

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Daun Pulai (*Alstonia scholaris* L.)

1. Klasifikasi Daun Pulai

Klasifikasi daun pulai (*Alstonia scholaris* L.) menurut USDA, 2024 sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Superdivisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Asteridae
Ordo	: Gentianales
Famili	: Apocynaceae
Genus	: <i>Alstonia</i>
Spesies	: <i>Alstonia scholaris</i> L.



Gambar 1. Daun pulai (Mayor & Wattimena, 2022)

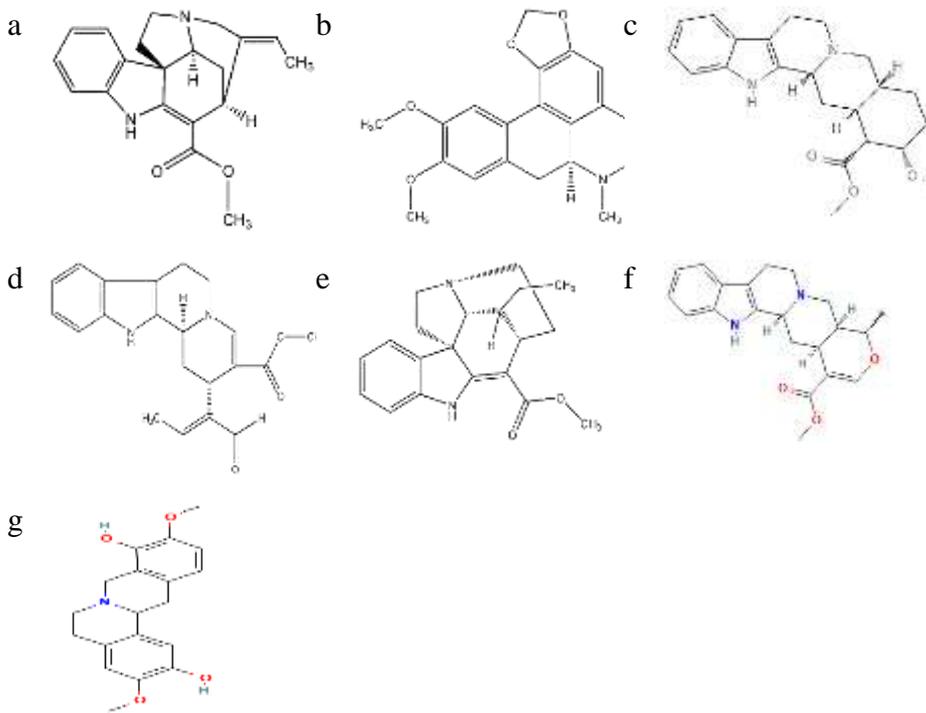
2. Kandungan Kimia Daun Pulai

Daun pulai seperti pada gambar 1, mengandung berbagai senyawa kimia yang diantaranya sebagai antiasma. Kandungan senyawa kimia pada daun pulai didapat melalui webserver KNApSACk dan beberapa jurnal penelitian. Senyawa daun pulai dibagi menjadi lima golongan besar.

2.1. Golongan alkaloid. Daun pulai mengandung 7 senyawa alkaloid indol yaitu *akuammicine*, *dicentrine*, *pseudoyohimbine*, *vallesiachotamine*, *tubotaiwine*, *tetrahydroalstonine*, dan *scoulerine*.

2.1.1. Alkaloid indol. Senyawa kimia golongan alkaloid indol yang terkandung dalam daun pulai dapat dilihat pada gambar 2.

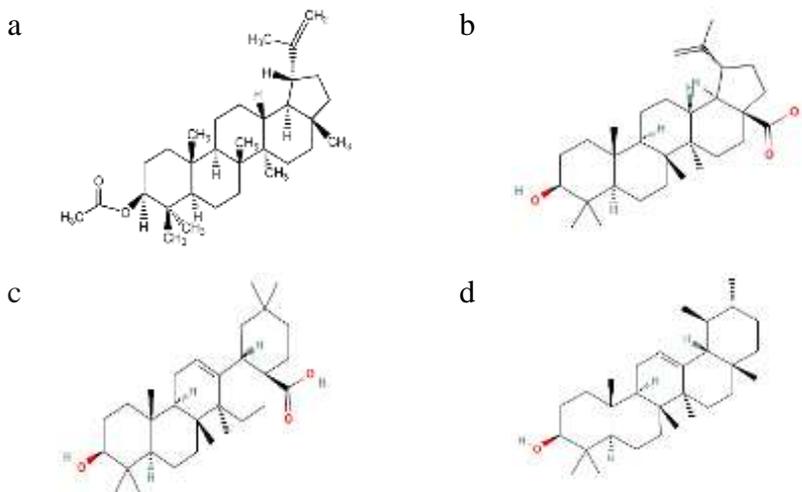
6



Gambar 2. Senyawa kimia daun pulai golongan alkaloid indol
Akuammicine(a), *Dicentrine* (b), *Pseudoyohimbine*(c), *Vallesiachotamine*(d),
Tubotaiwine(e), *Tetrahydroalstonine*(f), *Scoulerine*(g) (KNAPSAcK, 2024) (Zhao *et al.*, 2023).

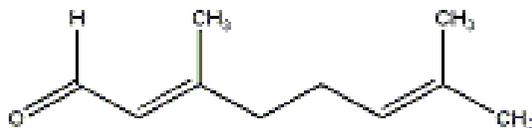
2.2. Golongan terpenoid. Daun pulai mengandung senyawa terpenoid, mengandung 4 senyawa triterpenoid yaitu *lupeol acetate*, *asam betulin*, *asam oleanolic*, *alpha amyirin*. Mengandung 1 senyawa monoterpenoid yaitu *citral*. Mengandung 1 senyawa pentacyclic triterpenoid yaitu *ursolic acid*.

2.2.1. Triterpenoid. Senyawa kimia golongan triterpenoid yang terkandung dalam daun pulai dapat dilihat pada gambar 3.



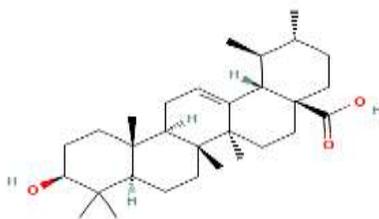
Gambar 3. Senyawa kimia daun pulai golongan triterpenoid
Lupeol acetate(a) (KNApSAcK, 2024), *Betullinic acid*(b), *Oleanolic acid*(c),
Alpha amyrin(d) (Feng *et al.*, 2013) (PubChem, 2024)

2.2.2. Monoterpenoid. Senyawa kimia golongan monoterpenoid yang terkandung dalam daun pulai dapat dilihat pada gambar 4.



Gambar 4. Senyawa kimia daun pulai golongan monoterpenoid
Citral(a) (KNApSAcK, 2024)

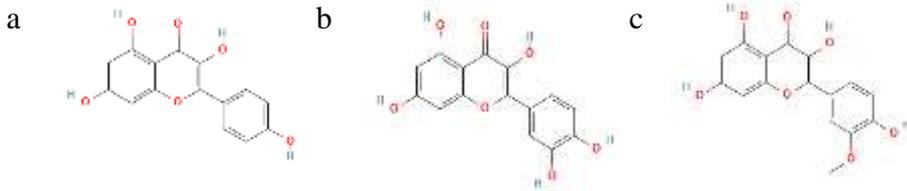
2.2.3. Pentacyclic Triterpenoid. Senyawa kimia golongan triterpenoid yang terkandung dalam daun pulai dapat dilihat pada gambar 5.



Gambar 5. Senyawa kimia daun pulai golongan pentacyclic triterpenoid
Ursolic acid(a) (El-Askary *et al.*, 2012) (PubChem, 2024)

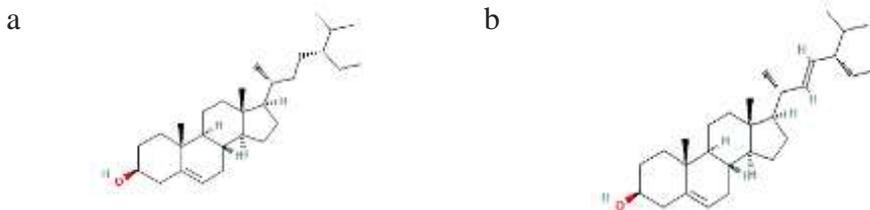
2.3. Golongan Flavonoid. Daun pulai mengandung 3 senyawa flavonol yaitu *kaempferol*, *quercetin*, dan *isorhamnetin*.

