

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Arthritis

1. Patofisiologi

Proses peradangan kompleks dan autoimun yang melibatkan bagian sistem kekebalan adaptif dan bawaan terdiri dari arthritis, peradangan, dan kerusakan sendi, yang merupakan ciri RA aktif. Interaksi lingkungan dan genetik dapat menyebabkan toleransi yang hilang terhadap protein yang mengandung residu citrulline pada orang yang rentan. Enzim peptidylarginine deiminase mengubah residu arginin menjadi residu citrulline setelah transfer, menghasilkan protein ini. Untuk melawannya, pasien dengan epitop yang sama mengembangkan ACPA dengan menghasilkan peptida yang tersitrullinasi oleh sistem kekebalan yang disebut sebagai "self". Produksi autoantibodi sistemik mendahului pembentukan molekul inflamasi dan adhesi di sinovium, menurut perbandingan data MRI dan biopsi sinovial dari individu sehat dengan data biopsi dari pasien yang positif RF dan/atau ACPA. Ini menunjukkan bahwa ada beberapa penyakit sekunder yang mungkin terjadi. Peristiwa ini diperlukan untuk memulai keterlibatan sinovium pada RA. Dalam sebuah penelitian terhadap 79 pasien RA, kemunculan awal RF dan ACPA mendahului perkembangan RA klinis yang melibatkan sinovium dengan rata-rata 4,5 tahun (Gibofsky, 2014).

Sinovitis merupakan peradangan yang disebabkan oleh infiltrasi sel darah putih ke dalam sinovium. Akumulasi leukosit di sinovium terjadi oleh migrasi leukosit dari bagian struktur yang jauh sebagai respons terhadap ekspresi molekul adhesi dan kemokin oleh sel endotel mikrovaskular sinovial yang teraktivasi. Bagian dalam sinovium yang meradang berada dalam keadaan hipoksia, kemungkinan disebabkan oleh peningkatan jumlah sel sinovial dan penurunan aliran kapiler sinovial karena peningkatan jumlah cairan sinovial, hipoksia merangsang angiogenesis di sinovium, cara kerjanya dengan menginduksi produksi faktor perangsang angiogenesis misalnya faktor pertumbuhan endotel vascular (Gibofsky, 2014).

Interaksi antara komponen jalur imun adaptif dan bawaan sangat penting dalam aktivasi imun dan perkembangan penyakit rheumatoid arthritis. Lingkungan sitokin dan kemokin lokal sinovium di mana interaksi terjadi

sangat memengaruhi sifat interaksi ini. Berbagai jenis sel inflamasi berkumpul di membran sinovial RA yang sudah mapan, menyebabkan kerusakan sendi (Gibofsky, 2014).

Sel dendritik, kelas sel penyaji antigen yang penting yang mengekspresikan berbagai sitokin, molekul HLA kelas II, dan molekul kostimulatori, berada di dekat sel T di membran sinovial dan menyajikan antigen kepada sel T. Aktivasi sel T membutuhkan dua sinyal, yang pertama adalah presentasi antigen ke reseptor sel T. Sinyal kedua, sinyal ko - stimulasi, memerlukan interaksi protein permukaan sel CD80/86 dari sel penyaji antigen (dendritik) dengan protein sel T CD28. Blokade sinyal kostimulatori dengan penghambatan kompetitif CD80/86 mengganggu aktivasi sel T. Kemanjuran blokade CD80/86 dalam pengobatan RA memperkuat anggapan bahwa sel T berperan aktif dalam patofisiologi RA (Gibofsky, 2014).

Sel T naif (Th0) yang diaktifkan terbagi menjadi tiga subset (Th1, Th2, dan Th17) yang memiliki profil dan fungsi produksi sitokin yang berbeda. Selama beberapa waktu, RA dianggap sebagai penyakit yang diperantarai sel Th1. Sekarang, fokusnya adalah subset Th17. Faktor pertumbuhan transformasi, sitokin, dan interleukin (IL)-1 β , IL-6, IL-21, dan IL-23 disekresi oleh sel dendritik dan makrofag. Sitokin membantu mendorong diferensiasi Th17 dan menghentikan produksi sel regulator sel T. Sel-sel dalam sistem sinovial yang melawan peradangan. Sel Th17 menghasilkan IL-17A, IL-17F, IL-22, IL-26, interferon-g, kemokin CCL20, dan faktor transkripsi ROR-g pada saat yang sama. IL-17A merangsang fibroblast-like synoviocytes (FLS) dan sinoviosit mirip makrofag untuk meningkatkan produksi IL-26, yang menghasilkan sitokin inflamasi IL-26 yang menginduksi produksi sitokin inflamasi IL-1 β , IL-6, dan TNF- α oleh monosit; Sitokin ini meningkatkan diferensiasi sel Th17. Selain jalur inflamasi yang digerakkan oleh antigen, ada jalur antigen-nonspesifik yang dimulai dengan kontak sel-ke-sel antara sel T yang teraktivasi dan fibroblast (Gibofsky, 2014).

2. *Pathway Disease*

Pathway Disease: Dalam patogenesis rheumatoid arthritis, berbagai sitokin, kemokin, antibodi, dan antigen yang menyebabkan peradangan berikatan dengan reseptor pada permukaan sel target. Pengikatan reseptor biasanya menghasilkan rangkaian peristiwa sinyal intraseluler yang pada akhirnya menyatu pada inti sel dan mengubah ekspresi gen dengan cara yang

dapat mempengaruhi fungsi sel, terutama perubahan ekspresi gen pada sel. Jalur pensinyalan intraseluler termasuk jalur Mitogen-Activated Protein Kinase (MAPK), jalur Janus Kinases (JAK), jalur Signal Transducers and Activators of Transcription (STAT), pensinyalan limpa Tyrosine Kinase (Syk), dan jalur Faktor Nuklir. κ -Light-Chain Enhancer of Activated B Cells (NF- κ B). Komunikasi silang antar jalur telah dilaporkan (Gibofsky, 2014).

Penyakit autoimun dapat disebabkan oleh kerusakan pada jalur sinyal intraseluler, yang sangat penting untuk respons imun yang normal. Untuk pengobatan RA, generasi pertama molekul kecil yang ditujukan terhadap target intraseluler telah digunakan. Pemahaman lebih lanjut tentang jalur ini kemungkinan besar akan membawa kita untuk menemukan lebih banyak target terapi. Perubahan sifat pada jaringan mesenkim juga dikaitkan dengan peradangan RA. Dalam rheumatoid arthritis, FLS, yang biasanya ditemukan di sinovium, berproliferasi dan mengubah fenotipenya. Dalam sinovium yang meradang, kontak sel antara FLS dan sel T memicu berbagai mediator inflamasi dan molekul adhesi, seperti IL-6, TNF, interferon- γ , molekul adhesi intraseluler-1 dan molekul adhesi sel pembuluh darah-1. Perubahan FLS menyerang tulang rawan sendi dan menyebabkan kerusakan sendi (Gibofsky, 2014).

3. Terapi Farmakologi

Menurut Kumar et al. (2020), berbagai metode pengobatan digunakan untuk mengobati RA, termasuk obat DMARDs, DMARDs biologis, NSAID, dan kortikosteroid. Ini dilakukan dengan mengurangi peradangan yang disebabkan oleh makrofag teraktivasi dan sel imun lainnya di jaringan synovial.

3.1. *Disease modifying antirheumatic drugs (DMARDs).* Antirheumatic drugs that change disease (DMARDs) DMARDs telah menjadi dasar utama pengobatan RA sejak tahun 1970-an. Mereka mengurangi peradangan, yang menghambat perkembangan radiografi. Studi sebelumnya yang menggunakan DMARDs untuk mengobati RA telah menunjukkan bahwa mereka memperbaiki gejala klinis RA dan mencegah RA. Salah satu DMARD yang paling umum dan paling banyak diresepkan adalah Methotrexate (MTX), yang diberikan dalam dosis rendah sebagai monoterapi atau mungkin dalam kombinasi dengan obat lain. .

