

Potensi Antiinflamasi Ekstrak Terpurifikasi Herba Sambiloto (*Andrographis paniculata*) melalui Inhibisi Enzim Siklooksigenase Anti-Inflammatory Potential of Purified *Andrographis paniculata* Extract Through Cyclooxygenase Inhibition

Irfan Muris Setiawan*, Arief Rahman Hakim

Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta, Indonesia

Article Info	ABSTRAK
<p>Article history: Received 09 10, 2025 Revised 10 22, 2025 Accepted 11 28, 2025</p>	<p>Inflamasi merupakan proses dalam tubuh untuk merespon adanya rangsangan bahaya dari lingkungan. Kondisi inflamasi yang berlangsung lama dapat memicu beberapa penyakit kronis. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas inhibisi ekstrak terpurifikasi herba sambiloto (<i>Andrographis paniculata</i>) terhadap enzim siklooksigenase (COX). Ekstraksi dilakukan dengan maserasi menggunakan pelarut etanol 90 %, dilanjutkan fraksinasi menggunakan pelarut n-heksan dan etil asetat. Hasil proses ekstraksi menghasilkan ekstrak terpurifikasi herba sambiloto dengan rendemen sebesar 2,3% dari bobot kering herba sambiloto. Pengujian aktivitas inhibisi terhadap enzim COX dilakukan secara kolorimetri menggunakan <i>COX activity assay kit</i>. Hasil pengujian diperoleh nilai IC₅₀ sebesar 563,2 µg/mL untuk enzim COX-1 dan 5097,4 µg/mL untuk COX-2. Berdasarkan hasil ini, ekstrak terpurifikasi herba sambiloto lebih selektif terhadap COX-1 dibandingkan COX-2.</p>
<p>Kata kunci Antiinflamasi Siklooksigenase <i>Andrographis paniculata</i> Selektivitas Ekstrak terpurifikasi</p>	
<p>Keywords: Anti inflammatory Cyclooxygenase <i>Andrographis paniculata</i> Selectivity Purified extract</p>	<p>ABSTRACT</p> <p>Inflammation is a natural respond of the body to harmful stimuli from external environment. However, persistent and prolonged inflammation has been associated with the development of various chronic diseases. The objective of this study is to investigate the cyclooxygenase (COX) inhibitory activity of purified extract of <i>Andrographis paniculata</i> (sambiloto) herb. The extraction process was performed through maceration using ethanol 90 %, followed by fractionation with n-hexane and ethyl acetate solvent. This procedure yielded a purified extract of sambiloto herb 2.3 % relative to the dry weight of herb. The COX inhibition assay demonstrated IC₅₀ value of 563.2 µg/mL and 5097.4 µg/mL for COX-1 and COX-2 respectively. These results indicate that purified extract of sambiloto herb exhibits greater inhibition selectivity towards COX-1 compared to COX-2.</p>

Corresponding Author:

Irfan Muris Setiawan

Faculty of Pharmacy, Universitas Gadjah Mada

Sekip Utara, Sinduadi, Mlati, Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta 55284

email: irfan.m.setiawan@ugm.ac.id

This is an open-access article under the [CC BY-SA](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/) license.



1. PENDAHULUAN

Inflamasi merupakan respon alami tubuh terhadap adanya rangsangan bahaya misalnya infeksi, benturan mekanis, panas, hingga toksin. Respon inflamasi dibutuhkan sebagai alarm untuk proses perbaikan dan homeostasis dalam tubuh. Akan tetapi, kondisi inflamasi dalam waktu lama dapat menyebabkan ketidaknyamanan pada penderita serta merupakan salah satu factor penyakit kronis misalnya arthritis hingga kanker [1][2]. Salah satu mekanisme utama dalam terjadinya inflamasi adalah aktivitas enzim siklooksigenase (COX). Enzim ini mengubah asam arakidonat menjadi prostaglandin, yang merupakan mediator nyeri dan inflamasi. Ada dua isoform utama dari enzim siklooksigenase, yaitu siklooksigenase-1 (COX-1) dan siklooksigenase-2 (COX-2). Enzim COX-1 diekspresikan di hampir seluruh jaringan dan bekerja secara konstitutif. Isoform ini memiliki fungsi fisiologis yang penting dalam tubuh, misalnya berperan pada proses penggumpalan darah dan melindungi lapisan saluran pencernaan dari asam lambung. Sementara itu, COX-2 akan mengalami upregulasi dan secara aktif akan bekerja ketika ada rangsangan inflamasi dan kerusakan jaringan. isoform ini memproduksi prostaglandin yang memiliki peran penting pada kondisi inflamasi [3][4].

