

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Seledri (*Apium graveolens* L.)

1. Sistematika Tanaman

Sistematika tanaman seledri menurut Hutapea, 1994 sebagai berikut:

Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Bangsa	: Umbeliflorae
Suku	: Umbeliferae
Marga	: Apium
Jenis	: <i>Apium graveolens</i> L.

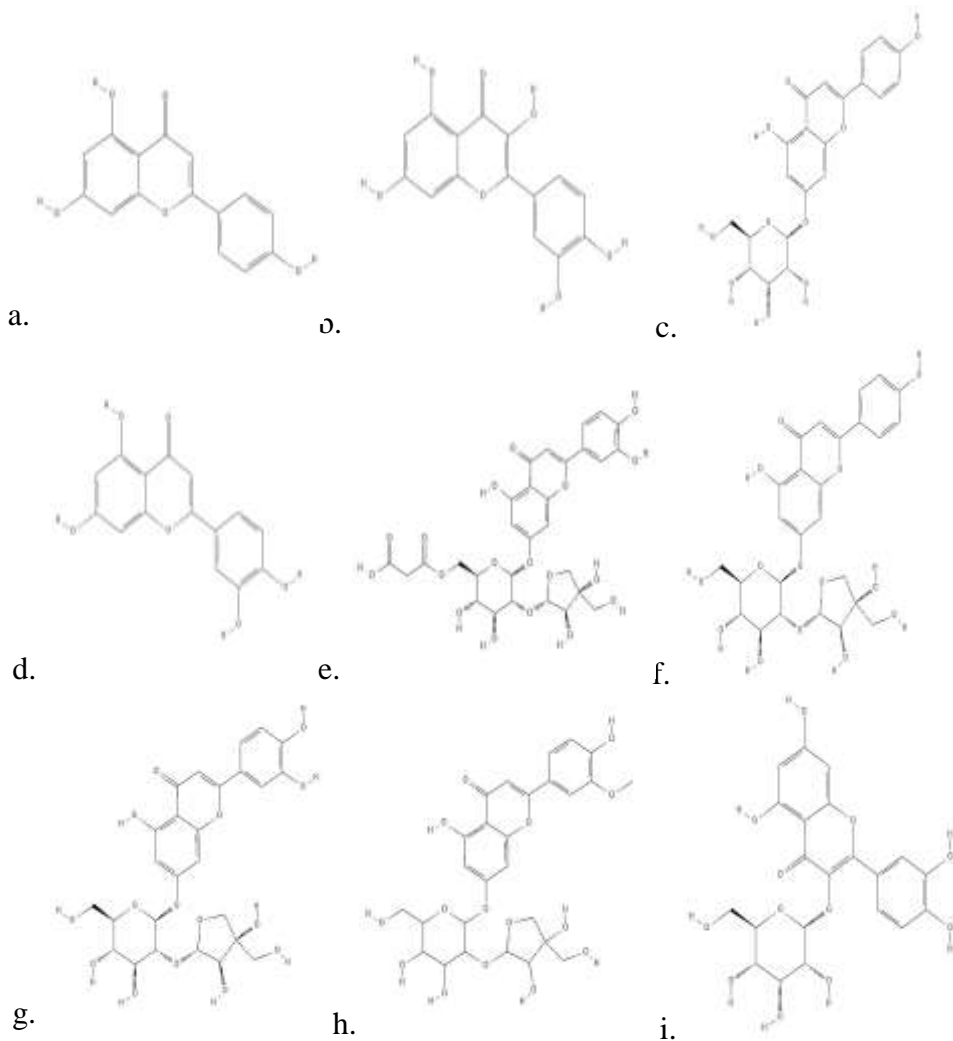


Gambar 1. Tanaman Seledri (Windasari, 2019)

2. Kandungan Kimia

Seledri mengandung berbagai senyawa kimia sebagai antiinflamasi, antimikroba, antioksidan dll. Kandungan senyawa kimia pada seledri diperoleh melalui *web server PubChem, KNApSack* dan jurnal-jurnal penelitian. Senyawa seledri dibagi menjadi 5 golongan yaitu:

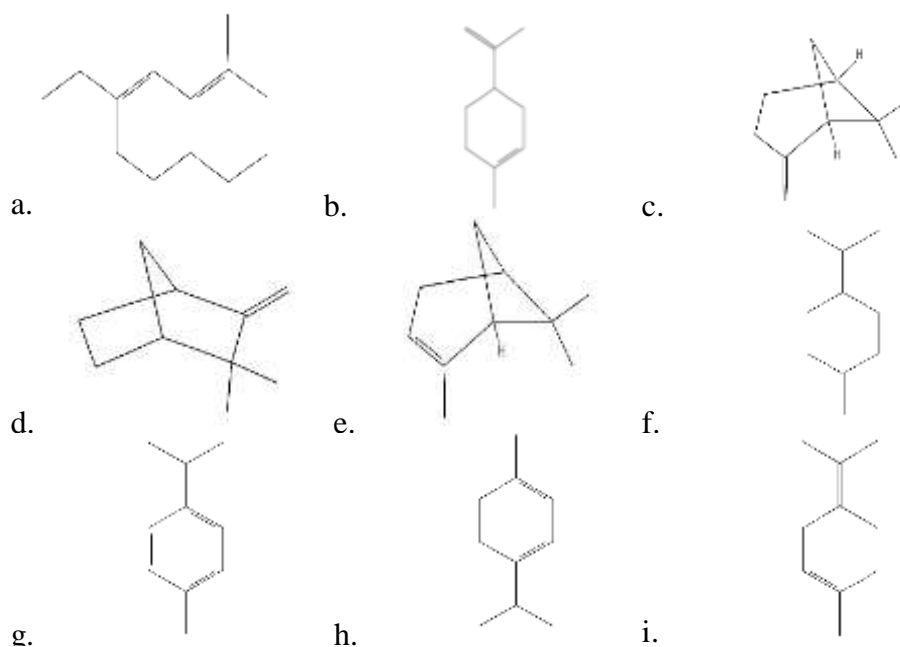
2.1. Golongan Flavonoid. Terdapat 9 senyawa kimia flavonoid yaitu *Apigenin, Quercetin* dan *Apigenin 7-O-beta-D-glucopyranoside* (Tavakoli et al., 2022). *Luteolin* dan *Luteolin 7-O-(2-aposyl-6-malonylglucoside)* (Kholieqoh et al., 2022). *Apiin* (Li et al., 2014). *Graveobioside, Graveobioside B* dan *Isoquercetin* (Kooti et al., 2015).



Gambar 2. Senyawa kimia tanaman seledri golongan flavonoid

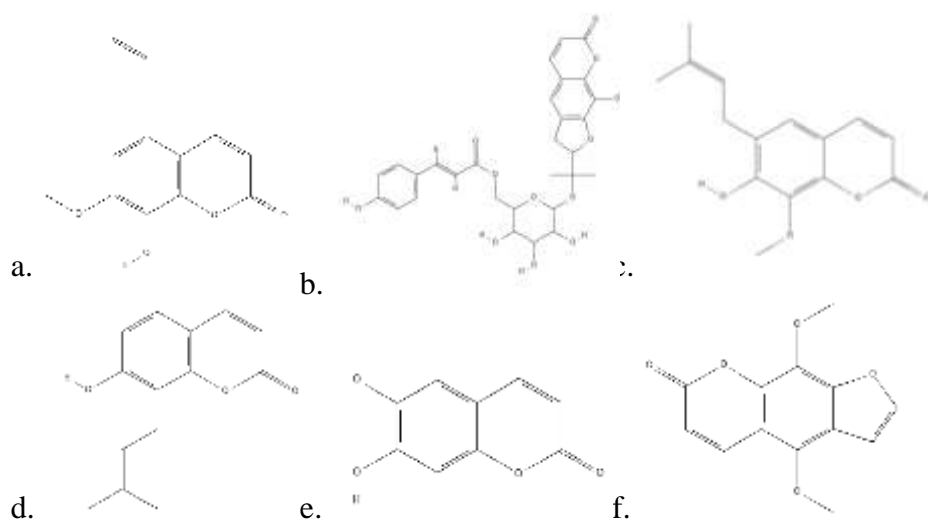
Apigenin(a) *Quercetin*(b) *Apigenin 7-O-beta-D-glucopyranoside*(c) *Luteolin*(d)
Luteolin 7-O-(2-aposyl-6-malonylglucoside)(e) *Apiin*(f) *Graveobioside A*(g)
Graveobioside B(h) *Isoquercetin*(i).

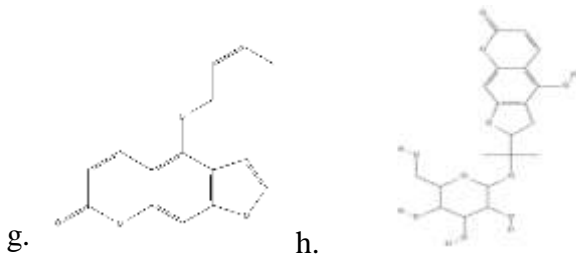
2.2. Golongan Terpenoid. Terdapat 9 senyawa kimia terpenoid yaitu *Selinene* dan *Limonene* (Mousa *et al.*, 2015). β -*pinene*, *camphene*, α -*pinene*, β -*phellendrene*, *p-cymene*, α -*terpinene* dan *terpinolene* (Kooti *et al.*, 2015).



