized. IL-1 β levels were detected by the Luminex method, while IL-1Ra levels were detected by ELISA. The mean levels of IL-1Ra in group III (243.601 \pm 92.505 ng / mgP) were higher than in group II (178.058 \pm 87.545 ng / mgP). A different test for the proportion of high category IL-1Ra levels in group III (33.3%) was significantly higher than group II (12.5%). OG induction in endometriosis model mice increased IL-1Ra levels, but did not suppress IL-1 β levels.

Keywords: endometriosis, chronic inflammation, octyl gallate, interleukin-1 beta (IL-1 β), interleukin-1 receptor antagonist (IL-1Ra)

Pendahuluan

Endometriosis adalah penyakit inflamasi kronik yang ditandai dengan pertumbuhan jaringan endometrial di luar rongga uterus dan terdapat pada 6-10% populasi perempuan di dunia.¹⁻³ Endometriosis umumnya terjadi pada usia reproduktif dan menimbulkan keluhan seperti nyeri pelvik kronik, dismenorea, disparenia, bahkan infertilitas.^{3,4}

Endometriosis berkaitan erat dengan kelainan sistem imun yaitu meningkatnya jumlah makrofag yang teraktivasi dan abnormalitas ekspresi sitokin di lingkungan peritoneal.^{1,3} Aktivasi makrofag di rongga peritoneal memicu peningkatan kadar sitokin pro-inflamasi interleukin-1 beta (IL-1 β). Hal itu dibuktikan pada penelitian sebelumnya bahwa kadar IL-1 β di cairan peritoneal, sel endometrium eutopik dan ektopik pada endometriosis lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol.⁵⁻⁸ Selain itu, peningkatan kadar IL-1 β meningkatkan kadar prostaglandin E2 (PGE-2). Akoum et al⁶ membuktikan bahwa stimulus IL-1 terhadap sel endometrial ektopik meningkatkan ekspresi *monocyte chemotactic protein-1* (MCP-1), faktor angiogenesis seperti *vascular endothelial growth factor* (VEGF), dan *integrin-mediated adhesion*. Hal tersebut mengindikasikan bahwa IL-1 β berperan penting pada proses adhesi, pertumbuhan, perkembangan, dan angiogenesis di endometriosis. Bersamaan dengan itu, terjadi penurunan kadar sitokin anti-inflamasi, salah satunya *interleukin-1 receptor antagonist* (IL-1Ra).

IL-1Ra merupakan reseptor antagonis endogen terhadap IL-1 β yang diproduksi oleh monosit, makrofag, neutrofil, dan sel endometrial.^{3,6} Selain itu, IL-1Ra berfungsi menghambat sekresi berbagai mediator pro-inflamasi seperti IL-8 dan VEGF di sel stroma endometriosis.³ Penelitian sebelumnya telah membuktikan terjadinya penurunan kadar IL-1Ra pada cairan peritoneal, jaringan endometrium eutopik dan ektopik perempuan endometriosis dibandingkan kontrol.^{3,7} Selain itu juga dibuktikan bahwa kadar IL-1Ra akan semakin menurun diikuti dengan semakin parahnya endometriosis.⁶ Tanaka et al,⁹ melaporkan tidak terdeteksinya mRNA IL-1Ra pada endometriosis dibandingkan kondisi normal. Ketidakseimbangan kadar sitokin IL-1 β dengan inhibitor endogen pada endometriosis berkontribusi terhadap pertumbuhan dan perburukan endometriosis sehingga diharapkan, IL-1Ra dapat dijadikan target pengobatan.

Terapi endometriosis saat ini adalah pemberian *nonsteroidal anti-inflammatory drugs* (NSAIDs), obat-obat hormonal, dan pembedahan, namun NSAID dan obat hormonal belum

mampu menghilangkan lesi yang terbentuk dan memberikan efek samping pada pemakaian jangka panjang.¹⁰ Pembedahan masih diikuti dengan tingginya kekambuhan gejala yaitu pada kurun waktu dua tahun mencapai 21,5% dan 40-50% setelah 5 tahun¹¹ sehingga dibutuhkan obat yang lebih efektif dan aman untuk endometriosis.