MTX digunakan pada RA dalam dosis rendah, dan prediksi dan pengelolaan mekanisme kerjanya menjadi lebih sulit. Saat ini, berbagai

mekanisme penting yang menentukan efektivitas MTX pada RA sedang dipelajari. MTX berikatan dengan dihidrofolat reduktase dan timidilat sintetase, yang mengurangi sintesis residu timidin de novo dan akhirnya menghentikan sintesis DNA. MTX juga mengaktifkan sinyal adenosin, mengaktifkan ROS, dan menghalangi sitokin proinflamasi, eikosanoid, dan MMP.

Secara klinis, MTX diberikan setiap minggu melalui oral atau subkutan. Namun, pemberian jangka panjang dibatasi oleh efek samping yang parah seperti hepatotoksisitas, gangguan ginjal, efek samping gastrointestinal, toksisitas paru-paru, pneumonitis, penekanan myelo, mual, sakit kepala, pigmentasi kulit, dan rambut rontok. Selain itu, telah dilaporkan bahwa pengobatan MTX dapat menyebabkan toksisitas hati dan hepatitis.

Leflunomide adalah DMARD lain yang bekerja pada limfosit dengan menghambat pembentukan pirimidin dalam limfosit. Hidroksiklorokuin, DMARD yang berbeda yang memiliki efek samping minimal, telah ditunjukkan untuk meningkatkan fungsi sendi dan mengurangi nyeri sendi. Dengan mekanisme kerja yang mirip dengan MTX, sulphasalazine mengurangi toksisitas pasien RA jika dibandingkan dengan MTX. Ini karena menghambat jalur asam arakadonat dan dapat meningkatkan sinyal adenosin. Ada bukti bahwa lipopolisakarida monosit prima atau makrofag manusia yang diobati dengan klorokuin menghambat TNF- α , IL-6, dan IL-1 β . Selain siklosporin, minocycline, doxycycline, dan azathioprine, obat lain yang digunakan sebagai pengganti atau sebagai obat tambahan untuk mengelola rheumatoid arthritis juga dapat digunakan. Selain itu, karena dilaporkan bahwa garam emas yang dapat disuntikkan memperlambat perkembangan radiograf,

3.2. Glukokortikoid. Glukokortikoid adalah agen immunosupresan dan antiinflamasi yang efektif digunakan untuk mengobati rheumatoid arthritis. Mekanisme kerjanya setelah masuk ke dalam sel melalui membran sel, mereka pertama kali berikatan dengan reseptor glukokortikoid sitosol, mengubah reseptor yang tidak aktif menjadi reseptor glukokortikoid sitosol yang diaktifkan. Setelah molekul ini sampai ke nukleus, proses transkripsi atau transaktivasi dimulai. Transaktivasi menyebabkan ekspresi lebih banyak protein pengatur dan monomer reseptor glukokortikoid sitosol yang diaktifkan. Dekametason (DEX) adalah glukokortikoid penting yang digunakan sebagai pilihan pertama obat antiarthritis untuk pengendalian arthritis jangka panjang. Penggunaan jangka panjang DEX menyebabkan demineralisasi tulang, diabetes, dan sindrom Cushing, yang membatasi penggunaannya.

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

Seperangkat pengubah respons biologis baru, yang disebut DMARD biologis, memiliki kemampuan untuk mengurangi intensitas penyakit, meningkatkan harapan hidup, dan memperlambat kerusakan sendi. Pilihan DMARD biologis pertama adalah agen penghambat TNF, seperti infliximab, adalimumab, golimumab, certolizumab, dan etanercept. Pengikatan agen ini ke TNF α yang larut menyebabkan kematian sel pengekspres TNF α . Selain berfungsi sebagai monoterapi, obat-obatan ini meningkatkan respon klinis dan mencegah perkembangan radiografi. Rituximab, antibodi monoklonal anti CD20 chimeric, berfungsi untuk menipis antibodi matang dan sel B yang belum matang. Namun, itu tidak berfungsi pada sel plasma karena tidak ada ekspresi CD20. Pasien rheumatoid arthritis dengan perkembangan penyakit tingkat sedang hingga berat menggunakan rituximab. Abatacept adalah kompleks protein dari bagian Fc IgG1 dan sitotoksik T antigen terkait limfosit 4 yang bereaksi dengan interaksi reseptor CD28 dengan Molekul CD80/CD86 hadir pada sel penyaji antigen, secara bertahap mereduksi sel T aktivasi dan mengurangi peradangan sendi. Meskipun abatacept telah mengurangi kemanjurannya membantu dalam perbaikan terus-menerus dan analisis radiografi perkembangan RA. Setelah kegagalan pengobatan anti-TNF, penggunaan Anakinra direkomendasikan dengan MTX. Anakinra adalah antagonis reseptor IL-1 dan telah digunakan sebagai pengobatan lini kedua untuk RA. Rituximab sering disarankan untuk digunakan pada pasien RA dengan perkembangan penyakit tingkat sedang hingga berat yang tidak menunjukkan respons terhadap pengobatan anti-TNF. Batacept adalah kompleks protein dari bagian Fc IgG1 dan antigen sitotoksik T terkait limfosit 4 yang bereaksi dengan reseptor CD28 dengan molekul CD80/CD86 yang ada pada sel penyaji antigen. Ini secara bertahap mengurangi aktivasi sel T dan mengurangi peradangan sendi. Meskipun abatacept tidak lagi efektif, ia membantu dalam perbaikan terus-menerus dan analisis radiografi perkembangan RA. Setelah kegagalan pengobatan anti-TNF, disarankan untuk menggunakan Anakinra bersama dengan MTX. Anakinra adalah antagonis reseptor IL-1 dan telah digunakan sebagai pengobatan tambahan untuk RA.

Tocilizumab telah digunakan sebagai DMARD biologis baru-baru ini disetujui untuk pengobatan pasien dengan tingkat RA sedang hingga berat. Tocilizumab adalah infus biasa yang dimanusiakan antibodi monoklonal yang

berinteraksi dengan reseptor IL-6 dan meningkatkan kadar sitokin proinflamasi IL-6 pada pasien RA. Ini meningkatkan fungsi sendi dan mengurangi perkembangan radiografi. Ini dapat digunakan bersama MTX untuk meningkatkan efeknya. Selain itu, tocilizumab mengurangi pertumbuhan vascular endothelial growth factor (VEGF) pada pasien yang menderita rheumatoid arthritis (RA).

Infliximab, terapi anti-TNF- α lain yang bekerja secara konjugasi dengan MTX, dapat digunakan untuk mengurangi ekspresi VEGF kulit dan sinovial pada pasien dengan psoriatic arthritis. Imatinib mesylate, inhibitor tirosin-kinase yang kompetitif, berguna untuk mengawasi berbagai keganasan hematologi. Ini telah terbukti menghentikan osteoklastogenesis, aktivasi makrofag, dan kerusakan sendi pada tikus model arthritis collagen-induced (CIA). Pada tikus yang diinduksi CIA model, produksi sitokin makrofag dihambat oleh NF-B, penghambat faktor nuklir B, dehydroxymethylepoxyquinomicin. Namun, banyak efek samping yang mungkin ditimbulkan oleh penggunaan bahan biologis, yang membuat pasien rentan terhadap infeksi kronis seperti tuberkulosis.

3.4. *Non-steroidal anti inflammatory drugs (NSAID)*. Sifat antiinflamasi dan analgesiknya yang efektif, NSAID sering digunakan dalam pengobatan RA. NSAID menghentikan enzim siklooksigenase, yang mencegah pembuatan prostaglandin dari asam arakidonat. NSAID memiliki toksisitas klinis yang sama, tetapi efek samping tertentu bergantung pada senyawa yang digunakan. Penggunaan NSAID jangka panjang dapat menyebabkan efek samping berikut: toksisitas gastrointestinal, gangguan ginjal, efek kardiovaskular, toksisitas hati, reaksi alergi, toksisitas hematologi, efek samping sistem saraf, dan penyembuhan tulang yang tertunda.