Gambar 3. Senyawa kimia tanaman seledri golongan terpenoid
delta-Selinene(a) *Limonene*(b) *β -pinene*(c) *camphene*(d) *α -pinene*(e) *β -phellendrene*(f) *p-cymene*(g) *α -terpinene*(h) *terpinolene*(i).

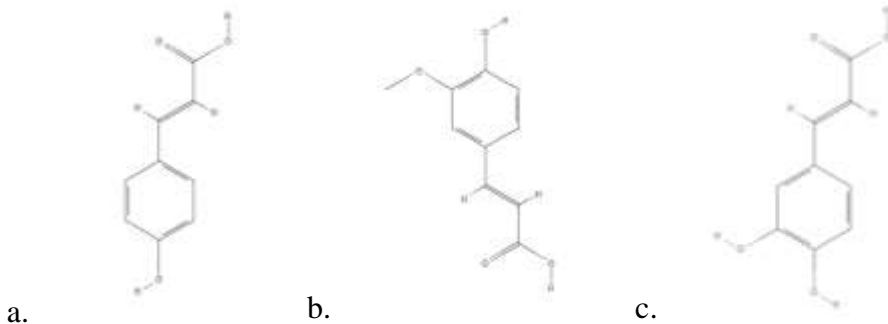
2.3. Golongan Furanokumarin. Tanaman seledri mengandung 8 senyawa kimia furanokumarin yaitu *Celerin*, *Apiumoside*, *Apigravin*, *Osthenol*, *Scopoletin*, *Isopimpinellin*, *Isoimperatorin* dan *Celereoside* (Kooti *et al.*, 2015).





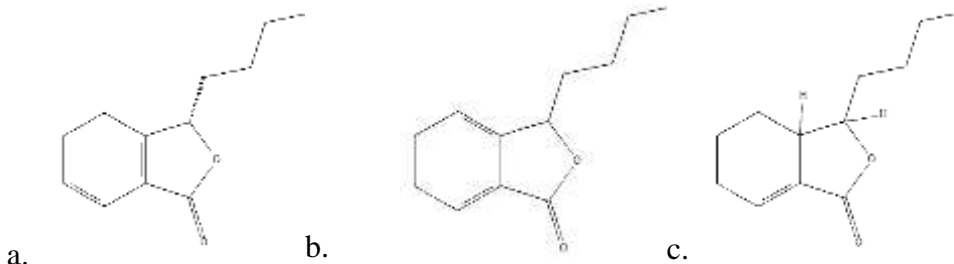
Gambar 4. Senyawa kimia tanaman seledri golongan furanokumarin
Celerin(a) Apiumoside(b) Apigravin(c) Osthenol(d) Scopoletin(e) Isopimpinellin(f)
Isoimperatorin(g) Celereoside (h).

2.4. Golongan Asam Fenolat. Terdapat 3 senyawa kimia asam fenolat pada tanaman seledri yaitu *p-coumaric acid*, *Ferulic acid* dan *caffeic acid* (KNAPSAcK, 2023).



Gambar 5. Senyawa kimia tanaman seledri golongan asam fenolat
p-coumaric acid(a) Ferulic acid(b) caffeic acid(c).

2.5. Golongan Ptalida. Terdiri dari senyawa *Senkyunolide A*, *3-n-Butylphthalide* dan *Sedanolide* (Sbai et al., 2016).



Gambar 6. Senyawa kimia tanaman seledri golongan ptalida
Senkyunolide A(a) 3-n-Butylphthalide(b) Sedanolide(c).

3. Aktivitas Tanaman

Tanaman seledri merupakan tumbuhan dari famili apiaceae yang terdapat senyawa fenolik dan antioksidan. Kandungan kimia yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan kuat yaitu asam caffeic, p-coumaric, apigenin, luteolin, tanin, saponin dan kaempferol. Tanaman seledri dilaporkan memiliki antioksidan pada penelitian yang dilakukan

dengan model mencit yang diukur meliputi kandungan *maleat dialdehida* (MDA) dan *lipofuksan* (LPF), aktivitas *superoksida dismutase* (SOD), *glutathion peroksidase* (GSH-Px), *katalase* (CAT) dan kapasitas antioksidan total. Hasil menunjukkan tanaman seledri secara signifikan meningkatkan aktivitas SOD, GSH-Px dan CAT. Kandungan kimia yang terkandung pada penelitian tersebut yaitu apiin (Li *et al.*, 2013).

Tanaman seledri juga memiliki aktivitas sebagai antimikroba. Penelitian yang dilakukan Mousa *et al.*, (2015) menyebutkan bahwa efek antimikroba tanaman seledri yang dibuat menjadi minyak esensial herba dibandingkan terhadap lima strain bakteri, dua strain ragi dan lima strain jamur. Hasilnya minyak esensial dari tanaman seledri mampu menghambat pertumbuhan mikroba tersebut. Kandungan kimia yang terkandung pada aktivitas sebagai antimikroba yaitu limonene.

B. Tanaman Lada Hitam (*Piper nigrum* L.)

1. Sistematika Tanaman

Sistematika tanaman lada hitam menurut Herbie, 2015 sebagai berikut:

Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Bangsa	: Piperales
Suku	: Piperaceae
Marga	: Piper
Jenis	: <i>Piper nigrum</i> L.

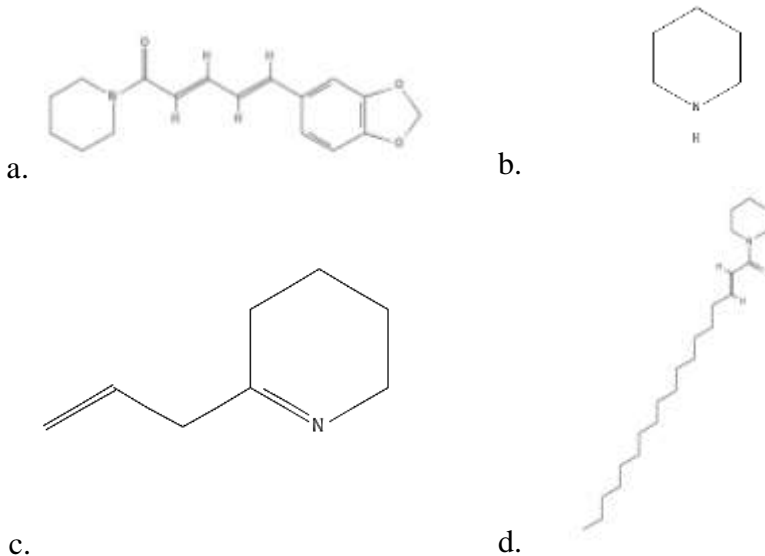


Gambar 7. Tanaman Lada Hitam (Ismah, 2019)

2. Kandungan Kimia

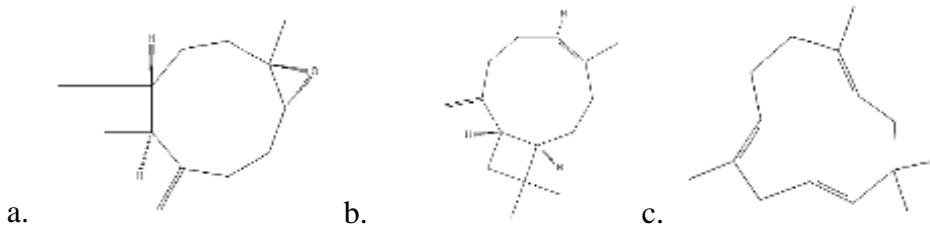
Lada hitam mengandung berbagai senyawa kimia yaitu antiinflamasi, antikanker, antifungi, antidepresan dll. Kandungan senyawa kimia pada lada hitam diperoleh melalui *web server PubChem*, *KNApSack* dan jurnal-jurnal penelitian. Senyawa lada hitam dibagi menjadi 5 golongan yaitu:

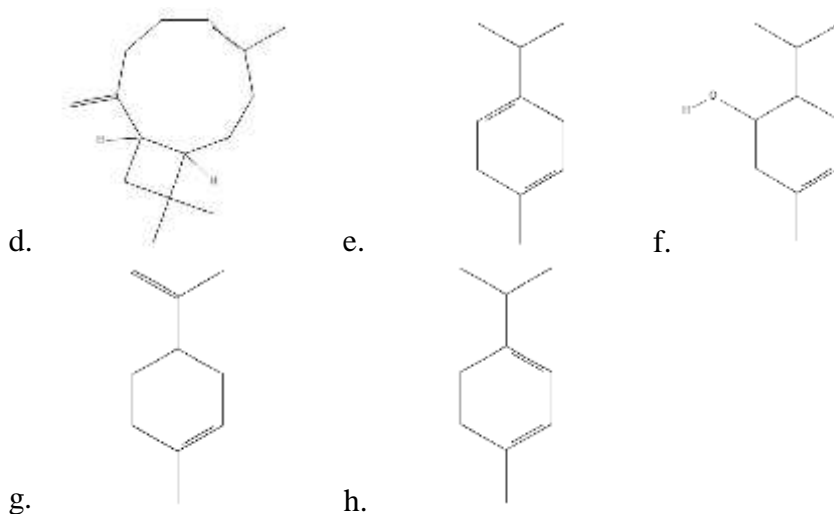
2.1 Golongan Alkaloid. Terdapat senyawa 4 kimia alkaloid pada lada hitam yaitu *Piperine*, *Piperidine*, *delta 1-Piperideine* dan *1-(1-Oxo-2-octadecenyl) piperidine* (KNApSack, 2023).