Obat-obat antiinflamasi non-steroid (OAINS) secara umum memiliki mekanisme kerja dengan menghambat aktivitas enzim COX. Akan tetapi, sebagian besar OAINS ini tidak selektif dalam menghambat enzim COX, sehingga pemakaian dalam jangka panjang akan memiliki efek samping yang signifikan terutama pada system gastrointestinal [4]. Beberapa obat yang selektif terhadap COX-2, seperti rofecoxib juga memiliki efek samping berupa kardiotoksitas seperti risiko serangan jantung dan stroke [5]. Oleh karena itu, diperlukan penelitian dan pengembangan obat-obat antiinflamasi yang aman digunakan secara jangka panjang.

Andrographis paniculata atau tanaman sambiloto merupakan salah satu tanaman yang sering digunakan dalam pengobatan tradisional di Indonesia. Tanaman ini diketahui memiliki beberapa aktivitas biologis antara lain antidiabetes, antioksidan, hepatoprotektif, antivirus dan antiinflamasi [6][7][8]. Secara fitokimia, sambiloto memiliki kandungan metabolit antara lain andrographolide, neoandrographolide, deoksiandrografolid, andrograpanin serta senyawa-senyawa golongan flavonoid, *xanthone*, polifenol dan asam kuinat [7][8]. Di antara senyawa-senyawa tersebut, andrografolid merupakan metabolit utama dari tanaman sambiloto yang telah diteliti memiliki berbagai aktivitas biologis yang signifikan [8]. Salah satu efek dari senyawa ini adalah aktivitasnya sebagai agen antiinflamasi [9][10].

Beberapa penelitian melaporkan bahwa andrografolid memiliki aktivitas antiinflamasi melalui beberapa mekanisme antara lain menghambat aktivitas NF- κ B [6][11][12]. NF- κ B merupakan factor transkripsi yang terlibat dalam beberapa proses selular, termasuk respon inflamasi. Selain itu, andrografolid juga menunjukkan aktivitas penghambatan jalur persinyalan TNF α -JNK, dimana jalur ini merupakan regulator penting dalam ekspresi gen-gen terkait inflamasi [6][13]. Secara *in silico*, andrografolid juga dilaporkan memiliki afinitas yang kuat dan selektif terhadap enzim COX-2. Aktivitas ini diperantarai oleh adanya ikatan hydrogen antara andrografolid dengan *binding pocket* pada enzim COX-2 [14]. Meskipun demikian, sejauh ini belum ada studi secara *in vitro* mengenai selektifitas andrografolid terhadap enzim siklooksigenase untuk membuktikan hipotesis tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas inhibisi secara



in-vitro dari ekstrak terpurifikasi herba sambiloto terhadap enzim siklooksigenase serta mengetahui selektivitasnya terhadap salah satu isoform enzim tersebut.

2. METODE

Alat dan Bahan

Bejana ekstraksi digunakan untuk proses maserasi, cawan porselen, vortex dan penangas air digunakan untuk purifikasi dan fraksinasi. Neraca analitik, mikropipet dan tabung reaksi digunakan untuk pengenceran sampel. Microplate dan microplate reader (Merck) digunakan untuk pengukuran aktivitas inhibisi enzim siklooksigenase.

