

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Arthritis

1. Patofisiologi

Arthritis reumatoid (RA) aktif ditandai dengan kerusakan sendi, peradangan, serta proses autoimun dan inflamasi yang melibatkan sistem imun bawaan dan adaptif. Toleransi terhadap protein yang mengandung sitrulin hilang pada individu yang rentan akibat interaksi kompleks antara genetika dan lingkungan. Enzim *peptidylarginine deiminase* mengubah residu arginin menjadi residu sitrulin pascatranslasi, yang menghasilkan produksi protein ini. Peptida sitrulinasi yang tidak diidentifikasi oleh sistem imun diproduksi oleh pasien dengan ACPA untuk melawan efek epitop yang sama. Mungkin ada kejadian penyakit sekunder tertentu yang diperlukan untuk permulaan keterlibatan sinovial pada RA, menurut perbandingan data MRI dan biopsi sinovial dari individu sehat dengan data dari pasien yang positif RF dan/atau ACPA. Hal ini menunjukkan bahwa produksi autoantibodi sistemik terjadi sebelum pembentukan molekul inflamasi dan adhesi di sinovium. Rata-rata, 79 pasien RA harus menunggu 4,5 tahun setelah gejala RF dan ACPA pertama muncul sebelum mereka mengembangkan RA sinovial (Gibofsky, 2014).

Ketika sel darah putih menyerang sinovium, kondisi yang dikenal sebagai sinovitis terjadi. Bukan peningkatan sel lokal yang menyebabkan akumulasi leukosit di sinovium, melainkan migrasi leukosit dari lokasi yang jauh sebagai respons terhadap produksi molekul adhesi dan kemokin oleh sel endotel mikrovaskular yang diaktifkan di sinovium. Kemungkinan peningkatan populasi sel sinovial dan penurunan aliran kapiler sinovial yang disebabkan oleh peningkatan cairan sinovial menyebabkan bagian dalam sinovium yang meradang menjadi hipoksia. Hipoksia menyebabkan pelepasan zat pemicu angiogenesis seperti faktor pertumbuhan endotel vaskular, yang pada gilirannya mendorong angiogenesis di sinovium (Gibofsky, 2014).

Jalur imun adaptif dan bawaan berinteraksi dengan cara yang rumit selama aktivasi imunologi dan perjalanan penyakit RA. Lingkungan sitokin dan kemokin lokal pada sinovium memiliki dampak yang signifikan terhadap sifat interaksi ini. Beberapa jenis sel inflamasi hidup berdampingan dalam membran sinovial sendi pasien RA yang rusak (Gibofsky, 2014).

Sel dendritik, yang mengekspresikan berbagai sitokin, molekul HLA kelas II, dan molekul kostimulasi, adalah jenis sel penyaji antigen yang penting dalam RA. Kedekatannya dengan sel T RA menunjukkan relevansi respons imun adaptif dalam penyakit ini. mengumpulkan membran sinovial. Komponen utama dari jalur penyajian antigen membran cairan sinovial dan aktivasi sel T adalah sel dendritik. Dua sinyal diperlukan untuk aktivasi sel T. Sinyal pertama adalah penyajian antigen ke reseptor sel T. Sinyal berikutnya, yang dikenal sebagai sinyal kostimulasi, bergantung pada interaksi antara protein sel T CD28 dan protein permukaan sel dendritik penyaji antigen CD80/86. Aktivasi sel T dan proses berikutnya terganggu ketika sinyal kostimulasi diblokir oleh penekanan kompetitif CD80/86. Bukti bahwa sel T terlibat dalam patogenesis RA diberikan oleh fakta bahwa penghambatan CD80/86 efektif dalam mengobati penyakit tersebut (Gibofsky, 2014).

Sel T naif Th0 mengalami pembelahan setelah aktivasi menjadi tiga subkelompok—Th1, Th2, dan Th17—masing-masing dengan profil produksi sitokin dan serangkaian aktivitasnya yang unik. Subkelompok Th17 saat ini menerima lebih banyak perhatian, sedangkan RA sebelumnya dianggap sebagai penyakit yang dimediasi sel Th1. Untuk mendorong diferensiasi Th17 dan mencegah pembentukan sel T regulator, sel dendritik dan makrofag melepaskan faktor pertumbuhan transformasi, yang merupakan sitokin. Faktor-faktor ini meliputi β , interleukin (IL)-1 β , IL-6, IL-21, dan IL-23. Sel-sel sistem sinovial. Sel-sel yang melawan peradangan. Lini sel Th17 juga mengeluarkan "IL-17A, IL-17F, IL-22, IL-26, interferon- γ , kemokin CCL20, dan faktor transkripsi ROR- γ ". Sebagai respons terhadap produksi IL-17A, monosit melepaskan sitokin inflamasi seperti IL-1 β , IL-6, dan TNF- α . Hal ini memicu sinoviosit, yang meliputi sinoviosit mirip fibroblas (FLS) dan sinoviosit mirip makrofag, untuk meningkatkan sintesis IL-26. Pematangan tambahan sel Th17 dirangsang oleh sitokin ini. Interaksi limfosit T yang diaktifkan dengan makrofag dan fibroblas dapat memicu jalur inflamasi yang digerakkan oleh antigen dan jalur inflamasi yang tidak spesifik terhadap antigen (Gibofsky, 2014).

2. *Pathway Disease*

Patofisiologi RA juga melibatkan jaringan sinyal intraseluler. Sitokin, kemokin, antibodi, dan antigen inflamasi menempel pada sel tertentu melalui pengikatan ke reseptor permukaannya. Setelah reseptor mengikat sel

targetnya, serangkaian jalur transduksi sinyal di dalam sel bertemu di nukleus, tempat mereka dapat mengubah ekspresi gen dan, sebagai perluasan, fungsi sel. Secara khusus, sebagai reaksi terhadap rangsangan tertentu, sel imun sering mengubah ekspresi gennya, yang terkait dengan pembentukan dan pelepasan mediator inflamasi. Ketika mediator ini disekresikan ke lingkungan ekstraseluler, mereka meningkatkan dan/atau mengubah sinyal awal lebih jauh. Berikut ini adalah beberapa contoh jalur pensinyalan intraseluler: jalur Janus Kinases (JAK), jalur Mitogen-Activated Protein Kinase (MAPK), pensinyalan Spleen Tyrosine Kinase (Syk), jalur Signal Transducers and Activators of Transcription (STAT), dan jalur Nuclear Factor κ -Light-Chain Enhancer of Activated B Cells (NF- κ B). Telah ada bukti adanya komunikasi antara jalur-jalur ini (Gibofsky, 2014).

Respon imun atipikal tidak dapat terjadi tanpa jaringan sinyal intraseluler, dan penyakit autoimun terjadi akibat gangguan pada jalur ini. Pengobatan RA saat ini mencakup penggunaan obat-obatan kecil dari generasi pertama yang menargetkan target intraseluler. Target terapeutik tambahan pasti akan ditemukan seiring bertambahnya pengetahuan kita tentang jalur ini. Perubahan pada jaringan mesenkimal juga terkait dengan peradangan RA. RA menyebabkan FLS berkembang biak dan mengubah fenotipnya; biasanya, FLS hidup di sinovium. Molekul adhesi intraseluler-1, molekul adhesi sel vaskular-1, interferon-g, faktor nekrosis tumor-alfa, dan interleukin-6 adalah mediator inflamasi dan molekul adhesi yang diproduksi dalam sinovium yang meradang setelah interaksi antara FLS dan sel T. Kerusakan sendi dapat terjadi akibat FLS yang berubah, yang menargetkan tulang rawan artikular dan menghasilkan banyak protease (Gibofsky, 2014).

3. Terapi Farmakologi

Respons peradangan pada jaringan sinovial berkurang dengan penggunaan beberapa pilihan terapi untuk RA, seperti DMARD, DMARD biologis, NSAID, dan kortikosteroid.

3.1. *Disease modifying antirheumatic drugs (DMARDs).*

Bukti menunjukkan bahwa DMARD merupakan bagian penting dari terapi RA sejak tahun 1970-an. Kemajuan radiografi melambat akibat peradangan yang lebih rendah. Penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa ketika DMARD digunakan untuk mengobati RA, baik gejala klinis maupun pencegahan RA secara umum membaik. Salah satu DMARD yang

paling umum dan terkenal adalah metotreksat (MTX). Peningkatan efektivitas telah ditunjukkan dengan dosis rendah MTX yang diberikan sendiri atau dikombinasikan dengan obat lain (Kumar *et al.*, 2020).