2.3.1. Flavonol. Senyawa kimia golongan flavonol yang terkandung dalam daun pulai dapat dilihat pada gambar 6.



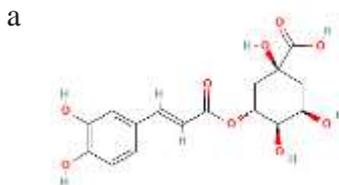
Gambar 6. Senyawa kimia daun pulai golongan flavonol
Kaempferol(a), Quercetin(b), Isorhamnetin(c) (Baliga, 2010) (PubChem, 2024).

2.4. Golongan Steroid. Daun pulai mengandung 2 senyawa steroid yaitu *beta-sitosterol* dan *beta-stigmasterol*.



Gambar 7. Senyawa kimia daun pulai golongan steroid
Beta-sitosterol(a), Beta-stigmasterol(b) (Adotey *et al.*, 2012) (PubChem, 2024).

2.5. Golongan Asam Fenolik. Daun pulai mengandung senyawa fenol yaitu *chlorogenic acid*.



Gambar 8. Senyawa kimia daun pulai golongan asam fenolik
Chlorogenic acid(a) (Baliga, 2010) (PubChem, 2024).

3. Aktivitas Farmakologi

Senyawa yang terkandung dalam daun pulai golongan alkaloid seperti *picrinine* berpotensi dapat mengobati asma. Senyawa *picrinine* yang terdapat pada daun pulai memiliki banyak fungsi farmakologis seperti antioksidan, antitusif, antiasma, dan ekspektoran terhadap penyakit asma. Senyawa yang terkandung dalam ekstrak daun pulai berpotensi dalam pengobatan penyakit asma. Penelitian dilakukan dengan pemberian fraksi alkaloid dan *picrinine* menunjukkan aktivitas antiasma yang signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Pada

dosis 60 mg/kg, kelompok fraksi alkaloid meningkatkan pengurangan kejang dan terjatuh pada marmut percobaan sebesar 81,8%. Selain itu, pada percobaan marmut dengan kelompok kontrol terdapat perbedaan yang signifikan. Pada pemberian kelompok ekstrak etanol 6,4 g/kg, fraksi EtOA 680 mg/kg, dan fraksi alkaloid 200 mg/kg dapat meningkatkan penurunan kejang dan jatuhnya marmut percobaan. Dengan presentase masing-masing sebesar 59,1%, 70,7%, dan 79,9%, dibandingkan dengan kelompok aminofilin 90,1% (Shang *et al.*, 2010).

Daun pulai memiliki aktivitas farmakologi yang berpotensi sebagai alternatif pengobatan asma. Kandungan kimia yang ditemukan dalam daun ini yaitu alkaloid. Penelitian yang dilakukan Zhao *et al.* (2017) menggunakan hewan uji tikus jantan *Sprague-Dawley* yang diberikan ekstrak total alkaloid untuk mengetahui efek antiinflamasi dari ekstrak tersebut. Hewan uji diberikan perlakuan peradangan alergi saluran udara yang diinduksi oleh ovalbumin terlebih dahulu, lalu tikus diberikan alkaloid total dengan dosis 10, 25, dan 50 mg/kg, kemudian dilakukan pengamatan selama 20 hari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa alkaloid total dalam daun pulai lebih optimal diberikan 3 kali sehari dalam tikus yang diberikan model peradangan yang diinduksi OVA, presentase eosinofil pada BALF yang berkurang, IL-4 dan ekspresi serum IgE yang mengalami penurunan signifikan (Zhao *et al.*, 2017).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Datta *et al.* (2016) melakukan percobaan terhadap tikus albino wistar dengan menggunakan model eksperimental peradangan paru-paru alergi yang diinduksi dengan serbuk sari dari pulai. Setelah dilakukan sensitasi dan tantangan serbuk sari pulai menyebabkan peradangan saluran napas eosinofilik dengan hipersekresi musin. Setelah diberikan imunoterapi spesifik alergen dapat mengurangi peradangan saluran napas dan menurunkan kadar IgE total, penurunan ekspresi FcεRI pada sel mast paru, serta kadar IL-4, IL-5 & IL-13. Penurunan kadar tersebut banyak terjadi melalui jalur intranasal terhadap tikus (Datta *et al.*, 2016).

B. Penyakit Asma

1. Definisi Penyakit Asma

Asma adalah penyakit heterogen klinis pada saluran napas bawah yang ditandai dengan peradangan kronis dan hiperaktivitas saluran napas yang menyebabkan batuk, mengi, kesulitan bernapas, dan dada terasa

sesak (Cevhertas, Lacin *et al.*, 2020). Faktor risiko penyakit ini meliputi paparan alergen, genetik, paparan mikrobioma, polusi udara, virus pernapasan, merokok, dan kegemukan (Kuruvilla *et al.*, 2019). Asma adalah kelainan inflamasi kronis pada saluran napas bawah yang di dalamnya banyak sel dan elemen seluler berperan antara lain sel mast, eosinofil, limfosit T, makrofag, neutrofil, dan sel epitel. Peradangan yang terjadi ini biasanya berhubungan dengan obstruksi aliran udara yang luas namun bervariasi yang menyebabkan peningkatan hiperresponsif bronkus terhadap berbagai rangsangan. Penyakit asma tidak memiliki gejala yang spesifik, awalnya muncul dengan gejala mengi akut selama infeksi pernapasan. Peningkatan gejala asma yang dikenal eksaserbasi, ditandai dengan semakin meningkatnya durasi sesak napas, batuk, mengi atau sesak dada, dan penurunan fungsi paru-paru (Papi *et al.*, 2018).

2. Obat Penyakit Asma

2.1. B-Agonists. β -agonists adalah bronkodilator yang paling efektif untuk pengobatan asma. Dengan meningkatkan *bronkoselektivitas* dan memberikan respon yang lebih cepat dibandingkan sistemik. Obat ini bekerja dengan cara mengikat reseptor beta-2 adrenergik di otot polos saluran pernapasan, meningkatkan kadar cAMP, menghambat pelepasan mediator inflamasi, dan meningkatkan aliran darah ke paru-paru. Hal ini membantu membuka saluran udara dan mempermudah aliran udara masuk dan keluar dari paru-paru. Golongan obat ini memiliki dua jenis yaitu β -agonis kerja pendek (SABA) dan β -agonis kerja panjang (LABA). Obat SABA bekerja cepat untuk membuka saluran udara dan meredakan gejala asma berdurasi 4-6 jam. Salah satu obat SABA yaitu albuterol nebulizer dengan dosis 2,5-5 mg setiap 20 menit untuk tiga dosis. Obat jenis LABA bekerja lebih lambat dibandingkan SABA memiliki efek yang bertahan lama dan meredakan gejala asma berdurasi 12-24 jam. Contoh obat LABA yaitu salmeterol dengan dosis 50 mcg 2 kali sehari (Dipiro *et al.*, 2022).

2.2. Kortikosteroid. Obat golongan kortikosteroid adalah terapi kontrol jangka panjang untuk asma persisten, karena potensi dan efektivitasnya obat golongan ini satu-satunya terapi terbukti mengurangi resiko kematian akibat asma. Efek samping lokal dari golongan obat ini yaitu *kandidas orofaringeal* tergantung dosis dan difonia yang dapat dikurangi dengan alat *spacer*. Kortikosteroid diberikan pada semua pasien asma akut yang tidak merespon sepenuhnya terhadap pemberian β -2agonis inhalasi awal. Salah satu obat golongan kortikosteroid adalah

prednisone dengan dosis pemberian 1-2 mg/kg/hari (sampai 40-60 mg/hari), diberikan secara oral dalam dua dosis terbagi selama 3-10 hari (Dipiro *et al.*, 2022).