Herba sambiloto diperoleh dari Desa Girimulyo, Kabupaten Kulon Progo, Daerah Istimewa Yogyakarta. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi dan purifikasi adalah etanol 90%, n-heksana dan etil asetat. Uji in vitro penghambatan enzim siklooksigenase menggunakan *Colorimetric COX inhibitor Screening Assay Kit* (Cayman Chemical) dan DMSO digunakan sebagai pelarut sampel.

Ekstraksi dan Purifikasi herba sambiloto

Ekstraksi dan purifikasi herba sambiloto dilakukan sesuai dengan metode Syamsul et al [15]. Metode ini dilakukan melalui dua tahap yaitu maserasi dan purifikasi.

Maserasi Serbuk

Sebanyak 1 kg serbuk herba sambiloto dimaserasi dengan 10 L pelarut etanol 90% di dalam bejana maserasi yang tertutup dan terlindung dari sinar matahari. Proses maserasi dilakukan selama 24 jam sambil sesekali diaduk. Setelah 24 jam, hasil maserasi disaring menggunakan kain flannel dan disimpan dalam wadah kaca. Hasil penyaringan ini merupakan maserat pertama. Residu yang tertinggal dari proses penyaringan, kemudian dilakukan remaserasi dengan pelarut etanol 90% sebanyak 4 L selama 24 jam, hasil remaserasi ini kemudian disebut maserat kedua. Maserat pertama dan kedua kemudian digabungkan lalu diterapkan selama 2 hari untuk selanjutnya dilakukan pemekatan ekstrak.

Pemekatan dan purifikasi ekstrak

Pemekatan ekstrak dilakukan dengan memindahkan maserat yang diperoleh ke cawan porselin di atas penangas air untuk menguapkan sebagian pelarut dan mendapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental yang didapat kemudian dimurnikan lagi dengan menambahkan pelarut n-heksana dan divortex, tujuannya untuk menarik zat-zat *ballast* seperti senyawa klorofil, resin, lilin, dan zat yang lain dari ekstrak, sehingga residu yang terbentuk lebih murni. Tiap 50 g ekstrak dipurifikasi dengan 50 mL n-heksana, campuran divortex selama 5 menit. Pencucian ini akan mengubah warna pelarut n-heksana menjadi hijau (pelarut ini dibuang). Prosedur ini dilakukan berulang-ulang sampai tidak tampak warna hijau pada pelarut n-heksana. Fraksi tak larut heksana kemudian difraksinasi kembali menggunakan pelarut etil asetat. Fraksinasi dilakukan berulang-ulang hingga tidak dihasilkan warna kecoklatan pada pelarut etil asetat. Fraksi tak larut etil asetat ini kemudian dipekatkan dan digunakan sebagai sampel penelitian. Fraksi ini kemudian disebut sebagai ekstrak terpurifikasi herba sambiloto.

Uji Inhibisi Enzim Siklooksigenase

Pengujian aktivitas enzim COX dilakukan dengan menggunakan *Colorimetric COX inhibitor Screening Assay Kit*. Assay ini mengukur komponen peroksidase dari enzim COX.



Aktivitas peroksidase diukur secara kolorimetri pada panjang gelombang 590 nm. Pada kit ini terdapat dua enzim COX yaitu COX-1 dan COX-2, sehingga dapat digunakan untuk mengevaluasi selektivitas senyawa terhadap salah satu enzim COX. Dibuat seri kadar dari ekstrak terpurifikasi herba sambiloto menggunakan DMSO sebagai pelarut dengan konsentrasi 0; 5; 10; 12,5; 25; 50; 100; 125; 250; 500; 1000 dan 2500 µg/mL. Tiap kadar sampel kemudian diuji sesuai petunjuk yang disediakan dalam *Colorimetric COX inhibitor Screening Assay Kit*. Pengujian dilakukan secara *triplicate* dan data yang diperoleh berupa absorbansi, dianalisis aktivitas inhibisi enzimnya dengan persamaan berikut:

$$\% \text{ inhibisi enzim} = (Ab1 - Ab2) / Ab1 \times 100 \%$$

Dimana:

Ab1: Absorbansi aktivitas 100% dikurangi absorbansi background

Ab2: Absorbansi sampel uji dikurangi absorbansi background

Hasil analisis kemudian dibuat grafik hubungan persen penghambatan vs konsentrasi sampel. Grafik dan nilai IC₅₀ dihitung menggunakan program GraphPad Prism versi 10.6.0. Nilai IC₅₀ ekstrak terpurifikasi herba sambiloto kemudian dianalisis lebih lanjut untuk menentukan selektivitas terhadap COX-2 dengan persamaan:

$$\text{Indeks selektivitas: IC}_{50} \text{ COX-1} / \text{IC}_{50} \text{ COX-2}$$

3. HASIL

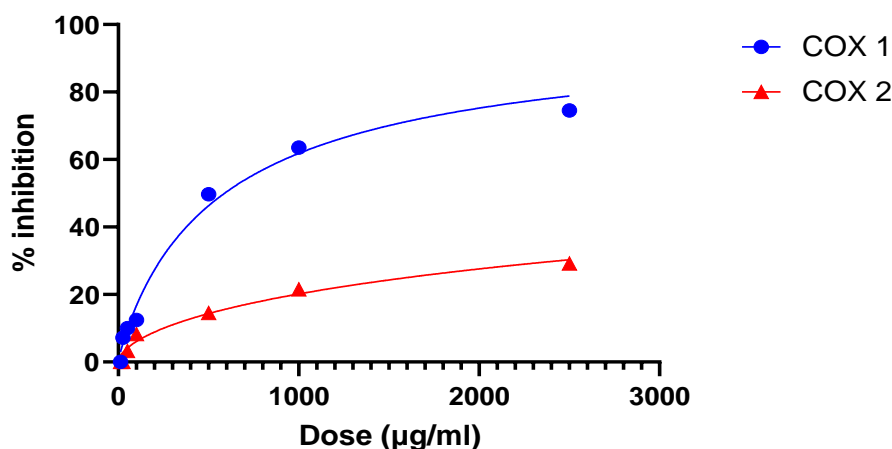
Ekstraksi dan purifikasi herba sambiloto didapatkan rendemen ekstrak etanolik sebesar 8,24 %, fraksi tak larut heksan 7,29 % dan ekstrak terpurifikasi herba sambiloto sebesar 2,53 % dari serbuk kering herba sambiloto. Secara organoleptik, ekstrak terpurifikasi herba sambiloto ini berwarna hijau gelap, berbau khas dan rasanya sangat pahit. Hal ini mengindikasikan adanya kandungan andrografolid yang merupakan zat pahit dari sambiloto. Berdasarkan uji kepahitan, diketahui bahwa herba sambiloto memiliki rasa pahit hampir 3 kali lipat dibandingkan dengan kuinin HCl [16].

Selanjutnya, dilakukan pengujian inhibisi COX terhadap ekstrak terpurifikasi herba sambiloto. Uji Inhibisi enzim COX ini menggunakan kit pengujian COX secara kolorimetri. Prinsip dari uji ini adalah mereaksikan asam arakidonat sebagai substrat dengan enzim COX. Hasil dari reaksi ini kemudian dikopling dengan senyawa kolorimetrik *N,N,N',N'-tertramethyl-p-phenylenediamine* (TMPD) sehingga dihasilkan produk yang berwarna yang dapat diukur pada panjang gelombang 590 nm. Semakin besar intensitas warna yang terbentuk maka semakin besar aktivitas dari enzim COX. Seri kadar dari larutan ekstrak terpurifikasi herba sambiloto dibuat dalam pelarut DMSO dengan konsentrasi 0; 5; 10; 12,5; 25; 50; 100; 125; 250; 500; 1000 dan 2500 µg/mL dan diujikan inhibisinya terhadap enzim COX-1 dan COX-2.