Gambar 8. Senyawa kimia lada hitam golongan alkaloid
Piperine(a), *Piperidine*(b), *delta 1-Piperideine*(c) *1-(1-Oxo-2-octadecenyl) piperidine*(d)

2.2 Golongan Terpenoid. Lada hitam mengandung 8 senyawa kimia yaitu, β -*Caryophyllene*, *Isocaryophyllene*, α -*Humulene* dan *caryophyllene* (Santiago, 2013). *gamma-Terpinene*, *1-Terpinen-5-ol*, *Limonene* dan α -*Terpinene* (KNApSack, 2023).

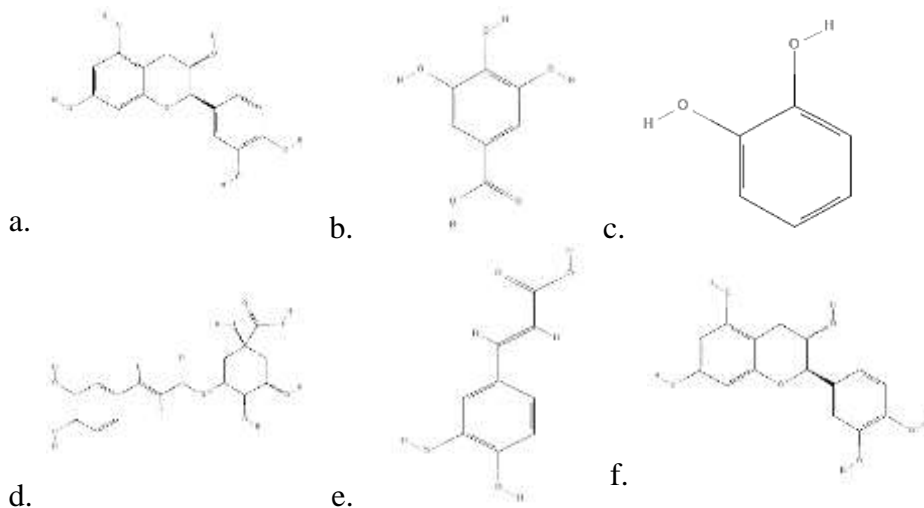




Gambar 9. Senyawa kimia lada hitam golongan terpenoid

β-Caryophyllene(a) *Isocaryophyllene*(b) *α-Humulene*(c) *caryophyllene*(d) *gamma-Terpinene* (e) *1-Terpinen-5-ol*(f) *Limonene*(g) *α-Terpinene*(h).

2.3 Golongan Fenolik. Terdapat 6 senyawa kimia fenolik pada lada hitam yaitu *Epicatechin*, *Gallic acid*, *Catechol*, *Chlorogenic acid*, *Caffeic acid* dan *Catechin* (Al-Khayri *et al.*, 2022).



Gambar 10. Senyawa kimia lada hitam golongan fenolik

Epicatechin(a) *Gallic acid*(b) *Catechol*(c) *Chlorogenic acid*(d) *Caffeic acid*(e) *Catechin*(f)

3. Aktivitas Tanaman

Tanaman lada hitam merupakan tumbuhan dari famili piperaceae yang memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi, antidepresan, antikanker dan antifungi. Penelitian yang dilakukan Pei *et al.*, (2020) pada aktivitas sebagai antiinflamasi dengan menginduksi karagenan pada kaki tikus ICR jantan. Hasil penelitian tersebut menunjukkan

aktivitas antiinflamasi dengan menghambat translokasi sitosol-nukleus dari subunit p65 dengan target IKK- β . Kandungan kimia yang diisolasi pada lada hitam yaitu nigramide E, nigramide F dan nigramide G.

Tanaman lada hitam juga memiliki aktivitas sebagai antikanker prostat. Kandungan kimia yang berkontribusi pada penghambatan sel kanker prostat yaitu piperin. Penelitian yang dilakukan Ouyang *et al.*, (2013) piperin dilaporkan dapat menghambat sel proliferasi pada sel kanker prostat manusia dengan menginduksi penghentian siklus sel autophagy.

C. Arthritis Reumatoid

1. Definisi Arthritis Reumatoid

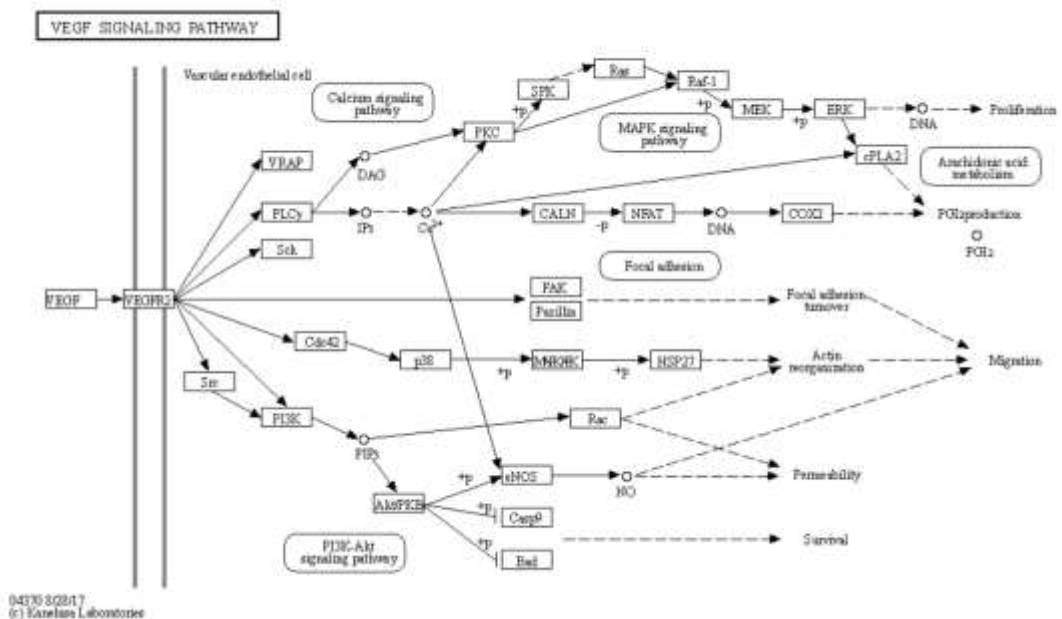
Arthritis reumatoid (AR) adalah gangguan autoimun jangka panjang dengan peristiwa global sebanyak 1% dan paling sering terjadi pada wanita paruh baya. AR yang tidak diobati dapat menyebabkan kerusakan sendi melalui erosi tulang rawan dan tulang (Kohler *et al.*, 2019). AR dikenal sebagai peradangan kronis pada membran sinovial atau penyakit sendi dengan dasar autoimun dan ditandai oleh autoantibodi terhadap imunoglobulin G (Abbasi *et al.*, 2019). Gejala umum AR meliputi nyeri, bengkak, dan kekakuan pada sendi yang biasanya terjadi secara simetris, selain itu, AR juga dapat mempengaruhi organ-organ lain di tubuh seperti kulit, mata, paru-paru, dan jantung (George *et al.*, 2020).

2. Patofisiologi Arthritis Reumatoid

AR merupakan penyakit sendi autoimun kronis dan sistemis secara umum yang ditandai dengan proliferasi sinoviosit. (Yu *et al.*, 2022). Peradangan sinovium dimulai pada lapisan sinovium (membran yang melapisi sendi). Sel-sel kekebalan tubuh, seperti sel T dan sel B, diperlukan untuk merespons infeksi, tetapi dalam AR, mereka menyerang sendi secara keliru. Pembentukan panus terjadi di sel-sel kekebalan tubuh yang teraktivasi memicu pelepasan zat-zat peradangan seperti sitokin dan faktor pertumbuhan. Hal ini menyebabkan proliferasi sinovium, membentuk struktur yang disebut panus. Panus adalah jaringan abnormal yang merusak tulang, kartilago, dan ligamen sendi. Panus menghasilkan enzim proteolitik seperti metalloproteinase yang merusak tulang rawan dan jaringan sendi. Hal ini menyebabkan erosi dan deformitas sendi, yang mengganggu fungsi normal dan menyebabkan nyeri, bengkak, dan kekakuan. Sistem kekebalan tubuh

juga menghasilkan antibodi yang disebut faktor reumatoid (RF) dan antibodi anti-siklik citrullinated peptida (anti-CCP). Antibodi-antibodi ini dapat berkontribusi pada peradangan dan kerusakan sendi dalam AR (Komatsu *et al.*, 2022). Terjadinya artritis reumatoid melalui 3 jalur yaitu jalur *vascular endothelial growth factor (VEGF) signaling*, Th-17 cell *diferrentiation* dan jalur *within cell*.

