



Surat Tugas

Nomor : 00646/B.7.7/ST.FK/07/2026

Dekan Fakultas Kedokteran Unika Soegijapranata Semarang dengan Ini Memberikan Tugas kepada:

Nama : 1. Dr. dr. INDRA ADI SUSIANTO, M.Si.Med., Sp.OG.

Status : Dosen Universitas Katolik Soegijapranata

Tugas : "ANDROGRAFOLID" (SAMBILOTO) HAMBATAN PERTUMBUHAN
ENDOMETRIOSIS

Karya ilmiah yang dimuat dalam prosiding ber-ISBN tingkat nasional

Waktu : 04 Juli 2026

Tempat: DEE PUBLISH DIGITAL

Harap Melaksanakan Tugas dengan Penuh Tanggungjawab.

Semarang, 21 Juli 2026

Dekan Fakultas Kedokteran

DR. EDWARD HARTONO, MARS

Dr.dr. Indra Adi Susianto, M.Si.Med., Sp.O.G., FESICOG.

ANDROGRAFOLID (SAMBILOTO)

HAMBAT PERTUMBUHAN ENDOMETRIOSIS



Andrografolid (Sambiloto)

**Hambat Pertumbuhan
Endometriosis**

UU No 28 tahun 2014 tentang Hak Cipta

Fungsi dan sifat hak cipta Pasal 4

Hak Cipta sebagaimana dimaksud dalam Pasal 3 huruf a merupakan hak eksklusif yang terdiri atas hak moral dan hak ekonomi.

Pembatasan Pelindungan Pasal 26

Ketentuan sebagaimana dimaksud dalam Pasal 23, Pasal 24, dan Pasal 25 tidak berlaku terhadap:

- i. Penggunaan kutipan singkat Ciptaan dan/atau produk Hak Terkait untuk pelaporan peristiwa aktual yang ditujukan hanya untuk keperluan penyediaan informasi aktual;
- ii. Penggandaan Ciptaan dan/atau produk Hak Terkait hanya untuk kepentingan penelitian ilmu pengetahuan;
- iii. Penggandaan Ciptaan dan/atau produk Hak Terkait hanya untuk keperluan pengajaran, kecuali pertunjukan dan Fonogram yang telah dilakukan Pengumuman sebagai bahan ajar; dan
- iv. Penggunaan untuk kepentingan pendidikan dan pengembangan ilmu pengetahuan yang memungkinkan suatu Ciptaan dan/atau produk Hak Terkait dapat digunakan tanpa izin Pelaku Pertunjukan, Produser Fonogram, atau Lembaga Penyiaran.

Sanksi Pelanggaran Pasal 113

1. Setiap Orang yang dengan tanpa hak melakukan pelanggaran hak ekonomi sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf i untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama 1 (satu) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp100.000.000 (seratus juta rupiah).
2. Setiap Orang yang dengan tanpa hak dan/atau tanpa izin Pencipta atau pemegang Hak Cipta melakukan pelanggaran hak ekonomi Pencipta sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf c, huruf d, huruf f, dan/atau huruf h untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama 3 (tiga) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp500.000.000,00 (lima ratus juta rupiah).

Andrografolid (Sambiloto)

Hambat Pertumbuhan Endometriosis

Dr. dr. Indra Adi Susianto, M.Si.Med., Sp.O.G., FESICOG.

ANDROGRAFOLID (SAMBILOTO) HAMBAT PERTUMBUHAN ENDOMETRIOSIS

Nama Penulis

Dr. dr. Indra Adi Susianto, M.Si.Med., Sp.O.G., FESICOG.

Editor :

Suci Harum Wibawati

Desain Cover :

Dian N

Sumber :

www.shutterstock.com

Tata Letak :

Hifzillah Fahmi

Proofreader :

Mira M.

Ukuran :

xiv, 168 hlm, Uk: 15.5x23 cm

ISBN :

978-634-281-187-0 (PDF)

Tahun Terbit Digital :

Juni 2026

Hak Cipta 2026, Pada Penulis
Isi diluar tanggung jawab percetakan

Copyright © 2026 by Deepublish Digital

All Right Reserved

Hak cipta dilindungi undang-undang
Dilarang keras menerjemahkan, memfotokopi, atau
memperbanyak sebagian atau seluruh isi buku ini
tanpa izin tertulis dari Penerbit.

PENERBIT DEEPUBLISH DIGITAL

(Grup PENERBIT DEEPUBLISH)

Anggota IKAPI (076/DIY/2012)

Jl.Rajawali, G. Elang 6, No 3, Drono, SardonoHarjo, Ngaglik, Sleman

Jl.Kaliurang Km.9,3 – Yogyakarta 55581

Telp: +6281362311132

Website: www.deepublish.co.id

www.deepublishdigitalstore.com

E-mail: digital@deepublish.co.id



KATA PENGANTAR PENERBIT

Puji syukur kami panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena berkat rahmat dan karunia-Nya, buku ***Andrografolid (Sambiloto) Hambat Pertumbuhan Endometriosis*** dapat terwujud dan hadir di tengah-tengah masyarakat. Sebagai penerbit yang berkomitmen untuk mencerdaskan, membahagiakan, dan memuliakan umat manusia, kami merasa terhormat dapat berkontribusi dalam penyebaran ilmu pengetahuan dan pendidikan melalui penerbitan karya ini.

Buku ini mengupas secara mendalam terkait kandungan di dalam *Andrographis paniculata* (sambiloto) tumbuhan yang selama ini dikenal luas, dengan membahas dari sisi manfaatnya, serta potensi yang besar sebagai obat anti-inflamasi dengan berbagai mekanisme kerja. Dalam hal ini, buku ini memaparkan informasi kandungan dalam andrografolid sebagai terapi alternatif untuk endometriosis.

Terima kasih dan penghargaan terbesar kami sampaikan kepada penulis, Dr. dr. Indra Adi Susianto, M.Si.Med., Sp.O.G., FESICOG., yang telah memberikan kepercayaan, perhatian, dan kontribusi penuh demi kesempurnaan buku ini. Kami berharap karya ini dapat memberikan kontribusi yang signifikan dalam perkembangan keilmuan di Indonesia. Semoga buku ini tidak hanya menjadi sumber informasi yang berharga, tetapi juga menginspirasi pembacanya untuk terus berkembang dan berkontribusi dalam membangun bangsa yang lebih baik.

Hormat Kami,
Penerbit Deepublish Digital

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR PENERBIT	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR SINGKATAN	viii
GLOSARIUM	xi
UCAPAN TERIMA KASIH	xiv

BAB 1	ENDOMETRIOSIS DAN PENGOBATANNYA	1
	A. Penyakit Endometriosis	1
	B. Andrografolid sebagai Anti-Inflamasi	7
	C. Efek Andrografolid	12

BAB 2	ENDOMETRIOSIS, APOPTOSIS, DAN PROLIFERASI	14
	A. Memahami Endometriosis	14
	B. Teori dan Patogenesis Endometriosis	16
	C. Klasifikasi Endometriosis	21
	D. Penanganan Endometriosis	22
	E. Sistem Imun pada Endometrium	26
	F. Apoptosis pada Endometriosis	35
	G. Proliferasi Sel Endometriosis	38
	H. Lingkungan Mikro Imun dalam Rongga Peritoneum	40
	I. Terapi Andrografolid	59
	J. Mencit dengan Endometriosis	72
	K. Andrografolid untuk Mencit dengan Endometriosis	76

BAB 3	ANDROGRAFOLID UNTUK PENYAKIT ENDOMETRIOSIS	78
	A. Pengelompokan Mencit	78

B.	Kriteria Mencit Terpilih _____	82
C.	Dosis Andrografolid _____	83
D.	Dosis <i>Dienogest</i> _____	83
E.	Andrografolid dalam Tanaman Sambiloto _____	84
F.	Pemberian Andrografolid pada Mencit dengan Endometriosis _____	85
BAB 4	KINERJA ANDROGRAFOLID DAN SITOKIN PADA ENDOMETRIOSIS _____	96
A.	Karakteristik Hewan dengan Endometriosis _____	96
B.	Keterkaitan Andrografolid dengan Berbagai Sitokin dalam Endometriosis _____	97
BAB 5	MANFAAT NYATA ANDROGRAFOLID _____	116
A.	Penurunan Kadar TNF- α _____	117
B.	Resistensi Sitokin IL-17A _____	118
C.	Penurunan Ekspresi VEGF-A _____	120
D.	Penekanan Ekspresi P53 _____	121
E.	Penurunan Ekspresi Ki-67 _____	122
F.	Rasio M1 Dibandingkan M2 _____	123
G.	Penurunan Luas Endometriosis di Peritoneum _____	125
BAB 6	PENTINGNYA ANDROGRAFOLID PADA PENANGANAN ENDOMETRIOSIS _____	127
	DAFTAR PUSTAKA _____	130
	LAMPIRAN _____	158
	PROFIL PENULIS _____	167



DAFTAR SINGKATAN

SINGKATAN	KEPANJANGAN
AFC	Antral follicle count
AFS	American Fertility Society
AI	Aromatase inhibitor
AMH	Anti Mullerian Hormone
ASRM	American Society for Reproductive Medicine Cancer Antigen-125
CA-125	Cancer antigen-125
CI	Confidence Interval
CO2	Carbon dioxide
COX-1	Cyclooxygenase isoenzymes-1
COX-2	Cyclooxygenase isoenzymes-2
Co-Act	Coactivator
CMC Na	Carboxy methyl cellulose natrium
DIE	Deep infiltrating endometriosis
DNA	Deoxyribonucleic Acid
E1	Estron
E2	Estradiol
ESHRE	European Society for Human Reproduction and Embriology
FIV	Fertilisasi in vitro
FSH	Follicle stimulating hormone
GDF-9	Growth differentiation factor-9
GDG	Guideline development groups
GPP	Good Practice Point
hCG	human Chorionic Gonadotropin
HIFERI	Himpunan Fertilitas Endokrinologi Reproduksi
hMG	human Menopausal Gonadotropin

SINGKATAN	KEPANJANGAN
TNF	Tumor Necrosing Factor
ICAM-1	Intercellular adhesion molecule-1
ICSI	Intracytoplasmic sperm injection
IIU	Inseminasi intra-uteri
IL	Interleukin
LFA	Lymphocyte function-associated antigen
LH	Luteinizing hormone
LNG-IUS	Levonorgestrel-releasing intrauterine system
IRS	Immuno Reactive Score
MAR	Monocyte Chemotactic Protein-1
MCP-1	Macrophage Migration Inhibitory Factor
MIF	Matrix Metalioproteinase
MMP	Medroksi Progesterone Asetat
MPA	Magnetic Resonance Imaging
NGF	Nerve Growth Factor
NK	Natural Killer
NNT	Number Needed to Treat
NSAID	Non Steroid Anti Inflammation Drug
OR	Odds Ratio
PG-2 α	Prostaglandin F2-Alpha
PGE-2	Prostaglandin-E2
PKK	Pil Kontrasepsi Kombinasi
2Pn	2 Pronuclei
PSN	Presacral Neurectomy
RANTES	Regulated on Activation Normal T Cell Expressed and Secreted
RCOG	Royal College Obstetric Gynecology
RCT	Randomized Clinical Trial
RE	Reseptor Estrogen
RNA	Ribonucleic Acid
ROS	Reactive Oxygen Species
RP	Reseptor Progesteron
RR	Relative Risk

SINGKATAN	KEPANJANGAN
TNF- α	Tumor Necrosis Factor- α
TRB	Teknologi Reproduksi Berbantu
TVS	Transvaginal Ultrasonography
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
VEGFR-2	Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-2
WHO	World Health Organization
KIR	Killer Cell Immunoglobulin Like Receptor
uNK cells	Uterine Natural Killer Cells
StAR	Steroidogenic acute regulatory protein
HD-5	Human α -defensin 5
CD4+	Cluster of differentiation 4+
TGF- β 1	Transforming growth factor beta
NT-3	Neurotrophin-3
TCR	T Cell Receptor
LT- β	Limfotoksin-B
IFN γ	InterferonGamma
hEPC	human Endothelial Progenitor Cells
ER- α	Estrogen Receptors Alpha
ER- β	Estrogen Receptors Beta
iNOS	Inducible Nitric Oxide Synthase
ANGL	Diterpenoid Lactone Andrografolid

GLOSARIUM

ISTILAH	KETERANGAN
Aktivitas	Pergerakan yang digunakan untuk menggambarkan kegiatan yang dilakukan dalam sistem imun.
Andrografolid	Senyawa diterpen lakton yang merupakan kandungan utama dalam tanaman sambiloto (<i>Andrographis paniculata</i>).
Angiogenesis	Proses pembentukan pembuluh darah baru dari pembuluh darah yang sudah ada.
Cairan peritoneum	Cairan dalam rongga peritoneum, yaitu ruang antara dinding perut dan organ-organ di dalamnya.
<i>Chromogen</i>	Molekul dengan pewarnaan (pigmentasi) kuat.
Diagram	Bentuk visualisasi atau gambaran sederhana yang menggunakan garis dan simbol untuk menjelaskan konsep, data, atau proses secara lebih jelas.
<i>Dienogest</i>	Obat hormonal berupa progestin oral yang digunakan untuk kontrasepsi dan terapi endometriosis.
Downregulasi	Proses di mana jumlah atau aktivitas reseptor di permukaan sel berkurang sebagai respons terhadap rangsangan atau aktivasi yang berlebihan atau berkelanjutan.
Eksperimental	Metode peninjauan yang menggunakan manipulasi variabel untuk menguji hubungan sebab-akibat.
Ekspresi	Ungkapan matematika atau simbolis yang digunakan untuk mewakili atau menggambarkan suatu konsep atau perhitungan.
Ekstrasel	Segala sesuatu yang berada di luar membran sel, termasuk cairan intraseluler, organel, dan proses-proses yang terjadi di luar sel.
Ektopik	Kondisi di mana jaringan tidak menempel di dalam tempat seharusnya, melainkan di tempat lain di luar tempat seharusnya.
Endometriosis	Kondisi medis di mana jaringan yang menyerupai jaringan dalam dinding rahim (endometrium) tumbuh di luar rahim, seperti di ovarium, tuba falopi, atau organ lain di rongga panggul.
Fenotipe	Ciri-ciri atau karakteristik yang dapat diamati pada suatu organisme, baik itu struktural, biokimia, fisiologis, atau perilaku.
<i>Flowcytometry</i>	Alat laboratorium yang digunakan untuk menganalisis sel dan partikel mikroskopis dalam sampel cairan.

ISTILAH	KETERANGAN
Imunomodulator	Zat yang memodulasi atau mengatur sistem kekebalan tubuh.
Induksi	Upaya untuk merangsang kontraksi rahim agar persalinan dimulai atau dipercepat.
Inflamasi	Reaksi kekebalan alami yang dimiliki tubuh untuk melawan berbagai serangan penyakit atau mikroorganisme tertentu.
Interaksi	Hubungan timbal balik, saling mempengaruhi, atau saling terkait antara dua atau lebih.
Intrasel	Segala sesuatu yang berada di dalam membran sel, termasuk cairan intraseluler, organel, dan proses-proses yang terjadi di dalam sel.
Istilah	Keterangan
Klasifikasi	Proses pengelompokan atau pemisahan objek, konsep, atau entitas berdasarkan ciri-ciri yang sama.
Koefisien	Faktor perkalian dalam beberapa suku dari sebuah polinomial, deret, atau ekspresi.
Lesi	Kerusakan atau ketidaknormalan setiap bagian atau jaringan di dalam tubuh.
Luas	Mengacu pada ukuran bidang yang ditempati endometriosis oleh sebuah bentuk atau pola geometri.
Makrofag	Sel imun yang memiliki peran penting dalam sistem kekebalan tubuh. Makrofag adalah sel fagosit yang berperan menelan dan menghancurkan patogen, debris sel, dan zat asing lainnya.
Perbandingan	Tindakan membandingkan dua atau lebih hal untuk melihat persamaan, perbedaan, dan sejauh mana karakteristiknya mirip atau berbeda, serta untuk mengetahui relasi antara hal-hal tersebut.
Proliferasi	Pertumbuhan dan memperbanyak sel, bagian tubuh, atau sesuatu secara cepat.
Rasio	Perbandingan dua atau lebih angka yang menunjukkan ukuran dan hubungannya satu sama lain.
Reaksi	Aksi yang timbul akibat suatu gejala atau suatu peristiwa.
Respons	Reaksi terhadap suatu rangsangan atau peristiwa yang terjadi.
Semikuantitatif	Metode analisis yang menggabungkan aspek kualitatif dan kuantitatif
Senyawa	Zat kimia murni atau zat murni yang terdiri dari dua atau lebih unsur atau atom yang berbeda jenis.

ISTILAH	KETERANGAN
Sistem imun	Sistem pertahanan alami tubuh yang terdiri dari berbagai sel, organ, dan molekul yang bekerja bersama untuk melindungi tubuh dari ancaman eksternal dan internal, seperti endometriosis.
Sitokin	Molekul protein kecil yang berperan penting dalam komunikasi antarsel dalam sistem kekebalan tubuh.
Tabel skala	Representasi yang digunakan untuk memperlihatkan perbandingan antara ukuran atau jarak pada suatu objek atau gambar dengan ukuran atau jarak sebenarnya.
Vaskularisasi	Proses pembentukan atau pengembangan pembuluh darah baru, baik pada jaringan yang sudah ada maupun pada jaringan yang baru terbentuk, seperti dalam proses penyembuhan luka atau pertumbuhan.



UCAPAN TERIMA KASIH

Dengan penuh rasa syukur, saya mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada semua pihak yang telah berkontribusi dalam proses terbitnya buku ini. Terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. dr. Banundari Rachmawati, Sp.P.K., Subsp.E.M(K)., Subsp.B.D.K.T.(K).
2. Dr. dr. Neni Susilaningsih, M.Si.
3. Dr. dr. Syarief Thaufik Hidayat, M.Si.G.C., Sp.O.G., Subsp.F.E.R., D.M.A.S.
4. Prof. Dr. drh. Widjiati, M.Si.
5. Prof. Raymond R. Tjandrawinata, Ph.D., M.Sc., M.B.A., FRSPH.
6. Prof. Dr. dr. Wachyu Hadisaputra, Sp.O.G.-K.F.E.R.
7. Prof. Dr. dr. Tri Indah Winarni, M.Si.Med., PA.
8. Dr. dr. Inu Mulyantoro, Sp.O.G(K)., Subsp.F.E.R., D.M.A.S.
9. dr. Endang Mahati, M.Sc., Ph.D.
10. Alm. Dr. dr. Hardian
11. Dr. Ir. P. Wiryono Priyotamtama
12. Robertus Setiawan Aji N., S.T., M.Com.I.T., Ph.D.
13. dr. Edward Hartono, M.A.R.S.
14. Alm Dr. dr. Hardian
15. Mandy Adriani Tutuarima, Enzo Morena Adisusianto, Ezra Mervyn Adisusianto
16. Rekan sejawat dokter obstetric dan ginekologi
17. Pihak penerbit yang telah memberikan dukungan, bimbingan, dan kesempatan sehingga karya ini dapat hadir di tangan pembaca. Semoga buku ini memberi manfaat dan menjadi langkah kecil untuk memperkaya khasanah ilmu pengetahuan.

Endometriosis dan Pengobatannya

A. Penyakit Endometriosis

Berdasarkan penggunaan tindakan pembedahan, kejadian endometriosis per tahun yaitu 1,6 kasus per 1000 perempuan usia 15-49 tahun. Endometriosis merupakan suatu penyakit ginekologi jinak yang secara global mengenai 10%-45% perempuan usia reproduktif, dan didefinisikan sebagai adanya pertumbuhan jaringan endometrium di luar rongga uterus¹. Implan endometriosis menyebar mulai dari permukaan visceral kemudian meluas ke peritoneum rongga pelvis hingga susukan dalam (*deep infiltrating endometriosis*) bahkan sampai menyebabkan distorsi semua organ di rongga pelvis, termasuk organ digestif². Dampak penyakit endometriosis tidak hanya menyebabkan masalah di bidang kesehatan saja, tetapi juga menimbulkan beban berat di sisi sosio-ekonomi masyarakat. Telah dihitung beban ekonomi akibat endometriosis di Eropa berkisar 0,8 juta hingga 12,5 miliar euro per tahun, setara dengan biaya akibat penyakit kronis diabetes melitus³.

Dampak ekonomi yang berat tersebut diduga salah satunya disebabkan karena penatalaksanaan yang belum efektif dan efisien, yaitu lebih pada pengobatan mengatasi gejala klinis tanpa terapi khusus pada penyebab endometriosis. Keadaan merugikan di atas disebabkan patogenesis endometriosis yang belum jelas terungkap, banyak teori telah disampaikan tetapi belum ada satu pun penyebab pasti yang disepakati⁴.

Penegakan diagnosis endometriosis dengan operasi laparoskopi untuk menentukan tingkat keparahan atau gradasi endometriosis memakai sistem kualifikasi American Society for Reproductive Medicine (ASRM)⁵. Derajat endometriosis berat sering kali tidak sesuai dengan gejala klinis, yaitu hanya keluhan nyeri ringan tetapi saat dilakukan tindakan laparoskopi ditemukan endometriosis berat. Keadaan tersebut membuat pengobatan tidak efisien, keluhan nyeri mungkin bisa diatasi, tetapi penyakit endometriosis tetap tidak sembuh dan timbul kekambuhan. Endometriosis merupakan salah satu dari penyakit ginekologi yang paling sering dijumpai, tapi patofisiologinya sampai saat ini masih kontroversi^{6,7}.

Proses reaksi inflamasi pada penderita endometriosis yaitu terbukti banyak ditemukan makrofag aktif dan peningkatan jumlah sitokin pro-inflamasi di peritoneum perempuan dengan endometriosis dibandingkan dengan perempuan tanpa endometriosis. Beberapa sitokin yang meningkat, yaitu Interleukin 1 Beta (IL-1 β), Interleukin 6 (IL-6), Interleukin 8 (IL-8), *Tumor Necrosing Factor Alpha* (TNF- α), *Intercellular Adhesion Molecule 1* (ICAM-1), dan *Regulated upon Activation, Normal T-cell Expressed, and Secreted* (RANTES), serta ditemukan penumpukan zat besi di rongga panggul yang semua itu menjadi lingkungan mikro yang ideal untuk pertumbuhan endometriosis sehingga memicu produksinya dari makrofag M1 (M1) : makrofag M2 (M2) yang berkontribusi pada lingkungan inflamasi. Inflamasi kronik merupakan salah satu patogenesis endometriosis yang menyebabkan rasio M1 lebih rendah dibandingkan M2^{8,9}.

Terdapat beberapa peninjauan yang menyelidiki peran Interleukin 17A (IL-17A) dalam patogenesis endometriosis yang menunjukkan bahwa lesi endometriosis mampu menghasilkan jumlah IL-17A yang bervariasi, tergantung pada tingkat keparahan penyakit, dan bahwa konsentrasi sistemik IL-17A turun secara signifikan pada pasien endometriosis setelah operasi pengangkatan lesi endometriosis. Proses inflamasi panggul lokal dengan perubahan fungsi dari sel-sel terkait imun, sehingga serum pada perempuan dengan endometriosis mengalami peningkatan jumlah makrofag M2 (M2) yang menyekresikan produk, seperti faktor pertumbuhan dan

sitokin. Sitokin yang dihasilkan antara lain Interleukin 6 (IL-6), *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF), dan *Tumour Necrosis Factor Alpha* (TNF- α)^{10,11,12}.

Rasio makrofag M1/M2 dianggap memainkan peran yang potensial dalam pertumbuhan dan/atau pemeliharaan jaringan endometrium ektopik¹³. Rasio makrofag M1/M2 adalah pengatur peradangan dan kekebalan yang memodulasi sekresi sitokin lain, mempromosikan aktivasi sel-T dan diferensiasi sel-B, serta menghambat pertumbuhan berbagai sel. Peningkatan kadar TNF- α pada cairan peritoneal dan serum pasien dengan endometriosis merupakan faktor esensial dari patogenesis endometriosis. Lebih lanjut, faktor sekretorik dari sel imun memediasi vaskularisasi lesi endometriotik melalui neo-angiogenesis yang distimulasi oleh VEGF dan *vaskulogenesis de novo* di tempat implantasi melalui rekrutmen *Endothelial Progenitor Cell* (EPC) yang diturunkan dari sumsum tulang, hal itu memicu IL-17A berkontribusi pada neo-angiogenesis dan memicu respons inflamasi secara terus menerus^{11,14}. Hal ini menunjukkan bahwa bertambahnya berat stadium endometriosis dan bertambah tinggi reaksi inflamasi ditandai dengan konsentrasi *Tumour Necrosis Factor Alpha* (TNF- α) di peritoneum penderita endometriosis stadium berat lebih tinggi daripada stadium ringan dan kontrol bukan endometriosis. Peningkatan TNF- α akan memicu peningkatan proses aromatisasi estrogen di lesi endometriosis sehingga penyakit endometrosis semakin berkembang¹⁵. Beberapa peninjauan mendapatkan adanya penurunan cadangan ovarium (*Anti Mullerian Hormone*) pada penderita kista endometriosis. Proses penurunan cadangan ovarium berhubungan dengan keberadaan kista, faktor inflamasi, proses angiogenesis, apoptosis, dan mekanisme imunoseruler^{16,17}.

Apoptosis adalah proses fisiologis yang menjaga keseimbangan antara proliferasi sel dan kematian sel terprogram. Apoptosis dapat dimulai oleh “sinyal kematian” ekstraseluler dan intraseluler yang meningkatkan ekspresi protein p53, dan oleh sinyal kematian ekstraseluler yang melibatkan reseptor membran seperti sistem fas/fas-ligan. Pada sel endometrium dari wanita dengan endometriosis, Meresman *et al.*, mengamati peningkatan ekspresi faktor anti-apoptosis (bcl-2) dan penurunan ekspresi faktor pro-

apoptosis (bax). Ekspresi Bcl-2 juga lebih rendah pada kista endometriotik dibandingkan pada endometriosis peritoneum^{18,19}. Proses terjadinya endometriosis berlanjut dengan proliferasi dan akhirnya menghancurkan organ yang menyerupai perilaku tumor. Ki-67 adalah protein non-histon nuklir yang ditemukan di semua fase aktif pembelahan sel. Ini menunjukkan berbagai ciri morfologi proliferasi sel. Ekspresi Ki-67 sangat terkait dengan pertumbuhan dan proliferasi sel endometriosis^{20,21}.

Berdasarkan prinsip umpan balik negatif, pengobatan endometriosis awalnya masih menggunakan penekanan hormon estrogen. Tetapi saat ini mulai ditinggalkan karena adanya efek samping yang sangat dikhawatirkan berupa terjadinya hiperplasia endometrium yang dapat berkembang menjadi kanker endometrium²². Pada dua dasawarsa terakhir ini, dari berbagai jenis hormon yang telah dipakai untuk pengobatan endometriosis, ternyata danazol termasuk golongan hormon sintetik pria turunan androgen dengan substitusi gugus alkil pada atom C-17. Efek Anti-Gonadotropin Danazol ini terjadi dengan cara menekan FSH dan LH, sehingga terjadi penghambatan steroidogenesis ovarium. Pemberian danazol mengakibatkan jaringan endometriosis menjadi atrofi dan diikuti dengan aktivasi mekanisme penyembuhan dan resorpsi penyakit²³. Androgen dapat membebani fungsi hati. Oleh karena itu, danazol tidak dianjurkan pada pasien endometriosis dengan penyakit hati, ginjal, dan jantung. Selain itu, hormon ini juga termasuk hormon pria sehingga efeknya tidak terlalu nyaman bagi perempuan. Danazol juga terkadang menyebabkan perdarahan bercak (*spotting*) yang tidak menyenangkan. Terapi alternatif lain adalah preparat *Medroksi Progesteron Asetat* (MPA) dan *Didrogesteron*²⁴. Kedua senyawa ini merupakan progesteron alamiah dengan efek samping yang tidak separah danazol. Bentuk yang tersedia berupa paket komposit, jadi satu tablet dapat terdiri dari beberapa jenis obat. Terapi terpilih lain saat ini hanya berupa pengendalian nyeri menggunakan *Dienogest* (DNG) sebagai progestin dengan aktivitas progesteron dalam pengobatan endometriosis²⁵.

Pengobatan alternatif telah banyak ditinjau sebagai pengobatan endometriosis. Beberapa tumbuhan yang terbukti memberikan efek menguntungkan pada endometriosis antara lain bunga *Pueraria*, bawang

putih hitam, *Uncaria tomentosa*, *Curcuma spp.*, *Viburnum opulus*, *Calligonum comosum*, dan lain sebagainya, tetapi terapi ini masih dalam peninjauan lebih lanjut untuk penggunaan jangka panjang^{13,26,27}. Lin Y. *et al.*,²⁸ melakukan suatu peninjauan retrospektif terhadap keamanan dan efikasi terapi herbal di Beijing untuk endometriosis yang dibandingkan dengan plasebo dengan hasil tidak ada suatu reaksi yang sangat berbahaya atau tidak menyenangkan yang terjadi dari penggunaan obat dosis pada manusia. Peninjauan *in-vitro* oleh Wadaan *et al.*,²⁹ tentang *Andrographis paniculata* yang merupakan zat aktif dari sambiloto dilakukan untuk mengevaluasi dan membandingkan aktivitas fitokimia, antioksidan, antidiabetes, anti-inflamasi, dan anti-kanker paru-paru dari ekstrak metanol bagian udara *Andrographis paniculata* dan *Trianthema portulacastrum* yang menunjukkan bahwa ekstrak metanol yang juga mengandung lebih banyak fitokimia yang berharga secara farmasi seperti alkaloid dan flavonoid. Hasil ini diperkuat dengan peninjauan Tarachand *et al.*,³⁰ yang menunjukkan bahwa *Andrographis paniculata* berpengaruh terhadap aktivitas *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α) sebagai sitokin pro-inflamasi yang berperan penting dalam mengendalikan respons inflamasi^{11,12}.

Salah satu tanaman obat yang mempunyai aktivitas sebagai imunomodulator adalah sambiloto. Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees.) telah banyak diketahui memiliki efek farmakologi salah satunya sebagai anti-inflamasi. Sambiloto mengandung deoxy andrografolid, andrografolid, 14-deoxy-11, neoandrografolid, 12-didehydroandrografolid, homoandrografolid, diterpenoid, dan flavonoid. Sambiloto memiliki senyawa aktif bernama andrografolid, di mana senyawa ini dapat berperan sebagai immunomodulator, khususnya imunostimulan yang mampu meningkatkan kerja sistem imun pada manusia. Kandungan andrografolid sebagai imunomodulator, di dalamnya mampu meningkatkan fungsi sistem pertahanan tubuh seperti sel darah putih untuk menyerang bakteri dan antigen lainnya di mana flavonoid sebagai anti-inflamasi, dan tanin sebagai antidiare. Tanaman sambiloto juga bisa menjadi immunosupresor yang dapat menurunkan respons kekebalan tubuh saat sistem kekebalan tubuh meningkat melebihi kondisi tubuh normal. Peninjauan Pu Z. *et al.*,³¹

pada 2023 dan Shang YX³² pada tahun 2022 menunjukkan efek samping ringan akibat konsumsi andrografolid seperti menurunnya nafsu makan, diare ringan, mual, sakit kepala, flu ringan, dan kelelahan.

Saat ini belum banyak studi yang membahas terapi dari tanaman asli Indonesia yang aman untuk dikonsumsi dan memiliki khasiat untuk dijadikan bahan obat sebagai upaya untuk menghambat proses inflamasi akibat ektopik endometrium pada hewan coba. Peninjauan sebelumnya menyatakan bahwa mencit (*Mus musculus*) galur BALB/C dapat menerima suntikan endometriosis dari sampel manusia dan berkembang menjadi endometriosis intraperitoneal melalui proses *neuro-angiogenesis*³³. Tinjauan ini akan menggunakan hewan coba yang diinduksi dengan suntikan endometriosis ke intraperitoneal dan kemudian diberi perlakuan terapi andrografolid sesuai dengan berat badan dari hewan coba mencit (*Mus musculus*) galur BALB/C.

Endometriosis terjadi akibat proses inflamasi di area pelvik dengan perubahan fungsi dari sel-sel yang berkaitan dengan kekebalan dalam lingkungan peritoneum. Beberapa peneliti mendukung konsep ini, yang menunjukkan bahwa cairan peritoneum penderita endometriosis mengandung jumlah makrofag aktif yang meningkat dan menyekresi berbagai produk lokal, seperti faktor-faktor pertumbuhan dan sitokin inflamasi^{32,34-36}.

Andrografolid merupakan komponen aktif utama dalam tanaman fitofarmaka sambiloto (*Andrographis paniculata*). Komponen aktif ini memiliki beberapa aktivitas farmakologi, seperti sebagai immunosupresan, antitrombotik, antivirus, antioksidan, serta anti-inflamasi. Andrografolid sebagai anti-inflamasi dan antioksidan bekerja meningkatkan ekspresi *Phosphoinositide 3-Kinases* (P-PI3K), *Phosphorylated Akt* (P-AKT), dan *Polyclonal Antibody for Studying Endothelial Nitric Oxide Synthase* (P-eNOS) yang dihambat oleh disfungsi endotel, sehingga menekan ekspresi gen Interleukin 1 Beta (IL-1 β), Interleukin 6 (IL-6), *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF α), ekspresi *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF), dan *Transforming Growth Factor Beta* (TGF- β).

B. Andrografolid sebagai Anti-Inflamasi

Pada tinjauan-tinjauan terdahulu telah diuraikan tentang pemberian andrografolid yang merupakan obat multi target anti-inflamasi dan juga dosis efikasi pencegahan gastritis, tetapi masih terbatas pada terapi untuk masalah inflamasi pada saluran pernapasan dan gastrointestinal.

Pada tahun 2015, Bahman Rashidi, Jafar Soleimani Rad, Leila Roshangar Rad melakukan peninjauan di Iran terkait *Immunohistochemical (Ki-67) study of endometrial maturation in mice after use of phosphodiesterase type 5 inhibitor*³⁷. Peninjauan ini menggunakan 33 mencit betina usia 6-8 minggu yang sebagai model endometriosis. Desain peninjauan ini yaitu *experimental post test design*. Hasil peninjauan menunjukkan bahwa pemberian HMG dan HCG setelah progesteron dan sildenafil sitrat dapat mengubah indeks maturasi endometrium, dan Ki-67 terlibat pada fase sesaat sebelum implantasi pada indeks mitosis stroma.

Lin Sang, MD, Qian-Jin Fang, MD, and Xing-Bo Zhao, MDa (2019) melakukan peninjauan di China terkait *a research on the protein expression of P53, p16, and MDM2 in endometriosis*³⁸. Peninjauan ini membutuhkan 36 mencit betina usia 6-8 minggu yang sebagai model endometriosis. Desain peninjauan yaitu *experimental post test design*. Tinjauan ini menunjukkan bahwa pada endometrium normal, angka positif P53 pada fase sekretorik lebih tinggi dibandingkan pada fase proliferasi ($P < .05$). Selain itu, angka positif P53 pada endometrium normal lebih tinggi dibandingkan pada endometriosis ovarium ($P < .05$). Terdapat perbedaan yang signifikan antara endometrium normal dan endometriosis ovarium.

Pada tahun 2020, Gao J, Cui J, Zhong H, Li Y, Liu W, Jiao C, *et al.*, melakukan peninjauan di China terkait *andrografolid sulfonate ameliorates chronic colitis induced by TNBS in mice via decreasing inflammation and fibrosis*³⁹. Peninjauan ini menggunakan 60 mencit betina usia 6-8 minggu dengan colitis yang dibagi dalam dua kelompok dengan dan tanpa terapi *andrographolide*. Desain peninjauan ini yaitu *experimental post test design*. Hasil peninjauan ini yaitu andrografolid sulfonate dapat mengurangi peradangan dan kerusakan epitel serta fibrosis sehingga memperbaiki

kolitis kronis pada mencit dengan menekan sitokin inflamasi TNF α dan IL 17A ($p < 0,01$).

Q. Chen Y, Liu X, Guo SW (2021) melakukan peninjauan di Shanghai, China, berjudul *Perioperative Intervention by β -Blockade and NF- κ B Suppression Reduces the Recurrence Risk of Endometriosis in Mice Due to Incomplete Excision*⁴⁰. Peninjauan ini membutuhkan 171 mencit betina berusia 8 minggu yang dibagi dua kelompok, diberi terapi andrografolid, dibandingkan dengan andrografolid+propranolol. Desain peninjauan ini yaitu *experimental post test design*. Tinjauan ini menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh ($P \geq 0.34$) kelompok andrografolid+propranolol dan kelompok andrografolid dalam mencegah pertumbuhan dan perkembangan endometriosis.

Tahun 2021, Yu Q, Shi Y, Shu C, Ding X, Zhu S, Shen Z, *et al.*, melakukan peninjauan di Traditional Chinese Medicine berjudul *Andrografolid Inhibition of Th17-Regulated Cytokines and JAK1/STAT3 Signaling in OVA-Stimulated Asthma in Mice*⁴¹. Peninjauan ini membutuhkan 40 mencit usia 6-8 minggu dengan berat 20-25 gram, pembagian 10 mencit setiap kelompok yang diberi perlakuan berbeda. Peninjauan ini menggunakan desain RCT dan hasilnya menunjukkan bahwa andrografolid terbukti secara signifikan menekan inflamasi pada kelompok mencit yang diberi perlakuan asma dan mendapatkan terapi andrografolid ($p < 0,01$).

Fu K, Chen H, Wang Z, Cao R (2021) melakukan peninjauan di Nanjing Jianchen tentang *andrografolid attenuates inflammatory response induced by LPS via activating Nrf2 signaling pathway in bovine endometrial epithelial cells*⁴². Peninjauan ini menggunakan 300 Cell Line bovine yang mengalami infeksi endometrium dan diberi terapi andrografolid. Desain peninjauan ini yaitu *experimental post test design*. Tinjauan ini menunjukkan bahwa andrografolid menghambat ekspresi Keap1 tetapi meningkatkan ekspresi Nrf2. Tingkat ekspresi gen target Nrf2 termasuk Ho-1 dan Nqo-1 ditingkatkan dengan andrografolid.

Tahun 2021, Y. Zheng Y, Liu X, Guo SW melakukan peninjauan di Shanghai, China, terkait *therapeutic potential of andrografolid for*

*treating endometriosis*⁴³. Peninjauan ini menggunakan 50 mencit betina berusia 8 minggu dengan berat 200-250 gram. Desain peninjauan ini yaitu *experimental post test design*. Adapun hasilnya menunjukkan bahwa terjadi penurunan aktivitas NF-kB pada endometriosis dengan andrografolid secara signifikan ($P = 0,0001$).

Meresman GF, Gotte M, Laschke MW (2021) melakukan peninjauan di Oxford Academic tentang *plants as source of new therapies for endometriosis: a review of preclinical and clinical studies*²⁷. Peninjauan ini merupakan *review* 57 penelitian dari 7 tanaman sebagai terapi endometriosis. Desain peninjauan ini adalah sistematik *review* dan hasilnya menunjukkan bahwa sejumlah peninjauan menguraikan pengobatan dengan dari tumbuhan yang terdapat pada *Chinese herbal medicine* telah terbukti mengurangi ukuran lesi endometriotik, mengurangi nyeri panggul kronis, dan mengurangi tingkat kekambuhan pasca operasi.

Pada tahun 2022, Yuan X, Xu W, Yan Z, Xu X, Chen Y, Chen S, *et al.*, melakukan peninjauan di Beijing, China terkait *andrographolide exerted anti-inflammatory effects thereby reducing sex hormone synthesis in LPS-induced female rats, but had no effect on hormone production in healthy ones*⁴⁴. Peninjauan ini membutuhkan 24 mencit SD betina dengan berat 220-240 gram fase siklus estrus yang dibagi menjadi dua kelompok dan diberi terapi *andrographolide* dosis 20 mg/kg dan 40 mg/kg kemudian diperiksa menggunakan metode ELISA. Desain peninjauan ini adalah *post test design* dan hasilnya menunjukkan bahwa andrografolid menekan peningkatan regulasi StAR dan CYP11A1 dan kemudian menurunkan hormon seks pada mencit betina pasca inflamasi, sedangkan andrografolid tidak berpengaruh pada mencit betina yang tidak mengalami inflamasi.

Yin B, Umar T, Ma X, Chen Y, Umar Z, Umer S, *et al.*, (2022) melakukan peninjauan di Huazhong Agricultural University tentang *andrograpanin mitigates lipopolysaccharides induced endometritis via TLR4/NF- κ B pathway*⁴⁵. Peninjauan ini menggunakan 30 mencit betina usia 8-10 minggu yang terkena infeksi endometritis dan diberi terapi *andrographolide* kemudian diperiksa histopatologi rahim. Desain peninjauan ini yaitu *experimental post test design*. Hasil peninjauan

menunjukkan bahwa dosis andrografolid 7,5, 15, dan 30 µg/mL dapat menghambat respons inflamasi dan 30 mg/kg dapat menekan endometritis secara efektif pada mencit. ($p < 0,05$).

Tahun 2022, Tian J, Li C, Meng J, Wang L, Tong Y, Zhao Y, *et al.*, melakukan peninjauan di Beijing, China, terkait *pharmacological effects and safety of Andrographis paniculata (Burm.f.) Nees*⁴⁶. Tinjauan ini membutuhkan 20 mencit Rodent betina usia 8 minggu yang terbagi menjadi dua kelompok yang diberi terapi andrografolid *extract* 0,5 mg/kg dan 1 gram/kg. Hasil menunjukkan bahwa andrografolid dengan dosis 1g/kg tidak menimbulkan efek samping apa pun, dan dapat bermanfaat untuk pengobatan penyakit inflamasi.

Zhou Y, Yang M, Yan X, Zhang L, Lu N, Ma Y, *et al.*, (2023) melakukan peninjauan di University of Chinese berjudul *Oral Nanotherapeutics of Andrografolid/Carbon Monoxide Donor for Synergistically Anti-inflammatory and Pro-resolving Treatment of Ulcerative Colitis*⁴⁷. Tinjauan ini membutuhkan 200 mencit Sprague-Dawley betina berumur enam minggu dengan berat 120-180 g yang dibagi 2 kelompok tanpa dan dengan terapi andrografolid. Desain peninjauan ini yaitu *Experimental Post Test Design*. Hasilnya menunjukkan bahwa efek anti-inflamasi dengan menghilangkan produksi berlebihan mediator pro-inflamasi, oksida nitrat (NO), dan menurunkan regulasi ekspresi sitokin pro-inflamasi (TNF- α , IL-1 β dan IL-6), sementara itu menunjukkan fungsi pro-resolve dengan mempercepat konversi makrofag M1 ke M2 dan meningkatkan regulasi gen terkait resolusi (IL-10, TGF- β , dan HO-1).

Pada tahun 2023, Tran QTN, Gan PXL, Liao W, Mok YK, Chai CLL, Wong WSF melakukan peninjauan di Singapore terkait *degradation of MK2 with natural compound andrografolid: A new modality for anti-inflammatory therapy*⁴⁸. Tinjauan ini menggunakan 33 mencit betina usia 6-8 minggu yang diberi terapi andrografolid. Desain peninjauan ini yaitu *Experimental Post Test Design* dan hasilnya menunjukkan bahwa MK2 diekspresikan dalam makrofag. Andrografolid sebagai protein anti-inflamasi dengan membatasi produksi sitokin dari makrofag saat terpapar endotoksin dan rangsangan inflamasi lainnya ($p < 0,05$).

Peninjauan tahun 2022 tentang ekstrak dari fitofarmaka *Andrographis paniculata* yaitu andrografolid memiliki efek anti-inflamasi dan imunomodulator yang mempunyai efek terapi penyakit pernapasan, kekebalan pencernaan, kardiovaskular, dan sistem saraf⁴⁹. Sedangkan beberapa peninjauan tahun 2021 pada hewan coba mencit betina dan sel kultur yang mengalami inflamasi kemudian diberi terapi andrografolid, menyimpulkan bahwa andrografolid dapat menghambat ekspresi Nrf2 dan NK-κB. Peninjauan tahun 2022 pada mencit betina usia 8-10 minggu diperoleh Andrografolid dapat menghambat inflamasi pada endometritis tanpa menimbulkan efek samping. Peninjauan tahun 2023 pada mencit betina pada usia 6-8 minggu diperoleh ekspresi sitokin pro-inflamasi yang menurun dengan terapi andrografolid sebagai protein pro-inflamasi²⁵⁻²⁶.

Berdasarkan hasil penelusuran kepustakaan, belum ditemukan peninjauan yang sama, baik secara nasional maupun internasional, tentang pengaruh pemberian andrografolid sebagai protein pro-inflamasi terhadap rasio jumlah M1-M2, kadar TNF α , IL-17A dan Ekspresi VEGF-A, P53 dan Ki-67 jaringan serta pertumbuhan jaringan ektopik endometrium (angiogenesis) pada model mencit (*Mus musculus*) galur BALB/C yang diberi terapi andrografolid dibandingkan terapi standar endometriosis dan tanpa terapi selama tujuh hari.

Hingga saat ini, eksplorasi potensi andrografolid dalam konteks endometriosis masih terbatas, meskipun senyawa bioaktif yang berasal dari tanaman *Andrographis paniculata* ini telah diketahui memiliki aktivitas anti-inflamasi dan anti-proliferatif yang signifikan. Efek biologis tersebut berhubungan erat dengan modulasi proses inflamasi, pengaturan sitokin, pengaruh terhadap faktor pertumbuhan, serta mekanisme apoptosis. Dengan demikian, tinjauan ini memiliki nilai penting dalam membuka wawasan baru terkait kemungkinan penggunaan andrografolid sebagai alternatif terapi endometriosis, sekaligus menegaskan perlunya kajian lebih lanjut untuk memahami efektivitas dan mekanisme kerja secara lebih komprehensif dalam konteks sistem imun endometriosis.

C. Efek Andrografolid

Peninjauan ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh pemberian andrografolid terhadap respons imun pada cairan peritoneum, serta perkembangan jaringan endometriosis pada mencit (*Mus musculus*) galur BALB/C setelah tujuh hari terapi, dengan membandingkan antara terapi standar maupun tanpa terapi. Fokus utama peninjauan ini adalah menilai peran andrografolid sebagai agen proinflamasi dalam memodulasi rasio makrofag M1/M2, kadar sitokin TNF- α dan IL-17A, serta ekspresi faktor pertumbuhan VEGF-A, protein regulator P53, dan penanda proliferasi sel Ki-67 pada jaringan endometriosis. Selain itu, tinjauan ini juga mengamati pengaruh andrografolid terhadap angiogenesis pada jaringan ektopik endometrium.

Secara khusus, peninjauan ini bertujuan untuk membuktikan kadar TNF α pada cairan peritoneum lebih rendah setelah pemberian andrografolid terhadap mencit (*Mus musculus*) galur BALB/C endometriosis yang diberi terapi andrografolid dengan dosis 0,05 mg/kg BB, dosis 0,1mg/kg BB dan dosis 0,2 mg/kg BB dibandingkan tanpa terapi dan terapi *dienogest* selama tujuh hari pemberian terapi. Selanjutnya yaitu membuktikan kadar IL-17A pada cairan peritoneum lebih rendah setelah pemberian andrografolid terhadap mencit (*Mus musculus*) galur BALB/C endometriosis yang diberi terapi andrografolid dengan dosis 0,05 mg/kg BB, dosis 0,1mg/kg BB dan dosis 0,2 mg/kg BB dibandingkan tanpa terapi dan terapi *dienogest* selama tujuh hari pemberian terapi.

Selain itu, juga bertujuan untuk membuktikan ekspresi VEGF-A pada jaringan intraperitoneal lebih rendah setelah pemberian andrografolid terhadap mencit (*Mus musculus*) galur BALB/C endometriosis yang diberi terapi andrografolid dengan dosis 0,05 mg/kg BB, dosis 0,1mg/kg BB dan dosis 0,2 mg/kg BB dibandingkan tanpa terapi dan terapi *dienogest* selama tujuh hari pemberian terapi. Kemudian untuk membuktikan ekspresi P53 pada jaringan intraperitoneal lebih rendah setelah pemberian andrografolid terhadap mencit (*Mus musculus*) galur BALB/C endometriosis yang diberi terapi andrografolid dengan dosis 0,05 mg/kg BB, dosis 0,1mg/kg BB dan

dosis 0,2 mg/kg BB dibandingkan tanpa terapi dan terapi *dienogest* selama tujuh hari pemberian terapi.

Tinjauan ini juga untuk membuktikan ekspresi Ki-67 pada jaringan intraperitoneal lebih rendah setelah pemberian andrografolid terhadap mencit (*Mus musculus*) galur BALB/C endometriosis yang diberi terapi andrografolid dengan dosis 0,05 mg/kg BB, dosis 0,1mg/kg BB dan dosis 0,2 mg/kg BB dibandingkan tanpa terapi dan terapi *dienogest* selama tujuh hari pemberian terapi. Selain itu, juga untuk membuktikan rasio M1 terhadap M2 pada cairan peritoneum lebih tinggi setelah pemberian andrografolid terhadap mencit (*Mus musculus*) galur BALB/C endometriosis yang diberi terapi andrografolid dengan dosis 0,05 mg/kg BB, dosis 0,1mg/kg BB dan dosis 0,2 mg/kg BB dibandingkan tanpa terapi dan terapi *dienogest* selama tujuh hari pemberian terapi. Peninjauan ini juga bertujuan membuktikan luas jaringan endometriosis (angiogenesis) pada peritoneum lebih sempit setelah pemberian andrografolid terhadap mencit (*Mus musculus*) galur BALB/C endometriosis yang diberi terapi andrografolid dengan dosis 0,05 mg/kg BB, dosis 0,1 mg/kg BB dan dosis 0,2 mg/kg BB dibandingkan tanpa terapi dan terapi *dienogest* selama tujuh hari pemberian terapi.

Peninjauan ini bermanfaat untuk mengetahui efek pemberian andrografolid terhadap sistem imun dan pertumbuhan jaringan endometriosis pada mencit (*Mus musculus*) galur BALB/C setelah tujuh hari pemberian terapi. Hasil peninjauan ini dapat digunakan sebagai landasan untuk peninjauan selanjutnya tentang pemberian andrografolid terhadap endometriosis. Bagi masyarakat, tinjauan ini bermanfaat memberikan informasi kandungan dalam andrografolid sebagai terapi alternatif untuk endometriosis. Bagi pelayanan kesehatan, hasil peninjauan ini diharapkan dapat menjadi masukan bagi dokter dan peneliti sebagai terapi alternatif dalam pengelolaan kekambuhan endometriosis.