2.3. Metilxantin. Teofilin menghasilkan bronkodilatasi melalui penghambatan *fosfodiesterase nonselektif*. Metilxantin tidak efektif oleh aerosol dan harus diambil secara sistemik (oral atau IV). Karena variabilitas *interpatient* yang besar dalam pembersihan rutin konsentrasi teofilin serum sangat penting untuk penggunaan yang aman dan efektif. Kisaran 5-15 mcg/ml efektif dan aman untuk kebanyakan pasien. Penambahan teofilin ke kortikosteroid inhalasi sama dengan penggandaan dosis kortikosteroid inhalasi dan kurang efektif secara keseluruhan dibandingkan β -2 agonis sebagai terapi tambahan. Efek samping dari golongan obat ini yaitu mual, muntah, takikardia, gelisah, dan kesulitan tidur (Dipiro *et al.*, 2022).

2.4. Antikolinergik. Antikolinergik adalah bronkodilator yang efektif tetapi tidak seefektif β -2 agonis. Golongan obat ini melemahkan tetapi tidak memblokir alergen atau asma akibat olahraga dengan cara tergantung dosis pemberian. Ipratropium adalah salah satu golongan obat antikolinergik memiliki waktu untuk mencapai bronkodilatasi maksimum lebih lama daripada β -2 agonis (30-60 menit dan 5-10 menit). Ipratropium bromida hanya diberikan sebagai terapi tambahan pada asma akut berat yang tidak sepenuhnya responsif terhadap β -2 agonis saja (Dipiro *et al.*, 2022).

2.5. Mast cell stabilizers. Cromolyn sodium memiliki efek menguntungkan yang diyakini dihasilkan dari stabilisasi membran sel mast. Menghambat respon terhadap alergen tetapi tidak menyebabkan bronkodilatasi. Cromolyn hanya efektif dengan inhalasi dan tersedia sebagai nebulizer. Kemudian batuk dan mengi dapat teratasi setelah penambahan inhalasi. Cromolyn diindikasikan untuk profilaksis asma persisten ringan pada anak-anak dan dewasa. Efektifitasnya sebanding dengan antagonis teofilin atau leukotrien. Namun tidak seefektif β -2 agonis inhalasi untuk mencegahnya, tetapi dapat digunakan bersama untuk pasien yang tidak merespons sepenuhnya terhadap β -2 agonis inhalasi. Sebagian besar pasien mengalami perbaikan dalam 1 hingga 2 minggu, tetapi perlu waktu lebih lama untuk mencapai manfaat maksimal. Pasien dapat menerima cromolyn 4 kali sehari, setelah gejala sudah stabil, dosis dapat dikurangi menjadi 3 kali sehari (Dipiro *et al.*, 2022)

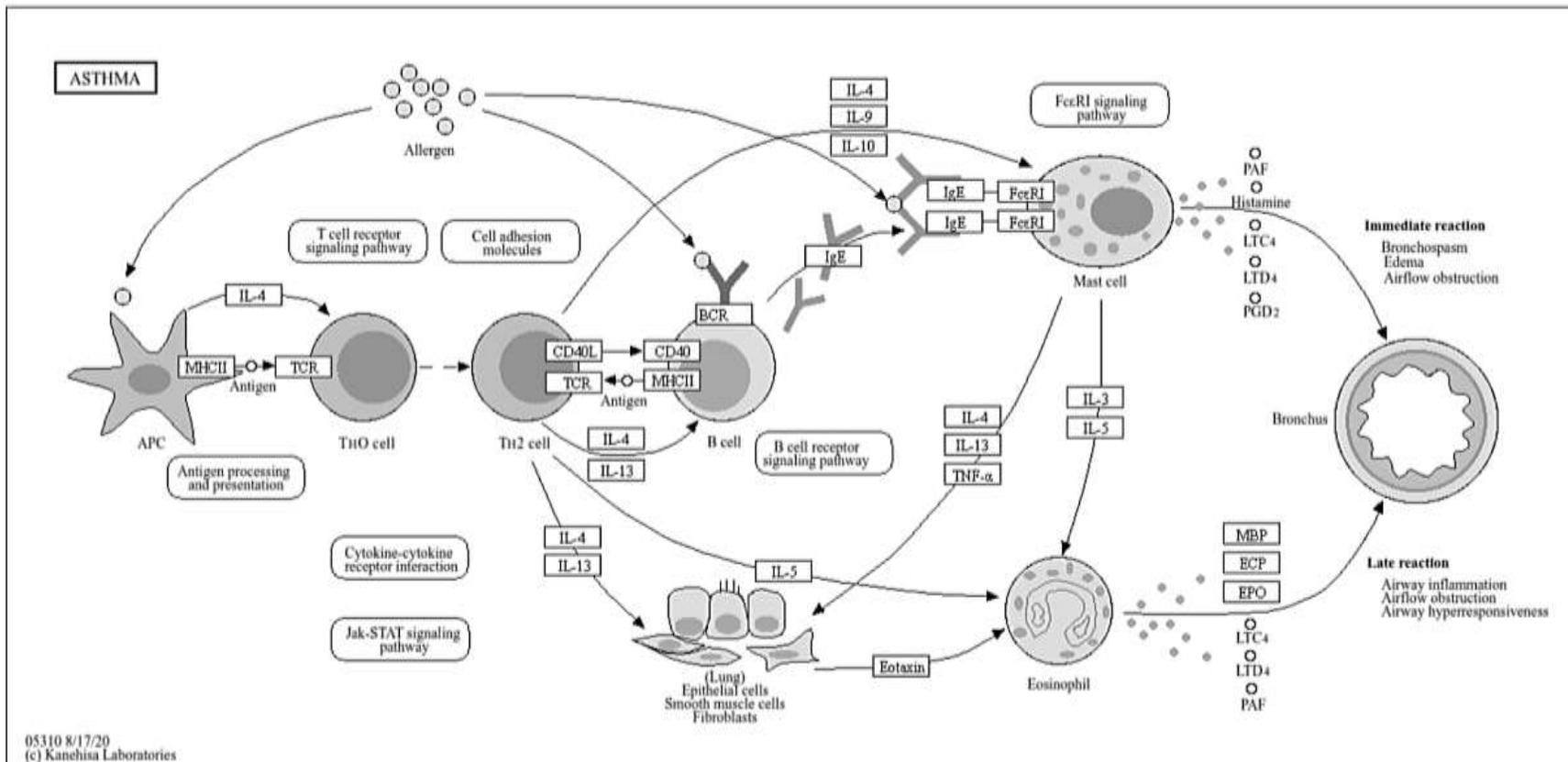
2.6. Omalizumab. Omalizumab adalah antibodi anti-IgE yang digunakan untuk pengobatan alergi asma tidak terkontrol dengan baik oleh kortikosteroid oral atau inhalasi. Dosis ditentukan berdasarkan total serum IgE dan berat badan. Dosis berkisar dari 150-375 mg secara subkutan dengan interval 2 atau 4 minggu. Karena biayanya yang mahal, omalizumab hanya diindikasikan sebagai langkah ke 5 atau 6 perawatan untuk pasien dengan alergi asma persisten berat yang tidak cukup terkontrol dengan kombinasi kortikosteroid inhalasi dosis tinggi dan β -2 agonis jangka panjang dan berisiko untuk eksaserbasi parah (Dipiro *et al.*, 2022).

2.7. Antagonis Reseptor Leukotrien. Zafirlukast dan montelukast adalah obat asma golongan antagonis reseptor leukotrien yang mengurangi proinflamasi (peningkatan permeabilitas mikrovaskular dan edema jalan napas) dan efek bronkokonstriksi leukotrien D4. Dalam asma persisten, golongan obat ini mampu meningkatkan kerja fungsi paru, mengurangi gejala saat malam hari dan penggunaan β 2-agonis. Namun, kurang efektif dibandingkan dengan dosis rendah kortikosteroid yang dihirup (Dipiro *et al.*, 2022).

3. Patofisiologi

Patofisiologi asma ditandai dengan peradangan pada saluran napas bagian bawah yang ditimbulkan dari faktor genetik, paparan lingkungan dan perubahan mikrobiomia dan metabolit. Kebanyakan penderita asma mengalami peradangan tipe 2, peradangan tipe 2 dihubungkan dengan profil sitokin tertentu (IL-4, IL-5, IL-14) dan sel inflamasi (eosinofil, sel mast, basofil, dan imunoglobulin E). Sel epitel saluran napas telah diidentifikasi berperan besar dalam mengatur peradangan tipe 2 melalui sitokin (IL-25, IL-33, dan limfopoietin stroma timus) (Mims, 2015).