Oktil galat (OG) merupakan turunan asam galat yang termasuk kelompok polifenol, terkandung di berbagai bahan alam seperti daun teh hijau, stroberi, dan nanas. Asam galat dan turunannya memiliki berbagai manfaat yaitu antiinflamasi, antibakteri, antijamur, dan antikanker.¹² OG efektif menurunkan ekspresi mRNA *nuclear factor kappa b* (NF- κ B) dan IL-1 β di kultur sel primer endometriosis.¹³ Selain itu, induksi asam galat mampu menekan kadar berbagai sitokin pro-inflamasi pada endometriosis baik secara *in-vitro* maupun *in-vivo*^{12,13} dan menekan aktivasi NF- κ B.¹⁴ Meskipun demikian, penelitian efek OG terhadap kadar IL-1Ra dan IL-1 β secara *in-vivo* belum pernah dilakukan. Penelitian ini bertujuan menganalisis efek pemberian OG terhadap kadar IL-1Ra dan IL-1 β di supernatan homogenat jaringan tikus model endometriosis.

Metode

Penelitian eksperimental *in-vivo* ini menggunakan hewan coba tikus wistar pada bulan Juni 2018 sampai Mei 2019, di *Animal Research Facilities Indonesia Medical Education and Research Institute*, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia (IMERI FKUI). Protokol penelitian yang dilaksanakan telah mendapat persetujuan dari Komite Etik Penelitian Kesehatan FKUI dengan nomor surat 0661/UN2.F1/ETIK/2018.

Sebanyak 30 tikus betina berusia 7-8 minggu, berat badan 150-200 gram, dan tidak cacat fisik dipilih untuk penelitian ini. Kriteria eksklusi adalah tidak mengalami estrus sampai usia >10 minggu, tidak terbentuk jaringan endometriosis yang dibuktikan saat laparotomi kedua dan memiliki tanda-tanda tikus sakit. Tikus diperoleh dari Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan (Litbangkes). Tikus mendapat makanan dan minuman *ad libitum*, ditempatkan di kandang dengan jumlah tikus tiga ekor per kandang. Tikus dipelihara di *Animal Research Facilities* IMERI-FKUI dengan stimulasi 12 jam gelap: 12 jam terang.

Perlakuan Hewan Coba

Tikus dibagi menjadi tiga kelompok. Kelompok I hanya dilakukan laparotomi tanpa autotransplantasi endometriosis. Kelompok II dan III menjalani induksi

endometriosis dengan metode autotransplantasi seperti yang dilakukan Fischer OM et al.¹⁵ Setelah dianestesi, rongga abdomen tikus dibuka dan tanduk uterus sebelah kiri dipotong sepanjang $\pm 0,5$ mm dan ditempel di dinding peritoneal kanan. Tikus diberi antibiotik dan rongga abdomen ditutup. Pemberian antibiotik dilanjutkan sampai dua hari pasca autotransplantasi. Setelah dua bulan, dilakukan laparotomi pada kelompok II dan kelompok III untuk menganalisis lesi endometriosis yang terbentuk.

Setelah terbentuk lesi endometriosis, tikus kelompok III diberikan 20 mg OG yang dilarutkan dalam *sodium carboxymethyl cellulose* (Na-CMC) per oral, sedangkan tikus kelompok II hanya diberikan Na-CMC. Satu bulan kemudian semua tikus dieutanasia dan diambil sampel jaringan. Tikus kelompok II dan III diambil jaringan endometriosis, sedangkan tikus kelompok I diambil jaringan endometrium. Potongan jaringan selanjutnya dimasukkan ke tabung falcon dan ditambahkan 1 mL PBS per 100 mg jaringan selanjutnya dihomogenasi dengan *high sonication homogenizer*. Setelah itu, homogenat jaringan disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 5 menit dengan suhu 4° C dan diambil supernatan untuk dilakukan pemeriksaan kadar IL-1 β dan IL-1Ra.

