



Analisis Histopatologi Efek Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Akar Sebiak (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.)

(Histopathological Analysis of the Anti-inflammatory Effect of Ethanol Extract of Akar Sebiak Leaves (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.)

Yuneka Saristiana^{1*}, Fendy Prasetyawan¹, Lisa Savitri²

¹ Program Studi Pendidikan Profesi Apoteker, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Kediri, Kediri, Indonesia

² Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Kediri, Kediri, Indonesia

*Corresponding author: yunekasaristiana@gmail.com

Abstract: This study aimed to evaluate the anti-inflammatory effects of the ethanolic extract of Akar Sebiak (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.) through histopathological analysis in male Wistar rats induced with Complete Freund's Adjuvant (CFA). The animals were divided into five groups: normal control, positive control (Triamcinolone acetone), negative control (1% CMC-Na), and extract-treated groups at doses of 100 mg/kg BW and 200 mg/kg BW. Parameters observed included reduction in paw edema volume, total leukocyte count, and joint space width. The results demonstrated that extract doses of 100 mg/kg BW and 200 mg/kg BW reduced paw edema by 43.33% and 49.15%, respectively, decreased leukocyte counts, and improved joint space compared to the negative control. The anti-inflammatory effect is presumably related to the presence of flavonoids, alkaloids, and triterpenoids/steroids that inhibit inflammatory pathways. Although the extract showed significant potential, its efficacy remained lower than that of triamcinolone acetone.

Keywords: akar sebiak; anti-inflammatory; Complete Freund's Adjuvant; ethanolic extract; *Gynura procumbens*; histopathology; wistar rats.

Abstrak: Penelitian ini bertujuan mengevaluasi efek antiinflamasi ekstrak etanol daun Akar Sebiak (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.) melalui analisis histopatologi pada tikus putih jantan yang diinduksi *Complete Freund's Adjuvant* (CFA). Hewan uji dibagi menjadi lima kelompok: kontrol normal, kontrol positif (Triamsinolon Asetonid), kontrol negatif (CMC-Na 1%), dan ekstrak dosis 100 mg/kg BB serta 200 mg/kg BB. Parameter yang diamati meliputi penurunan volume udem, jumlah leukosit total, dan lebar *joint space*. Hasil menunjukkan ekstrak dosis 100 mg/kg BB dan 200 mg/kg BB menurunkan volume udem masing-masing sebesar 43,33% dan 49,15%, menurunkan jumlah leukosit, serta memperbaiki *joint space* dibandingkan kontrol negatif. Efek antiinflamasi ini diduga terkait kandungan flavonoid, alkaloid, dan triterpenoid/steroid yang menghambat jalur inflamasi. Meskipun potensi ekstrak signifikan, efeknya masih di bawah triamsinolon asetoniid.

Kata Kunci: Akar sebiak; antiinflamasi; *Complete Freund's Adjuvant*, ekstrak etanol; *Gynura procumbens*; histopatologi, tikus putih jantan.

1. Pendahuluan

Peradangan merupakan respons biologis esensial terhadap cedera atau infeksi yang ditandai dengan proliferasi sel inflamasi, edema, dan perubahan jaringan. Meskipun penting dalam pertahanan tubuh, inflamasi berkepanjangan dapat memicu berbagai kondisi patologis, termasuk arthritis, atherosclerosis, dan kerusakan organ [1].

Gynura procumbens (Lour.) Merr, dikenal secara lokal dengan nama akar sebiak, yang merupakan tanaman obat populer di Asia Tenggara. Tumbuhan ini secara etnomedis digunakan untuk mengatasi tekanan darah tinggi, diabetes, dan peradangan [1]. Secara fitokimia, ekstrak daunnya mengandung flavonoid, saponin, terpenoid, luktat fenolik seperti asam klorogenik, astragalin, dan kaempferol. Aktivitas senyawa kimia tersebut berkontribusi terhadap potensi bioaktifnya, termasuk antioksidan dan antiinflamasi [1,2].

Dalam model *in vitro*, ekstrak etanol daun akar sebiak telah terbukti menekan produksi sitokin proinflamasi seperti NO dan iNOS dalam sel RAW264.7 yang distimuli LPS, serta menurunkan ekspresi COX-2 dan TNF- α [3][4]. Selain itu, ekstrak ini menghambat adhesi monosit ke sel endotel melalui penekanan jalur NF- κ B, ICAM-1, dan MCP-1, yang relevan dalam proses peradangan vaskular dan aterosklerosis [5]. Data terbaru dari sel RAW264.7 juga

menunjukkan bahwa mekanisme antiinflamasi melibatkan regulasi jalur sinyal PI3K/Akt dan MAPK serta penghambatan transkripsi iNOS dan COX-2 [1].

Namun, sebagian besar penelitian ini dilakukan secara *in vitro* atau pada model hewan umum tanpa observasi histologis detail. Pendekatan histopatologi, terutama dalam model peradangan sendi masih sangat sedikit dipaparkan. Analisis histologis sangat penting untuk menunjukkan efek terapeutik ekstrak terhadap struktur jaringan seperti hiperplasia membran sinovial, erosi kartilago, dan infiltrasi sel radang, yang lazim terjadi dalam penyakit arthritis.

Berdasarkan dasar teori: inflamasi sendi memicu proliferasi sinovium, degradasi kartilago, serta perubahan tulang subkondral, yang dapat diukur secara kuantitatif melalui preparasi histologis dan pewarnaan seperti Hematoksilin–Eosin (H&E) dan Safranin O [6]. Pemulihan struktur ini menjadi indikator penting efek antiinflamasi dan potensi terapi sendi.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengevaluasi efek antiinflamasi ekstrak etanol daun *Gynura procumbens* terhadap perbaikan histopatologi persendian kaki pada model induksi peradangan sendi dengan *Complete Freund's Adjuvant*. Penelitian ini akan fokus pada pengukuran lebar joint space dan penilaian infiltrasi sel radang pada jaringan sendi.