Endometriosis, Apoptosis, dan Proliferasi

A. Memahami Endometriosis

Secara klasik, definisi awal endometriosis adalah terdapat jaringan endometrium, baik kelenjar maupun stroma, di luar uterus. Pada dekade berikutnya, endometriosis digambarkan sebagai penyakit yang menyebabkan nyeri dan membutuhkan tindakan operasi. Introduksi alat endoskopi pada tahun 1960 membawa perubahan gambaran endometriosis dan kemudian dikenal lesi *Endometriosis Black-Puckered* yang banyak didapatkan pada perempuan dengan keluhan nyeri dan infertilitas². Pada tahun 1980, istilah *nonpigmented* atau *subtle* endometriosis diperkenalkan, yaitu lesi endometriosis kecil, superfisial, tanpa warna hitam hemosiderin, tidak dikelilingi sklerosis tetapi aktif, misal *white vesicle*, *flame like lesion*, dan selanjutnya dikenal istilah endometriosis mikroskopis. Tahun 1990, perhatian mulai tertuju pada *Deep Infiltrating Endometriosis* (DIE) yaitu lesi endometriosis yang infiltrasi masuk di bawah peritoneum dan tidak selalu ditemukan dengan laparoskopi. Perubahan macam gambaran lesi dan definisi endometriosis tersebut di atas berkontribusi terjadi bias literatur. Definisi akhir yang saat ini disepakati adalah definisi menurut European Society for Human Reproduction and Embryology (ESHRE), yaitu terdapat jaringan endometrium di luar kavum uteri (ekstra uteri) yang menginduksi reaksi inflamasi kronis⁵⁰.

Endometriosis merupakan suatu penyakit ginekologi jinak yang secara global mengenai 10%-45% perempuan usia reproduktif, dan didefinisikan sebagai adanya pertumbuhan jaringan endometrium di luar rongga uterus. Implan endometriosis menyebar mulai dari permukaan visceral kemudian meluas ke peritoneum rongga pelvis hingga susukan dalam (*Deep Infiltrating Endometriosis*) bahkan sampai menyebabkan distorsi semua organ di rongga pelvis termasuk organ digestif⁵¹. Pada definisi disebutkan bahwa jaringan endometrium berlokasi ektopik, di luar kavum uteri, lesi endometriosis tersebut dapat ditemukan di beberapa tempat, yaitu peritoneum panggul, ovarium, dinding uterus, kavum douglasi, septum rektovagina, ureter, vesica urinaria, bahkan ditemukan lokasi jauh walaupun jarang ditemukan, misalnya di usus, apendiks, perikardium, pleura, dan sebagainya. Endometriosis disebut sebagai *estrogen dependent disease* karena tumbuh dan perkembangan jaringan endometrium ektopik tersebut membutuhkan stimulasi hormon estrogen⁵².

Endometriosis terjadi akibat proses inflamasi di area pelvik dengan perubahan fungsi dari sel-sel yang berkaitan dengan kekebalan dalam lingkungan peritoneum. Beberapa peneliti mendukung konsep ini, yang menunjukkan bahwa cairan peritoneum penderita endometriosis mengandung jumlah makrofag aktif yang meningkat dan menyekresi berbagai produk lokal, seperti faktor-faktor pertumbuhan dan sitokin inflamasi. Di samping itu, peneliti lain melaporkan peningkatan sitokin dalam cairan peritoneum. Dengan demikian, menandakan bahwa sitokin inflamasi ini mungkin penting bagi perkembangan endometriosis serta kaitannya dengan infertilitas. Lebih jauh lagi, dilaporkan bahwa terdapat peningkatan berbagai sitokin dalam serum penderita endometriosis Baku emas untuk mendiagnosis endometriosis adalah laparoskopi^{2,53,54}.

Menurut klasifikasi American Fertility Society (AFS), beratnya penyakit dikategorikan ke dalam empat kelompok yang menunjukkan penyakit minimal hingga berat, stadium I-IV. Upaya besar telah dilakukan untuk mencari metode diagnosis yang *noninvasive* dan terapi yang tepat, tetapi lesi endometrioma pada stadium IV (*severe*) tetap bisa tumbuh kembali (kambuhan) tidak hanya di ovarium, tetapi juga bisa di luar saluran

telur, vesika urinaria, organ-organ digestif bahkan sampai permukaan dalam peritoneum yang berada di rongga pelvis (*Deep Infiltrating Endometriosis*)^{55,56}.

B. Teori dan Patogenesis Endometriosis

Gambaran tentang penyakit endometriosis telah diketahui sejak lama, yaitu tahun 1690 oleh sarjana Jerman bernama Daniel Shroen dan sampai sekarang telah didapatkan banyak teori yang menerangkan, namun penyebab pasti endometriosis masih belum diketahui. Terdapat berbagai faktor yang menerangkan patogenesis endometriosis di antaranya berupa faktor predisposisi pada perkembangan endometriosis, interkoneksi antara mekanisme patologi saat inisiasi dan propagasi lesi endometriosis di tempat yang berbeda⁵⁷.

Terdapat tujuh teori yang sampai saat ini diakui dalam dunia kedokteran tentang endometriosis, yaitu:

1. Teori Aliran Balik Darah Haid (*Retrograde Menstruation*)

Dari berbagai teori yang ada, teori aliran balik darah haid termasuk teori paling tua yang menerangkan etiologi endometriosis. Pada teori tersebut, digambarkan bahwa terdapat aliran balik darah haid yang berisi jaringan endometrium melalui saluran tuba falopi kemudian tumpah keluar dan melakukan implantasi di rongga peritoneum. Teori yang dikembangkan oleh Sampson pada tahun 1927 ini telah dikonfirmasi dengan pemeriksaan laparoskopi yang memang terbukti bahwa terdapat aliran balik darah haid pada sebagian besar perempuan. Beberapa bukti mendukung teori Sampson, yaitu meningkatnya kejadian endometriosis pada perempuan dengan anomali *duktus Mulleri* berupa obstruksi pada kanalis serviks sehingga darah haid tidak bisa keluar secara normal di uterus. Berdasarkan teori ini, endometriosis merupakan konsekuensi dari aliran balik darah haid melalui saluran telur yang berlanjut dengan implantasi serta tumbuh di peritoneum dan ovarium⁵⁸.

Selama proses ini, perubahan dalam berbagai aspek imunitas humoral dan seluler berkontribusi terhadap patogenesis endometriosis.

Penurunan sel T dan sel pembunuh alami serta modulasi makrofag peritoneum mengakibatkan pembuangan endometrium ektopik dari rongga peritoneum tidak memadai. Lebih jauh lagi, faktor imun lokal dan sistemis, sitokin, dan faktor pertumbuhan yang disekresi oleh sel imun atau endometrium mungkin mendukung implantasi ektopik dan pertumbuhan sel endometrium⁵⁹. Faktor kerentanan seperti predisposisi genetik, faktor lingkungan, dan defisiensi imun memudahkan jaringan endometriotik untuk berimplantasi dan bertahan hidup di lingkungan peritoneum. Makrofag merupakan sel fagosit sistem imun yang tersebar di berbagai jaringan dan berperan penting dalam berbagai penyakit seperti gangguan inflamasi dan pertumbuhan tumor yang berdasarkan perannya, makrofag secara luas diklasifikasikan menjadi makrofag M1 (dikenal sebagai makrofag yang diaktifkan secara klasik) dan makrofag M2 (dikenal sebagai makrofag yang diaktifkan secara alternatif)⁶⁰.

2. Teori Metaplasia

Teori ini menyatakan bahwa endometriosis berasal dari sel ekstra uteri yang secara abnormal melakukan transdiferensiasi atau transformasi menjadi sel endometriosis. Teori metaplasia *coelomic* mempostulasikan bahwa endometriosis berasal dari metaplasia sel-sel yang sudah terspesialisasi di lapisan mesotel di peritoneum dan organ visera abdomen. Diduga hormon dan faktor imunologi yang berperan menstimulasi sel-sel peritoneum tersebut menjadi sel mirip endometrium.

Teori metaplasia *coelomic* ini dapat menerangkan kejadian endometriosis pada remaja putri pra-pubertas yang belum mengalami haid. Ternyata endometriosis juga ditemukan pada fetus perempuan, keadaan ini diduga merupakan hasil defek embriogenesis. Berdasarkan teori ini, sel embrionik residu dari *duktus Wolf* dan *Mulleri* tetap persisten dan karena pengaruh hormon estrogen menjadi berkembang membentuk endometriosis. Teori *metaplasia coelomic* ini dapat menerangkan kejadian endometriosis pada remaja bahkan selanjutnya berkembang menjadi endometriosis stadium berat dan progresif¹⁵.

3. Teori Hormon

Terkait dengan teori sebelumnya bahwa kejadian endometriosis sebagian besar ditemukan pada perempuan usia reproduktif dan tidak terjadi pada perempuan usia pascamenopause yang sudah tidak mempunyai hormon estrogen lagi. Tampak hormon seks steroid berperan sentral pada patogenesis endometriosis. Pada siklus haid normal, hormon estrogen berperan pada proliferasi endometrium, keadaan ini sama dengan endometriosis di mana hormon estrogen menstimulasi proliferasi endometrium ektopik dan meningkatkan respons jaringan endometriosis terhadap estrogen. Perubahan hormon tersebut berpengaruh pada proliferasi sel endometrium ektopik, penempelan pada mesotelium dan proses sistem imun tubuh. Keadaan di atas mendukung konsep bahwa endometriosis adalah *estrogen dependent disease*⁶¹.

4. Teori Inflamasi dan Stres Oksidatif

Keluhan nyeri pada penderita endometriosis dapat berkurang dengan pemberian obat non-steroid anti-inflamasi. Hal ini mendukung inflamasi kronis terlibat pada patogenesis endometriosis. Pada peritoneum perempuan dengan endometriosis, ditemukan banyak makrofag aktif dan sejumlah sitokin. Suatu protein mirip haptoglobin ditemukan berikatan dengan makrofag di peritoneum sehingga membuat makrofag tersebut kehilangan kemampuan fagositosis dan justru mengeluarkan beberapa sitokin pro-inflamasi, yaitu *Interleukin 6* (IL-6), *Macrophage Migration Inhibitory Factor* (MIF), *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α), *Interleukin 1 beta* (IL-1 β), *Interleukin 8* (IL-8), *Regulated On Activation Normal T Expressed And Secreted* (RANTES), dan *Monocyte Chemotactic Protein* (MCP-). Di jaringan endometriosis, TNF- α memicu sel endometriosis memproduksi *Prostaglandin F2-Alpha* (PG-2 α) yang merupakan prostaglandin stabil yang merangsang kontraksi otot polos rahim dan *Prostaglandin E2* (PGE2) yang merupakan mediator lipid penting dalam respons inflamasi dan imun selama infeksi akut dan kronis, sedangkan makrofag di peritoneum juga menyekresi enzim *Cyclooxygenase* (COX-2) suatu enzim yang dapat diinduksi terutama pada sel inflamasi yang memproduksi PGE2 dan

selanjutnya mengaktivasi *Steroidogenic Acute Regulatory Protein* (StAR) dan PGE₂, sehingga menyebabkan terjadinya peningkatan estradiol lokal di jaringan endometriosis. Mekanisme di atas mendasari interaksi *estrogen dependent* dengan proses inflamasi di endometriosis. Selain itu, patogenesis endometriosis juga terkait dengan oksidasi lipoprotein dan selanjutnya *Reactive Oxygen Species* (ROS) menyebabkan peroksidasi lipid yang mengakibatkan kerusakan DNA sel endometrium.

ROS menyebabkan terjadinya pelepasan produk pro-inflamasi dan stres oksidatif sehingga menimbulkan reaksi inflamasi, selanjutnya mengakibatkan penumpukan limfosit dan makrofag yang kaya dengan produksi sitokin⁶². Hal ini membuat *Transforming Growth Factor-β* (TGF-β) memicu regulasi sel T (*T regulatory*) sehingga menurunkan kemampuan leukosit pada sistem imun *innate* (sistem pertahanan tubuh yang sudah ada sejak lahir dan berfungsi untuk melindungi tubuh dari paparan zat berbahaya)⁹.

5. Teori Perubahan Sistem Imun

Pada penderita endometriosis, terjadi perubahan imunitas seluler maupun humoral sehingga respons imun yang abnormal ini akan menghasilkan eliminasi yang tidak efektif terhadap debris-debris aliran balik darah haid. Kondisi ini menjadi faktor penyebab perkembangan penyakit endometriosis. Regurgitasi jaringan endometrium ke dalam rongga peritoneum memicu respons inflamasi sehingga menyebabkan penumpukan makrofag dan leukosit lokal. Pada penderita endometriosis, makrofag peritoneum teraktivasi, sedangkan sel *Natural Killer* (NK) terekspresi karena ada perubahan ekspresi reseptor dari sel NK. Keadaan ini menyebabkan penyakit endometriosis menjadi berkembang melalui peningkatan produksi sitokin dan faktor pertumbuhan yang menstimulasi proliferasi endometrium ektopik dan penghambatan fungsi reseptor *scavenger*. Respons inflamasi pada endometriosis menyebabkan defek imunosurveilan sehingga menghambat eliminasi debris darah haid dan memicu implantasi serta pertumbuhan sel endometrium di lokasi ektopik⁶³.

6. Teori Genetik

Telah terbukti bahwa perempuan dengan polimorfisme *REα allele* mempunyai prognosis buruk dibandingkan dengan perempuan dengan *wild-type genotype*. Kondisi ini menunjukkan bahwa polimorfisme gen *REα* merupakan faktor risiko genetik untuk endometriosis dan terkait dengan kekambuhan endometriosis. Selain itu, polimorfisme gen yang mengkode sitokin dan protein imunomodulator berimplikasi juga pada patogenesis endometriosis. Predisposisi genetik ternyata meningkatkan kejadian kerusakan seluler, misalnya mutasi genetik dapat menyebabkan kerusakan sel yang berimplikasi pada progresivitas endometriosis. Hal ini tampak pada penderita endometriosis berupa perubahan perilaku sel endometrium yang memungkinkan dapat tumbuh di lingkungan ekstrasuterin. Genome-wide Association pada peninjauannya telah mengidentifikasi lokus baru untuk endometriosis yang menunjukkan bahwa endometriosis dengan tipe berbeda berhubungan dengan perubahan kluster gen berbeda dan meregulasi aberasi fungsi sel secara spesifik^{64,65}.

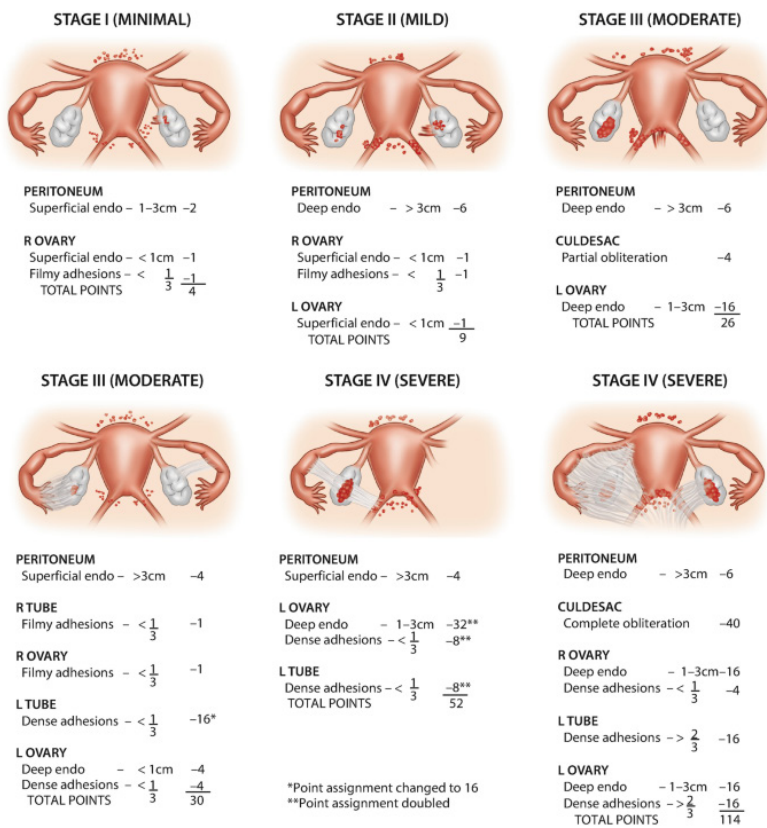
7. Teori Stem Cell

Stem cell adalah sel yang tidak atau belum terspesialisasi yang mempunyai dua sifat, yaitu mampu berdiferensiasi menjadi sel lain dan mampu memperbaiki atau meregenerasi diri sendiri (*self-renewal*). Secara spesifik, telah diketahui eksistensi *stem cell* pada regenerasi endometrium setiap bulan setelah haid dan pada reepitelialisasi endometrium pascapersalinan dan kuret. *Stem cell* tersebut ditemukan berada pada lapisan basalis endometrium. Saat ini sel klonogenik yang merupakan representasi populasi *stem cell* pada endometrium manusia telah diidentifikasi dan diduga kuat berkaitan dengan tumbuhnya formasi jaringan endometrium ektopik. Teori kombinasi lebih bisa diterima untuk patogenesis endometriosis, yaitu eksistensi *stem cell* endometrium pluripoten dan kontribusi *bone marrow* sebagai sumber lain *stem cell* endometrium. *Stem cell* endometrium yang lepas melalui saluran tuba falopi saat menstruasi bertanggung jawab terhadap terjadinya implan endometriosis dan juga

stem cell yang bersirkulasi berasal dari bone marrow dapat mencapai rongga peritoneum ikut berperan pada patogenesis endometriosis⁶⁶.

C. Klasifikasi Endometriosis

Endometriosis memiliki berbagai bentuk yang bervariasi, mulai dari implan pada peritoneum pelvik, perlekatan dan infiltrasi luas sampai lesi diluar pelvik. Klasifikasi endometriosis menjadi empat stadium sesuai *American Society Reproductive Medicine* (ASRM) yaitu stadium 1 (minimum), stadium 2 (ringan), stadium 3(sedang), dan stadium 4 (berat) sesuai tampak pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Klasifikasi endometriosis menurut ASRM

(oleh Velho RV et al., Int J Mol Sci, 2021)²

Lokasi anatomi yang sering ditempati oleh endometriosis adalah di area pelvis, namun pada beberapa kondisi dapat terjadi permukaan peritoneum di luar pelvis. Ovarium, peritoneum pelvis, anterior dan *posterior cul-de-sac*, serta ligamentum uterosacral merupakan lokasi tersering. Jika jaringan endometrium ektopik yang berada di ovarium membentuk kista, sehingga disebut dengan endometrioma yang merupakan salah satu bentuk tersering dari endometriosis⁶¹. *Deep Infiltrating Endometriosis* (DIE) atau susukan dalam endometriosis yang tumbuh dan berkembang di area peritoneum berhubungan dengan peningkatan keparahan *dyschezia* (nyeri saat buang air besar), hal ini merupakan bentuk endometriosis yang mengalami infiltrasi. *Deep Endometriosis* dari rektovagina penyebab paling parah dari *dyschezia* dan *dyspareunia* (nyeri saat berhubungan suami istri)^{6,55}.

Kombinasi laparoskopi dan histologi, laparoskopi merupakan metode utama untuk menegakkan diagnosis endometriosis. Sensitivitas dan spesifisitas dari visualisasi laparoskopi untuk mendiagnosis endometrioma ovarium adalah 97% dan 95%⁶⁷. Endometrioma bisa didiagnosis dengan pemeriksaan *Ultrasonography Trans Vaginal* (USG-TVS) dengan sensitivitas yang adekuat jika ukuran diameter minimal 20 mm atau lebih besar. Sensitivitas dan spesifisitas USG-TVS untuk menegakkan diagnosis endometrioma bervariasi antara 90%-100%⁶⁸. Berbagai *marker* yang mungkin muncul dan digunakan untuk mendiagnosis endometriosis adalah *Cancer Antigen 125* (CA125). Peningkatan kadar CA125 telah memperlihatkan hubungan positif dengan sensitivitas hanya 28% dan spesifisitas 90% terhadap keparahan endometriosis, terutama pada endometriosis derajat III dan IV⁶⁹.

D. Penanganan Endometriosis

Endometriosis biasanya berkaitan dengan dismenorea atau nyeri pelvis. Pemberian obat analgetik seperti parasetamol, NSAID mampu mengurangi nyeri endometriosis. Terdapat beberapa preparate terapi untuk endometriosis selain operasi, yaitu:

1. NSAID merupakan agen nonselektif yang menghambat *Cyclooxygenase Isoenzymes* 1 dan 2 (COX-1 and COX-2). Prostaglandin yang berperan dalam nyeri dan proses inflamasi akan dihambat oleh NSAID. Tetapi dampak penggunaan NSAID dalam waktu lama terhadap gastrointestinal meliputi perdarahan gastrointestinal, kerusakan usus kecil, kerusakan gastrointestinal atas, ulkus gastrointestinal, tukak gastroduodenal asimtotik, gastropati, dan kerusakan mukosa lambung⁷⁰.
2. Kontrasepsi oral kombinasi telah menjadi andalan dalam terapi yang berhubungan dengan endometriosis. Obat ini bertindak sebagai penghambat pelepasan gonadotropin, penurunan aliran darah menstruasi, dan implantasi desiduas, serta mengurangi densitas serabut saraf dan ekspresi faktor pertumbuhan saraf pada lesi endometriotik. Kontrasepsi oral kombinasi juga bermanfaat untuk kontrasepsi, supresi ovulasi, dan keuntungan lainnya⁷¹. European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE) memberikan rekomendasi pil kontrasepsi oral kombinasi (Pil KB) yang dapat digunakan sebagai terapi hormonal dari endometriosis. Pil kontrasepsi oral kombinasi dosis rendah siklik terbukti mampu mengurangi nyeri pada penderita endometriosis. Sehingga ESHRE merekomendasikan penggunaan kontrasepsi oral kombinasi untuk mengatasi dispareunia, *dysmenorea*, dan nyeri non-menstruasi pada endometriosis (Rekomendasi B), tetapi pil kontrasepsi oral kombinasi (Pil KB) mengandung hormon sintetis seperti estrogen dan progestin yang membuat beberapa wanita mengalami efek samping hormonal seperti kenaikan berat badan, sensitivitas payudara, atau perubahan *mood*⁷².
3. Progestin merupakan agen progestasional yang telah lama digunakan sebagai terapi endometriosis. Progestin dikenal untuk mengantagoniskan efek estrogen terhadap endometrium sehingga menyebabkan desiduas awal dan atrofi endometrium. Sama

halnya dengan pil KB kombinasi, progestin juga mengurangi densitas serabut saraf dan ekspresi faktor pertumbuhan saraf pada lesi endometriotik. Progestin bisa diberikan untuk terapi endometriosis dalam berbagai cara, termasuk progestin oral, *Depot Medroxyprogesterone Acetate* (DMPA) dan *Levonorgestrel-Releasing Intrauterine Device* (IUS), serta terapi terbaru *Selective Progesterone-Receptor Modulators* (SPRMs) yaitu senyawa sintetik yang memiliki sifat agonis dan antagonis yang menunjukkan potensi terapeutik walaupun sebenarnya SPRMs merupakan pil kontrasepsi⁷³. Terdapat efek samping dari penggunaan progestin, yaitu perubahan pada siklus menstruasi, gula darah rendah, tekanan darah tinggi, perubahan suasana hati (*mood*), sakit kepala, kembung atau penambahan berat badan, keram atau sakit perut, gumpalan darah, risiko serangan jantung dan stroke⁷⁴.

4. Androgen merupakan salah satu terapi yang memberikan peran yang cukup besar untuk endometriosis dengan nama danazol. Danazol merupakan androgen sintetik yaitu *Isoxazole Derivative of 17-A-Ethinyl Testosterone*. Mekanisme kerja dari obat ini adalah dengan menekan siklus tengah dari lonjakan *Leutinizing Hormone* (LH) sehingga menciptakan keadaan anovulasi kronik. Danazol telah digunakan untuk mengobati wanita dengan endometriosis sejak tahun 1970-an, namun penggunaannya menurun tajam setelah diperkenalkannya agonis GnRH pada akhir tahun 1980-an dan awal tahun 1990-an. Meski danazol merupakan pengobatan yang efektif untuk penekanan kekambuhan endometriosis, namun obat ini memiliki banyak efek samping androgenik (mirip pria), termasuk penambahan berat badan, bertambahnya rambut di tubuh, dan jerawat. Efek samping yang tidak menyenangkan dan kecenderungannya untuk mempengaruhi kadar lipid (kolesterol) darah membuat obat ini biasanya bukan pilihan pengobatan pertama⁷⁵.

5. *Gonadotropin-Releasing Hormone Agonist (GnRH Agonists)* merupakan salah satu terapi untuk endometriosis. *GnRH Agonists* mampu menciptakan lingkungan hipoestrogenik. Selain itu, juga mampu menurunkan kadar *Cyclooxygenase-2* (COX-2) pada pasien endometriosis. *GnRH Agonists* bersifat inaktif jika diminum oral, sehingga tersedia dalam bentuk intra-muskular, subkutan, intranasal. Salah satu *GnRH Agonists* adalah *Leuprolide acetate* (Lupron Depot) dengan dosis 3.75 mg per bulan⁷⁶.
European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE) menyatakan bahwa *GnRH Agonist* dengan atau tanpa terapi tambahan efektif untuk menghilangkan nyeri terkait endometriosis. ESHRE merekomendasikan penggunaan *GnRH Agonist* (nafarelin, leuprolide, buserelin, goserelin, atau triptorelin) sebagai salah satu terapi untuk mengurangi nyeri endometriosis (rekomendasi A). *GnRH Antagonists* merupakan salah satu kategori dari analog GnRH yang mampu menekan produksi gonadotropin meski mempunyai efek samping osteoporosis, *hot flushes*, vagina yang kering, sakit kepala, dan gangguan tidur⁷⁷.
6. Jaringan endometrium memproduksi aromatase yang berfungsi untuk mengubah androgen menjadi estrogen. Aromatase inhibitor menghambat menyebabkan keadaan hipoestrogenik yang hampir sama dengan *Gonadotropin-Releasing Hormone Agonist (GnRH Agonists)*, sehingga digunakan sebagai salah satu terapi endometriosis, namun efek samping dari konsumsi aromatase adalah menyebabkan masalah jantung, pengeroposan tulang (osteoporosis), dan mudah patah tulang karena kerapuhan tulang⁷⁸.
7. *Dienogest* adalah progestin generasi baru yang membawa spesialisasi farmakologis turunan 19-norprogestin dan progesteron. Telah terbukti bahwa *dienogest* memiliki efek progestogen, androgenik, mineralocorticoid, dan glucocorticoid yang kuat. Terdapat efek samping penggunaan *dienogest* untuk waktu lama seperti mual/

muntah yang tidak kunjung berhenti, mata/kulit menguning, urine berwarna gelap, sakit perut/perut yang parah, pendarahan vagina yang tidak biasa (seperti bercak, pendarahan hebat, pendarahan berkepanjangan/berulang), perubahan mental/suasana hati (seperti depresi), pergelangan kaki/kaki bengkok⁷⁹.

E. Sistem Imun pada Endometrium

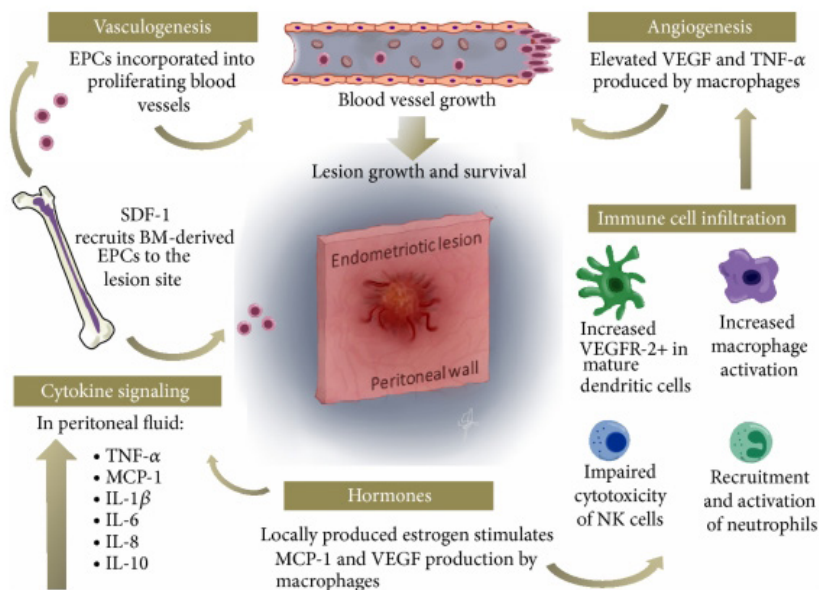
Peran sistem imun endometrium adalah mengatur peristiwa yang mengarah pada pembuahan, implantasi, dan kehamilan. Pencegahan infeksi rahim sangat penting untuk keberhasilan reproduksi di mana endometrium berfungsi sebagai penghalang mukosa perjalanan spermatozoa menuju ovarium. Sistem imun bawaan di endometrium, seperti di tempat lain melindungi terhadap infeksi sekaligus memberi sinyal adanya patogen pada sistem imun yang didapat jika terjadi infeksi⁸⁰.

Endometrium manusia mengalami perubahan siklus yang khas sebagai respons terhadap hormon steroid, estradiol, dan progesteron. Pada paruh pertama siklus menstruasi (fase proliferasi, hari ke-4 hingga 13), ketika konsentrasi estradiol meningkat akibat perkembangan folikel, endometrium mengalami proliferasi. Ovulasi terjadi pada hari ke-14 siklus, korpus luteum terbentuk dan konsentrasi progesteron meningkat setelahnya. Di bawah pengaruh progesteron, pertumbuhan endometrium berhenti dan diferensiasi terjadi sebagai persiapan untuk implantasi dan kehamilan. Fungsi sekretorik kelenjar endometrium meningkat dengan sekresi maksimal pada pertengahan fase sekretorik (hari ke-19 hingga 23) sekitar hari ke-20. Pada fase sekretorik akhir (hari ke-24 hingga 28) terjadi diferensiasi arteriol spiral dan sel-sel stroma berada di dekatnya, pembuluh darah berdiferensiasi (desidualisasi). Inti sel-sel ini membesar dan volume sitoplasma meningkat^{81,82}.

Leukosit merupakan komponen penting dari endometrium, yang merupakan 8,2% stroma selama fase proliferasi dan angka ini meningkat menjadi 31,7% pada trimester pertama desidua⁸³. Kehadiran beberapa populasi leukosit di endometrium manusia bergantung pada siklus. Populasi

neutrofil, sel *Natural Killer Uterus* (uNK cell), makrofag, dan sel mast relevan dengan ekspresi anti-mikroba endometrium. Sel uNK terdapat di endometrium pada pertengahan fase sekresi akhir siklus menstruasi dan merupakan populasi leukosit utama pada desidua trimester pertama yang mencakup 70% dari leukosit yang ada pada saat ini yang memiliki peran dalam implantasi, desidualisasi dan plasentasi^{84,85}.

Sel uNK berbeda dari populasi utama sel NK di darah tepi karena sel tersebut memiliki CD56^{bright} NK yang merupakan sitokin yang kuat dan membuat imunoregulasi pada sistem imun tubuh pada ektopik endometriosis⁸⁶. Sel-sel ini mengekspresikan reseptor untuk reseptor glukokortikoid dan reseptor estrogen β yang menunjukkan bahwa mereka merespons hormon steroid. Makrofag hadir sepanjang siklus dengan sedikit peningkatan jumlahnya sebelum menstruasi disertai dengan aktivitas leukosit yang terlibat dalam kerusakan dan perbaikan jaringan yang menyebabkan infiltrasi neutrofil dan makrofag ke endometrium sekitar waktu menstruasi terjadi bersamaan dengan penurunan konsentrasi progesteron dan terjadilah *menstrual withdrawal bleeding*. Infiltrasi neutrofil ke endometrium selama menstruasi akan meningkatkan perlindungan anti-mikroba alami pada saat penghalang epitel terganggu. Selain itu, neutrofil akan dengan cepat menyusup selama infeksi, sehingga meningkatkan pertahanan bawaan (*innate*)⁸⁷.



Gambar 2.2 Sel imun dan mediator terjadinya endometriosis

(oleh Henderson et al., *J Clin Endocrinol Metab*, 2003;88:440-9)⁸¹

Tampak pada Gambar 2.2, sitokin merupakan mediator dan komunikator utama sistem imun. Respons imun normal terhadap sel atau patogen abnormal melibatkan keseimbangan sitokin inflamasi dan anti-inflamasi. Disregulasi sitokin merupakan aspek penting dari patogenesis endometriosis. Cairan peritoneum wanita dengan endometriosis mengandung konsentrasi sitokin pro-inflamasi dan angiogenik yang lebih tinggi. Sitokin inflamasi penting yang meningkat pada cairan peritoneum dengan endometriosis adalah *Interleukin 1* (IL-1), *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α) dan *Interleukin 6* (IL-6)⁸⁸.

IL-1 merupakan sitokin inflamasi fase akut yang diproduksi oleh sel mononuklear dan ditemukan dalam kadar tinggi pada cairan peritoneum dan implan *endometriotic*. TNF α diproduksi oleh makrofag yang teraktivasi dan kadarnya yang tinggi ditemukan pada tahap ringan atau awal penyakit. Kadar IL-6 berkorelasi positif dengan ukuran dan jumlah implan. Sinyal *Interleukin 1* (IL-1)/*Interleukin 33* (IL-33) memainkan peranan penting

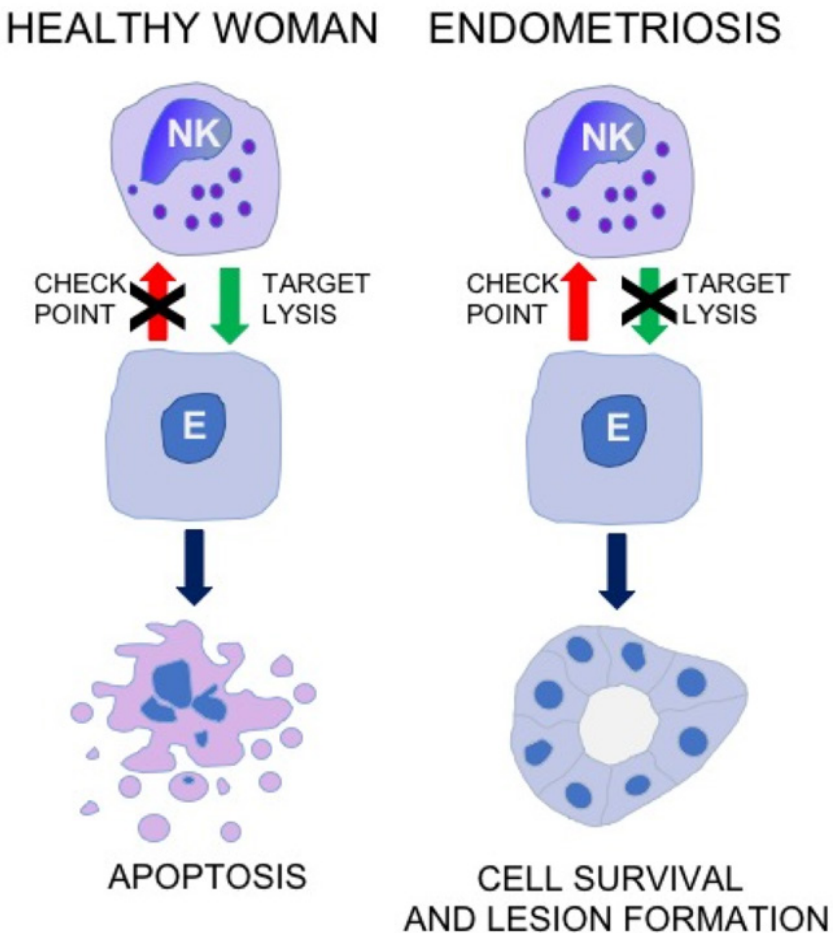
dalam perkembangan penyakit. Selain itu, terdapat sitokin anti-inflamasi, yaitu IL-10 yang ditemukan dalam konsentrasi tinggi di cairan peritoneum pada endometriosis. Dengan adanya peningkatan konsentrasi IL-10 menyebabkan penurunan sitotoksitas sel *Natural Killer* (NK). *Interleukin 8* (IL-8) adalah faktor kemotaktik neutrofil yang kuat dan memiliki efek angiogenik. Tingkat IL-8 yang lebih tinggi ditemukan pada tahap awal endometriosis⁸⁹.

1. Respons Imun pada Endometriosis

Endometriosis terjadi karena terdapat sistem kekebalan tubuh yang tidak mampu mengenali dan meningkatkan respons imun dengan baik terhadap fragmen endometrium di dalam rongga panggul. Dengan adanya ektopik endometrium di peritoneal, maka akan memicu sistem imun pertahanan tubuh, baik sistem pertahanan tubuh bawaan (*innate*) melalui aktivitas makrofag, neutrophil dan sel *Natural Killer* (NK), serta sel imun adaptif (sel T dan sel B). Fragmen endometrium menstruasi menyebabkan peradangan di dalam rongga peritoneum yang memicu sistem kekebalan tubuh, seperti neutrofil dan makrofag termasuk yang pertama ada di area tersebut. Hal ini menyebabkan konsentrasi dan proporsi makrofag meningkat di peritoneum wanita dengan endometriosis, dan makrofag merupakan kontributor utama terhadap peningkatan sitokin pro-inflamasi⁹. Peran imun adaptif, khususnya sel *T helper* dan sel B dimediasi oleh sel *T Helper* tipe 1 (Th1) yang menargetkan patogen intraseluler, sedangkan sel *T helper* tipe 2 (Th2) yang dimediasi humoral menargetkan patogen ekstraseluler dan terlibat dalam aktivasi sel B dan sekresi antibodi. Ketidakseimbangan antarsel Th1/Th2 menyebabkan sekresi sitokin abnormal dan peradangan, yang terus menyebabkan perkembangan lesi endometriosis. Sistem imun *innate* yang terlibat dalam patofisiologi endometriosis meliputi neutrofil, makrofag, sel *Natural Killer* NK, dan *cell dendritic*⁶⁰.

Sel NK menggunakan *Killer Immunoglobulin Like Receptor* (KIR) untuk mengikat *Human Leukosit Antigen-G* (HLA-G) pada sel endometrium dan menghancurkan sel endometrium. Sel dendritik merupakan *Antigen Presenting Cell* (APC) yang sangat penting dalam aktivasi imunitas adaptif melalui presentasi antigen ke sel T. Sel dendritik,

seperti makrofag, berdiferensiasi dari monosit dengan adanya *Interleukin 4 (IL-4)/Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor (GM-CSF)* secara *in vitro*. Namun, secara *in vivo*, sel dendrit hanya memerlukan konsentrasi antigen picomola yang rendah hingga nanomolar untuk mempresentasikan ke sel T sehingga mereka kuat dalam mendeteksi dan memulai kekebalan adaptif terhadap antigen asing atau antigen diri sendiri seperti tampak pada Gambar 2.3.



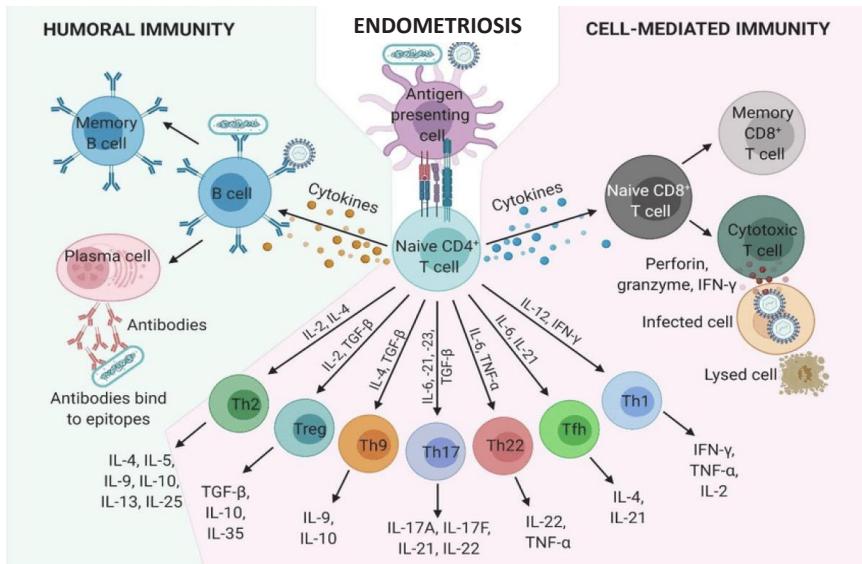
Gambar 2.3 Sel NK mengalami downregulasi terhadap endometriosis

(oleh Selam B et al. *J Reprod Fertil Suppl*, 2000)⁸⁶

Makrofag juga berperan dalam meningkatkan peradangan dan diikuti dengan perekrutan neutrofil melalui pelepasan kemokin. Kedua populasi ini diamati dalam jumlah yang meningkat pada lesi endometrium. Namun, fungsi fagosit monosit perifer dan granulosit neutrofil tampaknya menurun dan aktivitasnya dipengaruhi oleh ada atau tidaknya lesi endometriotik pada wanita dengan endometriosis⁸⁶.

Makrofag memainkan peran penting dalam perkembangan lesi endometrium dan peradangan yang terjadi bersamaan. Peningkatan jumlah makrofag yang signifikan juga terlihat pada endometrium eutopik pada wanita dengan endometriosis. Sel T Helper (Th) mengaktifkan makrofag dan sel kekebalan lainnya untuk menelan dan menghilangkan antigen melalui subkelompok dan interaksi yang berbeda. Sel Th dapat mengeluarkan berbagai sitokin dan berpartisipasi dalam berbagai reaksi kekebalan di dalam tubuh. Sel Th1/Th2/Th17 semuanya milik sel Th dan mengekspresikan sel *Cluster of differentiation* (CD4+). Oleh karena itu, sel tersebut juga disebut sebagai sel T CD4+. Sel *T Helper 1* (Th1) terutama menyekresi sitokin tipe Th1 seperti *Interferon Gamma* (IFN- γ), *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α), dan *Interleukin-2* (IL-2)^{90, 91}.

Sitokin ini mendorong proliferasi sel Th lebih lanjut yang menyebabkan respons imun seluler meningkat dan dimediasi sel melalui sekresi sitokin. Sedangkan sel Th2 dapat mengeluarkan sitokin, seperti *Interleukin 4* (IL-4), *Interleukin 5* (IL-5), *Interleukin 6* (IL-6), *Interleukin 10* (IL-10), dan *Interleukin 13* (IL-13) yang mendorong proliferasi sel Th2 dan membantu aktivasi sel B, sehingga terjadi proliferasi, diferensiasi, dan produksi antibodi sel B. Proses ini berkontribusi terhadap imunitas humoral yang dapat menghambat proliferasi sel Th1. Sel *T-Helper 17* (Th17) berpartisipasi dalam kekebalan bawaan dan perkembangan peradangan tertentu dengan mengeluarkan berbagai sitokin seperti IL-17 (termasuk IL-17A hingga IL-17F), IL-21, IL-22, IL-26, *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α) yang memainkan peran penting dalam kerusakan imunopatologis, terutama dalam terjadinya dan perkembangan defek sistem imun pada endometriosis seperti tampak pada Gambar 2.4⁹².



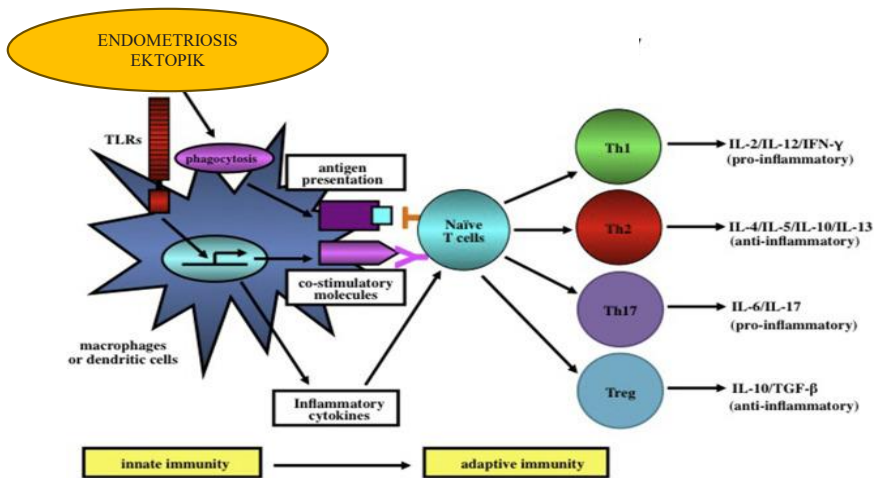
Gambar 2.4. Diagram Sistem imun humoral dan adaptif respon imun pada endometriosis.

(oleh Pavaleanu I et al. Rom J Morphol Embryol 2023)

Pada Gambar 2.4 dijelaskan terjadinya perubahan sistem kekebalan tubuh terlibat dalam perkembangan endometriosis, terutama disfungsi dalam sel-sel terkait kekebalan dan makrofag dalam peritoneum menyekresikan sejumlah produk, terutama sitokin dan *Nerve Growth Factor* (NGf). Pada level ini, terdapat reaksi peradangan berupa upaya tubuh untuk mencapai kekebalan yang mengaktifkan kekebalan tubuh sel, karena adanya lesi endometriotik, maka sistem imun tubuh akan memproduksi sitokin, *Nerve Growth Factor*, dan angiogenik akibat aktivasi VEGF berupa angiogenesis (pengembangan pembuluh darah baru dari jaringan pembuluh darah yang ada). Namun, perubahan sistem imun secara sistemis terjadi pada endometriosis, dengan aktivasi monosit darah perifer, yang mengeluarkan sitokin. Beberapa sitokin, termasuk *Interleukin 6* (IL-6), *Interleukin-17A* (IL-17A), *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF), dan *tumor necrosis factor α* (TNF-α)⁵⁸. *Interleukin 6* memainkan peran potensial dalam pertumbuhan dan/atau pemeliharaan jaringan endometrium ektopik yang merupakan regulator peradangan dan kekebalan

yang memodulasi sekresi sitokin lainnya dengan mempromosikan aktivasi sel-T dan sel-B berdiferensiasi, serta menghambat pertumbuhan di berbagai lini sel. Peran IL-6 dalam patogenesis *remodelling* lesi endometriosis. Bahkan, *etanercept*, terapi anti-TNF, dan anti-VEGF yang ada pada Andrografolid diharapkan mengurangi perkembangan endometriosis^{49,93}.

Sitokin adalah protein dengan berat molekul rendah atau glikoprotein yang biasanya disintesis oleh makrofag peritoneum, monosit, implan endometrium ektopik atau sel mesotelial dari peritoneum. Aktivitas makrofag dan monosit pada cairan peritoneum tampaknya meningkat pada wanita dengan endometriosis. Terlepas dari sitokin, peningkatan sejumlah besar *Growth Factors* seperti *Neural Growth Factor* (NGF), *Vascular endothelial Growth Factor* (VEGF), *Platelet-derived growth factor* (PDGF) terdeteksi dalam serum dan cairan peritoneum. Ini menunjukkan bahwa tingkat sitokin dan kemokin tertentu (IL-6, IL-8, Th 1, TNF- α) di cairan peritoneum berkorelasi dengan tingkat keparahan endometriosis, sedangkan *Interleukin 1* (IL-1), *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α) dan *Interferon Gamma* (IFN- γ) mampu meningkatkan ekspresi *Intercellular Adhesion Molecule-1* (ICAM-1) yang membantu sel endometrium yang refluks ke dalam rongga peritoneum terlepas dari pengawasan imunologis sehingga terjadi adhesi sel endometrium ke peritoneum. *Interleukin-8* (IL-8) dan *Transforming growth factor beta* (TGF- β 1) sebagai sitokin multifungsi yang memodulasi proliferasi, pertumbuhan, diferensiasi, adhesi, dan kelangsungan hidup sel menyebabkan efek peningkatan pertumbuhan pada sel endometrium dan endometriosis seperti tampak pada Gambar 2.5⁸⁷.



Gambar 2.5 Endometriosis menyebabkan reaksi sistem imun innate dan adaptif
(Oleh Perricos A et al., *Int J Mol Sci*, 2023)

Angiogenesis dianggap sebagai faktor patogenetik penting dan beberapa faktor angiogenetik, seperti *Interleukin 1* (IL-1), *Interleukin 6* (IL-6), *Interleukin-8* (IL-8), *Interleukin 10* (IL-10) dan *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF), telah diidentifikasi pada wanita dengan endometriosis^{94,95}.

Saat lesi endometriosis sudah melibatkan banyak organ, maka reaksi inflamasi yang kuat akan terjadi dan menimbulkan reaksi imunologi dengan teraktivasinya sitokin pro-inflamasi yang memicu angiogenesis dari lesi endometriosis sehingga lesi tersebut bisa tumbuh. Menstruasi merupakan suatu proses inflamasi yang ditandai dengan peningkatan berbagai sel imun yang berada di jaringan. Interaksi kompleks antara sel imun residen dan sel stroma uterus memodulasi biosintesis dan pelepasan sitokin pro-inflamasi, kemokin, dan prostaglandin yang mengakibatkan vasokonstriksi lokal. Ketika menstruasi retrograde terjadi, fragmen endometrium menempel dan membentuk lesi di dalam peritoneum. Selama proses ini, sel-sel inflamasi direkrut ke dalam lesi. Respons imun ini terlihat jelas pada lokasi lesi, dengan peningkatan sitokin/kemokin inflamasi, faktor pertumbuhan, neutrophil, dan produksi

prostaglandin yang meningkat ditemukan dalam rongga peritoneum pasien endometriosis^{96,97}.

Lesi peritoneum yang mengandung sel endometriosis menyebabkan pelepasan zat neurotropik ke dalam cairan peritoneum. Peningkatan kadar *Neural Growth Factor* (NGF) dan *Neurotrophin-3* (NT-3) secara signifikan dan juga kadar estrogen telah terdeteksi, terutama pada pasien dengan lesi peritoneum. Analisis *in vitro* menggunakan uji pertumbuhan saraf juga menunjukkan sifat neuromodulator endometriosis pada tingkat fungsional. Cairan peritoneum dari pasien dengan dan tanpa endometriosis yang diinkubasi dengan ganglia sensitif dan simpatis menunjukkan peningkatan pertumbuhan serabut saraf sensitif yang signifikan, meskipun pertumbuhan serabut saraf simpatis lebih rendah. Namun, cairan peritoneum pasien tanpa endometriosis menunjukkan sebaliknya di mana serabut saraf simpatis diinduksi, sedangkan serabut saraf sensitif dihambat⁹⁸. Hal ini mencerminkan hasil dari perubahan yang terkait dengan endometriosis pada persarafan peritoneum yang disebabkan oleh endometriosis yang meluas di seluruh lingkungan peritoneum dan menjadi penyebab gejala kompleks, sehingga menimbulkan interaksi antara lesi endometrium, serabut saraf, dan sel imun kemudian terjadi reaksi inflamasi lokal yang kronis, semakin luas, dan mendalam. Hal ini menyebabkan endometriosis stadium IV mempunyai tingkat kekambuhan yang sangat nyeri dan kekambuhan sampai 67% meskipun telah dilakukan operasi, baik laparoskopi maupun laparatomi^{99,100}.