Kurva dosis-respon ekstrak terhadap masing-masing enzim tersaji pada Gambar 1. Persen inhibisi dari ekstrak mengalami peningkatan dari dosis 5 hingga 500 µg/mL. Pada dosis di atas 1000 µg/mL nilai inhibisi mulai stabil dan menunjukkan bahwa pada konsentrasi 2500 µg/mL diperkirakan enzim sudah mengalami kejenuhan dan nilai inhibisi telah mencapai maksimal. Berdasarkan hasil analisis, diperoleh nilai IC₅₀ ekstrak terpurifikasi herba sambiloto sebesar 563,2 µg/mL untuk COX-1, sementara nilai IC₅₀



terhadap COX-2 dilakukan ekstrapolasi dan didapatkan nilai sebesar 5097,4 µg/mL untuk COX-2.



Gambar 1. Kurva dosis – respon, korelasi antara konsentrasi ekstrak terpurifikasi herba sambiloto dengan % inhibisi terhadap COX-1 dan COX-2.

Analisis terhadap kedua nilai IC₅₀ menghasilkan indeks selektivitas terhadap COX-2 sebesar 0,1105. Nilai indeks selektivitas > 1 menunjukkan selektivitas sampel uji terhadap COX-2 dan demikian pula sebaliknya. Pada penelitian ini didapatkan hasil bahwa ekstrak terpurifikasi herba sambiloto memiliki selektivitas yang lebih kuat pada COX-1, dimana aktivitas pada COX-1 sembilan kali lebih besar dibandingkan pada COX-2.

4. PEMBAHASAN

Tanaman sambiloto telah dilaporkan memiliki aktivitas anti-inflamasi. Salah satu metabolit utama pada tanaman sambiloto adalah andrografolid. Penelitian-penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa andrografolid memiliki aktivitas anti-inflamasi melalui berbagai macam mekanisme dan target. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi selektivitas ekstrak terpurifikasi herba sambiloto terhadap enzim COX. Proses purifikasi pada ekstrak herba sambiloto bertujuan untuk mendapatkan kadar andrografolid yang lebih tinggi dan menghilangkan zat-zat *ballast*. Proses ini dilakukan dengan mencuci ekstrak etanolik herba sambiloto menggunakan n-heksana untuk mengambil zat-zat pengotor yang bersifat non polar. Andrografolid merupakan senyawa golongan diterpene lakton yang bersifat relatif polar, sehingga sebagian besar senyawa andrografolid akan tertinggal di fraksi tak larut heksana [17]. Selanjutnya, fraksi tak larut heksana tersebut difraksinasi kembali menggunakan pelarut etil asetat untuk mengurangi zat-zat pengotor yang bersifat semipolar. Fraksi tak larut etil asetat yang kemudian disebut sebagai ekstrak terpurifikasi herba sambiloto diprediksi memiliki kandungan andrografolid yang tinggi. Penelitian yang dilakukan oleh Syamsul et al. [15] menyebutkan bahwa berdasarkan hasil densitometri KLT, ekstrak terpurifikasi herba sambiloto ini memiliki kadar andrografolid sebesar 16,13 %.

Ekstrak terpurifikasi herba sambiloto kemudian dilakukan uji penghambatan terhadap enzim COX-1 dan COX-2. Selektivitas terhadap COX-2 dianalisis berdasarkan nilai indeks selektivitas. Suatu senyawa dikatakan cenderung selektif terhadap COX-2



apabila nilai indeks selektivitasnya > 1 . Pada penelitian ini didapatkan nilai indeks selektivitas ekstrak terpurifikasi herba sambiloto adalah sebesar 0,1105 yang menunjukkan bahwa ekstrak ini lebih selektif terhadap isoform COX-1. Hasil ini berbeda dengan prediksi aktivitas secara *in silico* dimana andrografolid memiliki ikatan yang lebih selektif terhadap isoform COX-2. Pada penelitian tersebut diketahui bahwa andrografolid dipresiksi mampu berikatan pada *binding pocket* isoform COX-2 melalui ikatan hidrogen dengan residu Arg 513, His 90 dan beberapa residu asam amino lainnya. Sementara itu, pada COX-1, andrografolid tidak mampu melakukan interaksi, disebabkan oleh ukuran *binding pocket* COX-1 yang lebih kecil [14]. Perbedaan hasil ini dapat disebabkan oleh masih adanya zat-zat lain yang terkandung dalam ekstrak terpurifikasi herba sambiloto, sehingga berpotensi mengganggu ikatan senyawa aktif dengan enzim COX-2.