Dosis rendah MTX digunakan untuk mengendalikan RA, dan lebih rumit untuk mengantisipasi mekanisme kerjanya. Banyak jalur penting yang menentukan efektivitas MTX dalam RA sekarang menjadi subjek penyelidikan. MTX menghambat sintesis DNA melalui pengikatan pada dihidrofolat reduktase dan timidilat sintetase, yang menurunkan sintesis residu timidina secara *de novo*. MTX menghambat sitokin proinflamasi, eikosanoid, dan metaloproteinase matriks (MMP), meningkatkan pensinyalan adenosin, dan menstimulasi spesies oksigen reaktif (ROS) (Kumar *et al.*, 2020).

Dalam praktik klinis, MTX biasanya diberikan seminggu sekali melalui mulut atau subkutan. Di sisi lain, efek samping serius seperti gangguan ginjal, hepatotoksitas, toksisitas paru, efek samping gastrointestinal, mual, pneumonitis, mielosupresi, perubahan warna kulit, sakit kepala, dan rambut rontok membatasi penggunaan MTX dalam jangka panjang. Banyak laporan telah muncul tentang kemungkinan kerusakan hati dan hepatitis akibat mengonsumsi MTX. (Kumar *et al.*, 2020).

Di antara DMARD lainnya, leflunomide menghambat produksi pirimidin dalam limfosit dengan bekerja secara eksklusif pada sel-sel ini. DMARD yang berbeda, hidroksiklorokuin, telah diindikasikan bermanfaat dalam meningkatkan fungsi sendi dan ketidaknyamanan dengan efek samping yang rendah. Dibandingkan dengan MTX, sulfasalazin kurang berbahaya bagi pasien artritis reumatoid. Selain itu, dapat meningkatkan pensinyalan adenosin dan memblokir jalur asam arakadonat, yang sebanding dengan cara kerjanya dengan MTX. Telah didokumentasikan bahwa priming monosit/makrofag manusia dengan klorokuin menghambat TNF- α , IL-6, dan IL-1 β melalui lipopolisakarida. Obat-obatan tambahan yang digunakan sebagai pengganti atau sebagai alat pelengkap dalam pengobatan RA termasuk azatioprin, siklosporin, minosiklin, doksisisiklin, dan lainnya. Pilihan lain adalah garam emas yang dapat disuntikkan, yang memiliki riwayat mengurangi perkembangan radiografi (Kumar *et al.*, 2020).

3.2. Glukokortikoid. Dalam pengobatan RA, glukokortikoid berperan penting sebagai antiinflamasi dan immunosupresan. Glukokortikoid memiliki beberapa cara kerja yang berbeda. Setelah memasuki sel, molekul-molekul ini

mengikat reseptor glukokortikoid sitosolik, mengubahnya dari reseptor yang tidak aktif menjadi kompleks yang aktif. Kemudian, setelah bertranslokasi ke dalam nukleus, mereka memulai trans-represi atau transaktivasi. Penurunan sintesis protein proinflamasi dan peningkatan ekspresi protein antiinflamasi seperti I κ B, annexin I, dan MAPK fosfatase I terjadi sebagai akibat dari transaktivasi, yang menyebabkan protein pengatur tertentu diekspresikan secara berlebihan, dan transrepresi kompleks monomer reseptor glukokortikoid sitosolik menghambat aktivitas faktor transkripsi inflamasi seperti protein aktivator 1 dan faktor nuklir- β (NF- β). Untuk mengobati artritis reumatoid, deksametason (DEX) adalah salah satu glukokortikoid utama yang digunakan baik sendiri maupun bersama dengan obat lain. Dalam hal penanganan radang sendi jangka panjang, DEX merupakan pengobatan pilihan untuk pengobatan lini pertama. Demineralisasi tulang, diabetes, dan sindrom Cushing termasuk di antara gangguan serius yang disebabkan oleh penggunaan DEX jangka panjang, oleh karena itu penggunaannya terbatas (Kumar *et al.*, 2020).

3.3. *Biologic disease modifying antirheumatic drugs (bDMARDs).*

Antagonis reseptor obat antirematik pengubah penyakit biologis (DMARD) adalah golongan baru pengubah respons biologis yang dapat mengurangi keparahan penyakit, meningkatkan tingkat kelangsungan hidup, dan memperlambat perkembangan degenerasi sendi. Di antara DMARD biologis, infliximab, adalimumab, golimumab, certolizumab, dan etanercept adalah pilihan yang lebih disukai karena menghambat faktor nekrosis tumor alfa2. Ketika obat-obatan ini berikatan dengan TNF α yang larut, hal itu memicu kematian sel dari sel-sel yang mengekspresikan TNF α . Meskipun obat-obatan ini bekerja dengan baik sendiri, mereka memiliki banyak manfaat ketika digunakan bersama dengan DMARD, baik dalam hal menghentikan perkembangan radiografi dan meningkatkan respons klinis. Karena sel plasma tidak mengekspresikan CD20, antibodi monoklonal anti-CD20 kimerik Rituximab mampu menghilangkan limfosit B yang matang dan belum matang. Ketika pengobatan anti-TNF dan DMARD tradisional gagal memperlambat perjalanan RA sedang hingga berat, rituximab sering diresepkan kepada pasien. Bereaksi dengan menghubungkan dengan reseptor CD28 dan molekul CD80/CD86 pada sel penyaji antigen, abatacept secara bertahap mengurangi aktivasi sel T dan peradangan sendi. Ini adalah kombinasi protein dari komponen Fc dari IgG1 dan antigen terkait limfosit T sitotoksik 4. Abatacept

membantu dalam penilaian radiografi perkembangan RA dan perbaikan berkelanjutan, meskipun efektivitasnya berkurang. Disarankan untuk mengonsumsi Anakinra dengan MTX setelah pengobatan anti-TNF gagal. Sebagai terapi lini kedua untuk RA, anakinra telah digunakan; ini adalah antagonis reseptor IL-1 (Kumar *et al.*, 2020).

Pasien dengan RA sedang hingga berat telah diobati dengan tocilizumab, salah satu DMARD biologis yang baru-baru ini disahkan. Pada artritis reumatoid (RA), pasien memiliki kadar sitokin proinflamasi IL-6 yang meningkat, dan antibodi monoklonal humanisasi rekombinan ini berinteraksi dengan reseptor IL-6. Tocilizumab, bila diberikan secara teratur melalui infus, meningkatkan fungsi sendi dan menurunkan perkembangan radiografi; ini merupakan pilihan bagi pasien yang pengobatannya dengan DMARD konvensional atau pengobatan anti-TNF telah gagal. Efeknya dapat diperkuat bila digunakan bersama dengan MTX. Lebih jauh, tocilizumab menghambat perluasan faktor pertumbuhan endotel vaskular (VEFG) pada RA (Kumar *et al.*, 2020).

Infliximab, antibodi monoklonal yang bertindak sebagai pengobatan anti-TNF- α , diberikan dengan mengonjugasikannya dengan MTX. Pengurangan ekspresi VEFG kutan dan sinovial dimungkinkan dengan infliximab pada pasien artritis psoriasis. Inhibitor tirosin-kinase kompetitif imatinib mesylate mencegah osteoklastogenesis, aktivasi makrofag, dan kerusakan sendi pada model tikus artritis yang diinduksi kolagen (CIA). Selain penggunaannya dalam pengawasan kanker hematologi, obat ini memiliki aplikasi lain. Pada model tikus yang diinduksi CIA, dehydroxymethylepoxyquinomicin, inhibitor faktor nuklir κ B yang dikenal sebagai NF- κ B, ditemukan dapat menekan produksi sitokin oleh makrofag. Meskipun demikian, biologik hadir dengan sejumlah besar efek samping potensial, termasuk peningkatan risiko infeksi persisten seperti TB, yang dapat membuat pasien rentan. (Kumar *et al.*, 2020).