F. Apoptosis pada Endometriosis

Kegagalan apoptosis pada jaringan menstruasi retrograde dan apoptosis abnormal pada sel imun berhubungan dengan perkembangan endometriosis. Dengan memahami mekanisme molekuler yang berhubungan dengan disregulasi apoptosis pada jaringan endometriosis dan sel imun, maka mudah untuk menentukan etiologi molekuler untuk pengembangan agen terapi baru. Telah dilaporkan bahwa terjadi penurunan apoptosis pada jaringan ektopik endometrium atau endometriosis. Hal

ini didukung dengan ditemukannya protein anti-apoptotik BCL-2 dalam konsentrasi tinggi pada lesi endometriosis. Peningkatan protein BCL-2 sesuai dengan peningkatan protein c-Myc yang mengatur siklus sel dan peningkatan TGF- β . Sementara molekul apoptosis seperti BAX mengalami penurunan. Disregulasi apoptosis yang terjadi pada lesi endometrium berhubungan dengan kemampuan jaringan menstruasi retrograde untuk lolos dari pengawasan imun yang menyebabkan peningkatan pertumbuhan dan proliferasi lesi endometrium¹⁰¹.

Sinyal apoptosis dapat terjadi melalui dua jalur, yaitu jalur intrinsik dan jalur ekstrinsik. Jalur intrinsik berjalan melalui mitokondria dan jalur ekstrinsik berjalan melalui mekanisme yang diperantarai oleh reseptor apoptosis. Disregulasi jalur intrinsik dengan menekan jalur molekuler nya. Hal ini dibuktikan dengan ekspresi P53 di jaringan endometrium, ekspresi protein BCL2 di peritoneum ditemukan tinggi. Sedangkan disregulasi jalur ekstrinsik terjadi pada reseptor Fas dan ligannya. P53, juga dikenal sebagai protein tumor P53, antigen tumor seluler P53, atau protein terkait transformasi 53 (TRP53) adalah protein pengatur yang sering bermutasi pada kanker manusia. Protein P53 (awalnya dianggap, dan sering disebut sebagai protein tunggal) sangat penting dalam vertebrata, karena mencegah pembentukan kanker. Oleh karena itu, P53 telah dideskripsikan sebagai “penjaga genom” karena perannya dalam menjaga stabilitas dengan mencegah mutasi genom. Oleh karena itu TP53 diklasifikasikan sebagai gen penekan tumor (*tumor suppressor gene*). Beberapa protein, termasuk bcl-2 dan P53, mengatur proses yang kompleks ini. Protein P53 dan bcl-2 dapat dianggap sebagai pengatur positif dan negatif kematian sel atau apoptosis^{20,21,102}. Protein reseptor Fas (DR2/CD95/Apo-1) merupakan protein tipe membran-1 (mFas) yang dapat mengikat domain ekstraseluler FasL (CD95L/CD178/Apo-1L). Selain itu, mFas juga mengikat domain sitoplasma yang mentransduksi sinyal kematian. Sinyal kematian dimediasi oleh interaksi Fas/FasL yang merupakan protein transmembran tipe-II yang diekspresikan pada berbagai jenis sel, termasuk limfosit T sitotoksik, monosit, neutrofil, sel epitel payudara, sel endotel vaskular, dan sel NK yang memiliki peran penting dalam menjaga pengawasan imun^{38,103}.

FasL telah diekspresikan dalam sel-sel endometrium normal dan ekspresinya telah distimulasi oleh sitokin yang dilepaskan dari makrofag, seperti PDGF dan TGF- β 1. Peningkatan IL-8 dalam cairan peritoneum pada individu endometriosis akan menyebabkan peningkatan ekspresi FasL dalam sel-sel endometrium. Meskipun ekspresi FasL telah meningkat, hal itu belum menginduksi apoptosis dalam sel-sel stroma endometriosis. Hal itu disebabkan oleh penurunan ekspresi reseptor Fas. Disregulasi apoptosis dapat terjadi pada TNF- α . Populasinya meningkat akibat menstruasi retrograde. TNF- α mengikat Reseptor TNF atau TNFR untuk menginduksi ekspresi caspase-8 dan caspase-9 kemudian memediasi apoptosis jaringan menstruasi *retrograde*-4^{20,21,102}. Jumlah *isoform Nuclear Receptor Coactivator* atau ESR2 akan mengikat *Apoptosis Signal Regulating Kinase 1* atau ASK 1, caspase-8 dan caspase-9 kemudian menekan sinyal apoptosis ekstrinsik pada jaringan menstruasi *retrograde*^{104,105}.

Peningkatan PGE2 pada endometriosis akan meningkatkan rasio protein BCL/BAX dalam mitokondria, sehingga sinyal apoptosis intrinsik telah ditekan. Pada lesi endometrium, dilaporkan bahwa kadar FasL yang meningkat kemudian dapat mengikat reseptornya atau reseptor Fas pada membran sel T sitotoksik. Dengan demikian, sel T sitotoksik telah mati. Hal ini telah mewakili mekanisme pertahanan utama lesi endometrium untuk menghindari sel T sitotoksik selama menstruasi *retrograde* terjadi¹⁰⁶.

Aktivasi NF- κ β juga terlibat dalam disregulasi sinyal apoptosis yang mencegah apoptosis sel endometriosis. Sehingga dapat diduga kuat bahwa disregulasi sistem imun, sinyal apoptosis dan disregulasi stres oksidatif saling berkorelasi, yang dapat dipelopori oleh peradangan yang terjadi pada disfungsi sistem imun. Disregulasi sinyal apoptosis juga terjadi melalui jalur NF- κ β dan Ki-67²⁰. Endometrium normal telah menunjukkan bahwa jalur NF- κ β dan Ki-67 telah dinonaktifkan. Hal ini menyebabkan terjadinya stimulasi defosforilasi protein Bad/Bax. Disosiasi Bad/Bax dari protein 14-3-3 menyebabkan translokasi protein Bad/Bax dari sitosol ke mitokondria. Kemudian terjadi interaksi antara protein Bad/Bax dengan protein Bcl-2/Bcl-XL. Interaksi tersebut menyebabkan mitokondria mengeluarkan c-sitokrom ke dalam sitosol dan mengaktifkan caspase-3

serta enzim yang mempercepat apoptosis sel endometrium. Sedangkan pada endometriosis, jalur NF- κ B dan Ki-67 telah teraktivasi dan menstimulasi sel untuk bertahan hidup²¹. Aktivasi nya telah mengendalikan fosforilasi protein Bad/Bax. Pengikatan Bad/Bax ke dalam protein 14-3-3 menyebabkan Bad/Bax akan bertahan hidup hingga terlepas ke dalam sitosol dan interaksi antara Bad/Bax dan Bcl-2/Bcl-XL tidak terjadi, dengan demikian, sel endometrium tidak akan mengalami apoptosis. Hal ini menyebabkan pada endometriosis extra pelvis atau peritoneum terjadi karena disfungsi sistem imun, di mana aktivasi NF- κ B juga terlibat dalam disregulasi sinyal apoptosis yang mencegah apoptosis sel endometriosis^{107,108}. Pada peninjauan terdahulu, terdapat ekspresi abnormal dari protein permukaan yang terlibat dalam respons fagositosis oleh makrofag pada wanita dengan endometriosis dibandingkan dengan wanita sehat. Dengan demikian, *Signal Regulatory Protein- α* (SIRP- α), reseptor penghambat fagositosis, dan reseptor CD200 (CD200R), yang bersama dengan ligannya CD200 membentuk kompleks immunosupresif, diekspresikan secara signifikan pada makrofag wanita dengan endometriosis. Ekspresi abnormal dari protein permukaan ini yang terkait dengan endometriosis tampaknya memicu penurunan kapasitas fagositosis makrofag¹⁰⁹.

G. Proliferasi Sel Endometriosis

Etiopatologi pasti endometriosis masih menjadi kontroversi, meskipun berbagai teori yang ada saat ini menjelaskannya, namun tidak ada yang memberikan penjelasan lengkap. Teori yang paling diterima adalah teori yang dikemukakan oleh Sampson, yang menyatakan bahwa keberadaan sel-sel endometrium yang hidup dalam aliran menstruasi retrograde yang melekat pada organ diluar uterus termasuk peritoneum sehingga timbul lesi implan endometriosis¹¹⁰. Saat ini, beberapa teori lain berkontribusi bersama terhadap penjelasan sebenarnya mengenai etiologi endometriosis, yang menunjukkan bahwa memang terdapat aliran menstruasi retrograde yang terkait dengan kecenderungan imunologis dalam lingkungan mikro peritoneum yang akan memfasilitasi implantasi sel-sel endometrium

yang dapat tumbuh di luar rongga rahim^{58,111}. “Homeostasis jaringan” adalah hasil keseimbangan antara sel yang berproliferasi dan sel dalam proses degradasi (kematian sel terprogram atau apoptosis). Pasien dengan endometriosis diyakini mengalami perubahan homeostasis sel karena viabilitas deskuamasi sel endometrium yang lebih besar akibat peningkatan kapasitas proliferasi jaringan dan penurunan apoptosis¹¹².

Apoptosis dapat diatur dengan aktivasi sinyal yang disebut sinyal kematian, yang meningkatkan ekspresi P53 dan mengaktifkan reseptor membran, seperti protein dari sistem ligan fas-fas. Reseptor fas, juga disebut CD95. Interaksi protein ini memicu mekanisme intraseluler yang berujung pada apoptosis melalui stimulasi caspase 8¹¹³. Proliferasi sel terlibat dalam terjadinya studi yang dilakukan oleh Fujishita *et al.*,¹¹⁴ yang mengevaluasi *Proliferating Cell Nuclear Antigen* (PCNA) pada endometriosis mendeteksi ekspresi PCNA yang lebih besar pada lesi merah dibandingkan lesi putih atau hitam. Selain itu, kapasitas proliferasi sel juga meningkat pada endometrium eutopik pasien dengan endometriosis dibandingkan dengan subjek kontrol, suatu kejadian yang sebagian disebabkan oleh berkurangnya konsentrasi *transforming growth factor* (TGF)- β , suatu pengatur proliferasi sel dan diferensiasi sel-sel endometrium. Dalam sel epitel, TGF- β mempertahankan homeostasis jaringan, membatasi pertumbuhan dengan menekan faktor pertumbuhan yang mendorong transkripsi, seperti cMyc, suatu proto-onkogen yang mengatur proliferasi dan metabolisme sel, serta meningkat pada jaringan endometrium pasien dengan endometriosis¹¹⁵. Peningkatan proliferasi sel dan penurunan apoptosis pada endometrium eutopik pasien endometriosis juga terjadi pada jaringan ektopik. Peningkatan reaksi inflamasi dan faktor pertumbuhan dalam cairan peritoneum pasien dengan endometriosis terjadi bersamaan dengan peningkatan konsentrasi makrofag peritoneum dan peningkatan aktivitas fagosit mononuklear.

Efek ini ditunjukkan dengan menentukan biosintesis sitokin, metabolisme oksidatif, dan fungsi sitotoksik. Hal ini terjadi sebagai mediator inflamasi yang disekresikan oleh makrofag terhadap pro-liferasi sel dalam kultur sel stroma endometrium manusia¹¹⁶.

H. Lingkungan Mikro Imun dalam Rongga Peritoneum

Disfungsi lingkungan mikro imun peritoneum merupakan fasilitator penting pertumbuhan lesi endometriosis setelah menstruasi retrograde. Refluks fragmen menstruasi yang merupakan ektopik endometrium di peritoneum memicu respons imun bawaan dan adaptif. Hal ini memicu sel imun pada peritoneum dengan melepaskan sitokin sebagai respons inflamasi kronis dan memungkinkan lesi endometriosis tumbuh dan menempel. Dalam tahap awal endometriosis, lingkungan pro-inflamasi mengambil posisi dominan. Namun, selama fase lanjut, lingkungan cenderung ke arah toleransi imun¹¹⁷.

Sitokin memiliki berbagai mekanisme kerja dengan berbagai efek dalam endometriosis, terkait dengan keterlibatannya dalam nyeri, implantasi embrio, dan angiogenesis, semuanya terkait dengan stres oksidatif yang memicu tumbuhnya endometriosis. Makrofag terletak di dekat sel-sel endometriosis dari ektopik endometrium dan berkontribusi pada regulasi homeostasis dalam lingkungan mikro imun endometriosis. Polarasi makrofag berkontribusi pada kontrol inisiasi dan perkembangan sel endometrium ektopik. Makrofag M1 dan M2 diduga menghambat maupun mendorong perkembangan pertumbuhan endometriosis yang mempengaruhi respons imun makrofag. Sinyal polarisasi makrofag dapat berupa sel apoptotik, hormon, kompleks imun, atau sitokin yang disediakan oleh limfosit atau sel lain. Pemaparan monosit naif atau makrofag yang direkrut terhadap sitokin Th1 IFN- γ , TNF, atau LPS, mendorong perkembangan M1. Makrofag tersebut pada gilirannya mengeluarkan sitokin pro-inflamasi TNF, IL-1 β , IL-6, IL-12, IL-23, dan mendorong perkembangan limfosit Th1 yang mendorong lingkungan yang sangat mikrobisida, dan berperan dalam memediasi penghancuran endometriosis^{118,119}.

Sebaliknya, paparan IL-4 dan IL-13 memolarisasi sel-sel ini ke arah fenotipe M2. Makrofag tersebut mengekspresikan serangkaian kemokin yang meningkatkan pertumbuhan sel Th2, eosinofil, dan basofil. Makrofag M2 diinduksi oleh kombinasi LPS, kompleks imun, sel apoptotik, dan IL-1Ra. M2 mengeluarkan kadar IL-17A yang tinggi, demikian juga

sitokin pro-inflamasi TNF dan IL-6 dan mengekspresikan iNOS. Melalui produksi kemokin, makrofag M2 juga mendorong perekrutan eosinofil dan T-reg yang mendorong respons Th2. Makrofag M2 diinduksi oleh kombinasi IL-10, TGF- β , dan glukokortikoid. Pada gilirannya, makrofag tersebut mengeluarkan IL-10 dan TGF- β , yang keduanya merupakan sitokin immunosupresif yang mendorong perkembangan limfosit Th2 dan Treg. Dengan adanya sel ektopik endometrium pada rongga peritoneum akan memicu rasio M1: M2, diikuti dengan peningkatan IL-17A, IL-6 dan ekspresi VEGF¹²⁰.

Reaksi sistem imun pada sistem Imunologi Endometriosis terhadap proses inflamasi lesi endometriosis memicu beberapa perubahan dan perkembangan lesi endometriosis. Endometriosis merupakan penyakit inflamasi kronis yang bergantung pada estrogen. Patogenesis endometriosis dipengaruhi oleh banyak faktor termasuk pengaruh imun, endokrin, genetik, dan lingkungan. Tingkat relatif dan absolut dari berbagai sel kekebalan dan faktor-faktor yang memainkan peran penting dalam pengaturan berubah pada pasien dengan endometriosis. Pada saat yang sama, hormon yang merupakan faktor mikro-regulasi penting yang menargetkan berbagai organ dan jaringan dalam tubuh juga memainkan peran penting dalam perjalanan penyakit endometriosis. Namun, mekanisme pengaturan imun dan endokrin tidak bekerja secara independen satu sama lain dalam patogenesis endometriosis yang saling mempengaruhi. Terdapat beberapa sistem imun yang menjadi inti dalam berperan sistem imun dan endokrin pada endometriosis secara langsung, serta menjelaskan mekanisme interaksi imun-endokrin, dalam patogenesis endometriosis yaitu *Macrophage* (M ϕ), *T Helper-17* (Th-17), *Interleukin-17A* (IL-17A), Kadar Estradiol, *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) terhadap angiogenesis lesi endometriosis¹²¹:

1. Makrofag pada Endometriosis

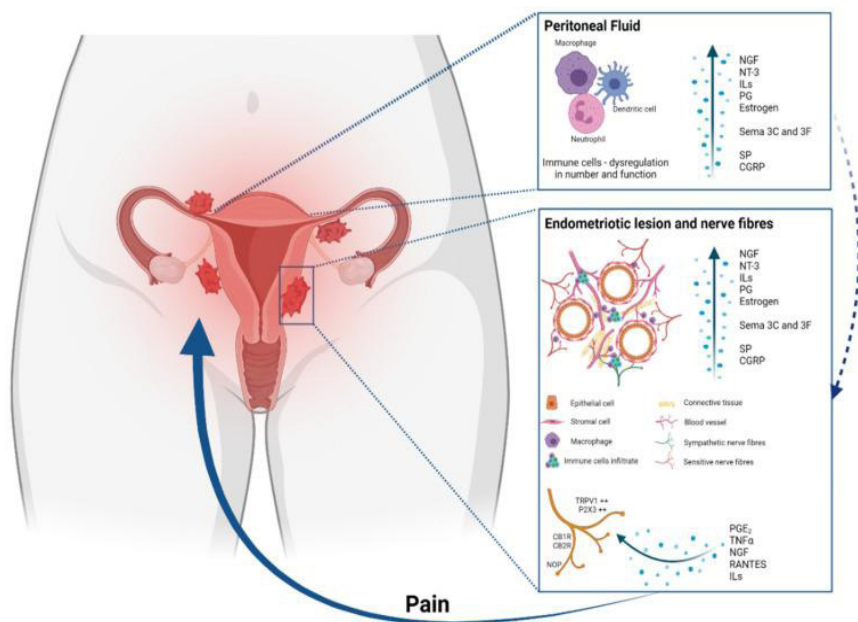
Endometriosis telah disebut sebagai “*Disease of Macrophage*”, karena *Macrophage*/Makrofag banyak terdapat pada lesi di mana mereka direkrut dan menjalani aktivasi alternatif. Makrofag(M) diklasifikasikan sebagai M1 dan M2. M ϕ 1 merupakan makrofag yang menunjukkan

aktivitas pro-inflamasi, sedangkan M2 adalah makrofag yang menyediakan lingkungan anti-inflamasi dan mampu merombak jaringan melalui aktivitas pro-fibrotik¹²².

Secara umum, makrofag teraktivasi dan terpolarisasi secara luas dapat diklasifikasikan menjadi dua kelompok utama, yaitu makrofag inflamasi teraktivasi klasik (M ϕ 1), yang menghasilkan sejumlah besar sitokin inflamasi seperti *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α), *Interleukin 1 Beta* (IL-1 β), *Interleukin 6* (IL-6), *Interleukin 12* (IL-12), *Interleukin 18* (IL-18), dan *Interleukin 23* (IL-23) dan makrofag yang diaktifkan secara alternatif (M ϕ 2) yang menghasilkan sitokin lain seperti *Interleukin-10* (IL-10), *Interleukin-1 Receptor Antagonist* (IL-1Ra), dan *Interleukin 18* (IL-18). M1 berpartisipasi dalam respons Th1 yang terpolarisasi sebagai penginduksi dan efektor, sedangkan M2 mendukung efek dan fungsi terkait Th2. Makrofag menunjukkan *Plastisitas fenotipe* untuk mengontrol keseimbangan imunologis di lingkungan mikro ektopik endometrium. Makrofag tidak hanya berfungsi sebagai penghalang pertahanan utama dalam respons imun *innate*, namun juga berperan sebagai sel aksesori penting dalam respons imun adaptif. Saat makrofag teraktivasi memfagosit antigen melalui reseptor pengenalan pola (seperti reseptor mannose), dan memberikan sinyal untuk memediasi aktivasi sel T. Salah satu sinyalnya adalah *Major Histocompatibility Complex* (MHC) utama yang berikatan dengan *T-Cell Receptor* (TCR), sinyal lainnya adalah interaksi molekul pada sel *T Helper 17* (TH-17)¹²³.

Aktivitas makrofag 2 (M2) pada endometriosis tampak pada Gambar 2.6, lebih toleran secara imunologis. Pada endometriosis, jumlah M2 mendominasi pada lesi dan meningkat pada rongga peritoneum dan cairan peritoneum wanita dibandingkan tanpa endometriosis¹²⁴. Lingkungan anti-inflamasi ini mengaktifkan respons yang dimediasi sel T dan mendorong angiogenesis. Nyeri panggul pada pasien endometriosis berkorelasi kepadatan M2 yang lebih tinggi pada lesi dan cairan peritoneum berkorelasi dengan kepadatan serabut saraf lesi, hal ini terjadi karena M2 menyekresi *Nerve Growth Factor* (NGF) dan *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF α) untuk merangsang faktor pertumbuhan saraf, faktor tersebut

secara tidak langsung dapat mendorong perkembangan dan kelangsungan hidup serabut saraf yang berkontribusi terhadap nyeri berbasis lesi⁹⁸.



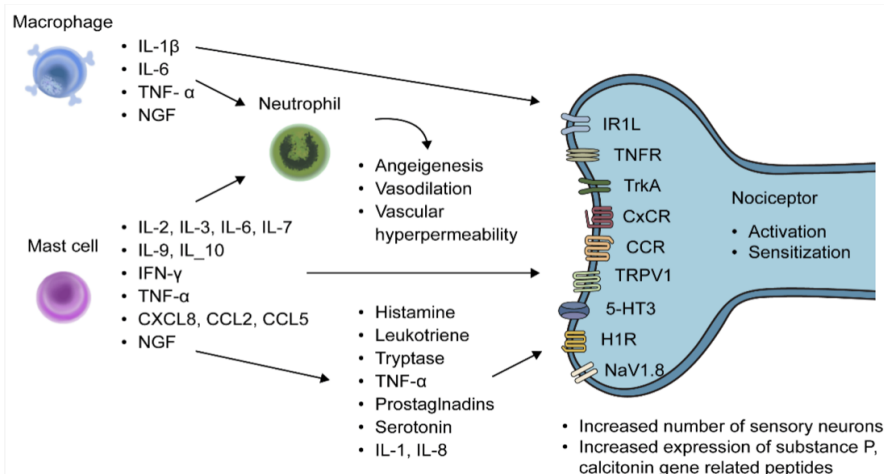
Gambar 2.6 Jalur utama patogenesis nyeri inflamasi pada endometriosis

(oleh Shi JL, et al., Int J Med Sci, 2022)¹¹

Peninjauan sebelumnya menunjukkan makrofag endogen terlibat dalam *remodelling* jaringan selama pengembangan endometriosis ektopik, dan M2 meningkat pada pertumbuhan lesi ektopik pada model mencit di mana terjadi penurunan persentase M1 dan peningkatan M2 pada peritoneum endometriosis, terutama pada stadium lanjut (stadium III-IV).

Fungsi makrofag pada endometriosis stadium IV adalah makrofag M1 untuk membunuh sel ektopik endometrium dan membersihkan jaringan implantasi ektopik endometrium dengan mengaktifkan respons inflamasi atau imun, sedangkan makrofag M2 adalah sel imunosupresif yang mendorong perbaikan jaringan, menekan angiogenesis endometriosis, pertumbuhan, dan perkembangan jaringan endometriosis ekstra pelvis^{96,125,126}.

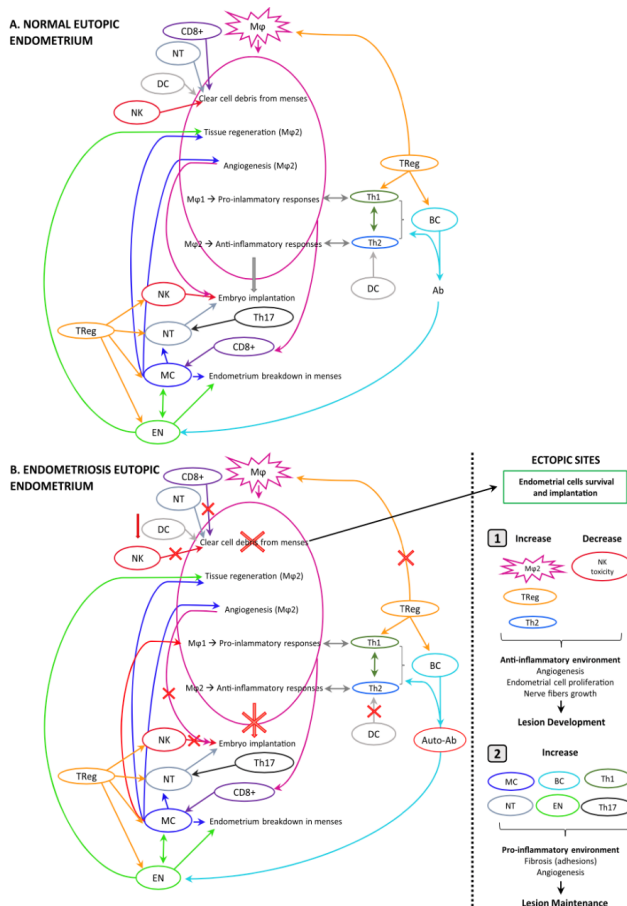
Pada semua jenis endometriosis yang ditinjau, infiltrat sel imun diamati dan dikarakterisasi sebagai campuran beberapa sel imunokompeten (sel T, sel B, dan makrofag). Pada lesi endometriotik dan juga pada jaringan endometrium eutopik pasien endometriosis, jumlah sel imun yang mengalami infiltrasi secara signifikan lebih tinggi dibandingkan jaringan kontrol dan tampaknya berhubungan dengan proses inflamasi kronis¹⁰⁰. *Dendritic cell* (DC), *Macrophage* (Mφ), *Mast Cell* (MC) dan neutrofil memainkan peran sentral dalam penyakit inflamasi kronis. Dalam kondisi normal, sel dendrit yang belum matang menjadi matang dan berjalan ke kelenjar getah bening sebagai respons terhadap antigen asing atau sinyal inflamasi lainnya, di mana antigen tersebut dipresentasikan ke sel T. Namun, maturasi sel dendrit menurun pada endometriosis, sehingga berpengaruh terhadap komponen imunologi yang merupakan bagian dari aktivitas penangkapan dan/atau presentasi antigen. Akibatnya, antibodi antiendometrium yang bersirkulasi terhadap endometriosis dapat menutupi antigen endometrium sehingga antigen endometrium mungkin tidak dapat dikenali secara efektif yang menjadikan fragmen endometrium yang hilang masih tersisa, dan berpotensi menyebabkan pembentukan endometriosis ektopik⁹⁹. Lesi endometriosis (Gambar 2.7) memicu aktivasi oleh kemokin dan sitokin tertentu. Sel-sel ini dapat melepaskan berbagai jenis zat inflamasi, menciptakan lingkungan mikro inflamasi yang berkontribusi terhadap pembentukan dan pertumbuhan lesi endometriotik. Hal ini menyebabkan perubahan rekrutmen makrofage dan hal ini terjadi berulang kali selama perkembangan penyakit. Makrofage (M) diklasifikasikan sebagai M1, yang menunjukkan aktivitas pro-inflamasi, dan M2 yang menyediakan lingkungan anti-inflamasi dan mampu merombak jaringan melalui aktivitas pro-fibrotik. Diferensiasi antara M1 dan M2 tampaknya bergeser ke arah M2 pada endometriosis dan hal ini sangat penting karena M2 berperan secara imunologis pada ektopik endometrium^{96,125,126}.



Gambar 2.7 Aktivitas makrofag dan sel mast nyeri pada endometriosis

(oleh Cui Z, et al., *Front Mol Biosci*, 2020)⁹⁹

Ekspresi beberapa sitokin yang menyimpang oleh sel inflamasi, seperti IL-1, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17A, TNF- α dan *growth factor* seperti *Transforming Growth Factor* (TGF- β), *Insulin Like Growth Factor* (IGF-1), *Hepatocyte Growth Factor* (HGF), *Epidermal Growth Factor* (EGF), *Platelet Growth Factor* (PDGF), dan *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) yang memicu proliferasi sel endometrium, adhesi endometrium, dan angiogenesis dan dapat menginduksi ekspresi PG, MCP1, glikodelin, dan mediator inflamasi lainnya. Secara khusus, *Prostaglandin E2* (PGE2), *Prostaglandin F2 α* (PGF2 α), dan *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α) diproduksi dan ditingkatkan pada tahap awal menyebabkan peradangan persisten dan PGE2, PGF2 α , mentransformasikan *Transforming Growth Factor Beta* (TGF- β), *glycodelin*, dan TNF- α yang dapat menginduksi sensasi nyeri^{127,128}.



Gambar 2.8 Interaksi sistem imun normal (A) dan endometriosis (B)

(oleh Cakmak H et al., *Front Biosci (Elite Ed)*)¹⁰⁸

Peninjauan terdahulu menunjukkan bahwa analisis sitokin cairan peritoneum dapat membedakan wanita yang didiagnosis endometriosis dan nonendometriosis, di mana tampak respons imun yang berbeda. Retroaksi ini menyebabkan lebih banyak rekrutmen sel inflamasi pada lesi yang diikuti dengan perubahan pada lingkungan peritoneum serta pembentukan lingkungan mikro inflamasi baru. Pertumbuhan, implantasi, infiltrasi, dan migrasi lesi endometriosis terjadi berulang-ulang dan selanjutnya akan bereaksi terhadap sel dan proses inflamasi sehingga berkontribusi terhadap agregasi peradangan terkait endometriosis yang melakukan invasi ke luar

uterus dan menyebabkan angiogenesis. Proses yang berulang-ulang ini merupakan proses sistem imun tubuh terhadap antigen (endometriosis) pada ektopik endometrium seperti yang tampak pada Gambar 2.8¹²⁹.

Sel *T Regulator* (Treg) berperan sebagai sel efektor merupakan sistem kekebalan tubuh adaptif yang mempengaruhi aktivitas sel kekebalan melalui sitokin. Sel Treg diaktifkan oleh sel sistem kekebalan bawaan agar dapat melindungi serangan mikroorganisme patogen. Tetapi sel T tidak bekerja sendiri, karena mereka menghasilkan sitokin yang juga mengaktifkan sitokin bawaan. Ada *subset* sel T yang berbeda bergantung pada sel *marker*-nya dan fungsinya yaitu sel yang mengekspresikan CD8 (sel T sitotoksik), sel yang mengekspresikan CD4 (sel *T helper*) dan sel yang tidak mengekspresikan baik CD8 atau CD4. Populasi CD4+ termasuk sel *T helper*. (Sel Th1, Th2, Th9, Th17, Th22, sel *T helper* folikular) dan Sel Treg seperti tampak pada Gambar 2.8A dan Gambar 2.8B^{130, 109}.

2. Makrofag 1 (M1) dan Makrofag 2 (M2)

Endometriosis melibatkan serangkaian faktor genetik individu dan respons inflamasi pelvis bersama dengan respons imun yang buruk atau abnormal, yang memungkinkan persistensi dan pertumbuhan jaringan endometrium di luar rahim. Dalam hal ini, makrofag sebagai sel myeloid dari sistem imun bawaan yang bertindak sebagai efektor utama dalam respons imun bawaan dan spesifik, tampaknya menjadi sel kunci dalam patogenesis penyakit ini. Sel-sel ini mengenali dan memfagosit patogen, bertindak sebagai sel penyaji antigen untuk mengaktifkan sel T, dan terlibat dalam perbaikan jaringan serta berbagai fungsi lainnya. Makrofag merupakan sel fagosit sistem imun yang tersebar di berbagai jaringan dan berperan penting dalam berbagai penyakit, seperti gangguan inflamasi dan pertumbuhan tumor¹³¹.

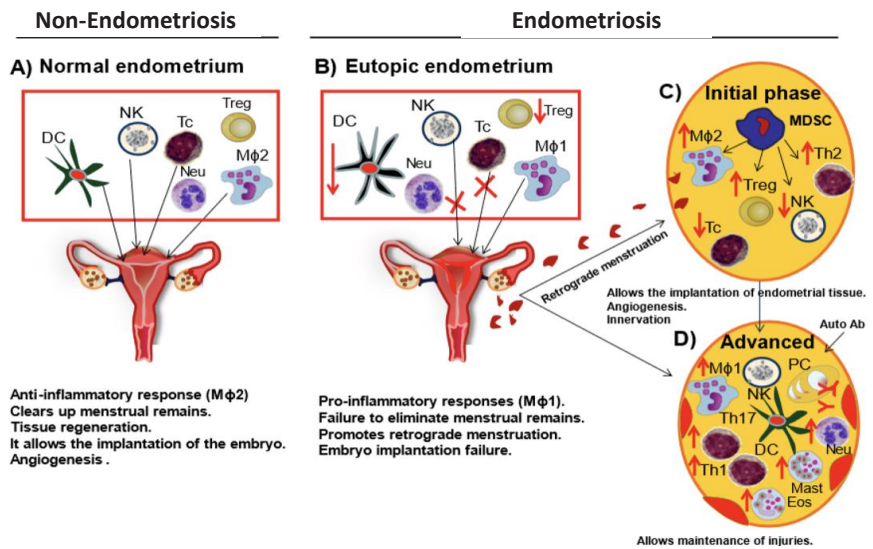
Pada kasus endometriosis, terjadi ketidakseimbangan polarisasi makrofag di cairan peritoneum, yang ditandai dengan peningkatan proporsi makrofag M2 (penghambat peradangan) dibandingkan M1 (pro-inflamasi). Peningkatan makrofag M2 mendukung pertumbuhan lesi endometrium melalui stimulasi angiogenesis dan proliferasi sel, meskipun

beberapa peninjauan juga melaporkan peningkatan sel M1 pada awal dan akhir penyakit. Rasio M1/M2 yang berubah ini bersifat kompleks dan dapat bervariasi tergantung pada stadium penyakit dan faktor lainnya. Berdasarkan perannya, makrofag secara luas diklasifikasikan menjadi makrofag M1 (dikenal sebagai makrofag yang diaktifkan secara klasik) dan makrofag M2 (dikenal sebagai makrofag yang diaktifkan secara alternatif). M1, yang mengekspresikan *biomarker* spesifik CD40, CD80, CD86, dan *human leukocyte antigen-antigen Drelated* (HLA-DR), merupakan sel efektor ampuh yang menghilangkan mikroorganisme yang menyerang dan menyekresi sitokin pro-inflamasi, seperti *Interleukin-1 β* , IL-6, IL-12, dan *tumor necrosis factor- α* (TNF- α). Sebaliknya, M2, yang mengekspresikan penanda spesifik CD163 dan CD206, memperbaiki peradangan dan menghasilkan banyak faktor anti-inflamasi seperti IL-10, TGF- β , dan antagonis reseptor IL-1, tetapi tingkatnya sangat rendah. sitokin pro-inflamasi seperti IL-12^{59,132,116}.

Saat menstruasi, sel-sel endometrium dapat bermigrasi ke daerah peritoneum melalui menstruasi retrograde. Pada lesi endometriosis, ditemukan sejumlah makrofag aktif, sel B, sel T, dan kadar sel NK yang rendah. Melimpahnya makrofag aktif di lingkungan mikro lesi endometrium yang tumbuh di membran peritoneum memudahkan vena melakukan angiogenesis terhadap lesi endometrium. Dengan demikian, lesi endometrium tumbuh terus-menerus. Makrofag aktif mengeluarkan sejumlah sitokin untuk memodulasi fungsi sel normal, tetapi terjadi disregulasi makrofag, dan selanjutnya menyebabkan infiltrasi neutrofil yang berimplikasi pada aktivasi VEGF untuk neovaskularisasi. Makrofag akan teraktivasi dan berubah menjadi M2. Hal ini menyebabkan stimulasi sekresi sitokin seperti IL-10, IL-1, dan IL-6 yang mengakibatkan peningkatan pertumbuhan lesi dan proliferasinya. Terjadinya menstruasi retrograde meningkatkan polarisasi M2 kemudian menyebabkan peningkatan proliferasi lesi endometrium melalui jalur sinyal STAT3^{105,133}. *Fractalkine* (sitokin anti-inflamasi diekspresikan pada neuron sementara reseptor nya CX3CL1R terletak di mikroglia) yang disekresikan dari lesi endometrium juga berkontribusi terhadap polarisasi M2 dan meningkatkan ekspresi MMP-9. Penurunan MMP-1 dan MMP-2 juga terjadi. Semua

kejadian tersebut menyebabkan peningkatan invasi lesi endometrium dan perkembangan endometriosis melalui sinyal MAPKs¹³⁴.

Aktivitas makrofag tampak pada Gambar 2.9, yaitu sekelompok sel heterogen 5 yang beralih dari fenotipe M1 ke M2, dan sebaliknya, setelah induksi sinyal tertentu. Makrofag M1 dapat langsung diarahkan ke fenotipe M2 melalui rangsangan M2 *canonical* seperti paparan IL-4 dan IL-10. Selain itu, beberapa jalur sinyal telah terlibat dalam polarisasi makrofag M1/M2. Misalnya, jalur persinyalan *Toll-like receptor* (TLR)/ *nuclear factor kappa B* (NF-κB) memprogram ulang makrofag ke fenotipe M1 sebagai respons terhadap invasi mikroba, sedangkan TGF-β dapat mengalihkan makrofag ke fenotipe M2 mengetik melalui jalur bergantung SMAD2/3/4^{124,135}.



Gambar 2.9 Respons inflamasi makrofag pada nonendometriosis dan endometriosis
oleh Zhou F et al., J Reprod Immunol, 2022)¹¹³

Endometriosis adalah kelainan inflamasi kronik, dan kasus dengan gejala lesi peritoneum berhubungan dengan disregulasi produksi sitokin dan perbedaan ekspresi gen inflamasi imun pada endometrium ektopik dan eutopik, disertai dengan peningkatan jumlah bakteri dan kadar endotoksin

pada lingkungan peritoneum. Dalam kondisi seperti itu, gangguan keseimbangan dinamis antara fenotipe makrofag M1 dan M2 dapat berkontribusi terhadap patogenesis endometriosis. Fagositosis adalah salah satu mekanisme pertahanan anti-mikroba utama dari sistem imun bawaan, terutama dilakukan oleh neutrofil, monosit, dan makrofag. Mekanisme ini memungkinkan eliminasi patogen dan sisa-sisa seluler. Oleh karena itu, dalam kondisi normal di mana makrofag harus mampu menghilangkan jaringan endometrium ektopik yang bermigrasi ke sana melalui menstruasi retrograde^{124,136}.

Pada endometrium eutopik, terjadi penurunan kapasitas fagositik makrofag dengan meningkatkan ekspresi *Signal Regulatory Protein- α* (SIRP- α), dan menurunkan ekspresi reseptor pemulung CD36. Untuk mendukung peran yang dimainkan oleh SIRP- α dalam memodulasi fagositosis, makrofag. Peningkatan regulasi pensinyalan SIRP- α /CD47 memungkinkan sel-sel yang menyimpang lolos dari pengawasan imun. CD47 juga bertindak sebagai reseptor untuk Thrombospondin 1 (TSP-1), sebuah molekul dengan aktivitas anti-angiogenik terlibat dalam penurunan kapasitas fagositik makrofag¹³⁷. Peninjauan oleh Chuang *et al.*,¹³⁸ mengungkapkan bahwa tingkat CD36 yang berasal dari wanita dengan endometriosis lebih rendah dibandingkan normal. Penurunan fungsi CD36 oleh antibodi yang dinetralkan atau menghancurkan CD36 menggunakan siRNA mengganggu kemampuan fagositik makrofag normal dalam kemampuan fagositik ini menyebabkan ekspresi CD36 yang lebih rendah pada endometriosis. Blokade CD36 merusak kemampuan fagositik makrofag normal dan ekspresi berlebih nya mengembalikan kapasitas fagositik makrofag dari wanita dengan endometriosis. Peninjauan terdahulu pada model tikus menunjukkan bahwa makrofag endogen terlibat dalam *remodelling* jaringan selama perkembangan endometriosis, dan transisi fenotipik M1 ke M2 diperlukan untuk pertumbuhan lesi ektopik¹³⁹.

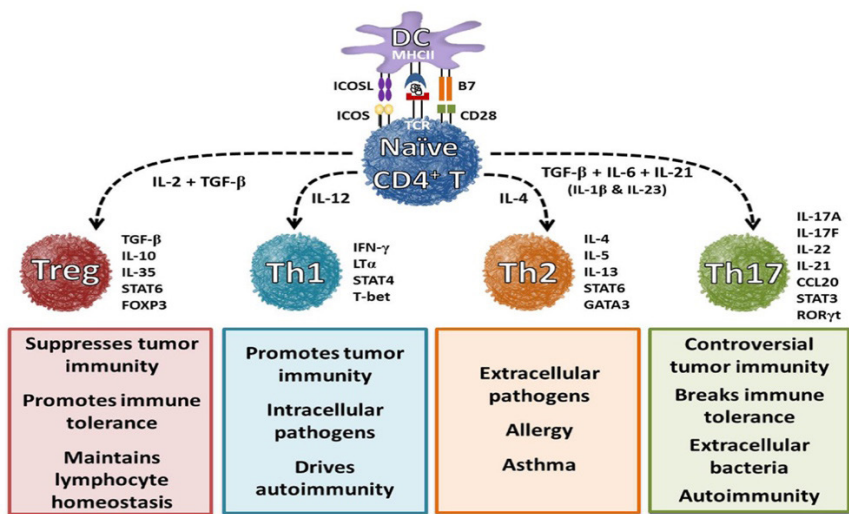
Lin *et al.*,¹⁴⁰ menyimpulkan rasio M1 yang lebih rendah dibandingkan M2 yang ditunjukkan pada kelompok endometriosis, dibandingkan dengan kelompok kontrol. Data statistik pada peninjauan

ini menggunakan tingkat signifikansi 0,05 (interval kepercayaan 95%). Hasil peninjauan menunjukkan $p = 0,0015$ yang berarti rasio M1 wanita penderita endometriosis lebih rendah dibandingkan M1 kelompok kontrol. Ketidakseimbangan polarisasi makrofag M1 dan M2 berhubungan dengan proses inflamasi yang dikaitkan dengan polarisasi aktivasi makrofag, terutama makrofag M1 dalam kondisi inflamasi akut. Penurunan rasio M1/M2 terjadi akibat dominasi makrofag M2 berhubungan dengan proses peradangan kronik. Endometriosis menyebabkan polarisasi makrofag menuju fenotipe yang mirip dengan M2 pada fase awal dan M1 pada stadium lanjut, sehingga menyebabkan penurunan kapasitas fagositik. Selain itu, tampaknya ada perbedaan fenotipik antara makrofag yang diturunkan dari monosit. Peningkatan kadar berbagai sitokin dalam rongga peritoneum dapat mendukung adanya keadaan makrofag dan sel imun lainnya yang tidak teratur, berkontribusi terhadap pemeliharaan lingkungan inflamasi kronis^{34,141}.

3. Interleukin 17A (IL-17A)

Endometriosis adalah penyakit kronis yang ditandai dengan peningkatan sitokin pro-inflamasi dalam cairan peritoneum. Pada peninjauan terdahulu memberikan resistensi tumor terhadap terapi anti-VEGF melalui induksi dan sekresi faktor angiogenik dan inflamasi seperti *Chemokine Bv8* dan *Interleukin-17A* (IL-17A) dari sel stroma tumor yang meningkatkan inflamasi granulosit sehingga timbul nyeri pada endometriosis¹⁴². Valmori *et al.*,¹⁴³ meninjau *Interleukin 17A* (IL-17A) yang terbukti terlibat dalam promosi pertumbuhan kanker ovarium pada mencit melalui peningkatan regulasi mediator pro-angiogenik dan inflamasi dari makrofag peritoneum kecil. Meskipun pada tinjauan-tinjauan lain telah memahami peran IL-17A dalam patogenesis penyakit, namun masih sedikit yang diketahui mengenai perannya dalam endometriosis dan korelasi dengan tingkat keparahan penyakit endometriosis¹⁴⁴. Pada saat lesi endometriosis melakukan invasi ke area luar uterus, maka *T Helper 17* (Th-17) akan teraktivasi melalui *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α) dan *Interleukin 6* (IL-6). Reaksi inflamasi ini akan memicu munculnya

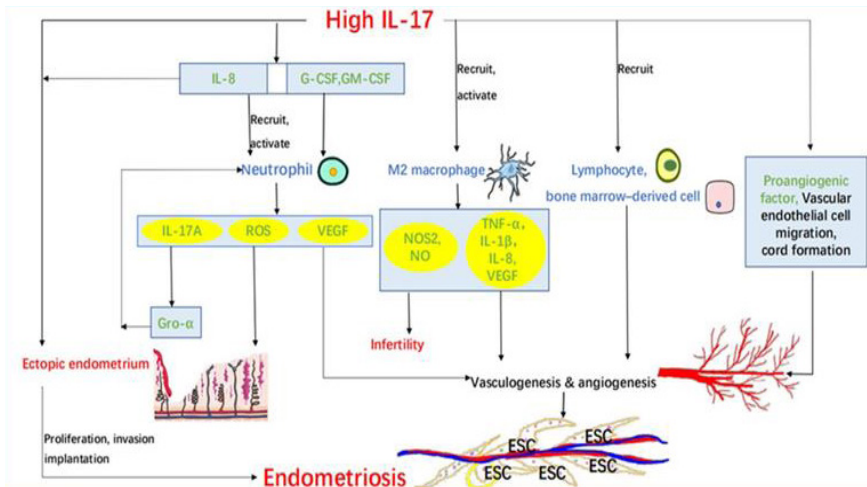
sitokin-sitokin pro-inflamasi, sehingga akan menimbulkan suasana peradangan yang cukup kompleks. Sitokin *Interleukin 17* (IL-17) dikeluarkan pertama oleh sel T CD4 dalam bentuk percampuran antara *nonglycosylate* dan *N-glycosylated*¹⁰. IL-17 Merupakan sitokin yang berperan kuat sebagai pro-inflamasi di mana populasi *T Helper* (Th) yang memproduksi IL-17 (sel Th17) berbeda dari sel Th1 dan sel Th2. Jenis atau golongan dari IL-17 terbagi atas IL-17A, IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E, IL-17F. IL-17A Pada manusia gen encodingnya IL-17 ada pada kromosom¹¹. Interleukin 23 (IL-23) merangsang sel T CD4+ (sel darah putih yang disebut limfosit yang berperan penting dalam sistem kekebalan tubuh) untuk menginduksi sekresi IL-17 yang mengikuti induksi dari T-cell receptor (TCR). IL-23 penting untuk ekspansi, kelangsungan hidup, dan patogenesis sel Th 17¹⁴⁵. Sitokin kunci yang diperlukan untuk diferensiasi *T Helper 17* (Th 17) merupakan kombinasi dari sitokin pro-inflamasi dan anti-inflamasi, yaitu masing-masing *Interleukin 6* (IL-6) dan *Tumor Growth Factor β* (TGF-β)¹⁴⁶.



Gambar 2.10 Sel endometriosis sebagai antigen intrasel maupun ekstrasel
(Oleh Giacomini E, et al., J Steroid Biochem Mol Biol)⁶

Gambar 2.11 menunjukkan sel Th 17 memproduksi IL-21 dan IL-22, selain IL-17 sebagai sitokin utama. Turunan Th 17 diartikan dengan produksi sitokin interleukin-17 (juga disebut sebagai IL-17A) dan *Interleukin 17F* (IL-17F), anggota IL-17 sebagai homodimer atau heterodimer. *Interleukin 21* (IL-21) selain beraksi dengan TGF- β untuk memacu diferensiasi Th 17, juga diproduksi oleh sel Th 17. Sel Th 17 juga diketahui menghasilkan sitokin tertentu lainnya, termasuk TNF- α dan *Limfotoksin-B* (LT β), IL 6, Interferon Gamma (IFN γ), IL 1 α dan subset Th 17 yang ditandai oleh ekspresi reseptor kemokin (CCR6), ligan CCR6, CCL20 IL-17 menginduksi produksi sitokin inflamasi seperti *Interleukin 1* (IL-1), *Tumor Necrosing Factor Alpha* (TNF α) dan *Interleukin 6* (IL-6) oleh fibroblas, monosit, dan makrofag¹⁴⁷.

Konsentrasi sitokin seperti *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α), Interleukin 6 (IL-6) dan *Interleukin 8* (IL-8) meningkat dalam cairan peritoneum dan ditambah produksinya dari makrofag peritoneum yang diaktifkan, terutama berkontribusi pada lingkungan inflamasi yang terkait dengan patogenesis penyakit. Lebih lanjut, faktor sekretorik dari sel imun memediasi vaskularisasi lesi endometriotik melalui neo-angiogenesis yang distimulasi oleh *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) dan *vasculogenesis de novo* di tempat implantasi melalui rekrutmen *human Endothelial Progenitor Cells* (hEPC) yang diturunkan dari sumsum tulang. Interleukin 17 A (IL-17A) berkontribusi pada neo-angiogenesis dan memicu respons inflamasi secara terus menerus seperti yang tampak pada Gambar 2.11^{148,149}.



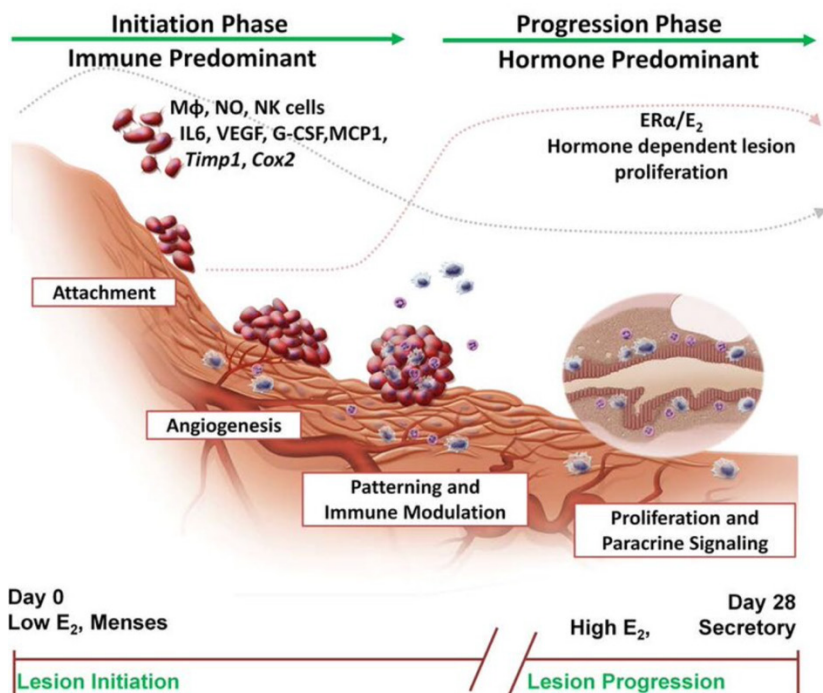
Gambar 2.11 Peningkatan IL 17A pada lesi endometriosis

(oleh Gorczynski RM et al., Exp Med Biol, 2020)¹³²

Terdapat beberapa peninjauan terdahulu yang menyelidiki peran IL-17A dalam patogenesis endometriosis dan menunjukkan bahwa dengan adanya lesi endometriosis terjadi peningkatan IL-17A yang bervariasi sesuai pada tingkat keparahan penyakit, dan konsentrasi sistemik IL-17A turun secara signifikan pada pasien endometriosis setelah operasi pengangkatan lesi endometriosis. Patogenesis endometriosis diawali dengan invasi dan proliferasi fragmen endometrium ke dalam peritoneum rongga panggul yang menyimpang sehingga steroid ovarium akan membuat perkembangan lesi endometriotik. Pada peninjauan terdahulu, model endometriosis di babon, di mana endometrium yang disuntikkan secara intraperitoneal menunjukkan peningkatan pelekatan pada membran peritoneum dibandingkan dengan endometrium fase luteal. IL-17A adalah sitokin pro-inflamasi yang memiliki peran penting dalam sistem kekebalan tubuh, baik dalam melindungi tubuh dari infeksi maupun dalam menyebabkan penyakit inflamasi dan autoimun. Sitokin ini diproduksi oleh berbagai jenis sel imun, terutama sel T, dan memengaruhi berbagai proses, termasuk aktivasi neutrofil, produksi sitokin lain, dan perbaikan jaringan^{11,150,151}.