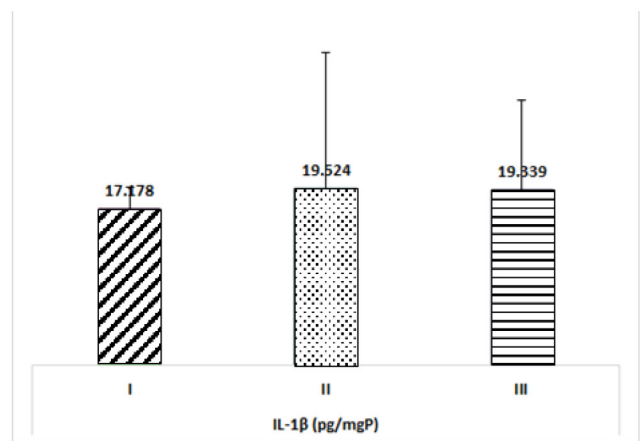
Kadar IL-1Ra diukur menggunakan *sandwich* ELISA kit produk Cusabio (CSB-E10397e, Houston, USA) sedangkan kadar IL-1 β diukur dengan Multiplex Immunoassay Luminex kit dari R&D Systems (LXSARM-03, Minneapolis, MN, USA). Prinsip pengukuran dengan metode ELISA adalah antibodi spesifik diikat di *bead* yang diletakkan di *microwell plate*. Data yang didapat berupa nilai NET *median fluorescent intensity* (MFI) yang dikonversi melalui kurva regresi dan didapatkan sitokin dalam satuan pg/ml. Selanjutnya hasil yang diperoleh dibagi dengan protein total dari masing-masing sampel supernatan. Pengukuran protein total dilakukan dengan metode Christian-Warburg.

Analisis Statistik

Data dianalisis menggunakan SPSS versi 20. Perbedaan rerata kadar IL-1 β dan IL-1Ra antar tiga kelompok dianalisis dengan *analysis of variance* (ANOVA) dilanjutkan dengan uji least significant difference (LSD) untuk perbedaan dua kelompok. Perbedaan proporsi kadar IL-1Ra dan IL-1 β pada tiga kelompok dianalisis menggunakan uji Fisher's Exact. Hasil uji dinyatakan berbeda signifikan jika $p < 0,05$.

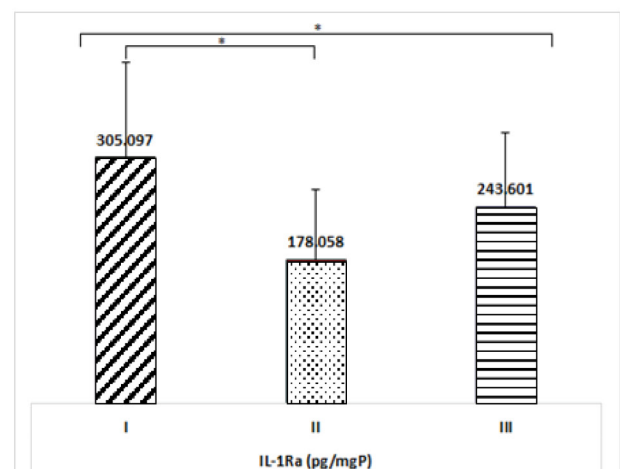
Hasil

Rerata kadar IL-1 β kelompok II ($19,524 \pm 14,845$ pg/mgP) lebih tinggi dibandingkan rerata kadar IL-1 β pada kelompok I ($17,378 \pm 1.356$ pg/mgP), sedangkan rerata kadar IL-1 β kelompok III ($19,339 \pm 9,806$ pg/mgP) lebih rendah dibandingkan kelompok II. Rerata kadar IL-1 β pada ketiga kelompok tidak berbeda signifikan (Gambar 1).



Gambar 1. Kadar IL-1 β di Sampel Supernatan Homogenasi Jaringan Endometriosis

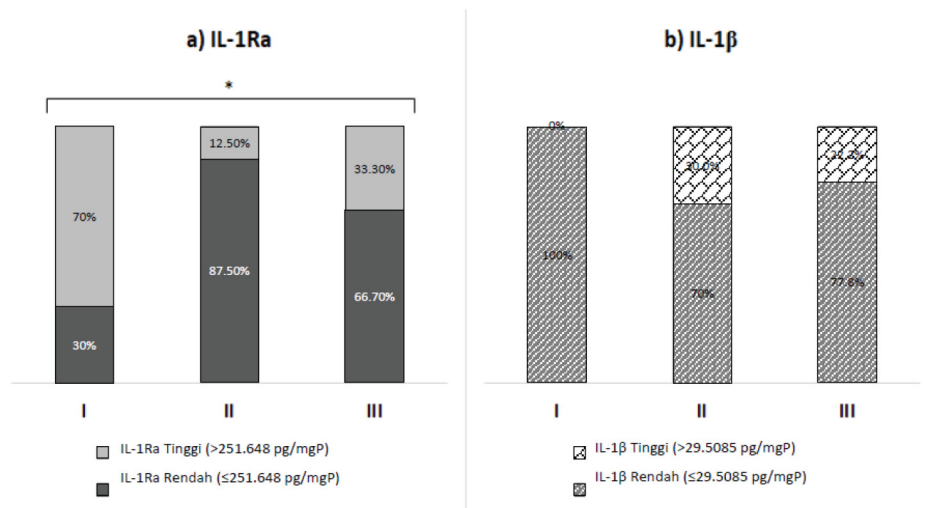
Rerata kadar IL-1Ra antara ketiga kelompok (Gambar 2) berbeda signifikan dengan rerata tertinggi di kelompok I ($305,097 \pm 119,098$ ng/mgP) sedangkan kadar terendah berada di kelompok II ($178,058 \pm 87,545$ ng/mgP). Pemberian OG di kelompok III ($243,601 \pm 92,505$ ng/mgP) meningkatkan kadar IL-1Ra dibandingkan kelompok II.