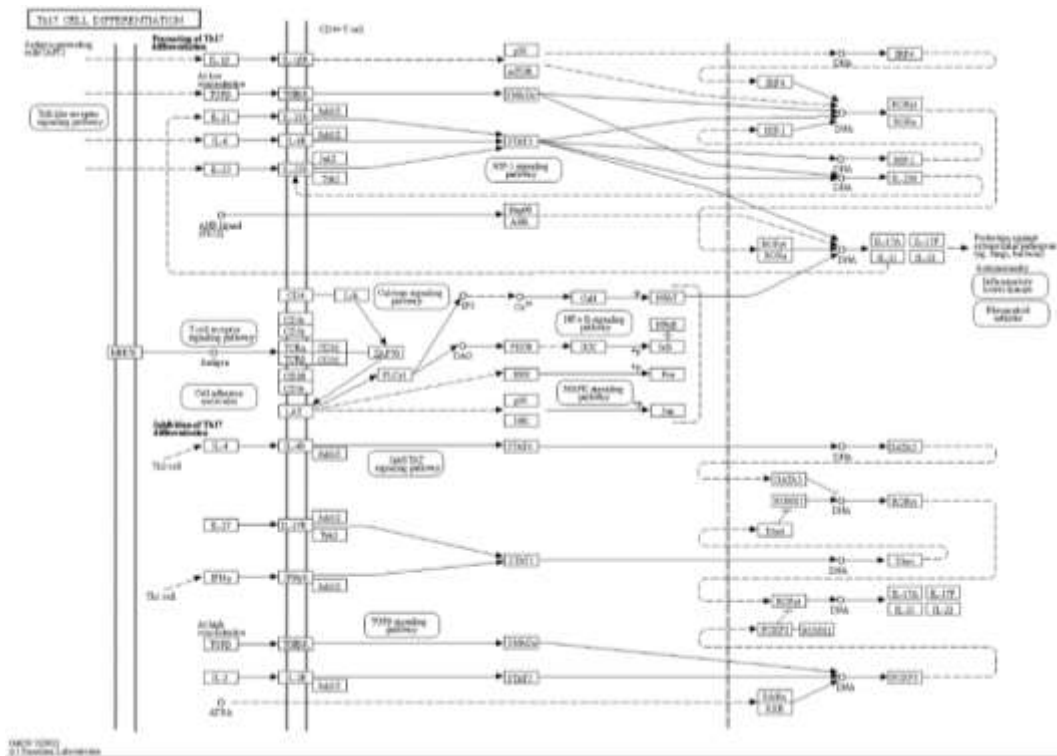
2.1. Jalur VEGF signaling. VEGF memiliki peran penting dalam angiogenesis pada AR, kadar serum VEGF berhubungan dengan pergelangan tangan yang lebih tinggi pada *synovial doppler ultrasound* yang terjadi pada AR. Penggunaan inhibitor VEGF seperti antibodi terhadap reseptor VEGF, VEGF-R, VEGF-Trap, dan VEGF *tyro-sine kinase* pada radang sendi. Faktor pertumbuhan endotel vascular diinduksi oleh hipoksida dan faktor yang diinduksi *hypoxia* 1 dan 2 (HIF-1, HIF-2) di AR. HIF yang signifikan adalah karakteristik AR sendi, efek stimulasi HIF pada penggerak angiogenik fibroblast sinovial AR terjadi dan didemonstrasikan. Perpindahan fibroblast menjadi kolagen terkait dengan peningkatan angiogenesis dan ekspresi angiogenik yang tinggi dapat merangsang VEGF serta *matrix metallopreinas* (MMP)-2, MMP-8 dan MMP-9. Tingkat kerusakan DNA oksidatif dan peroksida lipida memiliki ikatan dengan HIF dan sel inflamasi sinovial yang berkorelasi dengan sinovitis makroskopis (Szekanecz *et al.*, 2010).



Gambar 11. Jalur patofisiologi melalui persinyalan VEGF (KEGG, 2023).

Faktor pertumbuhan yang terlibat dalam sinovial angiogenesis yaitu *factor growth endothel vascular* (VEGF), *fibroblast growth factor* (FGF)-2, *Transforming growth factor-b* (TGF-b), *connective tissue growth factor* (CTGF), *platelet derived growth factor* (PDGF) dll. FGF-2 berinteraksi dengan protein permukaan endotel termasuk integrin, proteoglikan dan *tyrosine kinase reseptor* pada angiogenesis. FGF-2 dan leukosit juga menginfiltrasi jaringan dan kemokin proinflamasi selama inflamasi neovaskularisasi (Szekanecz *et al.*, 2010). Jalur VEGF melibatkan protein VEGF, VEGFR2, VRAP, PLCy, SCK, *protein kinase C* (PKC), SPK, RaS, RAF-1, *mitogen-actived protein kinase* (MAPK), dll.

2.2. Jalur Th-17 cell differentiation. Pembengkakan sendi pada artritis reumatoid melalui sinovial peradangan membran akibat kekebalan tubuh teraktivasi yang ditandai dengan infiltrasi leukosit ke dalam sinovial. Komposisi seluler sinovitis dalam artritis reumatoid termasuk sel kekebalan bawaan (monosit, sel dendritik, sel mast dan bawaan sel limfoid), dan sel imun adaptif (T-helper-1, sel T-helper-17, sel B, plasmablast dan sel plasma) (Smolen *et al.*, 2016). Sinovial fibroblast menganggap peradangan agresif, matriks regulasi dan fenotipe invasi dengan peningkatan katabolisme kondrosit dan sinovial osteoklastogenesis mempromosikan kerusakan artikular. Sel-sel Th17 sebagai garis keturunan Th yang unik dengan sekresi *Janus kinase* dan *Interleukin* (IL)-17 yang resisten terhadap penekanan sitokin dari sel Th1 dan Th2. IL-17 menghubungkan imunitas bawaan adaptif yang memberikan efek menguntungkan pada patologi kekebalan tubuh. Sel Th17 dapat menghasilkan *tumor necrosis factor* (TNF), IL-22, IL-21 dan *granulocyte-macrophage colony-stimulating factor* (GM-CSF). Sel Th17 terlibat dalam pemeliharaan homeostasis imun, terutama pada permukaan mukosa di usus dan berkontribusi terhadap peradangan kronis pada penyakit autoimun seperti AR dan multipel sklerosis (Yang *et al.*, 2019).

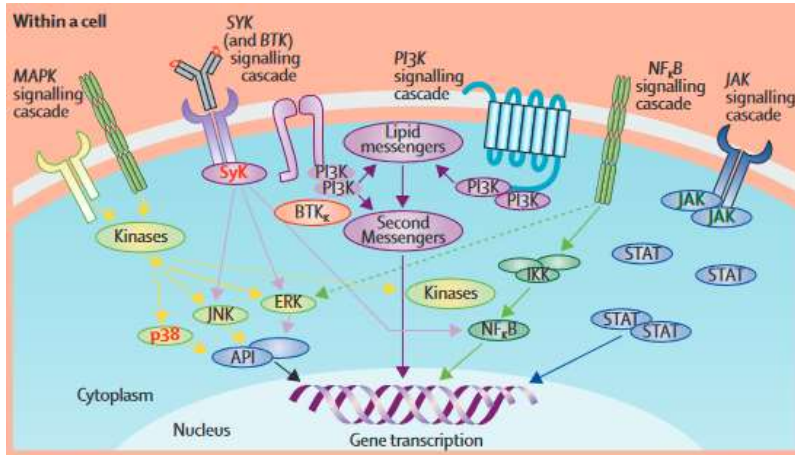


Gambar 12. Jalur patofisiologi melalui Th17 cell differentiation (KEGG, 2023).

Sel Th17 memainkan peran penting dalam patogenesis AR terutama pada fase awal penyakit melalui disfungsi kekebalan tubuh. *RAR-related orphan receptor gamma t* (ROR γ t) dan Th17 sangat diperlukan dalam pengembangan dan produksi IL-17. *Adenomatous polyposis coli* (APC) pada IL-6 dan TGF- β mampu merangsang ekspresi ROR γ t yang tinggi dan mempromosikan sel T CD4+ terdiferensiasi menjadi sel Th17. IL-1 β dan IL-6 dapat mempromosikan ekspresi *interferon regulatory factor* (IRF)4, yang positif terkait dengan gen IL-17A, menunjukkan bahwa IRF4 sangat penting untuk diferensiasi sel Th17. Protein yang terlibat pada jalur Th17 cell differentiation yaitu APC, IL-1 β , IL-1 β R, p38, IRF4, TGF β , mTOR, IL-21, IL-16, IL-23 dll (Yang *et al.*, 2019).