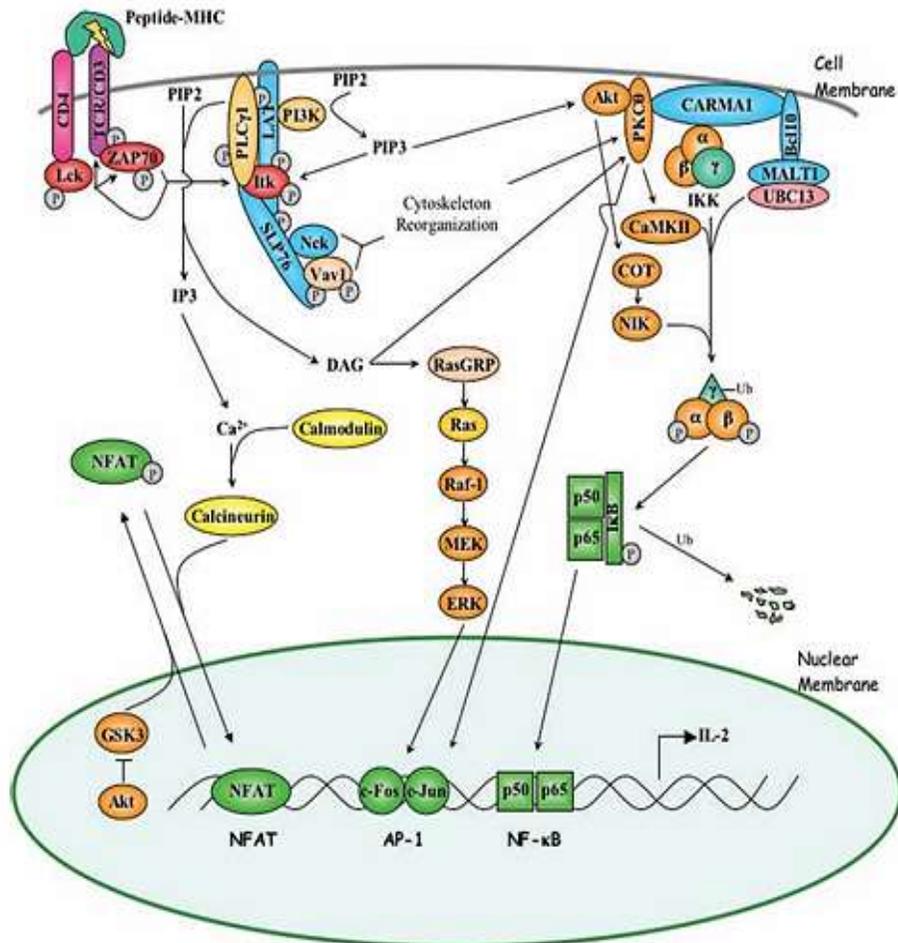
Jalur patofisiologi asma pada KEGG *pathway* yang melibatkan protein-protein target ditunjukkan pada gambar 8 terdapat lima jalur yang mempengaruhi patofisiologi asma antara lain jalur *T cell receptor*, jalur *B cell receptor*, jalur *Fc epsilon RI*, jalur *JAK – STAT*, dan jalur *Antigen processing and presentation*.



Gambar 9. Jalur patofisiologi Asma di KEGG Pathway (KEGG Pathway, 2024)

3.1. T cell receptor. T cell receptor (TCR) melibatkan ligan *peptide-major histocompatibility complex* (pMHC) yang relevan (stimulus lain seperti ikatan silang anti TCR), pensinyalan TCR dimulai dengan setiap TCR yang terdistribusi secara klonal cukup untuk pengenalan pMHC, namun rantai CD3 dan ζ invarian terkait diperlukan untuk pensinyalan terjadi. Domain sitoplasma CD3 dan ζ mengandung motif urutan yang disebut *immunoreceptor tyrosine-based activation motifs* (ITAMs). Setelah pMHC berikatan dengan TCR, *lymphocyte cell-specific protein tyrosine kinase* (LCK) direkrut ke kompleks TCR melalui kolokasi koreseptor CD4 atau CD8 ke molekul pMHC dimana LCK dapat memfosforilasi motif pensinyalan ITAM. Motif ITAM masing-masing mengandung dua tirosin yang ketika terfosforilasi membuat situs pengikatan untuk domain tandem SH2 dari Zap70 kinase. Sebelum keterlibatan TCR, Zap70 sebagian besar berada di dalam sitoplasma dan mengalami penghambatan otomatis. Dengan mengikat ITAM terfosforilasi Zap70 direkrut ke membran plasma dan konformasi autoinhibisinya terganggu. Koformasi aktif Zap70 selanjutnya distabilkan melalui fosforilasi penghubung antar domainnya dan loop aktivasi oleh LCK. Setelah direkrut dan diaktifkan, Zap70 kemudian dapat menyebarkan peristiwa sinyal TCR. Secara khusus Zap70 memfosforilasi penghubung untuk aktivasi sel T (LAT) yang berfungsi sebagai pusat sinyal. LAT berisi empat situs fosforilasi Zap70 utama yaitu Y132, Y171, Y191 dan Y226. Phospho-Y132 merekrut PLC 1 untuk menyediakan aktivasi jalur kalsium dan *mitogen-activated protein kinase* (MAPK), sedangkan fosfo-Y171, Y191, dan Y226 bertanggung jawab untuk perekrutan GRB2 dan GADS, adaptor yang mengikat SOS dan SLP-76 yang dapat menyebabkan aktivasi RAS, RAC, Rho GTPase, dan respons efektor lainnya (Courtney *et al.*, 2018). Jalur TCR melibatkan protein-protein seperti *lymphocyte cell-specific protein tyrosine kinase* (LCK), *tyrosine-protein kinase fyn* (FYN), *tyrosine-protein kinase ZAP-70* (Zap70), *linker for activation of T cells* (LAT), *lymphocyte cytosolic protein 2* (SLP-76), *phosphatidylinositol phospholipase C gamma-1*(PLCy1), *T-cell surface glycoprotein CD3 epsilon chain* (CD3E), *T-cell surface glycoprotein CD4* (CD4), *T-Cell-Specific Surface Glycoprotein CD28* (CD28), *growth factor receptor-bound protein 2* (GRB2), *guanine nucleotide exchange factor* (VAV), *NCK adaptor protein 1* (NCK), *tyrosine-protein phosphatase non-receptor type 6* (PTPN6), *cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4*

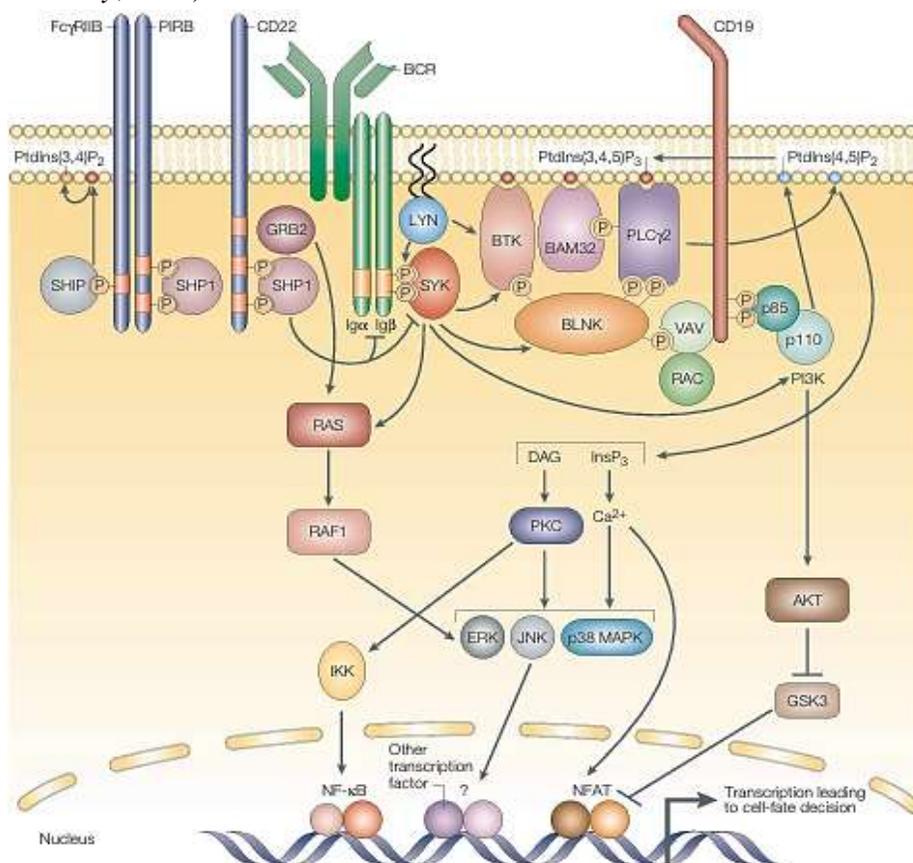
(CTLA4), *glycogen synthase kinase 3 beta* (GSK3B), *RAC serine/threonine-protein kinase* (AKT), *Phosphatidylinositol-4,5-Bisphosphate 3-Kinase Catalytic Subunit Alpha* (PI3K) dan *threonine-protein kinase* (RAK) ditunjukkan pada gambar (KEGG Pathway, 2024).