Kebaruan penelitian ini terletak pada penggunaan pendekatan histopatologis untuk menguji aksi antiinflamasi daun sambung secara langsung pada struktur persendian. Berbeda dengan studi sebelumnya yang hanya menyajikan data biokimia dan seluler, penelitian ini memberikan bukti visual dan kuantitatif mengenai efek jaringan nyata, sehingga memperkuat basis ilmiah untuk penggunaan klinis daun akar sebiak sebagai agen antiinflamasi

2. Metodologi

2.1 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi bejana maserasi untuk proses ekstraksi, evaporator untuk penguapan pelarut, serta ayakan mesh 40 untuk penyeragaman ukuran serbuk simplisia. Pada tahap uji *in vivo*, digunakan timbangan analitik untuk penimbangan sampel dan hewan uji, kandang hewan, alat induksi inflamasi, spuit oral untuk pemberian ekstrak, serta alat ukur edema seperti plethysmometer atau jangka sorong. Untuk proses preparasi jaringan, digunakan mikrotom untuk pemotongan jaringan tipis dan mikroskop cahaya untuk pengamatan histopatologis. Proses identifikasi metabolit sekunder menggunakan seperangkat alat fitokimia yaitu tabung reaksi, rak tabung, pipet tetes, gelas ukur, pipet volume, water bath, dan alat pendukung laboratorium lainnya.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi sampel tanaman berupa daun akar sebiak yang kemudian diolah menjadi serbuk simplisia kering, serta pelarut etanol 96% untuk proses ekstraksi. Pereaksi yang digunakan meliputi *Complete Freund's Adjuvant* (CFA) sebagai penginduksi artritis, larutan formalin saline 10% untuk fiksasi jaringan, larutan Von Ebner's untuk proses dekalsifikasi, amonium oksalat 5%, alkohol dengan konsentrasi bertingkat (70%, 90%, 95%, dan 100%), xilol, parafin, balsem Canada, serta pewarna Hematoksilin–Eosin (H&E) untuk preparasi histopatologi.

2.2 Alur Penelitian

Penelitian dilakukan secara eksperimental di laboratorium menggunakan hewan uji tikus jantan albino galur Wistar. Proses dimulai dengan pembuatan ekstrak etanol daun tanaman akar sebiak. Selanjutnya dilakukan identifikasi kandungan senyawa kimia menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) untuk mendeteksi golongan triterpenoid, steroid, alkaloid, dan flavonoid.

Hewan uji diadaptasikan selama enam hari, kemudian dibagi menjadi lima kelompok: yaitu kelompok control normal, kelompok kontrol positif (Triamsinolon Asetonid), kelompok kontrol negatif (CMC-Na 1%), kelompok ekstrak etanol daun akar sebiak dengan dosis 100mg/KgBB dan kelompok ekstrak etanol daun akar sebiak

dengan dosis 200mg/KgBB. Induksi artritis dilakukan dengan injeksi *Complete Freund's Adjuvant* (CFA) pada kaki belakang tikus. Perlakuan ekstrak atau kontrol diberikan sesuai dosis dari hari ke-1 hingga hari ke-12.

Pada hari ke-12, darah hewan diambil untuk analisis jumlah leukosit, kemudian hewan dikorbankan dan kaki yang mengalami peradangan dipisahkan. Persendian diproses untuk uji histopatologi melalui tahapan fiksasi formalin, dekalsifikasi metode *Von Ebner's*, dehidrasi, embedding parafin, pemotongan dengan mikrotom, deparafinasi dan rehidrasi, pewarnaan Hematoksin–Eosin (H&E), serta pembacaan preparat. Evaluasi histopatologi difokuskan pada perubahan jaringan sendi seperti infiltrasi sel inflamasi, hiperplasia sinovium, dan akumulasi sel mononuklear maupun polimorfonuklear di daerah antar sendi. Analisis data dilakukan menggunakan uji normalitas (*Kolmogorov–Smirnov*), dilanjutkan ANOVA atau uji non-parametrik, dengan *Post Hoc* untuk melihat perbedaan antar kelompok.

2.2.1 Persiapan Bahan

Penelitian diawali dengan pembuatan serbuk simplisia daun akar sebiak. Simplisia dibuat melalui proses pembersihan, pengeringan pada suhu terkontrol, penggilingan, dan pengayakan menggunakan mesh 40. Serbuk simplisia kemudian disimpan dalam wadah kedap udara hingga digunakan.

2.2.2 Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan etanol 96% dengan perbandingan bahan dan pelarut 1:7,5. Proses maserasi berlangsung selama 5 hari dengan pengadukan harian. Filtrat disaring, ampas diperas, kemudian pelarut diuapkan menggunakan rotary evaporator pada suhu <50°C untuk memperoleh ekstrak kental. Ekstrak disimpan dalam wadah gelap pada suhu rendah.

2.2.3 Analisis Fitokimia

Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa aktif dalam ekstrak, seperti alkaloid, flavonoid, triterpenoid, dan steroid. Penampakan noda hasil KLT diamati di bawah sinar UV dan setelah disemprot dengan pereaksi spesifik.

2.2.4 Hewan Uji

Hewan uji berupa tikus jantan albino galur Wistar (180–200 g). Hewan diadaptasikan selama 5 hari dengan pakan standar dan air ad libitum.

2.2.5 Rancangan Percobaan

Hewan dibagi menjadi 5 kelompok ($n = 5$ per kelompok):

1. Ekstrak etanol daun akar sebiak (100 mg/kg BB)
2. Ekstrak etanol daun akar sebiak (200 mg/kg BB)
3. Kontrol normal
4. Kontrol positif: Triamsinolon Asetonid (0,072 mg/200 g BB)

5. Kontrol negatif: CMC-Na 1%

2.2.6 Induksi *Complete Freund's Adjuvant* (CFA)

CFA mengandung suspensi heat-killed *Mycobacterium tuberculosis* dalam minyak mineral, yang bersifat sangat imunogenik. Injeksi *Complete Freund's Adjuvant* (CFA) berfungsi untuk menginduksi terjadinya proses inflamasi kronis pada sendi hewan uji. Induksi dilakukan dengan menyuntikkan CFA sebanyak 0,2 mL pada telapak kaki belakang tikus.