Seperti tampak pada Gambar 2.12, dalam keadaan fisiologis normal, endometrium manusia berada di bawah regulasi siklus oleh estrogen dan progesteron, dengan lapisan fungsional mengalami proliferasi, diferensiasi dan pelepasan jika implantasi tidak terjadi. Namun, komponen seluler dari lesi endometriotik memberikan respons yang berbeda terhadap steroid ovarium jika dibandingkan dengan endometrium normal.

Malformasi struktural epitel endometrium yang terlihat secara makroskopis memberikan petunjuk terhadap peningkatan insiden infertilitas pada wanita dengan endometriosis hal ini menjelaskan mengapa hanya sebagian wanita yang menderita endometriosis⁵⁴. *Estradiol* (E2), suatu bentuk estrogen yang aktif secara biologis, memainkan peran penting dalam rekonstruksi endometrium pasca menstruasi. Proliferasi sel-sel endometrium dan pembentukan kembali pembuluh darah pada lapisan fungsional endometrium didorong oleh aksi E2 yang berinteraksi dengan reseptor, *Estrogen Receptors Alpha* (ER- α) dan *Estrogen Receptors Beta* (ER- β). Estradiol endometrium muncul terutama dari ovarium, tetapi juga dari jaringan ekstraovarium seperti kelenjar adrenal dan adiposit yang tiba di jaringan melalui sirkulasi. Karena peran E2 yang terlibat secara luas dalam patogenesis endometriosis, berbagai intervensi farmasi yang menargetkan penghambatan produksi estrogen ovarium diresepkan untuk wanita dengan endometriosis, namun dengan tingkat keberhasilan yang beragam⁵².



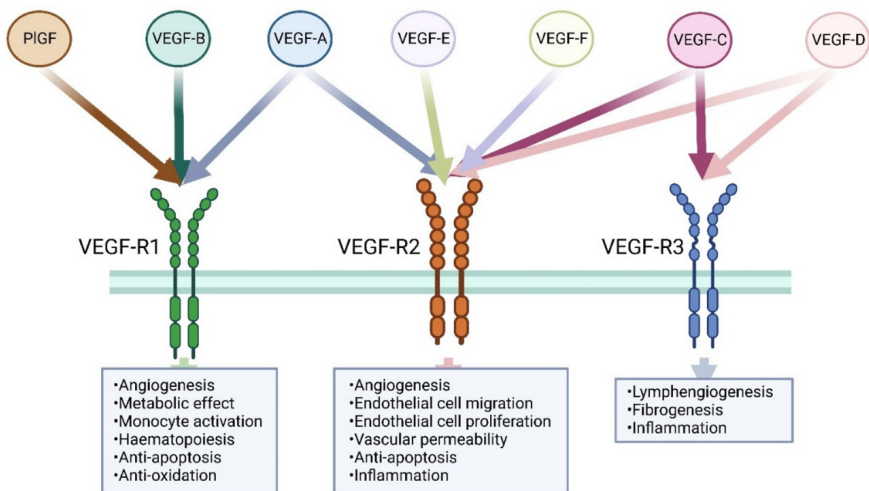
Gambar 2.12 Hormon estradiol fase proliferasi menginduksi endometriosis

(oleh Tao et al., Am J Reprod Immunol)¹⁵

Meski gejala nyeri dapat diatasi saat menjalani pengobatan, namun, nyeri seringkali muncul kembali segera setelah pengobatan dihentikan. Penggunaan terapi farmasi yang mengandung E₂ jangka panjang mempunyai efek samping yang tidak diinginkan seperti perdarahan hebat, penambahan berat badan, dan hilangnya kepadatan mineral tulang akibat peningkatan hormon *Gonadotrophin Releasing-Hormone Analogues* (GnRHa) dan hormon progestin (*Medroxyprogesterone Acetate*) yang dipicu oleh E₂¹⁵². Pengobatan lini ketiga yaitu inhibitor aromatase, dapat digunakan bersama dengan jenis inhibitor lain yang ditargetkan untuk menekan estrogen, namun, beberapa wanita menunjukkan perkembangan resistensi terhadap aromatase inhibitor¹⁵³.

4. Protein *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) *Angiogenesis*

Pada Gambar 2.13 tampak di mana *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) adalah protein angiogenik yang dihasilkan oleh sel tumor, dibantu sel endotel dalam peranannya bagi pertumbuhan tumor. Aktivitas VEGF yang meningkat dipicu keadaan hipoksia dan onkogen ras mutan. Terdapat enam bentuk isoform VEGF yaitu VEGF-A, B, C, D, E, F, dan *Placenta Growth Factor* (PlGF)¹⁵⁴.



Gambar 2.13 VEGF-A menginduksi angiogenesis

(oleh Machado DE, et al., *J Exp Clin Cancer Res*)¹⁶⁰

Vascular Endothelial Growth Factor A (VEGF-A) mempunyai beberapa bentuk, yaitu *Vascular Endothelial Growth Factor* A (VEGF-A 121), *Vascular Endothelial Growth Factor* A 165 (VEGF-A 165), *Vascular Endothelial Growth Factor* A 189 (VEGF-A 189) dan *Vascular Endothelial Growth Factor* A206 (VEGF-A206). Perbedaan bentuk didasarkan pada keberadaan ikatan molekul tersebut dengan heparin. *Vascular Endothelial Growth Factor*-A 165 (VEGF-A 165) merupakan bentuk VEGF-A yang dominan pada pertumbuhan angiogenik yang memicu angiogenesis dalam pembentukan pembuluh darah baru yang dibutuhkan dalam pertumbuhan lesi endometriosis di luar rahim¹⁵⁵. Dalam

proses angiogenesis diperlukan asupan nutrisi dan oksigen serta adanya peranan sel endotel yang diawali dengan aktivasi sel endotel, degradasi membran basalis, migrasi sel endotel ke arah membran basalis yang rusak dan strama di sekitarnya, proliferasi sel endotel, serta pembentukan lumen yang mengarah ke jaringan endometriosis. Pemberian anti-angiogenik dalam hal ini anti-VEGF akan membantu dalam upaya penghambatan pertumbuhan dan perkembangan lesi endometriosis. Sebuah sistematik review pada hewan coba menunjukkan bahwa kombinasi antara anti-VEGF dengan terapi lainnya memberikan hasil yang lebih baik terhadap pertumbuhan endometriosis^{88,156}.

Peninjauan sebelumnya telah menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi neutrofil dalam cairan peritoneum pasien dengan ektopik endometrium mungkin merupakan hasil dari peningkatan konsentrasi kemokin neutrofil poten, seperti IL-8. Selain itu, neutrofil mengeluarkan sitokin seperti VEGF dan IL-8 dan IL-17A untuk mendorong proliferasi dan invasi sel endometriosis dan angiogenesis. Pada proses ini, estrogen terlibat dalam aktivasi neutrofil, dan ditemukan bahwa kultur in vitro dengan adanya IL-6, TNF- α , lipopolisakarida (IPS) dan pelepasan VEGF yang ditingkatkan estrogen dari makrofag peritoneum dan neutrofil yang diisolasi. Sebaliknya, penghambatan aktivitas sinyal estrogen menurunkan jumlah neutrofil dan ekspresi sitokin proinflamasi, sehingga menghambat perkembangan ektopik endometrium. CXCL8, yang juga dikenal sebagai interleukin-8 (IL-8), di mana IL-8 adalah protein 6-8 KDa yang disekresikan oleh berbagai jenis sel termasuk monosit darah, makrofag alveolar, fibroblas, sel endotel, dan sel epitel. Ekspresi IL-8 diinduksi oleh berbagai sitokin (IL-1, IL-6, CXCL12, TNF- α), keadaan hipoksia jaringan, *Reactive Oxygen Species* (ROS), partikel bakteri, dan stres lingkungan lainnya. Melalui pengikatan dengan dua reseptor nya, CXCR1 dan CXCR2, IL-8 menjalankan fungsi fisiologis utamanya, yaitu mendorong keadaan proinflamasi dan merangsang angiogenesis. IL-8 adalah molekul kemoatraktan kuat yang mendorong neutrofil dan juga monosit ke lokasi inflamasi^{150,157,158}.

Selain itu, IL-8 mendukung penyelesaian infeksi dengan bekerja, terutama pada neutrofil dan mendorong fagositosis yang dimediasi neutrofil, ledakan oksidatif, dan pelepasan perangkap ekstraseluler neutrofil. Selain fungsi pro-inflamasinya, IL-8 juga mendukung angiogenesis dengan mendorong proliferasi, kelangsungan hidup, dan migrasi sel endotel, sehingga terjadi pembentukan pembuluh darah baru. Sifat proangiogenik ini mendukung proses penyembuhan jaringan dari keadaan inflamasi pada jaringan ektopik endometriosis di peritoneum¹⁵⁹.

I. Terapi Andrografolid

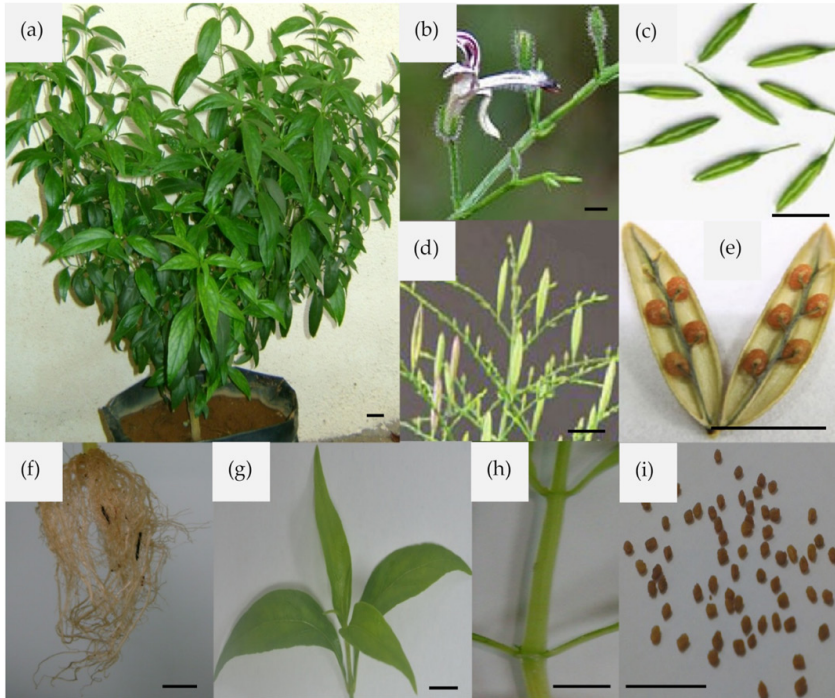
Interaksi andrografolid dengan obat merupakan salah satu jenis interaksi yang dapat menimbulkan perdebatan dalam terapi. Andrografolid mengandung metabolit sekunder yang memiliki beberapa aktivitas farmakologis. Oleh karena itu, penggunaan andrografolid dengan atau tanpa obat konvensional dapat menimbulkan interaksi farmakodinamik dan farmakokinetik yang berisiko menimbulkan efek samping. Sambiloto (*Andrographis paniculata* Burm. f.) merupakan tanaman yang banyak digunakan sebagai obat di negara-negara Asia, seperti Cina, Jepang, Malaysia, Bangladesh, India, Thailand, dan Indonesia. Di Indonesia, sambiloto dipasarkan oleh PT Dami Sariwarna dengan izin edar POM TR. 213 375 751 yang berfungsi menjaga kekebalan tubuh, menurunkan tekanan darah, menurunkan kadar gula, dan menghambat pertumbuhan sel kanker. Efek farmakologi tanaman ini antara lain yaitu anti-inflamasi, antimalaria, antivirus, antibakteri, penekan kekebalan, kardio dan hepatoprotektif, antidiabetes, antiobesitas, dan antikanker¹⁶⁰.

Perawatan untuk endometriosis dapat dilakukan melalui pendekatan farmakologis atau bedah. Penanganan farmakologis meliputi pemberian obat *Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs* (NSAID) atau kontrasepsi oral, yang dilanjutkan dengan injeksi *Gonadotrophin Releasing-Hormone Analogues* (GnRH_a). Namun, pengobatan farmakologis saat ini hanya bersifat supresif sehingga bila pengobatan dihentikan, maka endometriosis dapat kambuh kembali. Selain itu, konsumsi obat-obatan ini dalam jangka

panjang dikaitkan dengan efek samping yang menonjol. Perawatan bedah yang radikal merupakan pengobatan definitif untuk endometriosis, namun masih memiliki gambaran yang kontroversial¹⁶¹. Produk andrografolid telah digunakan dalam mengobati berbagai penyakit sejak awal peradaban. Di zaman modern ini, pengobatan andrografolid telah banyak diteliti terkait efikasi dalam mengatasi berbagai gangguan kesehatan, karena produk fitofarmaka dipercaya mengandung beberapa manfaat seperti anti-inflamasi, antioksidan, antitumor, dan antihipertensi. Peninjauan terdahulu pada obat-obatan yang mengandung andrografolid menghasilkan berbagai khasiat pengobatan tradisional baik di Tiongkok mulai dipelajari berbagai pengobatan alternatif untuk endometriosis. Beberapa tanaman yang telah terbukti memberikan efek menguntungkan pada endometriosis yaitu bunga Pueraria, bawang putih hitam, *Uncaria Tormentosa*, *Curcuma* spp., *Viburnum opulus*, *Calligonum comosum*, dan *Andrographis paniculata*¹⁶².

1. Tanaman Sambiloto (*Andrographis paniculata*)

Andrographis paniculata merupakan spesies dalam famili Acanthaceae yang telah lama digunakan sebagai bahan jamu obat untuk flu dan demam, serta mampu meningkatkan kekebalan tubuh. Sambiloto (*Andrographis paniculata*) merupakan suatu tumbuhan asli Indonesia yang menjadi salah satu kategori tanaman obat yang saat ini menjadi posisi utama sebagai bahan fitofarmaka yang aman untuk dikonsumsi dan memiliki khasiat yang banyak untuk dijadikan bahan obat¹⁶³.



Gambar 2.14 *Andrographis paniculata* dan bagian-bagiannya

(a) Bagian aerial, (b) bunga, (c) matang, (d) buah, (e) kapsul terbuka, (f) akar, (g) daun, (h) batang, dan (i) benih.

(oleh Sundhani E et al., *Molecules*, 2022)¹⁴⁸

Pada Gambar 2.14 tampak tanaman sambiloto yang merupakan tumbuhan berkhasiat obat berupa tumbuhan yang tumbuh ke atas dengan tingginya bisa mencapai 90 cm. Penyebarannya dari India meluas ke selatan sampai di Siam, ke timur sampai semenanjung Malaya, kemudian ditemukan di Jawa. Tanaman ini tumbuh baik di dataran rendah sampai ketinggian 700 meter dari permukaan laut. Sambiloto dapat tumbuh pada curah hujan 2.000-3.000 mm/tahun dan suhu udara 25-32°C. Kelembapan yang dibutuhkan termasuk sedang, yaitu 70–90% dengan penyinaran sedikit lama^{4,164}.

Nama sambiloto di beberapa daerah antara lain: sambilata (Melayu); ampadu tanah (Sumatera Barat); sambiloto, ki pait, bidara, andiloto (Jawa

Tengah); ki oray (Sunda); kaḍḍās (Madura), sedangkan di China disebut *Chuan Xin Lien*. Ketersediaan tanaman sambiloto di Indonesia juga cukup banyak, sehingga dapat diperoleh dengan mudah dan ditemukan di berbagai tempat. Menurut Badan Pengawasan Obat dan Makanan (BPOM), tanaman ini telah dimasukkan dalam daftar tanaman unggulan yang dapat dikembangkan di industri fitofarmaka. Secara empiris, tanaman ini telah banyak dilakukan uji klinis dan kandungannya yang sangat bermanfaat.

Beberapa senyawa kimia yang utama dalam tanaman ini adalah andrografolid, neoandrografolid, flavonoid, saponin, dan tannin. Keistimewaan tanaman ini yaitu potensi antidiabetik tanaman ini sangat tinggi. Banyak peninjauan mengenai flavonoid yang membuktikan bahwa zat tersebut mampu digunakan sebagai bahan antidiabetik²⁹. Tumbuhan telah menarik banyak perhatian di bidang anti-inflamasi karena aktivitas farmakologis dan kemanjurannya yang baik. *Andrographis paniculata* merupakan bahan tumbuhan alami yang banyak digunakan di seluruh dunia. Andrografolid merupakan bahan aktif utama yang berasal dari *Andrographis paniculata* yang mempunyai efek baik dalam pengobatan penyakit inflamasi. *Andrographis paniculata*, juga disebut “*King of Bitterness*” karena sifatnya yang sangat pahit, termasuk dalam genus *Andrographis* dan merupakan tanaman obat tradisional yang populer¹⁶⁵. Andrografolid, lakton diterpenoid bisiklik, 3-[2-[decahydro-6-hydroxy-5-(hydroxylmethyl)-5,8a-dimethyl-2-methylene-1-naphthalenyl]ethylidene]-dihydro-4-hydroxy-2(3H)-furanone, merupakan konstituen aktif utama dan memiliki berbagai efek farmakologis, termasuk aktivitas anti-inflamasi, anti-tumor, antidiabetik dan kardioprotektif. Saat ini, andrografolid telah digunakan sebagai obat anti-inflamasi untuk infeksi saluran pernapasan atas dan infeksi bakterial. Andrografolid dilaporkan memiliki aktivitas imunoregulasi. Andrografolid juga menunjukkan efek imunomodulator dengan secara efektif meningkatkan sel T sitotoksik, sel NK berfungsi fagositosis, dan *Antibody-Dependent Cell-Mediated Cytotoxicity* (ADCC) yang bergantung pada antibodi dengan meningkatkan proliferasi dan induksi interleukin-2 (IL-2) limfosit *Human Peripheral Blood Lymphocytes* (HPBLs)^{166,167}.

Andrographis paniculata telah banyak ditinjau terkait aktivitas imunomodulatornya secara in vitro dan in vivo termasuk proliferasi limfosit, meningkatkan aktivitas litik yang dimediasi sel melalui sel NK, sitotoksitas seluler yang bergantung pada antibodi, dan aktivitas fagositosis¹⁶⁸. Peninjauan pada mencit yang mengandung tumor, tampak andrografolid meningkatkan aktivitas sel NK melalui peningkatan *Killer Immunoglobulin Receptor* (KIR) dan meningkatkan sekresi *Interleukin 2* (IL-2) dan *Interferon Gamma* (IFN- γ) oleh sel T dan dengan demikian menghambat pertumbuhan tumor¹⁶⁹. Peninjauan lain pada mencit menunjukkan andrografolid menghambat produksi sitokin *Interferon Gamma* (IFN-gamma) dan *Interleukin 2* (IL-2) menginduksi atau meningkatkan proses apoptosis pada sel yang membantu sel kanker untuk mati sendiri¹⁷⁰. Sedangkan pada penelitian di manusia, menunjukkan bahwa andrografolid dapat menurunkan ekspresi *Tumor Necrosis Factor-A* (TNF- α) yang diinduksi *Interseluler Adhesi Molekul-1* (ICAM-1) dan adhesi sel HL-60 ke sel *Human Umbilical Vein Endothelial Cells* (HUVEC), yang berhubungan dengan penyakit inflamasi¹⁷¹.

ICAM-1 merupakan glikoprotein yang terdapat pada permukaan sel dan reseptor adhesi, yang berfungsi sebagai pengatur pergerakan leukosit dari sirkulasi ke tempat peradangan. Ekspresi nya terjadi pada sel endotel vaskular, epitel, dan imun sebagai respons terhadap peradangan. Selain itu, ekspresi ICAM-1 diinduksi oleh berbagai sitokin inflamasi, ekspresi ICAM-1 berperan sebagai pengatur utama berbagai fungsi seluler dalam kondisi patologis. Pada peninjauan sebelumnya, mekanisme *Andrographis paniculata* yaitu penekanan aktivasi *Nuclear Factor K-Light-Chain-Enhancer Of Activated B Cells* (NF- $\kappa\beta$), penurunan ekspresi molekul adhesi sel *E-selectin*, pencegahan adhesi leukosit yang dimediasi *E-selectin*, dan penurunan ekspresi ICAM-1 yang diinduksi *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α) sehingga terjadi hambatan adhesi endotel-monosit³⁰.

Inflamasi merupakan respons fisiologis terhadap berbagai rangsangan seperti infeksi. Inflamasi dimulai dengan inflamasi akut yang merupakan respons awal terhadap kerusakan jaringan. Radang akut memiliki dua komponen utama, yaitu perubahan vaskular dan aktivitas sel.

Pada vaskular terjadi vasokonstriksi dalam hitungan detik setelah jejas, setelah itu terjadi vasodilatasi arteriol yang mengakibatkan peningkatan aliran darah sehingga menimbulkan gejala *rubor* dan *kalor* yang merupakan tanda khas peradangan. Peningkatan neutrofil mulai berkelompok pada permukaan vaskular endotel. Kontraksi sel endotel menyebabkan terbentuknya celah antarsel pada venula post kapiler menyebabkan peningkatan permeabilitas vaskular. Kontraksi sel endotel terjadi segera setelah pengikatan dengan histamin, bradikinin, leukotrien selama 15- 30 menit, diikuti oleh peningkatan *Tumour necrosis factor α* (TNF- α) dan *Interleukin 1* (IL-1). TNF- α , IL-6, IL-1 β menjadi mediator utama inflamasi diproduksi dalam jumlah yang berlebih. Sitokin TNF- α adalah sitokin yang terlibat dalam adhesi dan aktivasi neutrofil dan makrofag, serta koagulasi, dan pembentukan edema, terutama selama peristiwa inflamasi pada lesi endometriosis di jaringan intraperitoneal^{172,173}.

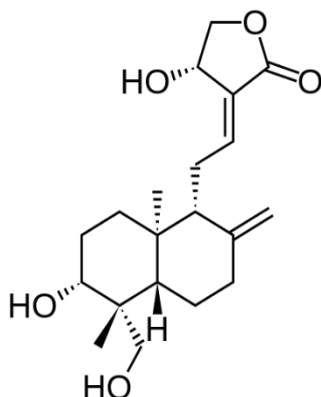
Meningkatnya permeabilitas vaskular menyebabkan aliran cairan kaya protein dan juga sel darah ke jaringan ekstrasvaskular. Hal ini akan mengakibatkan tekanan osmotik cairan interstitial meningkat dan cairan masuk ke dalam jaringan sehingga terjadi penimbunan cairan kaya protein yang disebut dengan eksudat dan menimbulkan edema sebagai manifestasi radang. Pada peninjauan sebelumnya, ditemukan *Andrographolid paniculata* dapat mengurangi ekspresi beberapa gen proinflamasi, termasuk *Cyclooxygenase-2* (COX-2), *Interleukin 6* (IL-6), *Interleukin 8* (IL-8), *Interleukin 1 β* (IL-1 β), Efek anti-inflamasi *Andrographolid* diinduksi dengan menghambat jalur sinyal *Nuclear Factor Kappa-Light-Chain-Enhancer of Activated B Cells* (NF- κ B). Hasil spektrometri massa dan analisis molekuler *docking* yang menunjukkan bahwa *Andrographolid paniculata* berikatan dengan sub-unit NF- κ B p50 pada posisi Cys62¹⁷⁴.

Beberapa peninjauan terdahulu tentang pemberian *andrographolide* pada mencit mampu memodulasi respons imun adaptif humoral dan seluler dengan mengganggu proliferasi sel T dan pelepasan sitokin sebagai respons terhadap stimulasi alogenetik. di mana aktivasi sel T yang dimediasi melalui efek tidak langsung pada *priming* sel T melalui gangguan maturasi sel dendritik dan presentasi antigen. *Andrographolid paniculata* juga

menunjukkan efek anti-apoptosis pada sel T yang menunjukkan bahwa efek penghambatan yang diamati pada produksi sitokin. Ekstrak *Andrographis paniculata* telah terbukti menghambat sekresi *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α) dan *Interleukin 1 Beta* (IL-1 β) dari garis sel mirip makrofag yang distimulasi *Lipopolysaccharide Stimulated RAW264*. LPS RAW264.7 melalui penghambatan sinyal NF- κ B pada peninjauan menggunakan media *cell line*. Hasil ini konsisten dengan tinjauan lain yang menunjukkan bahwa aktivasi sel T oleh *Dendritik Cell* (DC) menyajikan antigen ke sel T yang merupakan respons sistem imun *innate* maupun adaptif dapat ditekan oleh *Andrographis paniculata*^{175,176}.

2. Kandungan Bahan Aktif dalam Tanaman Sambiloto

Tampak pada Gambar 2.15 struktur andrografolid merupakan diterpenoid labdane yang telah diisolasi dari batang dan daun *Andrographis paniculata*, di mana kandungannya dijumpai pada tanaman sambiloto bersama zat lain, di antaranya diterpene lakton dan glikosidanya, seperti *andrografolid*, *deoxyandrografolid*, *11,12-didehydro-14-deoxyandrographolide*, dan *neoandrografolid*. Unsur flavonoid juga terdapat pada tanaman ini. Daun dan percabangannya lebih banyak mengandung lakton, sedangkan komponen flavonoid dapat diisolasi dari akarnya, yaitu *polimetoksiflavan*, *andrografen*, *panikulin*, *mono-O-metil within*, dan *apigenin-7,4 dimetileter*. Selain komponen lakton dan flavonoid, pada tanaman sambiloto ini juga terdapat komponen alkana, keton, aldehyd, mineral (kalsium, natrium, kalium), asam kersik, dan damar¹⁷⁷.



Gambar 2.15 Struktur dari andrografolid

(oleh Bunthawong R et al., Bioorg Med Chem Lett)¹⁵⁵

Kadar senyawa andrografolid dari ekstrak kental sambiloto dalam bentuk bubuk yang diproduksi oleh Sigma-Aldrich MERCK → merupakan senyawa kimia lain yang sudah diisolasi dari daun yang juga pahit *Diterpenoid viz, Deoxy Andrographolide- 19β-D-glucosid*, dan *neo-andrografolid*. *Andrografolid (C₂₀H₃₀O₅)* yang merupakan komponen aktif yang merupakan golongan *Trihidroksi Lakton* dan mengandung *Diterpen Lakton* sehingga mudah larut dalam pelarut organik seperti metanol, etanol, dan aseton, serta dalam pelarut nonorganik seperti asam piridin dan asam asetat. Adanya cincin *Benzene* menyebabkan tingginya titik leleh andrografolid, yaitu 228°C-230°C. Sifat fisika lainnya adalah spektrum ultraviolet dalam etanol dengan panjang gelombang maksimum 223nm¹⁷⁸.

3. Potensi Anti-Inflamasi pada Andrografolid

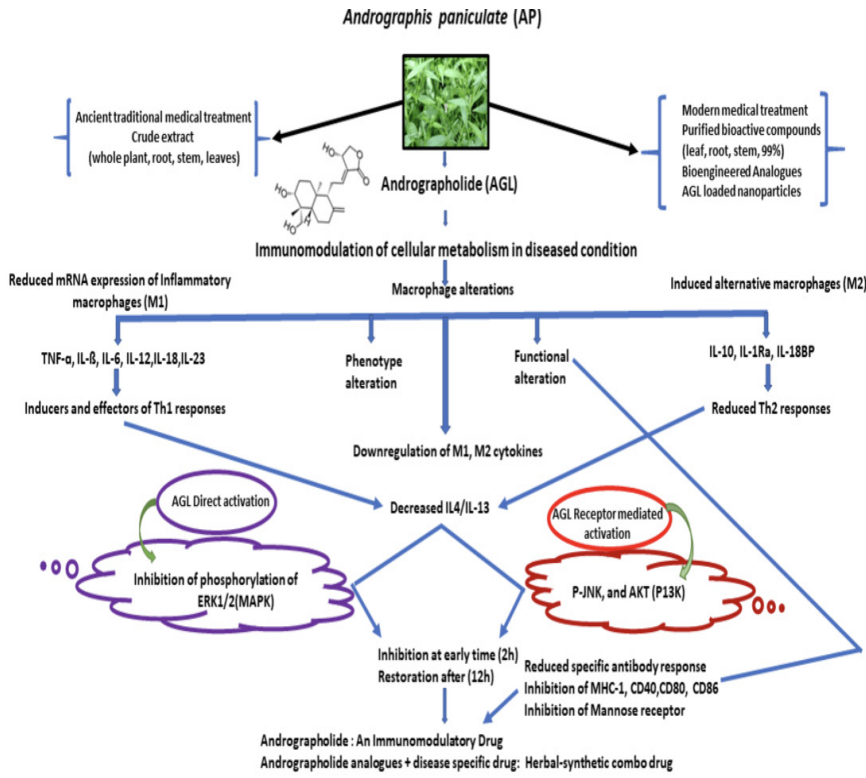
Andrografolid memiliki potensi yang besar sebagai obat anti-inflamasi dengan berbagai mekanisme kerja. Menurut hasil beberapa peninjauan yang telah dilakukan, Andrografolid bekerja pada sel RAW 264.7 dengan menghambat ekspresi protein *Inducible Nitric Oxide Synthase* (iNOS), pada sel neutrofil dengan menghambat produksi radikal oksigen¹⁵, pada sel fibroblas manusia dengan menghambat ekspresi

Cyclooxygenase Isoenzymes, sel *Human Promyelocytic* (HL-60) sebagai anti inflamasi pada manusia dengan menghambat aktivasi NFκB dengan secara langsung menghambat ekspresi gen pro-inflamasi dan dengan memanipulasi inflamasi¹⁷⁹.

Kerusakan sel karena inflamasi akibat endometriosis menyebabkan pelepasan enzim lisosom dari leukosit melalui aksinya pada membran sel. Selain itu, berbagai jenis sel imun terlibat dalam proses angiogenesis dengan memproduksi sitokin proinflamasi dan angiogenik, serta dengan meningkatkan konsentrasinya dalam cairan peritoneum yang membentuk lesi endometriotik¹⁸⁰. Proses angiogenesis lesi endometriotik terjadi pasca infiltrasi neutrofil dan makrofag yang menyekresi *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) ke dalam lesi serta di dalam rongga peritoneum, menunjukkan peran penting yang dimainkan oleh infiltrasi leukosit pada model mencit endometriosis. Selain itu, sel dendritik telah menunjukkan keterlibatannya dalam angiogenesis dan terjadi peningkatan distribusi *Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-2* (VEGFR-2) perivaskular yang menginduksi migrasi sel endotel in vitro untuk mengekspresikan sel dendrit yang imatur pada lesi endometriotik dengan kemampuan. Kehadiran sel dendrit dalam rongga peritoneum mengakibatkan pertumbuhan lesi endometriotik dan vaskularisasi lesi endometriotik yang berlebih pada model mencit endometriosis¹⁸¹.

Pemberian *Andrographis paniculata* (sambiloto) secara oral menunjukkan efek anti-inflamasi yang sangat signifikan pada *pathogen-induced* mencit. Efek anti-inflamasi ditunjukkan melalui penekanan pada infiltrasi sel neutrofil dan limfosit, penurunan produksi sitokin dan kemokin. Mekanisme ini melibatkan aktivasi pada jalur *Nuclear Factor Kappa-Light-Chain-Enhancer of Activated B Cells* (NF-κB). merupakan suatu kompleks protein yang pada keadaan istirahat akan berikatan kovalen dengan Ikappab Kinase (IκB) yang terletak pada sitoplasma sel. Hal ini dilakukan dengan menstimulasi protein penghambat siklus sel p27 dan mengurangi ekspresi *Cyclin-Dependent Kinase 4* (CDK4)¹⁸². Peningkatan proliferasi limfosit dan produksi Interleukin 2 (IL-2) merupakan bukti aktivitas imunostimulator *Andrographis paniculata* yang

juga meningkatkan produksi TNF dan ekspresi penanda *Cyclin-Dependent Kinase 4* (CDK4). Hal ini juga mengindikasikan peningkatan aktivitas sitotoksik limfosit melawan sel kanker¹⁸³. *Andrographis paniculata* meningkatkan aktivitas enzim perlindungan antioksidan, termasuk katalase, superoksida dismutase, dan *glutathione-S-transferase*, sekaligus menurunkan kadar *glutathione*, dengan menurunkan kadar zat reaktif asam tiobarbiturat, dan meningkatkan konsentrasi *glutathione*. Ekstrak tumbuhan ini secara signifikan menghambat aktivitas sitokin inflamasi yang ditunjukkan dari peningkatan *Reactive oxygen species* (ROS). Akumulasi ROS yang dimediasi phorbol-12-myristate-13-acetate (PMA) dan neutrofil yang distimulasi N *formil metionil leucyl phenylalanine* (fMLP) dapat dicegah melalui asupan *Andrographis paniculata* pada model hewan. Hal ini menunjukkan kemampuan andrografolid dalam menangkap radikal bebas untuk meminimalkan stres oksidatif dan zat reaktif asam tiobarbiturat. Ekstraksi *Andrographis paniculata* berikatan secara kovalen dengan sistein p50 dan Cys62 untuk mencegah oligonukleotida NF-kB berikatan dengan protein inti. Akibatnya, hal ini mengurangi ekspresi *E-selectin* dan selanjutnya menghambat adhesi leukosit yang dimediasi *E-selectin* dengan menekan aktivasi NF-kB pada sel endotel yang terstimulasi di mana terjadi adhesi sel endometriosis ke sel endotel dan angiogenesis pada organ peritoneum. Dengan memblokir ekspresi *E-selectin*, andrografolid mencegah sel endometrium menempel pada endotelium pada organ peritoneum yang diaktifkan oleh reaksi sitokin inflamasi. Hal ini ditunjukkan kemungkinan mekanisme yang digunakan oleh *Andrographis paniculata* dalam menargetkan inflamasi seperti pada Gambar 2.16^{176,184,185}.



Gambar 2.16 Efek Andrografolid terhadap mekanisme imunomodulator

(oleh Rajanna M et al., J Ayurveda Integr Med, 2021)¹⁵⁶

Toll-like receptor (TLR) adalah mediator penting jalur inflamasi di usus yang memainkan peran utama dalam memediasi respons imun terhadap berbagai turunan patogen dan menghubungkan imunitas adaptif dengan imunitas bawaan. Saat TLR pada permukaan sel mengenali patogen, akan terjadi fosforilasi dan degradasi I κ B sehingga NF- κ B akan mengalami translokasi nukleus dan berikatan dengan *cis-acting* NF- κ B *enhancer element* sehingga memicu ekspresi mediator proinflamasi seperti IL-1 β dan IL-6. Produksi berlebih dari lesi endometriosis memicu Nitrit Oksida (NO) dan prostaglandin E2 (PGE2), karena ekspresi isoform yang diinduksi dari *Nitric Oxide Synthase* (iNOS) dan *Cyclooxygenase-2* (COX-2), memainkan peran penting dalam proses inflamasi makrofag yang diaktifkan. Sekresi sitokin proinflamasi dari makrofag dirangsang

dan dipromosikan oleh lipopolisakarida (LPS), yang menyebabkan induksi iNOS, menghasilkan peningkatan produksi NO. Ekstrak metanol *Andrographis paniculata* dan *Andrographolide* yang diinkubasi dengan makrofag telah dilaporkan menghambat produksi NO yang dirangsang LPS dengan cara yang bergantung pada konsentrasi^{13,186}.

Hasil peninjauan sebelumnya menunjukkan bahwa *Andrographolide* dapat menghambat adhesi neutrofil dengan cara menekan upregulasi dari *Macrophage-1* antigen (Mac-1). *Andrographolide* juga dapat menghambat produksi *macrophage inflammatory protein* (MIP)-2 pada makrofag Raw 264,7 yang distimulasi dengan LPS/INF- γ dan pada peritoneal makrofag mencit yang diinduksi endotoxemia (toksin pada bakteri gram negatif berupa lipopolisakarida pada membran luar dari dinding sel yang pada keadaan tertentu bersifat toksik pada inang tertentu). Kelebihan andrografolid sebagai anti-inflamasi adalah kemampuannya sebagai gastroprotektif yang tidak ditemukan pada penggunaan NSAID karena merusak gastrointestinal akibat penghambatan *cyclooxygenase-2* (COX- 2). Efek ini menyebabkan mukus dalam jumlah lebih pada jaringan lambung hewan uji. Selain itu, andrografolid juga bekerja dengan menurunkan jumlah pepsin dalam cairan asam lambung secara signifikan^{185,187}.

Menurut peninjauan yang dilakukan secara *in vivo*, andrografolid akan bekerja terhadap COX-2 setelah membentuk ikatan hidrogen dengan situs pengikatan Arg513 dengan SC-558 pada andrografolid. Kandungan fitokimia dalam sambiloto adalah flavonoid dan lakton pada andrografolid, yaitu senyawa lakton utama pada sambiloto yang sudah diisolasi dalam bentuk murni dan telah dilakukan uji aktivitas farmakologis dan memiliki beberapa aktivitas farmakologi seperti immunosupresan, antitrombotik, antivirus, serta anti-inflamasi¹⁸⁸. Beberapa peninjauan terdahulu juga melaporkan bahwa ditemukan sejumlah kecil kasus urtikaria (reaksi kulit yang ditandai dengan benjolan atau papula yang tiba-tiba, disertai rasa gatal). Hal ini terjadi dengan penggunaan 30 mg andrografolid, tiga kali sehari dan dapat menyebabkan ketidaknyamanan lambung, muntah, dan kehilangan nafsu makan^{189,190}.

4. Bioavailabilitas pada Andrografolid

Andrografolid merupakan komponen aktif utama dalam herba sambiloto (*Andrographis paniculata*). Komponen aktif ini memiliki beberapa aktivitas farmakologi seperti sebagai immunosupresan, antitrombotik, antivirus, antioksidan, serta anti-inflamasi. Andrografolid sebagai anti-inflamasi dan antioksidan bekerja meningkatkan ekspresi enzim *Fosfoinositida 3-Kinase* (P-PI3K), *Protein Kinase B* (P-AKT), dan *Polymorphisme Synthase Nitrat Oksida Endotel* (P-eNOS) yang dihambat oleh disfungsi endotel, sehingga menekan ekspresi gen *Interleukin 1 β* (IL-1 β), *Interleukin 6* IL-6, *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF α), ekspresi *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) dan *Tumor Growth Factor- β* (TGF- β)¹⁹¹. Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees.) telah banyak diketahui memiliki efek farmakologi, salah satunya sebagai anti-inflamasi. Salah satu golongan senyawa yang terkandung dalam sambiloto adalah flavonoid yang berperan dalam penghambatan proses inflamasi. Inflamasi atau radang merupakan suatu respons protektif normal terhadap luka atau jaringan yang disebabkan oleh trauma fisik, zat kimia yang merusak atau zat-zat mikrobiologik. Inflamasi adalah usaha tubuh untuk menginaktivasi atau merusak organisme yang menyerang, menghilangkan zat iritan dan mengatur derajat perbaikan. Inflamasi juga dicetuskan oleh pelepasan mediator kimiawi dari jaringan yang rusak^{31,192}.

Peninjauan Hiroki Doi *et al.*, pada *cell culture* menunjukkan efek anti-inflamasi andrografolid menyebabkan penekanan aktivitas *Tumor Necrosing Factor Alpha* (TNF- α) atau *Interleukin 6* (IL-6) melalui penghambatan *Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells* (NF- κ B). TNF- α dan IL-6 merupakan mediator inflamasi utama dan diproduksi di makrofag yang terstimulasi oleh lipopolisakarida (LPS) yang terlokalisasi pada membran luar bakteri gram-negatif. Sitokin pro-inflamasi, termasuk TNF- α dan IL-6, diproduksi melalui *Toll-like receptor 4* (TLR4) pada makrofag yang teraktivasi LPS. TNF- α , salah satu sitokin yang terlibat dalam reaksi fase akut, mengatur sel imun dan menghambat tumorigenesis dengan menginduksi apoptosis atau inflamasi. IL-6 merupakan mediator penting respons inflamasi dan berhubungan dengan diferensiasi dan pertumbuhan pada banyak tumor. Sitokin inflamasi

ini diatur oleh NF- κ B, yang mengontrol tidak hanya respons inflamasi, tetapi juga proses biologis seperti kelangsungan hidup sel, proliferasi, diferensiasi, dan homeostasis sel¹⁹³.

Menurut peninjauan Gupta *et al.*, andrografolid menurunkan faktor inflamasi lebih efektif dibandingkan deksametason pada mencit dengan penyakit rheumatoid arthritis (RA) ketika 100 mg/kg diberikan ke setiap hewan pada hari ke 1, 3, dan 5. Dalam peninjauan ini, variabel inflamasi COX-2, NF-B, CD40, TNF-, IL-1, dan IL-6 mengalami penurunan. MCP-1, hs-CRP, dan IL-1 adalah jalur inflamasi lain yang mampu ditekan oleh andrografolid. Mekanisme ini telah dibuktikan oleh Shu *et al.*, dalam studi *in vivo*. Tinjauan terdahulu menemukan beberapa interleukin yang dihambat oleh andrografolid, yaitu IL-23, IL-1 β , IL-6, IL-17A, dan IL-1. Peninjauan lain yang dalam menilai efek andrografolid pada mencit dengan penyakit rheumatoid arthritis, menemukan bahwa dibandingkan dengan monoterapi, terapi andrografolid dan metotreksat secara bersamaan menghasilkan hasil terapi yang lebih baik dengan penurunan hepatotoksitas dan peningkatan manfaat anti-rematik¹⁹⁴⁻¹⁹⁶.

Tinjauan terdahulu menggunakan model mencit transgenik dengan penipisan sel dendrit dan menemukan bahwa lesi endometriosis pada mencit yang kekurangan sel dendrit memiliki ukuran yang jauh lebih besar dibandingkan dengan kontrol dan menunjukkan penurunan ekspresi CD69, sebagai penanda aktivasi sel T dan sel NK dan mengatur proses angiogenik, serta bagian dari aktivasi imun selama perkembangan lesi endometriosis^{178,197}.

J. Mencit dengan Endometriosis

Lesi endometriosis yang menginfiltrasi peritoneum >5 mm didefinisikan sebagai endometriosis infiltrasi susukan dalam atau *Deep Infiltrating Endometriosis* (DIE) dikenal sebagai bentuk klinis endometriosis yang paling parah dan dibutuhkan penatalaksanaan klinis komprehensif. Terapi yang ada saat ini masih merupakan terapi yang menghilangkan gejala, sehingga membutuhkan pemahaman mengenai patofisiologi DIE, yang

mungkin disebabkan oleh kurangnya model hewan yang sesuai. Model DIE yang diterapkan pada babon dengan pencangkokan *autologous* jaringan uterus besar (baik endometrium maupun uterus dengan ketebalan penuh) ke dalam peritoneum dan menunggu selama 5-6 bulan telah dilaporkan¹⁹⁸. Meskipun merupakan langkah signifikan dalam memperoleh wawasan lebih lanjut mengenai patofisiologi endometriosis, tetapi model ini masih sangat mahal dan memerlukan fasilitas dan keahlian dalam penggunaan primata non-manusia sehingga sebagian besar laboratorium tidak dapat menggunakannya. Sebaliknya, model endometriosis hewan pengerat seperti mencit, akan jauh lebih menarik secara ekonomi dan logistik⁴⁰.

Namun, dalam lebih dari 20 tahun terakhir, model hewan pengerat DIE telah dicoba tetapi sejauh ini tidak menghasilkan hasil yang signifikan. Mencit (*mus musculus*) galur BALB/C dinilai mempunyai keunggulan lebih baik dibandingkan tikus sebagai pengembangan model praklinis dalam penelitian biomedis. Pertama, ukurannya yang lebih kecil, siklus estrus dan kehamilan yang lebih pendek, serta latar belakang yang homogen secara molekuler memungkinkan peninjauan pada kelompok hewan yang lebih besar, sehingga memfasilitasi pencapaian kekuatan biologis dan statistik dalam peninjauan eksperimental. Kedua, mencit adalah spesies yang memiliki anotasi yang baik secara molekuler, sehingga memungkinkan peneliti memanfaatkan sejumlah besar alat interogatif untuk menyelidiki kondisi penyakit multifaktorial yang kompleks^{142,199}.

Manipulasi perubahan target gen kandidat membuat mencit sangat cocok untuk membedah dasar molekuler dari patogenesis penyakit. Namun, mencit, seperti anggota keluarga hewan pengerat lainnya, umumnya tidak mengalami menstruasi dan tidak mengalami endometriosis secara spontan. Akibatnya, tinjauan sebelumnya yang menjadikan hewan coba endometriosis menggunakan mencit memerlukan induksi menstruasi dan transplantasi endometrium untuk induksi lesi endometriotik. Menstruasi dan desidualisasi spontan dilaporkan terjadi pada mencit berduri (*Acomys cahirinus*) yang memiliki sistem reproduksi tertutup dan cukup rentan terhadap preferensi makanan^{200,201}.

Pada peninjauan sebelumnya telah dilakukan pengembangan model mencit (*Mus musculus*) galur BALB/C endometriosis yang memasukkan endometriosis ke dalam peritoneum dengan meniru gambaran estrogenik dan inflamasi pada lesi peritoneum manusia. Pada tinjauan ini, menstruasi diinduksi pada mencit donor dewasa (berusia sekitar 8 minggu) yang kemudian diberikan suntikan 100 ng estradiol-17 β (hari ke-7 hingga ke-9), dan diberi pakan progesteron (P4; Sigma-Aldrich, Dorset, UK) yang diberikan melalui implan 5 ng estradiol-17 β dari SILASTIC (Dow Corning Corp, Midland, MI) dari hari ke-13 hingga ke-19 dan terjadi desidualisasi diinduksi pada uterus dan jaringan endometrium dalam proses pelepasan dari tanduk desidualisasi diambil dari mencit yang dieutanasia pada hari ke-19²⁰².

Peninjauan terdahulu yang menggunakan mencit (*Mus musculus*) galur BALB/C mendekati mekanisme teori inflamasi dengan memasukkan fragmen endometrium segar sehingga terjadi mereplikasi implantasi spontan endometrium yang dipindahkan ke tempat ektopik. Pertimbangan menyeluruh terhadap faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan lesi, seperti hormon dan varian genetik, juga merupakan hal mendasar dalam pemilihan model murine yang ideal, setelah tiga minggu terjadi pada tingkat yang jauh lebih tinggi ketika induksi terjadi selama proestrus dibandingkan estrus, terlepas dari strainnya. Mencit (*Mus musculus*) galur BALB/C lebih mungkin mengalami lesi tipe padat. Studi terdahulu menunjukkan bahwa fase siklus dan hormon serta genetika yang terkait dengan strain dapat mempengaruhi patogenesis lesi yang berhubungan dengan siklus hormonal pada wanita selama menstruasi, hormon steroid seks rendah, dan sistem kekebalan tubuh lebih aktif. Lesi diperkirakan tumbuh ketika kadar estrogen meningkat selama fase proliferasi siklus menstruasi (>5 hari)²⁰¹. Tinjauan lain membahas tentang pembentukan endometriosis dari manusia pada mencit (*Mus musculus*) galur BALB/C betina diberikan injeksi intraperitoneal endometriosis ke rongga peritoneum mencit (*Mus musculus*) galur BALB/C. Proses implantasi endometriosis manusia ke rongga peritoneum mencit (*Mus musculus*) galur BALB/C hingga menjadi endometriosis susukan dalam (DIE) membutuhkan waktu 14 hari²⁰³.

Terdapat variasi antarpeneriksaan dan mencakup saline yang membutuhkan media *Modified Eagle Medium Dulbecco* (DMEM) agar dapat meniru salinitas dan pH rongga peritoneum sehingga jaringan endometriosis yang disuntikkan dapat mempertahankan kelangsungan hidup pada mencit. Jaringan dari manusia disuspensikan menjadi 200-500 µl larutan yang kemudian disuntikkan ke dalam rongga peritoneum^{88,201}.

Meskipun injeksi endometrium intraperitoneal lebih mendekati patofisiologi menstruasi retrograde dibandingkan metode implantasi bedah, tetapi tidak ada perbedaan bermakna dalam hal jumlah, distribusi, dan fenotipe lesi. Lesi pada model injeksi intraperitoneal seringkali terletak di jaringan lemak di sekitar kandung kemih, peritoneum parietal, serta peritoneum visceral rahim dan usus. Rata-rata model ini menghasilkan 2-3 lesi yang mengandung kelenjar berlapis epitel dengan stroma terorganisir, infiltrasi imun makrofag yang mengandung hemosiderin, dan area fibrotik. Lesi kistik adalah nodul berisi cairan dengan warna mulai dari putih, merah muda, hingga cokelat yang menampilkan kelenjar dan stroma endometrium. Lesi kistik mengalami vaskularisasi dan disusupi sel inflamasi. Lesi padat berwarna hitam/cokelat dan merah tua, berisi makrofag hemosiderin dan sel imun lainnya, serta dibungkus oleh jaringan ikat. Lesi ini memiliki ukuran dan berat yang bervariasi yang disebabkan oleh jumlah jaringan dan ukuran fragmen yang bervariasi yang disuntikkan pada kelompok yang berbeda²⁰⁴.

1. Perubahan Sistem Imun Mencit Endometriosis

Makrofag rongga peritoneum adalah salah satu populasi makrofag yang paling banyak dipelajari pada tikus dan mencit karena kemudahan isolasinya. Dua *subset* makrofag peritoneum dikenali pada mencit berdasarkan ekspresi diferensial F4/80 dan MHC II. Penghuni jaringan, yang disebut *Large Peritoneum Macrophage* (LpM) (karena ukurannya yang lebih besar) adalah F4/80hi, MHC IIlo, dan *Small Peritoneum Macrophage* (SpM) yang diturunkan dari monosit adalah F4/80lo MHC IIhi. LpM adalah populasi makrofag yang paling melimpah di rongga peritoneum dalam keadaan stabil dan membentuk populasi residen

jaringan, mereka bersifat fagositik dan melakukan peran imunosurveilan dan homeostatis dalam rongga peritoneum serta memediasi perekrutan dan pemeliharaan sel B. Pada mencit, populasi LpM terdiri atas sel-sel yang berasal dari embrio, namun makrofag yang berasal dari monosit akan menggantikan LpM yang berasal dari embrio seiring berjalannya waktu, suatu proses yang sangat bergantung pada jenis kelamin dan usia, serta lebih lambat pada mencit betina. Seiring waktu, monosit Ly6Chi yang merupakan glikoprotein yang diekspresikan pada prekursor makrofag/sel dendritik memasuki rongga peritoneum dengan cara yang bergantung pada CCR2 dan berdiferensiasi secara sementara menjadi *Small Peritoneum Macrophage* (SpM), sebelum bertransisi menjadi *Large Peritoneum Macrophage* (LpM) residen jaringan. Dengan demikian, LpM merupakan sel yang berasal dari embrionik dan monosit dan kedua populasi tersebut telah terbukti berbeda secara transkripsi satu sama lain. SpM terlibat dalam respons inflamasi di rongga peritoneum, namun perannya dalam kondisi stabil rongga peritoneum masih belum jelas^{205,124}.