B. Metode Uji Antiartritis

1. Metode Induksi

Metode induksi untuk uji antiartritis pada hewan percobaan terdiri dari :

1.1. *Adjuvant-induced arthritis*. CFA merupakan suspensi bakteri tuberkulosis pada lilin parafin. Model hewan lengkap yang diinduksi CFA sebagai model yang paling representatif untuk pengujian obat antiartritis. Hal ini karena kadar TNF- α meningkat pada hewan yang disuntik CFA, dan kadar TNF α juga meningkat pada pasien RA. Salah satu parameter inflamasi yang

disebabkan oleh CFA intraplantar pada hewan percobaan adalah inflamasi pada persendian (Mus *et al.*, 2023).

Pemberian CFA merangsang fagositosis, yaitu sekresi sitokin melalui fagositosis mononuklear, yang menghasilkan berbagai sitokin proinflamasi seperti TNF α , IL-1, IL-6, IL-8, PGE-2, NO, MMP dan mediator lainnya bisa dilepaskan, oleh karena itu, induksi CFA dapat menyebabkan peradangan pada hewan coba (Widhihastuti *et al.*, 2021).

Peningkatan ukuran kaki menunjukkan kemampuan CFA dalam menekan peradangan. Pemberian CFA merangsang fagositosis, sekresi sitokin melalui fagositosis mononuklear, produksi berbagai sitokin inflamasi seperti TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8, PGE-2, NO, dan MMP. TNF- α bekerja dengan *Receptor Activator of Nuclear Factor κ B Ligan* (RANKL) untuk merangsang osteoklastogenesis melalui sinyal dari prekursor osteoklas. *Receptor Activator of Nuclear Factor κ B* (RANK) menginduksi diferensiasi sel pada osteoklas. TNF- α juga dapat menyebabkan peradangan kronis dan hiperplasia sinovial, proses inflamasi pada sendi, pembentukan tulang rawan dan tulang, serta pengeroposan tulang. Selain itu, IL-1 dan IL-6 juga mungkin berperan dalam patofisiologi rheumatoid arthritis (Amirah *et al.*, 2020).

1.2. *Streptococcal cell wall induced arthritis (SCWIA).*

Streptococcus pyogenes menghasilkan polimer peptidoglikan-polisakarida (PG-PS), yang ditemukan memiliki kandungan aktivitas inflamasi dan juga memiliki kapasitas untuk menginduksi radang sendi pada tikus. SCWIA memulai dua model tikus berdasarkan fragmen PG-P yang digunakan dan cara pemberiannya. Model hewan ini digunakan untuk mempelajari terapi efek obat-obatan, namun lebih jarang digunakan, mungkin disebabkan oleh biaya mereka yang tinggi. Model ini membantu kita mempelajari akut atau reaksi flare pada arthritis, ini merupakan keuntungan dari SCW menginduksi arthritis dibandingkan model arthritis konvensional. SCWIA tidak dapat diinduksi pada non-manusia primata karena mereka tampaknya kebal terhadap arthritis diinduksi oleh antigen bakteri.

1.3. *Cartilage oligomeric matrix protein (COMP).*

COMP adalah protein berukuran besar, yang memiliki berat molekul total 435kD. Ini disintesis oleh kondrosit dan dilokalisasi secara ekstraseluler. Memiliki terdeteksi pada tulang rawan hidung, trakea, dan meniskus dan yang paling penting di tulang rawan articular dan juga terdapat di jaringan sinovial manusia. Untuk tujuan induksi arthritis, COMP yang diperoleh dari asal tikus

digunakan dan juga untuk memastikan bahwa hanya proses autoimun saja terlibat. COMP yang alami dan asli dapat digunakan induksi radang sendi.

1.4. *Pristane induced arthritis (PIA)*. PIA bersifat kronis, spesifik sendi, diatur oleh sel T dan gen MHC serta memenuhi kriteria klinis untuk RA. Namun, tidak ada bukti adanya autoimun reaksi. Model ini terbukti efektif dan berhasil pada tikus dan juga pada tikus. Model PIA sangat penting alat untuk mengetahui mekanisme penyakit inflamasi sendi dan kemanjuran obat anti-arthritis baru dapat diuji di model ini. PIA juga digunakan sebagai model SLE karena produksi autoantibodi. Untuk memahami berbagai manifestasi autoimunitas, penelitian perlu dilakukan mengidentifikasi gen yang terlibat dalam rheumatoid arthritis dan produksi autoantibodi.

1.5. *Antigen induced arthritis (AIA)*. Model hewan pengerat AIA pertama kali digunakan selama lebih dari 40 tahun lalu dan mereka masih dihargai. Arthritis yang diinduksi antigen, in dengan kata sederhana, diinduksi melalui imunisasi dengan model antigen (seperti albumin serum sapi atau ovalbumin) secara intra-artikular diikuti dengan tantangan dengan antigen yang sama. Ini menghasilkan respon imun dan arthritis berikutnya terbatas pada sendi yang diinduksi antigen. AIA memiliki keuntungan besar penerapan pada beberapa strain tikus, mencit, babi guinea dan kelinci. Basis seluler mirip dengan CIA, tetapi dengan sensitisasi yang lebih jelas dan merupakan sel T CD4⁺ bergantung. Temuan histopatologis memiliki kesamaan dengan RA manusia, termasuk hiperplasia sinovial, infiltrasi perivaskular, folikel limfoid dan erosi pannus dan tulang rawan. ELS, mirip dengan yang terlihat pada pasien RA, diamati Ketika suntikan antigen berulang kali diberikan. Sifat erosif ini berhubungan dengan kemampuan antigen mengikat tulang rawan. Model arthritis yang diinduksi antigen adalah penyakit mono-artikular yang hanya menyerang sendi yang disuntik. Kerentanan terhadap AIA tidak dibatasi oleh MHC kelas II dan ini membuatnya berguna penelitian yang melibatkan tikus transgenik dan knock-out. Kelinci Model arthritis antigen sangat berguna ketika protokol memerlukan penggunaan sendi yang lebih besar.

1.6. *Proteoglycan induced arthritis*. Setelah pengembangan model CIA pada akhir tahun 1970-an, beberapa protein lain yang ditemukan di sendi, seperti link protein, proteoglikan dan gp-39 ditemukan menyebabkan arthritis pada hewan pengerat. Proteoglikan dapat digunakan untuk menginduksi arthritis pada kelinci dan anjing serta tikus BALB/c. PG itu besar molekul (~3 x 10⁶ Da) yang mengandung inti protein rantai samping

glikosaminoglikan termasuk kondroitin sulfat dan keratin sulfat melekat. Oligosakarida yang terikat N dan O juga melekat pada wilayah inti ini.

1.7. Collagen induced arthritis (CIA). Arthritis yang diinduksi kolagen dipelajari secara lebih luas pada model hewan karena ia memiliki banyak kesamaan ciri patologis dan imunologis dengan RA manusia. Dalam CIA, respons imun diarahkan terhadap antigen sendi (kolagen tipe II). Dua karakteristik penting dari model CIA adalah pelanggaran toleransi dan pembentukan antibodi otomatis terhadap diri sendiri dan kolagen. Hal ini menjadikan CIA sebagai model *in vivo* standar emas untuk studi RA. Model ini dimediasi oleh sel T helper, di mana respons T helper (T_h1) dan (T_h17) diinduksi dalam CIA, namun sel T_h17 tampaknya memainkan peran patologis yang dominan.

