

Comparison of the Subchronic Anti-Inflammatory Activity of the Ethanol and Ethyl Acetate Extracts of Breadfruit Leaves (*Artocarpus altilis*) on CFA-Induced Mice

Endah Widhihastuti^{1,4}, Neli Syahida Ni'ma⁴, Sitarina Widyarini³, Nanang Fakhrudin^{2✉}

¹ Program Pascasarjana, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Sekip Utara, Yogyakarta, 55281, Indonesia

² Departemen Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Sekip Utara, Yogyakarta, 55281, Indonesia

³ Departemen Patologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Jl. Fauna No.2, Yogyakarta, 55281, Indonesia

⁴ Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang Gedung D6 Kampus Sekaran Gunungpati, Semarang 50229, Indonesia

Info Artikel

Diterima April 2021

Disetujui April 2021

Dipublikasikan Mei 2021

Keywords:

Complete Freund's Adjuvant
Anti-inflammatory
Artocarpus altilis

Abstrak

Inflamasi kronis pada sendi dapat menyebabkan *rheumatoid arthritis* (RA). Tanaman yang diketahui mempunyai aktifitas antiinflamasi adalah daun sukun (*Artocarpus altilis*). Ekstrak etanol dan ekstrak etil asetat dari daun sukun diketahui memiliki aktivitas antiinflamasi pada model uji antiinflamasi akut. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antiinflamasi subkronis dari kedua ekstrak tersebut pada mencit yang diinduksi CFA. Sebanyak 15 mencit Balp/c dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok normal, kelompok pelarut, kelompok Natrium diklofenak (dosis 3 mg/kgBB), kelompok ekstrak etil asetat (dosis 500 mg/kgBB), dan kelompok ekstrak etanol (dosis 500 mg/kgBB). Kedua ekstrak diberikan secara per oral setiap hari selama 28 hari. Pengamatan dilakukan terhadap berat badan, volume udem (menggunakan plethysmometer) pada hari ke 1, 7, 14, 21, dan 28 setelah penginduksian CFA. Hasil uji menunjukkan bahwa kedua ekstrak mampu menurunkan edema pada mencit. Ekstrak etil asetat lebih kuat sebagai antiinflamasi dibandingkan ekstrak etanol. Walaupun kenaikan berat badan pada mencit yang diberi ekstrak etanol lebih besar dibandingkan yang diberi ekstrak etil asetat, kedua ekstrak tidak menimbulkan perubahan berat badan yang signifikan dibandingkan kelompok mencit normal. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan etil asetat daun sukun keduanya memiliki aktivitas antiinflamasi subkronis.

Abstract

Chronic inflammation of the joints can cause rheumatoid arthritis (RA). Breadfruit (*Artocarpus altilis*) is known to have anti-inflammatory activity. Previous studies showed that ethanol and ethyl acetate extracts of breadfruit leaves have anti-inflammatory activity in an acute anti-inflammatory model. This study aimed to determine the sub chronic anti-inflammatory activity of the ethanol and ethyl acetate extracts in CFA-induced mice. Balp/c mice (15) were divided into 5 groups: normal group, solvent-treated group, diclofenac sodium-treated group (dose 3 mg/kgBW), ethyl acetate extract-treated group (500 mg/kgBW dose), and ethanol extract-treated group (500 mg/kgBW dose). The extracts were given orally every day for 28 days. The body weight and edema volume were measured on the day of 1, 7, 14, 21, and 28 after CFA induction. This study showed that the ethanol and ethyl acetate extracts were able to inhibit inflammatory process by reducing the edema in mice. Ethyl acetate extract exhibited a stronger anti-inflammatory activity compared to the ethanol extract. Although the body weight of the mice treated with the ethanol extract was higher than that of the ethyl acetate extract, both extracts did not cause a significant change in body weight compared to the normal group. The results of this study indicated that the ethanol and ethyl acetate extracts of breadfruit leaves both demonstrated a sub chronic anti-inflammatory activity in mice.