3.4. Non-steroidal anti inflammatory drugs (NSAID). Efek antiradang dan analgesik dari obat antiradang nonsteroid menjadikannya alat yang berharga dalam pengobatan artritis reumatoid. NSAID bekerja dengan menghambat enzim siklooksigenase, yang bertanggung jawab untuk membuat prostaglandin dari asam arakidonat. Toksisitas klinis NSAID serupa; namun, prevalensi efek samping masing-masing zat berbeda-beda. Beberapa konsekuensi berbahaya dari penggunaan obat antiradang nonsteroid (NSAID)

untuk jangka waktu yang lama meliputi kerusakan pada saluran pencernaan, ginjal, jantung, hati, respons alergi, darah, sistem saraf, dan penyembuhan tulang yang lambat (Kumar *et al.*, 2020).

B. Metode Uji Antiartritis

1. Metode Induksi

Berikut ini adalah contoh prosedur induksi yang digunakan dalam studi antiartritis pada hewan:

1.1. *Adjuvant-induced arthritis (AIA)*.

CFA merupakan campuran lilin parafin dan bakteri TB dalam bentuk suspensi. Sebagian besar evaluasi pengobatan antirematik melibatkan model hewan utuh yang diinduksi oleh CFA. Salah satu penjelasannya adalah bahwa hewan yang diobati dengan CFA dan pasien RA sama-sama memiliki kadar TNF α yang tinggi. Pada hewan percobaan, peradangan sendi merupakan salah satu karakteristik peradangan yang disebabkan oleh CFA intraplantar (Mus *et al.*, 2023).

Ketika CFA diberikan, ia merangsang fagositosis, yaitu fagositosis mononuklear, yang pada gilirannya menghasilkan beberapa sitokin pro-inflamasi seperti TNF α , IL-1, IL-6, IL-8, PGE-2, NO, MMP, dan lainnya. Oleh karena itu, hewan percobaan mungkin mengalami peradangan karena induksi CFA (Widhiastuti *et al.*, 2021).

Pertumbuhan ukuran kaki ini merupakan hasil langsung dari sifat anti-inflamasi CFA. Berbagai sitokin inflamasi seperti “TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8, PGE-2, NO, dan MMP” diproduksi saat CFA diberikan, dan fagositosis serta pelepasan sitokin oleh fagositosis mononuklear juga dirangsang. TNF- α dan RANKL bekerja sama untuk mendorong pembentukan cangkang tulang baru dengan merespons sinyal yang dikirim oleh progenitor osteoklas. Garis sel osteoklas mengalami diferensiasi saat terpapar Receptor Promoter of Nuclear Factor κ -B (RANK). Ada kejadian inflamasi pada sendi, inflamasi kronis, hiperplasia sinovial, perkembangan tulang rawan dan tulang, serta pengeroposan tulang yang dapat disebabkan oleh TNF- α . Lebih jauh, IL-1 dan IL-6 berpotensi berpengaruh pada etiologi RA (Amirah *et al.*, 2020).

1.2. *Streptococcal cell wall induced arthritis (SCWIA)*. *Streptococcus pyogenes* bertanggung jawab untuk memproduksi polimer PG-PS, yang dapat menyebabkan radang sendi pada tikus dan memiliki sifat inflamasi. Segmen

PG-P dan metode pemberian yang berbeda mendorong SCWIA untuk meluncurkan dua model tikus. Kurang sering digunakan, mungkin karena biayanya yang tinggi, model hewan ini digunakan untuk menyelidiki konsekuensi pengobatan dari obat-obatan. Sebagai keuntungan atas model radang sendi yang lebih tradisional, radang sendi yang diinduksi SCW memungkinkan kita untuk menganalisis respons akut atau flare pada hewan-hewan ini. Primata non-manusia tampaknya resisten terhadap radang sendi yang diinduksi antigen bakteri, yang berarti bahwa SCWIA tidak dapat dihasilkan pada hewan-hewan ini (Choudhary *et al.*, 2018).

1.3. *Cartilage oligomeric matrix protein (COMP)*. COMP adalah protein masif, dengan berat 435 kDa. Protein ini terletak di luar sel dan dibuat oleh kondrosit. Protein ini tidak hanya tersebar luas di jaringan sinovial manusia, tetapi juga ditemukan di tulang rawan hidung, trakea, meniskus, dan, yang paling penting, tulang rawan articular. Dipastikan bahwa hanya mekanisme autoimun yang terlibat dan bahwa COMP yang berasal dari tikus digunakan untuk induksi artritis. Induksi artritis menggunakan COMP alami dan asli adalah mungkin (Choudhary *et al.*, 2018).

1.4. *Pristane induced arthritis (PIA)*. PIA spesifik sendi yang bersifat kronis dan dikendalikan oleh sel T dan gen MHC secara klinis merupakan indikasi RA. Meskipun demikian, tidak ada tanda-tanda respons autoimun yang terlihat. Tikus dan mencit telah menunjukkan kemanjuran dan efektivitas model ini. Proses penyakit radang sendi (IJD) dapat dipahami dengan lebih baik dan efektivitas pengobatan antirematik baru dinilai menggunakan model PIA. Perkembangan autoantibodi dalam PIA menjadikannya model yang cocok untuk SLE juga. Penelitian tentang gen yang terkait dengan penyakit autoimun dan sintesis autoantibodi diperlukan untuk pemahaman yang lebih baik tentang berbagai gejala autoimunitas (Choudhary *et al.*, 2018).

1.5. *Antigen induced arthritis*. Bahkan setelah sekian lama, nilai model AIA yang didasarkan pada hewan pengerat tetap tinggi. Sederhananya, artritis yang diinduksi antigen disebabkan oleh penyuntikan berulang intra-artikular dari model antigen (seperti ovalbumin atau bovine serum albumin) dan kemudian terpapar antigen yang sama. Akibatnya, sistem imun bereaksi, dan artritis yang dihasilkan hanya memengaruhi sendi yang terpapar antigen. Manfaat utama AIA adalah dapat digunakan pada beberapa jenis hewan pengerat, termasuk tikus, mencit, marmut, dan kelinci. Mekanisme seluler yang mendasarinya sebanding dengan CIA, namun bergantung pada sel T

CD4+ dan menyebabkan sensitisasi yang lebih parah. Hiperplasia sinovial, infiltrasi perivaskular, folikel limfoid, serta degradasi pannus dan tulang rawan merupakan fitur histopatologis yang sebanding dengan RA klinis. Ketika antigen disuntikkan beberapa kali, ELS, seperti pada artritis reumatoid, dapat terjadi. Kapasitas antigen untuk menempel pada tulang rawan dikaitkan dengan sifat erosifnya. Hanya sendi yang disuntik yang terkena penyakit mono-artikular dalam paradigma artritis yang diinduksi antigen. Karena kerentanan AIA tidak bergantung pada MHC kelas II, ini merupakan alat yang berharga untuk penelitian dengan tikus transgenik dan knock-out. Jika prosedur Anda memerlukan sendi yang lebih besar, Model Artritis Antigen Kelinci merupakan pilihan yang tepat (Choudhary *et al.*, 2018).

1.6. *Proteoglycan induced arthritis*. Sejumlah protein sendi lainnya, termasuk gp-39, proteoglikan, dan protein penghubung, ditemukan dapat memicu radang sendi pada tikus setelah model CIA dikembangkan pada akhir tahun 1970-an. Telah diamati bahwa proteoglikan dapat memicu radang sendi pada kelinci, anjing, dan tikus BALB/c. Rantai samping glikosaminoglikan, seperti kondroitin sulfat dan keratin sulfat, terhubung ke inti protein dalam PG, yang merupakan molekul besar (~3 x 10⁶ Da). Area pusat ini juga mengandung oligosakarida yang dihubungkan oleh ikatan N dan O (Choudhary *et al.*, 2018).

1.7. *Collagen induced arthritis (CIA)*. Karena artritis yang diinduksi kolagen memiliki banyak kesamaan karakteristik klinis dan imunologis dengan RA pada manusia, hal ini telah dieksplorasi lebih mendalam pada model hewan. Pada CIA, sistem imun tubuh menyerang antigen spesifik yang ditemukan pada sendi, khususnya kolagen tipe II. Kerusakan toleransi dan pengembangan autoantibodi terhadap diri sendiri dan kolagen merupakan dua fitur utama model CIA. Hal ini menjadikan CIA sebagai model *in vivo* yang unggul untuk penelitian RA. Sel T helper memediasi paradigma ini; CIA menginduksi respons Th1 dan Th17, tetapi keterlibatan patogenik sel Th17 tampaknya lebih menonjol (Choudhary *et al.*, 2018).