Gambar 2. Kadar IL-1Ra di Sampel Supernatan Homogenasi Jaringan Endometriosis

Analisis perbedaan kadar IL-1Ra dan IL-1 β dilanjutkan dengan uji perbedaan proporsi kadar IL-1Ra dan IL-1 β kategori tinggi dan rendah pada ketiga kelompok. Proporsi kadar IL-1 β kategori tinggi di kelompok II lebih tinggi 30% dibandingkan kelompok I (Gambar 3). Induksi OG di kelompok III hanya menekan proporsi kadar IL-1 β 7,8% dibandingkan kelompok II. Perbedaan proporsi kadar IL-1 β ketiga kelompok tidak berbeda signifikan.

Sejalan dengan kadar IL-1Ra sebagai reseptor antagonis endogen terhadap IL-1 β , maka proporsi kadar IL-1Ra kategori tinggi pada kelompok II 57,5% lebih rendah secara signifikan dibandingkan kelompok I. Induksi OG menyebabkan proporsi kadar IL-1Ra kategori tinggi pada kelompok III (33,3%) secara signifikan lebih tinggi dibandingkan kelompok II (12,5%). Cantumkan p pada uji statistik



Gambar 3. Proporsi Kadar IL-1Ra (a) dan (b) IL-1 β Kategori IL-1Rendah dan Tinggi di Supernatan Jaringan Endometriosis

Diskusi

IL-1 adalah sitokin pro-inflamasi utama yang berperan penting pada berbagai penyakit inflamasi kronik.^{16,17} Keluarga sitokin IL-1 terdiri atas dua sitokin pro-inflamasi yaitu IL-1 α dan IL-1 β serta reseptor antagonis naturalnya yaitu IL-1Ra.⁷ Masing-masing IL-1 akan berikatan dengan reseptor sel permukaan yang sama yaitu *IL-1 receptor type 1* (IL-1R1) sehingga terjadi kompetisi untuk menduduki reseptor tersebut.¹⁶

Berbagai penelitian telah membuktikan peningkatan kadar IL-1 β di cairan peritoneal, sel endometrium eutopik maupun ektopik.^{3,5-7,9} Peningkatan sitokin mungkin berhubungan dengan meningkatnya jumlah dan aktivasi makrofag di rongga peritoneal saat kondisi endometriosis yang selanjutnya berperan mempertahankan kondisi inflamasi kronik, adhesi, pertumbuhan, dan perkembangan lesi endometriosis.

Hasil penelitian ini menunjukkan peningkatan kadar IL-1 β tikus model endometriosis dibandingkan tikus normal. Ekspresi IL-1 β diinduksi oleh faktor transkripsi NF- κ B yang merupakan salah satu faktor transkripsi dan terbukti bahwa kadar NF- κ B non-fosforilasi menurun pada tikus

model endometriosis.¹⁴ Peningkatan kadar IL-1 β di kelompok tikus model endometriosis, membuktikan bahwa kondisi inflamasi kronik berperan penting terhadap pertumbuhan jaringan endometriosis. Hal tersebut terjadi akibat peningkatan kadar sitokin proinflamasi yang mengaktifasi faktor transkripsi NF- κ B dan merupakan faktor transkripsi utama dalam mempromosikan peningkatan kadar sitokin pro-inflamasi.