Tinjauan terdahulu oleh Bacci *et al.*,²⁰⁶ yang telah melakukan injeksi intraperitoneal makrofag dalam model eksperimental endometriosis, menunjukkan bahwa transfer adoptif makrofag M2 meningkatkan pertumbuhan endometriosis pada tikus, sedangkan makrofag M1 melindungi mencit dari tumbuhnya endometriosis. Injeksi makrofag *Low-dose lipopolysaccharide* (LPS) mengurangi pertumbuhan lesi dengan menurunkan produksi IL-6 dan TNF- α di peritoneum mencit.

K. Andrografolid untuk Mencit dengan Endometriosis

Tinjauan ini memuat presumsi bahwa kadar TNF- α lebih rendah pada cairan peritoneum setelah pemberian andrografolid pada mencit (*Mus musculus*) galur BALB/C endometriosis yang diberi terapi andrografolid dengan dosis 0,05 mg/kg BB, 0,1 mg/kg BB, dan 0,2 mg/kg BB. Dibandingkan tanpa terapi dan terapi *dienogest* selama 7 hari.

Kemudian kadar IL-17A lebih rendah pada cairan peritoneum setelah pemberian andrografolid pada mencit (*Mus musculus*) galur

BALB/C endometriosis yang diberi terapi andrografolid dengan dosis 0,05 mg/kg BB, 0,1 mg/kg BB dan 0,2 mg/kg BB dibandingkan tanpa terapi dan terapi *dienogest* selama tujuh hari.

Adapun ekspresi VEGF-A pada jaringan intraperitoneal lebih rendah setelah pemberian andrografolid terhadap mencit (*Mus musculus*) galur BALB/C endometriosis yang diberi terapi andrografolid dengan dosis 0,05 mg/kg BB, dosis 0,1 mg/kg BB dan dosis 0,2 mg/kg BB dibandingkan tanpa terapi dan terapi *dienogest* selama tujuh hari pemberian terapi.

Ekspresi P53 pada jaringan intraperitoneal lebih rendah setelah pemberian andrografolid terhadap mencit (*Mus musculus*) galur BALB/C endometriosis yang diberi terapi andrografolid dengan dosis 0,05 mg/kg BB, dosis 0,1 mg/kg BB, dan dosis 0,2 mg/kg BB dibandingkan tanpa terapi dan terapi *dienogest* selama tujuh hari pemberian terapi.

Selain itu, ekspresi Ki-67 pada jaringan intraperitoneal lebih rendah setelah pemberian andrografolid terhadap mencit (*Mus musculus*) galur BALB/C endometriosis yang diberi terapi andrografolid dengan dosis 0,05 mg/kg BB, dosis 0,1 mg/kg BB dan dosis 0,2 mg/kg BB dibandingkan tanpa terapi dan terapi *dienogest* selama tujuh hari pemberian terapi.

Adapun rasio jumlah M1/M2 lebih tinggi pada cairan peritoneum setelah pemberian andrografolid pada mencit (*Mus musculus*) galur BALB/C endometriosis yang diberi terapi andrografolid dengan dosis 0,05 mg/kg BB, 0,1 mg/kg BB, dan 0,2 mg/kg BB. Dibandingkan tanpa terapi dan terapi *dienogest* selama tujuh hari.

Pertumbuhan jaringan endometriosis pada peritoneum menjadi lebih sempit setelah pemberian andrografolid pada mencit (*Mus musculus*) galur BALB/C endometriosis yang diberi terapi andrografolid dengan dosis 0,05 mg/kg BB, 0,1 mg/kg BB, dan 0,2 mg/kg BB. Dibandingkan tanpa terapi dan terapi *dienogest* selama tujuh hari.

Andrografolid untuk Penyakit Endometriosis

A. Pengelompokan Mencit

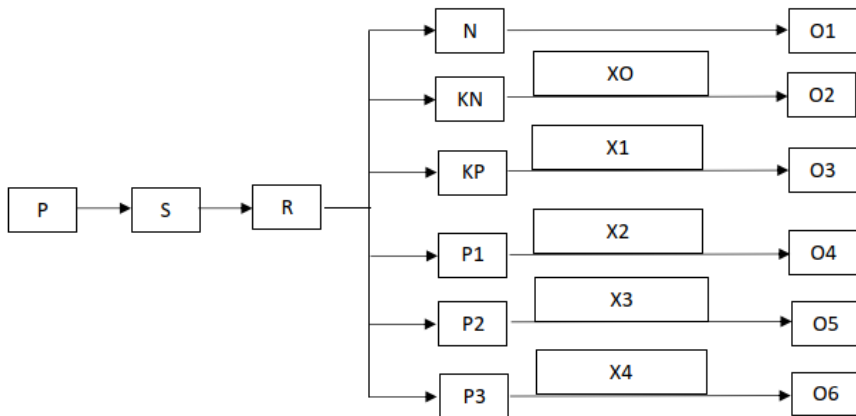
Jenis tinjauan ini yaitu preklinik dengan studi *in vivo* dan rancangan *post test only control group design* di mana *outcome* diukur setelah pemberian perlakuan dari cairan peritoneum yang diambil dari pembedahan. Studi *in vivo* bertujuan untuk menentukan aktivitas dan efek farmakologis dari *Andrographis paniculata* (sambiloto) pada kasus endometriosis setelah diinduksi dengan jaringan endometriosis secara intraperitoneal pada hewan. Peninjauan ini menggunakan mencit (*Mus musculus*) galur BALB/C yang sehat, berat badan 20–30 gram, sebanyak 42 mencit yang terbagi menjadi enam kelompok. Sebelum intervensi, semua hewan coba dipelihara dalam kandang individu dengan ventilasi terbuka, suhu ruangan 21–23°C, dan kelembapan $55 \pm 5\%$.

Sebelum dirandomisasi, mencit putih diaklimatisasi selama tujuh hari. Peninjauan ini dimulai dengan randomisasi menentukan mencit coba yang dijadikan model endometriosis sesuai dengan yang dilakukan pada tinjauan sebelumnya²⁰⁷. Peninjauan ini menggunakan enam kelompok, yaitu kelompok 1 (N) adalah mencit tanpa perlakuan, kelompok 2 (KN) adalah mencit yang diberikan injeksi endometriosis intraperitoneal, kelompok 3 (KP) adalah mencit yang diberikan injeksi endometriosis intraperitoneal kemudian diberikan terapi *dienogest*, kelompok 4 (P1) adalah yang diberikan injeksi endometriosis intraperitoneal kemudian diberi

andrografolid dengan dosis 0,05 mg/kg BB selama tujuh hari, kelompok 5 (P2) adalah yang diberikan injeksi endometriosis intraperitoneal kemudian diberi andrografolid dengan dosis 0,1 mg/kg BB selama tujuh hari, dan kelompok 6 (P3) adalah yang diberikan injeksi endometriosis intraperitoneal kemudian diberi andrografolid dengan dosis 0,2 mg/kg BB selama tujuh hari.

Penjelasan mengenai 6 kelompok mencit adalah sebagai berikut:

1. Kelompok Kontrol Normal (N) adalah kelompok tanpa perlakuan apapun.
2. Kelompok Kontrol Negatif (KN) adalah kelompok yang diberi perlakuan berupa injeksi endometriosis intraperitoneal tanpa terapi apapun.
3. Kelompok Kontrol Positif (KP) adalah kelompok yang diberi perlakuan berupa injeksi endometriosis intraperitoneal yang setelah 14 hari diberikan terapi standar yaitu *dienogest* dengan dosis 0,005 mg/kg BB selama tujuh hari.
4. Kelompok Perlakuan pertama (P1) adalah kelompok yang diberi perlakuan berupa injeksi endometriosis intraperitoneal yang setelah 14 hari tanpa terapi standar diberikan *Andrographis paniculata* dengan dosis 0,05 mg/Kg BB selama tujuh hari.
5. Kelompok Perlakuan kedua (P2) adalah kelompok yang diberi perlakuan berupa injeksi endometriosis intraperitoneal yang setelah 14 hari tanpa terapi standar diberikan *Andrographis paniculata* dengan dosis 0,1 mg/Kg BB selama tujuh hari.
6. Kelompok Perlakuan ketiga (P3) adalah kelompok yang diberi perlakuan berupa injeksi endometriosis intraperitoneal yang setelah 14 hari tanpa terapi standar diberikan *Andrographis paniculata* dengan dosis 0,2 mg/Kg BB selama tujuh hari.



Gambar 3.1 Pengelompokan Mencit

Keterangan:

P : Populasi mencit putih

S : Sampel mencit putih

R : Randomisasi

N : Kelompok normal yang tidak diberi perlakuan apapun

KN : Kelompok kontrol negatif, diberikan injeksi intramuskuler siklosporin A 0,2 mg/kg BB dan estrogen 0,1 mg/kg BB, injeksi endometriosis intraperitoneal, dan tidak diberikan terapi.

KP : Kelompok kontrol positif, injeksi intramuskuler siklosporin A 0,2 mg/kg BB dan estrogen 0,1 mg/kg BB diberikan injeksi endometriosis intraperitoneal dan diberikan terapi *dienogest* sebagai terapi standar dengan dosis 0,005 mg/kg BB selama tujuh hari.

P1 : Kelompok 1, diberikan injeksi intramuskuler siklosporin A 0,2 mg/kg BB dan estrogen 0,1 mg/kg BB injeksi endometriosis intraperitoneal, serta diberikan terapi *andrographolide* dengan dosis 0,05 mg/kg BB.

P2 : Kelompok 2, injeksi intramuskuler siklosporin A 0,2 mg/kg BB dan estrogen 0,1 mg/kg BB diberikan injeksi endometriosis intraperitoneal dan diberikan terapi *andrographolide* dengan dosis 0,1 mg/kg BB.

P3 : Kelompok 1, injeksi intramuskuler siklosporin A 0,2 mg/kg BB dan estrogen 0,1mg/kg BB diberikan injeksi endometriosis intraperitoneal dan diberikan terapi *andrographolide* dengan dosis 0,2 mg/kg BB.

- X0 : Induksi positif (Injeksi endometriosis intraperitoneal).
- X1 : Induksi positif + terapi *dienogest* dengan dosis 0,005 mg/kg BB selama tujuh hari.
- X2 : Induksi positif + terapi *andrographolide* dengan dosis 0,05 mg/kg BB.
- X3 : Induksi positif + terapi *andrographolide* dengan dosis 0,1 mg/kg BB.
- X4 : Induksi positif + terapi *andrographolide* dengan dosis 0,2 mg/kg BB.
- O1 : Jumlah Makrofag M1, Jumlah Makrofag M2, kadar TNF α , kadar IL 17A, ekspresi VEGF-A, P53 dan Ki-67 pada jaringan intraperitoneal di kelompok normal.
- O2 : Jumlah Makrofag M1, Jumlah Makrofag M2, kadar TNF α , kadar IL 17A, ekspresi VEGF-A, P53 dan Ki-67 pada jaringan intraperitoneal di kelompok kontrol negatif.
- O3 : Jumlah Makrofag M1, Jumlah Makrofag M2, kadar TNF α , kadar IL 17A, ekspresi VEGF-A, P53 dan Ki-67 pada jaringan intraperitoneal di kelompok kontrol positif, yaitu kelompok yang diberi induksi positif + terapi *dienogest*.
- O4 : Jumlah Makrofag M1, Jumlah Makrofag M2, kadar TNF α , kadar IL 17A, ekspresi VEGF-A, P53 dan Ki-67 pada jaringan intraperitoneal di kelompok perlakuan 1, yaitu kelompok yang diberi Induksi positif + terapi *andrographolide* dengan dosis 0,05 mg/kg BB.
- O5 : Jumlah Makrofag M1, Jumlah Makrofag M2, kadar TNF α , kadar IL 17A, ekspresi VEGF-A, P53 dan Ki-67 pada jaringan intraperitoneal di kelompok perlakuan 2, yaitu kelompok yang diberi Induksi positif + terapi *andrographolide* dengan dosis 0,1 mg/kg BB.
- O6 : Jumlah Makrofag M1, Jumlah Makrofag M2, kadar TNF α , kadar IL 17A, ekspresi VEGF-A, P53 dan Ki-67 pada jaringan intraperitoneal di kelompok perlakuan 2, yaitu kelompok yang diberi Induksi positif + terapi *andrographolide* dengan dosis 0,2 mg/kg BB.

Pengendalian validitas internal:

- a. Jenis kelamin
- b. Umur
- c. Berat badan
- d. Varietas mencit BALB/C
- e. Pakan menggunakan bahan pakan dengan komposisi standar yang terdiri atas karbohidrat, protein, dan lemak
- f. Pemeliharaan dengan kandang yang individual
- g. Lingkungan tidak membuat stres

B. Kriteria Mencit Terpilih

Peninjauan ini menggunakan mencit (*Mus musculus*) BALB/C di Laboratorium Rekayasa Hewan Fakultas Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Mencit yang dipilih yaitu BALB/C yang sehat, berat badan 20-30 g, umur 2-3 bulan yang diperoleh dari Pusat Veterinaria Farma Surabaya, dan dipelihara dalam kandang individu dengan ventilasi terbuka, suhu ruangan 21-23°C dan kelembapan 55 ± 5%, dan penerangan terang 12 jam (pukul 07.00-19.00), kegelapan 12 jam (pukul 19.00-07.00).

Kriteria inklusi mencit yaitu mencit (*Mus musculus*) BALB/C yang tanpa induksi dan yang telah diinduksikan dengan suntikan intraperitoneal (IP) tunggal dengan 400 mg jaringan endometrium yang telah di ekstrak. Mencit betina dan berwarna putih dengan berat badan 20-30 gram. Usia mencit yaitu 2-3 bulan serta dalam keadaan sehat dan lincah. Adapun kriteria eksklusi dari mencit yaitu pernah dipakai sebagai hewan coba peninjauan lain, memiliki cacat tubuh yang tampak dari pengamatan luar, perilaku berubah lemah dan tidak aktif bergerak atau cedera (mencit sakit), dan mencit tampak sakit. Kriteria *drop out* dari mencit yaitu mati pada saat penelitian berlangsung, dan luka terjepit kandang setelah mendapat perlakuan.

Pemilihan secara acak sederhana dilakukan pada mencit (*Mus musculus*) BALB/C untuk menghindari bias karena faktor umur dan berat badan. Randomisasi langsung dapat dilakukan karena pengambilan mencit (*Mus musculus*) BALB/C yang telah memenuhi syarat sehingga dianggap cukup. Masing-masing kelompok perlakuan menggunakan tujuh mencit (*Mus musculus*) BALB/C. Angka tersebut diperoleh dari perhitungan jumlah sampel menurut Federer²⁰⁸.

Rumus Federer = $(n-1) (t-1) \geq 15$ (Keterangan: n: besar sampel setiap kelompok T: jumlah kelompok). Menurut rumus Federer, banyaknya sampel yang diperlukan:

$$(n-1) (t-1) \geq 15$$

$$(n-1) (T-1) \geq 15$$

$$(n-1) (6-1) \geq 15$$

$$(n-1) (5) \geq 15$$

$$(n) > 5+1$$

$$(n) 6$$

$$Do = 10\%$$

$$Ndo = 6/(1-0,9) = 0,44 = 6,66$$

7 mencit

Jumlah mencit yang digunakan yaitu tujuh ekor. Hal ini dilakukan untuk memudahkan penulis dalam perhitungan analisis data. Sehingga jumlah mencit (*Mus musculus*) BALB/C yang digunakan pada peninjauan ini sebanyak 42 ekor.

C. Dosis Andrografolid

Berdasarkan dari beberapa peninjauan, sambiloto digunakan untuk memperbaiki kondisi tubuh dalam bentuk sediaan serbuk/bubuk yang dimasukkan dalam kapsul digunakan dengan dosis 60 mg/hari (pada berat badan orang Indonesia rata-rata 50 kg). Dosis obat yang dipakai pada manusia dengan berat badan 70 kg dikonversikan ke mencit dengan berat badan 20 gr dikalikan faktor konversi 0,0026. Sehingga andrografolid pada mencit BALB/C 20 g adalah $60 \text{ mg} \times 0,0026 = 0,15 \text{ mg/kg BB/hari}$, kemudian dibulatkan menjadi $0,1 \text{ mg/kg BB/hari}$. Untuk mencari efikasi dosis terapi, maka dibagi mejadi 3 dosis, di mana dosis terapi kelompok pertama $1/2 \times 0,1 \text{ mg/kg BB} = 0,05 \text{ mg/kg BB}$, dosis terapi kelompok kedua 0.1 mg/kg BB , dan dosis terapi kelompok ketiga adalah $0,2 \text{ mg/kg BB}$.

D. Dosis Dienogest

Dienogest merupakan terapi standar yang bermanfaat untuk menangani endometriosis, yaitu kondisi ketika jaringan dinding rahim tumbuh di tempat lain, seperti organ intraperitoneal. *Dienogest* termasuk dalam kelompok obat progestogen, yaitu bentuk sintetik dari hormon progesteron. Obat ini bekerja dengan menurunkan jumlah hormon estrogen di dalam

tubuh, dipasarkan dengan nama dagang Visanne yang mengandung bahan aktif 2 mg *dienogest*/hari. Sehingga dosis *dienogest* pada mencit BALB/C adalah $2 \text{ mg} \times 0,0026 = 0,005 \text{ mg/kg BB/hari}$.

E. Andrografolid dalam Tanaman Sambiloto

Andrografolid adalah senyawa aktif utama dalam tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*) yang termasuk dalam kelompok diterpenoid lakton. Senyawa ini dikenal karena berbagai aktivitas farmakologis, seperti anti-inflamasi, dan antioksidan yang akan diberikan pada kelompok P1 dosis 0,05 mg/kg BB, P2 dosis 0,1 mg/kg BB dan P3 dosis 0,2 mg/kg BB. Unit andrografolid yaitu Kg BB dan skala mg.

Kadar TNF α yaitu cairan peritoneum diambil dari cairan *supernatant* yang telah disentrifuge kemudian diukur menggunakan metode *Enzyme Linked-Immunoassay* (ELISA) dengan kit *Bio Assay Technology Laboratory* (BT Lab) dengan nilai normal 10-100 pg/ml. Unit kadar TNF α yaitu pg mL dan skala rasio.

Ekspresi VEGF A pada jaringan ektopik endometrium di luar uterus (ekstra pelvis) sel imunoreaktif yang mengekspresikan VEGF setelah *staining* dengan metode imunohistokimia menggunakan antibodi VEGF dengan kit *Bio Assay Technology Laboratory* (BT Lab) yang diobservasi pada sepuluh lapangan pandang dan dinilai skala semikuantitatif indeks skala Remmele (*Immuno Reactive Score/IRS*). Unit ekspresi VEGF yaitu pg/ml dan dengan skala rasio.

Kadar IL 17A cairan peritoneum ekstra pelvis diukur menggunakan metode *Enzyme Linked-Immunoassay* (ELISA) dengan kit *Bio Assay Technology Laboratory* (BT Lab) dengan nilai normal 0-1,4 pg/mL. Unit kadar IL 17^a yaitu pg/ml dan dengan skala rasio.

Ekspresi P53 pada jaringan ektopik endometrium di luar uterus (ekstra pelvis) sel imunoreaktif yang mengekspresikan P53 setelah *staining* dengan metode imunohistokimia menggunakan antibodi P53 dengan kit *Bio Assay Technology Laboratory* (BT Lab) yang pada sepuluh lapangan

pandang dan dinilai dengan skala semikuantitatif indeks skala Remmele (*Immuno Reactive Score/IRS*). Sedangkan skala ekspresi P53 adalah rasio.

Ekspresi Ki-67 pada jaringan ektopik endometrium di luar uterus (ekstra pelvis) sel imunoreaktif yang mengekspresikan Ki-67 setelah *staining* dengan Metode imunohistokimia menggunakan antibodi Ki-67 dengan kit *Bio Assay Technology Laboratory* (BT Lab) yang pada sepuluh lapangan pandang dan dinilai skala semikuantitatif indeks skala Remmele (*Immuno Reactive Score/IRS*). Sedangkan skala ekspresi Ki-67 adalah rasio.

Rasio M1:M2 yaitu jumlah M1 dibandingkan M2 yang diambil dari cairan peritoneum yang telah di-*centrifuge* dengan suhu 4°C kecepatan 2000 rpm selama 5 menit kemudian setelah cairan *supernatant* terbentuk maka bagian *pellet* diambil dengan pipet kemudian eritrosit dilisiskan dengan kit *RBC Lysis Buffer* dari BioLegend®. Setelah itu, cairan makrofag diukur dengan *flow cytometry* yang telah di oleh dengan kit PE *anti-mouse* CD86 Antibody dari BioLegend® untuk M1 dan PE *anti-mouse* CD163 Antibody dari BioLegend® untuk M2. Jumlah M1/M2 akan tampak berupa grafik menggunakan *flow cytometry*. Skala yang digunakan yaitu rasio.

Luas pertumbuhan endometriosis intraperitoneal diukur dengan *Taper Gauge 1 –15 mm Stainless Steel Digital in-size Stainless 150 mm* yang kemudian dimasukkan dalam program *image roster Sketch and Calc* (<https://www.sketchandcalc.com>) yang merupakan aplikasi kalkulator untuk menghitung luas tak beraturan untuk semua jenis gambar yang berisi bentuk tak beraturan. Unit luas pertumbuhan endometriosis intraperitoneal yaitu mm² dan skalanya yaitu rasio.

F. Pemberian Andrografolid pada Mencit dengan Endometriosis

1. Pembentukan Endometriosis pada Mencit

- a. Aklimatisasi 42 mencit strain BALB/C berumur 2-3 bulan, berat badan sekitar 20-30 g, yang diperoleh dari Pusat Veterinaria Farma Surabaya yang diadaptasi selama tujuh hari di kandang yang bersih,

cukup udara, cukup cahaya, serta makanan dan minum yang cukup homogen.

- b. Mencit coba dibagi menjadi enam kelompok secara acak, masing-masing berjumlah minimal tujuh ekor. Kelompok N yaitu kelompok tanpa perlakuan, kelompok KN adalah kelompok yang diberi perlakuan injeksi endometriosis tanpa diberi terapi apapun, kelompok KP adalah kelompok yang diberi perlakuan injeksi endometriosis kemudian diberi *dienogest* selama tujuh hari dan kelompok P1, P2, dan P3 adalah kelompok yang diberi perlakuan injeksi endometriosis kemudian diberi andrografolid selama tujuh hari dengan dosis 0,05 mg/kg BB, 0,1 mg/kg BB, dan 0,02 mg/kg BB.
- c. Menyiapkan kelompok mencit model endometriosis yang disuntikkan siklosporin A dan estrogen.
- d. Menyiapkan endometriosis (jaringan menyerupai endometrium yang berimplantasi di luar rongga uterus). Dibuktikan secara mikroskopis dengan pengecatan hematoxin-eosin pada organ genitalia interna mencit coba. Hal ini selanjutnya disebut *endometriosis-like lesion*. Jaringan endometriosis yang diambil dari pasien yang dilakukan operasi laparoskopi histerektomi dengan diagnosis adenomiosis di RSIA Anugerah Semarang yang tidak mendapat pengobatan dalam tiga bulan terakhir. Sel endometrium dari miometrium pada *diffuse adenomyosis* uterus dikumpulkan melalui langkah-langkah yang meliputi sel endometrium diperoleh dengan eksisi *diffuse adenomyosis* dengan pisau bedah untuk memperoleh jaringan endometrium. Eksisi area *diffuse adenomyosis* (2x2 cm) dari miometrium setelah operasi. Kemudian, jaringan tersebut dimasukkan lebih lanjut ke dalam tabung yang berisi larutan formaldehida dengan pH 7,2 – 7,4 dan disimpan pada suhu 20 – 250°C. Kemudian jaringan langsung dikirim ke laboratorium rekayasa hewan fakultas kedokteran hewan Universitas Airlangga. Endometrium yang diperoleh selanjutnya disimpan di PBS (*Phosphate Buffered Saline*) dan dilakukan *washing* sebanyak dua kali dengan disentrifus menggunakan kecepatan 2500 rpm. Supernatan dibuang kemudian ditambahkan

PBS, penicillin 200 IU/ml, dan streptomycin 200 mg/ml. Jaringan basah endometrium diambil dengan *syringe* 3 ml. Dosis untuk setiap mencit adalah 0,1 mL.

- e. Membuat mencit model endometriosis setelah aklimatisasi tujuh hari, mencit betina umur 2 – 3 bulan, berat 20 – 30 gram, dilakukan injeksi siklosporin A untuk menekan imun mencit terhadap endometriosis. Sediaan siklosporin A yang tersedia di Indonesia yaitu *Sandimmun* produksi Novartis dengan sediaan 1 ampul yang berisi 50 mg/mL x 5 mL. Adapun dosis yang diperlukan yaitu 10 mg/kg BB. Dalam peninjauan ini, berat mencit yang digunakan adalah berkisar 20-25 gram, maka dosis siklosporin A yang diberikan harus disesuaikan. Setelah dilakukan perhitungan dengan dosis sediaan, setiap mencit mendapatkan dosis 81 konversi 1,8 mg/mencit sehingga dosis setelah pengenceran dengan *water for injection* adalah 0,2 mL untuk setiap mencit. Injeksi siklosporin A dilakukan pada paha kanan dan kiri dengan dosis 0,2 mg/kg BB pada hari ke 8 pada kelompok KN, KP, P1, P2, dan P3.
- f. Penyuntikan jaringan endometrium intra-peritoneal pada mencit di rongga peritoneum melalui daerah selangkang kaki belakang, kemudian jarum diarahkan 45 derajat ke arah perut mencit dan suntikan dilakukan perlahan selama 60 detik. Suntikan sudah masuk rongga peritoneum (dirasakan perbedaan tahanan). Mencit diposisikan telentang dan jarum dimasukkan sejajar dengan kakinya, kemudian disuntik perlahan-lahan dengan 0,1 mL supernatan melalui rongga perut selama 60 detik pada hari ke-9 terhadap kelompok KN, KP, P1, P2, dan P3.
- g. Penyuntikan *Ethinyl Estradiol* yang dilakukan secara intramuskular pada paha mencit. Preparat injeksi yang digunakan adalah *Ethinyl Estradiol* dengan dosis konversi untuk mencit memperoleh 5,4 µg. Oleh karena 1 µg setara 10 IU, maka dosis konversi mencit 5,4 µg setara dengan 54 IU. Maka setiap mencit mendapatkan 0,095 cc atau dibulatkan menjadi 0,1 mL, mengingat 1 vial berisi 30 cc yang mengandung 20.000 IU. Injeksi estrogen dengan dosis 0,1 mg/kg BB pada hari ke-8. Injeksi estrogen dengan dosis 0,1 mg/kg BB

yang ke-2 pada hari ke-14 perlakuan. Penyuntikan yang dilakukan di kaki belakang yaitu pada muskulus *quadriceps* dan *triceps*.

- h. Menyiapkan *dienogest* yang diproduksi dengan nama dagang Visanne® (Bayer AG, Berlin, Jerman) yang merupakan progestogen semisintetik aktif oral yang juga memiliki sifat 17α -hidroksiprogesteron. *Dienogest* adalah turunan dari 19-nortestosteron dan memiliki sifat antiandrogenik yang kemudian dibuat suspensi dan dilarutkan dengan aquabidest dan diberikan ke mencit berupa air minum/pakan melalui sonde. Dosis *dienogest* pada manusia adalah 2 mg/hari, apabila diberikan pada mencit maka $2 \text{ mg} \times 0,026 \text{ mg}$ (dosis konversi), sehingga dosis *dienogest* yang diberikan pada mencit adalah 0,05 mg/kg BB.
- i. Menyiapkan andrografolid, berbentuk *powder* yang diproduksi oleh Sigma Aldrich MERCK® 3050 Spruce Street, Saint Louis, MO 63103, USA yang kemudian dibuat suspensi dan dilarutkan dengan aquabidest dan diberikan ke mencit berupa air minum/pakan melalui sonde.

2. Injeksi hingga Terapi pada Mencit dengan Endometriosis

Sebanyak 42 ekor mencit betina yang memenuhi kriteria inklusi dengan ciri yang homogen dari segi usia dan berat badan dikelompokkan dalam enam kelompok dengan proses randomisasi, yaitu secara acak, masing-masing berjumlah minimal tujuh ekor. Kelompok N yaitu kelompok tanpa perlakuan, kelompok KN adalah kelompok yang diberi perlakuan injeksi endometriosis tanpa diberi terapi apapun, kelompok KP adalah kelompok yang diberi perlakuan injeksi endometriosis kemudian diberi *dienogest* selama tujuh hari dan kelompok P1, P2, dan P3 adalah kelompok yang diberi perlakuan injeksi endometriosis kemudian diberi andrografolid selama tujuh hari dengan dosis 0,002 mg/kg BB, 0,1 mg/kg BB, dan 0,2 mg/kg BB.

Perlakuan injeksi pada hari ke-8 untuk membuat mencit model endometriosis diawali dengan mencit diberikan injeksi siklosporin A untuk menekan sistem imun mencit dengan dosis 0,2 ml pada paha kanan, injeksi

estrogen 0,1 ml pada paha kiri dan 0,1 ml endometrium intraperitoneum. Endometrium yang disuntikkan pada hari ke-9 ke mencit berasal dari eksisi eutopik endometrium uterus wanita yang dilakukan operasi histerektomi. Hasil olahan endometrium disimpan di PBS (*Phosphate Buffered Saline*) dan dilakukan *washing* sebanyak dua kali dengan disentrifus menggunakan kecepatan 2500 rpm. Supernatan dibuang kemudian ditambahkan PBS, penicillin 200 IU/ml, dan streptomisin 200 mg/ml. Jaringan basah endometrium diambil dengan syringe 3 ml. Dosis untuk setiap mencit adalah 0,1 mL. Pada hari ke-14, diberikan lagi suntikan estrogen dengan dosis 0,1 ml yang kedua secara intramuskular pada paha mencit, dan kemudian ditunggu dan dievaluasi sampai hari ke-21 untuk pemeriksaan sitokin.

a. Kadar Sitokin dan Jumlah Makrofag dari Cairan Peritoneum dan Ekspresi Endometriosis Peritoneal

Pada 22 hari setelah perlakuan, laparotomi dilakukan pada seluruh mencit untuk pengambilan cairan peritoneum untuk melakukan pemeriksaan jumlah Makrofag M1, jumlah Makrofag M2, kadar TNF α , kadar IL 17A dari cairan peritoneum yang sebelum disuntikkan cairan PBS 4 cc sebelum proses ekstraksi, ekspresi VEGF-A, P53 dan Ki-67 diperiksa menggunakan imunohistokimia dari jaringan intraperitoneal tempat implantasi endometriosis extra pelvis. Hasil ekstraksi cairan peritoneum dimasukkan ke dalam tabung, kemudian dilakukan *centrifuge* dengan suhu 4°C dan kecepatan 2000 rpm selama lima menit untuk memisahkan cairan *supernatant* dan *pellet*.

Cairan *supernatant* diambil dengan pipet untuk mengukur kadar sitokin TNF α , kadar IL 17A, menggunakan metode *Enzyme Linked-Immunoassay* (ELISA) dengan kit *Bio Assay Technology Laboratory* (BT Lab®).

Ekspresi VEGF-A, P53 dan Ki-67 pada jaringan ektopik endometrium di luar uterus (intraperitoneal) sel imuoreaktif yang mengekspresikan VEGF dihitung setelah *staining* dengan metode imunohistokimia menggunakan antibodi VEGF dengan kit *Bio Assay Technology Laboratory* (BT Lab®). Evaluasi pewarnaan imunohistokimia dilakukan pada mikroskop cahaya

terlebih dahulu menggunakan lensa objektif 10x (perbesaran 100x) untuk memindai dan menemukan gambaran histopatologi. Kemudian dilakukan lensa objektif 40x (perbesaran 400x) untuk mendapatkan informasi lebih detail mengenai pewarnaan. Indeks skala Remmele (*Immuno Reactive Score/IRS*) merupakan hasil perkalian antara skor persentase sel imunoreaktif dengan skor intensitas warna pada sel imunoreaktif²⁰⁹. Data setiap sampel merupakan nilai rata-rata IRS yang teramati pada sepuluh lapangan pandang (LP) berbeda pada pembesaran 400x. Skala semikuantitatif Indeks skala Remmele (*Immuno Reactive Score/IRS*) (tabel merupakan hasil perkalian antara skor persentase sel positif (A) dengan skor intensitas reaksi warna (B), jadi *Immuno Reactive Score/IRS* = (AxB)^{210,211}.

Hasil *pellet* atau endapan dari *centrifuge* digunakan untuk pemeriksaan jumlah M1 dan M2 dengan sebelumnya eritrosit dilisiskan dengan kit *RBC Lysis Buffer* dari BioLegend® terlebih dahulu. Setelah itu, cairan makrofag diukur dengan *flow cytometry* yang telah diolah dengan kit PE *anti-mouse* CD86 Antibody dari BioLegend® untuk M1 dan PE *anti-mouse* CD163 Antibody dari BioLegend® untuk M2. Persentase (rasio) M1/M2 akan tampak berupa grafik menggunakan *flow cytometry*.

b. Penentuan Mencit dengan Endometriosis

Spesimen diambil segera setelah mencit dieutanasia. Dinding perut dan peritoneum dipisahkan, kemudian peritoneum dipotong dan diregangkan pada kertas milimeter dan didokumentasikan menggunakan foto untuk mengamati tingkat endometriosis. Selanjutnya, pemeriksaan histopatologi disiapkan. Setelah itu, hasilnya dicatat pada lembar pengumpulan data dan dianalisis secara statistik. Persiapan untuk pemeriksaan patologi anatomi dilakukan dengan menggunakan jaringan peritoneum paling merah yang diambil untuk persiapan, yang kemudian diawetkan dengan formalin 10%.

c. Pengecekan Jaringan Endometriosis secara Luas

Spesimen dari peritoneum diperiksa menggunakan mikroskop Nikon H600L yang dilengkapi dengan kamera digital Fi2 300 megapiksel

DS dan perangkat lunak pengolah gambar Nikon (Nikon Corporation). Area endometriosis dinilai secara makroskopis pada area hiperemis yang kemudian dikonfirmasi dengan mengambil sampel pada area paling hiperemis untuk diperiksa apakah ada lesi endometriosis.

Luas pertumbuhan endometriosis intraperitoneal diukur dengan Taper Gauge 1 – 15 mm Stainless Steel Digital *in-size Stainless* 150 mm, kemudian dimasukkan dalam program *image roster* Sketch and Calc (<https://www.sketchandcalc.com>) yang merupakan aplikasi kalkulator untuk menghitung luas tak beraturan untuk semua jenis gambar yang berisi bentuk tak beraturan.

3. Respons Jaringan terhadap Endometriosis

Peninjauan ini menggunakan data primer yang dikumpulkan setelah mendapatkan *Ethical Clearance*. Data yang dikumpulkan adalah data primer hasil pemeriksaan dari persentase Makrofag M1, persentase Makrofag M2, kadar TNF α , kadar IL 17A, kadar IL-8, ekspresi VEGF-A pada jaringan intraperitoneal.

Peninjauan ini menggunakan alat ukur pemeriksaan metode *Enzyme Linked-Immunoassay* (ELISA) dilakukan untuk melihat kadar TNF α , IL-17A, serta ekspresi VEGF-A metode imunohistokimia menggunakan antibodi VEGF, P53 dan Ki-67 dengan kit *Bio Assay Technology Laboratory* (BT Lab) yang diukur menggunakan interpretasi imunoreaktivitas didasarkan pada penilaian skor *Immuno Reactive Score* (IRS) yang menggabungkan intensitas pewarnaan/*staining intensity* dan persentase sel yang diwarnai pada setiap tingkat intensitas/*intensity level*, sedangkan persentase rasio M1/M2 dari cairan peritoneum diukur dengan *flow cytometry* yang telah diolah dengan kit PE *anti-mouse* CD86 Antibody dari BioLegend® untuk M1 dan PE *anti-mouse* CD163 Antibody dari BioLegend® untuk M2. Pertumbuhan luas endometriosis diukur menggunakan *Taper Gauge 1-15 mm Stainless Steel Digital in-size Stainless 150 mm* yang kemudian dimasukkan dalam program Sketch and Calc (<https://www.sketchandcalc.com>) yang merupakan aplikasi kalkulator untuk menghitung luas tak beraturan untuk semua jenis gambar

yang berisi bentuk tak beraturan setelah dilakukan pembedahan pada semua kelompok.

Deskripsi perlakuan pada sampel diharapkan penyebaran endometriosis dengan ukuran rata-rata minimal $7,4 \pm 1,3 \text{ mm}^2$ setelah implantasi endometriosis di intraperitoneal hari ke-14 setelah inokulasi. Setelah injeksi induksi jaringan endometriosis maka ditindaklanjuti selama tujuh hari pemberian intervensi terapi di mana pada kelompok tanpa terapi tidak diberikan terapi, kelompok terapi standar diberikan terapi ekstrak *dienogest*. Kelompok perlakuan dibagi tiga, di mana kelompok perlakuan P1 diberi terapi Andrografolid 2,5 mg/kg BB/hari, kelompok P2 diberi terapi Andrografolid 5 mg/kg BB/hari, dan kelompok P3 diberi terapi Andrografolid 10 mg/kg BB/hari.

Pemeriksaan histopatologi ini dimaksudkan untuk mengetahui ekspresi VEGF, P53, dan Ki-67 pada endometriosis peritoneum. Data setiap spesimen dinilai secara semikuantitatif menurut metode Remmele yang sudah dimodifikasi, di mana indeks skala Remmele (*Immuno Reactive Score/IRS*) merupakan hasil perkalian antara skor persentase sel immunoreaktif dengan skor intensitas warna pada sel immunoreaktif²⁰⁹. Data setiap spesimen merupakan nilai rata-rata IRS yang teramati pada sepuluh lapangan pandang (LP) berbeda pada pembesaran 400x. Skala semikuantitatif indeks skala Remmele (*Immuno Reactive Score/IRS*) (tabel merupakan hasil perkalian antara skor persentase sel positif (A) dengan skor intensitas reaksi warna (B), jadi *Immuno Reactive Score/IRS* = (AxB).

Tabel 3.1 Sel positif dan intensitas warna

Persentase Sel Positif (A)		Intensitas Reaksi Warna (B)	
0	Tidak ada sel positif	0	Tidak ada reaksi warna
1	Sel positif < 10 %	1	Intensitas warna lemah
2	Sel positif 11%-50%	2	Intensitas warna sedang
3	Sel positif 51%-80%	3	Intensitas warna kuat
4	Sel positif >80%		

4. Injeksi Hormon dan Pembentukan Lesi Endometriosis

Setelah proses aklimatisasi selama tujuh hari di kandang yang bersih, cukup udara, cukup cahaya, serta makanan dan minum yang cukup homogen, maka seluruh sampel dinyatakan ekuivalen. Kemudian dilakukan intervensi perlakuan membuat mencit menjadi endometriosis dengan injeksi endometriosis intraperitoneal dengan sebelumnya diberikan injeksi siklosporin A untuk menekan sistem imun mencit pada paha kanan, injeksi intra-peritoneal dan injeksi estrogen mulai hari ke-8 pada paha kiri. Injeksi estrogen yang ke-2 pada hari ke-12 pada paha kiri. Pada hari ke-22 dilakukan pengukuran *outcome* dan eutansia setelah mencit dibius dengan injeksi ketamin dan *xylazine* intramuskular. Dengan anestesi ketamin 1 mg/10 gram berat badan mencit, dilakukan pembedahan dengan pengambilan cairan peritoneum dari area abdomen mencit. Kemudian hasil cairan peritoneum diambil untuk pemeriksaan kadar sitokin kadar TNF α , kadar IL 17A, dari cairan peritoneum dimasukkan ke dalam tabung kemudian dilakukan *centrifuge* dengan kecepatan 2000 rpm selama lima menit untuk memisahkan cairan *supernatant* dan presipitat atau endapan.

Cairan *supernatant* diambil dengan pipet untuk mengukur kadar sitokin TNF α , kadar IL 17A, menggunakan Metode *Enzyme Linked-Immunoassay* (ELISA) dengan kit *Bio Assay Technology Laboratory* (BT Lab®). Ekspresi VEGF-A, P53 dan Ki-67 pada jaringan ektopik endometrium di luar uterus sel imunoreaktif yang mengekspresikan VEGF, P53, dan Ki-67 dihitung setelah *staining* dengan metode imunohistokimia menggunakan antibodi VEGF, antibodi P53, dan antibodi Ki-67 dengan kit *Bio Assay Technology Laboratory* (BT Lab®).

Hasil endapan (*presipitat*) digunakan untuk pemeriksaan jumlah M1 dan M2 dengan sebelumnya eritrosit dilisiskan dengan kit *RBC Lysis Buffer* dari BioLegend® terlebih dahulu. Setelah itu, cairan makrofag diukur dengan *flow cytometry* yang telah diolah dengan kit PE *anti-mouse* CD86 Antibody dari BioLegend® untuk M1 dan PE *anti-mouse* CD163 Antibody dari BioLegend® untuk M2. Persentase (rasio) M1/M2 akan tampak berupa grafik menggunakan *flow cytometry*.

Luas pertumbuhan endometriosis intraperitoneal diukur dengan *Taper Gauge 1 – 15 mm Stainless Steel Digital in-size Stainless 150 mm* yang kemudian dimasukkan dalam program *image roster Sketch and Calc* (<https://www.sketchandcalc.com>) yang merupakan aplikasi kalkulator untuk menghitung luas tak beraturan untuk semua jenis gambar yang berisi bentuk tak beraturan.

5. Pengecekan Keakuratan Imunohistokimia

Data yang diperoleh merupakan hasil pengamatan dari enam kelompok yang dilakukan uji normalitas data untuk menilai distribusi data. Jika data yang terdistribusi normal, maka dilakukan analisis statistik *One Way ANOVA*. Namun, jika data terdistribusi tidak normal, maka digunakan ujian alternatif Kruskal Wallis. Kemudian untuk mengetahui perbandingan pengaruh masing-masing terapi pada setiap kelompok terhadap kelompok yang lain, digunakan uji *Post Hoc Test Multiple Comparison*.

Pengecekan keakuratan instrumen dalam peninjauan ini dilakukan untuk menguji reliabilitas pemeriksaan imunohistokimia oleh dua ahli patologi anatomi secara *blind*. Untuk menguji reliabilitas pemeriksaan imunohistokimia dari dua ahli patologi anatomi digunakan *inter-rater reliability*, yaitu reliabilitas yang dilihat dari tingkat kesepakatan (*agreement*) antara *rater* (ahli patologi anatomi). *Inter-rater reliability* (IRR) akan memberikan gambaran (berupa skor) tentang sejauh mana tingkat konsensus atau kesepakatan yang diberikan dua ahli patologi anatomi terhadap rerata skoring dari pemeriksaan imunohistokimia. Koefisien IRR yang digunakan adalah koefisien kesepakatan Cohen Kappa (κ). Hasil yang diperoleh dari penilaian ahli terhadap instrumen dianalisis secara kuantitatif dengan bantuan *software* SPSS.

Tabel 3.2 Kekuatan Kappa (κ)

Nilai Kappa	Keterangan
< 0,20	Buruk
0,20-0,40	Kurang
0,40-0,60	Sedang

Nilai Kappa	Keterangan
0,61-0,80	Baik
0,81-1,00	Sangat baik

Pengecekan keakuratan dilakukan untuk membandingkan dan melihat konsistensi antara dua ahli patologi anatomi (*inter-rater agreement*) dalam memberikan nilai (*score*) dari pemeriksaan histopatologi imunohistokimia VEGF-A, Ki-67 dan P53 jaringan endometriosis pada mencit. Uji reliabilitas menggunakan metode koefisien *Cohen's Kappa* dengan bantuan aplikasi *software SPSS (Statistical Program for Social Science)*.

Pemeriksaan histopatologi ini dimaksudkan untuk mengetahui Ekspresi VEGF-A endometriosis pada peritoneum. Data setiap spesimen dinilai secara semikuantitatif menurut metode Remmele, di mana indeks skala Remmele (*Immuno Reactive Score/IRS*) merupakan hasil perkalian antara skor persentase sel immunoreaktif dengan skor intensitas warna pada sel immuno reaktif (Tabel 3.3). Data setiap spesimen merupakan nilai rata-rata IRS yang teramati pada sepuluh lapangan pandang (LP) berbeda pada pembesaran 400x

Tabel 3.3 Perkalian antara skor persentase sel positif (A) dengan skor intensitas reaksi warna (B), jadi $IRS = (A \times B)$

A	B
Skor 0 : tidak ada sel positif	Skor 0 : tidak ada reaksi warna
Skor 1 : Sel positif < 10 %	Skor 1 : Intensitas warna lemah
Skor 2 : Sel positif antara 11%-50%	Skor 2 : Intensitas warna sedang
Skor 3 : Sel positif antara 51%-80%	Skor 3 : Intensitas warna kuat
Skor 4 : Sel positif > 80%	

Kinerja Andrografolid dan Sitokin Pada Endometriosis

A. Karakteristik Hewan dengan Endometriosis

Peninjauan ini dilaksanakan dengan *Ethical Clearance* no. 108/EC-H/KEPK/FK-UNDIP/XI/2024. Tinjauan ini menggunakan 42 ekor mencit (BALB/C) betina dengan berat 20-30 g dan berusia 2-3 bulan yang diperoleh dari laboratorium rekayasa hewan, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga, Surabaya. Peninjauan ini dilaksanakan dalam tiga tahap, yaitu aklimatisasi yang diadaptasi selama tujuh hari, kemudian dibagi menjadi enam kelompok secara acak, dan dievaluasi pada hari ke-22 untuk pemeriksaan.

Sebanyak 42 ekor mencit digunakan untuk tujuan peninjauan dengan delapan ekor masuk dalam kriteria eksklusi. Mencit 42 ekor terbagi menjadi enam kelompok dengan masing-masing kelompok terdiri atas tujuh ekor mencit yang dipisahkan dalam kandang yang berbeda. Jumlah Makrofag M1 dan M2 diperiksa menggunakan *flow cytometry*, kadar TNF α , kadar IL 17A diperiksa menggunakan Elisa, ekspresi VEGF-A, P53 dan Ki-67 yang diperiksa menggunakan imunohistokimia dari jaringan endometriosis intraperitoneal dan pengukuran luas endometriosis pada endometrium program *image roster Sketch and Calc* (<https://www.sketchandcalc.com>)

B. Keterkaitan Andrografolid dengan Berbagai Sitokin dalam Endometriosis

1. Andrografolid dan TNF α Cairan Peritoneum

Andrografolid merupakan anti-inflamasi alami yang dapat menghambat TNF α dan sitokin inflamasi lainnya. Data pada Tabel 4.1 menunjukkan kadar TNF α cairan peritoneum mencit yang tertinggi adalah pada kelompok P2 yaitu $91,96 \pm 20,609$ ng/mL, sedangkan yang paling rendah adalah kelompok P3 yaitu $54,9 \pm 11,692$ ng/mL, dibandingkan dengan P1 yaitu $77,4 \pm 25,61$, dibandingkan kelompok KP $79,3 \pm 18,5$, maupun dibandingkan kelompok KN $80,0 \pm 5,89$. Nilai median kadar TNF α kelompok P3 adalah lebih rendah dari kelompok kontrol negatif (KN) yaitu 54,09 apabila dibandingkan KN 80,76 maupun KP 87,58.

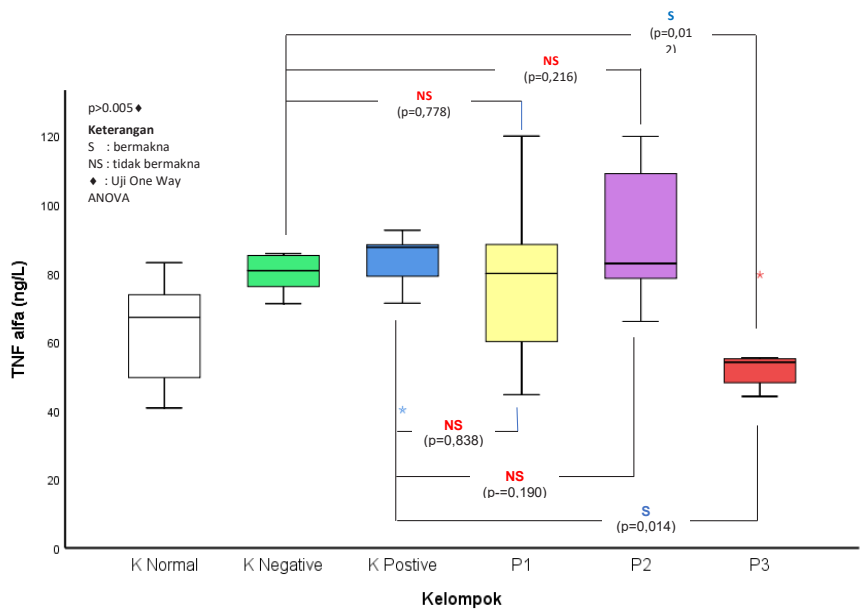
Tabel 4.1 Kadar TNF α cairan peritoneum

Kelompok	TNF- α (ng/L)		
	Rerata $\pm$ SB	Median	(Min - Max)
Normal	$62,5 \pm 16,92$	67,17	(40,77 - 83,09)
K Negatif	$80,0 \pm 5,89$	80,76	(71,16 - 85,77)
K Positif	$79,3 \pm 18,51$	87,58	(40,22 - 92,52)
P1	$77,4 \pm 25,61$	79,93	(44,62 - 119,92)
P2	$91,9 \pm 20,61$	82,85	(65,98 - 119,85)
P3	$54,9 \pm 11,69$	54,09	(44,15 - 79,57)

Hasil uji statistik menunjukkan secara keseluruhan dijumpai adanya perbedaan yang bermakna pada kadar TNF- α cairan peritoneum mencit ($p=0,005$; Uji *One Way ANOVA*). Hasil analisis uji *post hoc* LSD menunjukkan kadar TNF- α cairan peritoneum mencit kelompok P1 tidak ada perbedaan bermakna dibanding dengan kelompok kontrol negatif ($p=0,778$) maupun kelompok positif ($p=0,939$).

Peningkatan kadar TNF- α cairan peritoneum mencit kelompok P2 tidak bermakna dibanding dengan kelompok kontrol negatif ($p=0,216$) dan kelompok positif ($p=0,190$).

Peningkatan kadar TNF- α cairan peritoneum mencit kelompok P2 tidak bermakna dibanding dengan kelompok kontrol negatif ($p=0,216$) dan kelompok positif ($p=0,190$). Kadar TNF- α cairan peritoneum mencit kelompok P3 juga lebih rendah secara bermakna dibanding baik kelompok kontrol negatif ($p=0,012$) maupun kelompok positif ($p=0,014$) (Gambar 4.1).



Gambar 4.1 Kadar TNF α cairan peritoneum

Peninjauan ini menunjukkan pengaruh *andrographolide* terhadap kadar TNF α pada cairan peritoneum kelompok P3 lebih rendah, baik dibandingkan kelompok negatif maupun kelompok positif secara bermakna (Gambar 4.1).