© 2021 Universitas Negeri Semarang

Pendahuluan

Inflamasi memiliki peranan besar dalam perkembangan berbagai penyakit kompleks seperti penyakit autoimun, sindrom metabolik, penyakit neurodegeneratif, kanker, dan penyakit kardiovaskular (Murakami & Hirano, 2012). Inflamasi pada persendian dapat membentuk *pannus*, yang merupakan suatu jaringan dari infiltrasi limfosit dan fibrin pada persendiaan. *Rheumatoid arthritis* merupakan jenis penyakit inflamasi autoimun kronis (Zhang *et al.*, 2009). Pada sinovitis RA, leukosit bermigrasi ke dalam jaringan sinovial menghasilkan sitokin (contoh : *Tumor Necrosis Factor - α* , IL-1 β dan IL- 6) dan kemokin (MCP-1 dan IL8) yang memperburuk inflamasi (Billiau & Matthys, 2001). Meskipun telah banyak perkembangan dalam pengobatan RA selama beberapa waktu terakhir, tetapi masih perlu penelitian untuk mencari obat alternatif yang efektif dengan efek samping yang rendah (Liu *et al.*, 2005). Salah satunya adalah obat-obat yang dikembangkan dari bahan alami, termasuk tumbuhan.

Salah satu tumbuhan yang potensial sebagai antiinflamasi adalah sukun (Fakhrudin *et al.*, 2015). Daun sukun sudah digunakan secara luas oleh masyarakat untuk pengobatan berbagai macam penyakit termasuk termasuk penyakit jantung (Lusis, 2000; Steinberg, 2002; Tabas *et al.*, 2007; Webb, 2008). Daun sukun juga telah banyak diteliti memiliki beberapa aktivitas farmakologi diantaranya sebagai antiplatelet (Fakhrudin *et al.*, 2020), antihiperlipidemia (Fajaryanti *et al.*, 2016), antihiperurikemia, antioksidan (Fakhrudin *et al.*, 2016), antidiabetes (Simanjuntak & Gurning, 2020), antiatherosclerosis (Hendriyani, 2017), dan antihiperkolesterolemia (Adaramoye & Akanni, 2014). Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat daun sukun mempunyai aktivitas analgesik dan antiinflamasi akut pada mencit yang diinduksi karagenan serta menghambat aktivitas COX-2 secara lebih selektif daripada COX-1 (Fakhrudin *et al.*, 2015). Selain itu ekstrak etil asetat juga menghambat migrasi leukosit mencit yang diinduksi tioglikolat (Andriani & Nanang Fakhrudin, 2013). Hal ini menunjukkan bahwa daun sukun memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai antiinflamasi. Penelitian ini dilakukan untuk membandingkan aktifitas antiinflamasi subkronis dari ekstrak etanol dan etil asetat daun sukun pada mencit yang diinduksi CFA.

Model uji yang digunakan untuk menguji efek antiinflamasi subkronis dalam penelitian ini menggunakan mencit yang diinduksi *Complete Freund's adjuvant* (CFA) sebagaimana diuraikan pada penelitian sebelumnya (Song *et al.*, 2016). Pemberian CFA akan menstimulasi fagositosis, sekresi sitokin oleh fagositosis mononuklear, sehingga berbagai jenis sitokin proinflamasi seperti TNF α , IL-1, IL-6, IL-8, PGE-2, NO, MMP dan mediator lainnya akan dilepaskan (Fajrin *et al.*, 2013). Dengan demikian induksi dengan CFA mampu menyebabkan inflamasi subkronis pada hewan uji (Araujo *et al.*, 2020).

Metode

Daun sukun yang digunakan dalam penelitian ini adalah berasal dari simplisia daun sukun yang digunakan oleh penelitian sebelumnya (Hastuti & Fakhrudin, 2014), dan sudah dilakukan determinasi di Departemen Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi. Simplisia daun sukun direndam masing masing dalam etanol 70% dan etil asetat dengan perbandingan 1:5. Maserat yang terkumpul diuapkan dengan *rotary evaporator* lalu dibiarkan kering dalam dalam lemari asam. Ekstrak yang diperoleh kemudian diuji aktivitas antiinflamasinya (Hastuti & Fakhrudin, 2014).