2.3. Jalur Within Cell. Inflamasi sinovial diatur oleh sitokin dan kemokin yang memiliki jaringan kompleks. Sitokin dan kemokin memimpin induksi respons inflamasi dengan mengaktifkan sel endotel dan menarik sel imun yang menumpuk di dalam sinovial kompartemen. Fibroblast aktif bersama dengan akumulasi sel T dan sel B yang teraktivasi, monosit dan makrofag akhirnya memicu pembentukan osteoklas melalui *receptor activator of nuclear k B ligand* (RANKL)

diekspresikan pada sel T, sel B dan fibroblast dengan reseptor RANK pada makrofag, sel dendritik dan praosteoklas (Smolen *et al.*, 2016).



Gambar 13. Jalur patofisiologi *within cell* (KEGG, 2023).

Tulang rawan mengalami kerusakan oleh katabolik pada *chondrocytes* setelah distimulasi oleh sitokin. Matriks tulang rawan didegradasi oleh matriks *metalloproteinase* dan enzim lainnya. Sitokin mengikat reseptor dan memicu berbagai peristiwa transduksi sinyal intraseluler, perantara antara peristiwa ekstraseluler dan aktivasi gen yang memperburuk dan kerusakan pada jaringan AR. Protein yang terlibat pada jalur *within cell* yaitu *janus kinase* (JAK), STAT, *nuclear factor kappa B cell* (NFκB), *I kappa B kinase* (IKK), *Tyrosine-protein kinase* (SYK), MAPK dll (Smolen *et al.*, 2016).

3. Obat Arthritis Reumatoid

Terapi obat AR sangat kompleks dan mencakup kelas obat yang berbeda dengan rute pemberian yang berbeda, tetapi juga intervensi non farmakologis. Yang paling penting adalah edukasi kepada pasien disertai dengan olahraga, terapi fisik dan okupasi. Karena peningkatan risiko arteriosklerosis koroner, upaya yang harus dilakukan untuk mengurangi faktor risiko seperti merokok, hiperlipidemia, hipertensi dan obesitas. Terapi obat digunakan untuk menghilangkan rasa nyeri dan bengkak dengan cepat dalam mengendalikan peradangan, glukokortikoid digunakan secara luas pada penyakit AR yang akut baik secara oral atau melalui suntikan intraartikular. Untuk inflamasi dalam jangka panjang, dibutuhkan *Disease Modifying Anti-Rheumatic Drugs* (DMARD) (Kohler *et al.*, 2019). Berikut golongan obat AR yaitu :

3.1. Obat Antirematik Pemoifikasi Penyakit Konvensional (csDMARD). csDMARD adalah kelompok obat yang digunakan dalam

pengobatan AR dan jenis penyakit reumatik lainnya. csDMARD bekerja dengan mengurangi peradangan dan memperlambat perkembangan kerusakan sendi yang disebabkan oleh penyakit AR. Selain itu obat golongan csDMARD dapat membantu mengontrol gejala dan memperbaiki fungsi sendi pada pasien dengan AR (Hidayat *et al.*, 2021). Obat AR golongan csDMARD yaitu metotreksat, leflunomid, sulfasalazine dan hidroksikloroquin. Metotreksat adalah analog struktural asam folat yang dapat menghambat dihidrofolat reduktase yang bertanggung jawab dalam mengurangi asam dihidrofolat menjadi asam folinat, sehingga mekanisme kerja metotreksat dapat menghambat sintesis *deoxyribo nucleic acid* (DNA) dan perbaikan replikasi seluler. Sulfasalazine adalah *pro drug* dengan dua metabolit yaitu asam-5-aminosalisilat dan sulfapiridine. Mekanisme kerja sulfasalazine masih belum diketahui, tetapi telah terbukti mempunyai imunomodulasi dan antiinflamasi (Dipiro *et al.*, 2020).

3.2. Obat Antirematik Pemodifikasi Penyakit Biologi (bDMARD). bDMARD adalah molekul protein hasil rekayasa genetika yang memiliki variasi mekanisme untuk mengurangi peradangan. bDMARD terbagi menjadi dua kelompok yaitu :

3.2.1. Obat antirematik pemodifikasi penyakit biologi menghambat TNF. Mekanisme kerjanya adalah memblokir sitokin proinflamasi TNF- α . Tingkat yang lebih tinggi dari TNF- α ditemukan dalam cairan sinovial individu dengan AR. Contoh obat golongan ini yaitu : adalimumab, eternercept, certolizumab, golimumab dan infliximab.

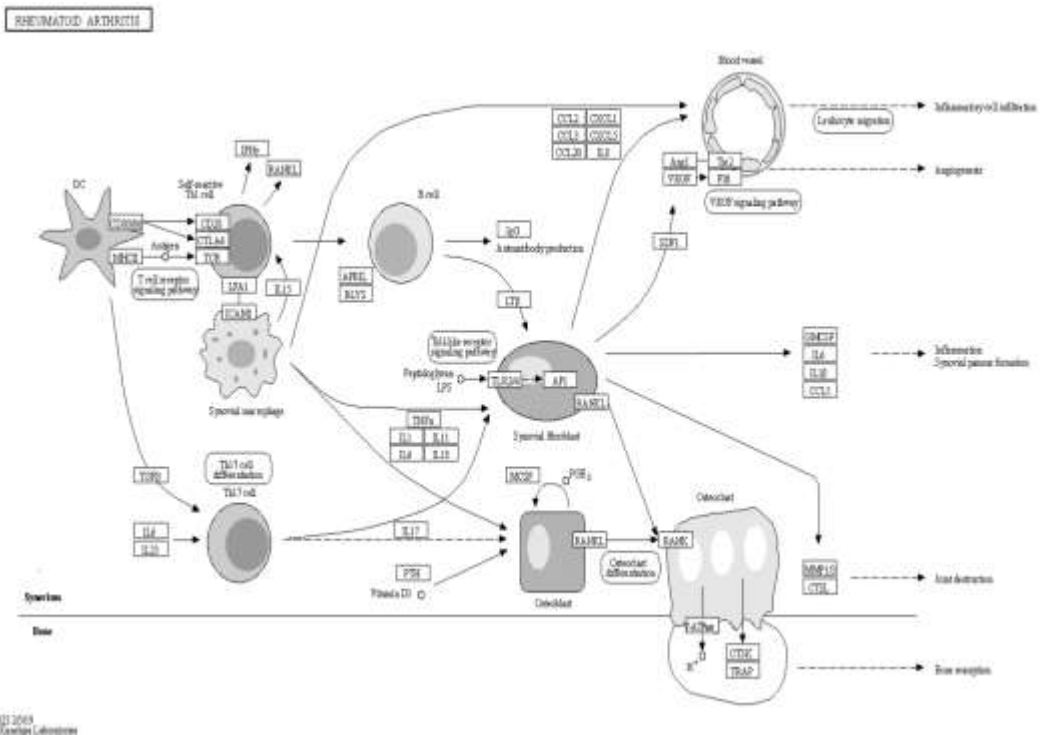
3.2.2. Obat antirematik pemodifikasi penyakit biologi tidak menghambat TNF. Mekanisme kerjanya mengurangi peradangan dengan menghambat aktivasi sel-T dengan berinteraksi dengan CD80 dan CD86. Pengikatan ini menghalangi interaksi antara sel-T dengan CD28, sehingga menghambat aktivasi sel-T. Contoh obat golongan ini yaitu abatacept.

3.3. Obat Antirematik Pemodifikasi Penyakit Target Spesifik DMARD (tsDMARD). tsDMARD adalah golongan obat AR yang bekerja sebagai inhibitor *janus-kinase* (JAK) yang diindikasikan dalam pengobatan AR sedang sampai berat pada pasien yang memiliki alergi terhadap metotreksat. JAK adalah protein *tirosin-kinase* sitoplasma yang sangat penting untuk transduksi sinyal ke nukleus dari rantai gamma umum reseptor membran plasma untuk IL-2, IL-4, IL-7,

IL-9, IL-15 dan IL-21. (Kohler *et al.*, 2019). Golongan obat ini dapat digunakan sebagai monoterapi atau kombinasi dengan DMARD konvensional dan tidak dapat digunakan dengan DMARD biologis. Contoh obat golongan tsDMARD yaitu tofacitinib.