2.2.7 Pengukuran Parameter

- Volume kaki diukur menggunakan plethysmograph untuk melihat terjadinya inflamasi yang ditunjukkan dengan adanya edema.
- Jumlah leukosit diukur dari sampel darah pada hari ke-12

2.2.8 Histopatologi Sendi

Pada hari ke-12, hewan dikorbankan secara etik, kaki yang mengalami inflamasi diambil, lalu dilakukan tahapan:

1. Fiksasi jaringan dalam formalin PBS pH 7,4
2. Dekalsifikasi dengan metode Von Ebner's
3. Dehidrasi bertahap dengan alkohol
4. Embedding dalam parafin
5. Pemotongan jaringan menggunakan mikrotom
6. Deparafinasi dan rehidrasi

7. Pewarnaan dengan H&E

8. Pengamatan di bawah mikroskop untuk menilai lebar joint space, infiltrasi sel inflamasi, hiperplasia sinovium, dan kondisi jaringan tulang subkondral.

2.3 Analisis Data

Data diuji normalitas (*Kolmogorov-Smirnov*). Jika normal, dilakukan analisis ANOVA dilanjutkan *Post Hoc*. Jika tidak normal, digunakan uji non-parametrik. Nilai $p < 0,05$ dianggap signifikan.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Persiapan Bahan

Bahan utama berupa daun Akar Sebiak (*Gynura procumbens*) dipilih karena kandungan metabolit sekundernya yang dilaporkan Cao, M. Y., *et al*, tahun 2022 memiliki aktivitas antiinflamasi. Bahan disortir untuk memisahkan bagian yang rusak atau tercemar, kemudian dibersihkan dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran. Proses ini penting untuk memastikan kualitas bahan baku sehingga hasil ekstraksi optimal dan bebas kontaminan yang dapat memengaruhi hasil penelitian [10].

3.2 Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%, karena pelarut ini mampu melarutkan senyawa polar hingga semi-polar seperti flavonoid, alkaloid, dan triterpenoid yang

berpotensi sebagai antiinflamasi [11]. Maserasi dilakukan selama beberapa hari pada wadah kedap cahaya untuk mencegah degradasi senyawa aktif, kemudian filtrat dievaporasi pada suhu rendah ($<50^{\circ}\text{C}$) untuk memperoleh ekstrak kental. Serbuk simplisia yang digunakan dalam ekstraksi yaitu sebanyak 1500gr. Ekstrak kental yang

diperoleh dari 2000gr serbuk simplisia yaitu 123gr ekstrak kental.

3.3 Analisis Fitokimia

Analisis fitokimia kualitatif dilakukan untuk mengidentifikasi keberadaan senyawa aktif dalam ekstrak. Hasil uji menunjukkan adanya flavonoid, alkaloid, triterpenoid, dan steroid. Hasil analisis fitokimia tersebut sebagai berikut:

Tabel 1. Analisis Fitokimia Daun Akar Sebiak

Senyawa kimia	Metode/Pereaksi	Hasil	Kesimpulan
Alkaloid	Mayer: larutan kalium merkuri iodida Dragendorff: larutan kalium bismut iodide	Terbentuk endapan putih kekuningan (Mayer) dan endapan jingga-cokelat (Dragendorff)	+
Flavonoid	Uji Shinoda: serbuk Mg + HCl pekat	Larutan berubah menjadi merah jingga atau merah tua menandakan flavonoid	+
Triterpenoid / Steroid	Liebermann–Burchard: asam asetat anhidrat + H_2SO_4 pekat tetes demi tetes	Muncul warna hijau kebiruan (steroid) atau merah/jingga kecokelatan (triterpenoid) di lapisan larutan	+

Hasil pemeriksaan fitokimia pada daun Akar Sebiak menunjukkan reaksi positif terhadap alkaloid, flavonoid, dan triterpenoid/steroid, yang ditandai dengan perubahan warna khas pada masing-masing pengujian. Hasil positif ini mengindikasikan bahwa daun Akar Sebiak mengandung ketiga golongan metabolit sekunder tersebut dalam jumlah yang dapat terdeteksi secara kualitatif, sesuai dengan laporan preliminary phytochemical screening yang dilakukan oleh Sulaiman [7] dan Mohd Fauzi [8], di mana uji Mayer, Dragendorff, Shinoda, dan

Liebermann–Burchard memberikan hasil positif pada ekstrak etanol daun Akar Sebiak.

3.4 Pengukuran Parameter Inflamasi

Pengukuran parameter terjadinya inflamasi dilakukan terhadap hewan uji tikus jantan galur Wistar berumur 2–3 bulan dengan berat 180–200 g, hewan uji tersebut dipilih karena memiliki respon biologis yang relatif konsisten terhadap induksi inflamasi. Pemilihan jenis kelamin jantan dimaksudkan untuk menghindari variabilitas hormonal yang dapat memengaruhi hasil inflamasi [12].

Tikus dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok ekstrak etanol daun Akar Sebiak (100 mg/kg BB), ekstrak etanol daun Akar Sebiak (200 mg/kg BB), kontrol normal, kontrol positif, kontrol negatif. Rancangan ini memungkinkan evaluasi ekstrak terhadap inflamasi sendi. Parameter utama yang diamati meliputi jumlah leukosit dan gambaran histopatologi sendi berupa pengukuran joint space pada kartilago (tulang rawan).

Sebelum dilakukan perlakuan pada hewan uji, dilakukan induksi CFA. Induksi dilakukan pada kaki tikus untuk memicu inflamasi. CFA memicu respon imun melalui aktivasi makrofag dan sel T, yang menghasilkan mediator inflamasi seperti prostaglandin, TNF- α , dan IL-1 β . Kondisi ini menyebabkan proliferasi sinovium, degradasi kartilago, dan penyempitan celah sendi (joint

space), sehingga dapat diamati perbaikannya melalui terapi ekstrak [12].