Subyek uji yang digunakan adalah 15 mencit galur *Balb/c* jantan yang umur enam hingga tujuh minggu dengan berat 20-30 gram dari Fakultas Farmasi UGM. Tiga mencit tidak diberikan perlakuan apapun dan ditandai sebagai kelompok normal. Sisa mencit diinjeksi dengan 0,15 mL CFA (1 mg/mL *in mineral oil*) pada kaki kanan bagian *plantar posterior*. Mencit-mencit tersebut dibagi secara acak menjadi empat kelompok (n=3), yaitu kelompok pelarut yang diinduksi CFA(K(-)), kelompok Natrium diklofenak (dosis 3 mg/kgBB) yang diinduksi CFA (K(+)), dan kelompok yang diberikan ekstrak etil asetat (dosis 500 mg/kgBB) (EEA), serta ekstrak etanol (dosis 500 mg/kgBB) yang diinduksi CFA (EEt). Kedua ekstrak diberikan secara per oral setiap hari selama 28 hari. Dilakukan pengamatan berat badan (dengan timbangan) dan volume udem (menggunakan *plethysmometer*) pada hari ke 1, 7, 14, 21, dan 28 setelah penginduksian CFA mengacu pada penelitian (Lee & Choi 2009), dengan beberapa modifikasi. Data penelitian berupa berat badan dan nilai tebal plantar dinyatakan dalam rerata \pm SEM. Data dianalisis menggunakan uji t berpasangan dan Anova satu arah dengan derajat kepercayaan 95%.

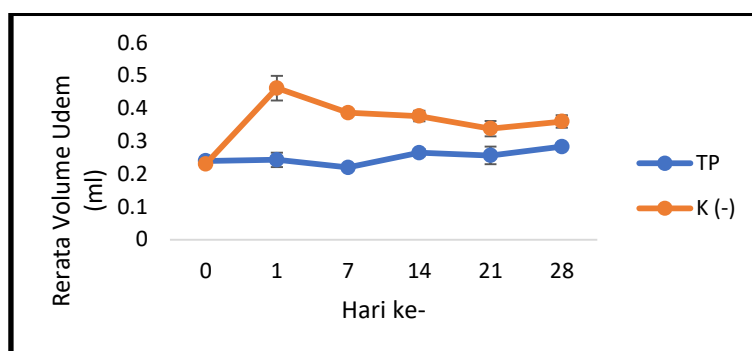
Hasil dan Pembahasan

Pengujian aktifitas antiinflamasi dilakukan dengan menggunakan dua jenis ekstrak daun sukun dengan pelarut yang berbeda yaitu etanol 70% dan pelarut etil asetat. Penggunaan dua jenis pelarut tersebut

dengan pertimbangan bahwa jenis pelarut etanol digunakan untuk menarik senyawa-senyawa yang bersifat polar sedangkan pelarut etil asetat untuk menarik senyawa-senyawa yang bersifat nonpolar. Tujuan pengujian kedua jenis ekstrak ini adalah untuk membandingkan pelarut manakah yang mempunyai aktifitas antiinflamasi subkronis yang paling baik. Kedua ekstrak diujikan aktifitas antiinflamasi melalui mencit dengan mensuspensikan masing masing ekstrak dengan CMC Na.

Penelitian ini dilakukan dengan mengamati penurunan volume kaki mencit yang diinduksi CFA selama jangka waktu 28 hari (subkronis). Semakin besar selisih penurunan volume radang pada kaki mencit, semakin besar efektifitas bahan dalam aktifitas antiinflamasinya.

Hasil peningkatan volume kaki mencit yang diinduksi CFA dapat dilihat pada Gambar 1. Gambar 1 memperlihatkan bahwa pada kelompok K(-) mengalami peningkatan volume kaki mencit secara bermakna dibandingkan kelompok tanpa perlakuan (TP) pada hari ke-1 hingga hari ke-28 pasca induksi CFA dibandingkan dengan TP. Pada hari ke-7 terjadi penurunan volume udem kaki mencit yang diinduksi oleh CFA namun volume kaki mencit tidak mengalami penurunan kembali secara signifikan hingga hari ke-28. CFA atau (Freund's Complete Adjuvant) terbukti dapat menyebabkan inflamasi dalam jangka waktu subkronis (28 hari). CFA merupakan bahan yang terdiri atas minyak mineral non metabolik, surfaktan serta mycobacteria (*Mycobacterium tuberculosis* atau *Mycobacterium butyricum*). Bahan ini secara luas digunakan untuk menginduksi inflamasi kronis dengan cara meningkatkan respon imun terhadap antigen (Stills, 2005). Senyawa ini dapat menstimulasi terjadinya fagositosis, sekresi sitokin oleh fagositosis mononuklear, sehingga dapat melepaskan berbagai jenis sitokin proinflamasi salah satunya adalah TNF- α (Fajrin et al., 2013). Sitokin ini bekerja dengan menyebabkan adanya osteoklasgenesis atau pembentukan osteoklas dengan cara bekerja secara sinergis dengan Receptor Activator of Nuclear Factor- κ B Ligand (RANKL). Selain hal itu, TNF- α juga dapat menyebabkan arthritis atau inflamasi kronis, dengan jalan melalui hiperplasia sinovium, infiltrat inflamasi di bagian sendi sehingga terjadi pembentukan pannus dan kartilago dan pada akhirnya terjadi destruksi tulang (Plenge et al., 2007).