Reaksi terhadap suntikan kolagen dapat bervariasi di antara jenis dan pengaturan suntikan; kolagen dapat diperoleh dari berbagai hewan, termasuk manusia, babi, dan ayam. Tidak mengherankan bahwa kolagen tikus menghasilkan reaksi yang kurang baik. Kekebalan sel T dan B terhadap kolagen tipe II (CII) autolog diperlukan untuk presentasi penyakit pada CIA, yang pada dasarnya merupakan penyakit autoimun pada sendi. Imunisasi tikus

dengan kolagen tipe II9 memungkinkan para peneliti untuk membangun model pertama artritis yang diinduksi kolagen (CIA). Selanjutnya, monyet dan tikus digunakan untuk mereplikasi model CIA (Choudhary *et al.*, 2018).

2. Metode Analisa

2.1. Pengukuran berat badan tikus. Pada hari evaluasi pertama (hari ke-0 sebelum vaksinasi), kedua kelompok hewan memiliki berat badan yang hampir sama; namun, seiring berjalannya waktu, tikus yang divaksinasi secara konsisten memiliki berat badan yang jauh lebih rendah daripada tikus kontrol. Tikus yang divaksinasi, seperti kelompok kontrol, memiliki indikasi untuk mendapatkan kembali berat badan normalnya setelah seminggu.

Penurunan atau kenaikan berat badan pada tikus merupakan salah satu cara untuk melacak perkembangan penyakit. Ketika Anda menurunkan berat badan, itu berarti penyakit Anda aktif; ketika Anda menambah berat badan, itu berarti Anda sedang dalam tahap penyembuhan. Kakeksia reumatoid merupakan komorbiditas umum RA, dan fakta bahwa semua kelompok vaksinasi mengalami kenaikan berat badan lebih sedikit daripada kelompok kontrol memberikan kepercayaan pada konsep bahwa kondisi ini terkait dengan hilangnya massa tubuh tanpa lemak. Yang kedua diyakini mengikuti yang pertama, suatu proses yang dikenal sebagai hipermetabolisme yang diinduksi sitokin, yang meningkatkan aktivitas jalur proteolitik ubiquitin-proteasome yang menyebabkan atrofi otot dan hilangnya lemak (Nasuti *et al.*, 2019).

2.2. Pengukuran volume kaki. Volume yang diberikan dan kaki belakang kontralateral (diukur hingga garis rambut) diperkirakan menggunakan pletismograf (Ugo Basile, Gemonio (VA), Italia) pada hari ke-0, ke-5, ke-10, ke-15, ke-20, dan ke-25. Peningkatan cairan kaki (ΔV) atau edema pada waktu (t) dihitung dengan mengurangi volume kaki (t) dari volume kaki (t₀) yang diukur pada hari ke-0 sebelum imunisasi. Anestesi dengan isoflurana 3% dalam oksigen diberikan kepada hewan sebelum pengukuran volume.

Area di bawah kurva dosis (AUC) ditentukan setelah data pada volume kaki kontralateral dikumpulkan dari hari ke-0 hingga hari ke-25. Setelah menghitung nilai rata-rata untuk setiap kelompok, persentase penghambatan edema kaki relatif terhadap kelompok CFA ditentukan menggunakan rumus berikut: B dibagi A sama dengan 100, di mana A adalah perbedaan rata-rata

antara kelompok CFA dan kelompok kontrol bebas penyakit, dan B adalah perbedaan rata-rata antara kelompok CFA dan kelompok yang menerima pengobatan dengan CFA. Ini memberikan % pengurangan pembengkakan kaki. Teknik ini mempertimbangkan nilai bukan nol untuk kelompok kontrol yang sehat. Obat tersebut berhasil mencegah atau menurunkan terjadinya artritis jika dibandingkan dengan kelompok artritis CFA, seperti yang ditunjukkan oleh persentase penghambatan mendekati 100%.

Volume kedua kaki belakang, skor artritis, dan karakteristik lainnya dapat digunakan untuk mengevaluasi perkembangan artritis dan kemanjuran obat antirematik. Saat mengukur fase akut respons imun setelah imunisasi CFA, pembengkakan pada kaki belakang yang disuntik (lesi rematik primer) digunakan. Untuk memperkirakan fase kronis respons imun, yang menyebabkan poliartritis, peningkatan volume pada kaki belakang kontrol (lesi rematik sekunder) ditentukan (Nasuti *et al.*, 2019).

Setelah membandingkan rata-rata volume tunggal kelompok yang diobati dengan kelompok kontrol, kami dapat menentukan proporsi penghambatan berdasarkan rumus berikut:

$$\text{"\% penurunan volume udem} = \frac{V_0 - V_t}{V_0} \times 100\%$$

Keterangan: V_0 = volume udem pada hari ke-0

V_t = volume udem pada hari ke-t (1,2,3,...) (Perumal *et al.*, 2017)"

2.3. Estimasi parameter hematologi. Untuk melihat anatomi penyakit rematik, diambil foto kaki belakang tikus percobaan. Darah diambil dari hewan yang telah disembelih menggunakan tusukan jantung dan tabung berisi EDTA untuk pemisahan serum. Hewan tersebut dibius dengan kloroform dosis tinggi.

Penurunan jumlah hemoglobin dan sel darah merah menyebabkan anemia pada kelompok kontrol rematik. Sekitar 30 hingga 60 persen pasien RA mungkin mengalami anemia, menjadikannya gejala non-artikular yang paling sering terjadi pada penyakit ini. Dua alasan utama mengapa penderita RA mengalami anemia adalah karena kehilangan darah di saluran pencernaan akibat pengobatan artritis dan karena kelainan pada sumsum tulang yang menghambat pelepasan zat besi untuk penyerapan sel darah merah (Perumal *et al.*, 2017).

2.4. Uji histopatologi persendian. Setelah memisahkan sendi interphalangeal dari kaki belakang, sendi tersebut dibilas dengan garam dan

dibiarkan mengeras dalam formalin 10% selama 24 jam. Irisan tersebut didekalsifikasi, diwarnai dengan eosin hematoxylin, dan diperiksa di bawah lensa pembesar 100x. Perbedaan antara sendi pergelangan kaki tikus yang sehat dan sendi pergelangan kaki tikus dengan artritis yang diinduksi adjuvan. Sendi kaki belakang kelompok kontrol artritis menunjukkan kelainan yang signifikan, termasuk infiltrasi sel pada permukaan artikular dan cedera pada sumsum tulang, menurut uji histologis. Lapisan sinovial tikus kontrol artritis memiliki banyak infiltrasi sel.

Sendi pergelangan kaki dari tikus sehat dan sendi dari hewan dengan artritis yang diinduksi adjuvan tampak berbeda dalam analisis histopatologi. Pemeriksaan histopatologi sendi artritis sering kali mengungkap kelainan khas, seperti perkembangan edema, degenerasi disertai erosi tulang rawan parsial, cedera pada sumsum tulang, dan infiltrasi eksudat inflamasi yang meluas ke permukaan artikular. Sendi tungkai belakang tikus kontrol artritis diperiksa secara histopatologi, dan hasilnya mengungkap kelainan signifikan termasuk infiltrasi sel pada permukaan sendi dan cedera pada sumsum tulang. (Perumal *et al.*, 2017).

C. Tanaman Brotowali

1. Sistematika Tanaman

Di antara kelompok tanaman ini Anda dapat menemukan tanaman brotowali:

Kingdom : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Ordo : Ranunculales

Famili : Menispermaceae

Genus : *Tinospora*

Spesies : *Tinospora crispa* L (Jannah & Safnowandi, 2018)

2. Kandungan Kimia Tanaman

Seluruh tanaman, serta akar, batang, dan daunnya, mengandung berbagai komponen aktif yang diperoleh dari tanaman *Tinospora cord crispa*, termasuk steroid, glikosida, asam alifatik, dan lakton diterpenoid (Saxena & Rawat, 2019).