Kolagen diperoleh dari berbagai sumber (sapi, manusia, babi, dan ayam) dan responsnya terlihat bervariasi tergantung pada strain dan kondisi injeksi yang berbeda. Tidak mengherankan, respons buruk terlihat pada kolagen tikus. CIA pada dasarnya merupakan penyakit autoimun pada persendian, yang memerlukan imunitas sel T dan B terhadap kolagen tipe II autologus (CII) untuk manifestasi penyakit. Model *collagen induced arthritis* (CIA) pertama dibuat melalui imunisasi tikus dengan kolagen tipe II₉. Kemudian, model CIA direproduksi pada tikus dan monyet (Choudhary *et al.*, 2018).

2. Metode Analisa

Metode analisa yang digunakan untuk mengetahui aktivitas antiarthritis dalam penelitian ini adalah metode pengukuran volume kaki dan uji histopatologi persendian pada tikus.

2.1. Pengukuran berat badan tikus. Berat badan tikus yang diimunisasi pada minggu pertama sebelum imunisasi hampir sama pada semua kelompok hewan; namun, pada minggu berikutnya, berat badan tikus yang diimunisasi selalu lebih rendah secara signifikan dibandingkan dengan tikus kontrol.

Perubahan berat badan tikus dapat digunakan sebagai salah satu cara untuk mengevaluasi perjalanan penyakit, karena penurunan berat badan menunjukkan penyakit aktif, sedangkan penambahan berat badan menunjukkan pemulihan. Semua kelompok yang diimunisasi mengalami penurunan berat badan lebih sedikit daripada kelompok kontrol. Ini sesuai dengan kenyataan bahwa rheumatoid cachexia, komorbiditas utama RA,

dikaitkan dengan hilangnya massa tubuh tanpa lemak yang terakhir dianggap sebagai akibat dari sitokin yang menyebabkan hipermetabolisme yang dipicu oleh sitokin dan pada gilirannya, meningkatkan aktivitas jalur proteolitik ubiquitin-proteasome yang bertanggung jawab pada pengecilan otot dan penurunan berat badan (Nasuti *et al.*, 2019).

2.2. Pengukuran volume kaki. Volume kaki belakang tikus yang diinduksi CFA, diukur secara kontralateral (diukur hingga garis rambut) dinilai pada hari 0 (sebelum imunisasi dengan CFA), sampai hari ke-14 dengan *plethysmograph* (Ugo Basile, Gemonio (VA), Italia). Kenaikan volume telapak kaki (ΔV) atau edema pada waktu (t) dihitung dengan rumus: Volume telapak kaki (t0) – volume telapak kaki (t), dimana volume telapak kaki (t0) diukur pada hari ke 0 sebelum imunisasi.

Data volume kaki kontralateral dianalisis dengan menentukan area di bawah kurva dosis (AUC) dari hari ke 0 hingga hari ke-14. Nilai rata-rata untuk masing-masing kelompok ditentukan dan % penghambatan edema kaki kelompok CFA dihitung menggunakan rumus berikut: % penghambatan edema kaki = $B/A \times 100$, dimana A = rata-rata kelompok kontrol yang sehat rata-rata dari kelompok CFA dan B = rata-rata kelompok CFA yang diberi perlakuan rata-rata kelompok CFA. Cara ini memperhitungkan nilai bukan nol untuk kelompok kontrol yang sehat. Persentase penghambatan yang mendekati 100% menunjukkan efektivitas pengobatan dalam mencegah/menurunkan kejadian arthritis dibandingkan kelompok CFA arthritis.

Pengukuran svolume kedua kaki belakang dan skor arthritis dapat digunakan untuk menilai perkembangan arthritis dan aktivitas obat anti-arthritis. Peningkatan volume pada kaki belakang kontrol (lesi arthritis sekunder) diukur untuk memperkirakan respons imun umum yang menyebabkan poliarthritis dalam fase kronis. Sebaliknya, pembengkakan pada kaki belakang yang disuntik (lesi arthritis primer) digunakan untuk mengevaluasi respon inflamasi pada fase akut setelah imunisasi CFA.(Nasuti *et al.*, 2019).

Persentase penghambatan volume telapak kaki dihitung dari selisih rata-rata volume telapak kaki pada kelompok yang diberi obat dan kelompok kontrol dengan menggunakan 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 leukosit. Kaki belakang tikus percobaan difoto untuk melihat morfologi kondisi artritis. Hewan uji dikorbankan pada akhir percobaan dengan memberikan kloroform dosis tinggi sebagai anestesi dan darah dikumpulkan melalui tusukan jantung dalam tabung biasa dan tabung berisi EDTA untuk pemisahan serum.

Anemia pada tikus artritis ditunjukkan oleh penurunan sel darah merah dan kadar hemoglobin pada kelompok kontrol artritis. Manifestasi ekstraartikular yang paling umum dari RA adalah anemia, yang terjadi pada 30 hingga 60 persen pasien. Kehilangan darah gastrointestinal akibat pengobatan radang sendi dan perubahan sumsum tulang yang terjadi pada pasien radang sendi yang mencegah pelepasan zat besi untuk dimasukkan ke dalam sel darah merah adalah dua penyebab paling umum anemia pada pasien radang sendi (Perumal *et al.*, 2017).

2.4. Uji histopatologi persendian. Sendi interphalangeal dari kaki belakang dikeluarkan, dibersihkan dengan garam, dan difiksasi dalam formalin 10% selama 24 jam. Setelah dekalsifikasi, bagian yang dihasilkan diwarnai dengan pewarnaan eosin hematoksilin dan difoto dengan perbesaran 100 kali. Diferensiasi antara sendi pergelangan kaki normal dan sendi tikus artritis yang diinduksi adjuvan Kelainan yang menonjol, seperti kerusakan sumsum tulang dan infiltrasi sel yang luas pada permukaan artikular, ditemukan dalam penelitian ini melalui histopatologi sendi kaki belakang pada kelompok kontrol artritis. Pada tikus yang mengalami artritis, lapisan sinovial memiliki banyak infiltrasi seluler.

Studi histopatologi menunjukkan perbedaan pada sendi pergelangan kaki normal dan sendi tikus artritis yang diinduksi adjuvan. Secara umum, studi histopatologi pada sendi artritis menunjukkan kelainan yang menonjol dari sendi normal seperti pembentukan edema, degenerasi dengan erosi parsial pada tulang rawan, kerusakan sumsum tulang dan infiltrasi eksudat inflamasi yang luas pada permukaan artikular. Dalam penelitian ini, studi histopatologi sendi kaki belakang pada tikus kontrol artritis menunjukkan kelainan yang

menonjol seperti kerusakan sumsum tulang dan infiltrasi sel yang luas pada permukaan artikular (Perumal *et al.*, 2017).

C. Tanaman Ciplukan

1. Sistematika Tanaman

Tanaman ciplukan memiliki sistematika sebagai berikut :

Kingdom : Plantae

Divisi : Tracheophyta

Kelas : Magnoliopsida

Ordo : Solanales

Famili : Solanaceae

Genus : *Physalis* L.

Spesies : *Physalis Angulata* L (Jannah & Safnowandi, 2018)

2. Kandungan Kimia Tanaman

Tanaman ciplukan memiliki khasiat sebagai obat. Tanaman ciplukan telah diteliti sebelumnya dengan menggunakan ekstrak etanol daun ciplukan menyatakan adanya aktivitas sebagai antiartritis dan anti-inflamasi karena adanya kandungan steroid, flavonoid dan alkaloid dengan adanya penghambatan terhadap denaturasi protein (Lakoan *et al.*, 2020).

Berbagai fitosterol, karbohidrat, vitamin, mineral dan lipid dimiliki oleh spesies *Physalis* (L.) yang mengarah pada pembentukan struktur tipe Withanolide. Withanolida pertama kali diisolasi dari genus *Withania* (L.) yang mengandung kelompok steroid tipe ergostan C28 dengan kelompok C-22, 26 γ -lakton. Berbagai fisalin yaitu B, E, F, G, H, I dan dengan angulatin A terdapat pada *P. angulata* (L.). Withangulatin A dan withaferin A, senyawa kimia yang saling berhubungan secara struktural satu sama lain. Glikosida flavonal yaitu. myricetin 3-O-neohesperidoside hadir di tanaman. Fisalin B dan F bertanggung jawab untuk mengurangi makrofag yang terinfeksi *Leishmania* dan jumlah parasit intraseluler *secara in-vitro* pada konsentrasi rendah (Sharma *et al.*, 2015).