Gambar 1. Grafik volume udem kaki mencit yang diinduksi CFA (K(-)) dibandingkan dengan mencit tanpa perlakuan (TP)

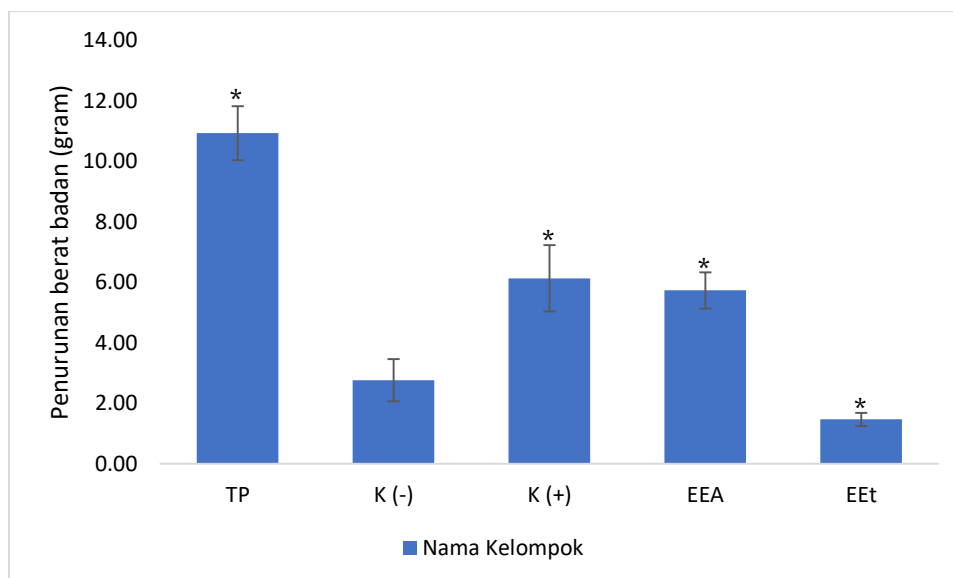
Tabel 1. Data volume udem pada masing masing kelompok

Kelompok	Rata rata volume udem (mm)				
	Hari ke-1	Hari ke-7	Hari ke-14	Hari ke-21	Hari ke-28
K (+)	0,322 ± 0,016*	0,315 ± 0,033	0,315 ± 0,034*	0,278 ± 0,027	0,283 ± 0,023*
EEA	0,345 ± 0,013*	0,317 ± 0,032	0,308 ± 0,017	0,320 ± 0,025	0,318 ± 0,004
EEt	0,395 ± 0,009	0,388 ± 0,017	0,293 ± 0,026*	0,327 ± 0,023	0,303 ± 0,003*

Hasil dinyatakan sebagai rata-rata ± SEM. N = jumlah mencit tiap kelompok (n = 3). K(+): kontrol positif; EEA: ekstrak etil asetat; EEt: Ekstrak etanol daun sukun; *menunjukkan adanya perbedaan signifikan dibandingkan dengan K(-)