3. Aktivitas Antiartritis

Ekstrak brotowali melepaskan PGE₂ yang diinduksi LPS (Lipopolisakarida). Sintesis PGE₂ turun secara signifikan sebagai respons terhadap LPS ketika sel dipreinkubasi dengan ekstrak brotowali. Untuk mendapatkan pengurangan tingkat PGE₂, peran enzim COX-2 dalam makrofag yang dihasilkan LPS dianalisis lebih lanjut. COX-2 adalah mediator utama reaksi inflamasi. Ekstrak *Tinospora crispa* berdampak pada penurunan PGE₂, menurut data yang diperoleh dalam verifikasi penurunan signifikan dalam ekspresi COX-2. Sintesis oksida nitrat (NO) yang berlebihan oleh sel menyebabkan peradangan dan kematian sel, dan PGE₂ memiliki peran regulasi positif dalam iNOS, atau jalur sintesis oksida nitrat yang dapat diinduksi. Peningkatan regulasi kolektif gen COX-2 dan iNOS telah berkorelasi langsung dengan perkembangan gangguan degeneratif inflamasi (arthritis reumatoid, penyakit autoimun, dan aterosklerosis) dan dengan modulasi respons imun yang terlihat pada transformasi ganas. COX-2 memicu transkripsi TNF- α . TNF- α diduga memiliki peran penting dalam perkembangan syok septik dan memicu produksi IL-1 β dan IL-6. IL-6 mengatur peralihan respon imun fase akut ke fase inflamasi kronis. Dereglulasi IL-1 β dan IL-6 secara langsung terlibat dalam patogenesis penyakit proliferasif inflamasi kronis seperti arthritis remaja dan psoriasis dengan onset sistemik. Ekspresi enzim proinflamasi (COX-2 dan iNOS) yang diinduksi LPS) dan sitokin (IL-1 β , IL-6 dan TNF- α) mengalami penurunan regulasi secara signifikan ketika sel dipreinkubasi dengan ekstrak brotowali. Yang paling penting, ekstrak brotowali memberikan efek antiinflamasi tanpa mengubah ekspresi isoform COX-1 secara signifikan. Temuan ini memberikan bukti bahwa brotowali memiliki aktivitas anti-inflamasi yang bermanfaat (Philip *et al.*, 2018).

Evaluasi selanjutnya adalah mengetahui ekstrak brotowali memiliki aktivitas regulasi terhadap faktor transkripsi (*nuclear factor-kappa B*) NF- κ B. Ada spekulasi bahwa gen COX-2, IL-1 β , TNF- α , IL-6 dan iNOS mengandung elemen respons NF- κ B. Dalam kondisi diam, NF- κ B tetap berada di sitoplasma dan menempel pada protein penghambat I κ B. Ketika sitokin atau LPS menstimulasi sel, NF- κ B ditranslokasi ke (*I kappa B kinase*) I κ B yang mendegradasi nukleus. Investigasi saat ini menunjukkan penurunan level NF- κ B inti secara signifikan serta peningkatan level I κ B α sitoplasma ketika sel

terpapar pada ekstrak brotowali dan LPS. dibandingkan dengan mereka yang hanya menggunakan LPS saja. Penghambatan translokasi NF- κ B ke dalam inti makrofag menekan ekspresi COX-2, iNOS dan sitokin proinflamasi. Ketika LPS diaktifkan, P38 MAP kinase, pemain penting dalam transduksi sinyal, difosforilasi dan bergerak ke dalam nukleus untuk mengendalikan produksi sitokin proinflamasi termasuk IL-6, IL-1b, dan TNF- α dalam makrofag. hasil menunjukkan bahwa sel-sel yang diberi perlakuan awal ekstrak brotowali memiliki tingkat MAPK p38 terfosforilasi yang sangat berkurang. Secara keseluruhan, kemampuan ekstrak brotowali untuk menekan aktivasi NF- κ B serta fosforilasi p38 MAPK mungkin telah membatalkan provokasi LPS. Namun, kita tidak bisa mengesampingkan keterlibatan sitokin lain dan jalur sinyal yang masih perlu dianalisis (Philip *et al.*, 2018).

D. Tanaman Anting – Anting

1. Sistematika Tanaman

Berikut ini adalah klasifikasi tanaman anting-anting menurut Laut et al. (2020):

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Kelas : Magnoliopsida
Famili : Euphorbiaceae
Genus : *Acalypha*
Spesies : *Acalypha indica*

2. Kandungan Kimia Tanaman

Di dalam tanaman Anting-anting memiliki senyawa kimia terpenoid, flavonoid dan polifenol, sehingga aktivitas anti artritis seperti penghambatan denaturasi protein, aksi penghambatan proteinase, anti inflamasi dan aktivitas anti hyaluronidase. Reumatoid artritis memiliki enzim kunci yaitu hyaluronidase yang dimana enzim ini menghancurkan tulang punggung asam hialuronat pada matriks tulang rawan. Peningkatan kadar asam hialuronat dalam serum merupakan penanda biologis yang dapat diandalkan perkembangan artritis dalam tubuh manusia (Zahidin *et al.*, 2017).

3. Aktivitas Antiartritis

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Supriatna et al. (2022), tanaman Aning-anting memiliki zat kimia yang mungkin memiliki kaitan dengan arthritis. Protein seperti NF κ B, serta sitokin TNF α dan IL1 β berdasarkan prediksi molekuler docking, serta uji in vivo meliputi hasil pemeriksaan hematologi kadar leukosit dan trombosit pada serum tikus dengan pemeriksaan histopatologi dan analisis edema. Pada tahun 2021, mengungkapkan bahwa sinyal PAMP dan DAMP dapat mengaktifkan sel Kupffer, hepatosit, dan sel stelata dengan mengaktifkan TLR9, dan jalur inflamasinya. seperti NF κ B atau reseptor di sitoplasma yaitu NLR. Kontribusi sel Kupffer (makrofag hati) dapat menyebabkan perkembangan penyakit hati berlemak non-alkohol dengan menginduksi peradangan. DAMP juga dilepaskan untuk mengaktifkan TLR pada endosom, yang pada gilirannya mengaktifkan protein adaptor MYD88, memfosforilasi IRAK, TRAF, I κ B, dan mendorong degradasi proteasome; RelA (NF κ B p65) akan dilepaskan dan diikat ke subunit p50 untuk membentuk dimer pada jalur NF κ B kanonik. Selanjutnya dimer NF κ B akan ditranslokasi ke nukleus untuk mengaktifkan gen inflamasi dan apoptosis.

E. Tanaman Alang – Alang

1. Sistematika Tanaman

Berikut ini adalah berbagai jenis buluh:

Kingdom : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Liliopsida

Ordo : Poales

Famili : Poaceae

Genus : Imperata

Spesies : *Imperata cylindrica* (L.) Raeusch (Wildaningsih, 2020)

2. Kandungan Kimia Tanaman

Para praktisi pengobatan tradisional telah lama mengandalkan komposisi kimia dari tanaman akar alang-alang sebagai obat untuk berbagai infeksi, termasuk *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*,

Staphylococcus epidermis, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Aspergillus niveus*, *Candida parapsilosis*, *Microsporium gypseum*, *Aspergillus parasiticus*, dan gangguan lambung pada bayi. Kualitas terapeutik dari zat ini meliputi efek astringen, penurun panas, diuretik, tonik, dan styptic. Alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, glukosida, steroid, dan terpenoid diidentifikasi sebagai komponen etnomedisin berbasis tanaman yang bertanggung jawab untuk pengobatan berbagai gangguan. Skrining fitokimia tanaman mengkonfirmasi adanya alkaloid yang memberikan aktivitas anti mikroba di dalam tanaman, flavonoid yang mengandung pro-oksidan dan mempengaruhi membran sel bagian dalam. Mereka terkenal karena sifat anti-inflamasi, anti-alergi, dan vasoprotektif (Ekwonu et al., 2019).

3. Aktivitas Antiartritis

Peradangan adalah reaksi tubuh atau organ terhadap bahaya. Asma, MS, IBD, aterosklerosis, dan radang sendi hanyalah beberapa dari sekian banyak penyakit yang mungkin memiliki racun mikrobiologis sebagai akar penyebabnya. Sel imun yang aktif, seperti makrofag, melepaskan sejumlah besar oksida nitrat (NO) dan sitokin proinflamasi saat terjadi peradangan. Makrofag menghasilkan sitokin inflamasi seperti TNF- α , IL-6, dan IL-1 β , serta mediator inflamasi seperti prostaglandin E2 (PGE2), inducible NO synthase (iNOS), dan cyclooxygenase-2 (COX-2). Lipopolisakarida (LPS) adalah endotoksin dalam makrofag. Penurunan peradangan merupakan hasil penghambatan senyawa isogeunin terhadap produksi NO, ekspresi iNOS dan COX-2, dan sitokin pro-inflamasi termasuk TNF- α , IL-6, dan IL-1 β pada sel makrofag 264,7 yang diobati dengan LPS (Zulkarnain et al., 2020).