IL-1Ra adalah reseptor antagonis natural endogen terhadap IL-1 yang akan berkompetisi dengan IL-1 untuk berikatan dengan *interleukin-1 receptor1* (IL-1R1).⁷ IL-1Ra berikatan dengan afinitas yang sama kuatnya pada IL-1R1. Peran IL-1Ra pada kondisi endometriosis masih belum jelas hingga saat ini. Beberapa penelitian terdahulu membuktikan bahwa IL-1Ra tidak terdeteksi pada endometrium ektopik pasien endometriosis dan mengalami penurunan pada endometrium eutopiknya.^{3,6,7} Rendahnya kadar IL-1Ra mengakibatkan ketidakmampuan dalam menghambat sekresi sitokin pro-inflamasi IL-1 β . Sekresi IL-1 β yang berlebihan meningkatkan kadar PGE-2 yang memicu kegagalan sistem imun dalam mengeliminasi lesi endometriosis.¹⁸

Oleh karena itu, ketidakseimbangan IL-1 β dengan reseptor antagonisnya dapat berkontribusi terhadap perkembangan lesi endometriosis. Meskipun demikian, terdapat penelitian yang menyatakan bahwa kadar IL-1Ra meningkat pada endometriosis.^{5,19}

Penelitian ini membuktikan bahwa kadar IL-1Ra sebagai reseptor antagonis natural terhadap IL-1 β pada tikus model endometriosis (kelompok II) mengalami penurunan signifikan bila dibandingkan kelompok normal. Hal tersebut mendukung teori bahwa kondisi ketidakseimbangan IL-1Ra dengan IL-1 β berperan pada proses patogenesis endometriosis.

OG sebagai salah satu turunan asam galat memiliki aktivitas anti-inflamasi melalui kemampuannya menekan kadar sitokin pro-inflamasi dan menghambat aktivasi jalur pro-inflamasi.^{13,14,20} Induksi OG mampu menekan ekspresi mRNA NF- κ B dan IL-1 β di kultur sel endometriosis primer.¹³ Selain itu, pemberian OG pada tikus model endometriosis mampu menekan kadar PGE-2, namun terdapat perbedaan signifikan antara kadar IL-1 β di supernatan homogenasi jaringan endometriosis kelompok III dibandingkan kelompok II. Hal tersebut terjadi karena induksi endometriosis pada hewan coba yang sudah berlangsung dua bulan sebelum induksi OG selama satu bulan. Dengan demikian efek pemberian OG terhadap kadar IL-1 β tikus model endometriosis perlu diteliti lebih lanjut.

Rendahnya kadar IL-1Ra tidak hanya pada kondisi endometriosis, tetapi di berbagai penyakit inflamasi kronik lainnya, seperti reumatoid arthritis (RA).¹⁶ Pada RA, IL-1Ra telah menjadi target pengobatan dengan dikembangkannya molekul IL-1Ra rekombinan yang disebut Anankira. Pemberian Anankira pada pasien RA terbukti mengurangi gejala dan memperlambat progresivitas kerusakan sendi yang merupakan karakteristik RA. Selain itu, pemberian anankira pada pasien RA terbukti aman, tidak menyebabkan toksisitas pada organ maupun gangguan gastrointestinal.¹⁶ Penelitian ini membuktikan bahwa induksi OG di tikus model endometriosis mampu meningkatkan kadar IL-1Ra secara signifikan dibandingkan kelompok endometriosis yang selanjutnya dapat menekan perkembangan lesi endometriosis. Diharapkan OG dapat dijadikan salah satu kandidat terapi endometriosis dengan meningkatkan kadar IL-1Ra. Meskipun demikian, pengembangan OG dalam meningkatkan kadar IL-1Ra pada endometriosis perlu dibuktikan lebih lanjut.

Kesimpulan

Induksi OG per oral memberikan efek anti-inflamasi melalui peningkatan reseptor antagonis endogen terhadap IL-1 β yaitu IL-1Ra secara signifikan pada tikus model endometriosis. Pemberian OG secara oral dengan dosis 20 mg/ekor/hari tidak menekan kadar sitokin pro-inflamasi IL-1 β secara signifikan. Efektivitas OG terhadap kadar IL-1 β dan IL-1Ra memerlukan penelitian lebih lanjut yang melibatkan berbagai dosis induksi OG.

Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini dibiayai oleh Direktorat Inovasi dan Inkubator Bisnis Universitas Indonesia (DIIB UI) melalui Program Hibah Desain Prototipe (PHD Pro) 2018.