Gambar 10. T cell receptor signaling pathway (Huang & Wange, 2004)

3.2. B cell receptor. Jalur B cell receptor memiliki peran dalam mengirimkan sinyal yang mengatur keputusan nasib sel B dan memediasi proses antigen yang mengarah pada presentasi antigen ke sel T. Sel B adalah komponen penting dari imunitas adaptif yang memproduksi dan mengeluarkan jutaan molekul antibodi yang berbeda, masing-masing mengenali antigen yang berbeda. BCR adalah kompleks protein membran integral yang terdiri dari dua rantai berat imunoglobulin (Ig), dua rantai ringan Ig dan dua heterodimer Ig-alpha dan Ig-beta. Setelah ligase BCR

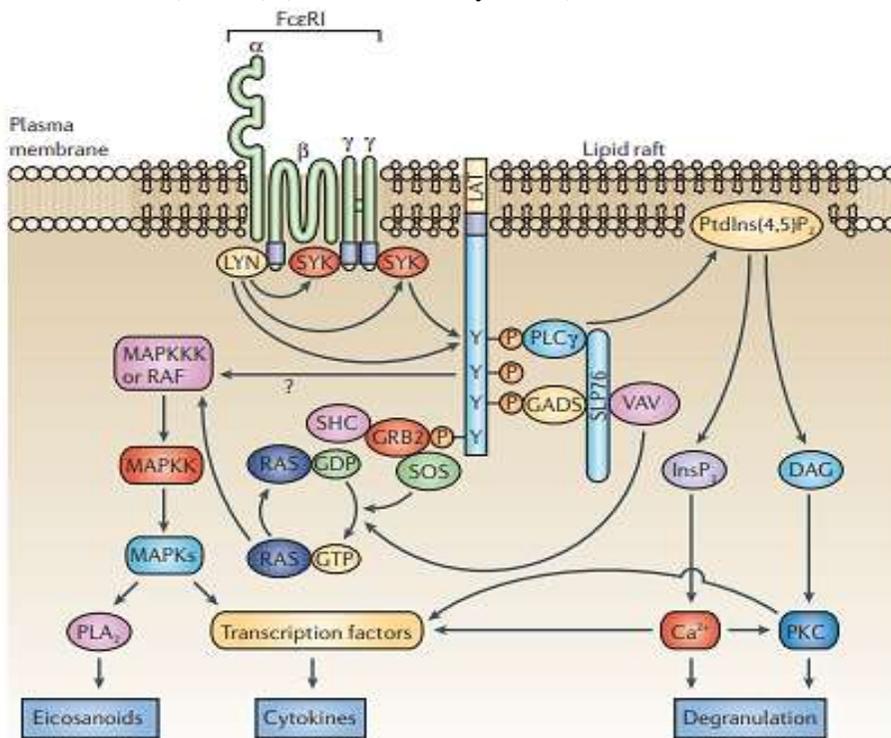
dengan antigen, tiga protein utama tirosin kinase (PTK) diaktifkan. *Phosphatidylinositol 3-kinase* (PI3K) dan *fosfolipase C-gamma 2* (PLC-gamma 2) merupakan efektor penting dari pensinyalan BCR. Pensinyalan ini pada akhirnya menghasilkan ekspresi gen awal yang selanjutnya mengaktifkan ekspresi gen lain yang terlibat dalam proliferasi sel B, diferensiasi dan produksi Ig serta proses lainnya (KEGG Pathway, 2024). Jalur BCR melibatkan protein-protein seperti *tyrosine-protein kinase* (LYN), *Tyrosine-protein kinase SYK* (SYK), *Tyrosine-protein kinase BTK* (BTK), *B-cell linker protein* (BLNK), *threonine-protein kinase* (AKT), *phosphatidylinositol phospholipase C gamma-2* (PLC- γ 2) (KEGG Pathway, 2024).



Gambar 11. *B cell receptor signaling pathway* (Niuro & Clark, 2002)

3.3. Fc epsilon RI. Jalur pensinyalan yang dimediasi F epsilon RI dalam sel mast dimulai oleh interaksi antigen (Ag) dengan Immunoglobulin E yang terikat pada domain ekstraseluler rantai alfa F Epsilon RI. Jalur aktivasi diatur baik secara positif maupun negatif oleh interaksi berbagai molekul pemberi sinyal. Sel mast yang teraktivasi melepaskan butiran yang

telah terbentuk sebelumnya yang mengandung amina biogenik dan proteoglikan. Aktivasi fosfolipase A2 menyebabkan pelepasan lipid seperti (Leukotrien-C4, Leukotrien-D4, dan Leukotrien-E4) dan prostaglandin (terutama PDG2). Terdapat sekresi sitokin, yang terpenting adalah TNF-alpha, IL-4 dan IL-5. Mediator dan sitokin ini berkontribusi terhadap respons inflamasi (KEGG Pathway, 2024). Jalur Fc epsilon RI melibatkan protein-protein seperti *Tyrosine-protein kinase SYK* (SYK), *tyrosine-protein kinase (LYN)*, *phosphatidylinositol phospholipase C gamma (PLC γ)*, *growth factor receptor-bound protein 2 (GRB2)*, *proto-oncogene serine (RAF1)*, *mitogen-activated protein kinase kinase 1 (MAP2K1)*, dan *GTPase HRas (HRAS)* (KEGG Pathway, 2024).



Gambar 12. Fc epsilon RI signaling pathway (Gilfillan & Tkaczyk, 2006)

C. Network Pharmacology

Network Pharmacology menggunakan dua atau lebih obat yang bekerja secara mekanis pada modul sinyal penyakit yang sama, sehingga menargetkan protein jaringan utama secara sinergis. Hal ini memungkinkan perawatan berbasis *network pharmacology* secara signifikan menurunkan dosis setiap obat dibandingkan dengan

monoterapi dan tetap mencapai efek teraupetik yang sama atau bahkan lebih signifikan sekaligus mengurangi efek samping obat yang tidak diinginkan (Jiashuo *et al.*, 2022).

Network Pharmacology digunakan untuk mengetahui interaksi antara tanaman, kandungan senyawa kimia tanaman, protein target, dan penyakit. Berdasarkan bioinformatika dan sistem biologi, *network pharmacology* telah banyak digunakan dalam penelitian *Traditional Chinese Medicine* (TCM) untuk mengklarifikasi pengobatan TCM dari pendekatan multikomponen, multitarget, multipathway. *Network pharmacology* mewakili interaksi antara komponen obat, target dan penyakit dalam bentuk *network*, mengungkapkan mekanisme molekuler dari bahan aktif yang berbeda, menyediakan metode dan ide baru untuk menemukan obat baru untuk pengobatan suatu penyakit (Liu *et al.*, 2022).