3. Aktivitas Antiartritis

Senyawa yang diduga memiliki peran sebagai antiinflamasi pada tanaman ciplukan yaitu flavonoid, steroid, saponin dan alkaloid. Senyawa steroid dapat mengaktifasi reseptor glukokortikoid melalui peningkatan atau

penurunan proses transkripsi gen-gen yang terlibat dalam proses inflamasi.. Sedangkan alkaloid bekerja dengan cara menekan sel mast mengeluarkan histamine, menekan monosit untuk mensekresi IL-1 pada platelet. Mekanisme antiinflamasi dari saponin adalah dengan melalui penghambatan terlepasnya zat-zat proinflamasi yang distimulasi oleh LPS seperti TNF- α , iNOS, dan iL. Semakin besarnya dosis ekstrak air ciplukan (Nurjanah & Sumiwi, 2019).

Penelitian *in vitro* menunjukkan bahwa senyawa *P. angulate* yang dimurnikan seperti physalins (A, B, D dan F) dan glikosida (misalnya Myricetin-3- O-neohesperidoside) menunjukkan aktivitas antitumoral pada HA22T (hepatoma), HeLa (cervix uteri) , leukemia, adenokarsinoma paru dan karsinoma epidermoid pada garis sel nasofaring KB-162,4,5. Jumlah bukti yang berkaitan dengan efek biologis ekstrak tumbuhan terus meningkat (Kusumaningtyas *et al.*, 2015).

D. Tanaman Alang - Alang

1. Sistematika Tanaman

Tanaman alang-alang memiliki sistematika sebagai berikut :

Kingdom : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Liliopsida

Ordo : Poales

Famili : Poaceae

Genus : Imperata

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

2. Kandungan Kimia Tanaman

Kandungan kimia tanaman *imperata cylindrica* dapat digunakan untuk ramuan dalam pengobatan tradisional *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus leveus*, *Staphylococcus Epidermis*, *Kleibsiella pneumonia*, *Escharichia coli*, *candida Albican*, *Candida parapsilosis*, *Aspergillus niveus*, *Aspergillus parasiticus*, *Microsporum gypseum* dan gangguan lambung pada bayi selama tumbuh gigi Sifat obatnya untuk astringen, obat penurun panas, diuretik, tonik dan obat penahan darah. Hasil analisis menunjukkan adanya alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, Glukosida, steroid dan terpenoid yang bertanggung jawab untuk pengobatan penyakit yang berasal dari tumbuhan. 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

Inflamasi/peradangan adalah respons tubuh atau bagian tubuh terhadap cedera. Penyebabnya dapat berupa rangsangan fisik atau kimia berbahaya atau racun mikrobiologis, dan terjadi pada banyak penyakit, seperti artritis, asma, multiple sclerosis, penyakit radang usus, dan aterosklerosis. Dalam keadaan inflamasi, sel-sel imun yang diaktifkan, seperti makrofag mensekresi sitokin proinflamasi dan nitrit oksida (NO) dalam jumlah besar. Lipopolisakarida (LPS) yang merupakan endotoksin terkenal pada makrofag, menginduksi produksi sitokin inflamasi seperti *tumor necrosis factor- α* (TNF- α), interleukin (IL) -6, dan IL-1 β , serta mediator inflamasi, termasuk NO dan prostaglandin E2 (PGE2), yang disintesis oleh enzim *inducible NO synthase* (iNOS) dan *cyclooxygenase-2* (COX-2). Senyawa isogeunin yang berhasil diisolasi dari akar alang-alang menunjukkan efek penghambatan pembentukan NO, menurunkan ekspresi iNOS, COX-2 dan sitokin proinflamasi seperti TNF- α , IL-6, and IL-1 β pada sel makrofag 264,7 yang distimuli LPS sehingga dapat meredam inflamasi (Zulkarnain *et al.*, 2020).

E. Tanaman Sambiloto

1. Sistematika Tanaman

Sambilloto diduga berasal dari India tanaman ini disebut "*King of Bitter*". Tanaman ini tumbuh di wilayah Asia yang beriklim tropis dan subtropis diantaranya Semenanjung Malaya dan India. Klasifikasi tanaman sambiloto:

Divisi : Spermatophyta.

Sub Divisi : Angiospermae.

Kelas : Dicotyledonae.

Ordo : Solanaceae

Famili : Acanthaceae.

Genus : *Andrographis*

Spesies : *Andrographis paniculata* Nees (Ischak & Botutihe, 2018)

2. Kandungan Kimia Tanaman

Daun sambiloto yang mengandung bahan kimia yang memberikan rasa pahit dan dingin, mengandung zat-zat sebagai berikut: Daun dan rantingnya mengandung lakton, antara lain *andrographolide*, *deoxyandrographolide*, *11, 12- didehydro-14-deoxyandrographolide*, dan *neoandrographolide*. Juga mengandung flavonoid, alkana, keton, aldehida, mineral (kalium, akar mengandung flavotioid, yang paling terisolasi adalah *polimetoksisflavon*, *andrograf*, *panikulin mono-O- metilwithin* dan *apigenin-7,4 -dimetil eter*) (Zahrina, 2015). Sambiloto mengandung senyawa-senyawa metabolit sekunder golongan terpenoid, flavonoid, xanton dan asam kuintat (Ischak & Botutihe, 2018).

3. Aktivitas Antiartritis

Andrographis paniculata telah digunakan dalam pengobatan tradisional Tiongkok selama berabad-abad. *Andrographolide* (AD) merupakan senyawa biologis diterpenoid penting yang berasal dari *Andrographis paniculata*, dengan berbagai efek obat, termasuk sifat hepatoprotektif, antiangiogenik, antitrombotik, antiinflamasi dan antiartritis. AD menghambat diferensiasi osteoklas, dan memicu apoptosis dan penghentian siklus sel sinoviosit mirip fibroblas. AD juga mencegah produksi radikal oksigen dan migrasi neutrofil yang diinduksi *N-Formyl-l-methionyl-l-leucyl-l-phenylalanine*. Namun, mekanisme molekuler yang mendasari AD pada reumatoid artritis masih belum jelas (Li *et al.*, 2019).

Neutrofil memainkan peran penting dalam timbulnya dan kelangsungan RA. Sitokin dan mediator yang diproduksi oleh neutrofil dapat memperkuat respon inflamasi pada RA. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa mediator inflamasi, termasuk sitokin, kemokin, dan *reactive oxygen species* (ROS), memiliki efek pleiotropik pada perkembangan peradangan. TNF- α , IL-6, IL-17A, dan IFN- γ mempunyai efek penting dalam merekrut dan mengaktifkan neutrofil. Sitokin inflamasi ini dapat memperkuat respon imun dengan menginduksi produksi sitokin dan kemokin lain. Sitokin ini juga terlibat dalam patogenesis RA dengan mengaktifkan kondrosit dan osteoklas. Tingkat ekspresi IFN- γ secara signifikan lebih tinggi pada pasien RA setelah timbulnya penyakit dibandingkan dengan kontrol kesehatan. Sebagai faktor sitokin anti-inflamasi, IL-10 memiliki kapasitas untuk menghambat aktivasi, migrasi, dan degranulasi neutrofil. Menargetkan sitokin inflamasi termasuk TNF- α , IL-17A, dan IL-6 adalah strategi penting untuk

pengobatan RA. Inhibitor TNF- α (adalimumab, etanercept, certolizumab) dan inhibitor IL-6 (tocilizumab) telah dilisensikan oleh Food and Drug Administration (FDA) untuk mengobati pasien RA. Dalam penelitian ini, kami menemukan bahwa pengobatan AD menurunkan kadar sitokin proinflamasi (TNF- α , IFN- γ , IL-6, IL-17A), sekaligus meningkatkan kadar sitokin antiinflamasi IL-10 pada pasien. plasma tikus AA. Data ini menunjukkan bahwa AD memiliki efek antiinflamasi sistematis pada tikus AA (Li *et al.*, 2019).