Sambiloto diketahui memiliki kandungan berbagai macam golongan senyawa metabolit sekunder seperti diterpeneoid, flavonoid dan senyawa polifenol [8]. Beberapa senyawa flavonoid dan flavanon seperti eriositrin dan neoeriositrin diketahui memiliki aktivitas inhibisi terhadap COX-1 [18]. Menariknya, beberapa senyawa flavonoid dapat mempengaruhi efektivitas senyawa lain dalam menghambat enzim COX, misalnya adanya kuersetin dapat meningkatkan nilai IC_{50} dari galangin [19]. Kuersetin dan diosmin juga dilaporkan memiliki aktivitas inhibisi yang kuat terhadap COX-1 dan memiliki efek antiplatelet [20]. Selain itu, metabolit sekunder lain misalnya beberapa senyawa golongan triterpenoid diketahui memiliki selektivitas terhadap isoform enzim ini [21].

Meskipun pada penelitian ini ekstrak terpurifikasi herba sambiloto memiliki selektivitas yang lebih kuat terhadap COX-1, akan tetapi nilai IC_{50} ekstrak ini tergolong tinggi. Hal ini mengindikasikan bahwa terdapat mekanisme lain yang terlibat pada efek antiinflamasi dari herba sambiloto. Ekstrak daun sambiloto dilaporkan mampu menghambat ekspresi TNF- α pada tikus yang diinduksi LPS [22]. TNF- α merupakan molekul sitokin yang berperan penting dalam regulasi inflamasi dengan cara memicu ekspresi molekul-molekul inflamasi seperti kemokin dan molekul sitokin lainnya [23]. Selain TNF- α , metabolit dari sambiloto juga memiliki aktivitas penghambatan pada jalur NF-kB. Beberapa senyawa isolat dari tanaman sambiloto diketahui mampu mengurangi transkripsi gen-gen yang terlibat pada jalur NF-kB serta mampu menghambat produksi *nitric oxide* (NO), interleukin-6 (IL-6), dan *macrophage inflammatory protein-2* (MIP-2) [11]. Berdasarkan hal tersebut, sambiloto memiliki potensi yang sangat tinggi sebagai agen antiinflamasi dan perlu ditelusuri lebih lanjut mengenai mekanisme-mekanisme lain yang terlibat dalam aktivitasnya.

Kedepannya diperlukan pengujian inhibisi dari andrografolid murni terhadap enzim COX untuk mengetahui selektivitasnya. Hal ini penting, untuk mengurangi bias akibat adanya senyawa pengganggu lain yang masih terdapat pada ekstrak terpurifikasi herba sambiloto. Hasil uji tersebut dapat dijadikan dasar untuk pengembangan senyawa turunan dari andrografolid yang dapat dikembangkan lebih jauh sebagai obat antiinflamasi yang selektif dan aman digunakan dalam jangka panjang. Selain itu, diperlukan penelitian lanjutan berupa uji antiinflamasi secara *in vivo* pada hewan uji untuk mengkonfirmasi efek ekstrak terpurifikasi herba sambiloto pada sistem biologis.

5. KESIMPULAN

Ekstrak terpurifikasi herba sambiloto memiliki nilai IC_{50} masing-masing sebesar 563,2 $\mu\text{g/mL}$ dan 5097,4 $\mu\text{g/mL}$ terhadap enzim COX-1 dan COX-2. Nilai IC_{50} tersebut



memberikan indeks selektivitas sebesar 0,1105, sehingga ekstrak terpurifikasi herba sambiloto memiliki selektivitas sembilan besar terhadap COX-1 dibandingkan COX-2.

6. UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Universitas Gadjah Mada atas pembiayaan penelitian ini melalui skema Hibah Dosen Muda.