F. Tanaman Lidah Buaya

1. Sistematika Tanaman

Berikut ini adalah klasifikasi aloe vera:

Kingdom : Plantae
 Divisi : Spermatophyta
 Kelas : Monocotyledoneae
 Ordo : Liliflorae
 Famili : Liliceae
 Genus : Aloe

Spesies : *Aloe vera* (Sari, 2021)

2. Kandungan Kimia Tanaman

Penelitian telah menunjukkan bahwa tanaman memiliki kemampuan penyembuhan yang luar biasa dan telah menemukan beberapa bahan kimia bioaktif yang membantu penyembuhan luka. Struktur tiga lapis daun lidah buaya cukup unik. Glukomanan, campuran lebih dari 75 bahan kimia, lipid, sterol, dan asam amino yang berbeda, membentuk gel bening yang mengisi lapisan terdalam (Chelu et al., 2023). Lapisan tengah ditempati oleh lateks pahit, yang merupakan cairan kuning yang kaya akan glikosida dan antrakuinon. Terakhir, di bagian luar, Anda dapat melihat korteks tebal, yang bertanggung jawab untuk membuat protein dan karbohidrat.

3. Aktivitas Antiarthritis

Flavonoid merupakan komponen utama tanaman obat. Penelitian ilmiah telah menunjukkan bahwa flavonoid yang terkandung dalam gel aloe vera dapat merangsang aktivitas sel darah putih. Flavonoid dapat menurunkan pelepasan mediator inflamasi seperti IL-1, IL-6, IL-8, Interleukin γ , dan TNF- α , yang merupakan salah satu perannya. Dengan menghambat siklooksigenase dan lipoksigenase, flavonoid—kelas senyawa fenolik terbesar—memiliki efek antiinflamasi, mengurangi jumlah neutrofil dan sel inflamasi lain yang dapat menyusup ke jaringan yang terluka. Akibatnya, proses inflamasi dipersingkat, sehingga fase proliferasi dapat dimulai tanpa penundaan.

G. Simplisia dan Penyarian

Langkah-langkah berikut sering kali termasuk dalam produksi simplisia adalah: pengumpulan obat-obatan, pencucian, pemotongan, pengeringan, penyortiran basah, penyortiran kering, pengemasan, dan penyimpanan.

Setiap bagian tanaman brotowali, anting-anting, dan alang-alang yang tumbuh di atas tanah dipetik dengan hati-hati menggunakan tangan. Hal ini dilakukan untuk memastikan obat herbal siap digunakan dengan cara mencuci dan mengeringkan tanaman untuk membuang kotoran atau serpihan lainnya. Anda dapat melakukan prosedur ini dengan tangan. Tanah dan jenis kotoran lain yang menempel pada tanaman dapat dilonggarkan dengan melakukan ini. Air bersih, baik dari mata air, sumur, atau keran,

digunakan untuk mencuci. Agar tanaman mempertahankan nutrisi sebanyak mungkin, pencucian dilakukan dengan cepat. Proses pengeringan, pengemasan, dan penggilingan dipermudah dengan menghancurkan. Biarkan seluruh tanaman mengering di bawah sinar matahari setidaknya satu hari sebelum diiris. Pisau atau potongan khusus mungkin membalikinya. Sinar matahari dan kontak fisik digunakan untuk mengeringkannya. Kemudian, setelah seharian dijemur di bawah sinar matahari, dipanaskan hingga 45 derajat Celsius selama empat jam untuk mempercepat proses pengeringan.

Tujuan dari proses ini adalah untuk membuang kotoran yang tersisa atau komponen tanaman yang tidak diinginkan dari media pengeringan. Proses ini memerlukan kerja keras. Menyimpannya di tempat penyimpanan akan membuatnya lebih rapuh. Oleh karena itu, pilih wadah yang tidak akan mengubah warna, bau, rasa, dll. dari isinya, dengan kata lain, wadah yang tidak berbahaya atau reaktif. Kaleng, wadah berwarna gelap atau plastik, atau aluminium foil dapat melindungi foil tahan panas dari cahaya. Kisaran suhu penyimpanan optimal untuk simplisia kering adalah 15–30 derajat Celsius. (Rivai *et al.*, 2014).

Memproduksi serbuk merupakan langkah pertama dalam pembuatan ekstrak herbal. Mesin yang menggiling herba menjadi bubuk halus tanpa merusaknya atau menghilangkan komponen kimianya digunakan untuk membuat serbuk herbal dari bagian tanaman terbaik. sangat halus, serbuk murni, serbuk semi-halus, serbuk halus, dan serbuk sangat halus merupakan berbagai tingkatan serbuk herbal.

Maserasi dengan etanol 96% dan 70% menghasilkan ekstrak. Setelah menambahkan satu bagian serbuk kering batang brotowali, daun anting-anting, dan akar alang-alang ke dalam maserator, ditambahkan sepuluh bagian etanol 96% untuk batang dan daun, sedangkan etanol tujuh puluh persen digunakan untuk akar. Campuran direndam selama enam jam sambil diaduk sesekali, kemudian didiamkan selama dua puluh empat jam. Perendaman dilakukan lagi dengan larutan dan jumlah yang sama setelah dipisahkan. Kami menggunakan evaporator vakum untuk mengumpulkan semua maserasi dan menguapkannya hingga mendapatkan ekstrak kental. Dilakukan penimbangan dan pencatatan hasil.

Dengan menggunakan hasil sebagai titik awal dan persentase berat serbuk sederhana (b/b), seseorang dapat menentukan % hasil (Rivai *et al.*, 2014).

H. Pengujian Anti Arthritis dengan Metode CFA

Salah satu model hewan yang digunakan untuk menguji kemanjuran obat antirematik adalah CFA, yang merupakan salah satu dari beberapa model. Uji coba arthritis reumatoid awal terus menggunakan CFA karena merupakan paradigma eksperimental terbaik untuk mempelajari efek arthritis (Noor, 2020).

Dimungkinkan untuk menghasilkan arthritis pada tikus menggunakan berbagai protein yang diperoleh dari tulang rawan, termasuk kolagen tipe II, kolagen tipe XI, dan protein dari matriks oligomerik tulang rawan. Di sini, kami fokus pada arthritis yang diinduksi kolagen tipe II karena merupakan jenis yang paling umum. Dua minggu setelah injeksi, tikus DA dan Lewis mengalami poliarthritis parah karena kolagen tipe II yang diemulsi dalam adjuvan Freund yang tidak lengkap. Arthritis kronis dengan kejadian parah seperti kelainan tulang kaki bermanifestasi sebagai pembengkakan pada kaki depan dan belakang yang berlangsung selama beberapa minggu sebelum menyusut dan muncul kembali. Efek bahan kimia pada arthritis inflamasi kronis stadium lanjut diselidiki menggunakan model tikus. Kerentanan arthritis dikaitkan dengan gen MHC tertentu. Interaksi antara banyak sel MHC kelas II dan sel T CD4+ yang sudah ada di sendi telah diusulkan sebagai sumber peradangan yang berkepanjangan di sendi. Sitokin TNF- α dan IL-1 β memiliki fungsi signifikan pada tikus CIA.

Injeksi intradermal adjuvant Freund lengkap (CFA) di pangkal ekor atau daerah tungkai belakang memulai model ini pada galur tikus yang rentan. Karena kerentanan AIA dipengaruhi oleh gen MHC dan non-MHC, latar belakang genetik tikus memainkan peran penting. Di sini, beberapa lokus karakteristik dikaitkan dengan tingkat keparahan penyakit. Peradangan beberapa sendi terjadi dengan cepat dan memburuk dengan cepat pada AIA. Gejala arthritis sering kali muncul 10–14 hari kemudian. Ankilosis dan deformitas sendi persisten lainnya merupakan hasil RA yang cukup parah sehingga memerlukan induksi adjuvan. Edema sendi, infiltrasi limfosit, dan degenerasi tulang rawan merupakan gejala yang sama antara AIA dan RA manusia.