2. Andrografolid dan IL-17A Cairan Peritoneum

Andrografolid dapat menurunkan kadar IL-17A yang merupakan sitokin yang berperan penting dalam pertahanan tubuh terhadap gangguan inflamasi. Data pada Tabel 4.2 menunjukkan kadar IL-17A cairan

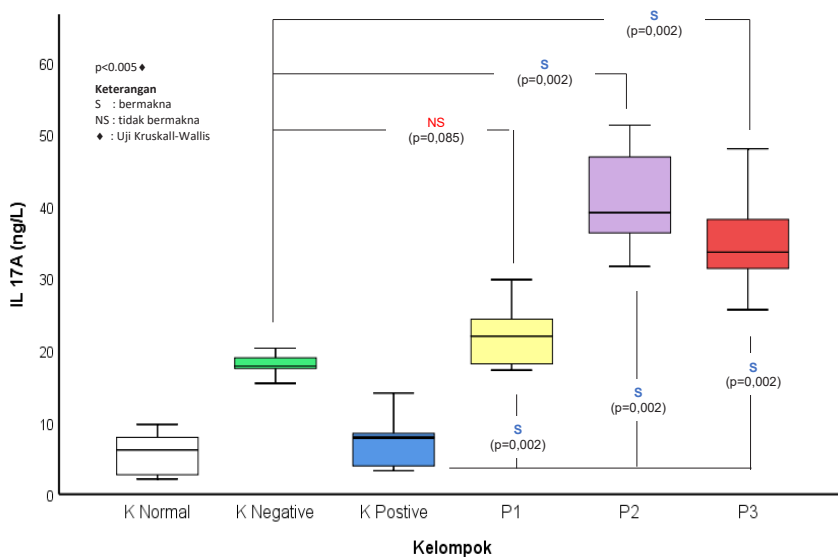
peritoneum yang tertinggi adalah pada kelompok P2 yaitu $41,18 \pm 7,232$ ng/L, sedangkan yang paling rendah adalah P1 yaitu $21,9 \pm 4,71$ dari semua kelompok perlakuan *andrographolide*. Nilai median P1 yaitu 21,95 dan menjadi terendah dibandingkan semua kelompok perlakuan *andrographolide*.

Tabel 4.2 Kadar IL-17A cairan peritoneum

Kelompok	IL 17A (ng/L)		
	Rerata $\pm$ SB	Median	(Min - Max)
K Normal	$5,6 \pm 3,08$	6,16	(2,11 - 9,71)
K Negatif	$18,0 \pm 1,56$	17,80	(15,41 - 20,29)
K Positif	$7,1 \pm 3,89$	7,89	(3,26 - 14,06)
P1	$21,9 \pm 4,71$	21,95	(17,25 - 29,80)
P2	$41,2 \pm 7,23$	39,11	(31,64 - 51,26)
P3	$35,2 \pm 7,44$	33,63	(25,63 - 47,98)

Hasil perhitungan data menunjukkan secara keseluruhan ada perbedaan yang bermakna pada kadar IL-17A cairan peritoneum antarkelompok peninjauan ($p < 0,001$; Uji Kruskal-Wallis).

Data yang dihasilkan dari *post hoc* Mann Whitney menunjukkan bahwa diketahui perbedaan tidak bermakna kadar IL-17A cairan peritoneum kelompok P1 yang lebih tinggi dibanding pada kelompok kontrol negatif ($p = 0,085$), tapi bermakna ($p = 0,002$) dibandingkan kelompok positif. Kadar IL-17A kelompok P2 dan P3 lebih tinggi secara bermakna dibanding kelompok kontrol negatif maupun dibandingkan kelompok positif ($p = 0,002$). Kadar IL-17A kelompok P3 juga lebih tinggi baik pada kelompok negatif maupun positif secara bermakna ($p = 0,002$). Pada peninjauan ini, pengaruh *andrographolide* terhadap kadar IL 17A pada cairan peritoneum lebih tinggi di seluruh kelompok yang mendapatkan terapi *andrographolide* dibandingkan kelompok positif secara bermakna. Perbedaan itu tampak pada Gambar 4.2 berikut.



Gambar 4.2 Kadar IL-17A cairan peritoneum

3. Ekspresi VEGF-A, P35, dan Ki-67

Pengecekan konsistensi dilakukan untuk membandingkan dan melihat kesesuaian antara dua ahli patologi anatomi (*inter-rater agreement*) dalam memberikan nilai (*score*) dari pemeriksaan histopatologi imunohistokimia VEGF-A jaringan endometriosis pada mencit. Pengecekan konsistensi menggunakan metode Koefisien *Cohen's Kappa* dengan bantuan aplikasi *software SPSS (Statistical Program for Social Science)* untuk pemeriksaan ekspresi VEGF-A ekspresi P53 dan Ki-67 yang termasuk dalam kategori kesesuaian yang baik. Hal ini berarti ada kesesuaian yang cukup antara ahli patologi anatomi A dan ahli patologi anatomi B dari hasil pengukuran yang dihasilkan.

Tabel 4.3 Koefisien *Cohen's Kappa* VEGF-A, P53, dan Ki-67

VEGF-A	Koefisien <i>Cohen's Kappa</i>	Sig
Kelompok N	.984	,000
Kelompok KN	.982	,000

VEGF-A	Koefisien <i>Cohen's Kappa</i>	Sig
Kelompok KP	.997	,000
Kelompok P1	.940	,000
Kelompok P2	.906	,000
Kelompok P3	.977	,000
P53		
Kelompok N	.973	,000
Kelompok KN	.997	,000
Kelompok KP	1	-
Kelompok P1	.996	,000
Kelompok P2	.978	,000
Kelompok P3	.960	,000
Ki-67		
Kelompok N	.905	,000
Kelompok KN	.940	,000
Kelompok KP	.997	,000
Kelompok P1	.931	,000
Kelompok P2	.992	,000
Kelompok P3	.997	,000
N of Valid Cases 42		

Nilai probabilitas (Approx.Sig) adalah $< 0,01$, maka kesepakatan tersebut signifikan dan bukan karena kebetulan dan menunjukkan reliabilitas atau kesepakatan yang baik, atau dapat dikatakan bahwa koefisien *Cohen's Kappa* VEGF-A, P53, dan Ki-67 ini reliabel dalam tingkat kesepakatan (*agreement*) antara dua ahli patologi anatomi (*rater*) dalam mengklasifikasikan atau menilai ekspresi dari VEGF-A, P53, dan Ki-67.

4. Andrografolid dan Ekspresi VEGF-A Jaringan Endometriosis Peritoneum

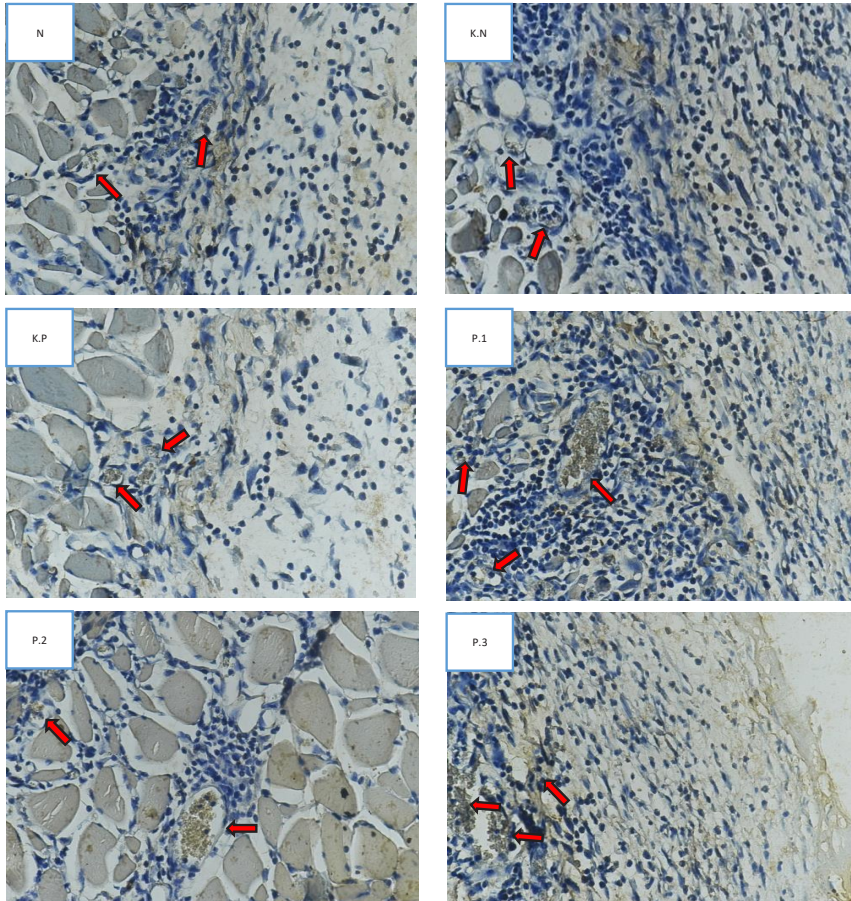
Pemeriksaan histopatologi imunohistokimia ini dimaksudkan untuk mengetahui skala semikuantitatif IRS Ekspresi VEGF-A endometriosis pada peritoneum sesuai Tabel 4.4. Data setiap spesimen dinilai secara semikuantitatif menurut metode Remmele, di mana indeks skala Remmele (*Immuno Reactive Score/IRS*) merupakan hasil perkalian antara skor persentase sel imunoreaktif dengan skor intensitas warna pada sel imunoreaktif. Data setiap spesimen merupakan nilai rata-rata IRS yang teramati pada sepuluh lapangan pandang (LP) yang berbeda pada pembesaran 400x dari nilai rerata sepuluh lapangan pandang.

Tabel 4.4 menunjukkan ekspresi VEGF-A peritoneum mencit yang tertinggi adalah pada kelompok kontrol P1 yaitu $33,35 \pm 0,82$, sedangkan yang paling rendah adalah kelompok P3 yaitu $2,38 \pm 0,33$ yang mendapatkan terapi *andrographolide* 0,2 mg/kg BB.

Tabel 4.4 Ekspresi VEGF-A

Kelompok	Ekspresi VEGF-A		
	Rerata $\pm$ SB	Median	(Min - Max)
K Normal	2,82 $\pm$ 1,21	2,85	(1,20-4,85)
K Negatif	2,89 $\pm$ 1,06	2,50	(1,80-5,00)
K Positif	2,51 $\pm$ 1,59	1,80	(1,40-6,00)
P1	3,35 $\pm$ 0,82	3,25	(2,30-4,50)
P2	2,41 $\pm$ 0,77	2,05	(1,70-3,75)
P3	2,38 $\pm$ 0,33	2,50	(1,80-2,90)

Data ekspresi VEGF-A mempunyai distribusi tidak normal yang kemudian dilakukan uji nonparametrik Kruskal Wallis. Hasil uji Kruskal Wallis untuk IHC-VEGF adalah 0.344. Nilai tersebut lebih dari 0.05 sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan signifikan antara enam kelompok.



Gambar 4.3 Tanda panah menunjukkan adanya ekspresi VEGF pada jaringan endometriosis yang ditandai dengan adanya warna cokelat chromogen (tanda panah merah). IHC. 400x(n=42)

Gambar histopatologi jaringan ekspresi VEGF-A pada peritoneum dengan kit *Bio Assay Technology Laboratory* (BT Lab) yang ditunjukkan partikel warna cokelat *chromogen* pada jaringan endometriosis peritoneum yang imunoreaktif dan diukur menggunakan interpretasi imunoreaktivitas rata-rata *Immuno Reactive Score* (IRS) setiap kelompok, baik kelompok normal (N), kelompok negatif (KN), kelompok positif (KP), dan kelompok terapi *andorgapholide* P1, P2, dan P3 yang teramati pada sepuluh lapangan

pandang (LP) berbeda pada pembesaran 400x dari nilai rerata sepuluh lapangan pandang (Gambar 4.3).

5. Andrografolid dan Ekspresi P53 Jaringan Endometriosis Peritoneum

Pemeriksaan histopatologi imunohistokimia ini dimaksudkan untuk mengetahui skala semikuantitatif IRS Ekspresi VEGF-A endometriosis pada peritoneum. Data setiap spesimen dinilai secara semikuantitatif menurut metode Remmele, di mana indeks skala Remmele (*Immuno Reactive Score/IRS*) merupakan hasil perkalian antara skor persentase sel imunoreaktif dengan skor intensitas warna pada sel imunoreaktif. Data setiap sampel merupakan nilai rata-rata IRS yang teramati pada sepuluh lapangan pandang (LP) yang berbeda pada pembesaran 400x dari nilai rerata sepuluh lapangan pandang.

Pada Tabel 4.5 tampak ekspresi P53 peritoneum mencit yang tertinggi adalah pada kelompok kontrol negatif yaitu 4,11±1,06, sedangkan yang paling rendah adalah kelompok P3 yaitu 2,51±0,89 yang mendapatkan terapi *andrographolide* 0,2 mg/kg BB.

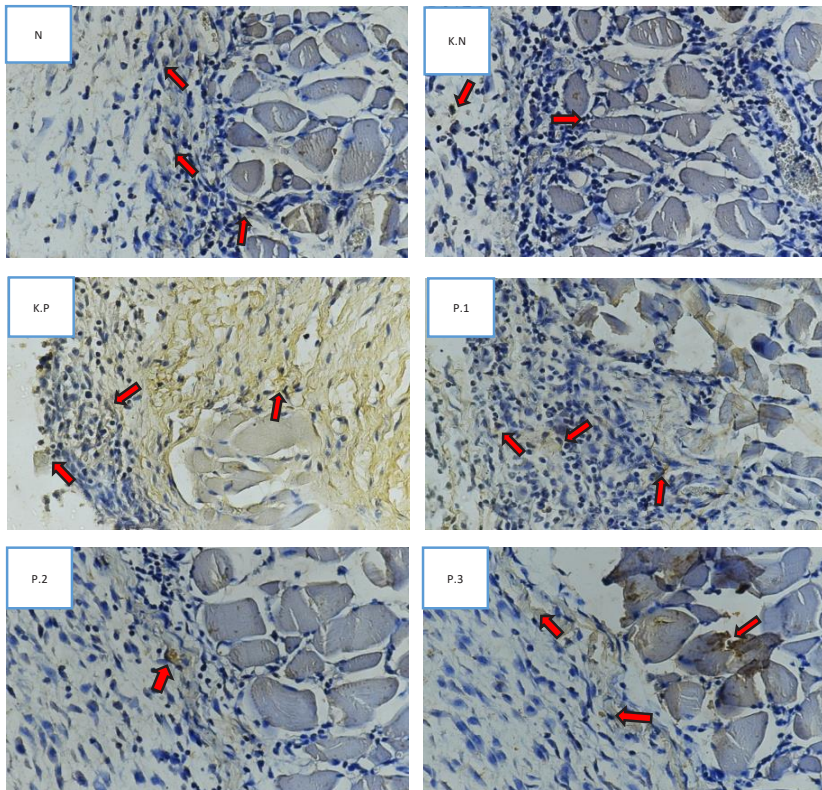
Tabel 4.5 Ekspresi P53

Kelompok	Ekspresi P53		
	Rerata±SB	Median	(Min - Max)
K Normal	2,51±1,04	2,00	(1,60-4,35)
K Negatif	4,11±1,06	4,50	(2,30-5,50)
K Positif	3,60±1,84	3,30	(1,50-7,20)
P1	3,18±1,14	2,90	(2,00-4,90)
P2	2,74±1,06	2,90	(1,20-4,10)
P3	2,51±0,89	2,30	(1,20-4,00)

Data ekspresi VEGF-A mempunyai distribusi tidak normal yang kemudian dilakukan uji non-parametrik Kruskal Wallis. Hasil uji Kruskal Wallis untuk ekspresi VEGF-A adalah 0.219. Nilai tersebut lebih dari 0.05

sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna antara enam kelompok.

Gambar histopatologi jaringan ekspresi P53 jaringan endometrium dengan kit *Bio Assay Technology Laboratory* (BT Lab) yang ditunjukkan partikel warna cokelat *chromogen* pada jaringan endometriosis peritoneum yang imunoreaktif dan diukur menggunakan interpretasi imunoreaktivitas rata-rata *Immuno Reactive Score* (IRS) setiap kelompok, baik kelompok normal (N), kelompok negatif (KN), kelompok positif (KP), dan kelompok terapi *andrographolide* P1, P2, dan P3 yang teramati pada sepuluh lapangan pandang (LP) berbeda pada pembesaran 400x dari nilai rerata sepuluh lapangan pandang (Gambar 4.4).



Gambar 4.4 Tanda panah menunjukkan adanya ekspresi P53 pada jaringan endometriosis (peritoneum) yang ditandai dengan adanya warna cokelat *chromogen* (tanda panah merah) IHC. 400 (n=42)

6. Andrografolid dan Ekspresi Ki-67 Endometriosis Peritoneum

Pemeriksaan histopatologi imunohistokimia ini dimaksudkan untuk mengetahui skala semikuantitatif IRS Ekspresi VEGF-A endometriosis pada peritoneum. Data setiap spesimen dinilai secara semikuantitatif menurut metode Remmele, di mana indeks skala Remmele (*Immuno Reactive Score/IRS*) merupakan hasil perkalian antara skor persentase sel imunoreaktif dengan skor intensitas warna pada sel imunoreaktif.

Tabel 4.6 menunjukkan ekspresi Ki-67 peritoneum mencit yang tertinggi adalah pada kelompok kontrol positif yaitu $3,60 \pm 1,84$, sedangkan yang paling rendah adalah kelompok P3 yaitu $2,45 \pm 1,35$ yang mendapatkan terapi *andrographolide* 0,2 mg/kg BB.

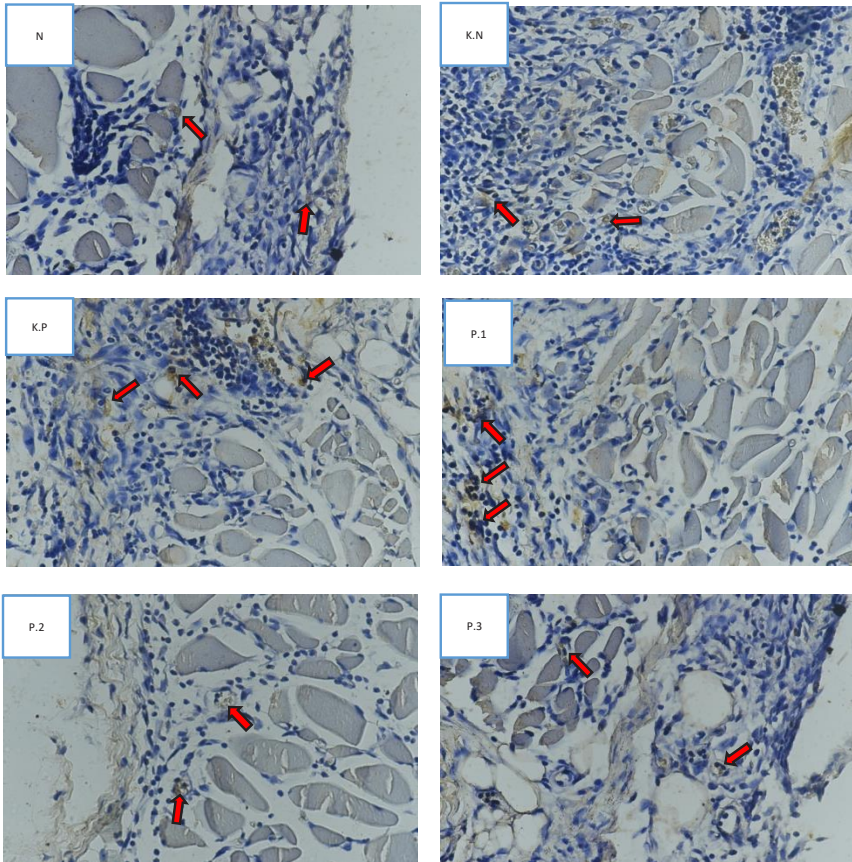
Tabel 4.6 Ekspresi Ki-67

Kelompok	Ekspresi Ki-67		
	Rerata $\pm$ SB	Median	(Min - Max)
K Normal	$2,20 \pm 1,49$	2,10	(0,30-3,90)
K Negatif	$2,90 \pm 1,73$	2,90	(0,30-5,20)
K Positif	$3,60 \pm 1,84$	3,30	(1,50-7,20)
P1	$3,52 \pm 1,61$	3,70	(0,80-6,00)
P2	$2,57 \pm 0,81$	2,50	(1,80-3,90)
P3	$2,45 \pm 1,35$	2,30	(0,80-4,30)

Berdasarkan hasil uji homogenitas, diperoleh bahwa nilai sig 0.185>0.05 artinya varian data homogen. Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan antara enam kelompok data (N, KN, KP, P1, P2, P3) pada ekspresi Ki-67.

Gambar histopatologi jaringan ekspresi Ki-67 jaringan peritoneum dengan kit *Bio Assay Technology Laboratory* (BT Lab) yang ditunjukkan partikel warna coklat *chromogen* pada jaringan endometriosis peritoneum yang imunoreaktif dan diukur menggunakan interpretasi imunoreaktivitas rata-rata *Immuno Reactive Score* (IRS) setiap kelompok, baik kelompok normal (N), kelompok negatif (KN), kelompok positif (KP), dan kelompok terapi *andrographolide* P1, P2, dan P3 yang teramati pada sepuluh

lapangan pandang (LP) berbeda pada pembesaran 400x dari nilai rerata sepuluh lapangan pandang oleh dua ahli patologi anatomi (Gambar 4.5).



Gambar 4.5 Tanda panah menunjukkan adanya ekspresi Ki-67 pada jaringan endometriosis (peritoneum) yang ditandai dengan adanya warna cokelat *chromogen* (tanda panah merah). IHC. 400x (n=42)

7. Andrografolid, Rasio M1 dan M2 Cairan Peritoneum

Andrografolid adalah senyawa alami dengan sifat anti-inflamasi yang dapat memodulasi makrofag M1 dan M2 yang merupakan bagian dari sistem imun bawaan dan dapat mengubah fenotipenya sebagai respons terhadap rangsangan. Ada dua jenis makrofag. Makrofag M1 yang merupakan makrofag pro-inflamasi yang melepaskan sitokin untuk

membantu melawan patogen dan menghambat pertumbuhan sel kanker maupun nonkanker dan infeksi, sedangkan makrofag M2 yang merupakan makrofag anti-inflamasi menghasilkan sitokin yang membantu perbaikan jaringan dan pertumbuhan tumor. Tabel 5.7 berikut ini menampilkan jumlah makrofag M1 dengan *marker* CD86 cairan peritoneum mencit yang terbagi menjadi enam kelompok.

Tabel 5.7 Makrofag M1 CD86 cairan peritoneum

Kelompok	M1 CD 86 (%)		
	Rerata ± SB	Median	(Min – Max)
K Normal	61,2 ± 5,11	62,08	(51,24 - 66,20)
K Negatif	54,9 ± 10,86	56,59	(40,60 - 70,34)
K Positif	61,5 ± 14,41	66,80	(29,75 - 71,02)
P1	42,4 ± 4,35	44,14	(32,92 - 45,47)
P2	80,0 ± 4,42	82,31	(73,79 - 84,44)
P3	20,4 ± 1,86	21,14	(16,28 - 21,46)

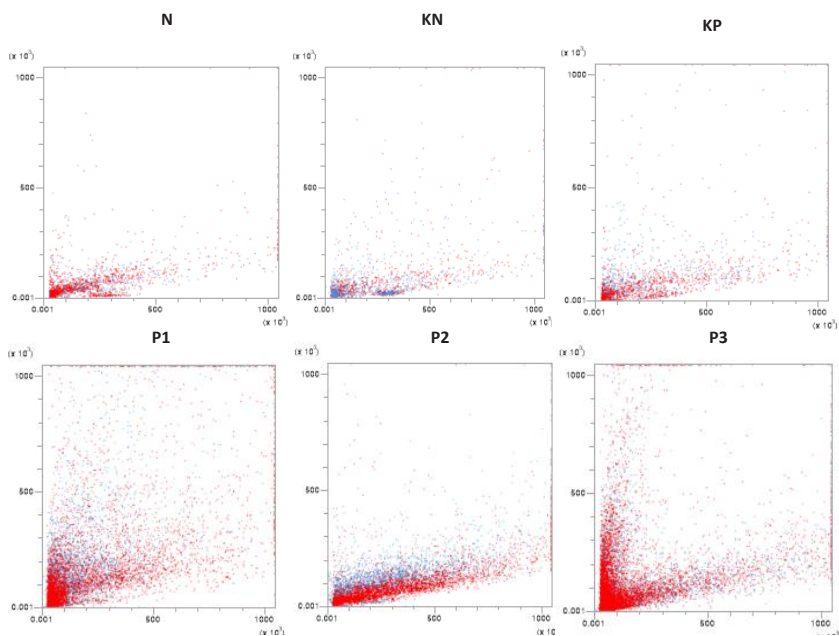
Tabel 5.7 menunjukkan jumlah makrofag M1 CD86 cairan peritoneum mencit paling banyak adalah pada kelompok P2 yaitu 80,02±4,423%, sedangkan yang paling sedikit adalah pada kelompok P3 yaitu 20,42±1,864%. Hasil uji statistik menunjukkan secara keseluruhan ada perbedaan yang bermakna pada jumlah makrofag M1 CD 86 cairan peritoneum antarkelompok peninjauan (p<0,001; Uji Kruskal-Wallis).

Tabel 5.8 Makrofag M2 CD163 cairan peritoneum

Kelompok	M2 CD163 (%)		
	Rerata ± SB;	Median	(Min – Max)
K Normal	35,5 ± 4,31	36,55	(26,41 - 38,90)
K Negatif	67,7 ± 3,26	67,67	(63,20 - 73,07)
K Positif	58,6 ± 2,31	58,35	(55,51 - 62,16)
P1	42,5 ± 5,54	44,83	(33,55 - 47,10)
P2	60,5 ± 2,24	60,45	(57,97 - 64,05)
P3	15,5 ± 4,17	16,79	(8,18 - 20,95)

Tabel 5.8 menunjukkan jumlah makrofag M2 CD163 cairan peritoneum mencit paling banyak adalah pada kelompok kontrol negatif yaitu $67,67 \pm 3,269\%$, sedangkan yang paling sedikit adalah pada kelompok P3 yaitu $15,48 \pm 4,168\%$. Hasil uji statistik menunjukkan secara keseluruhan ada perbedaan yang bermakna pada jumlah makrofag M2 CD163 cairan peritoneum antarkelompok peninjauan ($p < 0,001$; Uji Kruskal-Wallis). Jumlah makrofag M2 CD163 cairan peritoneum kelompok P1 adalah rendah secara bermakna dibanding pada kelompok kontrol negatif ($p = 0,002$).

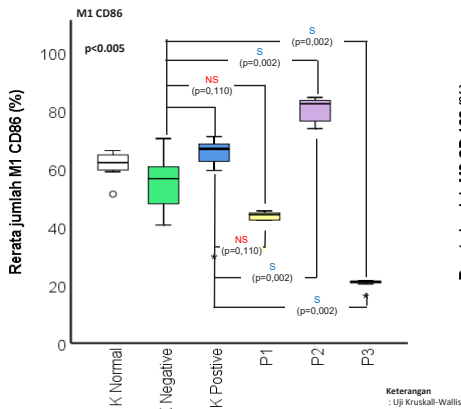
Makrofag merupakan sel imun bawaan yang berperan utama dalam fagositosis dan pembersihan serpihan sel atau patogen yang menyerang, sehingga sangat penting dalam berbagai proses patologis dan fisiologis. Makrofag klasik atau yang diaktifkan oleh M1 mempunyai efek positif terhadap peradangan dan terbentuk sebagai hasil dari aktivasi klasik dengan stimulasi Reseptor *Toll-like* melalui interferon-gamma ($\text{IFN-}\gamma$) atau lipopolisakarida (LPS) dan membunuh patogen yang menyerang melalui produksi oksida nitrat (NO) dan mediator inflamasi lainnya. Makrofag yang diaktifkan oleh M2 menghambat peradangan dan terbentuk saat makrofag terpapar sitokin seperti IL-4, IL-10, atau IL-13.



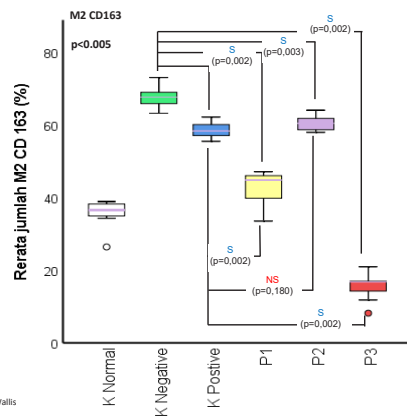
Gambar 4.6. Analisis *flow cytometry* makrofag M1 CD86 (merah) lebih dominan dibandingkan M2 CD 163 (biru) kelompok P1, P2 dan P3 yang mendapatkan Andrografolid dibandingkan kelompok kontrol negatif

Makrofag ini menghasilkan poliamina dan prolin, yang masing-masing menginduksi proliferasi dan produksi kolagen, sehingga memainkan peran penting dalam mengatur respons imun terhadap parasit, alergi, penyembuhan luka, dan *remodelling* jaringan. Makrofag anti-inflamasi dapat menginduksi diferensiasi limfosit T regulatori.

Hasil pemeriksaan *flow cytometry* cairan peritoneum (Gambar 4.6) dari seluruh spesimen peninjauan ditemukan bahwa perbandingan jumlah makrofag M1 CD86 (merah) lebih dominan dibandingkan M2 CD163 (biru) pada kelompok yang mendapatkan terapi *andrographolide* dibandingkan kelompok positif.



Gambar 4.6a



Gambar 4.6b

Gambar 4.7 Jumlah makrofag M1 CD86 (gambar kiri) dan M2 CD163 (gambar kanan) cairan peritoneum

Gambar 4.7 juga diketahui jumlah makrofag M1 CD86 cairan peritoneum kelompok P1 adalah rendah dibanding pada kelompok kontrol negatif, namun hasil uji statistik menunjukkan perbedaan tersebut adalah tidak bermakna ($p=0,110$). Jumlah makrofag M1 CD86 kelompok P2 lebih tinggi secara bermakna dibanding kelompok kontrol negatif ($p=0,002$), sedangkan jumlah makrofag M1 CD86 kelompok P3 lebih rendah secara bermakna dibanding kelompok kontrol negatif ($p=0,002$). Tampak tidak ada perbedaan bermakna jumlah makrofag M1 pada kelompok P1 ($p=0,25$), tetapi P2 dan P3 lebih rendah secara bermakna ($p=0,002$) dibandingkan kelompok positif. Sedangkan pada Gambar 4.6b perbedaan bermakna jumlah makrofag M2 kelompok P1, kelompok P2, dan P3 ($p=0,002$) jika dibandingkan kelompok negatif maupun positif kecuali M2 CD163 kelompok P2 juga tidak bermakna ($p=0,180$) dibanding kelompok kontrol positif.

Rasio M1/M2 makrofag adalah perbandingan jumlah makrofag M1 dengan jumlah makrofag M2. Makrofag M1 dan M2 dapat berperan dalam menekan atau meningkatkan perkembangan endometriosis. Makrofag M2 memiliki efek positif pada pertumbuhan endometriosis, sedangkan makrofag M1 menghambat pertumbuhannya.

Tabel 5.9 Rasio M1/M2 peritoneum

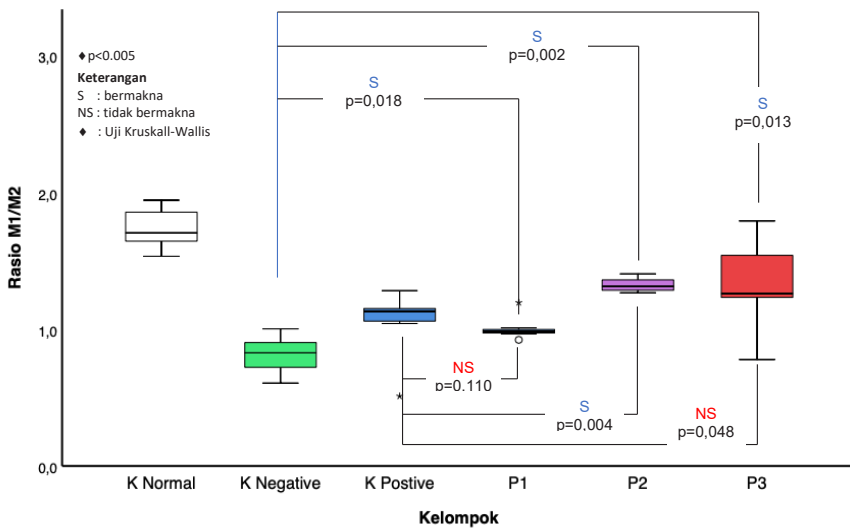
Kelompok	Rasio M1/M2		
	Rerata $\pm$ SB	Median	(Min - Max)
K Normal	1,74 $\pm$ 0,153	1,70	(1,53-1,94)
K Negatif	0,81 $\pm$ 0,148	0,83	(0,60-1,00)
K Positif	1,05 $\pm$ 0,249	1,13	(0,51-1,28)
P1	1,00 $\pm$ 0,087	0,98	(0,92-1,19)
P2	1,32 $\pm$ 0,051	1,31	(1,26-1,40)
P3	1,45 $\pm$ 0,581	1,26	(0,78-2,59)

Rasio M1/M2 peritoneum mencit pada Tabel 5.9 yang tertinggi adalah pada kelompok kontrol normal yaitu 1,74 $\pm$ 0,153, sedangkan yang paling rendah adalah kelompok kontrol negatif yaitu 0,81 $\pm$ 0,148 yang mendapatkan terapi andrografolid 0,2 mg/kg BB.

Hasil uji statistik menunjukkan secara keseluruhan ada perbedaan yang bermakna pada rasio M1/M2 antarkelompok peninjauan ($p < 0,001$; Uji Kruskal-Wallis). Hasil analisis uji Mann-Whitney menunjukkan rasio M1 lebih tinggi dibanding M2 pada kelompok P3 ($p = 0,013$), dibanding dengan rasio M1/M2 kelompok negatif, tetapi apabila dibandingkan kelompok positif menjadi tidak bermakna ($p = 0,48$). Rasio M1 lebih tinggi secara bermakna dibandingkan M2 apabila kelompok P2 dibandingkan dengan kelompok negatif ($p = 0,002$) dan kelompok positif ($p = 0,004$).

Demikian juga terjadi pada kelompok P1 di mana rasio M1/M2 berbeda secara bermakna apabila dibandingkan dengan kelompok negatif ($p = 0,018$) tetapi tidak bermakna apabila dibandingkan dengan kelompok positif. Hasil uji statistik juga menunjukkan perbedaan tidak bermakna, kelompok kontrol normal lebih tinggi dibanding kelompok P3 ($p = 0,085$). Hasil analisis juga menunjukkan kelompok kontrol negatif lebih rendah secara bermakna dibanding kelompok kontrol positif ($p = 0,025$), P1 ($p = 0,018$), P2 ($p = 0,002$), dan P3 ($p = 0,013$). Kelompok P2 ($p = 0,04$) dan P3 ($p = 0,048$) lebih rendah secara bermakna dibanding kelompok kontrol positif. Kelompok P1 lebih rendah secara bermakna dibanding kelompok P2 ($p = 0,002$) dan P3 ($p = 0,025$). Perbedaan ini tampak pada Gambar 4.8.

GGraph



Gambar 4.8 Rasio M1 CD86 terhadap M2 CD163 cairan peritoneum

8. Andrografolid dan Luas Jaringan Endometriosis Peritoneum

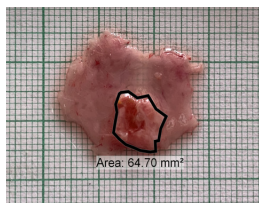
a. Luas Endometriosis pada Peritoneum

Perhitungan menggunakan perangkat lunak *Motic Image* pada Gambar 4.9 tampak bahwa luas endometriosis kelompok P3 lebih rendah dibandingkan kelompok KP yaitu 7,91 mm².

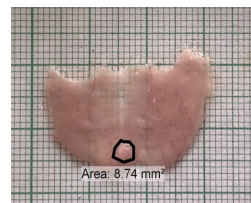
Kelompok N



Kelompok KN



Kelompok KP





Gambar 4.9 Gambaran makroskopik lesi hipervaskularisasi endometriosis (lingkaran) pada jaringan peritoneum tiap kelompok (N, KN, KP, P1, P2, dan P3).

Hasil eksisi peritoneum mencit pasca perlakuan yakni untuk menghitung luas endometriosis di peritoneum. Hasil eksisi berupa luas (mm²) endometriosis pada peritoneum ditampilkan pada Tabel 5.10.

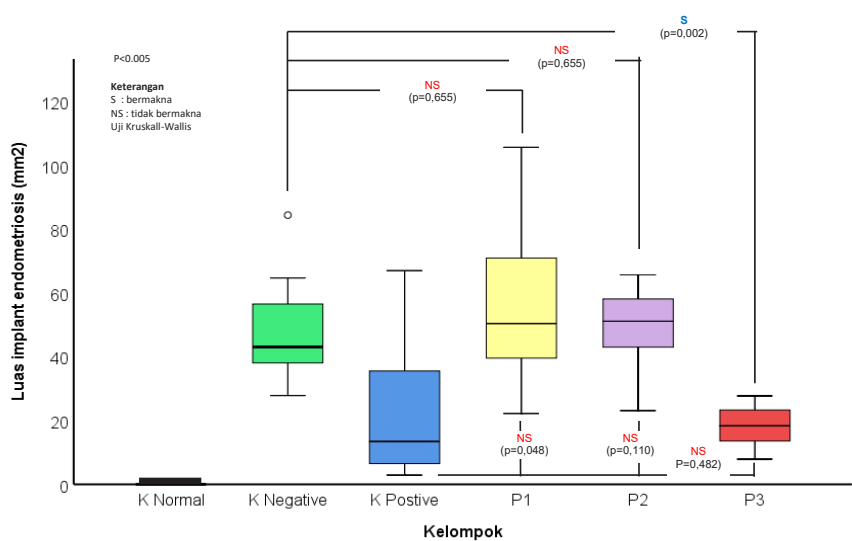
Table 5.10 Luas endometriosis pada peritoneum

Kelompok	Luas implan (mm ²)		
	Rerata $\pm$ SB ; Median (Min – Max)		
K Normal	0,0 $\pm$ 0,00	; 0,00	(0,00 - 0,00)
K Negatif	49,2 $\pm$ 19,25	; 43,05	(27,84 - 84,37)
K Positif	23,9 $\pm$ 26,07	; 13,45	(2,92 - 66,97)
P1	57,0 $\pm$ 28,38	; 50,39	(22,23 - 105,65)
P2	48,9 $\pm$ 14,45	; 51,15	(23,11 - 65,66)
P3	18,2 $\pm$ 7,16	; 18,37	(7,91 - 27,71)

Tabel 5.10 menunjukkan kelompok kontrol normal tidak ada endometriosis sehingga tertera angka 0. Endometriosis yang paling luas dijumpai pada kelompok P1 yaitu 57,04 $\pm$ 28,387 mm². Endometriosis yang kecil adalah pada kelompok P3 yaitu 18,25 $\pm$ 7,164 mm². Nilai kemaknaan hasil perbandingan antarkelompok luas endometriosis pada peritoneum mencit antarkelompok peninjauan ditampilkan pada Gambar 4.9. Hasil uji statistik menunjukkan secara keseluruhan ada perbedaan yang bermakna pada luas endometriosis peritoneum antara kelompok peninjauan ($p < 0,001$; Uji Kruskal-Wallis). Endometriosis peritoneum kelompok P1 lebih luas tapi tidak bermakna dibanding kelompok kontrol

negatif ($p=0,655$) demikian juga bila dibandingkan dengan kelompok positif ($p=0,048$).

Perbedaan tidak bermakna endometriosis peritoneum kelompok P2 yang lebih sempit dibanding kelompok kontrol negatif ($p=0,655$) dan kelompok positif ($p=0,110$). Endometriosis peritoneum kelompok P3 adalah lebih sempit secara bermakna dibanding kelompok kontrol negatif ($p=0,002$) tetapi tidak bermakna ($p=0,482$) dibandingkan kelompok positif. Perbedaan ini tampak pada Gambar 4.10.



Gambar 4.10 Luas endometriosis peritoneum

Manfaat Nyata Andrografolid

Endometriosis adalah penyakit ginekologi akibat proses inflamasi yang ditandai dengan pertumbuhan jaringan endometrium di luar rahim. Pada manusia, endometriosis berhubungan erat dengan infertilitas karena kondisi ini dapat mengganggu anatomi panggul, menyebabkan jaringan parut, dan perlengketan yang menghalangi sperma bertemu sel telur atau menyumbat tuba falopi, menciptakan lingkungan peradangan yang buruk untuk implantasi embrio, dan mempengaruhi kualitas sel telur serta lingkungan rahim. Karena endometriosis adalah penyakit inflamasi kronis yang dapat menyebabkan nyeri dan infertilitas, penting untuk mempertimbangkan fertilitas pasien saat penanganannya.

Dienogest adalah terapi standar dengan menggunakan penekanan hormon agar endometriosis tidak kambuh, hal ini terjadi karena terdapat perubahan perspektif tentang patofisiologi endometriosis akibat proses imun. Implikasi disregulasi imun dalam patogenesis endometriosis dan perkembangan penyakit telah menjadi bidang peninjauan yang terus berkembang, dengan banyak jalur imun dan inflamasi yang teridentifikasi. Teori terjadinya endometriosis juga terjadi pada beberapa penyakit inflamasi kronis yang memiliki disregulasi umum jalur IL-23/IL-17 seperti yang terlihat pada penyakit radang usus, psoriasis, dan artritis reumatoid. Hal ini menyebabkan kejadian endometriosis merupakan perpaduan inflamasi dengan jaringan kompleks imun endokrin. Imunologi endometriosis yang unik terjadi oleh dominasi estrogen sehingga

menyebabkan ketidakseimbangan endokrin dan menumbuhkan disregulasi imun berupa reaksi inflamasi^{212,213,214}.

Teori inflamasi, salah satu teori yang dikemukakan untuk etiopatologi endometriosis, di mana lingkungan peritoneum proinflamasi mungkin mendukung implantasi jaringan cairan menstruasi yang mengalir kembali ke dalam peritoneum panggul. Dengan demikian, proliferasi endometriosis itu sendiri dapat meningkatkan agresi lokal yang mengakibatkan rekrutmen makrofag pada peritoneum dan aktivasi fibroblas peritoneum, yang menyebabkan sekresi reaksi inflamasi, sehingga menghasilkan implan endometriosis yang dapat tumbuh di peritoneum melalui proses pembentukan pembuluh darah baru yaitu angiogenesis^{116,215}.

A. Penurunan Kadar TNF- α

Kadar TNF- α cairan peritoneum mencit yang tertinggi adalah pada kelompok P2, sedangkan yang paling rendah adalah kelompok P3 dengan dosis *andrographolide* 0,2 mg/kg BB, lebih rendah secara bermakna dari kelompok kontrol negatif. Hal ini sesuai peninjauan sebelumnya oleh Chen *et al.*, yang menunjukkan bahwa *andrographolide* menurunkan ekspresi TNF- α yang diinduksi interseluler adhesi molekul-1 (ICAM-1) dan adhesi sel HL-60 ke sel endotel vena umbilikalis manusia (HUVEC), yang berhubungan dengan proses inflamasi. Peninjauan terdahulu oleh Yuan *et al.*,²¹⁷ menunjukkan *andrographolide* sebagai anti-inflamasi menghambat aktivasi NF- $\kappa\beta$, TNF- α , IL-12, menekan pelepasan *inducible Nitric Oxide Synthase* (iNOS), menghambat pelepasan COX-2 dan berakibat menekan kadar TNF- α yang merangsang migrasi sel imun untuk sampai ke tempat infeksi, berkontribusi pada pembentukan granuloma, dan dapat menjadikan progresivitas implan endometriosis pada peritoneum menurun.

Hasil peninjauan ini tampak kadar TNF- α kelompok P2 di mana mencit mendapatkan *andrographolide* sesuai perhitungan dosis 0,1 mg/kg BB terjadi peningkatan dan hal ini tidak terjadi pada kelompok P1 yang mendapatkan dosis 0,05 Kg/BB dan P3 yang mendapatkan dosis *andrographolide* 0,2 Kg/BB. Hasil ini sesuai dengan peninjauan yang dilakukan Siridechakorn *et*

al.,²¹⁸ yang menerangkan bahwa andrografolid menunjukkan efek karena interaksi nya dengan sistem biologis pada konsentrasi yang berbeda. Efek ini menunjukkan ekstrak dapat menghasilkan efek yang berlawanan pada dosis rendah dan tinggi karena adanya *Receptor Binding Affinity*. Keadaan ini menjadikan andrografolid pada dosis rendah menstimulasi reseptor tertentu, yang mengarah pada efek modulasi imun atau anti-inflamasi. Sedangkan pada dosis yang lebih tinggi, ekstrak dapat menstimulasi reseptor ini secara berlebihan atau mengaktifkan jalur penghambatan, yang menyebabkan efek berlawanan seperti imunosupresi atau toksisitas.

B. Resistensi Sitokin IL-17A

Interleukin-17A (IL-17A) dikenal sebagai sitokin proinflamasi yang diturunkan dari sel Th17, yang memainkan peran penting dalam beberapa penyakit inflamasi dan autoimun seperti lupus eritematosus sistemik (SLE), artritis reumatoid, ekspresi IL-17A diatur dalam serum, cairan peritoneum (PF), dan lesi endometriotik pada endometriosis. L-17A adalah sitokin pro-inflamasi yang memiliki peran penting dalam sistem kekebalan tubuh, baik dalam melindungi tubuh dari infeksi maupun dalam menyebabkan penyakit inflamasi dan autoimun. Sitokin ini diproduksi oleh berbagai jenis sel imun, terutama sel T, dan mempengaruhi berbagai proses, termasuk aktivasi neutrofil, produksi sitokin lain, dan perbaikan jaringan^{12,219}.

Tampak pada hasil peninjauan ini tidak sesuai dengan presumasi di mana kadar IL-17A cairan peritoneum kelompok P1 lebih tinggi secara bermakna dibanding pada kelompok kontrol negatif. Kadar IL-17A kelompok P2 lebih tinggi secara bermakna dibanding kelompok kontrol negatif. Kadar IL-17A kelompok P3 juga lebih tinggi secara bermakna dibanding kelompok kontrol negatif. Hal ini sesuai dengan peninjauan oleh Miller *et al.*,²²⁰ di mana proses inflamasi dari endometriosis mempolarisasi makrofag M2 pada cairan peritoneum menginduksi IL-17A yang juga meningkat pada plasma dan lesi endometriotik wanita dengan endometriosis.

Peningkatan IL-17A kelompok P2 di mana mencit mendapatkan andrografolid sesuai perhitungan dosis 0,1 mg/kg BB tapi tidak terjadi pada kelompok P1 yang mendapatkan dosis 0,05 Kg/BB maupun P3 yang mendapatkan dosis andrografolid 0,2 Kg/BB. Hasil ini sesuai dengan peninjauan Chandran *et al.*,²²¹ di mana senyawa farmakodinamik dalam andrografolid memiliki lokasi target yang berbeda dalam tubuh. Konsentrasi rendah dapat meningkatkan jalur terapeutik, sementara konsentrasi tinggi dapat memicu mekanisme kompensasi yang melawan respons awal. Peningkatan kadar IL 17A pada kelompok P1, P2, dan P3 dibandingkan kelompok positif terjadi karena andrografolid hanya mampu menekan kadar IL 17A pada mekanisme anti-inflamasi dan target molekuler pada penyakit sistem pernapasan, pencernaan, kekebalan tubuh, saraf, kardiovaskular karena jamur, dan infeksi bakteri bukan karena peradangan kronis karena endometriosis⁴⁹.

Pada peninjauan ini tampak bahwa kadar IL 17A endometriosis tidak tertekan oleh terapi *andrographolide*. Hal ini disebabkan adanya aktivasi jalur pensinyalan alternatif pada endometriosis yaitu penyakit kompleks yang didorong oleh berbagai jalur inflamasi dan hormonal. Meskipun andrografolid secara efektif menargetkan regulator inflamasi utama seperti NF- κ B dan jalur JAK/STAT, andrografolid tidak bekerja pada semua jalur pensinyalan potensial. Jalur lain yang tidak sensitif terhadap andrografolid mungkin berkontribusi terhadap kadar IL-17A yang berkelanjutan dalam konteks eksperimen spesifik⁴¹. Menurut Zheng⁴³, pengobatan dengan andrografolid secara signifikan menekan pertumbuhan endometrium ektopik secara *in vitro* dan *in vivo*, serta menghasilkan perbaikan signifikan pada hiperalgesia umum pada tikus dengan endometriosis terinduksi dan dapat bersifat sitoreduktif, sehingga dapat meredakan gejala nyeri pada wanita dengan endometriosis. Qin Zhu²²² menyatakan bahwa apabila bioavailabilitas andrografolid rendah, maka efektivitas andrografolid bergantung pada dosis. Dosis yang kurang optimal mungkin tidak cukup tinggi untuk menghasilkan efek yang signifikan. Demikian pula durasi pengobatan mungkin terlalu pendek untuk memodulasi respons inflamasi kronis yang merupakan karakteristik endometriosis.

C. Penurunan Ekspresi VEGF-A

Infiltrasi dan proliferasi ektopik endometrium ke peritoneum merupakan proses jaringan kompleks yang mencakup respons imun, respons inflamasi, hormon, perlengketan panggul, angiogenesis, dan mekanisme saraf. Angiogenesis adalah proses pembentukan pembuluh darah baru yang bertahap dan rumit yang melibatkan ekstrasvasi faktor pertumbuhan dan degradasi matriks ekstraseluler, serta migrasi, proliferasi oleh sel endotel. Endometriosis adalah penyakit kompleks yang sepenuhnya bergantung pada perkembangan pembuluh darah baru dan asosiasi berbagai faktor terkait angiogenesis. Pada wanita dengan endometriosis, ekspresi VEGF-A, suatu faktor angiogenik meningkat dalam cairan peritoneum dan juga diekspresikan dalam jaringan peritoneum. Ekspresi ini berkaitan dengan aktivasi makrofag dan pengaruh steroid ovarium. Selain itu, TGF- β 1, sitokin lain, diduga berperan dalam pembentukan lesi endometriosis, dan telah terbukti meningkatkan ekspresi VEGF-A melalui jalur ID. Peninjauan sebelumnya secara konsisten menunjukkan bahwa ekspresi VEGF-A lebih tinggi dalam cairan peritoneum wanita dengan endometriosis dibandingkan dengan mereka yang tidak mengalami endometriosis. Pada peritoneum VEGF-A juga diekspresikan dalam peritoneum wanita dengan endometriosis, baik dalam endometrium eutopik (normal) maupun dalam lesi ektopik^{223,224}.