3.4.1 Pengukuran Volume Udem

Volume udem diukur sebagai indikator langsung peradangan lokal pada sendi. Terjadinya inflamasi dibuktikan dengan adanya edema pada sendi kaki tikus uji. Pengukuran volume udem dapat dilihat dari penurunan volume udem yang diperoleh dari perhitungan data volume udem pada hari ke-0 hingga hari ke-7, dimana dalam perhitungan ini volume udem hari ke-0 (V_0) yang menjadi tolok ukur. Penurunan volume udem adalah besarnya efektivitas ekstrak uji dalam menurunkan volume udem, yang dinyatakan dalam satuan (%). Berikut adalah data tabel hasil rata-rata persen penurunan volume udem yang diperoleh dalam penelitian ini:

Tabel 2. Hasil Rata-rata Persen Penurunan Udem

No	Kelompok	% Penurunan Volume Udem
1	Kontrol normal	1,19
2	Kontrol positif	54,55
3	Kontrol negative	13,93
4	EE daun Akar Sebiak (100 mg/kg BB)	43,33
5	EE daun Akar Sebiak (200 mg/kg BB)	49,15

Hasil persentase penurunan volume udem pada tabel menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun Akar Sebiak dosis 100 mg/kg BB dan 200 mg/kg BB mampu menurunkan volume udem masing-masing sebesar 43,33% dan 49,15%.

Peningkatan dosis dari 100 menjadi 200 mg/kg BB memberikan efek penurunan volume udem yang lebih besar, yang mengindikasikan adanya hubungan *dose-dependent* terhadap efek antiinflamasi. Mekanisme ini kemungkinan terkait dengan

kandungan flavonoid, saponin, dan alkaloid pada daun Akar Sebiak, yang diketahui dapat menghambat produksi mediator inflamasi seperti prostaglandin, $\text{TNF-}\alpha$, dan $\text{IL-1}\beta$ melalui inhibisi jalur siklooksigenase (COX) dan lipoksigenase (LOX) [9].

Pada kelompok kontrol positif, penurunan volume udem mencapai 54,55%, yang merupakan nilai tertinggi di antara seluruh kelompok. Hal ini wajar mengingat Triamsinolon Asetonid adalah kortikosteroid poten yang bekerja menekan respons inflamasi melalui penghambatan fosfolipase A2, sehingga menurunkan pembentukan asam arakidonat dan mediator inflamasi lainnya [10]. Sementara itu, kontrol normal menunjukkan penurunan volume udem yang sangat rendah (1,19%), hal ini disebabkan karena kontrol normal tidak diberikan perlakuan. Adanya perubahan volume pada kelompok kontrol normal kemungkinan disebabkan oleh variabilitas fisiologis alami dan respons adaptif jaringan, bukan akibat proses inflamasi atau efek obat [12].

Sedangkan kelompok kontrol negatif (CMC-Na 1%) memberikan hasil rata-rata persentase penurunan edema sebanyak 13,93%, yang dapat disebabkan oleh fluktuasi fisiologis atau resolusi alami inflamasi tanpa intervensi farmakologis. Meskipun kelompok kontrol normal tidak mendapatkan terapi farmakologi, volume udem dapat berkurang secara alami karena adanya mekanisme

resolusi inflamasi dari tubuh. Proses inflamasi bersifat dinamis—dimulai dari fase induksi (akut) hingga fase resolusi.

Pada fase awal (0–6 jam pasca-induksi), mediator proinflamasi seperti histamin, bradikinin, prostaglandin, dan leukotrien dilepaskan sehingga memicu vasodilatasi dan peningkatan permeabilitas kapiler yang menyebabkan pembengkakan [14]. Namun, setelah mediator awal mengalami degradasi dan sistem imun mengaktifkan resolvin, lipoxin, dan sitokin antiinflamasi seperti IL-10, permeabilitas pembuluh darah berangsur kembali normal, cairan edema diserap kembali, dan infiltrasi leukosit berkurang [15].

Jika dibandingkan dengan literatur, penelitian oleh Harmanto et al. (2019) melaporkan bahwa ekstrak etanol daun Akar Sebiak dosis 300 mg/kg BB memberikan penurunan volume udem kaki tikus sebesar $\pm 45\%$ pada model carrageenan-induced paw edema, yang mendekati hasil dosis 200 mg/kg BB pada penelitian ini. Konsistensi ini mendukung bahwa Akar Sebiak memiliki potensi antiinflamasi yang nyata, meskipun efeknya masih di bawah kontrol positif berbasis kortikosteroid [13].

Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun Akar Sebiak memiliki aktivitas antiinflamasi yang signifikan dan bersifat dosis-responsif, namun potensi maksimumnya masih lebih

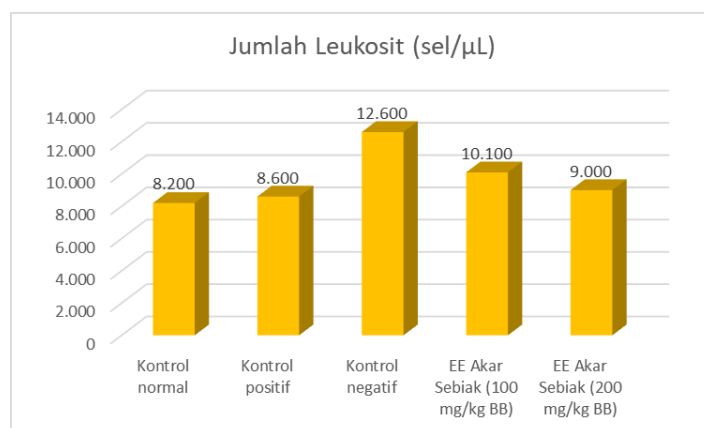
rendah dibandingkan agen farmakologis sintetik seperti Triamsinolon Asetonid.

3.4.2 Jumlah Total Leukosit

Penghitungan jumlah total leukosit merupakan parameter hematologis yang penting untuk mengevaluasi respon imun pada model uji aktivitas anti-inflamasi. Secara fisiologis, inflamasi memicu leukositosis (peningkatan jumlah leukosit) sebagai respon terhadap pelepasan mediator inflamasi, infeksi, atau cedera jaringan [16]. Pada uji aktivitas anti-inflamasi, penurunan jumlah leukosit setelah pemberian senyawa

uji dibandingkan kontrol inflamasi menunjukkan adanya efek modulasi respon imun oleh agen tersebut.