Limfosit T yang teraktivasi dapat terlihat pada sendi yang mengalami inflamasi pada tikus AIA. Beberapa sistem organ, seperti limpa, kelenjar getah bening yang mengalirkan cairan, bercak Peyer, dan kumpulan sel T yang bersirkulasi, berkontribusi terhadap infiltrasi sel T ke dalam sendi. Tampaknya peptida 180–186, yang merupakan bagian dari antigen peptida syok panas

(Hsp65), adalah peptida yang memicu respons imun. Sitokin, yang berperan dalam aktivasi makrofag, diekspresikan dalam sendi selama fase awal inflamasi. Sitokin ini meliputi IL-17, IFN, dan TNF- α . Kadar IL-4, IL-6, protein kemotaktik monosit 1, dan TGF- β dapat terlihat meningkat saat inflamasi pada sendi menjadi lebih parah. Patofisiologi penyakit ini telah dikaitkan dengan TNF- α , IL-1 β , IL-21, dan IL-17.

Tikus Lewis betina mengalami artritis poliartikular setelah menerima suntikan intraperitoneal PG-PS 10 S, yang menyebabkan pembengkakan sendi dan reaksi inflamasi langsung. Peradangan sendi berlangsung selama lima hari, kemudian terjadi pelambatan, dan kemudian peradangan kembali dengan cepat, yang menyebabkan artritis persisten. Artritis dapat dipelajari pada tahap awal dan kronis menggunakan model ini. Reaksi awal tidak bergantung pada sel T. Selama fase akut dan tahap artritis selanjutnya, monosit memainkan peran penting. Ada korelasi antara status aktivasi sel T, sel B, dan monosit dengan tingkat keparahan artritis selama fase kronis. Produksi TNF- α , IL-6, dan IL-1 juga berkorelasi dengan tingkat peradangan. Model ini memiliki beberapa fitur dengan RA klinis, termasuk infiltrasi sel inflamasi, keterlibatan sendi simetris, peradangan berulang, dan hiperplasia sinovial.

Imunisasi dengan COMP asli dan terdenaturasi dalam IFA (adjuvan Freund yang tidak lengkap) dapat menimbulkan artritis parah pada strain tikus, khususnya DA dan Lewis. Jumlah IFA yang setara digunakan untuk mengemulsi sediaan COMP yang telah direkonstitusi. Pada pangkal ekor, setiap tikus diberi suntikan intradermal COMP. Ketika tulang rawan memburuk karena artritis parah, COMP dilepaskan ke dalam aliran darah. Inilah yang menjadikan COMP sebagai indikator artritis yang hebat pada RA; ini adalah sifat yang menarik. Setelah diinduksi dengan adjuvant berat molekul rendah pristane, tikus dengan artritis kronis juga mengeluarkan COMP; kadar serum COMP berkorelasi erat dengan perkembangan artritis erosif.

Artritis reumatoid yang disebabkan oleh minyak sintesis merupakan model hewan yang sudah mapan pada tikus. Suntikan intradermal tunggal 150 μ l pristane menyebabkan artritis yang parah dan terus-menerus pada tikus dalam waktu dua minggu. Pada peradangan sendi yang terlokalisasi ini, infiltrasi limfosit T, ekspresi MHC kelas II, dan produksi pannus merupakan ciri khas. Penyakit ini bergantung pada sel T. Jumlah protein matriks oligomerik tulang rawan yang meningkat terlihat pada model PIA bersamaan dengan erosi sendi. Tidak ada masalah sistemik dan peradangan

terbatas pada sendi, yang merupakan perbedaan signifikan dari model penyakit tikus yang dihasilkan secara sederhana (Choudhary *et al.*, 2018).

I. Landasan Teori

Alkaloid, steroid, diterpenoid lakton, yang alifatik, dan glikosida hanyalah beberapa komponen aktif yang telah diekstraksi dari tanaman *Tinospora crispa* (Saxena & Rawat, 2019).

Respon inflamasi dilakukan oleh banyak sitokin yang dilepaskan terutama oleh makrofag. Sitokin ini mengirimkan sinyal peradangan ke jenis sel lain sehingga sulit untuk fokus pada area tertentu saat mengobati peradangan. Oleh karena itu, pengaturan produksi atau fungsi mediator proinflamasi ini sangat penting dalam mengendalikan peradangan. Ekstrak brotowali menghambat induksi semua biomarker proinflamasi yang dimediasi Lipopolisakarida (LPS) yang diteliti, sehingga menjelaskan sifat anti-inflamasinya dengan jelas. Sitotoksitas brotowali pada makrofag RAW264,7 dinilai dengan uji MTT. Pada konsentrasi yang diuji (25–300 µg/ml), Brotowali tidak mempengaruhi kelangsungan hidup makrofag. Hal ini menegaskan bahwa hasil yang diperoleh pada sel RAW264,7 yang distimulasi LPS bukan disebabkan oleh sitotoksitas ekstrak brotowali.

Faktor transkripsi NF-κB dapat dihambat oleh ekstrak *Tinospora crispa*. Spekulasi menunjukkan bahwa elemen respons NF-κB terdapat pada gen COX-2, IL-1β, TNF-α, IL-6, dan iNOS. Ketika tidak terlibat secara aktif, NF-κB tetap berada di sitoplasma terikat pada protein pengatur IκB. Ketika sitokin atau LPS menstimulasi sel, NF-κB ditranslokasi ke (*I kappa B kinase*) IκB yang mendegradasi nukleus. Penurunan level NF-κB inti secara signifikan serta peningkatan level IκBα sitoplasma ketika sel terpapar pada ekstrak brotowali dan LPS. dibandingkan dengan mereka yang hanya menggunakan LPS saja. Penghambatan translokasi NF-κB ke dalam inti makrofag menekan ekspresi COX-2, iNOS dan sitokin proinflamasi Ketika LPS diaktifkan, P38 MAP kinase, pemain penting dalam transduksi sinyal, difosforilasi dan bergerak ke dalam nukleus untuk mengendalikan produksi sitokin proinflamasi termasuk IL-6, IL-1b, dan TNF-α dalam makrofag. hasil menunjukkan bahwa sel-sel yang diberi perlakuan awal ekstrak brotowali memiliki tingkat MAPK p38 terfosforilasi yang sangat berkurang. Secara keseluruhan, kemampuan ekstrak brotowali untuk menekan aktivasi NF-κB serta fosforilasi p38 MAPK mungkin telah membatalkan provokasi LPS. Namun, kita tidak bisa

mengesampingkan keterlibatan sitokin lain dan jalur sinyal yang masih perlu dianalisis (Philip *et al.*, 2018).

Tanaman Anting-anting memiliki senyawa kimia terpenoid, flavonoid dan polifenol, sehingga aktivitas anti artritis seperti penghambatan denaturasi protein, aksi penghambatan proteinase, anti inflamasi dan aktivitas anti hyaluronidase. Reumatoid artritis memiliki enzim kunci yaitu hyaluronidase yang dimana enzim ini menghancurkan tulang punggung asam hialuronat pada matriks tulang rawan. Peningkatan kadar asam hialuronat dalam serum merupakan penanda biologis yang dapat diandalkan perkembangan artritis dalam tubuh manusia (Zahidin *et al.*, 2017).

Supriatna *et al.* (2022) menemukan bahwa zat kimia *Acalypha indica* L. mungkin memiliki hubungan dengan nyeri artritis. Protein seperti NF κ B, serta sitokin TNF α dan IL1 β berdasarkan prediksi molekuler docking, serta uji *in vivo* meliputi hasil pemeriksaan hematologi kadar leukosit dan trombosit pada serum tikus dengan pemeriksaan histopatologi dan analisis edema. Pada tahun 2021, mengungkapkan bahwa sinyal PAMP dan DAMP dapat mengaktifkan sel Kupffer, hepatosit, dan sel stelata dengan mengaktifkan TLR9, dan jalur inflamasinya. seperti NF κ B atau reseptor di sitoplasma yaitu NLR. Feng *et al.* (2020), mengungkapkan bahwa kontribusi sel Kupffer (makrofag hati) dapat menyebabkan perkembangan penyakit hati berlemak non-alkohol dengan menginduksi peradangan. DAMP juga dilepaskan untuk mengaktifkan TLR pada endosom, yang pada gilirannya mengaktifkan protein adaptor MYD88, memfosforilasi IRAK, TRAF, I κ B, dan mendorong degradasi proteasome; RelA (NF κ B p65) akan dilepaskan dan diikat ke subunit p50 untuk membentuk dimer pada jalur NF κ B kanonik. Selanjutnya dimer NF κ B akan ditranslokasi ke nukleus untuk mengaktifkan gen inflamasi dan apoptosis.