Gagne *et al.*,²²⁵ menyatakan bahwa VEGF-A dalam cairan peritoneum mempengaruhi proliferasi, migrasi, dan permeabilitas sel endotel yang menyebabkan ekspresi VEGF-A pasien endometriosis tipe IV lebih tinggi dibandingkan dengan endometriosis tipe I dan tipe II, serta pada pasien tanpa endometriosis. Oleh karena itu, VEGF-A merupakan *biomarker* penting untuk endometriosis. VEGF-A bekerja pada sel endotel dan mendorong respons angiogenik dini melalui jalur yang dimediasi VEGFR2, yang mendorong fungsi endotel dan permeabilitas vaskular endometriosis²²⁶. Hal ini sesuai dengan hasil dari peninjauan ini bahwa ekspresi VEGF-A peritoneum pada kelompok *andrographolide* P2 dan P3 lebih rendah secara bermakna dibandingkan pada kelompok negatif, sedangkan tidak bermakna apabila dibandingkan kelompok positif.

Beberapa reaksi imun dan inflamasi terkait erat dengan terjadinya angiogenesis pada endometriosis adalah adanya aktivitas TNF- α dan COX-2 yang dapat diinduksi *hypoxia-inducible factor 1 α* (HIF-1) (HIF-1) yang menyebabkan degradasi matriks ekstraseluler dan menjadi komponen kunci dari adhesi endometriosis dan angiogenesis. TNF- α mendorong terjadinya proliferasi serta angiogenesis selama perkembangan endometriosis^{227,228}. Pada kelompok positif tampak terapi standar (*dienogest*) yang merupakan progestin baru yang sangat selektif terhadap reseptor progesteron dan menghambat endometriosis dengan mengurangi proliferasi, ekspresi aromatase dan angiogenesis, serta meningkatkan apoptosis pada sel endometriosis manusia²²⁹. Pada peninjauan sebelumnya oleh Shen *et al.*,²³⁰ di mana *andrographolide* (*Andrographis paniculata*) diketahui memiliki aktivitas anti-tumor, dan senyawa aktif potensialnya adalah *diterpenoid lactone andrographolide* yang menghambat respons angiogenik yang diinduksi faktor VEGF-A secara in vitro atau in vivo, serta menghambat fosforilasi reseptor VEGFR2 yang diinduksi VEGF-A sehingga dapat menekan angiogenesis. Hal ini sesuai dengan peninjauan ini, di mana tampak lesi endometriosis pada peritoneum lebih sempit secara signifikan dibandingkan kelompok negatif akibat terapi andrografolid yang menekan aktivitas TNF- α yang menyebabkan ekspresi VEGF A lebih rendah meski tidak bermakna pada kelompok P2 dibandingkan kelompok negatif.

D. Penekanan Ekspresi P53

P53 adalah protein penekan tumor yang memainkan peran penting dalam mengatur pertumbuhan sel dan mencegah perkembangan kanker. Menurut Chen *et al.*,²³¹ ekspresi VEGF-A bukan merupakan indikator tunggal yang spesifik untuk angiogenesis, namun berkorelasi secara signifikan dengan ekspresi P53. Sainz *et al.*,²³² menyatakan bahwa ekspresi berlebihan P53 pada endometriosis atipikal dan kanker yang berhubungan dengan endometriosis dapat digunakan untuk mengidentifikasi endometriosis dengan potensi keganasan. Hal ini tampak pada peninjauan ini di mana ekspresi P53 lebih tinggi pada kelompok negatif dibandingkan kelompok positif, tetapi pada kelompok P53 jauh lebih rendah meskipun tidak

bermakna dibandingkan kelompok negatif yang mendapatkan terapi *andrographolide*. Andrografolid menekan ekspresi P53, serta peningkatan regulasi transkripsional DR4 yang diinduksi oleh P53. Proses stimulasi ini menyebabkan stimulasi apoptosis melalui ligan penginduksi apoptosis terkait *Tumor-Necrosis-Factor Apoptosis* (TRAIL). Andrografolid juga meningkatkan proses apoptosis yang diinduksi TRAIL melalui DR4 pada sel yang resistan terhadap TRAIL yang menyebabkan internalisasi reseptor faktor *Epidermal Growth Factor* (EGFR) dan *Transferrin Receptors* (TfR) karena penurunan regulasi reseptor permukaan sel dan kerusakan EGFR dan TfR pada kasus keganasan^{233,234}. Penekanan ekspresi P53 pada peritoneum sesuai dengan luas endometriosis pada kelompok yang mendapatkan terapi andrografolid (P1, P2, dan P3) lebih sempit secara bermakna dibandingkan kelompok negatif meski tidak bermakna. Antibodi P53 pada endometriosis berkontribusi pada peradangan kronis dan kerusakan jaringan yang terkait dengan endometriosis.

E. Penurunan Ekspresi Ki-67

Ki-67 merupakan penanda proliferasi sel, dan ekspresi nya meningkat pada endometriosis, khususnya pada lesi yang lebih aktif dan invasif. Endometriosis adalah penyakit jinak dengan sifat proliferasif yang tinggi. Proliferasi dikaitkan dengan progresivitas penyakit, sedangkan progresivitas ditandai dengan kemampuan untuk membentuk massa masif seperti endometriosis yang meluas ke jaringan di sekitarnya sesuai stadium endometriosis. Lian *et al.*,²³⁵ menyimpulkan bahwa proliferasi merupakan penanda utama progresivitas endometriosis dengan mengukur proliferasi adalah Ki-67, yang diperiksa secara imunohistokimia. Ki-67 merupakan protein penanda proliferasi sel. Pada interfase, antigen dapat dideteksi di dalam nukleus, sama seperti protein pada kromosom pada fase mitosis. Peninjauan oleh Huniadi *et al.*,²³⁶ juga menyatakan bahwa protein Ki-67 muncul pada setiap fase aktif dalam pembelahan sel (G1, S, G2, dan mitosis) tetapi tidak terdeteksi pada fase istirahat (G0), menjadikan Ki-67 sebagai penanda yang baik untuk menentukan fraksi pertumbuhan sel.

Peninjauan oleh Diaz *et al.*,²³⁷ menunjukkan bahwa ekspresi Ki-67 meningkat akibat suatu perubahan sistem imun akibat infeksi kronis yang laten, sehingga ekspresi Ki-67 dapat digunakan sebagai *biomarker* sel imun yang potensial untuk pengembangan alat diagnostik yang lebih baik. Ki-67 merupakan protein nukleus yang diekspresikan dalam semua fase aktif pembelahan atau proliferasi sel. Ekspresi nya merupakan indikator pertumbuhan dan proliferasi sel yang andal, sehingga berguna untuk mempelajari dinamika endometriosis. Peningkatan regulasi Ki-67 pada endometrium ektopik telah dikaitkan dengan kekambuhan endometriosis, yang menunjukkan bahwa hal itu mungkin merupakan penanda prediktif potensial untuk respons pengobatan. Pada endometriosis, ekspresi Ki-67 sering kali meningkat, khususnya pada lesi yang aktif dan invasif. Hal ini menunjukkan bahwa lesi endometriosis ditandai dengan tingkat proliferasi sel yang lebih tinggi dibandingkan dengan jaringan endometrium normal. Ki-67 dan jenis endometriosis^{21,238,239}. Lou *et al.*,²⁰ telah menunjukkan bahwa ekspresi Ki-67 bervariasi tergantung pada jenis dan karakteristik lesi endometriosis dengan infiltrasi yang lebih dalam atau susukan dalam (DIE) yang dianggap lebih agresif dibandingkan dengan lesi endometriosis pada peritoneum.

Hal ini sesuai dengan peninjauan ini, di mana rerata ekspresi Ki-67 pada kelompok P2 dan P3 lebih rendah tidak bermakna dibandingkan kelompok positif, sedangkan pada kelompok P1 lebih tinggi meski tidak bermakna dibandingkan kelompok negatif.

F. Rasio M1 Dibandingkan M2

Tingkat keparahan endometriosis menyebabkan nyeri panggul dan infertilitas yang ditandai dengan peradangan, angiogenesis, proliferasi jaringan, dan reaksi imun inflamasi kronis pada area endometriosis. Proliferasi endometriosis ditentukan oleh interaksi nya dengan berbagai sel imun, termasuk makrofag, sel pembunuh alami (NK), dan sel T regulator (Treg). Makrofag adalah sel imun yang banyak yang ditemukan dalam cairan peritoneum dan juga terdapat di dalam lesi, serta dapat membunuh

sel endometriotik atau seringkali mendorong pertumbuhan lesi. Selain itu, makrofag sangat penting untuk peradangan dan persarafan yang berperan dalam meningkatkan rasa sakit. Oleh karena itu, peningkatan jumlah sel imun dan disfunksinya memainkan peran penting dalam patogenesis endometriosis^{53,240,241}.

Makrofag merupakan sel fagosit sistem imun yang tersebar di berbagai jaringan dan berperan penting dalam berbagai penyakit seperti gangguan inflamasi dan pertumbuhan tumor. Berdasarkan perannya, makrofag secara luas diklasifikasikan menjadi makrofag M1 (dikenal sebagai makrofag yang diaktifkan secara klasik) dan makrofag M2 (dikenal sebagai makrofag yang diaktifkan secara alternatif). Makrofag klasik atau yang diaktifkan oleh M1 mempunyai efek positif terhadap peradangan dan terbentuk sebagai hasil dari aktivasi klasik dengan stimulasi Reseptor *Toll-like* melalui interferon-gamma (IFN- γ) atau lipopolisakarida (LPS) dan membunuh patogen yang menyerang melalui produksi oksida nitrat (NO) dan mediator inflamasi lainnya. Makrofag yang diaktifkan oleh M2 menghambat peradangan dan terbentuk saat makrofag terpapar sitokin seperti IL-4, IL-10, atau IL-13. Makrofag ini menghasilkan poliamina dan prolin, yang masing-masing menginduksi proliferasi dan produksi kolagen, sehingga memainkan peran penting dalam mengatur respons imun terhadap parasit, alergi, penyembuhan luka, dan *remodelling* jaringan. Makrofag anti-inflamasi dapat menginduksi diferensiasi limfosit T regulatori^{231,242}.

Pada peninjauan yang dilakukan oleh Lin *et al.*,²⁴³ yang mengamati pengaruh *andrographolide* terhadap aktivasi *mitogen-activated protein kinases* (MAPKs) dan ekspresi faktor nuklir- κ B (NF- κ B), diperoleh hasil bahwa *andrographolide* dapat menghambat aktivitas protein kinase pada makrofag M2 pada aterosklerosis. Hal ini sesuai dengan hasil peninjauan ini di mana jumlah makrofag M1 CD86 cairan peritoneum mencit lebih dominan secara signifikan dibandingkan M2 CD163, baik kelompok P1, P2, dan P3 dibandingkan kelompok kontrol positif. Demikian juga dengan rasio M1/M2 pada kelompok P1, P2, dan P3 yang mempunyai pola sama dengan kelompok kontrol positif, meskipun kelompok P1 tidak berbeda bermakna apabila dibandingkan kelompok kontrol positif.

Tinjauan ini sesuai dengan peninjauan yang dilakukan Lagana *et al.*,¹²⁵ yang menyimpulkan bahwa jumlah makrofag M1 dan M2 secara signifikan lebih tinggi pada kelompok endometriosis dibandingkan dengan kontrol pada semua stadium nya.

G. Penurunan Luas Endometriosis di Peritoneum

Cairan peritoneum wanita dengan endometriosis mengandung peningkatan jumlah makrofag teraktivasi yang mengeluarkan berbagai produk lokal, seperti faktor pertumbuhan dan sitokin. Kadar beberapa sitokin dilaporkan meningkat pada cairan peritoneum wanita penderita endometriosis. Karena lingkungan peritoneum mungkin dikendalikan oleh faktor-faktor yang diatur secara lokal, sitokin diyakini berperan dalam perkembangan, serta perkembangan endometriosis dan infertilitas terkait endometriosis²⁴⁴.

Tinjauan ini menunjukkan bahwa secara keseluruhan terdapat perbedaan yang bermakna pada luas endometriosis di peritoneum, namun tidak bermakna antara kelompok P1 dibanding kelompok kontrol negatif. Sedangkan kelompok P2 dan P3 lebih sempit secara bermakna dibanding kelompok kontrol negatif, tetapi tidak bermakna dibandingkan kelompok positif. Hal ini sesuai dengan peninjauan awal tentang potensi *andrographolide* terhadap endometriosis oleh Zheng *et al.*,⁴³ yang menyimpulkan bahwa *andrographolide* mungkin bersifat sitoreduktif dan dapat meredakan gejala nyeri pada wanita dengan endometriosis.

Kelemahan peninjauan ini yaitu belum mengamati faktor penting lainnya seperti aktivasi NF-kappa B dan TGF- β yang berkontribusi terhadap polarisasi makrofag dan patogenesis endometriosis pada jaringan peritoneum yang berperan dalam pembentukan lesi endometriosis melalui jalur ID1 (*Inhibitor of DNA binding 1*). Jalur ID1 merupakan protein yang berfungsi untuk proliferasi, diferensiasi sel, dan berkontribusi terhadap pertumbuhan tumor, metastasis, serta resistensi obat. Model tikus BALB/C umumnya digunakan dalam imunologi, tetapi utamanya yaitu galur yang bias Th2, yang berarti cenderung menghasilkan sitokin tipe Th2. Meskipun

endometriosis secara umum dikaitkan dengan peningkatan IL-17, respons imun spesifik dalam model BALB/C mungkin didominasi oleh jalur inflamasi lainnya, sehingga IL-17A mungkin kurang responsif terhadap andrografolid dibandingkan faktor inflamasi lainnya, seperti NF- κ B atau IL-6, yang secara lebih konsisten dihambat oleh andrografolid di berbagai model dan variasi ekspresi *tumor marker* yang belum semuanya ditinjau pada peninjauan mencit BALB/C endometriosis.

Pentingnya Andrografolid Pada Penanganan Endometriosis

Pemberian andrografolid mempunyai pengaruh terhadap sistem imun pada cairan peritoneum dan luas pertumbuhan jaringan endometriosis pada mencit (*Mus musculus*) galur BALB/C setelah tujuh hari pemberian terapi dibandingkan terapi standar dan tanpa terapi.

Adapun kadar TNF- α diketahui lebih rendah secara bermakna pada cairan peritoneum setelah pemberian andrografolid pada mencit (*Mus musculus*) galur BALB/C endometriosis yang diberi terapi andrografolid dengan dosis 0,05 mg/kg BB, 0,1 mg/kg BB, dan 0,2 mg/kg BB dibandingkan tanpa terapi dan terapi *dienogest* selama tujuh hari.

Kemudian, kadar IL-17A lebih tinggi secara bermakna pada cairan peritoneum setelah pemberian andrografolid pada mencit (*Mus musculus*) galur BALB/C endometriosis yang diberi terapi andrografolid dengan dosis 0,05 mg/kg BB, 0,1 mg/kg BB, dan 0,2 mg/kg BB dibandingkan tanpa terapi dan terapi *dienogest* selama tujuh hari.

Ekspresi VEGF-A pada jaringan intraperitoneal lebih rendah tetapi tidak bermakna setelah pemberian andrografolid terhadap mencit (*Mus musculus*) galur BALB/C endometriosis yang diberi terapi andrografolid dengan dosis 0,05 mg/kg BB, dosis 0,1 mg/kg BB, dan dosis 0,2 mg/kg BB dibandingkan tanpa terapi dan terapi *dienogest* selama tujuh hari pemberian terapi.

Ekspresi P53 pada jaringan intraperitoneal diketahui lebih rendah tetapi tidak bermakna setelah pemberian andrografolid terhadap mencit (*Mus musculus*) galur BALB/C endometriosis yang diberi terapi andrografolid dengan dosis 0,05 mg/kg BB, dosis 0,1 mg/kg BB, dan dosis 0,2 mg/kg BB dibandingkan tanpa terapi dan terapi *dienogest* selama tujuh hari pemberian terapi.

Ekspresi Ki-67 pada jaringan intraperitoneal lebih rendah tetapi tidak bermakna setelah pemberian andrografolid terhadap mencit (*Mus musculus*) galur BALB/C endometriosis yang diberi terapi andrografolid dengan dosis 0,05 mg/kg BB, dosis 0,1 mg/kg BB, dan dosis 0,2 mg/kg BB dibandingkan tanpa terapi dan terapi *dienogest* selama tujuh hari pemberian terapi.

Selanjutnya, rasio jumlah M1/M2 lebih tinggi secara bermakna pada cairan peritoneum setelah pemberian andrografolid pada mencit (*Mus musculus*) galur BALB/C endometriosis yang diberi terapi andrografolid dengan dosis 0,05 mg/kg BB, 0,1 mg/kg BB, dan 0,2 mg/kg BB dibandingkan tanpa terapi dan terapi *dienogest* selama tujuh hari.

Pertumbuhan jaringan endometriosis pada peritoneum menjadi lebih sempit secara bermakna setelah pemberian andrografolid pada mencit (*Mus musculus*) galur BALB/C endometriosis yang diberi terapi andrografolid dengan dosis 0,05 mg/kg BB, 0,1 mg/kg BB, dan 0,2 mg/kg BB dibandingkan tanpa terapi dan terapi *dienogest* selama tujuh hari.

Peninjauan selanjutnya dapat diarahkan untuk mengeksplorasi faktor-faktor molekuler lain yang berperan dalam patogenesis endometriosis. Misalnya, menilai peran aktivasi NF- κ B serta kadar TGF- β , yang diketahui sebagai sitokin penting dalam proses inflamasi dan fibrosis pada endometriosis. TGF- β juga berpotensi meningkatkan ekspresi VEGF-A pada sel mesotelial melalui jalur ID1, sehingga dapat memperkuat mekanisme angiogenesis pada lesi endometriosis.

Selain itu, peninjauan lebih lanjut mengenai imun metabolisme makrofag pada cairan peritoneum dapat memberikan gambaran mendalam tentang peran sel imun dalam mikroenvironmen endometriosis. Di sisi

lain, pemeriksaan patologi anatomi pada endometriosis peritoneum juga dapat menambah pemahaman mengenai karakter histopatologis dan hubungannya dengan progresivitas penyakit.



DAFTAR PUSTAKA

- 1 Alborzi S, Askary E, Khorami F, Poordast T, Abdulwahid Hashim Alkhalidi B, Hamed M, et al., A Detailed Study in Adenomyosis and Endometriosis: Evaluation of the Rate of Coexistence Between Uterine Adenomyosis and DIE According to Imaging and Histopathology Findings. *Reprod Sci* 2021;28:2387-97.
- 2 Velho RV, Taube E, Sehoul J, Mechsner S. Neurogenic Inflammation in the Context of Endometriosis-What Do We Know? *Int J Mol Sci* 2021;22.
- 3 Swift B, Taneri B, Becker CM, Basarir H, Naci H, Missmer SA, et al., Prevalence, diagnostic delay and economic burden of endometriosis and its impact on quality of life: results from an Eastern Mediterranean population. *Eur J Public Health* 2023.
- 4 Li B, Zhang Y, Zhang L, Zhang L. Association between endometriosis and metabolic syndrome: a cross-sectional study based on the National Health and Nutrition Examination Survey data. *Gynecol Endocrinol* 2023;39:2254844.
- 5 Morcel K, Merviel P, Bouee S, Le Guillou M, Carlier M, James P, et al., What is the impact of endometriosis and the AFS stage on cumulative pregnancy rates in IVF programs? *Reprod Health* 2024;21:13.
- 6 Mazza E, Troiano E, Mazza S, Ferro Y, Abbinante A, Agneta MT, et al., The impact of endometriosis on dietary choices and activities of everyday life: a cross-sectional study. *Front Nutr* 2023;10:1273976.
- 7 Giudice LC, Horne AW, Missmer SA. Time for global health policy and research leaders to prioritize endometriosis. *Nat Commun* 2023;14:8028.
- 8 Yang Y, Zhang X, Zhou C, Huang X, Lin J, Xu H. Elevated immunoreactivity of RANTES and CCR1 correlate with the

- severity of stages and dysmenorrhea in women with deep infiltrating endometriosis. *Acta Histochem* 2013;115:434-9.
- 9 Zhang J, Zheng Y, Zhao Y, Zhang Y, Liu Y, Ma F, et al., Andrographolide ameliorates neuroinflammation in APP/PS1 transgenic mice. *Int Immunopharmacol* 2021;96:107808.
 - 10 Andreoli CG, Genro VK, Souza CA, Michelon T, Bilibio JP, Scheffel C, et al., T helper (Th)1, Th2, and Th17 interleukin pathways in infertile patients with minimal/mild endometriosis. *Fertil Steril* 2011;95:2477-80.
 - 11 Shi JL, Zheng ZM, Chen M, Shen HH, Li MQ, Shao J. IL-17: an important pathogenic factor in endometriosis. *Int J Med Sci* 2022;19:769-78.
 - 12 Wang F, Wang H, Jin D, Zhang Y. Serum miR-17, IL-4, and IL-6 levels for diagnosis of endometriosis. *Medicine (Baltimore)* 2018;97:e10853.
 - 13 Wang Y, Nie XB, Jin X, Wang JP, Liu LH, Liu J. [Effect of Sparganii Rhizoma-Curcumae Rhizoma-medicated serum on proliferation, apoptosis, and migration of human ectopic endometrial stromal cells: based on JAK2/STAT3 signaling pathway]. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* 2023;48:3199-206.
 - 14 Rashidi BH, Sarhangi N, Aminimoghaddam S, Haghollahi F, Naji T, Amoli MM, et al., Association of vascular endothelial growth factor (VEGF) Gene polymorphisms and expression with the risk of endometriosis: a case-control study. *Mol Biol Rep* 2019;46:3445-50.
 - 15 Tao Y, Zhang Q, Huang W, Zhu H, Zhang D, Luo W. The peritoneal leptin, MCP-1 and TNF-alpha in the pathogenesis of endometriosis-associated infertility. *Am J Reprod Immunol* 2011;65:403-6.
 - 16 Lessans N, Gilan A, Dick A, Bibar N, Saar TD, Porat S, et al., Ovarian reserve markers of women with superficial endometriosis. *Int J Gynaecol Obstet* 2023.
 - 17 Rhee S, Chun S, Ji YI. Initial Preoperative Hemoglobin Level Affects the Rate of Decline in Anti-Mullerian Hormone Levels

- after Laparoscopic Ovarian Cystectomy in Women with Ovarian Endometriosis. *J Menopausal Med* 2023;29:127-33.
- 18 Zhao Y, Wang L, Li X, Jiang J, Ma Y, Guo S, et al., Programmed Cell Death-Related Gene Signature Associated with Prognosis and Immune Infiltration and the Roles of HMOX1 in the Proliferation and Apoptosis were Investigated in Uveal Melanoma. *Genes Genomics* 2024;46:785-801.
 - 19 Zhou H, Yang P, Zhang T, Kepp O, Ren Y, Jiang N, et al., The role of apoptosis, immunogenic cell death, and macrophage polarization in carbon ion radiotherapy for keloids: Targeting the TGF-beta1/ SMADs signaling pathway. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis* 2024;1871:167499.
 - 20 Luo J, Song Z, Zhang T, Chu K, Li J, Zhou J, et al., Upregulation of h-TERT and Ki-67 in ectopic endometrium is associated with recurrence of endometriosis. *J Zhejiang Univ Sci B* 2022;23:158-63.
 - 21 Piriyeve E, Gertz MM, Schiermeier S, Romer T. Significance of Ki-67 expression in endometriosis for infertility. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2022;272:73-6.
 - 22 Chiaffarino F, Cipriani S, Ricci E, Esposito G, Parazzini F, Vercellini P. Histologic Subtypes in Endometriosis-Associated Ovarian Cancer and Ovarian Cancer Arising in Endometriosis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Reprod Sci* 2024.
 - 23 Ferrero S, Barra F, Leone Roberti Maggiore U. Current and Emerging Therapeutics for the Management of Endometriosis. *Drugs* 2018;78:995-1012.
 - 24 Etrusco A, Barra F, Chiantera V, Ferrero S, Bogliolo S, Evangelisti G, et al., Current Medical Therapy for Adenomyosis: From Bench to Bedside. *Drugs* 2023;83:1595-611.
 - 25 Maiorana A, Incandela D, Parazzini F, Alio W, Mercurio A, Giambanco L, et al., Efficacy of dienogest in improving pain in women with endometriosis: a 12-month single-center experience. *Arch Gynecol Obstet* 2017;296:429-33.

- 26 Chen LF, Jin XF, Li BW, Zhan MJ, Hu HT. [Herb-separated moxibustion on dysmenorrhea in ovarian endometriosis: a randomized controlled trial]. *Zhongguo Zhen Jiu* 2020;40:717-20.
- 27 Meresman GF, Gotte M, Laschke MW. Plants as source of new therapies for endometriosis: a review of preclinical and clinical studies. *Hum Reprod Update* 2021;27:367-92.
- 28 Lin Y, Hou R, Zhang T, Chung JPW, Wang CC, Zhao R. Efficacy and Safety of Chinese Herbal Medicine for Endometriosis Associated Pain. *Am J Chin Med* 2022;50:1095-111.
- 29 Wadaan MA, Baabbad A, Farooq Khan M. Assessment of antidiabetic, anti-inflammatory, antioxidant and anticancer activity competence of methanolic extracts of *Trianthema ortulacastrum* and *Andrographis paniculata*. *Environ Res* 2024;242:117764.
- 30 Tarachand SP, Thirumoorthy G, Lakshmaiah VV, Nagella P. In silico molecular docking study of *Andrographis paniculata* phytochemicals against TNF-alpha as a potent anti-rheumatoid drug. *J Biomol Struct Dyn* 2023;41:2687-97.
- 31 Pu Z, Sui B, Wang X, Wang W, Li L, Xie H. The effects and mechanisms of the anti-COVID-19 traditional Chinese medicine, Dehydroandrographolide from *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Wall, on acute lung injury by the inhibition of NLRP3-mediated pyroptosis. *Phytomedicine* 2023;114:154753.
- 32 Shang YX, Shen C, Stub T, Zhu SJ, Qiao SY, Li YQ, et al., Adverse Effects of Andrographolide Derivative Medications Compared to the Safe use of Herbal Preparations of *Andrographis paniculata*: Results of a Systematic Review and Meta-Analysis of Clinical Studies. *Front Pharmacol* 2022;13:773282.
- 33 Persoons E, De Clercq K, Van den Eynde C, Pinto S, Luyten K, Van Bree R, et al., Mimicking Sampson's Retrograde Menstrual Theory in Rats: A New Rat Model for Ongoing Endometriosis-Associated Pain. *Int J Mol Sci* 2020;21.
- 34 Ding H, Xu H, Zhang T, Shi C. Identification and validation of M2 macrophage-related genes in endometriosis. *Heliyon* 2023;9:e22258.

- 35 Lin F, Yu H, Zhang L, Zhou J, Cao Y, Wu S, et al., Differential expression of interleukin-35 receptor distinguishes different subsets of granulocyte-macrophage-colony-stimulating factor-producing T helper cells in a mouse endometriosis model. *Mol Immunol* 2023;164:28-38.
- 36 Sun Q, Chen J, Yang M, Ding X, Zhang H, Huang Z, et al., Macrophage membrane-decorated MnO(2) nanozyme catalyzed the scavenging of estradiol for endometriosis treatment. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2024;233:113633.
- 37 Rashidi B, Rad JS, Rad LR. Immunohistochemical (Ki-67) study of endometrial maturation in mice after use of phosphodiesterase type 5 inhibitor. *Adv Biomed Res* 2015;4:154.
- 38 Sang L, Fang QJ, Zhao XB. A research on the protein expression of p53, p16, and MDM2 in endometriosis. *Medicine (Baltimore)* 2019;98:e14776.
- 39 Gao J, Cui J, Zhong H, Li Y, Liu W, Jiao C, et al., Andrographolide sulfonate ameliorates chronic colitis induced by TNBS in mice via decreasing inflammation and fibrosis. *Int Immunopharmacol* 2020;83:106426.
- 40 Chen Y, Liu X, Guo SW. Preoperative and perioperative intervention reduces the risk of recurrence of endometriosis in mice caused by either incomplete excision or spillage and dissemination. *Reprod Biomed Online* 2021;43:379-93.
- 41 Yu Q, Shi Y, Shu C, Ding X, Zhu S, Shen Z, et al., Andrographolide Inhibition of Th17-Regulated Cytokines and JAK1/STAT3 Signaling in OVA-Stimulated Asthma in Mice. *Evid Based Complement Alternat Med* 2021;2021:6862073.
- 42 Fu K, Chen H, Wang Z, Cao R. Andrographolide attenuates inflammatory response induced by LPS via activating Nrf2 signaling pathway in bovine endometrial epithelial cells. *Res Vet Sci* 2021;134:36-41.
- 43 Zheng Y, Liu X, Guo SW. Therapeutic potential of andrographolide for treating endometriosis. *Hum Reprod* 2012;27:1300-13.

- 44 Yuan X, Xu W, Yan Z, Xu X, Chen Y, Chen S, et al., Andrographolide exerted anti-inflammatory effects thereby reducing sex hormone synthesis in LPS-induced female rats, but had no effect on hormone production in healthy ones. *Front Pharmacol* 2022;13:980064.
- 45 Yin B, Umar T, Ma X, Chen Y, Umar Z, Umer S, et al., Andrograpanin mitigates lipopolysaccharides induced endometritis via TLR4/NF-kappaB pathway. *Reprod Biol* 2022;22:100606.
- 46 Tian J, Li C, Meng J, Wang L, Tong Y, Zhao Y, et al., Pharmacological effects and safety of *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees. *J Food Sci* 2022;87:1319-30.
- 47 Zhou Y, Yang M, Yan X, Zhang L, Lu N, Ma Y, et al., Oral Nanotherapeutics of Andrographolide/Carbon Monoxide Donor for Synergistically Anti-inflammatory and Pro-resolving Treatment of Ulcerative Colitis. *ACS Appl Mater Interfaces* 2023;15:36061-75.
- 48 Tran QTN, Gan PXL, Liao W, Mok YK, Chai CLL, Wong WSF. Degradation of MK2 with natural compound andrographolide: A new modality for anti-inflammatory therapy. *Pharmacol Res* 2023;194:106861.
- 49 Li X, Yuan W, Wu J, Zhen J, Sun Q, Yu M. Andrographolide, a natural anti-inflammatory agent: An Update. *Front Pharmacol* 2022;13:920435.
- 50 Borghese B, Santulli P, Marcellin L, Chapron C. [Definition, description, clinicopathological features, pathogenesis and natural history of endometriosis: CNGOF-HAS Endometriosis Guidelines]. *Gynecol Obstet Fertil Senol* 2018;46:156-67.
- 51 Nadeem A, Habte A, Ahsan A, Tariq R, Basaria AAA. Deep Infiltrating Endometriosis: A Pictorial Essay. *J Ultrasound Med* 2023;42:2897-904.
- 52 McCallion A, Nasirzadeh Y, Lingegowda H, Miller JE, Khalaj K, Ahn S, et al., Estrogen mediates inflammatory role of mast cells in endometriosis pathophysiology. *Front Immunol* 2022;13:961599.
- 53 Gibson DA, Collins F, De Leo B, Horne AW, Saunders PTK. Pelvic pain correlates with peritoneal macrophage abundance not endometriosis. *Reprod Fertil* 2021;2:47-57.

- 54 Mear L, Com E, Fathallah K, Guillot L, Lavigne R, Guevel B, et al., The Eutopic Endometrium Proteome in Endometriosis Reveals Candidate Markers and Molecular Mechanisms of Physiopathology. *Diagnostics (Basel)* 2022;12.
- 55 Montanari E, Bokor A, Szabo G, Kondo W, Trippia CH, Malzoni M, et al., Comparison of #Enzian classification and revised American Society for Reproductive Medicine stages for the description of disease extent in women with deep endometriosis. *Hum Reprod* 2022;37:2359-65.
- 56 Dunselman GA, Vermeulen N, Becker C, Calhaz-Jorge C, D’Hooghe T, De Bie B, et al., ESHRE guideline: management of women with endometriosis. *Hum Reprod* 2014;29:400-12.
- 57 Ukrainets RV, Korneva YS. [Endometriosis of the ureter from the standpoint of implantation theory: some aspects of pathogenesis and clinical picture]. *Urologiia* 2021:126-30.
- 58 Signorile PG, Baldi F, Bussani R, D’Armiento M, De Falco M, Baldi A. Ectopic endometrium in human fetuses is a common event and sustains the theory of mullerianosis in the pathogenesis of endometriosis, a disease that predisposes to cancer. *J Exp Clin Cancer Res* 2009;28:49.
- 59 Endometriosis Initiative G. A Call for New Theories on the Pathogenesis and Pathophysiology of Endometriosis. *J Minim Invasive Gynecol* 2024;31:371-7.
- 60 Abramiuk M, Grywalska E, Malkowska P, Sierawska O, Hryniewicz R, Niedzwiedzka-Rystwej P. The Role of the Immune System in the Development of Endometriosis. *Cells* 2022;11.
- 61 Barbieri RL. Endometriosis and the estrogen threshold theory. Relation to surgical and medical treatment. *J Reprod Med* 1998;43:287-92.
- 62 Reis FM, Chouzenoux S, Bourdon M, Jeljeli M, Chapron C, Batteux F. Effects of Ulipristal Acetate on Reactive Oxygen Species and Proinflammatory Cytokine Release by Epithelial and Stromal Cells from Human Endometrium and Endometriosis. *Reprod Sci* 2024;31:260-6.

- 63 Zevallos HB, McKinnon B, Tokushige N, Mueller MD, Fraser IS, Bersinger NA. Detection of the pan neuronal marker PGP9.5 by immuno-histochemistry and quantitative PCR in eutopic endometrium from women with and without endometriosis. *Arch Gynecol Obstet* 2015;291:85-91.
- 64 Kazmi I, Alharbi KS, Al-Abbasi FA, Almalki WH, G SK, Yasmeen A, et al., Role of Epithelial-to-Mesenchymal Transition Markers in Different Stages of Endometriosis: Expression of the Snail, Slug, ZEB1, and Twist Genes. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr* 2021;31:89-95.
- 65 Albertsen HM, Chettier R, Farrington P, Ward K. Genome-wide association study link novel loci to endometriosis. *PLoS One* 2013;8:e58257.
- 66 Yang J, Huang F. Stem cell and endometriosis: new knowledge may be producing novel therapies. *Int J Clin Exp Med* 2014;7:3853-8.
- 67 Tomassetti C, Bafort C, Vanhie A, Meuleman C, Fieuws S, Welkenhuysen M, et al., Estimation of the Endometriosis Fertility Index prior to operative laparoscopy. *Hum Reprod* 2021;36:636-46.
- 68 Goncalves MO, Siufi Neto J, Andres MP, Siufi D, de Mattos LA, Abrao MS. Systematic evaluation of endometriosis by transvaginal ultrasound can accurately replace diagnostic laparoscopy, mainly for deep and ovarian endometriosis. *Hum Reprod* 2021;36:1492-500.
- 69 Joob B, Wiwanitkit V. Serum Prolactin and CA-125 Levels in Peritoneal Endometriosis. *Gynecol Obstet Invest* 2015;80:216.
- 70 Lai ZZ, Yang HL, Ha SY, Chang KK, Mei J, Zhou WJ, et al., Cyclooxygenase-2 in Endometriosis. *Int J Biol Sci* 2019;15:2783-97.
- 71 Niakan G, Ebrahimpour M, Allahqoli L, Hassanlouei B. Response: A randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study of the comparative effects of dienogest and the combined oral contraceptive pill in women with endometriosis. *Int J Gynaecol Obstet* 2022;158:232-3.

- 72 Tu FF, Du H, Goldstein GP, Beaumont JL, Zhou Y, Brown WJ. The influence of prior oral contraceptive use on risk of endometriosis is conditional on parity. *Fertil Steril* 2014;101:1697-704.
- 73 Komatsu H, Sunada H, Endo Y, Noma H, Taniguchi F, Harada T. Evaluation of the Characteristics of Ovarian Endometriomas in Patients with Endometriosis: Efficacy of a Low-Dose Estrogen/ Progestogen Combination. *Gynecol Obstet Invest* 2023;88:375-83.
- 74 Bhattacharya SM, Tolasaria A, Khan B. Vaginal danazol for the treatment of endometriosis-related pelvic pain. *Int J Gynaecol Obstet* 2011;115:294-5.
- 75 La Marca A, Musacchio MC, Morgante G, Petraglia F, De Leo V. Hemodynamic effect of danazol therapy in women with uterine leiomyomata. *Fertil Steril* 2003;79:1240-2.
- 76 Donnez J, Dolmans MM. GnRH Antagonists with or without Add-Back Therapy: A New Alternative in the Management of Endometriosis? *Int J Mol Sci* 2021;22.
- 77 Maged AM, Rashwan H, Mahmoud M, El-Mazny A, Farouk M, Belal DS, et al., Effect of Prolonged GnRH Agonist Downregulation on ICSI Outcome in Patients With Endometriomas of Less Than 5 cm: A Randomized Controlled Trial. *Reprod Sci* 2018;25:1509-14.
- 78 Piedimonte S, Volodarsky-Perel A, Tannus S, Tan SL, Dahan MH. Pretreatment with a gonadotropin-releasing hormone agonist and an aromatase inhibitor may improve outcomes in in vitro fertilization cycles of women with stage I-II endometriosis. *F S Sci* 2020;1:98-103.
- 79 Kim SE, Lim HH, Lee DY, Choi D. The Long-Term Effect of Dienogest on Bone Mineral Density After Surgical Treatment of Endometrioma. *Reprod Sci* 2021;28:1556-62.
- 80 Adeyeye AA, Ate IU, Lawal AI, Adamu S. Changes in some pregnancy biomarkers of Yankasa ewes experimentally infected with *Trypanosoma evansi*. *Anim Reprod Sci* 2016;167:109-16.
- 81 Adeyeye AA, Ate IU, Lawal AI, Adamu S. Effects of experimental *Trypanosoma evansi* infection on pregnancy in Yankasa ewes. *Theriogenology* 2016;85:862-9.

- 82 Cruz Diaz LA, Gutierrez Ortega A, Chavez Alvarez RDC, Velarde Felix JS, Prado Montes de Oca E. Regulatory SNP rs5743417 impairs constitutive expression of human beta-defensin 1 and has high frequency in Africans and Afro-Americans. *Int J Immunogenet* 2020;47:332-41.
- 83 Bulmer JN, Longfellow M, Ritson A. Leukocytes and resident blood cells in endometrium. *Ann N Y Acad Sci* 1991;622:57-68.
- 84 Kara M, Aydin T, Turktekin N, S K. Efficacy of the local endometrial injury in patients who had previous failed IVF-ICSI outcome. *Iran J Reprod Med* 2012;10:567-70.
- 85 King A, Gardner L, Loke YW. Evaluation of oestrogen and progesterone receptor expression in uterine mucosal lymphocytes. *Hum Reprod* 1996;11:1079-82.
- 86 Lukassen HG, Joosten I, van Cranenbroek B, van Lierop MJ, Bulten J, Braat DD, et al., Hormonal stimulation for IVF treatment positively affects the CD56bright/CD56dim NK cell ratio of the endometrium during the window of implantation. *Mol Hum Reprod* 2004;10:513-20.
- 87 Henderson TA, Saunders PT, Moffett-King A, Groome NP, Critchley HO. Steroid receptor expression in uterine natural killer cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:440-9.
- 88 Han MT, Cheng W, Zhu R, Wu HH, Ding J, Zhao NN, et al., The cytokine profiles in follicular fluid and reproductive outcomes in women with endometriosis. *Am J Reprod Immunol* 2023;89:e13633.
- 89 Omidvar-Mehrabadi A, Ebrahimi F, Shahbazi M, Mohammadnia-Afrouzi M. Cytokine and chemokine profiles in women with endometriosis, polycystic ovary syndrome, and unexplained infertility. *Cytokine* 2024;178:156588.
- 90 Wang W, Wang J, Dong SF, Liu CH, Italiani P, Sun SH, et al., Immunomodulatory activity of andrographolide on macrophage activation and specific antibody response. *Acta Pharmacol Sin* 2010;31:191-201.

- 91 Dong Y, Zhang M, OuYang J, Zhou W, Yu B. Tumor-derived Endothelial Cell: Important Etiological Factors in Endometriosis. *Arch Med Res* 2023;54:102891.
- 92 Selam B, Arici A. Implantation defect in endometriosis: endometrium or peritoneal fluid. *J Reprod Fertil Suppl* 2000;55:121-8.
- 93 Perricos A, Husslein H, Kuessel L, Gstoettner M, Weinhaeusel A, Eiwegger T, et al., Does the Use of the “Proseek((R)) Multiplex Inflammation I Panel” Demonstrate a Difference in Local and Systemic Immune Responses in Endometriosis Patients with or without Deep-Infiltrating Lesions? *Int J Mol Sci* 2023;24.
- 94 Sillem M, Prifti S, Monga B, Arslic T, Runnebaum B. Integrin-mediated adhesion of uterine endometrial cells from endometriosis patients to extracellular matrix proteins is enhanced by tumor necrosis factor alpha (TNF alpha) and interleukin-1 (IL-1). *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1999;87:123-7.
- 95 Suen JL, Chang Y, Shiu YS, Hsu CY, Sharma P, Chiu CC, et al., IL-10 from plasmacytoid dendritic cells promotes angiogenesis in the early stage of endometriosis. *J Pathol* 2019;249:485-97.
- 96 Wei Y, Liang Y, Lin H, Dai Y, Yao S. Autonomic nervous system and inflammation interaction in endometriosis-associated pain. *J Neuroinflammation* 2020;17:80.
- 97 Maddern J, Grundy L, Castro J, Brierley SM. Pain in Endometriosis. *Front Cell Neurosci* 2020;14:590823.
- 98 Szubert M, Rogut M, Zietara M, Wierzbowski T, Wilczynski J, Czyz M. Expression of nerve growth factor (NGF) in endometrium as a potential biomarker for endometriosis - Single tertiary care centre study. *J Gynecol Obstet Hum Reprod* 2021;50:101895.
- 99 Zhu TH, Zou G, Ding SJ, Li TT, Zhu LB, Wang JZ, et al., Mast cell stabilizer ketotifen reduces hyperalgesia in a rodent model of surgically induced endometriosis. *J Pain Res* 2019;12:1359-69.
- 100 Li Y, Cui S, Xu Z, Zhang Y, Wu T, Zhang J, et al., Exosomal tRF-Leu-AAG-001 derived from mast cell as a potential non-invasive diagnostic biomarker for endometriosis. *BMC Womens Health* 2022;22:253.

- 101 Vetvicka V, Lagana AS, Salmeri FM, Triolo O, Palmara VI, Vitale SG, et al., Regulation of apoptotic pathways during endometriosis: from the molecular basis to the future perspectives. *Arch Gynecol Obstet* 2016;294:897-904.
- 102 Markov D, Poryazova E, Raycheva R, Markov G. Expression of HIF-1alpha, Ki-67, SMA and E-cadherin in endometriosis, endometrial and ovarian carcinoma. *Folia Med (Plovdiv)* 2024;66:97-103.
- 103 Amalinei C, Pavaleanu I, Lozneanu L, Balan R, Giusca SE, Caruntu ID. Endometriosis - insights into a multifaceted entity. *Folia Histochem Cytobiol* 2018;1:61-82.
- 104 Alabiad MA, Elhasadi I, Aljafil R, Shalaby AM, Alshaikh ABA, Edris FE, et al., A novel triad for the diagnosis of endometriosis, the short anogenital distance combines with high endometrial BCL2 and low endometrial FASL. *Int J Gynaecol Obstet* 2024;166:297-304.
- 105 Cui Z, Bhandari R, Lei Q, Lu M, Zhang L, Zhang M, et al., Identification and Exploration of Novel Macrophage M2-Related Biomarkers and Potential Therapeutic Agents in Endometriosis. *Front Mol Biosci* 2021;8:656145.
- 106 Huang Q, Liu X, Guo SW. Changing prostaglandin E2 (PGE(2)) signaling during lesional progression and exacerbation of endometriosis by inhibition of PGE(2) receptor EP2 and EP4. *Reprod Med Biol* 2022;21:e12426.
- 107 Delbandi AA, Mahmoudi M, Shervin A, Heidari S, Kolahdouz-Mohammadi R, Zarnani AH. Evaluation of apoptosis and angiogenesis in ectopic and eutopic stromal cells of patients with endometriosis compared to non-endometriotic controls. *BMC Womens Health* 2020;20:3.
- 108 Jiang L, Wang S, Xia X, Zhang T, Wang X, Zeng F, et al., Novel Diagnostic Biomarker BST2 Identified by Integrated Transcriptomics Promotes the Development of Endometriosis via the TNF-alpha/NF-kappaB Signaling Pathway. *Biochem Genet* 2024.
- 109 Ramirez-Pavez TN, Martinez-Esparza M, Ruiz-Alcaraz AJ, Marin-Sanchez P, Machado-Linde F, Garcia-Penarrubia P. The Role of Peritoneal Macrophages in Endometriosis. *Int J Mol Sci* 2021;22.

- 110 Osteen KG, Bruner-Tran KL, Eisenberg E. Endometrial biology and the etiology of endometriosis. *Fertil Steril* 2005;84:33-4; discussion 8-9.
- 111 Scioscia M, Bruni F, Ceccaroni M, Steinkasserer M, Stepniewska A, Minelli L. Distribution of endometriotic lesions in endometriosis stage IV supports the menstrual reflux theory and requires specific preoperative assessment and therapy. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2011;90:136-9.
- 112 Zhao X, Liu L, Li R, Wei X, Luan W, Liu P, et al., Hypoxia-Inducible Factor 1-alpha (HIF-1alpha) Induces Apoptosis of Human Uterosacral Ligament Fibroblasts Through the Death Receptor and Mitochondrial Pathways. *Med Sci Monit* 2018;24:8722-33.
- 113 Zhang LK, Li Y, Zhai L, Tang Y, Jiao Y, Mei Y, et al., Natural Phycocyanin/Paclitaxel Micelle Delivery of Therapeutic P53 to Activate Apoptosis for HER2 or ER Positive Breast Cancer Therapy. *ACS Biomater Sci Eng* 2024;10:6995-7004.
- 114 Fujishita A, Hasuo A, Khan KN, Masuzaki H, Nakashima H, Ishimaru T. Immunohistochemical study of angiogenic factors in endometrium and endometriosis. *Gynecol Obstet Invest* 1999;48 Suppl 1:36-44.
- 115 Nothnick WB, Arachchige SP, Minchella P, Stephens EB, Graham A. Targeting c-MYC: a potential non-hormonal therapeutic approach for endometriosis treatment. *Front Cell Dev Biol* 2023;11:1225055.
- 116 Lee YH. Regarding “A Call for New Theories on the Pathogenesis and Pathophysiology of Endometriosis”. *J Minim Invasive Gynecol* 2024;31:624.
- 117 Voltolini Velho R, Halben N, Chekerov R, Keye J, Plendl J, Sehouli J, et al., Functional changes of immune cells: signal of immune tolerance of the ectopic lesions in endometriosis? *Reprod Biomed Online* 2021;43:319-28.
- 118 Pavaleanu I, Balan RA, Grigoras A, Balan TA, Amalinei C. The significance of immune microenvironment in patients with endometriosis. *Rom J Morphol Embryol* 2023;64:343-54.

- 119 Su Z, Su W, Li C, Ding P, Lao K, Li Y, et al., Identification and Immune Characteristics Study of Pyroptosis-Related Genes in Endometriosis. *Biochem Genet* 2024;62:2810-29.
- 120 Li WN, Hsiao KY, Wang CA, Chang N, Hsu PL, Sun CH, et al., Extracellular vesicle-associated VEGF-C promotes lymphangiogenesis and immune cells infiltration in endometriosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2020;117:25859-68.
- 121 Cakmak H, Guzeloglu-Kayisli O, Kayisli UA, Arici A. Immune-endocrine interactions in endometriosis. *Front Biosci (Elite Ed)* 2009;1:429-43.
- 122 Capobianco A, Rovere-Querini P. Endometriosis, a disease of the macrophage. *Front Immunol* 2013;4:9.
- 123 Li L, Yang LL, Yang SL, Wang RQ, Gao H, Lin ZY, et al., Andrographolide suppresses breast cancer progression by modulating tumor-associated macrophage polarization through the Wnt/beta-catenin pathway. *Phytother Res* 2022;36:4587-603.
- 124 Li Q, Yuan M, Jiao X, Huang Y, Li J, Li D, et al., M1 Macrophage-Derived Nanovesicles Repolarize M2 Macrophages for Inhibiting the Development of Endometriosis. *Front Immunol* 2021;12:707784.
- 125 Lagana AS, Salmeri FM, Ban Frangez H, Ghezzi F, Vrtacnik-Bokal E, Granese R. Evaluation of M1 and M2 macrophages in ovarian endometriomas from women affected by endometriosis at different stages of the disease. *Gynecol Endocrinol* 2020;36:441-4.
- 126 Zhou F, Zhao F, Huang Q, Lin X, Zhang S, Dai Y. NLRP3 activated macrophages promote endometrial stromal cells migration in endometriosis. *J Reprod Immunol* 2022;152:103649.
- 127 Xia Y, Guo Y, Zhou J, Fan L, Xie J, Wang Y, et al., Neferine mediated TGF-beta/ERK signaling to inhibit fibrosis in endometriosis. *Am J Transl Res* 2023;15:3240-53.
- 128 Mwaura AN, Riaz MA, Maoga JB, Mecha E, Omwandho COA, Scheiner-Bobis G, et al., Role of Betaglycan in TGF-beta Signaling and Wound Healing in Human Endometriotic Epithelial Cells and in Endometriosis. *Biology (Basel)* 2022;11.