Daftar Pustaka

1. Ahn SH, Monsanto SP, Miller C, Singh SS, Thomas R, Tayade C. Pathophysiology and immune dysfunction in endometriosis. *Biomed Res Int*. 2015;2015:1-12.
2. Sacco K, Portelli M, Pollaco J, Schembri-Wismayer P, Calleja-Agius J. The role of prostaglandin E2 in endometriosis. *Gynecol Endocrinol*. 2012;28:134-8.
3. Zhang X, Wen J, Deng L, Lin J. Decreased levels of peritoneal interleukin-1 receptor antagonist in patients with endometriosis and disease-related dysmenorrheal. *Fertil Steril*. 2007;88:594-8.
4. Bulletti C, Coccia ME, Battistoni S, Borini A. Endometriosis and infertility. *J Assist Reprod Genet*. 2010;27:441-7.
5. Malutan AM, Drugan T, Ciortea R, Mocan-Hognogi RF, Bucuri C, Rada MP, et al. Serum anti-inflammatory cytokines for the evaluation of inflammatory status in endometriosis. *J Res Med Sci*. 2015;20:668-74.
6. Akoum A, Lawson C, Herrmann-Lavoie C, Maheux R. Imbalance in the expression of the activating type I and inhibitory type II interleukin 1 receptors in endometriosis. *Hum Reprod*. 2007;22:1464-73.
7. Keita M, Bessette P, Pelmus M, Ainmelk Y, Aris A. Expression of interleukin-1 ligands system in the most common endometriosis-associated ovarian cancer subtypes. *J Ovarian Res*. 2010;3:1-8.
8. Dinarello CA. Interleukin-1 in the pathogenesis and treatment of inflammatory diseases. *Blood*. 2011;117:3720-32.
9. Tanaka T, Sakamoto T, Mizuno K, Umesaki N, Ogita S. Human endometrial stromal interleukin-1 beta: autocrine secretion and inhibition by interleukin-1 receptor antagonist. *Horm Res*. 2000;53:300-4.
10. Parasar P, Ozcan P, Terry KL. Endometriosis: epidemiology, diagnosis and clinical management. *Curr Obstet Gynecol Rep*. 2017;6:34-41.
11. Koga K, Takamura M, Fujii T, Osuga Y. Prevention of the recurrence of symptom and lesions after conservative surgery for endometriosis. *Fertil Steril*. 2015;104:793-801.

12. Mard SA, Mojadami S, Farbood Y, Naseri MKG. The anti-inflammatory and anti-apoptotic effects of gallic acid against mucosal inflammation- and erosions-induced by gastric ischemia-reperfusion in rats. *Vet Res Forum*. 2015;6:305-11.
13. Bustami A, Utami FS, Budiarti R, Wibowo H. Interleukin IL-1B and cyclooxygenase-2 proinflammation analysis and in silico docking nuclear factor kappa B on endometriosis cell culture given heptyl gallate and octyl gallate treatment. *Asian J Pharm Clin Res*. 2019;12:503-6.
14. Bustami A, Lestari WP, Hayuningrum CF, Wibowo H, Wuyung PE, Natadisastra RM. The anti-inflammatory effect of octyl gallate through the inhibition of nuclear factor- κ B (NF- κ B) pathway in rat endometriosis model [unpublished article]. Jakarta: Universitas Indonesia; 2019.
15. Fischer OM, Kaufmann-Reiche U, Moeller C, Fuhrmann U. Effects of dienogest on surgically induced endometriosis in rats after repeated oral administration. *Gynecol Obstet Invest*. 2011;72:145-51.
16. Dinarello CA, Simon A, Meer JWM. Treating inflammation by blocking interleukin-1 in a broad spectrum of diseases. *Nat Rev Drug Discov*. 2012;11:633-52.
17. Dinarello CA. Interleukin-1 in the pathogenesis and treatment of inflammatory diseases. *Blood*. 2011;117:3720-32.
18. Tanikawa M, Lee HY, Wanatabe K, Majewska M, Skarzynski DJ, Park SB, et al. Regulation of prostaglandin biosynthesis by IL-1 in cultured bovine endometrial cells. *J Endocrinol*. 2008;199:425-34.
19. Gupta S, Agarwal A, Sekhon I, Krajcir N, Cocuzza M, Falcone T. Serum and peritoneal abnormalities in endometriosis: potential use as diagnostic markers. *Minerva Ginecol*. 2006;58:527-51.
20. Seo CS, Jeong SJ, Yoo SR, Lee NR, Shin HK. Quantitative analysis and in vitro anti-inflammatory effects of gallic acid, ellagic acid, and quercetin from *radix sanguisorbae*. *Pharmacogn Mag*. 2016;12:104-8.