Menghitung total leukosit memberikan gambaran objektif tentang tingkat aktivitas sistem imun selama inflamasi. Dalam konteks uji anti-inflamasi, parameter ini digunakan untuk menilai efektivitas senyawa uji dalam menekan leukositosis dan memodulasi respon imun, sehingga dapat menjadi salah satu indikator keberhasilan terapi. Berikut jumlah total perhitungan leukosit dapat dilihat pada grafik di bawah ini:



Grafik 1. Grafik Perhitungan Jumlah Total Leukosit

Hasil pengamatan jumlah leukosit pada Gambar menunjukkan bahwa kelompok kontrol negatif memiliki jumlah leukosit tertinggi (12.600 sel/μL), sedangkan kelompok kontrol normal memiliki jumlah terendah (8.200 sel/μL). Peningkatan jumlah leukosit pada kontrol negatif menunjukkan terjadinya leukositosis akibat proses inflamasi yang tidak dihambat oleh terapi farmakologi. Leukositosis ini umumnya merupakan respon imun fisiologis terhadap pelepasan mediator

inflamasi seperti sitokin proinflamasi (IL-1 β , TNF- α) yang memicu proliferasi dan mobilisasi leukosit ke sirkulasi [17].

Kelompok yang mendapatkan ekstrak etanol daun Akar Sebiak menunjukkan penurunan jumlah leukosit dibandingkan kontrol negatif. Dosis 200 mg/kg BB menurunkan jumlah leukosit hingga 9.000 sel/μL, lebih rendah dibanding dosis 100 mg/kg BB (10.100 sel/μL). Penurunan ini mengindikasikan adanya aktivitas

antiinflamasi yang dapat menghambat migrasi leukosit atau menekan produksi mediator inflamasi. Daun Akar Sebiak diketahui mengandung senyawa flavonoid, terpenoid, dan polifenol yang memiliki kemampuan menghambat jalur NF- κ B dan mengurangi produksi prostaglandin serta sitokin proinflamasi [18][19].

Kelompok kontrol positif (Triamsinolon Asetonid) juga menunjukkan penurunan jumlah leukosit (8.600 sel/ μ L) yang mendekati nilai kontrol normal, sejalan dengan mekanisme kerja kortikosteroid yang menghambat aktivasi sel imun, menekan ekspresi gen proinflamasi, dan meningkatkan resolusi inflamasi [20].

3.5 Histopatologi Sendi

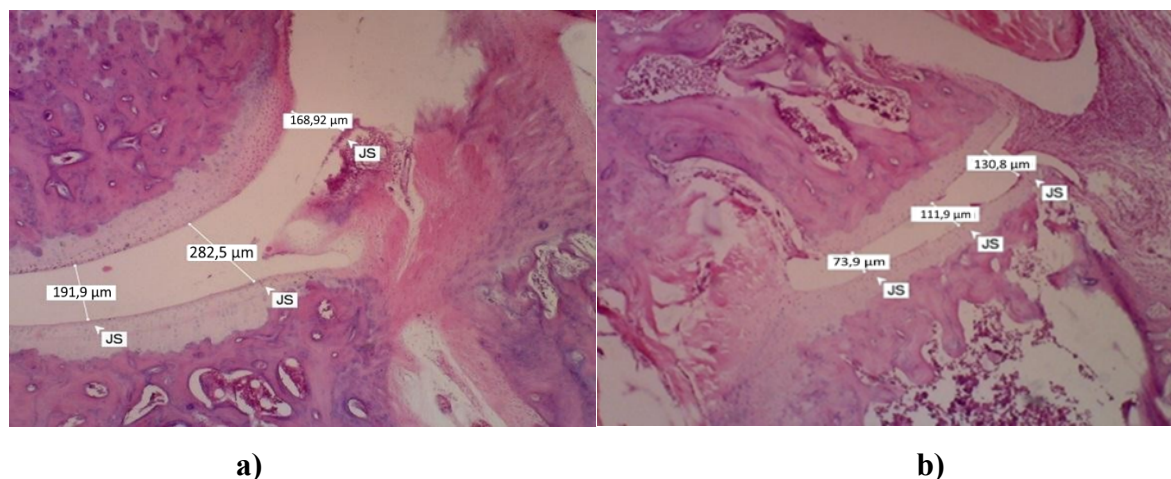
Perubahan struktural pada sendi akibat proses inflamasi biasanya diawali dengan infiltrasi mediator-mediator inflamasi, seperti sitokin proinflamasi dan prostaglandin, ke dalam jaringan sinovial. Kehadiran mediator ini memicu respon imun lokal yang ditandai oleh peningkatan jumlah sel radang. Respon tersebut menyebabkan hiperplasia atau penebalan lapisan sinovial sebagai bentuk adaptasi terhadap peradangan yang berlangsung. Selain itu, terjadi akumulasi sel monomorfonuklear seperti limfosit dan monosit, serta sel polimorfonuklear seperti neutrofil, di dalam ruang sendi (joint space) [21].

Akumulasi sel ini berkontribusi pada degradasi jaringan kartilago yang melapisi permukaan sendi. Pada model hewan yang diinduksi Complete Freund's Adjuvant (CFA), perubahan tersebut dapat dimonitor secara histopatologis. Salah satu parameter yang sering digunakan untuk mengevaluasi kondisi sendi adalah pengukuran joint space. Joint space merupakan jarak antar permukaan kartilago yang biasanya menyempit pada kondisi artritis akibat kerusakan jaringan dan penumpukan debris seluler [22].