Pemberian ekstrak sambiloto secara oral menunjukkan aktivitas anti-inflamasi yang sangat signifikan pada tikus PID yang diinduksi patogen. Efek antiinflamasi ditunjukkan dengan mencegah infiltrasi neutrofil dan limfosit serta mengurangi produksi sitokin dan kemokin. Mekanisme ini melibatkan aktivasi jalur NF- κ B. NF- κ B adalah kompleks protein yang berikatan secara kovalen dengan I κ B yang terletak di sitoplasma sel dalam keadaan istirahat. Ketika TLR mengenali patogen pada permukaan sel, I κ B terfosforilasi dan terdegradasi sehingga NF- κ B bertranslokasi ke nukleus dan berikatan dengan elemen penambah NF κ B yang bertindak cis, memicu ekspresi mediator proinflamasi seperti IL-1 β . dan IL-6 (Harahap *et al.*, 2023).

F. Tanaman Lidah Buaya

1. Sistematika Tanaman

Tanaman lidah buaya memiliki sistematika sebagai berikut :

Kingdom : Plantae
 Divisi : Spermatophyta
 Kelas : Monocotyledoneae
 Ordo : Liliflorae
 Famili : Liliceae
 Genus : Aloe
 Spesies : *Aloe vera* (Sari, 2021)

2. Kandungan Kimia Tanaman

Penelitian menunjukkan potensi penyembuhan lidah buaya yang luar biasa dan mengidentifikasi banyak senyawa bioaktif yang bertanggung jawab atas penyembuhan luka. Struktur daun lidah buaya dikonfigurasi dalam bentuk tiga lapisan. Lapisan dalam terdiri dari gel transparan yang mengandung 99% air dan 1% bahan padat yang memampatkan lebih dari 75

senyawa berbeda (seperti glukomanan, asam amino, lipid, sterol, dan vitamin), lapisan tengah berupa lateks pahit dalam bentuk jus kuning kaya akan glikosida dan antrakuinon, dan lapisan luarnya adalah korteks tebal yang menghasilkan karbohidrat dan protein (Chelu *et al.*, 2023).

3. Aktivitas Antiartritis

Flavonoid merupakan senyawa paling banyak yang ditemukan pada tanaman obat. Flavonoid yang terkandung dalam lidah buaya dapat meningkatkan fungsi sel neutrofil. Flavonoid berperan dalam membatasi pelepasan mediator inflamasi seperti IL-1, IL-6, IL-8, Interleukin γ , dan TNF- α . Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenolik terbesar yang memiliki sifat antiaktivitas inflamasi melalui penghambatan siklooksigenase dan lipoksigenase sehingga membatasi sejumlah sel inflamasi seperti sel neutrofil hingga jaringan yang meradang. Hal ini menyebabkan proses peradangan berlangsung lebih singkat, sehingga perkembangbiakannya lebih cepat protein (Chelu *et al.*, 2023).

G. Simplisia dan Penyarian

Simplisia dibuat melalui tahapan pengumpulan simplisia, sortasi basah, pencucian, pemotongan, pengeringan, sortasi kering, pengepakan dan penyimpanan. Tanaman dipanen dengan mengambil seluruh bagian tanaman yang berada di atas tanah, kemudian dilakukan pemisahan kotoran atau benda asing tanaman, secara manual untuk menghilangkan tanah dan kotoran lain yang menempel pada tanaman. Pencucian dilakukan dengan air bersih, seperti mata air, air sumur atau air keran, dilakukan dengan singkat agar unsur hara tidak hilang dari tanaman. Penghancuran dilakukan untuk mempermudah proses pengeringan, pengepakan dan penggilingan, caranya antara lain mencuci seluruh tanaman di bawah sinar matahari selama sehari sebelum dipotong, Tahapan tersebut bisa dilakukan dengan pisau atau pemotong khusus, selanjutnya dilakukan pengeringan selama sehari di bawah sinar matahari sambil dibalik dengan tangan, dikeringkan pada suhu 45 °C selama 4 jam.

Proses dilakukan secara manual, pilihlah wadah yang tidak beracun dan non-reaktif yang tidak menimbulkan reaksi atau perubahan warna, bau, rasa, dan lain-lain. Foil tahan panas diperlukan untuk melindungi permukaan wadah dari cahaya, seperti aluminium foil, wadah gelap atau plastik, kaleng.

Simplisia kering dapat disimpan pada suhu ruangan (15 °C – 30 °C) (Rivai *et al.*, 2014).

Serbuk simplisia dibuat dari bagian-bagian tanaman yang terbaik dan dikeringkan, serbuk dibuat menggunakan peralatan sampai diperoleh derajat serbuk yang sangat halus tanpa merusak atau menghilangkan seluruh simplisia dan komponen kimia yang diperlukan, Derajat serbuk Simplisia yaitu serbuk sangat halus, serbuk murni, serbuk semi halus, serbuk halus dan serbuk sangat halus.

Ekstrak dibuat dengan cara maserasi menggunakan etanol 70% atau 95%. Masing-masing satu bagian serbuk tanaman ciplukan, akar alang-alang dan daun sambiloto dimasukkan ke dalam maserator, ditambahkan 7,5 bagian etanol 70% atau 95%, direndam selama 5 hari sambil sesekali diaduk, kemudian disaring dengan kain flanel bersih untuk mendapatkan maserat. Seluruh maserat dikumpulkan dan diuapkan dalam vakum evaporator hingga diperoleh ekstrak kental. Hasil yang diperoleh ditimbang dan dicatat. Persentase rendemen dihitung berdasarkan rendemen yang diperoleh dan persentase berat (b/b) serbuk simplisia yang digunakan (Rivai *et al.*, 2014).

H. Pengujian Antiartritis dengan Metode CFA

Beberapa model eksperimental telah dikembangkan pada tikus untuk menguji potensi manfaat obat antiartritis, salah satunya adalah CFA. CFA adalah model eksperimental terbaik untuk mempelajari efek artritis dan masih digunakan dalam uji coba RA awal (Noor, 2020).

Berbagai jenis protein yang berasal dari tulang rawan dapat digunakan untuk menginduksi artritis pada tikus kolagen tipe II, kolagen tipe XI dan protein matriks oligomer tulang rawan. Dalam hal ini, peneliti fokus pada artritis yang disebabkan oleh kolagen tipe II karena kolagen ini paling banyak digunakan. Suntikan kolagen tipe II intradermal yang diemulsikan dalam bahan pembantu Freund yang tidak lengkap menyebabkan perkembangan poliartritis parah pada tikus DA dan Lewis, dimulai dua minggu setelah imunisasi. Cakar kaki depan dan belakang membengkak, yang berlangsung selama beberapa minggu, mengecil dan kemudian muncul kembali sehingga mengakibatkan radang sendi kronis dengan kejadian parah seperti malformasi pada kaki. tulang. Model tikus digunakan untuk mengatasi efek senyawa pada artritis tahap akhir yang kronis. Kerentanan terhadap artritis terkait dengan

gen MHC tertentu. Karena sejumlah besar sel MHC kelas II terdapat pada sendi, dan telah dihipotesiskan bahwa *antigen presenting cells* (APC) ini berinteraksi dan mengaktifasi sel T CD4⁺ yang terdapat pada sendi, sehingga mengakibatkan peradangan yang berkelanjutan. TNF- α dan IL-1 β adalah sitokin kunci pada tikus CIA.