D. Protein Target

Tabel 1. Protein target pada jalur TCR

Simbol & (Nama Protein Target)	Deskripsi Singkat
LCK (<i>lymphocyte cell-specific protein tyrosine kinase</i>)	Gen ini adalah anggota keluarga SRC dari protein tirosin kinase (PTKs). Protein yang dikodekan adalah molekul pemberi sinyal kuni dalam seleksi dan pematangan sel T yang sedang berkembang. Domain PTK, SR Homolog 2 (SH2), SR Homolog 3 (SH3) yang terlibat dalam memediasi interaksi protein-protein (NCBI, 2023).
ZAP70 (<i>tyrosine-protein kinase ZAP70</i>)	Gen ini berperan dalam pengembangan sel T dan aktivasi limfosit. Enzim ini yang difosforilasi pada residu tirosin setelah stimulasi reseptor antigen sel T (TCR), berfungsi pada langkah awal transduksi sinyal yang dimediasi TCR dalam kombinasi dengan kinase keluarga SRC, LCK, dan FYN (NCBI, 2024).
LAT (<i>linker for activation of T cells</i>)	Protein yang dikodekan oleh gen ini difosforilasi oleh ZAP-70 setelah aktivasi jalur transduksi sinyal reseptor antigen sel T. Protein transmembran ini terlokalisasi pada rakit lipid dan bertindak sebagai tempat berlabuhnya protein yang mengandung domain SH2. Setelah fosforilasi protein adaptor dan molekul pemberi sinyal hilir ke dalam kompleks sinyal multimolekul yang terletak didekat lokasi keterlibatan TRC (NCBI, 2024).
CD3E (<i>T-cell surface glycoprotein CD3 epsilon chain</i>)	Protein yang dikodekan oleh gen ini adalah polipeptida CD3-epsilon, yang bersama dengan CD3-gamma, -delta, dan -zeta serta heterodimer reseptor sel T alfa/beta dan gamma/delta, membentuk kompleks reseptor sel T- CD3 (NCBI, 2024).

Lanjutan tabel 1

Simbol & (Nama Protein Target)	Deskripsi Singkat
CD4 (<i>T-cell surface glycoprotein CD4</i>)	Gen ini mengkodekan glikoprotein membran CD4 dari limfosit sel T. Antigen CD4 bertindak sebagai koreseptor dengan reseptor sel T pada limfosit T untuk mengenali antigen yang ditampilkan oleh sel penyaji antigen dalam konteks molekul MHC kelas II (NCBI, 2024).
CD28 (<i>T-Cell-Specific Surface Glycoprotein CD28</i>)	Protein yang dikodekan oleh gen ini penting untuk proliferasi dan kelangsungan hidup sel T, produksi sitokin, dan pengembangan T-helper tipe 2. Beberapa varian transkrip yang disambung secara alternatif yang mengkode isoform berbeda telah ditemukan untuk gen ini (NCBI, 2024).
NCK (<i>NCK adaptor protein 1</i>)	Protein yang dikodekan oleh gen ini merupakan salah satu protein pemberi sinyal transformasi yang mengandung domain SRC homolog protein yang dikodekan oleh gen ini merupakan salah satu protein pemberi sinyal dan transformasi yang mengandung domain SRC homolog 2 dan 3 (SH2 dan SH3). Terletak di sitoplasma dan merupakan protein adaptor yang terlibat dalam transduksi sinyal dari reseptor tirosin kinase ke penerima sinyal hilir seperti RAS (NCBI, 2024).
PTPN6 (<i>tyrosine-protein phosphatase non-receptor type 6</i>)	PTP dikenal sebagai molekul pemberi sinyal yang mengatur berbagai proses seluler termasuk pertumbuhan sel, diferensiasi, siklus mitosis, dan transformasi onkogenik. Bagian N-terminal PTP berisi dua domain tandem SR homolog (SH2), yang bertindak sebagai domain pengikat protein fosfo-tirosin, dan memediasi interaksi PTP dengan substratnya (NCBI, 2024).
CTLA4 (<i>cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4</i>)	Reseptor penghambat bertindak sebagai pengatur negatif utama respon sel T. Afinitas CTLA4 dengan ligan keluarga B7 alaminya, CD80 dan CD86 jauh lebih kuat daripada afinitas koreseptor stimulasi serumpun CD28 (UniProt, 2024).
GSK3B (<i>glycogen synthase kinase 3 beta</i>)	Protein yang dikodekan oleh gen ini adalah serin-treonin kinase yang termasuk dalam subfamily glikogen sintase kinase. Sebagai pengatur negatif homeostasis glukosa dan terlibat dalam metabolisme energi, peradangan, tekanan ER, disfungsi mitokondria, dan jalur apoptosis (NCBI, 2024).
AKT (<i>RAC serine/threonine-protein kinase</i>)	AKT adalah salah satu dari 3 serin/treonin-protein kinase (AKT1, AKT2, dan AKT3) yang berkerabat dekat yang disebut AKT kinase, dan mengatur banyak metabolisme, proliferasi, kelangsungan hidup sel, pertumbuhan, dan angiogenesis. Hal ini dimediasi melalui fosforilasi serin/treonin dari berbagai substrat (STRING, 2024).
PIK3CA (<i>Phosphatidylinositol 3-Kinase Catalytic Subunit Alpha</i>)	Protein yang dikodekan oleh gen ini mewakili subunit katalitik yang menggunakan ATP untuk memfosforilasi PtdIns, PtdIns4P, dan PtdIns(4,5) P2 (NCBI, 2024).

Tabel 2. Protein target pada jalur BCR

Simbol & (Nama Protein Target)	Deskripsi Singkat
LYN (<i>Tyrosine-protein kinase</i>)	Gen ini mengkode protein kinase, yang terlibat dalam regulasi degranulasi sel mast, dan diferensiasi eritroid. Sebagai alternatif varian transkrip yang diisambung mengkode isoform berbeda telah ditemukan untuk gen ini (NCBI, 2024).
SYK (<i>Tyrosine-protein kinase SYK</i>)	Gen ini mengodekan anggota keluarga protein kinase Tyr tipe non-reseptor. Protein ini diekspresikan secara luas dalam sel hematopoietic dan terlihat dalam penggabungan imunoreseptor teraktivasi ke peristiwa sinyal hilir yang memediasi beragam respons seluler, termasuk proliferasi, diferensiasi, dan fagositosis (NCBI, 2024).
BTK (<i>Tyrosine-protein kinase BTK</i>)	Protein yang dikodekan oleh gen ini memainkan peran penting dalam perkembangan sel B. Mutasi pada gen ini menyebabkan agammaglobulinemia terkait X tipe 1, yaitu defisiensi imun yang ditandai dengan kegagalan produksi limfosti B matang dan berhubungan dengan kegagalan penataan ulangrantai berat Ig (NCBI, 2024).
BLNK (<i>B-cell linker protein</i>)	Gen ini mengkodekan penghubung sitoplasma atau protein adaptor yang memainkan peran penting dalam perkembangan sel B. Protein ini menjembatani aktivasi kinase terkait resepto sel B dengan jalur sinyal hilir, sehingga mempengaruhi berbagai fungsi biologis. Fosforilasi lima residu tirosin diperlukan agar protein ini dapat meng nukelasi efektor sinyal yang berbeda setelah aktivasi reseptor sel B (NCBI, 2024).
PLCG2 (<i>phosphatidylinositol phospholipase gamma-1</i>)	Protein yang dikodekan oleh gen in adalah enzim pemberi sinyal transmembrane yang mengkatalis konversi <i>1-fosfatidil-1D-myo-inositol 4,5-bifosfat</i> menjadi <i>1D-myo-inositol 1,4,5-trifosfat</i> (IP3) dan <i>diagliserol</i> (DAG) menggunakan kalsium sebagai kofaktor (NCBI, 2024).
RAF1 (<i>proto-oncogene serine</i>)	Protein yang dikodekan adalah MAP kinase (MAP3K), setelah diaktifkan protein RAF1 seluler dapat memfosforilasi untuk mengaktifkan protein kinase spesifitas ganda MEK1 dan MEK2 yang pada gilirannya memfosforilasi untuk mengaktifkan protein kinase spesifikserin/treonin, ERK1 dan ERK2 (NCBI, 2024).
FYN (<i>tyrosine-protein kinase FYN</i>)	Gen ini mengkodekan tirosin kinase terkait membrane yang terlibat dalam pengendalian pertumbuhan sel. Protein tersebut bergabung dengan subunit p85 dari fosfatidilinositol 3-kinase dan berinteraksi dengan protein pengikat FYN (NCBI, 2024).
NFKB1 (<i>Nuclear factor NF-kappa-B subunit p105</i>)	NFKB adalah pengatur transkripsi yang diaktifkan oleh berbagai rangsangan intra dan ekstraseluler seperti sitokin, radikal bebas oksidan, iradiasi ultraviolet, dan produk bakteri atau virus. NFKB yang diaktifkan ditranslokasi ke dalam nukleus dan merangsang ekspresi gen yang terlibat dalam berbagai fungsi biologis (NCBI, 2024).
NFAT (<i>nuclear factor of activatedT-cells cytoplasmic 2</i>)	Protein ini terdapat dalam sitosol dan hanya bertranslokasi ke nukleus setelah stimulasi reseptor sel T (TCR), di mana ia menjadi anggota faktor inti kompleks transkripsi sel T yang diaktifkan (NCBI, 2024).