Sebaliknya, peningkatan nilai joint space mengindikasikan pelebaran jarak antar tulang rawan. Pelebaran ini dapat terjadi akibat berkurangnya infiltrasi sel inflamasi dan membaiknya struktur kartilago. Dalam konteks penelitian inflamasi dalam kejadian artritis, pelebaran joint space dipandang sebagai salah satu indikator keberhasilan terapi. Hal ini karena struktur sendi yang kembali mendekati kondisi normal menunjukkan berkurangnya aktivitas destruktif dari peradangan. Pada hewan uji yang mendapat terapi efektif, nilai joint space biasanya lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol negatif [23]. Analisis joint space menjadi parameter penting dalam menilai efek protektif suatu agen antiinflamasi terhadap kerusakan sendi. Berikut hasil perhitungan rata-rata joint space sendi hewan uji dapat dilihat pada tabel:

Tabel 3. Rata-rata *Joint Space*

No	Kelompok	<i>joint space</i> (μm)
1	Kontrol normal	214 μm
2	Kontrol positif	162 μm
3	Kontrol negatif	106 μm
4	EE daun Akar Sebiak (100 mg/kg BB)	149 μm
5	EE daun Akar Sebiak (200 mg/kg BB)	151 μm



Gambar 1. Histopatologi sendi kaki tikus (a) Kontrol normal (b) Kontrol negatif

Hasil pengukuran *joint space* menunjukkan bahwa kelompok kontrol normal memiliki nilai *joint space* sebesar 214 μm , sedangkan kelompok kontrol negatif hanya sebesar 106 μm . Perbedaan ini menunjukkan adanya penyempitan ruang sendi yang signifikan pada kelompok kontrol negatif dibandingkan kontrol normal. Pada kelompok kontrol normal, hewan uji tidak diinduksi inflamasi maupun diberikan terapi farmakologi, sehingga struktur jaringan sendi tetap utuh dengan ruang sendi yang lebar dan rata-rata normal. Kondisi ini menggambarkan sendi dalam keadaan fisiologis, di mana kartilago tetap terjaga, cairan sinovial berada pada jumlah optimal, dan tidak terjadi degradasi jaringan [24].

Sebaliknya, pada kelompok kontrol negatif, hewan uji diinduksi inflamasi sehingga memicu proses patologis yang berujung pada penyempitan *joint space*. Penyempitan ini terjadi akibat infiltrasi sel-sel inflamasi (neutrofil, makrofag, limfosit) dan mediator proinflamasi seperti $\text{TNF-}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$, serta IL-6 ke dalam jaringan sinovial. Aktivasi jalur inflamasi tersebut menstimulasi degradasi matriks ekstraseluler pada kartilago melalui peningkatan aktivitas enzim metalloproteinase (MMPs), khususnya MMP-1 dan MMP-13, yang mempercepat kerusakan kolagen tipe II dan proteoglikan [25]. Kerusakan kartilago menyebabkan penurunan bantalan antar tulang, sehingga *joint space* menjadi sempit.

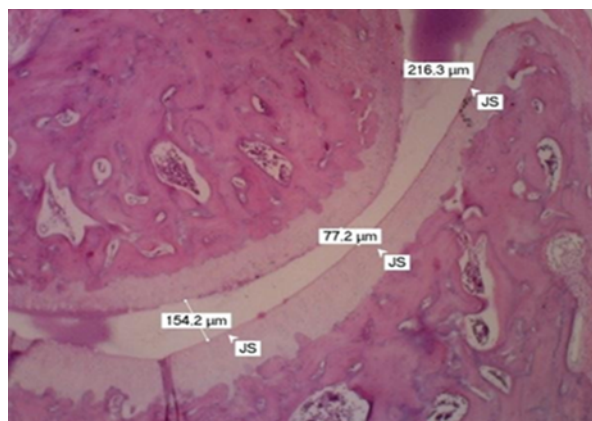
Selain itu, inflamasi kronis pada model kontrol negatif juga menyebabkan hiperplasia sinovial yang menginvasi permukaan kartilago (*pannus formation*). Pannus ini tidak hanya merusak kartilago, tetapi juga tulang subkondral, sehingga semakin mengurangi lebar ruang sendi [26].

Hasil penelitian ini sejalan dengan temuan sebelumnya, yang melaporkan bahwa

tikus model artritis adjuvan mengalami penurunan signifikan pada joint space akibat peningkatan infiltrasi sel inflamasi dan kerusakan kartilago dibandingkan tikus sehat [27]. Studi lainnya oleh Wojdasiewicz juga mendukung hasil penelitian ini, di mana inflamasi sendi berkorelasi erat dengan berkurangnya lebar joint space dan progresivitas kerusakan struktur sendi [28].



a)



b)



c)

Gambar 2. Histopatologi sendi kaki tikus (a) control positif (b) EE 100mg/KgBB (c) EE 200mg/KgBB

Hasil pengukuran *joint space* menunjukkan bahwa kelompok kontrol positif yang diberikan triamsinolon asetonid memiliki lebar ruang sendi sebesar 162 μm .

Sementara itu, kelompok perlakuan dengan ekstrak etanol daun Akar Sebiak dosis 100 mg/kg BB dan 200 mg/kg BB memiliki lebar ruang sendi masing-masing 149 μm dan 151

μm . Ketiga kelompok ini sebelumnya diinduksi inflamasi sehingga mengalami penyempitan *joint space* akibat kerusakan kartilago dan infiltrasi sel-sel inflamasi. Namun, pemberian terapi farmakologi pada ketiga kelompok mampu memperbaiki lebar *joint space* dibandingkan kelompok kontrol negatif, meskipun tidak sepenuhnya kembali seperti kondisi kontrol normal.

Triamsinolon asetonid sebagai glukokortikoid memiliki mekanisme kerja yang kuat dalam menekan jalur inflamasi melalui penghambatan transkripsi gen proinflamasi seperti TNF- α , IL-1 β , dan IL-6, serta menurunkan ekspresi enzim siklooksigenase-2 (COX-2) [24]. Penekanan ini mengurangi infiltrasi sel imun dan degradasi matriks kartilago, sehingga *joint space* dapat dipertahankan lebih baik. Lebar *joint space* 162 μm pada kelompok ini mencerminkan efek antiinflamasi yang signifikan.