Model ini dimulai pada strain tikus yang rentan dengan injeksi intradermal bahan CFA di pangkal ekor atau belakangnya. wilayah kaki. Latar belakang genetik tikus itu penting, karena gen *major histocompatibility complex* (MHC) dan non MHC berkontribusi terhadap kerentanan mereka terhadap AIA; Di mana okus sifat tertentu dikaitkan dengan tingkat keparahan penyakit. AIA ditandai dengan timbulnya dan perkembangan yang cepat terhadap peradangan poliartikular. Setelah 10–14 hari, gejala radang sendi dapat terlihat. Tingkat keparahan RA menurut induksi adjuvan menyebabkan malformasi sendi permanen, termasuk ankilosis. Dibandingkan dengan RA manusia, AIA berbagi gejala umum seperti pembengkakan sendi, limfosit infiltrasi dan degradasi tulang rawan.

Tikus dengan AIA, sel T yang diaktifkan dapat dideteksi di sendi yang meradang. Sendi tersebut diinfiltrasi dengan sel T yang berasal dari berbagai kompartemen termasuk limpa, Peyer tambalan, mengeringkan kelenjar getah bening dan sel T yang bersirkulasi kolam. Respon imun terlihat diinduksi oleh antigen *heat shock protein* (Hsp65), dengan peptide 180–186 menjadi epitop yang bertanggung jawab. Selama awal tahap peradangan, sitokin diekspresikan dalam sendi termasuk IL-17, IFN dan TNF- α , disertai sitokin terlibat dalam stimulasi makrofag. Sebagai tingkat keparahan peradangan berkembang di sendi, peningkatan kadar IL-4, IL-6, protein kemotaktik monosit 1 dan TGF- β dapat terdeteksi. TNF- α , IL-1 β , IL-21 dan IL-17 semuanya terlibat dalam patologi penyakit ini (Choudhary *et al.*, 2018).

Suntikan PG-PS 10 S intra-peritoneal menginduksi artritis poliartikular pada tikus Lewis betina yang mengakibatkan peradangan akut respon dan pembengkakan sendi. Selama lima hari pertama, peradangan sendi berlangsung dan diikuti oleh a periode jeda, setelah itu terjadi reaktivasi yang cepat, mengakibatkan artritis kronis. Model ini memberikan peluang untuk mempelajari fase awal dan fase artritis yang lebih kronis. Respon awal yang diamati bukanlah sel T tergantung. Ada keterlibatan monosit di keduanya fase akut dan perkembangan lebih lanjut dari artritis. Selama fase kronis, tingkat

keparahan artritis dapat dikorelasikan dengan status aktivasi sel T, sel B dan monosit. Ada juga keterkaitan antara derajat peradangan dan produksi TNF- α , IL-6, IL-1. Beberapa ciri khas model ini pada kemiripannya RA pada manusia meliputi hiperplasia sinovial, infiltrasi sel inflamasi, keterlibatan sendi simetris, dan peradangan relaps (Choudhary *et al.*, 2018).

Artritis yang parah bisa jadi diinduksi pada strain tikus, terutama DA dan Lewis, melalui imunisasi dengan COMP asli dan terdenaturasi di IFA (*incomplete Freund's adjuvant*). Sediaan COMP yang dilarutkan diemulsi dengan jumlah IFA yang sama. Setiap tikus disuntik secara intradermal dengan COMP di pangkal ekor. Dalam kasus yang parah artritis, COMP dilepaskan dari tulang rawan selama erosi jaringan. Ini adalah fitur menarik dari COMP dan ini menjadikannya penanda artritis yang berguna pada RA. KOMP adalah juga dilepaskan pada tikus yang menderita radang sendi kronis setelah induksi dengan pristane, bahan pembantu dengan berat molekul rendah, dan kadar dalam serum berkorelasi kuat dengan terjadinya artritis erosif (Choudhary *et al.*, 2018).

Model hewan baru untuk rheumatoid radang sendi yang diinduksi dengan bantuan minyak pembantu sintetik yang terdefinisi dengan baik, pristane. Tikus mengalami radang sendi yang parah dan kronis, dalam waktu dua minggu, setelah suntikan intradermal tunggal 150 μ l pristane. Peradangan terbatas pada persendian dan melibatkan pembentukan pannus, ekspresi MHC kelas II dan Infiltrasi limfosit T. Penyakit ini bergantung pada sel T. Di dalam Model PIA, erosi sendi disertai peninggian kadar protein matriks oligomer tulang rawan. Penyakitnya adalah sangat berbeda dari model tikus yang diinduksi murni karena tidak ditemukan kelainan sistemik dan bahwa peradangan hanya terbatas pada sendi (Choudhary *et al.*, 2018).

I. Landasan Teori

Tumbuhan ciplukan mengandung senyawa seperti flavonoid, steroid, saponin, dan alkaloid yang berfungsi sebagai antiinflamasi. Senyawa steroid mengaktifkan reseptor glukokortikoid melalui peningkatan atau penurunan proses transkripsi gen-gen yang terlibat dalam proses inflamasi, sedangkan alkaloid menekan sel mast untuk mengeluarkan histamin, dan menekan monosit untuk mensekresi IL-1 pada trombosit. Saponin menghambat zat proinflamasi yang distimulasi oleh LPS, seperti TNF- α , iNOS,

dan iL, dalam mekanisme antiinflamasi mereka. Dosis ekstrak air ciplukan meningkat (Nurjanah & Sumiwi, 2019).

Kandungan kimia tanaman alang-alang dapat digunakan sebagai ramuan pengobatan tradisional antara lain pengobatan *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus leveus*, *Staphylococcus Epidermis*, *Kleibsiella pneumonia*, *Escharichia coli*, *candida Albican*, *Candida parapsilosis*, *Aspergillus niveus*, *Aspergillus parasiticus*, *Microsporium gypseum* dan gangguan lambung selama tumbuh gigi pada masa bayi. Hasil analisis menunjukkan adanya alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, glukosida, steroid dan terpenoid yang bertanggung jawab untuk pengobatan penyakit ini dalam pengobatan etno yang berasal dari tumbuhan. 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 antiinflamasi, antialergi, dan vasoprotektif (Ekwonu *et al.*, 2019).

Sel-sel imun diaktifkan dalam keadaan inflamasi seperti makrofag mensekresi sitokin proinflamasi dan nitrit oksida (NO) dalam jumlah besar. Lipopolisakarida (LPS) yang merupakan endotoksin terkenal pada makrofag, menginduksi produksi sitokin inflamasi seperti tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin (IL) -6, dan IL-1 β , serta mediator inflamasi, termasuk NO dan prostaglandin E2 (PGE2), yang disintesis oleh enzim inducible NO synthase (iNOS) dan cyclooxygenase-2 (COX-2). Senyawa isogeunin yang berhasil diisolasi dari akar alang-alang menunjukkan efek penghambatan pembentukan NO, menurunkan ekspresi iNOS, COX-2 dan sitokin proinflamasi seperti TNF- α , IL-6, and IL-1 β pada sel makrofag 264,7 yang distimuli LPS sehingga dapat meredam inflamasi (Zulkarnain *et al.*, 2020).