Hari pertama pasca penginduksian CFA, volume oedem pada kelompok yang diberikan Na Dic serta ekstrak etil asetat lebih kecil secara signifikan dibandingkan kelompok K(-) ($p < 0,05$). Pada hari ke-28 pasca penyuntikan CFA, volume udem pada kelompok EEt ($0,303 \pm 0,003$ mm) dan kelompok na diclofenac lebih kecil secara signifikan jika dibandingkan kelompok K(-) ($0,283 \pm 0,023$), sementara ekstrak etil asetat tidak memberikan hasil yang berbeda signifikan dibandingkan dengan K(-). Berdasarkan Tabel 1, volume edema terkecil pada hari ke-28 ditunjukkan oleh kelompok natrium diklofenak (K(+)). Pada hari ke-28, terlihat bahwa volume udem ekstrak etanol lebih kecil daripada volume udem ekstrak etil asetat daun

sukun, sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol mempunyai efektifitas antiinflamasi subkronis lebih baik daripada ekstrak etil asetat daun sukun. Kandungan daun sukun dalam ekstrak etanol daun sukun di antaranya adalah tanin, senyawa fenol, glikosida, saponin, steroid, terpenoid dan antraknon (Siddesha *et al.*, 2011), serta senyawa flavonoid terprenilasi (Lin *et al.*, 2009) dan tergeranilasi (Hsu *et al.*, 2012) (Wang *et al.*, 2007).



Gambar 2. Grafik peningkatan berat badan mencit pada hari ke-28 dibandingkan hari pertama pasca penyuntinya CFA pada semua kelompok uji. TP: Tanpa perlakuan; K(-): kontrol negatif; K(+): Kontrol positif; EEA: Ekstrak etil asetat; EEt: Ekstrak etanol.

Reaksi inflamasi dapat menyebabkan nyeri akibat dari peningkatan mediator inflamasi yaitu prostaglandin. Prostaglandin berasal dari biosintesis asam arakhidonat melalui jalur siklooksigenasi. Senyawa inilah yang memberikan ransangan syaraf nyeri (Cao, 2010). Rasa nyeri dapat menyebabkan penurunan nafsu makan mencit sehingga berdampak pada penurunan berat badan mencit. Gambar 2 menunjukkan grafik peningkatan berat badan mencit selama 28 hari pasca penginduksian CFA. Pada kelompok K(-), tidak ada peningkatan berat badan yang signifikan dari hari 1 hingga hari ke-28 pasca induksi ($p = 0,058$). Pada mencit yang diinduksi CFA, peningkatan berat badan yang terjadi kecil karena masih adanya respon nyeri akibat inflamasi. Peningkatan berat badan tertinggi terlihat pada kelompok tanpa perlakuan ($p = 0,007$). Hal ini disebabkan pada kelompok tanpa perlakuan, mencit tidak mengalami reaksi inflamasi, sehingga berpengaruh terhadap peningkatan berat badan mencit. Mencit pada tiga kelompok lainnya, yaitu K(+), EEA, dan EEt, menunjukkan peningkatan berat badan yang signifikan dari hari ke-1 hingga hari ke-28 (nilai p secara berturut-turut 0,031; 0,011, 0,021). Ekstrak etil asetat memberikan peningkatan berat badan yang signifikan jika dibandingkan dengan ekstrak etanol. Ekstrak etil asetat mengandung beberapa senyawa geranil flavonoid berupa arkomunol C, arkomunol D, dan 5'-geranil-3,4,2',4'-tetrahidroksikalkon, bersama dengan empat senyawa lain yaitu prostratol, arkomunol E, 3'-geranil-3,4,2',4'-tetrahidroksidihidroksikalkon, dan 3'-geranil-3,4,2',4'-tetrahidroksikalkon (Hsu *et al.*, 2012) serta kandungan dalam ekstrak etanol yang utama adalah geranil chalcone yaitu 2-geranyl-2',3,3,4'-tetrahydroxydihydrochalcone (GTDC) (Fakhrudin *et al.*, 2020). Flavonoid dapat menghambat kerja dari COX-2 sehingga produksi dari prostaglandin menurun (Kim *et al.*, 2004). Penurunan prostaglandin dapat menurunkan rasa nyeri yang ditimbulkan oleh inflamasi sehingga berdampak pada berat badan mencit yang meningkat.

Simpulan

Pemberian ekstrak etanol daun sukun dan ekstrak etil asetat daun sukun dapat menurunkan volume udem mencit yang diinduksi CFA. Ekstrak etanol daun sukun memiliki aktifitas antiinflamasi subkronis yang lebih baik daripada ekstrak etil asetat daun sukun. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai mekanisme aktifitas anti-inflamasi daun sukun serta pengujian ketoksikan daun sukun.