Pemberian ekstrak etanol daun Akar Sebiak, baik dosis 100 mg/kg BB maupun 200 mg/kg BB, juga menunjukkan perbaikan *joint space*, masing-masing 149 μm dan 151 μm . Mekanisme ini kemungkinan disebabkan oleh kandungan flavonoid, tanin, dan terpenoid dalam daun Akar Sebiak yang memiliki aktivitas antiinflamasi melalui penekanan jalur NF- κB , penghambatan pelepasan sitokin proinflamasi, serta penurunan aktivitas MMPs yang merusak kolagen tipe II pada

kartilago [29]. Meskipun efeknya belum setinggi triamsinolon, nilai *joint space* yang relatif lebih lebar dibandingkan kontrol negatif mengindikasikan adanya potensi proteksi jaringan sendi.

Perbedaan nilai *joint space* antara dosis 100 mg/kg BB dan 200 mg/kg BB tidak terlalu jauh, yang dapat mengindikasikan terdapat faktor farmakokinetik seperti bioavailabilitas senyawa aktif yang membatasi peningkatan respons. Fenomena ini juga pernah dilaporkan pada uji ekstrak herbal antiarthritis, di mana peningkatan dosis tidak selalu berbanding lurus dengan lebar *joint space* akibat saturasi mekanisme kerja atau metabolisme senyawa [30].

Secara keseluruhan, hasil ini sejalan dengan literatur bahwa intervensi antiinflamasi, baik menggunakan glukokortikoid sintetik maupun fitoterapi kaya senyawa bioaktif, dapat memperbaiki kondisi histopatologi sendi pada model arthritis. Perbaikan *joint space* menjadi parameter penting dalam menilai keberhasilan terapi karena berhubungan langsung dengan perlindungan kartilago dan pencegahan kerusakan sendi lebih lanjut.

3.6 Analisis Data

Data dianalisis menggunakan uji statistik *Kolmogorov–Smirnov* untuk menguji normalitas, dilanjutkan uji *Tukey* untuk membandingkan antar kelompok. Hasil menunjukkan perbedaan signifikan antara

kontrol negatif dengan kelompok perlakuan, mendukung efek antiinflamasi ekstrak.

Hasil analisis menunjukkan bahwa rata-rata nilai *joint space* pada kelompok kontrol normal adalah yang tertinggi, sedangkan kelompok kontrol negatif memiliki nilai terendah. Uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* menunjukkan semua data berdistribusi normal ($p > 0,05$), sehingga analisis dilanjutkan menggunakan ANOVA satu arah. Hasil ANOVA mengungkapkan terdapat perbedaan yang bermakna secara statistik antara rata-rata *joint space* kelima kelompok perlakuan ($p < 0,05$). Uji lanjut *Post Hoc Tukey* memperlihatkan bahwa semua pasangan kelompok memiliki perbedaan signifikan, kecuali antara kelompok pemberian ekstrak etanol daun Akar Sebiak dosis 100 mg/kg BB dan 200 mg/kg BB yang tidak berbeda secara bermakna. Temuan ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun Akar Sebiak pada kedua dosis mampu meningkatkan *joint space* secara signifikan dibandingkan kontrol negatif, namun peningkatan tersebut belum mampu menyamai kondisi kontrol normal. Hal ini mengindikasikan bahwa efek terapeutik ekstrak daun Akar Sebiak terhadap *joint space* sudah terjadi pada dosis 100 mg/kg BB dan tidak meningkat signifikan pada dosis 200 mg/kg BB.

4. Kesimpulan

Ekstrak etanol daun Akar Sebiak (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.) pada dosis 100 mg/kg BB dan 200 mg/kg BB menunjukkan aktivitas antiinflamasi pada tikus putih jantan yang diinduksi Complete Freund's Adjuvant (CFA), ditandai dengan penurunan volume udem, penurunan jumlah leukosit total, dan perbaikan lebar *joint space*. Efek ini diduga berkaitan dengan kandungan flavonoid, alkaloid, dan triterpenoid/steroid yang bekerja menghambat jalur inflamasi dan melindungi struktur kartilago. Potensi antiinflamasi ekstrak ini signifikan, meskipun belum setara dengan triamsinolon asetonid.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Universitas Gadjah Mada atas dukungan fasilitas laboratorium selama penelitian ini, serta kepada seluruh dosen pembimbing dan rekan sejawat yang telah memberikan masukan berharga dalam penyusunan naskah. Apresiasi juga diberikan kepada tim teknisi laboratorium dan semua pihak yang telah membantu proses pengambilan data, pengujian, dan analisis sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik.

Daftar Pustaka

- [1] Cao, M.-Y., Wu, J., Wu, L., Gu, Z., Hu, J.-W., Xie, C.-Q., & Xiong, W. (2022). Anti-inflammatory effects of *Gynura procumbens* on RAW264.7 cells via regulation of the PI3K/Akt and MAPK