D. Protein dan Gen Target

Protein gen target adalah target kerja senyawa pada seledri dan lada hitam yang di prediksi sebagai terapi antiinflamasi pada artritis reumatoid. Protein gen target didapatkan melalui web server *KEGG*, *GeneCards* dan jurnal penelitian. Jalur artritis reumatoid ada 3 jenis yaitu jalur *VEGF signaling*, jalur *Th17 cell differentiation* dan jalur *within cell*. Jalur *VEGF signaling* melibatkan beberapa protein yaitu VEGF, VEGFR2, VRAP, PLC γ , SCK, PKC, SPK, RaS, RAF-1, MAPK dll (KEGG, 2023). Jalur *Th 17 cell differentiation* melibatkan beberapa protein yaitu APC, IL-1 β , IL-1 β R, p38, IRF4, TGF β , mTOR, IL-21, IL-16, IL-23 dll (KEGG, 2023). Jalur *within cell* melibatkan beberapa protein yaitu JAK, STAT, NF κ B, IKK, SYK dll (Smolen *et al.*, 2016). Jalur patofisiologi artritis reumatoid di tunjukkan pada Gambar 14.



Gambar 14. Jalur patofisiologi artritis reumatoid (KEGG, 2023).

Tabel 1. Interaksi Protein-Protein Target (String, 2023)

Simbol Gen	Nama Protein	Deskripsi Singkat
BTK	<i>Bruton tyrosine kinase</i>	BTK berperan untuk pengembangan, diferensiasi dan persinyalan limfosit B. Pengikatan antigen ke reseptor antigen sel B (BCR) memicu sinyal yang mengarah pada aktivasi sel B. Setelah keterlibatan dan aktivasi BCR pada membran plasma, memicu jalur sinyal hilir melalui mobilisasi kalsium diikuti dengan aktivasi protein kinase C (PKC) (<i>String, 2023</i>).
CD4	<i>T-cell surface glycoprotein CD4</i>	CD4 memainkan peran dalam respons imun dan respons terhadap serangan internal maupun eksternal. Dalam sel T berfungsi sebagai koreseptor untuk molekul MHC kelas II (kompleks peptida). Antigen yang disajikan oleh peptida kelas II berasal dari protein ekstraseluler sedangkan pada peptida kelas I berasal dari protein sitosol (<i>String, 2023</i>).
FOXP3	<i>Forkhead box protein P3</i>	FOXP3 berperan untuk pengembangan dan penghambatan sel T regulator (Treg) serta berperan dalam menjaga homeostatis sistem kekebalan tubuh dengan memungkinkan fungsi penekan penuh dan stabilitas garis turunan Treg dengan memodulasi ekspansi dan fungsi T konvensional (<i>String, 2023</i>).
GATA3	<i>GATA-binding factor 3</i>	GATA3 berperan sebagai activator transkripsioal yang berikatan dengan penambahan gen alfa dan delta reseptor sel T. Mengikat urutan konsensus 5'-AGATAG-3' yang diperlukan untuk proses diferensiasi Th2 setelah respons imun dan inflamasi (<i>String, 2023</i>).
IL17A	<i>Interleukin-17A</i>	IL17A terlibat dalam menginduksi sel stroma untuk menghasilkan sitokin proinflamasi dan hematopoietik dari turunan keluarga IL17 (<i>String, 2023</i>).
IL17F	<i>Interleukin-17F</i>	IL17F terlibat dalam merangsang produksi sitokin seperti IL6, IL8 dan CSF2, serta dalam regulasi pergantian matriks tulang rawan (<i>String, 2023</i>).
IL1B	<i>Interleukin-1 beta</i>	IL1B merupakan sitokin proinflamasi yang kuat. Berperan sebagai pirogen endogen utama, menginduksi sintesis prostaglandin, masuknya dan aktivasi neutrophil, aktivasi sel T dan produksi sitokin, aktivasi sel B dan produksi antibodi serta proliferasi fibroblast dan

Simbol Gen	Nama Protein	Deskripsi Singkat
IL2	<i>Interleukin-2</i>	produksi kolagen (<i>String, 2023</i>). IL2 Diproduksi oleh sel T sebagai respons terhadap stimulasi antigenik atau mitogenik, protein ini diperlukan untuk proliferasi sel T dan aktivitas lain yang penting untuk regulasi respons imun dan dapat merangsang sel B, monosit, sel pembunuh yang diaktifkan limfokin, sel pembunuh alami, serta sel glioma (<i>String, 2023</i>).
IL21	<i>Interleukin-21</i>	IL21 berperan dalam proliferasi dan pematangan sel pembunuh alami (NK) yang bersinergi dengan IL15. Dapat mengatur proliferasi sel B dan T dewasa sebagai respons terhadap rangsangan sebagai respons terhadap rangsangan pengaktifan. Bersinergi dengan IL15 dan IL18 merangsang produksi interferon gamma pada sel T dan sel NK (<i>String, 2023</i>).
IL22	<i>Interleukin-22</i>	IL22 berperan sebagai sitokin yang berkontribusi terhadap respons inflamasi in vivo (<i>String, 2023</i>).
IL27	<i>Interleukin-27 subunit alpha</i>	IL27 memiliki sifat pro dan anti-inflamasi, yang dapat mengatur perkembangan sel T-helper, menekan proliferasi sel T, merangsang aktivitas sel T sitotoksik, menginduksi peralihan isotope pada sel B, dan memiliki beragam efek pada kekebalan sel imun (<i>String, 2023</i>).
IL4	<i>Interleukin-4</i>	IL4 berperan dalam setidaknya beberapa proses aktivasi sel B serta meningkatkan sekresi dan ekspresi permukaan sel IgE dan IgG1 (<i>String, 2023</i>).
IRF4	<i>Interferon regulatory factor 4</i>	IRF4 berperan dalam diferensiasi sel dendritik CD8(+) dengan membentuk kompleks dengan heterodimer BATF-JUNB dalam sel imun (<i>String, 2023</i>).
JAK1	<i>Janus kinase 1</i>	JAK1 berperan dalam jalur sinyal IFN-alpha/beta/gamma dan bermitra untuk reseptor interleukin IL2 serta reseptor IL10 (<i>String, 2023</i>).
JAK2	<i>Janus kinase 2</i>	JAK2 berperan sebagai terlibat dalam berbagai proses seperti pertumbuhan sel, perkembangan, diferensiasi atau modifikasi histon serta memediasi peristiwa sinyal penting dalam imunitas bawaan dan adaptif (<i>String, 2023</i>).
JAK3	<i>Janus kinase 3</i>	JAK3 berperan untuk memediasi peristiwa sinyal penting dalam imunitas bawaan dan adaptif dan memainkan

Simbol Gen	Nama Protein	Deskripsi Singkat
JUN	<i>Transcription factor AP-1</i>	peran penting dalam hematopoiesis selama pengembangan sel T (<i>String</i> , 2023). JUN mempromosikan aktivitas NR5A1 ketika terfosforilasi oleh HIPK3 yang menyebabkan peningkatan ekspresi gen steroidogenik setelah stimulasi jalur sinyal cAMP (<i>String</i> , 2023).
LAT	<i>Linker for activation of T-cells family member 1</i>	LAT dibutuhkan untuk persinyalan yang dimediasi TCR (reseptor antigen sel T) dan pra-TCR, baik pada sel T maupun selama perkembangannya (<i>String</i> , 2023).
LCK	<i>Leukocyte C-terminal Src kinase</i>	LCK berperan dalam seleksi dan pematangan sel T yang berkembang di timus dan fungsi sel T matang (<i>String</i> , 2023).
MTOR	<i>Mechanistic target of rapamycin</i>	MTOR merupakan pengatur utama metabolisme sel, pertumbuhan dan kelangsungan hidup sebagai respons terhadap hormon, faktor pertumbuhan, nutrisi, energi, dan sinyal stres. MTOR secara langsung atau tidak langsung mengatur fosforilasi setidaknya 800 protein (<i>String</i> , 2023).
RAF1	<i>RAF proto oncogene serine /threonine-protein kinase</i>	RAF1 berperan sebagai penghubung regulasi antara Ras GTPase yang berhubungan dengan membran dan kaskade MAPK/ERK, dan tautan regulasi penting ini berfungsi sebagai saklar yang menentukan keputusan nasib sel termasuk proliferasi, diferensiasi, apoptosis, kelangsungan hidup, dan transformasi onkogenik (<i>String</i> , 2023).
RUNX1	<i>Runt-related transcription factor 1</i>	RUNX1 berperan dalam membentuk faktor pengikat inti kompleks heterodimerik (CBF) dengan CBFβ (<i>String</i> , 2023).
STAT1	<i>Signal transducer and activator of transcription 1-alpha/beta</i>	STAT1 berperan sebagai transduser sinyal dan aktivator transkripsi yang memediasi respons seluler terhadap interferon (IFN), sitokin KITLG/SCF dan sitokin lain serta faktor pertumbuhan lainnya (<i>String</i> , 2023).
STAT3	<i>Signal transducer and activator of transcription 3</i>	STAT3 berperan dalam yang memediasi respons seluler terhadap interleukin, KITLG/SCF, LEP dan faktor pertumbuhan lainnya (<i>String</i> , 2023).
STAT6	<i>Signal transducer and activator of transcription 6</i>	STAT6 berperan transduksi sinyal dan aktivasi transkripsi serta terlibat dalam persinyalan yang dimediasi IL4 dan IL3 (<i>String</i> , 2023).
SYK	<i>Spleen tyrosine kinase</i>	SYK berperan untuk memediasi