Tabel 3. Protein target pada jalur FC epsilon RI

Simbol & (Nama Protein Target)	Deskripsi Singkat
MAP2K1 (<i>mitogen-activated protein kinase kinase 1</i>)	Protein yang dikodekan oleh gen ini adalah anggota keluarga protein kinase spesifitas gganda, yang bertindak sebagai protein kinase teraktivasi mitogen (MAP) kinase (NCBI, 2024).
PKC (<i>classical protein kinase C alpha type</i>)	Protein kinase C (PKC) adalah keluarga protein kinase spesifik serin dan treonin yang dapat diaktifkan oleh kalsium dan diasilgliserol pembawa pesan kedua (NCBI, 2024).

E. Protein Target Obat Sintesis Asma

Tabel 4. Protein target obat sintesis asma (Drug Central, 2024)

No	Protein Target	Nama Obat
1.	<i>Mitogen-Activated Protein Kinase 1</i> (MAPK1)	Zafirlukast
2.	<i>Epidermal Growth Factor Receptor</i> (EGFR)	Zafirlukast, Montelukast
3.	<i>Phosphatidylinositol-4,5-Bisphosphate 3-Kinase Catalytic Subunit Delta</i> (PIK3CD)	Teofilin
4.	<i>Beta-2 adrenergi Receptor</i> (ADRB2)	Terbutalin, salmeterol, Levosalbutamol, Indacaterol, Orciprenaline, Bitolterol, Formoterol, Vilanterol, Reproterol, Tulobuterol, Salbutamol, Fenoterol, Olodaterol

F. Webserver dan Software

1. Webserver

1.1. KNApSAcK. KNApSAcK adalah webserver yang berisi data yang menjelaskan hubungan antara spesies dan metabolitnya. KNApSAcK digunakan untuk mempermudah peneliti dalam melakukan riset metabolomik sehingga webserver ini memungkinkan untuk mencari metabolit berdasarkan massa yang akurat, rumus molekul, nama metabolit, atau spektrum masa dalam beberapa mode ionisasi. KNApSAcK menyediakan data metabolit dari spesies tanaman. KNApSAcK saat ini berisi 101.500 hubungan spesies-metabolit yang mencakup 20.741 spesies dan 50.048 metabolit (Afendi *et al.*, 2012).

1.2. Pubchem. *Pubchem* merupakan basis data kimia publik yang dikelola di Perpustakaan Kedokteran Nasional (NIH). *Pubchem* berfungsi untuk menentukan struktur molekul senyawa dengan bioaktivitasnya. Informasi aktivitas biologis dan deskripsi zat kimia *Pubchem* berasal dari 750 lebih sumber data. *Pubchem* berfungsi sebagai

informasi kimia utama untuk penelitian biomedis pada bidang hemiformatis, biologi kimia, kimia obat, dan penemuan obat baru. *Pubchem* juga digunakan sebagai sumber data untuk repurposing obat, prediksi toksisitas kimia, prediksi efek samping obat dan identifikasi metabolit. *Pubchem* terdiri dari tiga basis data utama yang saling berhubungan yaitu *substance*, *bioassay*, dan *compound*. *Substance* berisi data kimia, struktur kimia unik yang diekskresikan dari data zat. *BioAssay* berisi deskripsi pengujian biologi dan hasil pengujian. *Pubchem* juga menyediakan halaman berisi bioaktivitas dari senyawa dan data senyawa yang dapat diunduh dalam bentuk *comma-separated-value* (CSV) (S. Kim *et al.*, 2021).

1.3. KEGG Pathway. KEGG Pathway adalah webserver yang berisi basis pengetahuan untuk analisis sistematis fungsi gen dan menghubungkan informasi genomik dengan informasi fungsional. KEGG terdiri dari tiga basis data yaitu, informasi genomik disimpan dalam basis data GENES, yang berisi kumpulan katalog gen untuk semua *genom* yang diurutkan dan *genom parsial* dengan fungsi gen. Informasi fungsional disimpan dalam basis data PATHWAY, yang berisi representasi grafis proses seluler seperti metabolisme, transportasi membran, transduksi sinyal dan siklus sel. Basis data PATHWAY dilengkapi dengan tabel *ortholog* untuk informasi tentang subjalur yang sering dikodekan oleh gen berpasangan posisional pada kromosom yang berguna dalam memprediksi fungsi gen. Data base penyakit berisi kumpulan entri penyakit terdiri dari gen penyakit dan faktor lain. Basis data obat berisi kumpulan obat yang telah disetujui berisi target obat, metabolisme obat dan enzim. Sehingga data base penyakit dan obat dapat diartikan sebagai *pathway*. Selanjutnya terdapat basis data LIGAND untuk pengumpulan senyawa kimia dalam sel, molekul enzim, dan reaksi enzimatik. Terdapat KEGG *mapper* digunakan untuk menghubungkan objek berupa gen, protein, metaboolit, dan glikan dengan objek lebih tinggi berupa jalur, taksonomi, dan penyakit (Yi *et al.*, 2020).

1.4. Uniprot. *Universal protein resource* (Uniprot) adalah situs untuk menjadi sumber informasi mengenai sekuens protein, anotasi fungsional, profil ekspresi gen, interaksi protein-protein, dan munculnya genomik struktural yang digabungkan untuk menyediakan banyak data untuk dianalisis atau digunakan. Uniprot menyediakan data sumber yang stabil, komprehensif, dan dapat diakses bebas. Uniport biasanya digunakan untuk menyimpan sekuens protein secara komprehensif,

pendekatan sistematis untuk anotasi penggabungan protein, mengintegrasikan dan menstandarkan data protein. Uniport memiliki empat komponen utama yaitu *The Uniprot Knowledgebase* (UniProtKB) berisi data protein menurut para ahli untuk informasi protein terintegrasi referensi silang. *The UniProt Archive* (UniParc) berisi urutan arsip protein secara komprehensif, *UniProt Reference luster* (UniRef) berisi urutan protein berdasarkan identitas dan *UniProt Metagenomic and Environmental Sequences* (UniMES) berisi data metagenomik dan lingkungan yang diperluas (Apweiler, 2008).

1.5. Super-PRED. Super-PRED adalah webserver yang memprediksi kode *Anatomical Therapeutic Chemical* (ATC) dan prediksi target molekul kecil atau senyawa, sehingga mendapatkan informasi tentang senyawa untuk proses pengembangan obat. Prediksi ATC dan prediksi target didasarkan pada model pembelajaran mesin, menggunakan model regresi logistik dan sidik jari *morgan* dengan panjang 2048. Prediksi target untuk senyawa input dapat dieksekusi di situs Target-Prediction. Senyawa kueri dievaluasi dan diberi skor oleh model pembelajaran mesin, memeringkat setiap kelas ATC dan mengembalikan kelas dengan skor tertinggi (Super-PRED, 2022).

1.6. STRING. *String* merupakan *webserver* yang berfungsi untuk menemukan kumpulan protein pada organisme. *String* memvisualisasikan hasil genomik. *String* menyediakan data urutan genom lengkap yang digunakan untuk memprediksi fungsi protein. Saat ini *string* menyediakan hasil 24.768 dari 59.416 gen yang sudah diurutkan dalam rangkaian genom. Selektivitas keakuratan dalam hal fungsional diketahui probabilitas gen yang diberikan dengan gen lain yang sama dalam satu kelompok dalam dua spesies adalah 0,02. Untuk tiga spesies memiliki probabilitas $< 0,002$ dan untuk empat spesies atau lebih $< 0,0005$. Protein target yang didapat kemudian dimasukkan ke data base *string* untuk memperoleh hasil interaksi jaringan protein-protein. Selanjutnya data hasil interaksi jaringan protein-protein diimpor ke *cytoscape* untuk divisualisasikan dan dianalisis protein (Snel *et al.*, 2000).