- signaling pathways. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2022, 5925626. <https://doi.org/10.1155/2022/5925626>
- [2] Jobaer, M. A., Ashrafi, S., Ahsan, M., Hasan, C. M., Rashid, M. A., Islam, S. N., & Masud, M. M. (2023). Phytochemical and biological investigation of an indigenous plant of Bangladesh, *Gynura procumbens* (Lour.) Merr.: Drug discovery from nature. *Molecules*, 28(10), 4186. <https://doi.org/10.3390/molecules28104186>
- [3] Tan, J. N., Yusoff, S. D., Jubri, Z., Buang, F., Tan, Z. S., Budiono, A., Jantan, I., Dianita, R., Kumolosasi, E., Azmi, N., & Fauzi, N. M. (2019). Inhibitory effects of *Gynura procumbens* ethanolic extract on nitric oxide production and inducible nitric oxide synthase (iNOS) protein expression in macrophages. *Sains Malaysiana*, 48(8), 1737–1744. <https://doi.org/10.17576/jsm-2019-4808-20>
- [4] Ahmad Nazri, K. A., Mohd Saad, Q. H., Mohd Fauzi, N., Buang, F., Jantan, I., & Jubri, Z. (2021). *Gynura procumbens* ethanol extract improves vascular dysfunction by suppressing inflammation in postmenopausal rats fed a high-fat diet. *Pharmaceutical Biology*, 59(1). <https://doi.org/10.1080/13880209.2021.1970199>
- [5] Tan, J. N., Husain, K., Jubri, Z., Chan, K. M., Jantan, I., & Mohd Fauzi, N. (2022). *Gynura procumbens* (Lour.) Merr. extract attenuates monocyte adherence to endothelial cells through suppression of the NF- κ B signaling pathway. *Journal of Ethnopharmacology*. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.115391>
- [6] Koushesh, S., Shahtaheri, S. M., McWilliams, D. F., Walsh, D. A., Sheppard, M. N., Westaby, J., Haybatollahi, S. M., Howe, F. A., & Sofat, N. (2022). The osteoarthritis bone score (OABS): A new histological scoring system for the characterisation of bone marrow lesions in osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*, 30, 746–755. <https://doi.org/10.1016/j.joca.2022.01.008>
- [7] Sulaiman, S. F., Sajak, A. A. B., Ooi, K. L., Supriatno, & Seow, E. M. (2014). Effect of solvents in extracting polyphenols and antioxidants of selected raw vegetables. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(4–5), 506–515.
- [8] Mohd Fauzi, F., Ismail, N., & Ismail, I. S. (2018). Phytochemical screening and antioxidant activities of *Gynura procumbens*. *Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 22(1), 1–11.
- [9] Cao, M. Y., Wu, J., Wu, L., Gu, Z., Hu, J. W., Xie, C. Q., & Xiong, W. (2022). Anti-Inflammatory Effects of *Gynura procumbens* on RAW264.7 Cells via Regulation of the PI3K/Akt and MAPK Signaling Pathways. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2022, 5925626. <https://doi.org/10.1155/2022/5925626>
- [10] Wang, H., Chen, Y., Wang, L., Liu, Q., Yang, S., & Wang, C. (2023). Advancing herbal medicine: Enhancing product quality and safety through robust quality control practices. *Frontiers in Pharmacology*, 14, 1265178. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1265178>
- [11] Fauziah, M., Susanto, A., & Yudhani, R. D. (2025). Analysis of bioactive compounds potential in ethanol extract of watermelons (*Citrullus lanatus*) mesocarp. *Media Penelitian dan Pengembangan Kesehatan*, 35(3), 1008–1017. <https://doi.org/10.34011/jmpk.v35i3.3252>
- [12] Arfan, P. V. P., & Wijayahadi, N. (2016). Pengaruh pemberian ekstrak produk X sebagai antiinflamasi pada tikus jantan galur Wistar. *Diponegoro Medical*

- Journal*, 5(4), 1444–1450.
<https://doi.org/10.14710/dmj.v5i4.15601>
- [13] Winarto, A., Pratama, S., Wijaya, K., Lestari, D., & Widodo, S. (2020). Phytochemical and pharmacological review of *Gynura procumbens* (Lour.) Merr. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 10(3), 124–133.
- [14] Brunton, L. L., Hilal-Dandan, R., & Knollmann, B. C. (2018). *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics* (13th ed.). McGraw-Hill Education.
- [15] Harmanto, H., Sari, I. P., & Lestari, W. (2019). Aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol daun sambung nyawa pada tikus putih jantan galur Wistar. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 17(2), 150–158.
- [16] Guyton, A. C., & Hall, J. E. (2021). *Textbook of Medical Physiology* (14th ed.). Elsevier.
- [17] Serhan, C. N., & Savill, J. (2005). Resolution of inflammation: The beginning programs the end. *Nature Immunology*, 6(12), 1191–1197.
- [18] Kumar, V., Abbas, A. K., & Aster, J. C. (2022). *Robbins Basic Pathology* (10th ed.). Elsevier.
- [19] Medzhitov, R. (2021). The spectrum of inflammatory responses. *Science*, 374(6571), 1070–1075.
- [20] Ragil, S., Hartati, N. S., Putra, D. S., & Ramadhan, Y. (2022). Phytochemical analysis and pharmacological potential of *Gynura procumbens*. *Frontiers in Pharmacology*, 13, 829564.
- [21] Winarti, C., Prakoso, T., Melati, D. N., & Sari, P. (2023). Anti-inflammatory mechanism of flavonoids: Modulation of NF- κ B signaling pathway. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 160, 114295.
- [22] Cain, D. W., & Cidlowski, J. A. (2020). After 62 years of regulating immunity, dexamethasone meets COVID-19. *Nature Reviews Immunology*, 20(10), 587–588.
- [23] Goldring, S. R., & Goldring, M. B. (2016). Changes in the osteochondral unit during osteoarthritis: Structure, function and cartilage–bone crosstalk. *Nature Reviews Rheumatology*, 12(11), 632–644.
- [24] Malesud, C. J. (2018). Matrix metalloproteinases (MMPs) in health and disease: An overview. *Frontiers in Bioscience*, 23, 1696–1701.
- [25] Smolen, J. S., Aletaha, D., & McInnes, I. B. (2016). Rheumatoid arthritis. *The Lancet*, 388(10055), 2023–2038.
- [26] He, Y., Li, Z., Alexander, P. G., Li, M., Little, C. B., & Wang, L. (2020). Pathogenesis of arthritis: The role of inflammatory mediators and cartilage degradation. *Frontiers in Immunology*, 11, 588.
- [27] Wojdasiewicz, P., Poniatowski, Ł. A., & Szukiewicz, D. (2018). The role of inflammatory and anti-inflammatory cytokines in the pathogenesis of osteoarthritis. *Mediators of Inflammation*, 2018, 1–19.
- [28] Coutinho, A. E., & Chapman, K. E. (2011). The anti-inflammatory and immunosuppressive effects of glucocorticoids: Recent developments and mechanistic insights. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 335(1), 2–13.
- [29] Septiana, E., Putri, M. Y., & Sari, A. N. (2021). Anti-inflammatory activity of *Gynura procumbens* leaves extract in in vivo models. *Journal of Herbmmed Pharmacology*, 10(4), 482–489.
- [30] Kumar, R., Gupta, Y., & Sharma, A. (2019). Dose–response relationship and plateau effect in herbal anti-inflammatory agents: A systematic review. *Phytotherapy Research*, 33(8), 2075–2087.