Simbol Gen	Nama Protein	Deskripsi Singkat
TNF	<i>Tumor necrosis factor</i>	transduksi sinyal pada berbagai reseptor transmembran termasuk imunoreseptor klasik seperti reseptor sel B (BCR) (<i>String, 2023</i>). TNF merupakan sitokin yang berikatan dengan TNFRSF1A/TNFR1 dan TNFRSF1B/TNFR2 yang disekresikan oleh makrofag dan dapat menyebabkan kematian sel pada garis sel tumor tertentu. Ini adalah pirogen kuat yang menyebabkan demam melalui tindakan langsung atau melalui stimulasi sekresi interleukin-1 dan terlibat dalam induksi cachexia, Dalam kondisi tertentu dapat merangsang proliferasi sel dan menginduksi diferensiasi sel (<i>String, 2023</i>).
TYK2	<i>Non-receptor tyrosine-protein kinase TYK2</i>	TYK terlibat dalam transduksi sinyal intraseluler dengan terlibat dalam inisiasi persinyalan IFN tipe I (<i>Stirng, 2023</i>).

E. Network Pharmacology

Network pharmacology atau jejaring farmakologi adalah metode ilmiah yang menggabungkan biologi, farmakologi, bioinformatika, dan teknologi komputer untuk mempelajari secara sistematis mekanisme efektif obat multikomponen, multitarget (Zhang *et al.*, 2019). Karena karakteristik dari *multicompound*, *multipathway*, dan multitarget dari pengobatan tanaman, sulit untuk menjelaskan dasar, dan mekanisme aksi pengobatan yang berasal dari tanaman. Konsep farmakologi jaringan pertama kali diusulkan oleh ahli farmakologi dari Inggris yang bernama Hopkins pada tahun 2007 Tujuan dari jejaring farmakologi adalah membangun jaringan senyawa-target-penyakit (Tao *et al.*, 2020).

Jejaring farmakologi merupakan ilmu interdisipliner berlandaskan pada jaringan biologi, sistem biologi, ilmu komputer, bioinformatika dan farmakologi yang digunakan sebagai memahami interaksi-interaksi protein dalam bidang jaringan. Jejaring farmakologi bertujuan untuk mengetahui penyakit melalui sistem, menemukan kandidat obat alami, memahami bagaimana aktivitas jaringan pada obat dengan tubuh, sehingga dapat mengembangkan khasiat obat (Rifai, 2017). Jejaring farmakologi adalah pendekatan yang lebih efektif dalam membangun koneksi antara senyawa dan protein/gen dalam suatu jaringan. Pendekatan ini mampu memberikan pemahaman yang lebih

komprehensif tentang kompleksitas hubungan antara sistem biologis, obat-obatan, dan penyakit dalam konteks jaringan (Zhang, 2019).

F. *Software dan Web server*

1. *Software*

1.1. *Cytoscape (v3.10.0)*. Cytoscape adalah perangkat lunak sumber terbuka bertujuan untuk mengintegritaskan status molekuler, data ekspresi dan jaringan interaksi biomolekuler pada kerangka konseptual terpadu. Cytoscape dapat dikombinasikan dengan kumpulan data yang cukup besar dari interaksi genetik, protein-protein dan protein-DNA yang tersaji dengan berbagai model seperti manusia dan hewan. Cytoscape juga dapat digunakan dengan instrumen lain yang menganalisis komponen dan interaksi molekuler. Program inti cytoscape memungkinkan pemformatan dan menguji secara sederhana serta mampu untuk menggabungkan komunitas secara visual dengan profil ekspresi, fenotipe dan keadaan kimia yang berbeda sehingga dihubungkan ke database dengan anotasi yang membantu (Verma dan Mangla, 2023). *Website* dapat diakses melalui laman <https://github.com/cytoscape/cytoscape/releases/3.10.0/>.

2. *Web server*

1.1 *KNApSAcK*. Knapsack dapat memungkinkan pengguna untuk mengeksplorasi berbagai hubungan antara spesies tanaman dan metabolit, serta mendapatkan informasi terperinci tentang metabolit tersebut. Informasi tentang metabolit dalam basis data dapat dicari berdasarkan nama metabolit atau organisme, berat molekul, dan formula molekul. Selain itu, daftar metabolit yang terkait dengan kelas taksonomi tertentu dapat ditemukan dengan mencari menggunakan nama taksonomi. Setelah menghasilkan daftar tersebut, pengguna dapat memilih metabolit atau spesies tertentu untuk mendapatkan informasi terperinci mengenai berat molekul, formula, struktur, dan fungsi biologis metabolit tersebut. Tampilan struktur molekul juga dapat diperbesar dengan menggunakan fitur zooming (Shinbo et al., 2006). KNAPSAcK saat ini sudah berisi sebanyak 50.048 data metabolit yang berasal dari 20.741 jenis tanaman dan menghasilkan 101.500 hubungan spesies dan metabolit (Hasanah, 2018). *Website* dapat diakses melalui laman www.knapsackfamily.com.

1.2 *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway*. KEGG dapat digunakan untuk menganalisis fungsi gen secara

sistematis, yang menghubungkan informasi genomik dengan informasi fungsional. Informasi genomik disimpan dalam database gen, yang merupakan kumpulan dari katalog gen yang mencakup semua genom. Sedangkan informasi fungsional dapat ditemukan dalam database jalur, yang menyajikan representasi grafis dari proses-proses seluler seperti metabolisme, transportasi membran, transduksi sinyal, dan siklus sel. Gangguan pada jalur-jalur KEGG dijelaskan dalam database penyakit dan obat. Database penyakit berisi entri-entri penyakit yang mencakup daftar gen yang terkait dengan penyakit, karsinogen (untuk kanker), patogen (untuk penyakit menular), dan faktor lingkungan lainnya. Sedangkan database obat berisi kumpulan obat yang telah disetujui, menyediakan informasi mengenai target obat, metabolisme obat, enzim dan transportasi metabolisme, serta interaksi dengan substrat, inhibitor, dan induktor. Oleh karena itu, database penyakit dan obat dapat diintegrasikan sebagai jalur-jalur dan digunakan bersama dengan database jaringan molekuler lainnya untuk memahami jaringan molekuler yang mengalami gangguan. Terdapat juga alat pemetaan yang dikenal sebagai KEGG Mapper, yang digunakan untuk menghubungkan objek-objek molekuler seperti gen, protein, metabolit, dan glikan, dengan objek-objek yang lebih tinggi seperti jalur, modul, hierarki, taksonomi, dan penyakit (Kanehisa *et al.*, 2017). *Website* dapat diakses melalui laman <https://www.genome.jp>.

1.3 PubChem. Pubchem adalah *web server* berisi sebuah arsip informasi kimia publik yang utama yang berfungsi sebagai alat untuk menemukan molekul dengan struktur yang mirip dengan senyawa yang telah diketahui sebelumnya, dan dapat digunakan untuk mengidentifikasi senyawa dengan bioaktivitas tertentu. Informasi mengenai aktivitas biologis dan deskripsi zat kimia yang terdapat di PubChem berasal dari lebih dari 400 kontributor data. Selain itu, PubChem juga memiliki kegunaan dalam menemukan ligan polifarmakologis (multi-target) dan mengidentifikasi target makromolekul baru dari senyawa kimia, yang dapat digunakan untuk memprediksi efek samping obat. Situs ini dikelola dan dikembangkan oleh Institut Kesehatan Nasional Amerika Serikat (NIH). PubChem terdiri dari tiga database utama yang saling terhubung, yaitu Substance, BioAssay, dan Compound. Melalui platform ini, pengguna dapat mengakses ringkasan bioaktivitas dari senyawa-senyawa yang diuji, dan data senyawa dapat diperoleh dalam format *comma-separated*

value (CSV). Data yang ada di PubChem diperoleh dari lebih dari 100 sumber data baru, termasuk literatur kimia dari *Thieme Chemistry*, properti kimia dan fisika dari Springer Materials, dan data dari *World Intellectual Properties Organization* (WIPO) (Kim *et al.*, 2021). *Website* dapat diakses melalui laman <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>.