1.7. Swiss Target Prediction (STP). STP adalah webserver yang digunakan untuk memprediksi target protein yang paling mungkin, prediksi didasarkan pada prinsip kesamaan, melalui penyaringan terbalik. STP memprediksi secara akurat mengenai target molekul bioaktif berdasarkan kombinasi dan kesamaan 2D dan 3D dengan ligan.

STP berisi kumpulan data base interaksi protein dan senyawa sehingga memudahkan untuk mengidentifikasi protein target baru (Daina *et al.*, 2019).

1.8. Similarity Ensemble Approach (SEA). SEA merupakan webserver yang menghubungkan protein satu sama lain berdasarkan kesamaan kimia diantara ligan terikatnya. Identifikasi target baru telah diterapkan untuk obat-obatan lama ataupun bahan alam untuk diprediksi efek samping dan untuk memprediksi protein indikasi terapi anatomi (ATC) dari obat yang telah disetujui (Wang *et al.*, 2016).

1.9. Genecard. *Genecard* merupakan webserver yang berisi informasi komprehensif tentang gen manusia lebih dari 80 sumber data seperti HGNC, NCBI, ENSEMBL, dan UniProtKB. *Genecard* menyediakan data genom, protein, *transkriptom*, penyakit, dan fungsi gen manusia. *Genecard* menghasilkan *deep-linked* berbasis web >73.000 entri gen manusia yang dikategorikan sebagai berikut pengkodean protein, pseudogen, gen RNA, lokus genetik, *cluster* (Safran *et al.*, 2010).

1.10. Venny 2.1.0. Venny digunakan untuk menggambarkan kumpulan daftar gen yang unik, hasil dari venny dapat membantu untuk menemukan korelasi dalam protein. Analisis venny menunjukkan kecocokan antara protein source dan protein target. Analisis ini juga dapat menganalisis ketumpangtindihan protein target yang didapatkan dari swiss target prediction (Lin *et al.*, 2016).

1.11. Drug Central. Drug Central web yang berisi sumber informasi farmasi yang telah dikembangkan dengan mengembangkan informasi terkait API, informasi peraturan, profil bioaktivitas, mekanisme kerja obat, Tindakan farmakologis, produk farmasi dan indikasi yang telah disetujui oleh Food and Drug Administration (FDA), European Devices Agency (EMA), dan Japan Pharmaceutial dan Medical Devices Agency (PMDA) (Ursu *et al.*, 2017).

2. Software

Terdapat banyak *Software* yang digunakan untuk visualisasi *network pharmacology* salah satunya *cytoscape*. *Cytoscape* adalah *open source software* yang digunakan untuk mengintegrasikan jaringan interaksi biomolekuler menjadi kerangka konseptual yang disatukan. *Cytoscape* sangat efektif ketika digunakan dengan basis data protein-protein, protein-DNA, dan interaksi genetik manusia dan model organisme. *Cytoscape* menyediakan data fungsional jaringan, untuk mengintegrasikan jaringan

secara visual dengan profil ekspresi, fenotipe dan keadaan molekular. Untuk menghubungkan jaringan ke basis data fungsional. *Cytoscape* digunakan untuk membentuk jaringan interaksi “obat-senyawa-protein-target-penyakit”. Prinsip kerja *cytoscape* yaitu grafik jaringan meliputi gen, protein, dan sel dipresentasikan dalam bentuk *nodes* dan *edges*. *Nodes* merupakan simbol dari molekul seperti protein dan senyawa. *Edges* merupakan interaksi antar molekul yang digambarkan sebagai garis penghubung (Shannon *et al.*, 2003).

G. Landasan Teori

Patofisiologi asma dapat melalui jalur *T cell receptor*, *B cell receptor*, dan *Fe RI receptor*. Mekanisme asma dimulai dari respons imun tipe 2 yang terjadi akibat paparan antigen lingkungan dan menyebabkan alergi. Sel T helper 2. *Cluster of differentiation 4* (CD4+) ditandai dengan jumlah transacting *T-cell-specific transcription factor* GATA-3 yang besar dan sekresi sitokin tipe 2 (*interleukin-4*, *interleukin-5*, *interleukin-9* dan *interleukin-13*). Sitokin tipe 2 yang berlebih pada saluran napas bawah akan memicu *immunoglobulin E* (Ig-E) *mediated hypersensitivity*, aktivasi sel epitel, mediasi influks sel inflamasi ke saluran napas, dan menyebabkan respons *remodelling* pada epithelium dan matriks subepitelial (Yudhawati R *et al.*, 2017). Selain itu terdapat mekanisme asma melalui sel mast yang melepaskan berbagai macam mediator biologis, terutama termasuk mediator granula (*histamine* dan *protease*), mediator turunan lipid (prostaglandin 2 dan leukotriene C4). Mediator tersebut menginduksi vasodilatasi, kontraksi otot polos bronkus dan peningkatan sekresi mukus (Lu *et al.*, 2015). Secara terapi farmakologi, obat asma dapat digolongkan menjadi beberapa golongan yaitu B-agonis, kortikosteroid, metilxantin, antikolinergik, *mast cell stabilizer*, *modifier leukotriene*, kombinasi terapi kontrol, dan omalizumab. Golongan obat tersebut memiliki efek antiasma dengan mengontrol gejala dan menurunkan kemungkinan risiko terjadinya *asthma-related death*, eksaserbasi dan efek samping asma. Namun, tidak menutup kemungkinan obat antiasma dalam pemakaian jangka panjang yang berlebihan tanpa pengendalian peradangan dapat memicu serangan asma yang lebih serius. Keputusan penggunaan obat selalu memerlukan pertimbangan manfaat, dan beban biaya. Pengobatan asma memiliki beban biaya yang tinggi dari berbagai perspektif baik itu biaya pengobatan, perawatan, dan penyedia pelayanan kesehatan yang

diperkirakan meningkat bersamaan dengan bertambahnya usia penderita asma (Jacobson *et al.*, 2018).

Untuk dapat mengurangi beban biaya dan efek samping obat, diperlukan alternatif pengobatan menggunakan obat herbal dari alam. Tanaman yang dapat berpotensi sebagai antiasma yaitu daun pulai. Daun pulai mengandung senyawa alkaloid indol utama yaitu sholariine, 19-episholariine, vallesamine, dan pirinine seara efektif mengurangi total sel darah putih dan kadar neutrophil dalam BALF, sehingga mengurangi gejala patologis. Khasiat alkaloid indol ditunjukkan dalam penurunan regulasi sel inflamasi, stikoin, dan antioksidan. Daun pulai memiliki aktivitas menurunkan inflamasi terhadap tikus yang diinduksi OVA seara *in vivo*, bertindak dalam menghambat eotaxin, menurunkan T helper 2 (Th2) dan T helper 17 (Th17) serta meningkatkan sitokin T helper 1 (Th1) (Tong *et al.*, 2024).

Saat ini *network pharmacology* sering digunakan untuk penemuan obat baru. *Network pharmacology* mewakili interaksi antara komponen obat, target, dan penyakit dalam bentuk *network*, mengungkap mekanisme molekuler dari bahan aktif yang berbeda, menyediakan metode dan ide baru untuk menemukan obat baru untuk pengobatan suatu penyakit (Liu *et al.*, 2023). Peneliti akan menganalisis interaksi protein target pada daun pulai terhadap asma dengan metode *network pharmacology*.

H. Keterangan Empiris

Pada penelitian ini keterangan empiris meliputi :

Pertama, mendapatkan data dari protein-protein target yang terlibat dalam patofisiologi asma.

Kedua, mendapatkan data senyawa dalam daun pulai yang diprediksi menjadi target kerja dari protein target dalam patofisiologi asma.

Ketiga, membangun profil *network pharmacology* prediksi kandungan senyawa kimia daun pulai terhadap protein target asma.