Ucapan Terima Kasih

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Setiono dan Dewi Venda Erlina atas bantuan teknis yang diberikan selama penelitian. Penelitian ini dibiayai dengan hibah Hibah Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi (PUPT; Nomor kontrak: LPPMUGM/344/LIT/2014), dari Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi, Kementrian Pendidikan dan Kebudayaan, Republik Indonesia

Daftar Pustaka

- Adaramoye, O.A., Akanni, O.O., 2014, Effects of Methanol Extract of Breadfruit (*Artocarpus altilis*) on Atherogenic Indices and Redox Status of Cellular System of Hypercholesterolemic Male Rats, *Adv Pharmacol Sci*, 2014: 11
- Andriani, A. & Fakhrudin, N., 2013, Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etil Asetat Daun Sukun (*Artocarpus altilis* (Park.) Forsberg) Melalui Penghambatan Migrasi Leukosit Pada Mencit Yang Diinduksi Oleh Thioglikolat (Thesis), Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Araujo, P.C.O., Sari, M.H.M., Jardim, N.S., Jung, J.T.K., Brüning, C.A., 2020, Effect of m-trifluoromethyl-diphenyl diselenide on acute and subchronic animal models of inflammatory pain: Behavioral, biochemical and molecular insights, *Chemico-Biological Interactions*, 317: 108941.
- Billiau, A., Matthys, P., 2001. Modes of action of Freund's adjuvants in experimental models of autoimmune diseases, *J Leukoc Biol*, 70: 849–860.
- Fajaryanti, N., Nurrochmad, A., Fakhrudin, N., 2016, Evaluation of antihyperlipidemic activity and total flavonoid content of *Artocarpus altilis* leaves extracts, *International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research 2016*, 8(5): 461-465.
- Fajrin, F.A., Junaidi Khotib, N. 0022107001, Susilo, I., 2013, Histologi Dorsal Horn Dari Spinal Cord Mencit Yang Mengalami Nyeri Inflamasi Akibat Induksi CFA (Completed Freud's Adjuvant) Setelah Pemberian Gabapentin Dan Baclofen, *Buletin Penelitian Kesehatan*, 41: 225–236.
- Fakhrudin, N., Hastuti, S., Andriani, A., Widyarini, S., Nurrochmad, A., 2015, Study on The Antiinflammatory Activity of *Artocarpus Altilis* Leaves Extract in Mice, *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research 2015*, 7(6): 1080-1085.
- Fakhrudin, N., Nisa, K., Azzahra, A., Ajiningtyas, R.J., 2016, Study of Radical Scavenger Activity, Total Phenol and Flavonoid Contents of *Artocarpus altilis* leaves Extracts, *International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 8: 352–356.
- Fakhrudin, N., Pertiwi, K.K., Takubessi, M.I., Susiani, E.F., Nurrochmad, A., Widyarini, S., Sudarmanto, A., Nugroho, A.A., Wahyuono, S., 2020, A geranylated chalcone with antiplatelet activity from the leaves of breadfruit (*Artocarpus altilis*), *Pharmacia*, 67(4): 173–180.
- Hastuti, S. & Fakhrudin, N. 2014. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etil Asetat Daun Sukun (*Artocarpus altilis* (Parkins.) Fosberg) Terhadap Aktivitas Analgetik Dan Antiinflamasi Pada Mencit Serta Ekspresi COX-2 (Thesis), Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Hendriyani, I., 2017, Efek Antiaterosklerosis Ekstrak Etanol Daun Sukun (*Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg) : Studi Profil Lemak, VCAM-1, MMP-9, dan Histopatologi Aorta (Thesis), Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada
- Hsu, C.-L., Chang, F.-R., Tseng, P.-Y., Chen, Y.-F., El-Shazly, M., Du, Y.-C., Fang, S.-C., 2012. Geranyl Flavonoid Derivatives from the Fresh Leaves of *Artocarpus communis* and Their Anti-inflammatory Activity. *Planta Med*, 78: 995–1001.
- Kim, H.P., Son, K.H., Chang, H.W., Kang, S.S., 2004, Anti-inflammatory Plant Flavonoids and Cellular Action Mechanisms, *Journal of Pharmacological Sciences*, 96: 229–245.
- Lee, K.-H. dan Choi, E.-M., 2009, Effect of pine pollen extract on experimental chronic arthritis. *Phytotherapy research: PTR*, 23: 651–657.
- Lin, K.-W., Liu, C.-H., Tu, H.-Y., Ko, H.-H., Wei, B.-L., 2009, Antioxidant prenylflavonoids from *Artocarpus communis* and *Artocarpus elasticus*, *Food Chemistry*, 115: 558–562.