Para praktisi pengobatan tradisional telah lama mengandalkan komposisi kimia tanaman Alang-alang sebagai obat untuk berbagai infeksi, termasuk yang disebabkan oleh *Bacillus leveus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia*, *Staphylococcus Epidermis*, *Candida albicans*, *Esharichia coli*, *Aspergillus niveus*, *Candida parapsilosis*, *Microsporium gypseum*, *Aspergillus parasiticus*, dan masalah gastrointestinal bayi yang terkait dengan tumbuh gigi. Alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, glukosida, steroid, dan terpenoid diidentifikasi sebagai komponen etnomedisin berbasis tanaman yang bertanggung jawab untuk pengobatan berbagai gangguan.

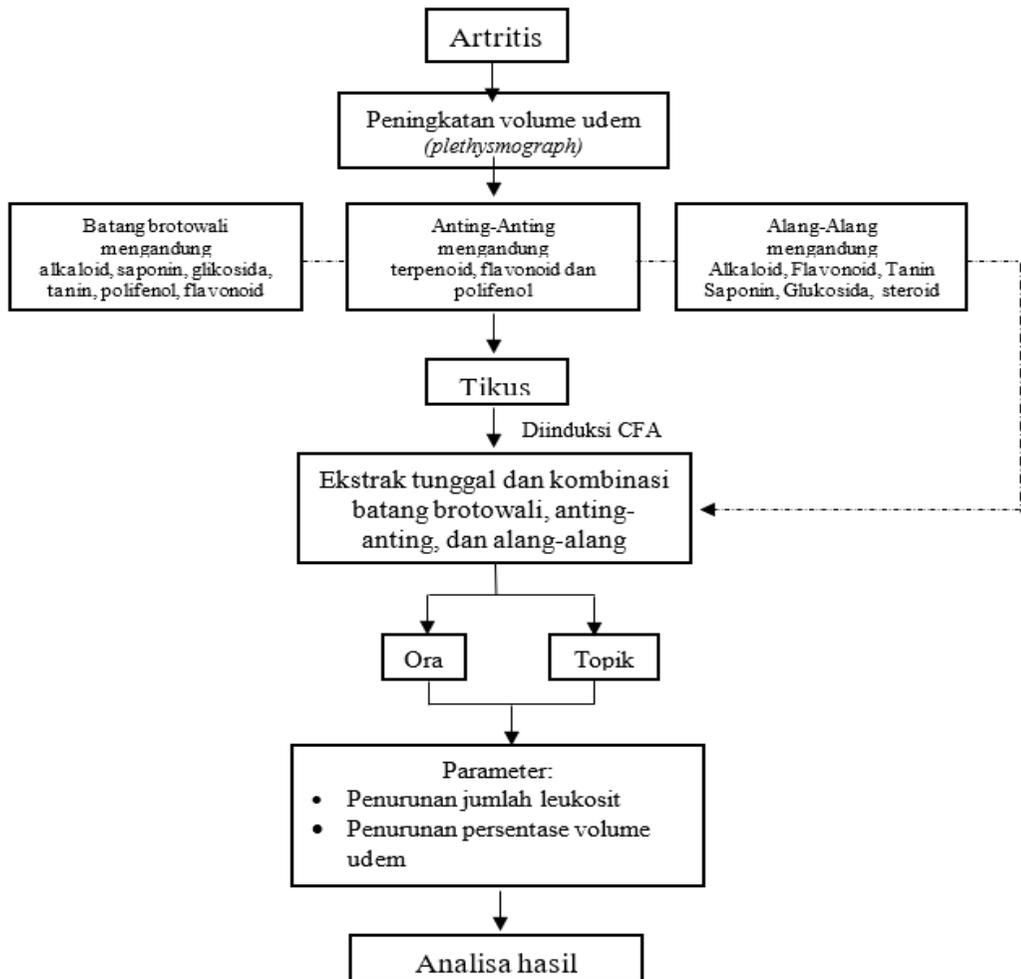
Skrining fitokimia tanaman mengkonfirmasi adanya alkaloid yang memberikan aktivitas anti mikroba di dalam tanaman, flavonoid yang mengandung pro-oksidan dan mempengaruhi membran sel bagian dalam. Mereka terkenal karena sifat anti-inflamasi, anti-alergi, dan vasoprotektif (Ekwonu *et al.*, 2019).

Sel imun yang sangat sensitif, termasuk makrofag, melepaskan sejumlah besar oksida nitrat (NO) dan sitokin proinflamasi saat terjadi peradangan. Makrofag menghasilkan sitokin inflamasi seperti TNF- α , IL-6, dan IL-1 β , serta mediator inflamasi seperti prostaglandin E2 (PGE2), inducible NO synthase (iNOS), dan cyclooxygenase-2 (COX-2). Lipopolisakarida (LPS) merupakan endotoksin dalam makrofag. Menurut Zulkarnain dkk. (2020), zat kimia isogeunin yang ditemukan dalam akar alang-alang dapat menghambat pembentukan NO. Hal ini pada gilirannya menurunkan kadar iNOS, COX-2, dan sitokin proinflamasi termasuk TNF- α , IL-6, dan IL-1 β dalam sel makrofag yang terstimulasi LPS sebanyak 264,7, sehingga mengurangi rasa tidak nyaman (Zulkarnain *et al.*, 2020).

Karena CFA merupakan model eksperimental yang paling efektif untuk mempelajari efek artritis, model ini masih digunakan dalam penelitian awal tentang artritis reumatoid (Noor, 2020). Artritis dapat terjadi pada tikus menggunakan berbagai protein yang dihasilkan dari tulang rawan, termasuk kolagen tipe II, kolagen tipe XI, dan protein matriks oligomerik tulang rawan. Dua minggu setelah penyuntikan, tikus DA dan Lewis mengalami poliartritis parah akibat kolagen tipe II yang diemulsi dalam adjuvan Freund yang tidak memadai. Kuku kaki depan dan belakang membengkak, yang berlangsung selama beberapa minggu sebelum menyusut dan kembali lagi. Deformitas kaki dan komplikasi parah lainnya seperti artritis persisten merupakan hasil akhirnya. Tikus Lewis betina mengalami artritis poliartikular setelah menerima suntikan intraperitoneal PG-PS 10S, yang memicu respons inflamasi dan memperbesar sendi. Peradangan pada sendi terjadi selama lima hari, lalu hilang. Namun, peradangan tersebut dengan cepat muncul kembali, yang menyebabkan artritis persisten. Peneliti dapat menggunakan model ini untuk memeriksa bentuk artritis akut dan kronis. Penyuntikan COMP asli dan pewarnaan IFA (dengan dampak adjuvan Freund yang rendah) dapat menghasilkannya pada model tikus, khususnya model DA dan Lewis. Saat otot menegang, COMP dilepaskan dari tulang rawan, yang dapat menyebabkan rematik parah. Selain itu, tikus dengan penyakit ginjal kronis diberikan

norphytane kimia dengan berat molekul rendah secara intravena, dan kadar COMP serum terbukti sangat terkait dengan prevalensi penyakit tersebut (Choudhary *et al.*, 2018).

J. Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 1. Kerangka Konsep Penelitian

K. Hipotesis

Hipotesis penelitian berikut dapat dikembangkan dari uraian di atas:

1. Ekstrak etanol tunggal batang brotowali, tanaman anting-anting dan akar alang-alang menunjukkan aktivitas antiarthritis dalam bentuk oral.
2. Kombinasi ekstrak batang brotowali, tanaman anting-anting dan akar alang- alang (1:1:1) mempunyai aktivitas antiarthritis dalam bentuk oral dan topikal yang lebih baik dibandingkan dengan sediaan masing-masing tanaman.
3. Kombinasi ekstrak batang brotowali, tanaman anting-anting dan akar alang- alang (1:1:1) dalam bentuk oral dan topikal akan memberikan peningkatan berat badan tikus, penurunan jumlah leukosit, persentase penurunan volume udem, dan perbaikan profil histopatologi persendian pada kaki tikus.