REFERENCES

- [1] A. Pannunzio and M. Coluccia, "Cyclooxygenase-1 (COX-1) and COX-1 inhibitors in cancer: A review of oncology and medicinal chemistry literature," *Pharmaceuticals*, vol. 11, no. 4, pp. 1–20, 2018, doi: 10.3390/ph11040101.
- [2] S. Li, M. Jiang, L. Wang, and S. Yu, "Combined chemotherapy with cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitors in treating human cancers: Recent advancement," *Biomed. Pharmacother.*, vol. 129, no. May, p. 110389, 2020, doi: 10.1016/j.biopha.2020.110389.
- [3] Z. Ju, M. Li, J. Xu, D. C. Howell, Z. Li, and F. E. Chen, "Recent development on COX-2 inhibitors as promising anti-inflammatory agents: The past 10 years," *Acta Pharm. Sin. B*, vol. 12, no. 6, pp. 2790–2807, 2022, doi: 10.1016/j.apsb.2022.01.002.
- [4] H. B. Mabrok and M. S. Mohamed, "Induction of COX-1, suppression of COX-2 and pro-inflammatory cytokines gene expression by moringa leaves and its aqueous extract in aspirin-induced gastric ulcer rats," *Mol. Biol. Rep.*, vol. 46, no. 4, pp. 4213–4224, 2019, doi: 10.1007/s11033-019-04874-9.
- [5] B. Y. Weber *et al.*, "Assessment of the molecular mechanisms of drug-induced hidden cardiotoxicity by a multi-omics approach: The example of rofecoxib," *Br. J. Pharmacol.*, no. August 2024, pp. 1–25, 2025, doi: 10.1111/bph.70106.
- [6] Q. Cai *et al.*, "Study on the mechanism of andrographolide activation," *Front. Neurosci.*, vol. 16, no. September, pp. 1–9, 2022, doi: 10.3389/fnins.2022.977376.
- [7] E. P. Rahmi, E. Kumolosasi, J. Jalil, F. Buang, and J. A. Jamal, "Extracts of *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees Leaves Exert Anti-Gout Effects by Lowering Uric Acid Levels and Reducing Monosodium Urate Crystal-Induced Inflammation," *Front. Pharmacol.*, vol. 12, no. January, pp. 1–12, 2022, doi: 10.3389/fphar.2021.787125.
- [8] Y. Dai, S. R. Chen, L. Chai, J. Zhao, Y. Wang, and Y. Wang, "Overview of pharmacological activities of *andrographis paniculata* and its major compound andrographolide," *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, vol. 59, no. S1, pp. S17–S29, 2019, doi: 10.1080/10408398.2018.1501657.
- [9] D. Lee, C. Y. Baek, J. H. Hwang, and M. Y. Kim, "Andrographis paniculata extract relieves pain and inflammation in monosodium iodoacetate-induced osteoarthritis and acetic acid-induced writhing in animal models," *Processes*, vol. 8, no. 7, 2020, doi: 10.3390/pr8070873.
- [10] M. Low, C. S. Khoo, G. Münch, S. Govindaraghavan, and N. J. Sucher, "An in vitro study of anti-inflammatory activity of standardised *Andrographis paniculata* extracts and pure andrographolide," *BMC Complement. Altern. Med.*, vol. 15, no. 1, pp. 1–9, 2015, doi: 10.1186/s12906-015-0525-7.
- [11] W. W. Chao, Y. H. Kuo, and B. I. F. Lin, "Anti-inflammatory activity of new compounds from *andrographis paniculata* by nf-kb transactivation inhibition," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 58, no. 4, pp. 2505–2512, 2010, doi: 10.1021/jf903629j.