- Liu, M., Dong, J., Yang, Y., Yang, X., Xu, H., 2005, Anti-inflammatory Effects of Triptolide Loaded Poly(D,L-Lactic Acid) Nanoparticles on Adjuvant-Induced Arthritis in Rats, *Journal of Ethnopharmacology*, 97: 219–225.
- Lusis, A.J., 2000, Atherosclerosis, *Nature*, 407: 233–241.
- Murakami, M., Hirano, T., 2012, The molecular mechanisms of chronic inflammation development. *Front. Immunol*, 3, <https://doi.org/10.3389/fimmu.2012.00323>
- Plenge, R.M., Cotsapas, C., Davies, L., Price, A.L., de Bakker, P.I.W., Maller, J., Pe'er, I., Burtt, N.P., Blumenstiel, B., DeFelice, M., Parkin, M., Barry, R., Winslow, W., Healy, C., Graham, R.R., Neale, B.M., Izmailova, E., Roubenoff, R., Parker, A.N., Glass, R., Karlson, E.W., Maher, N., Hafler, D.A., Lee, D.M., Seldin, M.F., Remmers, E.F., Lee, A.T., Padyukov, L., Alfredsson, L., Cobyln, J., Weinblatt, M.E., Gabriel, S.B., Purcell, S., Klareskog, L., Gregersen, P.K., Shadick, N.A., Daly, M.J., Altshuler, D., 2007, Two independent alleles at 6q23 associated with risk of rheumatoid arthritis, *Nat Genet*, 39: 1477–1482.
- Siddesha, J.M., Angaswamy, N., Vishwanath, B.S., 2011. Phytochemical screening and evaluation of in vitro angiotensin-converting enzyme inhibitory activity of *Artocarpus altilis* leaf, *Natural Product Research*, 25: 1931–1940.
- Simanjuntak, H.A., Gurning, K., 2020, The Effect of Infusion Breadfruit Leaves (*Artocarpus Altilis* (Parkinson) Fosberg) On Blood Glucose Levels in Male Mice (*Mus Musculus*) Diabetes Mellitus Type 2, *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development*, 8: 1–4.
- Song, L., Kong, X., Wang, H., Zhan, L., 2016, Establishment of a Rat Adjuvant Arthritis-Interstitial Lung Disease Model, *BioMed Research International*, 2016: e2970783. <https://doi.org/10.1155/2016/2970783>.
- Steinberg, D., 2002, Atherogenesis in Perspective: Hypercholesterolemia and Inflammation as Partners in Crime, *Nat Med*, 8: 1211–1217.
- Stills, H.F., 2005, Adjuvants and Antibody Production: Dispelling The Myths Associated with Freund's Complete and Other Adjuvants, *ILAR J* 46: 280–293.
- Tabas, I., Williams, K.J., Borén, J., 2007, Subendothelial Lipoprotein Retention as the Initiating Process in Atherosclerosis Update and Therapeutic Implications, *Circulation*, 116: 1832–1844.
- Wang, Y., Xu, K., Lin, L., Pan, Y., Zheng, X., 2007, Geranyl flavonoids from the leaves of *Artocarpus altilis*, *Phytochemistry, Reports on Structure Elucidation*, 68: 1300–1306.
- Webb, N.R., 2008, Getting to the Core of Atherosclerosis, *Nature Medicine* 14: 1015–1016
- Zhang, R. X., Fan, A.Y., Zhou, A. N., Moudgil, K.D., Ma, Z. Z., Lee, D.Y. W., Fong, H.H.S., Berman, B.M., Lao, L., 2009, Extract of the Chinese herbal formula Huo Luo Xiao Ling Dan inhibited adjuvant arthritis in rats, *Journal of Ethnopharmacology*, 121: 366–371.