1.4 Universal Protein Resource (Uniprot). Uniprot adalah *web server* berisi sumber referensi yang menyediakan urutan protein dan anotasi fungsional untuk protein-protein dari semua cabang kehidupan. Uniprot mencakup inti yang dikuratori oleh para ahli, dengan sekitar 568.000 entri urutan protein yang telah di review secara manual dalam Uniprot/Swiss-Prot, dan lebih dari 229 juta entri dalam Uniprot/TrEMBL yang dianotasi secara otomatis. Selain itu, pengguna dapat memperoleh berbagai informasi mengenai sekuens protein dan fungsinya, termasuk situs pengikatan ligan yang memiliki relevansi biologis atau disebut sebagai kognitif. Informasi mengenai aktivator, inhibitor, kofaktor, dan substrat menjadi sangat penting dalam memahami fungsi protein. Para kurator uniprot mengumpulkan pengetahuan ini melalui proses kurasi literatur yang dilakukan oleh para ahli, serta melalui pemetaan ligan yang diamati secara eksperimental dalam bank data protein (PDB/PDBe) dengan menghilangkan ligan yang merupakan hasil dari teknis eksperimental (Coudert *et al.*, 2023). *Website* dapat diakses pada laman <https://www.uniprot.org/>.

1.5 Search Tool for Retrieval of Interacting Genes (STRING). STRING adalah *web server* berisi sebuah database yang berfungsi untuk menemukan kumpulan jaringan protein pada organisme. String menyimpan sekitar 9.643.743 protein yang terhubung dalam 2.031 jaringan, dengan total 1.380.838.440 interaksi kelompok yang terlibat (Zhang *et al.*, 2019). Database String digunakan untuk memasukkan target gen dan mendapatkan informasi mengenai interaksi jaringan protein-protein. Selain itu, web server ini juga dapat digunakan untuk merancang jaringan dalam skala besar maupun skala kecil. Hasil desain jaringan kemudian dapat diimpor ke Cytoscape untuk tujuan visualisasi dan analisis protein (Szklarczyk *et al.*, 2016). *Website* dapat diakses melalui laman <https://string-db.org/>.

1.6 Similarity ensemble approach (SEA). SEA adalah sebuah web server yang menghubungkan protein dengan satu sama lain berdasarkan kesamaan kimia antara ligan yang terikat pada protein

tersebut. Metode ini telah digunakan untuk mengidentifikasi target baru bagi obat-obatan yang sudah ada maupun bahan alam, sehingga dapat di prediksi efek samping yang mungkin terjadi. Selain itu, SEA juga dapat memprediksi potensi indikasi terapi anatomi (ATC) dari obat-obatan yang telah disetujui (Wang et al., 2016). *Website* dapat diakses pada laman <https://sea.bkslab.org/>.

1.7 SwissTargetPrediction. SwissTargetPrediction merupakan sebuah *web server* yang digunakan untuk melakukan prediksi target molekul bioaktif dengan tingkat akurasi yang tinggi, berdasarkan kombinasi ukuran kesamaan 2D dan 3D dengan ligan yang telah diketahui sebelumnya. Selain itu, Swiss Target Prediction juga menawarkan beberapa fitur khusus, seperti memberikan hasil prediksi untuk lima spesies organisme yang berbeda, serta memprediksi pemetaan dengan menggunakan homologi target di dalam dan antara spesies yang berbeda. Prediksi ini dapat memberikan petunjuk mengenai bagaimana suatu senyawa atau molekul dasar dapat dimodifikasi secara kimia untuk meningkatkan aktivitasnya pada target tertentu, dengan membandingkan kesamaan dengan ligan yang telah diketahui sebelumnya (Gfeller et al., 2014). *Website* dapat diakses melalui laman <http://www.swisstargetprediction.ch/>.

1.8 SuperPred. SuperPred merupakan *web server* yang berisi kumpulan data ATC yang disaring secara menyeluruh dan cocok untuk prediksi yang akurat serta informasi yang tersedia mendetail tentang prediksi yang dicapai. Hal tersebut bertujuan untuk mengatasi masalah dalam membandingkan berbagai metode prediksi yang dipublikasikan, karena kinerja dapat sangat bervariasi tergantung pada data penelitian yang digunakan. ATC dan prediksi target didasarkan pada model pembelajaran mesin dari kesamaan struktural secara keseluruhan dan menekankan gugus fungsi untuk mekanisme aksi zat molekul kecil (Gallo et al., 2022). *Website* dapat diakses pada laman <https://prediction.charite.de/>.

G. Landasan Teori

Protein target yang di prediksi pada patofisiologi artritis terdapat 3 jalur yaitu jalur VEGF *signaling*, jalur Th17 *cell differentiation* dan jalur *within cell*. Jalur VEGF *signaling* melibatkan beberapa protein yang di prediksi yaitu VEGF, VEGFR2, VRAP, PLCy, SCK, PKC, SPK, RaS, RAF-1, MAPK dll. Jalur Th 17 *cell differentiation*

melibatkan beberapa protein yang di prediksi yaitu APC, IL-1 β , IL-1 β R, p38, IRF4, TGF β , mTOR, IL-21, IL-16, IL-23 dll. Jalur *within cell* melibatkan beberapa protein yang di prediksi yaitu JAK, STAT, NF κ B, IKK, SYK dll.

Obat oral artritis reumatoid terdiri dari beberapa golongan yaitu golongan csDMARD seperti Metotrexate, Leflunomid, Sulfasazaline dan Hidroksikloroquin; golongan bDMARD seperti Adalimumab, Enternercept, Certolizumab, Abatacept, Golimumab dan Infliximab; golongan tsDMARD seperti Tofacitinib. Efek samping yang mungkin terjadi pada terapi farmakologi adalah masalah pada jantung, iritasi pada abdomen, serta kerusakan ginjal dan hati. Pada kombinasi obat kortikosteroid dengan NSAID tidak disarankan karena ditakutkan menimbulkan efek toksik pada saluran pencernaan (Khanna *et al.*, 2012). Efek jangka panjang dari AR adalah terjadinya kerusakan sendi dan disabilitas yang banyak terhadap penduduk pada usia produktif sehingga menimbulkan dampak sosial dan ekonomi yang besar. Hal tersebut pada akhirnya menurunkan kualitas hidup pasien dan harapan hidup pasien serta mengakibatkan biaya sosial ekonomi yang tinggi (Hidayat *et al.*, 2021).

Seledri memiliki aktivitas farmakologi seperti antiinflamasi, antioksidan, dan antimikroba. Seledri dilaporkan memiliki aktivitas farmakologi sebagai antiinflamasi yang diujikan pada kaki tikus Albino Wistar jantan dan betina dengan menekan protein TNF α , GATA3, IL4, IL6, IL1 β , dan IL17A. Kandungan kimia yang ditemukan dalam tanaman ini yaitu karafsin (Mostafa *et al.*, 2020).

Lada hitam juga memiliki mekanisme kerja yang sama seperti seledri, di mana senyawa piperin memiliki aktivitas antiinflamasi dengan menekan ekspresi protein TNF α , IL1 β , dan IL6 (Duan *et al.*, 2022). Lada hitam dilaporkan memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi yang diujikan pada mencit Balb-C betina. Kandungan kimia yang ditemukan dalam tanaman ini yaitu caryophyllene dan limonene (Jeena *et al.*, 2014). Penelitian juga dilakukan pada edema kaki tikus ICR jantan yang diinduksi karagenan yang menunjukkan antiinflamasi dengan menekan degradasi I κ B dan menghambat translokasi sitosol-nukleus dari subunit p65 dengan target IKKB. Kandungan kimia yang diisolasi pada lada hitam yaitu nigramide E, nigramide F dan nigramide G (Pei *et al.*, 2020).

Jejaring farmakologi atau *network pharmacology* merupakan sebuah pendekatan ilmiah yang menggabungkan bidang biologi, farmakologi, bioinformatika, dan teknologi komputer untuk secara sistematis mempelajari mekanisme efektif dari obat multikomponen dan multitarget (Zhang *et al.*, 2019). Karena pengobatan menggunakan tanaman memiliki karakteristik yang melibatkan komponen-komponen yang beragam, jalur-jalur yang berbeda, dan target-target yang beragam, menjelaskan dasar dan mekanisme aksi pengobatan dari tanaman tersebut menjadi sulit. Tujuan utama dari jejaring farmakologi adalah membangun jaringan yang terdiri dari senyawa-senyawa, target-target, dan penyakit-penyakit yang terkait (Tao *et al.*, 2020).

H. Keterangan Empiris

Pada penelitian ini keterangan empiris meliputi:

1. Protein target yang berinteraksi dengan senyawa tanaman seledri terhadap artritis reumatoid meliputi TNF, GATA3, IL4, IL6, IL1B dan IL17A. Sedangkan pada tanaman lada hitam meliputi IKB, RELA, CXCL8, JUN, STAT1, NFKB, MAPK8 dan JNK.
2. Senyawa tanaman seledri yang di prediksi terlibat terhadap patofisiologi artritis reumatoid yaitu apiin, apigenin, kaempferol, dan karafsin. Sedangkan pada tanaman lada hitam yaitu nigramide E, nigramide F, nigramide G, gallic acid, dan piperin.
3. Profil *network pharmacology* diperoleh dari gabungan protein target artritis reumatoid membentuk gambaran jejaring farmakologi meliputi protein target dan protein gen serta senyawa-senyawa tanaman seledri dan tanaman lada hitam yang mempunyai interaksi terhadap protein target dan gen.