- [12] W. Zou *et al.*, "The anti-inflammatory effect of *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees on pelvic inflammatory disease in rats through down-regulation of the NF-KB pathway," *BMC Complement. Altern. Med.*, vol. 16, no. 1, pp. 1–7, 2016, doi: 10.1186/s12906-016-1466-5.
- [13] P. M. Ruengthanoo, A. Changthong, P. Sriraj, J. Prathumtet, N. Laikaew, and R. Aukkanimart, "Anti-inflammatory effects of *Andrographis paniculata* (Fah Talai Jone) via TNF α -JNK pathway and bioactive compound identification," *Phytomedicine Plus*, vol. 5, no. 1, p. 100720, 2025, doi: 10.1016/j.phyplu.2024.100720.
- [14] J. Levita, E. P. Istyastono, A. Nawawi, A. Mutholib, I. J.P. de Esch, and S. Ibrahim Surantaatmadja, "Analyzing the Interaction of Andrographolide and Neoandrographolide, Diterpenoid Compounds From *Andrographis Paniculata* (Burm.F) Nees, to Cyclooxygenase-2 Enzyme by Docking Simulation," *ITBJ. Sci.*, vol. 41, no. 2, pp. 110–119, 2009, doi: 10.5614/itbj.sci.2009.41.2.5.
- [15] E. S. Syamsul, A. E. Nugroho, and S. Pramono, "AKTIVITAS ANTIDIABETES KOMBINASI EKSTRAK TERPURIKASI HERBA SAMBILOTO (*Andrographis paniculata* (Burn.F.) NESS.) DAN METFORMIN PADA TIKUS DM TIPE 2 RESISTEN INSULIN," *Maj. Obat Tradis.*, vol. 16, no. 3, pp. 124–132, 2018.
- [16] M. Ameh, Sunday; Obodozie, Obiageri; Inyang, Uford; Abubakar, Mujitaba; garba, "A normative study of Nigerian grown 'Maha-tita' (king of bitters) - *Andrographis paniculata* nees," *Int. J. Drug Dev. Res.*, vol. 2, no. 2, pp. 291–299, 2010.
- [17] P. A. Sya'ban *et al.*, "Evaluations of Andrographolide-Rich Fractions of *Andrographis paniculata* with Enhanced Potential Antioxidant, Anticancer, Antihypertensive, and Anti-Inflammatory Activities," *Plants*, vol. 1220, no. 12, 2023, [Online]. Available: <https://doi.org/10.3390/plants12061220>.
- [18] A. Smeriglio, N. Iraci, M. Denaro, G. Mandalari, S. V. Giofrè, and D. Trombetta, "Synergistic Combination of Citrus Flavanones as Strong Antioxidant and COX-Inhibitor Agent," *Antioxidants*, vol. 12, no. 4, 2023, doi: 10.3390/antiox12040972.
- [19] H. W. Bai, C. Yang, P. Wang, S. Rao, and B. T. Zhu, "Inhibition of cyclooxygenase by blocking the reducing cosubstrate at the peroxidase site: Discovery of galangin as a novel cyclooxygenase inhibitor," *Eur. J. Pharmacol.*, vol. 899, no. March, p. 174036, 2021, doi: 10.1016/j.ejphar.2021.174036.
- [20] C. Zaragozá, M. Á. Álvarez-Mon, F. Zaragozá, and L. Villaescusa, "Flavonoids: Antiplatelet Effect as Inhibitors of COX-1," *Molecules*, vol. 27, no. 3, 2022, doi: 10.3390/molecules27031146.
- [21] H. Cao *et al.*, "Discovery of cyclooxygenase inhibitors from medicinal plants used to treat inflammation," *Pharmacol. Res.*, vol. 61, no. 6, pp. 519–524, 2010, doi: 10.1016/j.phrs.2010.02.007.
- [22] R. G. Ardika, B. P. Budiono, N. S. Widiastiti, N. Maharani, N. Susilaningsih, and F. Sandra, "*Andrographis paniculata* Leaves Extract Inhibit TNF- α and Caspase-3 Expression of Septic Rats' Intestinal Tissues," *Indones. Biomed. J.*, vol. 16, no. 1, pp. 66–71, 2024, doi: 10.18585/inabj.v16i1.2727.
- [23] D. I. Jang *et al.*, "The role of tumor necrosis factor alpha (Tnf- α) in autoimmune disease and current tnf- α inhibitors in therapeutics," *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 22, no. 5, pp. 1–16, 2021, doi: 10.3390/ijms22052719.