Tanaman Sambiloto tumbuh di daerah beriklim tropis dan subtropis di Asia, seperti India, Semenanjung Malaya, dan India. Tumbuhan sambiloto dengan ciri kimia pahit, berasa dingin, daunnya mengandung komposisi kimia sebagai berikut: daun dan rantingnya mengandung lakton yang terdiri dari *andrographolide*, *deoxyandrographolide*, *11,12-didehydro-14-deoxyandrostagrapholide* dan *neoandrographolide*. *Andrographolide* (AD) merupakan senyawa bioaktif diterpenoid penting yang berasal dari *Andrographis paniculata* dengan berbagai aktivitas farmakologis, termasuk efek hepatoprotektif, anti-angiogenik, anti-trombotik, anti-inflamasi dan anti-arthritis. Sitokin dan mediator yang diproduksi neutrofil dapat meningkatkan

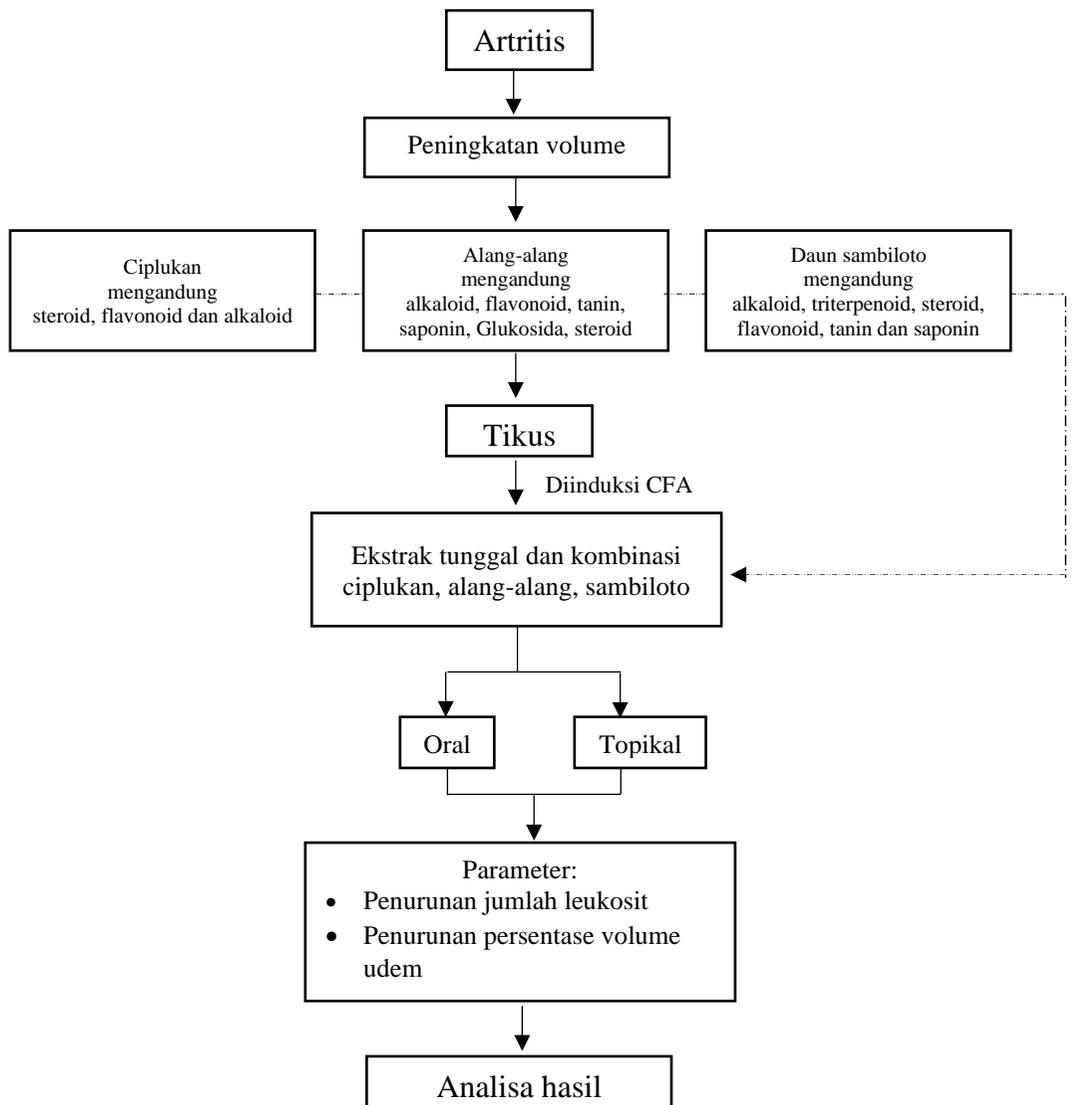
respons inflamasi pada artritis reumatoid. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa mediator inflamasi, termasuk sitokin, kemokin, dan *reactive oxygen species* (ROS), memiliki efek pleiotropik pada perkembangan peradangan. TNF- α , IL-6, IL-17A, dan IFN- γ mempunyai efek penting dalam merekrut dan mengaktifkan neutrofil. Sitokin inflamasi ini dapat memperkuat respon imun dengan menginduksi produksi sitokin dan kemokin lain. Sitokin ini juga terlibat dalam patogenesis RA dengan mengaktifkan kondrosit dan osteoklas. Sebagai faktor sitokin anti-inflamasi, IL-10 memiliki kapasitas untuk menghambat aktivasi, migrasi, dan degranulasi neutrofil. Menargetkan sitokin inflamasi termasuk TNF- α , IL-17A, dan IL-6 adalah strategi penting untuk pengobatan RA. Dalam penelitian ini, kami menemukan bahwa pengobatan AD mengurangi kadar sitokin pro-inflamasi (TNF- α , IFN- γ , IL-6, IL-17A) sekaligus meningkatkan kadar sitokin anti-inflamasi IL-10 pada pasien. Data ini menunjukkan bahwa AD mempunyai efek anti-inflamasi sistemik pada tikus AA (Li *et al.*, 2019).

CFA adalah model eksperimental terbaik untuk mempelajari efek arthritis dan masih digunakan dalam penelitian RA awal (Noor, 2020). Berbagai jenis protein yang berasal dari tulang rawan dapat digunakan untuk menginduksi arthritis kolagen tipe II, kolagen tipe XI, dan protein matriks oligomer tulang rawan pada tikus. Injeksi kolagen tipe II intradermal yang diemulsi dalam bahan pembantu Freund yang tidak lengkap menyebabkan poliartritis parah pada tikus DA dan Lewis mulai 2 minggu setelah imunisasi. Kuku kaki depan dan belakang menjadi bengkak, berlangsung selama beberapa minggu, mengecil, lalu kambuh lagi. Akibatnya adalah arthritis kronis dengan konsekuensi serius seperti kelainan bentuk kaki. Suntikan PG-PS 10S intraperitoneal menginduksi arthritis poliartikular pada tikus she-Lewis betina, menyebabkan respon inflamasi akut dan pembengkakan sendi. Peradangan sendi berlangsung selama lima hari pertama, kemudian berhenti, tetapi kemudian aktif kembali dengan cepat, menyebabkan arthritis kronis. Model ini memberikan kesempatan untuk mempelajari arthritis tahap awal dan lebih kronis.

Hal ini dapat diinduksi pada model tikus, khususnya model DA dan Lewis, dengan menyuntikkan COMP asli dan pewarnaan dalam IFA (dengan efek tambahan Freund yang minimal). Pada arthritis parah, COMP dilepaskan dari tulang rawan selama kontraksi otot. Kadar KOMP serum juga diberikan kepada tikus dengan penyakit ginjal kronis setelah infus norphytane,

senyawa dengan berat molekul rendah, dan berkorelasi signifikan dengan adanya penyakit (Choudhary *et al.*, 2018).

J. Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 1. Kerangka Konsep Penelitian

K. Hipotesis

Berdasarkan uraian di atas dapat disusun suatu hipotesis dalam penelitian ini bahwa:

1. Ekstrak etanol tunggal tanaman ciplukan, akar alang-alang dan daun sambiloto memiliki aktivitas antiarthritis secara oral dan topikal.
2. Kombinasi ekstrak etanol tanaman ciplukan dengan akar alang-alang dan daun sambiloto mempunyai aktivitas antiarthritis secara oral dan topikal.
3. Kombinasi ekstrak tanaman ciplukan dengan akar alang-alang dan daun sambiloto secara oral dan topikal akan memberikan hasil peningkatan berat badan tikus, penurunan jumlah leukosit, persentase penurunan volume udem, dan perbaikan profil histopatologi persendian pada kaki tikus.