- 129 Yousif A, DePari M, Vitonis AF, Harris HR, Shafrir AL, Terry KL, et al., Visualized peritoneal fluid variation in adolescents and young adults with endometriosis: is there more to it? *Front Reprod Health* 2023;5:1297907.
- 130 Ho HN, Chao KH, Chen HF, Wu MY, Yang YS, Lee TY. Peritoneal natural killer cytotoxicity and CD25+ CD3+ lymphocyte subpopulation are decreased in women with stage III-IV endometriosis. *Hum Reprod* 1995;10:2671-5.
- 131 Coiplet E, Courbiere B, Agostini A, Boubli L, Bretelle F, Netter A. Endometriosis and environmental factors: A critical review. *J Gynecol Obstet Hum Reprod* 2022;51:102418.
- 132 Pascolo L, Pachetti M, Camillo A, Cernogoraz A, Rizzardi C, Mikus KV, et al., Detention and mapping of iron and toxic environmental elements in human ovarian endometriosis: A suggested combined role. *Sci Total Environ* 2023;864:161028.
- 133 Gou Y, Wang H, Wang T, Wang H, Wang B, Jiao N, et al., Ectopic endometriotic stromal cells-derived lactate induces M2 macrophage polarization via Mettl3/Trib1/ERK/STAT3 signalling pathway in endometriosis. *Immunology* 2023;168:389-402.
- 134 Liu Z, Chen S, Qiu C, Sun Y, Li W, Jiang J, et al., Fractalkine/CX3CR1 Contributes to Endometriosis-Induced Neuropathic Pain and Mechanical Hypersensitivity in Rats. *Front Cell Neurosci* 2018;12:495.
- 135 Hsieh TH, Hsu CY, Wu CW, Wang SH, Yeh CH, Cheng KH, et al., Vorinostat decrease M2 macrophage polarization through ARID1A(6488delG)/HDAC6/IL-10 signaling pathway in endometriosis-associated ovarian carcinoma. *Biomed Pharmacother* 2023;161:114500.
- 136 Mackler AM, Green LM, McMillan PJ, Yellon SM. Distribution and activation of uterine mononuclear phagocytes in peripartum endometrium and myometrium of the mouse. *Biol Reprod* 2000;62:1193-200.
- 137 Xie Q, He H, Wu YH, Zou LJ, She XL, Xia XM, et al., Eutopic endometrium from patients with endometriosis modulates the

- expression of CD36 and SIRP-alpha in peritoneal macrophages. *J Obstet Gynaecol Res* 2019;45:1045-57.
- 138 Chuang PC, Wu MH, Shoji Y, Tsai SJ. Downregulation of CD36 results in reduced phagocytic ability of peritoneal macrophages of women with endometriosis. *J Pathol* 2009;219:232-41.
- 139 Jeljeli M, Riccio LGC, Chouzenoux S, Moresi F, Toullec L, Doridot L, et al., Macrophage Immune Memory Controls Endometriosis in Mice and Humans. *Cell Rep* 2020;33:108325.
- 140 Lin W, Chen S, Li M, Wang B, Qu X, Zhang Y. Expression of macrophage migration inhibitory factor in human endometriosis: relation to disease stage, menstrual cycle and infertility. *J Obstet Gynaecol Res* 2010;36:344-51.
- 141 Wang Y, Dragovic RA, Greaves E, Becker CM, Southcombe JH. Macrophages and small extracellular vesicle mediated-intracellular communication in the peritoneal microenvironment: Impact on endometriosis development. *Front Reprod Health* 2023;5:1130849.
- 142 Windarti Windarti*, Ashon Sa'adi2, Widjiati Widjiati3. Correlation Between Vitamin D Administration and Reduced Expression of VEGF and MMP-9 in Abnormal Endometrial Stroma (Experimental in Mice Models with Endometriosis). *Journal of Medicine and Chemical Sciences* 2023:2952-63.
- 143 Valmori D, Ayyoub M. CD4(+) T helper cell responses to NY-ESO-1 tumor antigen in ovarian cancer resist perversion into immunosuppressive Tregs. *Oncoimmunology* 2015;4:e946370.
- 144 Gorczynski RM. IL-17 Signaling in the Tumor Microenvironment. *Adv Exp Med Biol* 2020;1240:47-58.
- 145 Sisnett DJ, Zutautas KB, Miller JE, Lingegowda H, Ahn SH, McCallion A, et al., The Dysregulated IL-23/TH17 Axis in Endometriosis Pathophysiology. *J Immunol* 2024;212:1428-41.
- 146 Zhang QF, Chen GY, Liu Y, Huang HJ, Song YF. Relationship between resistin and IL-23 levels in follicular fluid in infertile patients with endometriosis undergoing IVF-ET. *Adv Clin Exp Med* 2017;26:1431-5.

- 147 Miller JE, Lingegowda H, Sisnett DJ, Metz CN, Gregersen PK, Koti M, et al., T helper 17 axis and endometrial macrophage disruption in menstrual effluent provides potential insights into the pathogenesis of endometriosis. *F S Sci* 2022;3:279-87.
- 148 Becker CM, Beaudry P, Funakoshi T, Benny O, Zaslavsky A, Zurakowski D, et al., Circulating endothelial progenitor cells are up-regulated in a mouse model of endometriosis. *Am J Pathol* 2011;178:1782-91.
- 149 Liu L, Sun H, Wu S, Tan H, Sun Y, Liu X, et al., IL-17A promotes CXCR2-dependent angiogenesis in a mouse model of liver cancer. *Mol Med Rep* 2019;20:1065-74.
- 150 Ahn SH, Edwards AK, Singh SS, Young SL, Lessey BA, Tayade C. IL-17A Contributes to the Pathogenesis of Endometriosis by Triggering Proinflammatory Cytokines and Angiogenic Growth Factors. *J Immunol* 2015;195:2591-600.
- 151 Dehoux JP, Defrere S, Squifflet J, Donnez O, Polet R, Mestdagt M, et al., Is the baboon model appropriate for endometriosis studies? *Fertil Steril* 2011;96:728-33 e3.
- 152 Farland LV, Harris HR. Long-term Health Consequences of Endometriosis - Pathways and Mediation by Treatment. *Curr Obstet Gynecol Rep* 2020;9:79-88.
- 153 Langoi D, Pavone ME, Gurates B, Chai D, Fazleabas A, Bulun SE. Aromatase inhibitor treatment limits progression of peritoneal endometriosis in baboons. *Fertil Steril* 2013;99:656-62 e3.
- 154 Yamakuchi M, Okawa M, Takenouchi K, Bibek A, Yamada S, Inoue K, et al., VEGF-A165 is the predominant VEGF-A isoform in platelets, while VEGF-A121 is abundant in serum and plasma from healthy individuals. *PLoS One* 2023;18:e0284131.
- 155 Bo C, Wang Y. Angiogenesis signaling in endometriosis: Molecules, diagnosis and treatment (Review). *Mol Med Rep* 2024;29.
- 156 Liu S, Xin X, Hua T, Shi R, Chi S, Jin Z, et al., Efficacy of Anti-VEGF/VEGFR Agents on Animal Models of Endometriosis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One* 2016;11:e0166658.

- 157 Yan WK, Liu YN, Song SS, Kang JW, Zhang Y, Lu L, et al., Zearalenone affects the growth of endometriosis via estrogen signaling and inflammatory pathways. *Ecotoxicol Environ Saf* 2022;241:113826.
- 158 Lin YJ, Lai MD, Lei HY, Wing LY. Neutrophils and macrophages promote angiogenesis in the early stage of endometriosis in a mouse model. *Endocrinology* 2006;147:1278-86.
- 159 Rizzo M, Varnier L, Pezzicoli G, Pirovano M, Cosmai L, Porta C. IL-8 and its role as a potential biomarker of resistance to anti-angiogenic agents and immune checkpoint inhibitors in metastatic renal cell carcinoma. *Front Oncol* 2022;12:990568.
- 160 Sundhani E, Nugroho AE, Nurrochmad A, Puspitasari I, Amalia Prihati D, Lukitaningsih E. Pharmacokinetic Herb-Drug Interactions of Glipizide with *Andrographis paniculata* (Burm. f.) and Andrographolide in Normal and Diabetic Rats by Validated HPLC Method. *Molecules* 2022;27.
- 161 Mijatovic V, Vercellini P. Towards comprehensive management of symptomatic endometriosis: beyond the dichotomy of medical versus surgical treatment. *Hum Reprod* 2024;39:464-77.
- 162 Uchaipichat V. In vitro inhibitory effects of major bioactive constituents of *Andrographis paniculata*, *Curcuma longa* and *Silybum marianum* on human liver microsomal morphine glucuronidation: A prediction of potential herb-drug interactions arising from andrographolide, curcumin and silybin inhibition in humans. *Drug Metab Pharmacokinet* 2018;33:67-76.
- 163 Shanker K, Rangnekar H, Wele A, Soni P, Gaikwad P, Pal A, et al., A randomized controlled pilot study of add-on therapy of CIM-MEG19 (standardized *Andrographis paniculata* formulation) in mild to moderate COVID-19. *Phytomed Plus* 2023;3:100398.
- 164 Hossain S, Urbi Z, Karuniawati H, Mohiuddin RB, Moh Qrimida A, Allzrag AMM, et al., *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Wall. ex Nees: An Updated Review of Phytochemistry, Antimicrobial Pharmacology, and Clinical Safety and Efficacy. *Life (Basel)* 2021;11.

- 165 Bosco F, Ruga S, Citraro R, Leo A, Guarnieri L, Maiuolo J, et al., The Effects of *Andrographis paniculata* (Burm.F.) Wall. Ex Nees and Andrographolide on Neuroinflammation in the Treatment of Neurodegenerative Diseases. *Nutrients* 2023;15.
- 166 Hong H, Cao W, Wang Q, Liu C, Huang C. Synergistic antitumor effect of Andrographolide and cisplatin through ROS-mediated ER stress and STAT3 inhibition in colon cancer. *Med Oncol* 2022;39:101.
- 167 Bunthawong R, Sirion U, Chairoungdua A, Suksen K, Piyachaturawat P, Suksamrarn A, et al., Synthesis and cytotoxic activity of new 7-acetoxy-12-amino-14-deoxy andrographolide analogues. *Bioorg Med Chem Lett* 2021;33:127741.
- 168 Rajanna M, Bharathi B, Shivakumar BR, Deepak M, Prashanth D, Prabakaran D, et al., Immunomodulatory effects of *Andrographis paniculata* extract in healthy adults - An open-label study. *J Ayurveda Integr Med* 2021;12:529-34.
- 169 Guo H, Zhang Z, Su Z, Sun C, Zhang X, Zhao X, et al., Enhanced anti-tumor activity and reduced toxicity by combination andrographolide and bleomycin in ascitic tumor-bearing mice. *Eur J Pharmacol* 2016;776:52-63.
- 170 Hodroj MH, Jardaly A, Abi Raad S, Zouein A, Rizk S. Andrographolide potentiates the antitumor effect of topotecan in acute myeloid leukemia cells through an intrinsic apoptotic pathway. *Cancer Manag Res* 2018;10:1079-88.
- 171 Duan MX, Zhou H, Wu QQ, Liu C, Xiao Y, Deng W, et al., Andrographolide Protects against HG-Induced Inflammation, Apoptosis, Migration, and Impairment of Angiogenesis via PI3K/AKT-eNOS Signalling in HUVECs. *Mediators Inflamm* 2019;2019:6168340.
- 172 Machado DE, Berardo PT, Palmero CY, Nasciutti LE. Higher expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptor VEGFR-2 (Flk-1) and metalloproteinase-9 (MMP-9) in a rat model of peritoneal endometriosis is similar to cancer diseases. *J Exp Clin Cancer Res* 2010;29:4.

- 173 Alsini R, Almuhaimeed A, Ali F, Khalid M, Farrash M, Masmoudi A. Deep-VEGF: deep stacked ensemble model for prediction of vascular endothelial growth factor by concatenating gated recurrent unit with two-dimensional convolutional neural network. *J Biomol Struct Dyn* 2024;1-11.
- 174 Prasetyo B, Indriani ED, Viandika N, Ilmi H, Tumewu L, Widyawaruyanti A. Activities of *Andrographis paniculata* (AS201-01) Tablet on Cox-2 and Prostaglandin Expression of Placental of *Plasmodium berghei* Infected Mice. *Iran J Parasitol* 2021;16:43-51.
- 175 Das D, Banerjee R, Bandyopadhyay M, Nag A. Exploring the potential of *Andrographis paniculata* for developing novel HDAC inhibitors: an in silico approach. *J Biomol Struct Dyn* 2023;1-13.
- 176 Jain P, Sudandiradoss C. Andrographolide-based potential anti-inflammatory transcription inhibitors against nuclear factor NF-kappa-B p50 subunit (NF-kappaB p50): an integrated molecular and quantum mechanical approach. *3 Biotech* 2023;13:15.
- 177 Gonde DP, Bhole BK, Kakad KS. Andrographolide, diterpenoid constituent of *Andrographis paniculata*: Review on botany, phytochemistry, molecular docking analysis, and pharmacology. *Ann Pharm Fr* 2024;82:15-43.
- 178 Veldman LBM, Belt-Van Zoen E, Baars EW. Mechanistic Evidence of *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Wall. ex Nees, *Pelargonium sidoides* DC., *Echinacea* Species and a Combination of *Hedera helix* L., *Primula veris* L./*Primula elatior* L. and *Thymus vulgaris* L./*Thymus zygis* L. in the Treatment of Acute, Uncomplicated Respiratory Tract Infections: A Systematic Literature Review and Expert Interviews. *Pharmaceuticals (Basel)* 2023;16.
- 179 Hsieh MJ, Lin CW, Chiou HL, Yang SF, Chen MK. Correction: Dehydroandrographolide, an iNOS inhibitor, extracted from *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees, induces autophagy in human oral cancer cells. *Oncotarget* 2017;8:14268.
- 180 Rakhila H, Al-Akoum M, Bergeron ME, Leboeuf M, Lemyre M, Akoum A, et al., Promotion of angiogenesis and proliferation

- cytokines patterns in peritoneal fluid from women with endometriosis. *J Reprod Immunol* 2016;116:1-6.
- 181 Kasheh Farahani Z, Taherianfard M, Naderi MM, Ferrero H. Assessing Pain Behavioral Responses and Neurotrophic Factors in the Dorsal Root Ganglion, Serum and Peritoneal Fluid in Rat Models of Endometriosis. *J Family Reprod Health* 2020;14:259-68.
- 182 Zhang L, Chen Q, Wang H, Yang J, Sheng S. Andrographolide mitigates IL-1 β -induced human nucleus pulposus cells degeneration through the TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway. *Mol Med Rep* 2018;18:5427-36.
- 183 Liu J, Jiang T, He M, Fang D, Shen C, Le Y, et al., Andrographolide prevents human nucleus pulposus cells against degeneration by inhibiting the NF- κ B pathway. *J Cell Physiol* 2019;234:9631-9.
- 184 Jarukamjorn K, Don-in K, Makejaruskul C, Laha T, Daodee S, Pearaksa P, et al., Impact of *Andrographis paniculata* crude extract on mouse hepatic cytochrome P450 enzymes. *J Ethnopharmacol* 2006;105:464-7.
- 185 Jiang CG, Li JB, Liu FR, Wu T, Yu M, Xu HM. Andrographolide inhibits the adhesion of gastric cancer cells to endothelial cells by blocking E-selectin expression. *Anticancer Res* 2007;27:2439-47.
- 186 Dai GF, Zhao J, Jiang ZW, Zhu LP, Xu HW, Ma WY, et al., Anti-inflammatory effect of novel andrographolide derivatives through inhibition of NO and PGE2 production. *Int Immunopharmacol* 2011;11:2144-9.
- 187 Zhang B, Yan L, Zhou P, Dong Z, Feng S, Liu K, et al., CHP1002, a novel andrographolide derivative, inhibits pro-inflammatory inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 expressions in RAW264.7 macrophages via up-regulation of heme oxygenase-1 expression. *Int Immunopharmacol* 2013;15:289-95.
- 188 Jain P, Satija J, Sudandiradoss C. Discovery of andrographolide hit analog as a potent cyclooxygenase-2 inhibitor through consensus MD-simulation, electrostatic potential energy simulation and ligand efficiency metrics. *Sci Rep* 2023;13:8147.

- 189 Komaikul J, Ruangdachsuwan S, Wanlayaporn D, Palabodeewat S, Punyahathaikul S, Churod T, et al., Effect of andrographolide and deep eutectic solvent extracts of *Andrographis paniculata* on human coronavirus organ culture 43 (HCoV-OC43). *Phytomedicine* 2023;112:154708.
- 190 Xu B, Li L, Zhang W, Li Y, Wang MR, Liu JC, et al., Effect of *Andrographis paniculata* polysaccharide on human retinoblastoma Y79 cell proliferation and apoptosis. *Int J Ophthalmol* 2021;14:497-503.
- 191 Ma J, Zheng M, Zhang X, Lu J, Gu L. Ethanol extract of *Andrographis paniculata* alleviates aluminum-induced neurotoxicity and cognitive impairment through regulating the p62-keap1-Nrf2 pathway. *BMC Complement Med Ther* 2023;23:441.
- 192 Li Y, Li XL, Lai CJ, Wang RS, Kang LP, Ma T, et al., Functional characterization of three flavonoid glycosyltransferases from *Andrographis paniculata*. *R Soc Open Sci* 2019;6:190150.
- 193 Doi H, Matsui T, Dijkstra JM, Ogasawara A, Higashimoto Y, Imamura S, et al., Andrographolide, isolated from *Andrographis paniculata*, induces apoptosis in monocytic leukemia and multiple myeloma cells via augmentation of reactive oxygen species production. *F1000Res* 2021;10:542.
- 194 Gupta S, Mishra KP, Gupta R, Singh SB. Andrographolide - A prospective remedy for chikungunya fever and viral arthritis. *Int Immunopharmacol* 2021;99:108045.
- 195 Shu J, Huang R, Tian Y, Liu Y, Zhu R, Shi G. Andrographolide protects against endothelial dysfunction and inflammatory response in rats with coronary heart disease by regulating PPAR and NF-kappaB signaling pathways. *Ann Palliat Med* 2020;9:1965-75.
- 196 Li SG, Wang YY, Ye ZY, Shao QS, Tao HQ, Shu LS, et al., Proliferative and apoptotic effects of andrographolide on the BGC-823 human gastric cancer cell line. *Chin Med J (Engl)* 2013;126:3739-44.
- 197 Ahn SH, Edwards AK, Singh SS, Young SL. IL-17A contributes to the pathogenesis of endometriosis by triggering pro-

- inflammatory cytokines and angiogenic growth factors. *J Immunol* 2015;150:1138:2591-600.
- 198 Zhang Y, He T, Lin T, Guo Q, Huo C, Roberts SZ, et al., Author Correction: Novel in vivo endometriotic models associated eutopic endometrium by implanting menstrual blood-derived stromal cells from patients with endometriosis. *Sci Rep* 2024;14:4944.
- 199 Hu F, Hu Y, Peng F. Synergistic and protective effect of atorvastatin and amygdalin against histopathological and biochemical alterations in Sprague-Dawley rats with experimental endometriosis. *AMB Express* 2019;9:37.
- 200 Akarca-Dizakar SO, Demirel MA, Coskun Akcay N, Sipahi M, Karakoc Sokmensuer L, Boyunaga H, et al., The therapeutic effects of coenzyme Q10 on surgically induced endometriosis in Sprague Dawley rats. *J Obstet Gynaecol* 2022;42:3290-8.
- 201 Burns KA, Pearson AM, Slack JL, Por ED, Scribner AN, Eti NA, et al., Endometriosis in the Mouse: Challenges and Progress Toward a ‘Best Fit’ Murine Model. *Front Physiol* 2021;12:806574.
- 202 Li LP, Li ZM, Wang ZZ, Cheng YF, He DM, Chen G, et al., A novel nude mouse model for studying the pathogenesis of endometriosis. *Exp Ther Med* 2022;24:498.
- 203 Kanellopoulos D, Karagianni D, Pergialiotis V, Nikiteas N, Lazaris AC, Iliopoulos D. The effect of endometriosis on fertility in an animal model. *J Med Life* 2022;15:1170-5.
- 204 He Y, Liang B, Hung SW, Zhang R, Xu H, Chung JPW, et al., Re-evaluation of mouse models of endometriosis for pathological and immunological research. *Front Immunol* 2022;13:986202.
- 205 Li Q, Lawrence CR, Nowak RA, Flaws JA, Bagchi MK, Bagchi IC. Bisphenol A and Phthalates Modulate Peritoneal Macrophage Function in Female Mice Involving SYMD2-H3K36 Dimethylation. *Endocrinology* 2018;159:2216-28.
- 206 Bacci M, Capobianco A, Monno A, Cottone L, Di Puppo F, Camisa B, et al., Macrophages are alternatively activated in patients with endometriosis and required for growth and vascularization of lesions in a mouse model of disease. *Am J Pathol* 2009;175:547-56.

- 207 Sutrisno S, Andarini S, Wiyasa IWA, Kulsum U, Noerhamdani
N, Suyuti H, et al., The Effect of Implant Origin Differences on
Peritoneal Endometriosis in an Endometriosis Mouse Model.
International Journal of Women's Health and Reproduction Sciences
2019;7:34-40.
- 208 Meyvisch P, Ebrahimpoor M. On sample size calculation in drug
interaction trials. Pharm Stat 2024.
- 209 Meyerholz DK, Beck AP. Principles and approaches for reproducible
scoring of tissue stains in research. Lab Invest 2018;98:844-55.
- 210 McCarty KS, Jr., Miller LS, Cox EB, Konrath J, McCarty KS,
Sr. Estrogen receptor analyses. Correlation of biochemical and
immunohistochemical methods using monoclonal antireceptor
antibodies. Arch Pathol Lab Med 1985;109:716-21.
- 211 Reiner A, Spona J, Reiner G, Schemper M, Kolb R, Kwasny W, et
al., Estrogen receptor analysis on biopsies and fine-needle aspirates
from human breast carcinoma. Correlation of biochemical and
immunohistochemical methods using monoclonal antireceptor
antibodies. Am J Pathol 1986;125:443-9.
- 212 Zhou Y, Liu G, Yuan L, Qiao Y, Chen Q. Evaluating systemic immune-
inflammation indices as predictive markers for endometriosis
diagnosis: A retrospective observational study. J Reprod Immunol
2024;167:104416.
- 213 Sharma P, Tseng HH, Lee JL, Tsai EM, Suen JL. A prominent
environmental endocrine disruptor, 4-nonylphenol, promotes
endometriosis development via plasmacytoid dendritic cells. Mol
Hum Reprod 2020;26:601-14.
- 214 Chen Y, Ma Y, Zhai Y, Yang H, Zhang C, Lu Y, et al., Persistent
dysregulation of genes in the development of endometriosis. Ann
Transl Med 2022;10:1175.
- 215 Li G, Lin Y, Zhang Y, Gu N, Yang B, Shan S, et al., Endometrial
stromal cell ferroptosis promotes angiogenesis in endometriosis.
Cell Death Discov 2022;8:29.
- 216 Chen HW, Lin AH, Chu HC, Li CC, Tsai CW, Chao CY, et al.,
Inhibition of TNF-alpha-Induced Inflammation by andrographolide

- via down-regulation of the PI3K/Akt signaling pathway. *J Nat Prod* 2011;74:2408-13.
- 217 Yuan M, Meng W, Liao W, Lian S. Andrographolide Antagonizes TNF-alpha-Induced IL-8 via Inhibition of NADPH Oxidase/ROS/NF-kappaB and Src/MAPKs/AP-1 Axis in Human Colorectal Cancer HCT116 Cells. *J Agric Food Chem* 2018;66:5139-48.
- 218 Siridechakorn I, Bhattarakosol P, Sasivimolrattana T, Anoma S, Wongwad E, Nuengchamnong N, et al., Inhibitory efficiency of *Andrographis paniculata* extract on viral multiplication and nitric oxide production. *Sci Rep* 2023;13:19738.
- 219 McGeachy MJ, Cua DJ, Gaffen SL. The IL-17 Family of Cytokines in Health and Disease. *Immunity* 2019;50:892-906.
- 220 Miller JE, Ahn SH, Marks RM, Monsanto SP, Fazleabas AT, Koti M, et al., IL-17A Modulates Peritoneal Macrophage Recruitment and M2 Polarization in Endometriosis. *Front Immunol* 2020;11:108.
- 221 Chandran H, Ramakrishnan GS, Mekala JR, Anjaneyulu SR. Evaluating the Synergistic Antioxidant, Anti-microbial and Adsorbent Potential of *Andrographis Paniculata* Extract and Gold Nanoparticles. *Cell Biochem Biophys* 2024.
- 222 Zhu Q, Zheng P, Chen X, Zhou F, He Q, Yang Y. Andrographolide presents therapeutic effect on ulcerative colitis through the inhibition of IL-23/IL-17 axis. *Am J Transl Res* 2018;10:465-73.
- 223 Smolarz B, Szaflik T, Romanowicz H, Brys M, Forma E, Szylllo K. Analysis of VEGF, IGF1/2 and the Long Noncoding RNA (lncRNA) H19 Expression in Polish Women with Endometriosis. *Int J Mol Sci* 2024;25.
- 224 Ling X, Liu L, Jiang A, Shi X, Liu L, Wang X, et al., PFKFB3 promotes endometriosis cell proliferation via enhancing the protein stability of beta-catenin. *Mol Cell Endocrinol* 2024;579:112083.
- 225 Gagne D, Page M, Robitaille G, Hugo P, Gosselin D. Levels of vascular endothelial growth factor (VEGF) in serum of patients with endometriosis. *Hum Reprod* 2003;18:1674-80.
- 226 Niapour A, Miran M, Seyedasli N, Norouzi F. Anti-angiogenic effects of aqueous extract from *Agrostemma githago* L. seed in

- human umbilical vein endothelial cells via regulating Notch/VEGF, MMP2/9, ANG2, and VEGFR2. *Environ Sci Pollut Res Int* 2023;30:22413-29.
- 227 Liu Y, Xie C, Li T, Lu C, Fan L, Zhang Z, et al., PCGEM1 promotes cell proliferation and migration in endometriosis by targeting miR-124-3p-mediated ANTXR2 expression. *BMC Womens Health* 2023;23:104.
- 228 Liu Y, Hu J, Shen W, Wang J, Chen C, Han J, et al., Peritoneal fluid of patients with endometriosis promotes proliferation of endometrial stromal cells and induces COX-2 expression. *Fertil Steril* 2011;95:1836-8.
- 229 Miyashita M, Koga K, Takamura M, Izumi G, Nagai M, Harada M, et al., Dienogest reduces proliferation, aromatase expression and angiogenesis, and increases apoptosis in human endometriosis. *Gynecol Endocrinol* 2014;30:644-8.
- 230 Shen K, Ji L, Lu B, Xu C, Gong C, Morahan G, et al., Andrographolide inhibits tumor angiogenesis via blocking VEGFA/VEGFR2-MAPKs signaling cascade. *Chem Biol Interact* 2014;218:99-106.
- 231 Chen F, Wang N, Liao J, Jin M, Qu F, Wang C, et al., Esculetin rebalances M1/M2 macrophage polarization to treat sepsis-induced acute lung injury through regulating metabolic reprogramming. *J Cell Mol Med* 2024;28:e70178.
- 232 Sainz de la Cuesta R, Izquierdo M, Canamero M, Granizo JJ, Manzarbeitia F. Increased prevalence of p53 overexpression from typical endometriosis to atypical endometriosis and ovarian cancer associated with endometriosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2004;113:87-93.
- 233 Wang C, Qi R, Li N, Wang Z, An H, Zhang Q, et al., Withdrawal: Notch1 signaling sensitizes tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-induced apoptosis in human hepatocellular carcinoma cells by inhibiting Akt/Hdm2-mediated p53 degradation and up-regulating p53-dependent DR5 expression. *J Biol Chem* 2021;296:100751.

- 234 Gupta SC, Francis SK, Nair MS, Mo YY, Aggarwal BB. Azadirone, a limonoid tetranortriterpene, induces death receptors and sensitizes human cancer cells to tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) through a p53 protein-independent mechanism: evidence for the role of the ROS-ERK-CHOP-death receptor pathway. *J Biol Chem* 2013;288:32343-56.
- 235 Lian F, Liu HP, Wang YX, Zhang JW, Sun ZG, Ma FM, et al., Expressions of VEGF and Ki-67 in eutopic endometrium of patients with endometriosis and effect of Quyu Jiedu Recipe on VEGF expression. *Chin J Integr Med* 2007;13:109-14.
- 236 Huniadi CA, Pop OL, Antal TA, Stamatian F. The effects of ulipristal on Bax/Bcl-2, cytochrome c, Ki-67 and cyclooxygenase-2 expression in a rat model with surgically induced endometriosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2013;169:360-5.
- 237 Diaz-Fernandez S, Villar-Hernandez R, Stojanovic Z, Fernandez M, Galvao MLS, Tolosa G, et al., Study of CD27, CD38, HLA-DR and Ki-67 immune profiles for the characterization of active tuberculosis, latent infection and end of treatment. *Front Microbiol* 2022;13:885312.
- 238 Brasher OC, Nix JS, Gokden M. Significance of Staining Intensity in Ki-67 Proliferation Index in Meningiomas, and a Critical Review of the Literature on Proliferation Index Assessment. *Ann Clin Lab Sci* 2024;54:170-8.
- 239 Li R, Heydon K, Hammond ME, Grignon DJ, Roach M, 3rd, Wolkov HB, et al., Ki-67 staining index predicts distant metastasis and survival in locally advanced prostate cancer treated with radiotherapy: an analysis of patients in radiation therapy oncology group protocol 86-10. *Clin Cancer Res* 2004;10:4118-24.
- 240 Szukiewicz D. Aberrant epigenetic regulation of estrogen and progesterone signaling at the level of endometrial/endometriotic tissue in the pathomechanism of endometriosis. *Vitam Horm* 2023;122:193-235.
- 241 Hudson QJ, Ashjaei K, Perricos A, Kuessel L, Husslein H, Wenzl R, et al., Endometriosis Patients Show an Increased M2 Response in the

Peritoneal CD14(+low)/CD68(+low) Macrophage Subpopulation Coupled with an Increase in the T-helper 2 and T-regulatory Cells. *Reprod Sci* 2020;27:1920-31.

242 Brown E, Martinez-Aguilar R, Maybin JA, Gibson DA. Endometrial macrophages in health and disease. *Int Rev Cell Mol Biol* 2022;367:183-208.

243 Li FX, Li SS. Effects of andrographolide on the activation of mitogen activated protein kinases and nuclear factor-kappaB in mouse peritoneal macrophage-derived foam cells. *Chin J Integr Med* 2012;18:391-4.

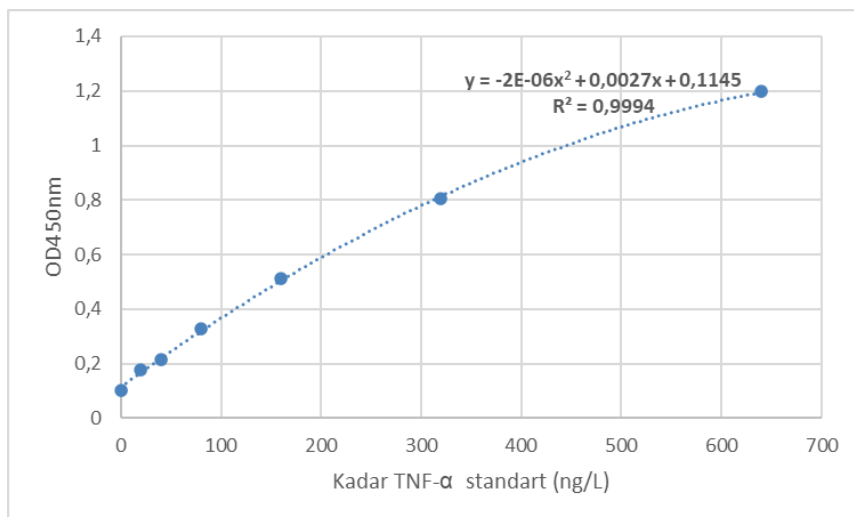
244 Gao X, Gao H, Shao W, Wang J, Li M, Liu S. The Extracellular Vesicle-Macrophage Regulatory Axis: A Novel Pathogenesis for Endometriosis. *Biomolecules* 2023;13.

LAMPIRAN

- Kadar TNF- α dengan *Mouse Tumor Necrosis Factor* α (TNF- α) ELISA Kit (Cat. E0117Mo, Bioassay Technology Laboratory)

A. Kurva Standar TNF- α

No	Kadar TNF- α standar (ng/L)	Nilai <i>Optical Density</i> (OD ₄₅₀)
1	640	1,1979
2	320	0,8037
3	160	0,5119
4	80	0,3300
5	40	0,2143
6	20	0,1763
7	0	0,1007



B. Kadar TNF-α dengan ELISA kit

Nilai OD

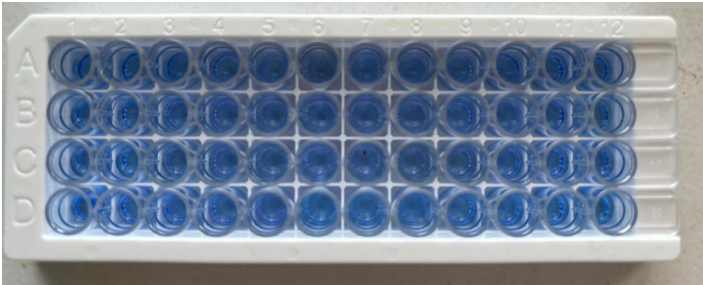
Kelompok	Nilai OD ₄₅₀ TNF-α pada ulangan ke						
	1	2	3	4	5	6	7
Normal	0,3474	0,3082	0,3384	0,3061	0,2308	0,2315	0,2817
K+	0,3601	0,3571	0,3606	0,3586	0,2291	0,3707	0,3170
K-	0,3167	0,3232	0,3541	0,3360	0,3516	0,3537	
P1	0,3394	0,3809	0,3028	0,3397	0,2818	0,4343	0,3335
P2	0,3468	0,3029	0,3962	0,3385	0,4341	0,4228	0,3330
P3	0,2700	0,2718	0,3385	0,2410	0,2738	0,2492	0,2563

Kadar

Klp	Konsentrasi TNF-α cairan intraperitoneal (ng/L) pada ulangan ke							Rerata	SD
	1	2	3	4	5	6	7		
Normal	83,091	67,956	79,535	67,171	40,772	41,002	58,245	62,539	16,922
K+	88,192	86,978	88,395	87,584	40,215	92,523	71,274	79,309	18,512
K-	71,160	73,639	85,770	78,595	84,767	85,609		79,923	6,450
P1	79,928	96,754	65,943	80,046	58,281	119,921	77,619	82,642	20,415
P2	82,853	65,980	103,218	79,574	119,850	114,788	77,425	91,955	20,608
P3	54,092	54,725	79,574	44,149	55,432	46,910	49,332	54,888	11,692

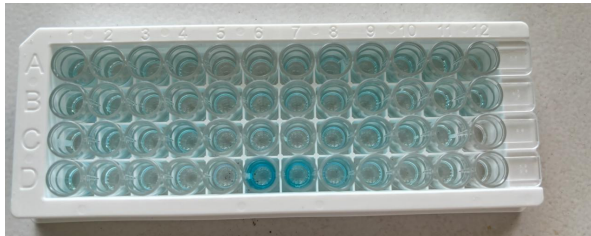
C. Dokumentasi

- a. Sampel (40 µL) + *Biotinylated Antibody* (10 µL) atau standar (50 µL) ditambah dengan *Streptavidin Antibody* (50 µL)

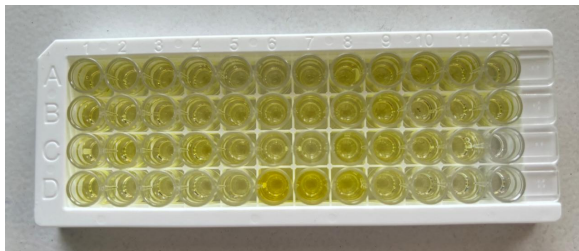


Keterangan: Normal: A1-7, K+: A8-12 dan B1-2, K-: B3-8, P1: B9-12 dan C1-3, P2: C4-10, P3: C11-12 dan D1-5, Standar D6-12

- b. Standar + Substrat A (50 μ L) + Substrat B (50 μ L)



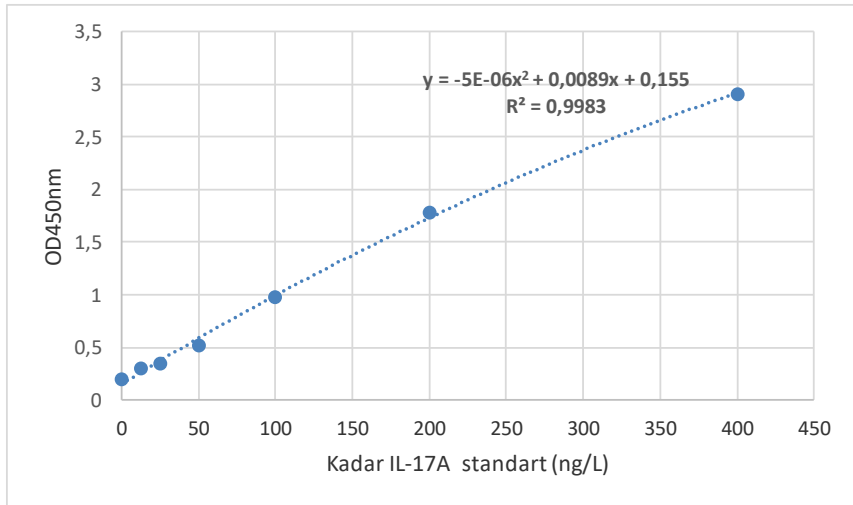
- c. Standar + Substrat A (50 μ L) + Substrat B (50 μ L) + stop solution (50 μ L)



2. IL-17A dengan Rat Interleukin 17A (IL-17A) ELISA Kit (Cat. E0116Ra, Bioassay Technology Laboratory)

A. Kurva Standar IL-17A

No	Kadar IL-17A standar (ng/L)	Nilai <i>Optical Density</i> (OD ₄₅₀)
1	400	2,9057
2	200	1,7778
3	100	0,9715
4	50	0,5228
5	25	0,3454
6	12,5	0,3002
6	0	0,1959



B. Kadar IL-17A dengan ELISA kit

Nilai OD

Kelompok	Nilai OD ₄₅₀ IL-17A pada ulangan ke						
	1	2	3	4	5	6	7
Normal	0,1960	0,2302	0,2105	0,1580	0,1565	0,1666	0,2150
K+	0,2150	0,1703	0,1678	0,2213	0,1785	0,2717	0,2127
K-	0,3199	0,3067	0,3303	0,3011	0,3158	0,2845	
P1	0,3457	0,3072	0,3128	0,3018	0,3485	0,3865	0,4179
P2	0,5558	0,4346	0,6080	0,4743	0,5835	0,5016	0,4786
P3	0,4623	0,3797	0,5240	0,5796	0,4210	0,4525	0,4430

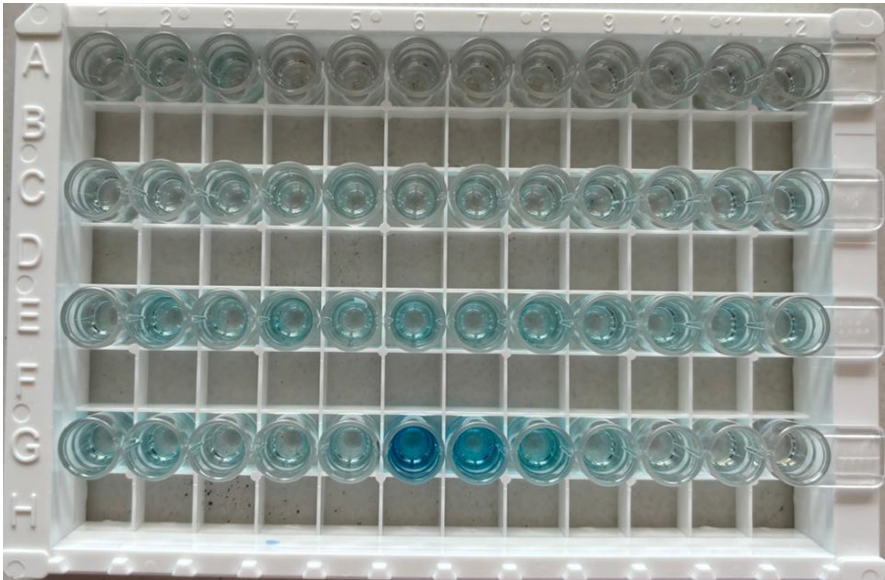
Kadar

Klp	Konsentrasi IL-17A cairan intraperitoneal (ng/L) pada ulangan ke							Rerata	SD
	1	2	3	4	5	6	7		
Normal	6,160	9,706	7,659	2,262	2,109	3,140	8,125	5,594	3,087
K+	8,125	3,519	3,263	8,779	4,359	14,056	7,887	7,141	3,828

Klp	Konsentrasi IL-17A cairan intraperitoneal (ng/L) pada ulangan ke							Rerata	SD
	1	2	3	4	5	6	7		
K-	19,176	17,767	20,290	17,171	18,737	15,409		18,092	1,707
P1	21,945	17,820	18,417	17,245	22,247	26,366	29,803	21,978	4,707
P2	45,255	31,644	51,256	36,053	48,429	39,112	36,533	41,183	7,232
P3	34,715	25,626	41,640	47,981	30,144	33,626	32,572	35,186	7,435

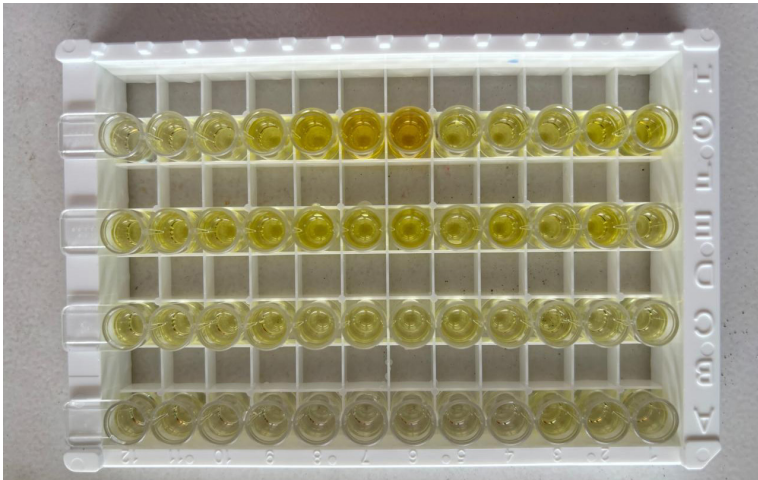
C. Dokumentasi

- a. Sampel (40 μ L) + *Biotinylated Antibody* (10 μ L) atau standar (50 μ L) ditambah dengan *Streptavidin Antibody* (50 μ L)



Keterangan: Normal: A1-7, K+: A8-12 dan C1-2, K-: C3-8, P1: C9-12 dan E1-3, P2: E4-10, P3: E11-12 dan G1-5, Standar G6-12

- b. Standar + Substrat A (50 μ L) + Substrat B (50 μ L) + stop solution (50 μ L)



- c. Nilai OD450nm dengan *Microplate Reader*



3. Jaringan Peritoneum Luas Implan & Hipervaskularisasi

Pemeriksaan patologi ini dimaksudkan untuk mengetahui luas implan dan hipervaskularisasi pada jaringan peritoneum. Data setiap sampel dinilai secara makroskopik yang diukur menggunakan *image Raster* berdasarkan adanya nodul-nodul dan hipervaskularisasi di jaringan peritoneum.

A. Pengecekan Makroskopik

No. Sampel	Rerata luasan implan
	(mm ²)
P1.1	62,01
P1.2	105,65
P1.3	50,39
P1.4	79,87
P1.5	34,11
P1.6	45,02
P1.7	22,23
RERATA	57,04

No. Sampel	Rerata luasan implan
	(mm ²)
N.1	0
N.2	0
N.3	0
N.4	0
N.5	0
N.6	0
N.7	0
RERATA	0

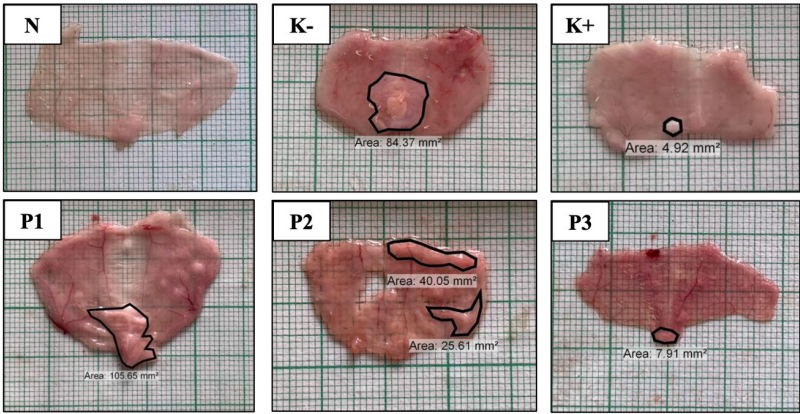
No. Sampel	Rerata luasan implan
	(mm ²)
P2.1	23,11
P2.2	51,15
P2.3	42,37
P2.4	52,53
P2.5	63,68
P2.6	43,25
P2.7	65,66
RERATA	48,82

No. Sampel	Rerata luasan implan
	(mm ²)
K-.1	39,34
K-.2	48,38
K-.3	64,7
K-.4	36,76
K-.5	84,37
K-.6	27,84
K-.7	43,05
RERATA	49,21

No. Sampel	Rerata luasan implan
	(mm ²)
P3.1	18,37
P3.2	16,2
P3.3	27,71
P3.4	10,99
P3.5	7,91
P3.6	21,96
P3.7	24,64
RERATA	18,25

No. Sampel	Rerata luasan implan
	(mm ²)
K+.1	55,39
K+.2	33,97
K+.3	8,74
K+.4	4,24
K+.5	4,92
K+.6	15,7
K+.7	13,45
RERATA	19,49

B. Gambaran Makroskopik Lesi Implan



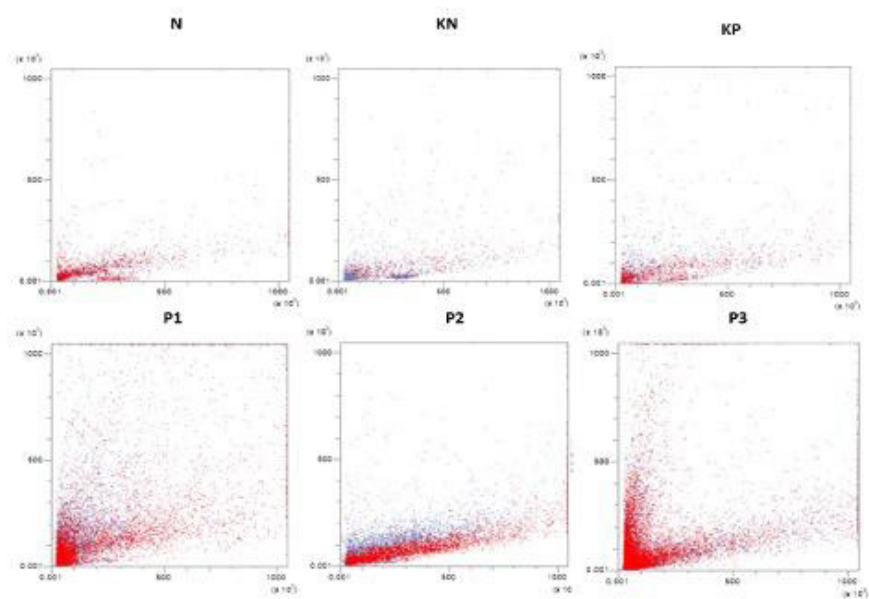
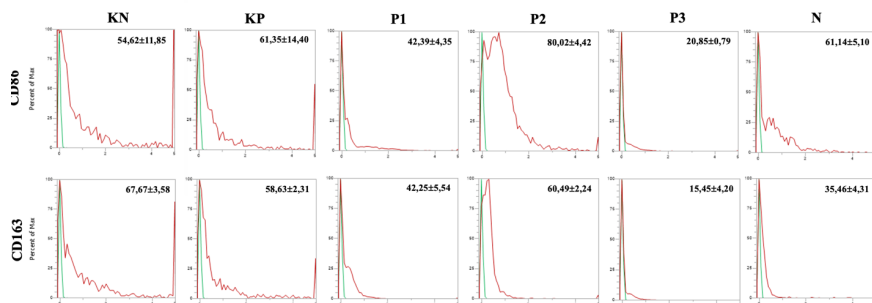
Gambar 1. Perbandingan gambaran makroskopik lesi implant dan hipervaskularisasi endometriosis pada jaringan peritoneum tiap kelompok (N, K-, K+, P1, P2, dan P3). Area lesi implant diukur nodul luasannya menggunakan *image raster* (panah).

4. Pengecekan *Flow Citometry*



Gambar 2. Hasil pemeriksaan *Flow Cytometry* dari makrofag M1 (merah) dan M2 (biru)

*GaG hasil pemeriksaan Flow Cytometry
dari makrofaq M1 (merah) dan M2 (biru)*



PROFIL PENULIS



Dr. dr. Indra Adi Susianto, M.Si.Med., Sp.O.G., FESICOG. merupakan dokter spesialis Obstetri dan Ginekologi lulusan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro (1998) yang menyelesaikan pendidikan spesialis di RSUP Dr. Kariadi–Universitas Diponegoro dan meraih gelar S-2 di bidang Magister Ilmu Biomedik (2006). Beliau mengikuti Postgraduate Fellowship Advanced Minimally

Invasive Gynecological Surgery (Laparoscopy & Endoscopy) di KK Women’s and Children’s Hospital, Singapura (2007), serta Fellowship Endoscopic Gynecology in Fertility & Reproductive Systems (2022), dan menyelesaikan Program Doktorat (S-3) Ilmu Kedokteran dan Kesehatan di Fakultas Kedokteran Umum Universitas Diponegoro (2026). Saat ini beliau menjabat sebagai dosen Fakultas Kedokteran Universitas Katolik Soegijapranata Semarang dan staf medis subspesialis Bedah Ginekologi Minimal Invasif di Anugerah Women’s and Children’s Hospital serta RS Santa Elisabeth Semarang. Beliau juga pernah menjabat sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Katolik Soegijapranata periode 2019–2023 serta sebagai Dewan Pakar Asosiasi Fakultas Kedokteran Swasta Indonesia periode 2022–2025.

Dengan pengalaman lebih dari satu dekade sebagai ahli bedah laparoskopi ginekologi, bidang minat utama beliau meliputi *aesthetic gynecology*, fertilitas, bedah pelvis kompleks dan pra kanker. Dr. Indra aktif sebagai pembicara ilmiah dan *trainer* pada berbagai *workshop* laparoskopi baik tingkat nasional maupun internasional, serta berperan sebagai *Principal Investigator* hibah penelitian nasional sejak 2019. Beliau juga menjadi *reviewer* pada jurnal medis nasional dan internasional, memiliki berbagai publikasi ilmiah pada jurnal terindeks Scopus, serta menghasilkan 5 Hak Kekayaan Intelektual.

Dalam kegiatan profesional, beliau merupakan anggota International Society for Gynecologic Endoscopy (ISGE), European Society of Aesthetic Gynecology (ESAG), Indonesian Gynecological Endoscopy Society (IGES), dan APAGE HIFU Special Interest Group, serta saat ini aktif sebagai Head of Fundraising pada Indonesian Gynecological Endoscopy Society.

Endometriosis penyakit inflamasi kronis yang menghantui perempuan usia produktif, sering kali menimbulkan rasa sakit luar biasa dan sulit diatasi dengan pengobatan konvensional. Jika Anda mencari bahasan mendalam mengenai solusi alami, buku ini adalah kunci eksplorasi Anda.

Buku ini mengupas tuntas potensi revolusioner dari *Andrographis paniculata* (Sambiloto), tumbuhan yang selama ini dikenal luas namun kini dibahas dari sisi manfaat dan kandungannya. Fokus utama pembahasan pada buku ini terletak pada andrografolida, senyawa utama dalam sambiloto.

Kami menyajikan bagaimana andrografolida terbukti memiliki potensi besar sebagai obat anti-inflamasi, bekerja melalui cara yang kompleks untuk memengaruhi sistem kekebalan pada cairan peritoneum dan secara signifikan meredakan peradangan. Pelajari secara terperinci bagaimana senyawa ini dapat mengurangi luas pertumbuhan jaringan endometriosis.

Dapatkan ulasan terlengkap mengenai andrografolida sebagai terapi alternatif yang menjanjikan. Buku ini wajib dimiliki oleh penderita endometriosis, peneliti, dan praktisi kesehatan yang mencari pendekatan baru berbasis fitofarmaka.

